

**SPRAWOZDANIE
KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU
WE WROCŁAWIU
ZA OKRES 2014-2015**

WROCŁAW-KRAKÓW 2015

Część I
STRONA INTERNETOWA PAU –
INFORMACJA O KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU
WE WROCŁAWIU



Polska Akademia Umiejętności

Start

09.12.2010

Menu główne

Nowości

Wyszukiwarka

[Start](#)

[Szukaj](#)

[Informacje bieżące](#)

→

[Posiedzenia](#)

→ [Planowane](#)

[wydarzenia](#)

→ [PAUza –](#)

[tygodnik](#)

[Polskiej](#)

[Akademii](#)

[Umiejętności](#)

→

[Zamówienia](#)

[publiczne](#)

→ [Wynajem](#)

[sal i](#)

[pomieszczeń](#)

[Z przeszłości](#)

[Akademia dzisiaj](#)

→ [Galeria](#)

[zdjęć](#)

→ [Stypendia](#)

[PAU](#)

→ [Nagrody](#)

[PAU](#)

→

[Współpraca](#)

[zagraniczna](#)

[Głos PAU](#)

→ [Uchwały](#)

[PAU](#)

→ [II Kongres](#)

[Polskich](#)

[Towarzystw](#)

[Naukowych](#)

[ZP 310-3/10](#)

[Folia Quaternaria](#)

[Planowane wydarzenia](#)

[Posiedzenia w PAU](#)

[PAUza – tygodnik](#)

[internetowy PAU](#)

KOMISJE MIĘDZYWYDZIAŁOWE PAU O CHARAKTERZE INTERDYSCYPLINARNYM

[Komisja Zagrożeń Cywilizacyjnych PAU](#)

[Komisja Historii Nauki PAU](#)

[Komisja PAU do Oceny Podręczników Szkolnych](#)

[Komisja Spraw Europejskich PAU](#)

[Komisja Nauk Technicznych PAU](#)

[Komisja Rozwoju Miasta Krakowa PAU i PAN](#)

[Komisja Filozofii Nauk Przyrodniczych PAU](#)

[Komisja PAU Fides et Ratio](#)

[Komisja PAU do Badań Diaspory Polskiej](#)

[Komisja PAU Etyki w Nauce](#)

[Komisja Przyrodniczo-Medyczna z Siedzibą we Wrocławiu](#)

Komisja Przyrodniczo-Medyczna z siedzibą we Wrocławiu powołana została przez Profesora dr. hab. Andrzeja Białasa, Prezesa PAU, pismem z dnia 28 maja 2009 roku. Inicjatorem powstania oddziału PAU we Wrocławiu był Rafał Dutkiewicz, Prezydent Wrocławia, który w liście skierowanym do PAU wyraził pogląd, że utworzenie we Wrocławiu jednostki PAU byłoby dla miasta zaszczytem – tym bardziej że, jak pisze, „PAU ma wśród swych członków jednego z najznamienitszych wrocławian – Tadeusza Różewicza”.

Organizację międzywydziałowej komisji powierzono Profesorowi Czesławowi Radzikowskiemu, który po konsultacjach z zaproponowanymi członkami komisji

[na](#)
[Obczyźnie](#)
[»Badania](#)
[podstawowe](#)
[»PAU o](#)
[sobie](#)
[Struktura Akademii](#)
[»Władze](#)
[PAU](#)
[»Kolejne](#)
[kadencje](#)
[»Członkowie](#)
[PAU](#)
[»Odeszli od](#)
[nas...](#)
[»Wydziały i](#)
[Komisje PAU](#)
[Wydawnictwa](#)
[Archiwum Nauki PAN i](#)
[PAU w Krakowie](#)
[Biblioteka Naukowa](#)
[PAU i PAN w Krakowie](#)
[Kontakt](#)
[Linki](#)

w osobach profesorów: Stanisława Przestalskiego, Ireny Frydeckiej, Marii Witkowskiej, Małgorzaty Sasiadek, przedstawił projekt spotkań naukowo-dydaktycznych których głównym celem byłoby zbliżenie wyników fascynującego postępu w badaniach przyrodniczych, głównie w biologii molekularnej, a zwłaszcza w genetyce, środowisku medycznemu, a także nauczycielom przedmiotów przyrodniczych, studentom oraz uczniom regionu dolnośląskiego. Ponadto uświadomienie uczonym prowadzącym wielodyscyplinarne badania podstawowe o potencjalnym medycznym znaczeniu implikacyjnym (w precyzyjnej diagnostyce, w nowych możliwościach prognostycznych i terapeutycznych) złożoności regulacji na poziomie komórkowym, tkankowym czy całego organizmu.

Do udziału w spotkaniach jako wykładowcy zapraszani będą uczeni z regionu dolnośląskiego, reprezentujący wielodyscyplinarne badania zorientowane medycznie lub współpracujący z nimi uczeni krajowi i zagraniczni, z preferencją uczonych zagranicznych, którzy swe wykształcenie i/lub swoją działalność naukową zawdzięczają uczelniom, instytucjom naukowym regionu dolnośląskiego, a których wyniki badań zdobyły międzynarodowe uznanie.

Celem projektowanych spotkań naukowych będzie wymiana poglądów, także wyszukiwanie i budowanie „pomostów” między laboratoriami badawczymi, których wyniki badań mogłyby znaleźć implikacje praktyczne. Ponadto udział nauczycieli przedmiotów przyrodniczych, zainteresowanych studentów i uczniów przyczyniać się powinien do pogłębiania wiedzy, pobudzania i rozwoju zainteresowań uczestników spotkań, przyszłych pracowników, których pomysłowość i zaangażowanie winny przyczynić się do dynamicznego rozwoju badań biotechnologicznych i biomedycznych oraz rekomendowania ich wyników do wykorzystania praktycznego.

Powstanie Komisji jest jednocześnie nową szansą nawiązania długofalowej współpracy samorządu wrocławskiego z wybitnymi uczonymi w zakresie tworzenia polityki publicznej, odpowiadającej na wyzwania współczesnego świata.

SKŁAD KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU WE WROCŁAWIU

prof. dr hab. Janusz Boratyński
prof. dr hab. Irena Frydecka
prof. dr hab. Egbert Piasecki
prof. dr hab. Stanisław Przystalski
prof. dr hab. Czesław Radzikowski (Organizator Komisji)
prof. dr hab. Małgorzata Sąsiadek
prof. dr hab. Maria Witkowska

prof. dr hab. Adam Jezierski
prof. dr hab. Paweł Kafarski
prof. dr hab. Marek Langner
prof. dr hab. Jerzy Mozrzyński
prof. dr hab. Bożena Obmińska-Mrukowicz
prof. dr hab. Jacek Otlewski
prof. dr hab. Aleksander Sikorski
prof. dr hab. Wacław Sokalski

Nowi członkowie powołani przez Radę PAU w dniu 24 marca 2015 r.:

prof. dr hab. Paweł Kisielow
prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta
prof. dr hab. Andrzej Gamian
prof. dr hab. Aleksandra Klimczak
prof. dr hab. Jolanta Zakrzewska-Czerwińska
Katarzyna Prosek (sekretarz komisji)

Część II
SPOTKANIA NAUKOWO-DYDAKTYCZNE
W OKRESIE 2014/2015

XX spotkanie naukowo-dydaktyczne – 9 kwietnia 2014 r.

Wykładowca: dr hab. JOANNA KÜBLER-KIEŁB (Eunice Kennedy Shiver National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)

Tytuł wykładu: *Zapobieganie przenoszeniu zarodźców malarii między komarami i człowiekiem – nowe rozwiązania*

XXI spotkanie naukowo-dydaktyczne – 23 kwietnia 2014 r.

Wykładowca: dr hab. ILONA KRYCZEK (University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA)

Tytuł wykładu: *Nowotwór jako następstwo niepożądanego działania układu odpornościowego*

XXII spotkanie naukowo-dydaktyczne – 8 października 2014 r.

Wykładowca: dr hab. ANDRZEJ MYC (Department of Internal Medicine, Division of Allergy, Michigan Nanotechnology Institute for Medicine and Biological Studies, Medical School, Ann Arbor, MI, USA)

Tytuł wykładu: *Adjuwanty i szczepionki dośluzówkowe*

XXIII spotkanie naukowo-dydaktyczne – 19 listopada 2014 r.

Wykładowca: prof. dr hab. KRZYSZTOF PALCZEWSKI (Department of Pharmacology, School of Medicine, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA)

Tytuł wykładu: *Mechanizmy molekularne ekspresji białek odpowiedzialnych za widzenie*

XXIV spotkanie naukowo-dydaktyczne – 25 marca 2015 r.

Wykładowca: prof. dr hab. GRAŻYNA ADAMUS (Oregon Health & Science University, Ocular Immunology Laboratory, Casey Eye Institute, Department of Ophthalmology, Portland, OR, USA)

Tytuł wykładu: *Autoimmunologiczne mechanizmy w degeneracyjnych chorobach oka*

XXV spotkanie naukowo-dydaktyczne – 9 kwietnia 2015 r.

Wykładowca: dr n. biol. ANNA GRZEGORZEWICZ (Colorado State University, Department of Microbiology, Immunology and Pathology, Fort Collins, CO, USA)

Tytuł wykładu: *Leki przeciwegruźlicze o nowych mechanizmach działania*

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XX otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

9 kwietnia 2014 roku

z udziałem dr hab. Joanny KÜBLER-KIEŁB

**Eunice Kennedy Shiver National Institute of Child Health and Human Development
National Institute of Health, Bethesda, MD USA**

Tytuł wykładu wprowadzającego:

**„Zapobieganie przenoszeniu zarodków malarii
między komarem i człowiekiem – nowe rozwiązania”***

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

**Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr hab. Joanna Kübler-Kielb – informacja biograficzna

Edukacja

- Czerwiec 30, 1995 Stopień magistra:
Politechnika Wrocławska, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Kierunek: Biotechnologia, tytuł: „Badania strukturalne łańcucha O-swoistego z lipopolisacharydu *Hafnia alvei* PCM 1185”.
- Maj 22, 1999 Stopień doktora nauk przyrodniczych:
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, Polska Akademia Nauk, Wrocław, tytuł rozprawy: „Badania nad powierzchniowymi antygenami cukrowymi gronkowców koagulazo-ujemnych”.
- Grudzień 13, 2012 Stopień doktora habilitowanego:
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, Polska Akademia Nauk, Wrocław, tytuł rozprawy: „Glikokoniugatowe szczepionki przeciwko bakteriom Gram-ujemnym z zastosowaniem chemii oksymowej”.

Doświadczenie naukowe

2010–2013 Staff Scientist, Program in Developmental and Molecular Immunity, NICHD, NIH, Bethesda, MD

Opracowanie biwalentnej eksperymentalnej szczepionki koniugatowej wywołującej odporność przeciwko sporozoitom *Plasmodium falciparum* i blokującej przenoszenie zarodźców malarii pomiędzy komarem i człowiekiem.

Zastosowanie chemii oksymowej do przygotowania szczepionek koniugatowych przeciwko bakteriom Gram-ujemnym, takim jak *Bordetella pertussis* i *Shigella sonnei*. Glikokoniugat zawierający fragment LPS *S. sonnei* jest obecnie testowany w pierwszej fazie próby klinicznej.

Badania nad strukturą i właściwościami immunologicznymi natywnych i syntetycznych antygenów glikolipidowych *Borrelia burgdorferi*, bakterii wywołującej chorobę Lyme.

Badania immunochemiczne antygenów powierzchniowych bakterii chorobotwórczych takich jak: *Mycobacterium*, *Klebsiella*, *E. coli*, *Brucella* i *Shigella*; ocena ich przydatności jako składników szczepionek koniugatowych.

Uzyskanie protekcyjnych przeciwciał monoklonalnych przeciwko otoczce i toksynom *Bacillus anthracis*.

2005–2010 Research Fellow, Laboratory of Developmental and Molecular Immunity, NICHD, NIH, Bethesda, MD

Badania nad zastosowaniem peptydów reprezentujących fragmenty regionu V3 białka powierzchniowego gp120 wirusa HIV jako antygenów do otrzymania przeciwciał neutralizujących wirusa.

Analiza reaktywności krzyżowej polisacharydów otoczkowych otrzymanych z bakterii morskich z glikoproteiną obecną na przetrwalnikach *Bacillus anthracis* jako dodatkowy składnik szczepionki przeciwko wąglikowi.

Opracowanie nowej szczepionki zapobiegającej przenoszeniu zarodźców malarii pomiędzy komarem i człowiekiem.

Ocena immunogenności koniugatów peptydowych zawierających konserwatywne fragmenty białek powierzchniowych wirusa grypy.

2000–2005 Postdoctoral Fellow, Laboratory of Developmental and Molecular Immunity, NICHD, NIH, Bethesda, MD

Ocena właściwości fizykochemicznych koniugatów, takich jak wielkość haptenu, gęstość na nośniku, rodzaj eksponowanej grupy końcowej, na ich immunogenność w przedklinicznych modelach zwierzęcych.

Opracowanie nowej szczepionki przeciwko wąglikowi zawierającej koniugaty kwasu poliglutaminowego, otrzymanego syntetycznie, bądź izolowanego z *Bacillus anthracis* połączone z białkami nośnikowymi obejmującymi m.in. toksyny *B. anthracis*. Opatentowana metodologia została przekazana do sektora prywatnego (Biologics Resources LLC).

Ocena koniugatów zawierających polimery fosforanu rybitolu (syntetyczne lub izolowane z bakterii) jako monowalentnej szczepionki przeciwko kilku serotypom *Haemophilus influenzae*, bakterii wywołującej zapalenie opon mózgowych u dzieci.

1995–2000 Asystent Naukowy i Adiunkt, Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, Polskiej Akademii Nauk, Wrocław, Polska

Badania strukturalne i serologiczne antygenów cukrowych otrzymanych z bakterii patogennych, jak otoczki, polisacharydy związane ze ścianą komórkową, lipopolisacharydy.

Badania kliniczne nad markerami prognostycznymi septicemii, wstrząsu septycznego i niewydolności wielonarządowej.

Aktywności i nagrody

2008–2013 Organizator corocznej konferencji: NIH&FDA Glycosciences Research Day

2008–2013 Wykładowca i członek zarządu Glycobiology Interest Group, Bethesda, MD

2012 Wykładowca - 'Johns Hopkins University Biology Seminar Series', Baltimore, MD

2012, 2013 Wykładowca - 'Special Topics in Glycobiology Course', Bethesda, MD

2011 Wykładowca - 'NIH Oxford-Cambridge Scholars Program', Bethesda, MD

2010 Wykładowca - 'Keystone Symposium: Malaria', Copper Mountain, CO

2006 Chief Judge, NIH FARE Awards, Bethesda, MD

2005–obecnie Recenzent dla Vaccines, Bioconjugate Journal, Carbohydrate Research i innych wydawnictw naukowych

2000–obecnie Członek stowarzyszeń naukowych: Glycobiology Interest Group, NIH, American Society of Microbiology, American Chemical Society, Association for Women in Science

2007 Nagroda Amerykańskiego Towarzystwa Mikrobiologii za nadzwyczajne osiągnięcia naukowe: ICAAC Young Investigator Award

2005 Fellows Award for Research Excellence, National Institutes of Health, Bethesda, MD, for 'A new method for conjugation of carbohydrates to proteins using an aminoxy-thiol heterobifunctional reagent'

2003 Fellows Award for Research Excellence, National Institutes of Health, Bethesda, MD, for 'Characterization of *Borrelia burgdorferi* glycolipid antigens'

Prace oryginalne

1. Kubler-Kielb J, Vinogradov E. Reinvestigation of the structure of *Brucella* O-antigens. Carbohydr. Res. 2013, April 6, doi: 10.1016/j.carres.2013.03.021.
2. Qui, P, Li Y, Shiloah J, Cui X, Sun J, Trinh L, Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Mani H, Al-Hamad M, Fitz Y, and Eichacker PQ. *B. anthracis* Cell Wall Peptidoglycan but not Lethal or Edema Toxins Produces Changes Consistent with Disseminated Intravascular Coagulation in a Rat Model. J Infect Dis 2013 Jun 3, PMID: 23737601.
3. Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Ng WJ, Maczynska B, Junk A, Bartoszewicz M, Zelazny A, Bennett J, Schneerson R. The capsular polysaccharide and lipopolysaccharide structures of two carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak isolates. Carbohydr. Res 2013, 22; 369: 6–9.
4. Kubler-Kielb J, Vinogradov E. The study of the core part and non-repeating elements of the O-antigen of *Brucella* lipopolysaccharide. Carbohydr. Res. 2013, 366: 33–7.
5. Kubler-Kielb J, Whitfield C, Katzenellenbogen E, Vinogradov E. Identification of the methyl phosphate substituent at the non-reducing terminal mannose residue of the O-specific polysaccharides of *Klebsiella pneumoniae* O3, *Hafnia alvei* PCM 1223 and *Escherichia coli* O9/O9a LPS. Carbohydr Res 2012, 347: 186–8.
6. Pozsgay V, Kubler-Kielb J, Coxon B, Santacrose P, Robbins JB, Schneerson R. Synthetic oligosaccharides as tools to demonstrate cross-reactivity between polysaccharide antigens. J Org Chem 2012, 77: 5922–41.
7. Pozsgay V, Kubler-Kielb J, Coxon B, Marques A, Robbins JB, Schneerson R. Synthesis and antigenicity of BBGL-2 glycolipids of *Borrelia burgdorferi*, the causative agent of Lyme disease. Carbohydr Res 2011, 346: 1551–63.
8. Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Lagergard T, Ginzberg A, King JD, Preston A, Maskell DJ, Pozsgay V, Keith JD, Robbins JB, Schneerson R. Oligosaccharide conjugates of *Bordetella pertussis* and *bronchiseptica* induce bactericidal antibodies, an addition to pertussis vaccine. PNAS 2011, 108: 4087–92.
9. Kubler-Kielb J, Lai W-T, Schneerson R, Vinogradov E. The structure of the *E. coli* O148 lipopolysaccharide core region and its linkage to the O-specific polysaccharide. Carbohydr. Res. 2011, 346: 150–2.
10. Chen Z, Schneerson R, Lovchik J, Lyons CR, Zhao H, Dai Z, Kubler-Kielb J, Leppla SH, Purcell R. Chimpanzee/human monoclonal antibodies against *Bacillus anthracis* capsule confer pre- and postexposure protection against virulent anthrax infection in mice. PNAS 2011, 108: 739–44.
11. Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Mocca C, Pozsgay V, Coxon B, Robbins JB, Schneerson R. Immunochemical studies of *Shigella flexneri* 2a and 6, and *Shigella dysenteriae* type 1 O-specific polysaccharide-core fragments and their protein conjugates as vaccine candidates. Carbohydr Res 2010, 345: 1600–8.
12. Kubler-Kielb J, Majadly F, Biesova Z, Mocca C, Guo C, Nussenzweig R, Nussenzweig V, Mishra S, Wu Y, Miller L, Keith J, Liu TY, Robbins JB, Schneerson R. A bicomponent *Plasmodium falciparum* investigational vaccine composed of protein-peptide conjugates. PNAS 2010, 107: 1172–7.
13. Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Mocca C, Guo C, Robbins JB, Schneerson R. *Shigella* O-specific oligosaccharide-core-protein conjugates: new vaccine candidates. Glycoconjugate J. 2009, 26: 806.

14. **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Mocca C, Guo C, Schneerson R, Robbins JB. *Shigella sonnei* oligosaccharide-protein conjugates. Proc. in Vaccinology 2009, 1: 63–6.
15. Lundqvist A, **Kubler-Kielb J**, Teneberg S, Ahlman K, Lagergård T. Immunogenic and adjuvant properties of *Haemophilus ducreyi* lipooligosaccharides. Microbs and Infection 2009, 11: 352–60.
16. Robbins JB, **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Mocca C, Pozsgay V, Shiloach J., Schneerson R. Synthesis, characterization and immunogenicity in mice of *Shigella sonnei* O-specific oligosaccharide-core-protein conjugates. PNAS 2009, 106: 7974–8.
17. Robbins JB, Schneerson R, Keith JM, **Kubler-Kielb J**, Miller MA, Trollfors B. Pertussis vaccine. A critique. Pediatric Infect. Dis. J. 2009, 28: 237–241.
18. **Kubler-Kielb J**, Schneerson R, Mocca C, Vinogradov E. The elucidation of the structure of the core part of the LPS from *Plesiomonas shigelloides* serotype O17 expressing O-polysaccharide chain identical to the *Shigella sonnei* O-chain. Carbohydr. Res. 2008, 343: 3123–7.
19. Vinogradov E, **Kubler-Kielb J**, Korenevsky A. The structure of the carbohydrate backbone of the LPS from *Shewanella* spp. MR-4. Carbohydr. Res. 2008; 343: 2701–5.
20. **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Hu H, Leppla S, Robbins JB, Schneerson R. Saccharides cross-reactive with *Bacillus anthracis* spore glycoprotein as an anthrax vaccine component PNAS 2008; 105: 8709–12.
21. **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Ben-Menachem G, Pozsgay V, Robbins JB, Schneerson R. Saccharide/protein conjugate vaccines for *Bordetella* species: preparation of saccharide, development of new conjugation procedures, and physico-chemical and immunological characterization of the conjugates. Vaccine 2008, 26: 3587–93.
22. Pozsgay V, **Kubler-Kielb J**, Schneerson R, Robbins JB. Effect of the non-reducing end of *Shigella dysenteriae* type 1 O-specific oligosaccharides on their immunogenicity as conjugates in mice. PNAS 2007, 104: 14478–82.
23. **Kubler-Kielb J**, Majadly F, Wu Y, Narum DL, Guo C, Miller LH, Robbins JB, Schneerson R. Long-lasting and transmission-blocking activity of antibodies to *Plasmodium falciparum* elicited in mice by protein conjugates of Pfs25. PNAS 2007, 104: 293–8.
24. Pozsgay V, **Kubler-Kielb J**. Synthesis of an experimental glycolipoprotein vaccine against Lyme disease. Carbohydr. Res. 2007, 342: 621–626.
25. **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Chu C, Schneerson R. Acetylation of the O-specific polysaccharide isolated from *Shigella flexneri* serotype 2a. Carbohydr. Res. 2007, 342: 643–7.
26. **Kubler-Kielb J**, Vinogradov E, Fernández JMG, Szostko B, Zwiefka A, Gamian A. Structure and serological analysis of the *Hafnia alvei* 481-L O-specific polysaccharide containing phosphate in the backbone chain. Carbohydr. Res. 2006, 341: 2980–5.
27. **Kubler-Kielb J**, Liu TY, Mocca C, Majadly F, Pozsgay V, Robbins JB, Schneerson R. Additional conjugation methods and immunogenicity of *B. anthracis* poly- γ -D-glutamic acid-proteins conjugates. Infect. Immun. 2006, 74: 4744–9.
28. Preston A, Petersen OB, Duus J, **Kubler-Kielb J**, Ben-Menachem G, Li J, Vinogradov E. Complete structure of *Bordetella bronchiseptica* and *Bordetella parapertussis* lipopolysaccharides. J. Biol. Chem. 2006, 281: 18135–44.
29. Fekete A., Hoogerhout P, **Kubler-Kielb J**, Schneerson R, Robbins JB, Pozsgay V. Synthesis of octa- and dodeca-mers of D-ribitol-1-phosphate and their protein conjugates. Carbohydr. Res. 2006, 341: 2037–48.
30. Pozsgay V, **Kubler-Kielb J**, Coxon B, Ekborg G. Synthesis of glycolipid antigens of the causative agent of Lyme disease. Tetrahedron 2005, 61: 10470–81.

31. Kubler-Kielb J, Pozsgay V, A new method for conjugation of carbohydrates to proteins using an aminoxy-thiol heterobifunctional linker. *J. Org. Chem.* 2005, 70: 6987–90; 2006; 71: 5422.
32. Novik G, Kubler-Kielb J, Mieszala M, Astapovich N, Lobanok A, Jones C, Jaquinod M, Gamian A. Characterization of bioconjugates of protein and polysaccharide from bifidobacteria. *FEBS J.* 2005, 272, suppl. 1: 275.
33. Kubler-Kielb J, Coxon B., Schneerson R. Chemical structure, conjugation and cross-reactivity of *Bacillus pumilus* Sh 18 cell wall polysaccharides. *J. Bacteriol.* 186 (20), 2004, 6891–6901.
34. Schneerson R, Kubler-Kielb J, Liu TY, Dai ZD, Yergey A, Backlund P, Shiloach J, Leppla SH, Majadly F, Robbins JB. Poly- γ -D-glutamic acid protein conjugates induce IgG antibodies in mice to the capsule of *Bacillus anthracis*: a potential addition to the anthrax vaccine. *PNAS* 2003, 100: 8945–50.
35. Ben-Menachem G, Kubler-Kielb J, Coxon B, Yergey A, Schneerson R. A Newly Discovered Cholesteryl Galactoside from *Borrelia burgdorferi*. *PNAS* 2003, 100: 7913–8.
36. Novik GI, Astapovich NI, Kubler-Kielb J, Gamian A, Characterization of the cell-bound polysaccharides of *Bifidobacterium adolescentis* 94 BIM. *Mikrobiologiya* 2002, 71: 205–10.
37. Kubler-Kielb J, Zatonsky GV, Katzenellenbogen E, Kocharova NA, Szostko B., Gamian A, Shashkov AS, Knirel YA, Structure of the O-specific polysaccharide isolated from the lipopolysaccharide of *Citrobacter gillenii* serotype O12a, 12b strain PCM 1544. *Carbohydr. Res.* 2001, 331: 331–6.
38. Katzenellenbogen E, Kocharova NA, Zatonsky GV, Kubler-Kielb J, Gamian A, Shashkov AS, Knirel YA, Romanowska E., Structural and serological studies on *Hafnia alvei* O-specific polysaccharide of alpha-D-mannan type isolated from the lipopolysaccharide of strain PCM 1223, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2001, 30: 223–7.
39. Kubler J, Katzenellenbogen E, Gamian A, Bogulska M, Ejchart A, Romanowska E, Structure of the core oligosaccharide isolated from lipopolysaccharide of *Hafnia alvei* strain PCM 1185, *Carbohydr. Res.* 2000, 329: 233–8.
40. Adamik B, Kubler-Kielb J, Golebiowska B, Gamian A, Kubler A, Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intensive Care Med.* 2000, 26: 1259–67.
41. Kubler-Kielb J, Adamik B, Prognostic markers of sepsis and septic shock, *Post. Hig. Med. Dosw.* 2000, 54: 119–33.
42. Adamik B, Kubler-Kielb J, Golebiowska B, Gamian A, Kubler A, Total antioxidant capacity of blood from patients with septic shock. *Med. Inten. Rat.* 1999, 2: 291–5.
43. Kubler J, The extracellular polysaccharides of coagulase-negative staphylococci and their importance in pathogenicity. *Post. Hig. Med. Dosw.* 1998, 52: 311–23.
44. Mierzchała M, Kubler J, Gamian A, Immunochemical characterization of lipopolysaccharide from glucose-nonfermenting Gram-negative clinical bacterial isolate, *Acta Biochim. Polon.* 1997, 44: 293–300.
45. Kubler J, Mierzchała M, Katzenellenbogen E, Gamian A, Structural and serological characterization of O-specific polysaccharides of *Hafnia alvei* PCM 1185 i 1199, *Post. Hig. Med. Dosw.* 1996, 50: 515–7.
46. Katzenellenbogen E, Kubler J, Gamian A, Romanowska E, Shashkov AS, Kocharova NA, Knirel YA, Kochetkov NK, Structural study and serological characterization of the O-spe-

cific polysaccharide of *Hafnia alvei* PCM 1185, another *Hafnia* O-antigen that contains 3,6-dideoxy-3-[(R)-3-hydroxybutyramido]-D-glucose. Carbohydr. Res. 1996, 293: 61–70.

Rozdziały w książkach

1. Kubler-Kielb J, Conjugation of LPS-derived Oligosaccharides to Proteins Using Oxime Chemistry. Methods Mol Biol. 2011, 751:317–327.
2. Pozsgay V and Kubler-Kielb J, Synthesis of carbohydrate antigens related to *Shigella dysenteriae* type 1 and their protein conjugates. In 'Frontiers in Modern Carbohydrate Synthesis', Demchenko AV, Ed., ACS Symposium Series, 2006, 960: 238–252.
3. Pozsgay V and Kubler-Kielb J, Conjugation methods towards synthetic vaccines. In 'Carbohydrate-Based Vaccines', Roy R., Ed. ACS Symposium Series, 2008, 989: 36–70.

Patenty

1. U.S. Patent No. 8,444,996 issued 05/21/2013; filed 10/01/2009 NIH (DHHS); A multicomponent vaccine for malaria providing long-lasting immune responses against *Plasmodia*.
2. U.S. Patent No. 8,383,133 issued 02/26/2013, filed 10/16/2006; European Patent No. 07844308.2-2403. Protein Conjugates of *Plasmodium falciparum* Pfs25, a transmission blocking vaccine against malaria.
3. U.S. Patent No. 7,422,755 issued 09/09/2008; filed December 6, 2004, NIH (DHHS); An antimultiorganism glycoconjugate vaccine.
4. U.S. Patent No. 7,625,736 issued 12/01/2009, filed December 6, 2004, NIH (DHHS): Methods for preparing immunogenic conjugates.
5. U. S. Patent No. 12,511,337 issued 07/29/09, filed April 2, 2004 NIH (DHHS)/ European Patent No. 08166066.4-2103: Cholesterol-containing glycolipid of *Borelia burgdorferi* and its use as an immunogen.
6. U.S. Patent No. 7,803,386 issued 09/28/2010, filed June 5, 2003, NIH (DHHS): Polu-gamma-glutamic conjugates for eliciting immune responses directed against *Bacillus anthracis* and other bacilli.

Aplikacje patentowe

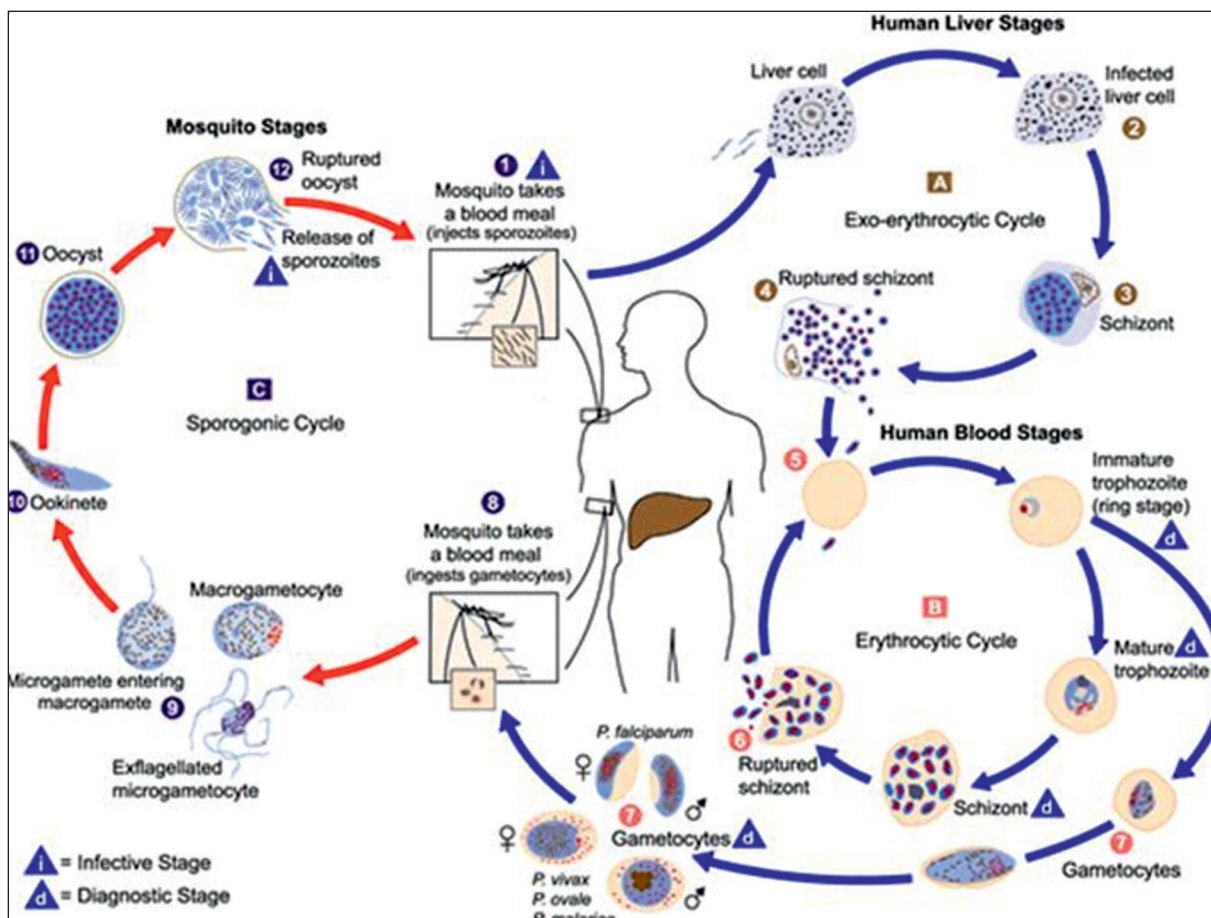
1. U.S. Patent Application No. PCT/US2012/023152, filed January 30, 2012. Pertussis Vaccine.
2. U.S. Patent Application No. PCT/US2012/057863, filed September 28, 2012. Influenza Vaccine.
3. U.S. Patent Application No. PCT/US2007/016373 filed July 18, 2007. Methods for Conjugation of Oligosaccharides or Polysaccharides to Protein Carriers Through Oxime Linkages Via 3-Deoxy-D-Manno-Octulosonic Acid.
4. U.S. Patent Application No. PCT/US09/00995, filed Aug 18, 2010. Use of saccharides cross-reactive with *Bacillus anthracis* spore glycoprotein as a vaccine against anthrax.
5. U.S. Patent Application No. PCT/US2009/065198 filed November 19, 2009. Monoclonal antibodies that react with the capsule of *Bacillus anthracis*.
6. U.S. Patent Application No. 12/541,804, filed August 14, 2009. Vaccines against influenza virus.
7. U.S. Patent Application No. PCT/US2009/053897, filed August 15, 2008. Vaccine for *Shigella sonnei*.

Streszczenie wykładu

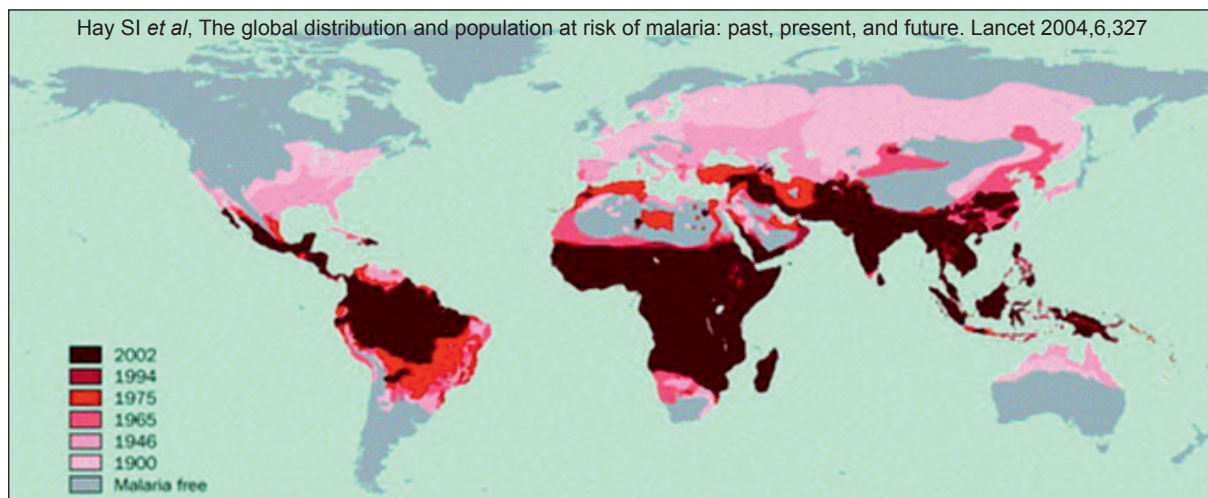
ZAPOBIEGANIE PRZENOSZENIU ZARODŹCÓW MALARII MIĘDZY KOMAREM I CZŁOWIEKIEM – NOWE ROZWIĄZANIA

Malaria, zwana też zimnicą, to najczęstsza na świecie choroba pasożytnicza, na którą co roku zapada ponad 200 milionów osób, a około 1–3 milionów umiera – głównie dzieci poniżej piątego roku życia. Jest ona jedną z najdawniej znanych chorób, której opisy sięgają czasów prehistorycznych – znaleziono je w egipskich papyrusach i notatkach Hipokratesa. Nazwa pochodzi od łacińskich słów *mal* – złe i *aria* – powietrze, co związane jest z jej powszechnym występowaniem na niezdrowych, dusznych i bagnistych terenach.

Malarię u człowieka wywołuje zakażenie jednym z czterech gatunków pierwotniaków z rodzaju *Plasmodium*, a mianowicie: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* lub *P. vivax*. Typowymi objawami choroby są napady dreszczy i wysokiej gorączki, a następnie nagły jej spadek (zimnica)



Rys. 1. Cykl życiowy zarodźców malarii (CDC, <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology>).



Rys. 2. Obszary występowania malarii na świecie w latach 1900–2002.

z obfitym poceniem. Towarzyszą temu często bóle głowy, mięśni, znużenie, wymioty i biegunka. Objawy rozpoczynają się po około 10 *P. falciparum* 16 dniach od ukąszenia człowieka przez zakażonego komara i nawracają co dwa, trzy dni, zależnie od gatunku pasożyta. Zakażenie *P. falciparum* przebiega szybko, może doprowadzić do wyjątkowo ciężkich, czasami śmiertelnych powikłań; najwięcej zgonów powoduje w Afryce. Natomiast zakażenie *P. vivax* ma przebieg łagodniejszy, z okresowymi nawrotami powtarzającymi się nawet co kilka lat (relapses), obecnie najczęściej rozpoznawane jest w Azji.

Zarodźce malarii przenoszone są przez samice (nosiciele) z ponad 60 gatunków komarów z rodzaju *Anopheles*. Inwazyjna postać zarodźca, sporozoit, rozpoczyna cykl życiowy w śliniankach komara. Gdy komar ukłuje żywiciela pożywiając się jego krwią, sporozoit wraz ze śliną komara przenoszone są do jego krwi (Rys. 1). W ciągu kilku godzin przenikają do wątroby, wnikają do hepatocytów, tam namnażają się i tworzą liczne kryptozoity. Następnie dochodzi do inwazji czerwonych krwinek. W krwinkach nadal namnażają się, rosną i prowadzą do ich rozpadu. Z kolei w postaci merozoitów atakują kolejne krwinki w charakterystycznych odstępach czasu, co objawia się typowymi dla choroby nawrotami gorączki i dreszczy. Część merozoitów przekształca się w żeńskie i męskie gametocyty, które połknięte przez komara wraz z wysaną krwią, przenoszą się do jego układu pokarmowego, tam przekształcają się w gamety i rozmnażają płciowo. Powstałe zygoty przenikają przez ścianę jelita, wędrują do gruczołów ślinowych komara, tworzą sporozoitów, zamykają w ten sposób cykl i są gotowe do kolejnego zakażenia człowieka.

Intensywna kampania walki z malarią rozpoczęta w latach 50. XX wieku przez Światową Organizację Zdrowia (WHO), polegająca na powszechnym użyciu insektycydów i nowo opracowanych leków, takich jak chlorochina i jej pochodne, doprowadziła do drastycznego spadku zachorowań, głównie w rejonach stref umiarkowanych. W Polsce malaria występowała endemicznie w XIX wieku. W 1921 roku stwierdzono ponad 52 tysiące zachorowań wywołanych głównie przez *P. vivax*, co zapoczątkowało akcję zwalczania malarii w Polsce. Od 1956 roku notowano tylko sporadyczne zachorowania, a w 1968 roku WHO uznało Polskę za kraj wolny od tej choroby.

Jednakże mimo sukcesu zwalczania malarii w krajach europejskich i północno-amerykańskich, choroba ta wciąż powszechnie występuje w ponad stu krajach strefy tropikalnej i subtropikalnej (Rys. 2), a częstość zakażeń w latach 1970–1997 na obszarach Sahary wzrosła o około

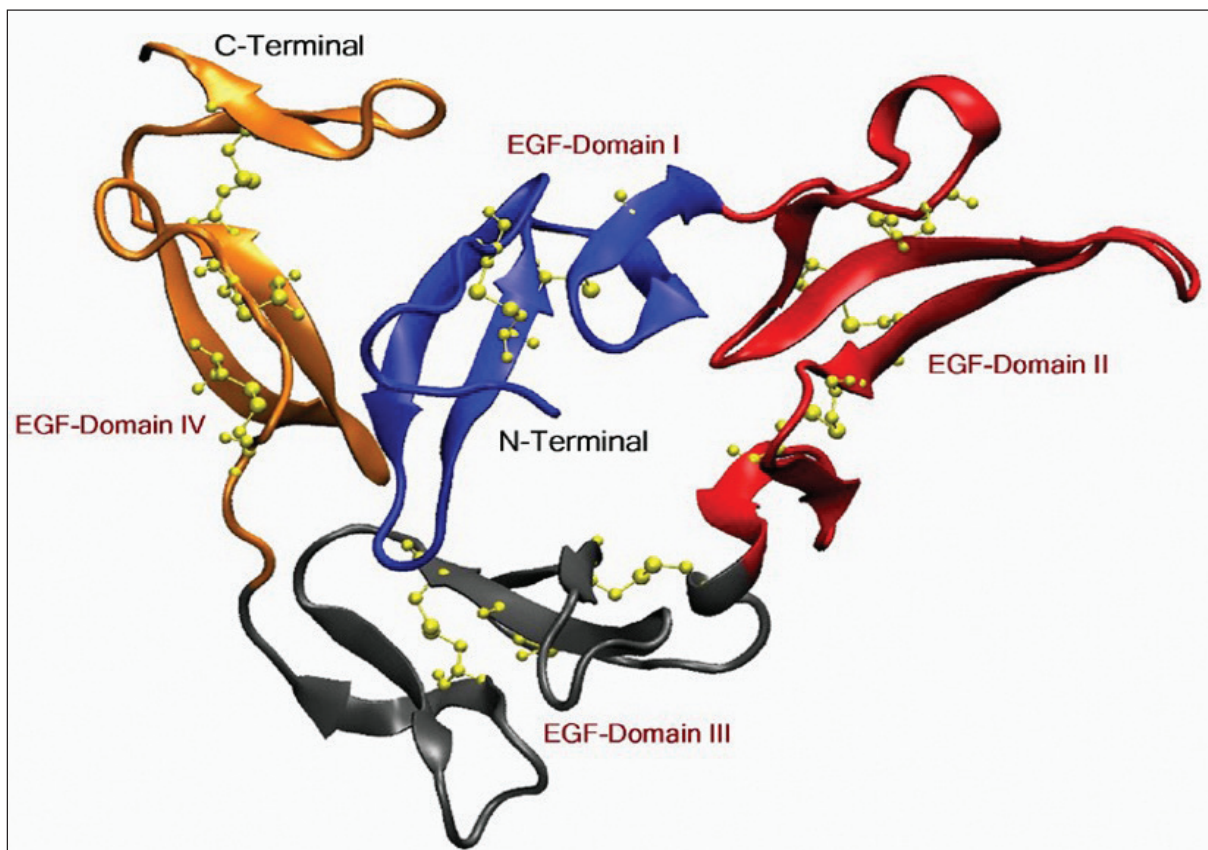
40%. Przyczyną tego stanu jest nie tylko niski poziom rozwoju ekonomicznego w tych regionach, lecz także pojawienie się komarów opornych na środki owadobójcze, jak i zarodźców opornych na stosowane leki. W związku z tym wiele organizacji na całym świecie próbuje zdobyć fundusze potrzebne do walki z malarią. Jednym z programów realizowanych w USA jest tzw. President's Malaria Initiative (PMI) zainicjowany przez prezydenta Busha w 2005 roku, której celem było przeznaczenie ponad biliona dolarów na zredukowanie śmiertelności na malarię o połowę w 19 krajach Afryki. W 2009 roku prezydent Obama przyłączył PMI do U.S. Global Health Initiative, przeznaczając w ramach tego programu ponad 50 bilionów dolarów na kolejne sześć lat na walkę z chorobami zakaźnymi, takimi jak AIDS, malaria i gruźlica.

Najlepszą metodą walki z zakażeniami jest zapobieganie im. W przypadku malarii obejmuje ono zarówno osuszanie bagien, zakładanie moskitier na okna, opryskiwanie pomieszczeń środkami owadobójczymi, ułatwienie dostępu do testów diagnostycznych i profilaktykę farmakologiczną, ale także badania nad wynalezieniem skutecznej szczepionki.

Badania nad szczepionką przeciw malarii rozpoczęto w latach 60. i 70. ubiegłego wieku, kiedy to naukowcy wykazali, że szczepienie zarodźcami osłabionymi przez naświetlanie ich promieniami rentgenowskimi, skutecznie chroni przed zakażeniem. Jednocześnie ochronę przed nim można było uzyskać poprzez ekspozycję ochotników na ukąszenie napromieniowanymi komarami. W tym przypadku pokazano, że sporozycyty dostają się do ich wątroby, ale nie są w stanie atakować czerwonych krwinek i wywoływać objawów choroby. Niestety produkcja takich osłabionych szczepów na większą skalę i ich komercjalizacja jako szczepionki, nie była do tej pory możliwa, choć pomysł ten nie został całkowicie zarzucony.

Obecne badania na szczepionką przeciw malarii wspomagane są przez ogólnosiwiatowy program: PATH Malaria Vaccine Initiative, rozpoczęty w 1999 roku przez fundację Billa Gatesa, któremu przyświeca wizja: świat wolny od malarii. Wiele projektów poświęconych jest zdefiniowaniu pojedynczych antygenów powierzchniowych różnych faz rozwoju zarodźców poprzez: (1) indukcję przeciwciał skierowanych na antygeny powierzchniowe sporozycytów, które będą chronić przed inwazją hepatocytów przez zarodźca; (2) przeciwciał zapobiegających rozwojowi zarodźca w wątrobie; (3) przeciwciał blokujących inwazję erytrocytów; (4) przeciwciał blokujących transmisję zarodźca przez komara. Obecnie ponad 20 projektów na szczepionki przeciwmalaryczne poddanych jest testom klinicznym w ramach Fazy I i II badań, ale tylko jeden z nich jest w Fazie III. Ten ostatni to rekombinowany antygen RTS,S/AS01, ekspresjonowany w *Saccharomyces cerevisiae*, produkowany przez firmę GlaxoSmithKline, który – jak ogłoszono w 2013 roku – w ciągu półtorarocznej próby klinicznej, zmniejszył o około 50% ryzyko zachorowań na malarię dzieci pomiędzy 5. a 17. miesiącem życia i o około 30% u niemowlaków zaszczepionych pomiędzy 6. a 12. tygodniem życia. Preparat ten to hybryda zawierająca fragmenty białka powierzchniowego sporozycytów *P. falciparum*, połączona z antygenem powierzchniowym wirusa zapalenia wątroby, podawana z liposomowym adjuwantem AS01. Choć efektywność tej szczepionki nie jest zadowalająca, jak dotąd nie znaleziono lepszego rozwiązania.

Nasze badania prowadzone w National Institute of Child Health and Human Development we współpracy z National Institute of Allergy and Infectious Disease poświęcone były wynalezieniu szczepionki, która hamowałaby rozwój pasożytów w organizmie komara. Niektórzy nazywają taką szczepionkę altruistyczną, gdyż nie chroni ona bezpośrednio zaszczepionej osoby przed zakażeniem, ale indukuje odporność blokującą przenoszenie zarodźca z komara na kolejnego człowieka. Jednym z rozważanych kandydatów na taką szczepionkę jest antygen białka powierzchniowego Pfs25 (*P. falciparum* surface protein).

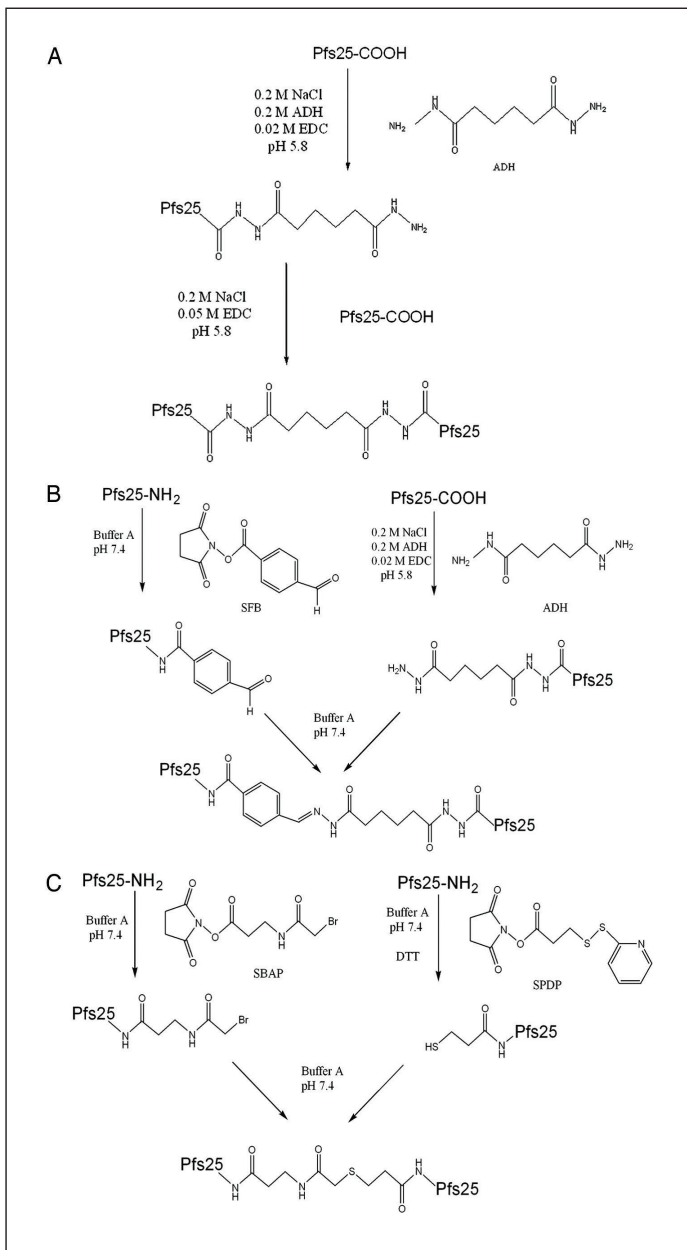


Rys. 3. Model antygeny Pfs25 zawierającego cztery domeny podobne do epidermalnego czynnika wzrostu EGF (Sharma, *In Silico Biol.* 2008, 8,193).

Białko Pfs25 ekspresjonowane jest w fazie rozwoju płciowego pierwotniaka i obecne na powierzchni zygot, ookinet i we wczesnej fazie rozwoju oocyst. Pokrywa ono niemalże całą powierzchnię ookinet i jest niezbędne do ich przeżycia w jelicie komara. Zbudowane jest z czterech domen przypominających epidermalny czynnik wzrostu EGF, uczestniczących w interakcjach z komórkami gospodarza. Antygen ten charakteryzuje się dużą konserwatywnością, gdyż nie jest wykrywalny w fazie rozwoju bezpłciowego w ciele człowieka i nie podlega selekcji immunologicznej. Użycie go jako składnika szczepionki ma na celu wytworzenie przeciwciał, które pobrane przez komara w czasie ukłucia, zapobiegają rozwojowi oocyst w jego ciele poprzez blokowanie możliwości poruszania się w jelicie.

Pierwszym krokiem do użycia Pfs25 jako szczepionki było otrzymanie w laboratorium prowadzonym przez doktora Louisa Millera (NIAID) rekombinowanego białka ekspresowanego w drożdżach *Pichnia pastoris* w dużej ilości i w biologicznej aktywnej formie. Pfs25 jednak, będący małą cząsteczką, ok. 21 kDa, podany sam lub w zawieszynie z adjuwantem okazał się słabym immunogenem zarówno u zwierząt, jak i u ludzi.

Jednakże jego budowa, cztery powtarzające się domeny EGF, przypominała nam budowę polisacharydów zbudowanych z powtarzających się podjednostek. W związku z tym zaproponowaliśmy strategię, której używaliśmy do przygotowania glikokoniugowanych szczepionek, a mianowicie skoniugowania Pfs25 z innym białkiem, jak i do siebie samego, w celu zwiększenia jego masy i immunogenności. Testowaliśmy różne metody koniugacji w celu uzyskania maksymalnej wydajności i powtarzalności. Kilka przykładów pokazanych jest na Rys. 4. W każdym przypadku eksperymentu przeprowadzanego na myszach uzyskaliśmy ponad tysiąc razy wyższy



Rys. 4. Koniugacja Pfs25 poprzez wiązania amidowe (A), hydrazonowe (B) i tioeterowe (C).

poziom przeciwciał niż podając nieskoniugowany preparat, nie używając adjuwantu i szczepiąc podskórnie 3 razy, co dwa tygodnie, dawką 2,5µg Pfs25/mysz.

Najlepszą metodą według nas okazało się łączenie Pfs25 do siebie wiązaniem amidowym. Taki koniugat był prosty do przygotowania i zawierał mieszaninę połączonych ze sobą 2–10 cząsteczek (50–250 kDa), które można było scharakteryzować za pomocą elektroforezy SDS-PAGE i spektrometrii MALDI-TOF. Koniugaty o wyższej masie cząsteczkowej, przygotowane przy użyciu np. wiązań tioeterowych, były trudniejsze do scharakteryzowania i mniej immunogenne. Koniugowanie Pfs25 do innego białka przyniosło podobne rezultaty, ale ich przygotowanie i ocena (np. określenie proporcji nośnika do antygeny) okazały się bardziej skomplikowane. Jednym z najbardziej zaskakujących wyników był fakt, że poziomy przeciwciał zamiast spadać z czasem, co jest cechą obecnie testowanych szczepionek przeciwmalarycznych, rosły aż do siedmiu miesięcy po ostatnim szczepieniu. Taki wynik rokuje wysoką skuteczność szczepionki. W teście blokowania rozwoju oocyst (transmission-blocking activity) surowice myszy wykazały 100% skuteczności.

Efektom badań nad nowym typem szczepionek przeciwmalarycznych blokujących transmisję było ogłoszenie w grudniu 2011 rok współpracy trzech największych liderów w dziedzinie prewencji malarii: PATH Malaria Vaccine Initiative, National Institute of Allergy and Infectious Disease and Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health Center for Immunization Research dotyczącej przeprowadzenia pierwszej próby klinicznej nowej szczepionki koniugatowej blokującej transmisję, mającej na celu określenie jej bezpieczeństwa i immunogenności u zdrowych ochotników.



EMBARGOED FOR RELEASE UNTIL 1700 HOURS GMT // 12:00 NOON EASTERN TIME
ON TUESDAY, DECEMBER 6, 2011

Advancing the development of a malaria transmission-blocking vaccine

*PATH Malaria Vaccine Initiative announces collaboration with the
National Institute of Allergy and Infectious Diseases and the
Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health*

“This is the first clinical trial supported by MVI to use a transmission-blocking approach,” said Ashley Birkett, PhD, director of research and development at MVI. “This is the first step in what is typically a long process of evaluation. Nonetheless, we are excited by the potential of TBVs to significantly limit the spread of malaria infection. Eradication of malaria may be decades away, but we believe a successful TBV—used alongside safe and effective drugs, insecticides, bednets, and possibly a malaria vaccine that protects the individual against infection and disease – would be essential to achieving that goal.”

Sprawozdanie z XX Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 9 kwietnia 2014 roku odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda kolejne, XX Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski, spotkał się w sali konferencyjnej w gronie przyjaciół i współpracowników z zaproszonym wykładowcą, dr hab. Joanną Kübler-Kiełb, która uzyskała stopień doktora nauk przyrodniczych w IITD PAN w 1999 roku, a obecnie pracuje w Eunice Kennedy Shiver National Institute of Child Health and Human Development Narodowego Instytutu Zdrowia (NIH) w Bethesda (USA).

O godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie, które otworzył przewodniczący komisji. Uroczyste powitał zebranych słuchaczy, którzy wypełnili aulę (około 190 osób). Przeważali uczniowie i nauczyciele wrocławskich szkół średnich: Liceum nr IV, VII, X, XVII oraz Zespołu Szkół nr V. Ponadto obecni byli studenci, doktoranci, pracownicy naukowcy instytutu oraz inni goście. Profesor Radzikowski zachęcał zebranych do zadawania pytań – pierwszeństwo dając uczniom i studentom – a także do udziału w nieformalnym „spotkaniu po spotkaniu” przy kawie w sali konferencyjnej.

Prof. Czesław Radzikowski zaznaczył, że wykład dedykowany jest pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”. Po krótkim wstępie poprosił prof. Andrzeja Gamiana, promotora rozprawy doktorskiej dr Kübler-Kiełb, o kilka słów na temat jej sylwetki naukowej i publikacji (informacja biograficzna przedstawiona osobno).

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. **Zapobieganie przenoszeniu zarodźców malarii między komarami i człowiekiem – nowe rozwiązania**. W ponadgodzinnej prezentacji wykładowniczyni omawiając wyniki swoich niezwykle ciekawych badań, przedstawiła m.in. objawy choroby, cykl życiowy zarodźców malarii oraz obszary jej występowania. Wskazała metody walki z zakażeniami, w tym zapobieganie poprzez szczepienia. Duże zaciekawienie wywołał krótki film, pokazujący jak aparat gębowy komara przebija skórę i wije się w poszukiwaniu naczynia krwionośnego, z którego mógłby zassać krew. Wyniki badań prowadzonych przez jej zespół, poświęconych wynalezieniu szczepionki, która hamowałaby rozwój pasożytów w organizmie komara, są bardzo obiecujące. Obecnie prace nad szczepionką przeciw malarii wspomagane są przez ogólnoswiatowy program: PATH Malaria Vaccine Initiative, rozpoczęty w 1999 roku przez fundację Billa Gatesa.

Wykład spotkał się z dużym zainteresowaniem słuchaczy. W spotkaniu po wykładzie uczestniczyło 17 osób, w tym: członkowie komisji, goście z Uniwersytetu Medycznego, Politechniki Wrocławskiej, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz byli współpracownicy z IITD i inne osoby związane z tym środowiskiem.

Na XX spotkaniu byli obecni członkowie KPM PAU: prof. Janusz Boratyński, prof. Czesław Radzikowski; pozostali nie usprawiedliwili swojej nieobecności.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXI otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

23 kwietnia 2014 roku

z udziałem dr hab. Ilony KRYCZEK

University of Michigan, Ann Arbor, Michigan USA

Tytuł wykładu wprowadzającego:

„NOWOTWÓR JAKO NASTĘPSTWO NIEPOŻĄDANEGO DZIAŁANIA UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO”*

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

Spotkanie odbędzie się

**o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr hab. n. przyr. Ilona Kryczek – informacja biograficzna

Assistant Professor, University of Michigan School of Medicine
Ann Arbor MI 48109-2200
Email: ilonak@umich.edu

Wykształcenie

Praca magisterska 1994
Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, kierunek Biotechnologia, (promotor:
prof. dr Andrzej Lange)

Rozprawa doktorska 2000
„Relacja pomiędzy ekspresją protoonkogenów (bcl-2, erb-B2) a poziomem konstytutywnie produkowanej przez komórki raka jajnika IL-6 w odniesieniu do aktywności proliferacyjnej guza”;
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Zakład Immunologii Klinicznej, Wrocław
(promotor: prof. dr Andrzej Lange)

Rozprawa habilitacyjna 2010
„Wybrane elementy z biologii i mechanizmów immunosupresorowych raka jajnika”, Instytut
Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Zakład Immunologii Klinicznej, Wrocław

Zatrudnienie

Biotechnolog 1994–1997
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Zakład Immunologii Klinicznej, Wrocław

Asystent 1997–2002
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, PAN, Zakład Immunologii Klinicznej, Wrocław

Starszy asystent 2002 – obecnie
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, PAN, Zakład Immunologii Klinicznej, Wrocław

Research fellow 2002–2003
INSERM U-131, ‘Cytokines et Immunorégulation’, Paris-Clamart, Francja

Junior research fellow 2004–2006
Tulane University, Department of Medicine, Nowy Orlean, USA

Senior research fellow 2006–2007
Michigan University, Surgery Department, Ann Arbor, USA

Research instructor 2007–2011
Michigan University, Surgery Department, Ann Arbor, USA

Assistant Professor 2011 – obecnie
Michigan University, Surgery Department, Ann Arbor, USA

Staż zagraniczne

- Staż 3-miesięczny 1993
Department of Medical Sciences, State University of Columbus, Columbus, USA
- Staż szkoleniowy „Półilościowa analiza RT-PCR” 1994
Institut für Medizinische Immunologie Universitätsklinikum Charite, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Niemcy
- Staż szkoleniowy „Techniki cytometryczne” 1997
Institut für Medizinische Immunologie Universitätsklinikum Charite, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Niemcy

Nagrody

- Nagroda zespołowa Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu 2001
za najlepszą pracę wykonaną w współpracy z AM we Wrocławiu (Kryczek I., Gryboś M., Karabon L., Klimczak A., Lange A. Brit. J. Cancer, 2000, vol. 82(3), 621–628)
- Nagroda im. A. Baczko 2002
za najlepszą pracę doktorską w latach 1999–2001 w dziedzinie medycyny niezabiegowej przyznana przez Towarzystwo Popierania i Krzewienia Nauki
- Nagroda za najlepszą prezentację 2004
przedstawioną na Konferencji: Sixteenth Annual Tulane Health Sciences Research Day, Tulane University Health Science Center, Nowy Orlean, USA
- Nagroda Naukowa Wydziału Nauk Medycznych PAN 2005
za cykl 8 prac dotyczących polimorfizmu genetycznego i właściwości biologicznych cytokin o istotnym znaczeniu klinicznym w transplantologii i raku jajnika (przyznana osobom: Lange A., Bogunia-Kubik K., Dłubek D., Kryczek I.)
- Nagroda za najlepszą prezentację 2007
przedstawioną na Konferencji: Moses Gunn Annual Research Conference, Ann Arbor, USA
- AAI Early Career Faculty Travel Grant 2013
Nagroda Amerykańskiego Towarzystwa Immunologicznego dla naukowców na wczesnym poziomie kariery naukowej

Członkostwo w stowarzyszeniach

- Członek Amerykańskiego Towarzystwa Immunologicznego
(American Association of Immunologists)
- Członek Amerykańskiego Towarzystwa Badań nad Rakiem
(American Association of Cancer Research)

Działalność dydaktyczna

Opieka nad studentami (mentoring prac licencjackich, magisterskich i doktorskich)

Promotor pomocniczy pracy doktorskiej 2010/2013

Yanwei Li, tytuł pracy: "The role of Treg cells in patients with prostate cancer".

Studia doktoranckie łączone: Szkoła Medyczna Uniwersytetu Michigan w (Ann Arbor, USA) oraz Szkoła Medyczna Uniwersytetu Shanghai Jiao-Tong (Shanghai, Chiny)

Promotor pomocniczy pracy doktorskiej 2009/2012

Ende Zhao, tytuł pracy: "The role of Treg cells in patients with prostate cancer".

Studia doktoranckie łączone: Szkoła Medyczna Uniwersytetu Michigan w (Ann Arbor, USA) oraz Szkoła Medyczna Tongji (Wuhan, Hubei, Chiny)

Promotor pomocniczy pracy doktorskiej 2006/2011

Cailin Wilke, tytuł pracy: "Interleukin 10 in the Control of Tumor Immunity autoimmunity".

Studia doktoranckie: Szkoła Medyczna Uniwersytetu Michigan w (Ann Arbor, USA)

Promotor pomocniczy pracy doktorskiej 2007/2009

Ke Wu, tytuł pracy: "The function of B7H1 in HCC cancer biology".

Studia doktoranckie łączone: Szkoła Medyczna Uniwersytetu Michigan w (Ann Arbor, USA) oraz Szkoła Medyczna Tongji (Wuhan, Hubei, Chiny)

Promotor pracy magisterskiej 2002/2003

„Rola chemokin w chorobach nowotworowych”. Emilia Jaskuła, Politechnika Wrocławska, Wydział Biotechnologii

Promotor pracy magisterskiej 2002/2003

„Badania mutacji w obrębie genu BRCA1 u osób obciążonych rodzinnym występowaniem. raka gruczołu piersiowego na poziomie sekwencji genu z odniesieniem częstości mutacji w obrębie zwyczajowo badanych w Polsce mutacji egzonu 5,11,20”. Magdalena Lange, Uniwersytet Wrocławski, kierunek: Biotechnologia

Promotor pracy licencjackiej 2001/2002

„Udział ekspresji genów chemokin i ich receptorów w patogenezie chłoniaków. Emilia Jaskuła, Politechnika Wrocławska, Wydział Biotechnologii

Promotor pracy licencjackiej 2000/2001

„Rola onkogenu HER-2 w patogenezie raka jajnika”. Magdalena Lange, Uniwersytet Wrocławski, kierunek: Biotechnologia

Promotor pracy licencjackiej 1999/2000

„Analiza ekspresji genów bcl-2, erbB2 oraz IL-6 w zaawansowanym raku jajnika”. Monika Marciniak, Politechnika Wrocławska, Wydział Biotechnologii

Prace oryginalne

1. Cui TX, Kryczek I, Zhao L, Zhao E, Kuick R, Roh MH, Vatan L, Szeliga W, Mao Y, Thomas DG, Kotarski J, Tarkowski R, Wicha M, Cho K, Giordano T, Liu R, Zou W. Myeloid-derived suppressor cells enhance stemness of cancer cells by inducing microRNA101 and suppressing the corepressor CtBP2. *Immunity*. 2013 Sep 19;39(3):611–21 (Kryczek I. and Cui TX. equally contributed).
2. Zhao E, Wang L, Dai J, Kryczek I, Wei S, Vatan L, Altuwaijri S, Sparwasser T, Wang G, Keller ET, Zou W. Regulatory T cells in the bone marrow microenvironment in patients with prostate cancer. *Oncoimmunology*. 2012 Mar 1;1(2):152–161.
3. Tanikawa T, Wilke CM, Kryczek I, Chen GY, Kao J, Núñez G, Zou W. Interleukin-10 Abolition Promotes Tumor Development, Growth, and Metastasis. *Cancer Research*, 2012 72(2):420–9.
4. Kryczek I, Liu S, Roh M, Vatan L, Szeliga W, Wei S, Banerjee M, Mao Y, Kotarski J, Wicha MS, Liu R, Zou W. Expression of aldehyde dehydrogenase and CD133 defines ovarian cancer stem cells. *International Journal of Cancer*, 2012, 130(1): 29–39.
5. Kryczek I, Zhao E, Liu Y, Wang Y, Vatan L, Szeliga W, Moyer J, Klimczak A, Lange A, Zou W. Human TH17 Cells Are Long-Lived Effector Memory Cells. *Science Translational Medicine*, 2011, 3(104):104ra100.
6. Wilke CM, Wang L, Wei S, Kryczek I, Huang E, Kao J, Lin Y, Fang J, Zou W. Endogenous interleukin-10 constrains Th17 cells in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Translational Medicine*, 2011 Dec 16;9(1):217.
7. Kryczek I, Wu K, Zhao E, Wei S, Vatan L, Szeliga W, Huang E, Greenson J, Chang A, Rolinski J, Radwan P, Fang J, Wang G, Zou W. IL-17+ Regulatory T Cells in the Microenvironments of Chronic Inflammation and Cancer. *Journal of Immunology*, 2011 1;186(7):4388–95.
8. Mazur G, Jaskuła E, Kryczek I, Dłubek D, Butrym A, Wróbel T, Lange A, Kuliczowski K. Proinflammatory chemokine gene expression influences survival of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 2011;49(2):240–7.
9. Wei S, Kryczek I, Namm J, Szeliga W, Vatan L, Chang, AE, Zou WP. Endogenous IL-17, tumor growth, and metastasis. *Blood* 2010 115(12), 2556–7.
10. Wu K, Kryczek I, Chen L, Zou W, Welling TH. Kupffer Cell Suppression of CD8+ T Cells in Human Hepatocellular Carcinoma Is Mediated by B7-H1/Programmed Death-1 Interactions. *Cancer Research*. 2009; 69(20):8067–75.
11. Kryczek I, Liu R, Wang G, Wu K, Shu X, Szeliga W, Vatan L, Finlayson E, Huang E, Simeone D, Redman B, Welling TH, Chang A, Zou W. FOXP3 Defines Regulatory T Cells in Human Tumor and Autoimmune Disease. *Cancer Research*, 2009;69(9):3995–4000.
12. Kryczek I, Banerjee M, Cheng P, Vatan L, Szeliga W, Wei S, Huang E, Finlayson E, Simeone D, Welling TH, Chang A, Coukos G, Liu R, Zou W. Phenotype, distribution, generation, functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments; *Blood*. 2009;114(6):1141–9; (Kryczek I. jest pierwszym i korespondencyjnym autorem).
13. Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood*. 2009; 114(2):357–9.
14. Kryczek I, Bruce AT, Gudjonsson JE, Johnston A, Aphale A, Vatan L, Szeliga W, Wang Y, Liu Y, Welling TH, Elder JT, Zou W. Induction of IL-17+ T cell trafficking and development by IFN-gamma: mechanism and pathological relevance in psoriasis. *Journal of Immunology*, 2008, 181(7):4733–41.

15. **Kryczek I, Wei S, Gong W, Shu X, Szeliga W, Vatan L, Chen L, Wang G, Zou W.** Cutting edge: IFN-gamma enables APC to promote memory Th17 and abate Th1 cell development. *Journal of Immunology*, 2008, 181(9):5842–6.
16. **Kryczek I., Wei S., Zhu G., Myers L., Mottram P., Cheng P., Chen L., Coukos G., Zou W.** Relationship between B7-H4, Regulatory T Cells, and Patient Outcome in Human Ovarian Carcinoma. *Cancer Research*, 2007, 67(18): 8900–5.
17. **Kryczek I, Wei S, Zou L, Altuwajri S, Szeliga W, Kolls J, Chang A, Zou W.** Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology*, 2007, 178(11):6730–3.
18. **Kryczek I, Wei S, Vatan L, Escara-Wilke J, Szeliga W, Keller ET, Zou W.** Cutting Edge: Opposite Effects of IL-1 and IL-2 on the Regulation of IL-17+ T Cell Pool IL-1 Subverts IL-2-Mediated Suppression. *Journal of Immunology*, 2007, 179(3):1423–6.
19. **Wei S, Kryczek I, Edwards RP, Zou L, Szeliga W, Banerjee M, Cost M, Cheng P, Chang A, Redman B, Herberman RB, Zou W.** Interleukin-2 Administration Alters the CD4+FOXP3+ T-Cell Pool and Tumor Trafficking in Patients with Ovarian Carcinoma. *Cancer Research*, 2007; 67(15):7487–94; (**Kryczek I.** and **Wei S.** equally contributed).
20. **Kryczek I, Wei S, Zou L., Zhu G., Mottram P., Xu H., Cheng L., Zou W.** Induction of B7-H4 on APCs through IL-10: Novel Suppressive Mode for Regulatory T Cells. *Journal of Immunology*, 2006, 177(1):40–4.
21. **Kryczek I, Zou W.** Response to Comment on "Cutting Edge: Induction of B7-H4 on APCs through IL-10: Novel Suppressive Mode for Regulatory T Cells". *Journal of Immunolog.*, 2007 178:4706.
22. **Kryczek I, L Zou, G Zhu, P Mottram, M Brumlik, X Alvarez, P Cheng, S Wei, L Myers, A Lackner, L Chen, W Zou.** B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *Journal of Experimental Medicine*, 2006, 203(4): 871–81.
23. **Lange A, Werkun J, Dłubek D, Juda C, Gryboś M, Kryczek I.** Korzystne działanie wysokodawkowej chemioterapii z HSCT u chorych z zaawansowanym rakiem jajnika w pełnej remisji klinicznej. *Współczesna Onkologia*, 2006, 5: 236–9.
24. **Barnett B, Kryczek I, Cheng P, Zou W, Curiel TJ.** Regulatory T cells in ovarian cancer: biology and therapeutic potential. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2005, 54(6):369–77.
25. **Wei S, Kryczek I, Zou LH, Daniel B, Cheng P, Mottram P, Curiel T, Lange A, Zou W.** Plasmacytoid dendritic cells induce CD8(+) regulatory T cells in human ovarian carcinoma. *Cancer Research*, 2005 65 (12): 5020–6 (**Kryczek I.** and **Wei S.** equally contributed).
26. **Kryczek I, Lange A, Mottram P, Alvarez X, Cheng P, Hogan M, Moons L, Wei S, Zou LH, Machelon V, Emilie D, Terrassa M, Lackner A, Curiel TJ, Carmeliet P, Zou W.** CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers. *Cancer Research*, 2005 65 (2): 465–72.
27. **Kryczek I, Frydman N, Gaudin F, Krzysiek R, Fanchin R, Emilie D, Chouaib S, Zou W, Machelon V.** The chemokine SDF-1/CXCL12 contributes to T lymphocyte recruitment in human pre-ovulatory follicles and coordinates with lymphocytes to increase granulosa cell survival and embryo quality. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2005, 54(5):270–83.
28. **Curiel TJ, Coukos G, Zou LH, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen LP, Zou WP** Specific recruitment of regulatory

- T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nature Medicine*, 2004 10 (9): 942-949.
29. Curiel TJ, Cheng P, Mottram P, Alvarez X, Moons L, Evdemon-Hogan M, Wei S, Zou LH, **Kryczek I**, Hoyle G, Lackner A, Carmeliet P, Zou W. Dendritic cell subsets differentially regulate angiogenesis in human ovarian cancer. *Cancer Research*, 2004, 64 (16): 5535–8.
 30. **Kryczek I**, Grybos M, Dlubek D, Klimczak A, Rabczynski J, Lange A. Accumulation of CD45RO(+) cells in peritoneal carcinomatous fluid favours survival of ovarian carcinoma patients. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2002, 51(9), 513–9.
 31. Dlubek D, Dybko J, Wysoczanska B, Laba A, Klimczak A, **Kryczek I**, Konopka L, Lange A. Enrichment of normal progenitors in counter-flow centrifugal elutriation (CCE) fractions of fresh chronic myeloid leukemia leukapheresis products. *European Journal of Haematology*, 68(5), 2002, 281–8.
 32. Tokarska M, Kosowska B, Wiench M, Zdrojewicz Z, **Kryczek I**. Sequencing of caprine alpha S1 casein cDNAs confirms the accuracy of the RT-PCR approach for detecting of the variants of the gene. *Journal of Applied Genetics*, 42 (4), 2001, 479–91.
 33. **Kryczek I**, Gryboś M, Karabon L, Klimczak A, Lange A. IL-6 production in ovarian carcinoma is associated with histiotype and biological characteristics of the tumor and influences local immunity. *British Journal of Cancer* 2000, vol. 82(3), 621–8.

Prace przeglądowe

34. Wei S, Zhao E, **Kryczek I**, Zou W. Th17 cells have stem cell-like features and promote long-term immunity. *Oncoimmunology*, 2012, 1(4):516–9.
35. Zhao E, Xu H, Wang L, **Kryczek I**, Wu K, Hu Y, Wang G, Zou W. Bone marrow and the control of immunity. *Cellular & Molecular Immunology*, 2012, 9(1):11–9.
36. Wilke CM, Wei S, Wang L, **Kryczek I**, Kao J, Zou W. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon- γ . *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2011 60(11):1529–41.
37. Wilke CM, **Kryczek I**, Wei S, Zhao E, Wu K, Wang G, Zou W. Th17 Cells in Cancer: Help or Hindrance? *Carcinogenesis*, 2011; 32(5):643–649.
38. Wilke CM, **Kryczek I**, Zou W. Antigen-Presenting Cell (APC) Subsets in Ovarian Cancer. *International Reviews of Immunology*, 2011; 30(2–3):120–6.
39. Ruter J, Barnett BG, **Kryczek I**, Brumlik MJ, Daniel BJ, Coukos G, Zou W, Curiel TJ. Altering regulatory T cell function in cancer immunotherapy: a novel means to boost the efficacy of cancer vaccines. *Frontiers in Bioscience*, 2009, 1;14:1761–70.
40. **Kryczek I**, Wei S, Keller E, Liu R, Zou W. Stromal derived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2007, 292(3):C987–95.
41. **Kryczek I**, Zou W. Regulatory T cell compartmentalization and trafficking. *Blood*, 2006, 108(2):426–31.
42. Rüter J., Barnett B., **Kryczek I.**, Brumlik M., Daniel B., Coukos G., Zou W., Curiel T. Manipulating T regulatory cells in cancer immunotherapy. *Expert Review of Dermatology*. 2006, Vol. 1, No. 4, Pages 589–97.
43. Wei S., **Kryczek I.**, Zou L., Curiel T., Cheng P., Zou W. Novel Tumor Immunotherapy: Targeting Dysfunctional Antigen Presenting Cells. *Discovery Medicine*, 2005, 5(29): 489–492.
44. Mazur G., Jaskuła E., **Kryczek I.**, Udział chemokin w chorobach nowotworowych. *Advances In Clinical And Experimental Medicine*, 2004, 13, 2.

45. Lange A, Dłubek D, Gryboś M, Klimczak A, **Kryczek I**. Biologiczne uwarunkowania wysokodawkowanej chemioterapii w rakach piersi, jajnika i raka drobnokomórkowego płuc. *Współczesna Onkologia*, 2000, 4(5), 203–6.
46. **Kryczek I**, Gryboś M, Lange A. Produkcja IL-6 charakteryzuje komórki raka jajnika i ma znaczenie biologiczne i kliniczne (Biological and clinical impact of IL-6 production by ovarian carcinoma cells). *Współczesna Onkologia*, 1999, 3(5), 195–8.

Rozdziały książek

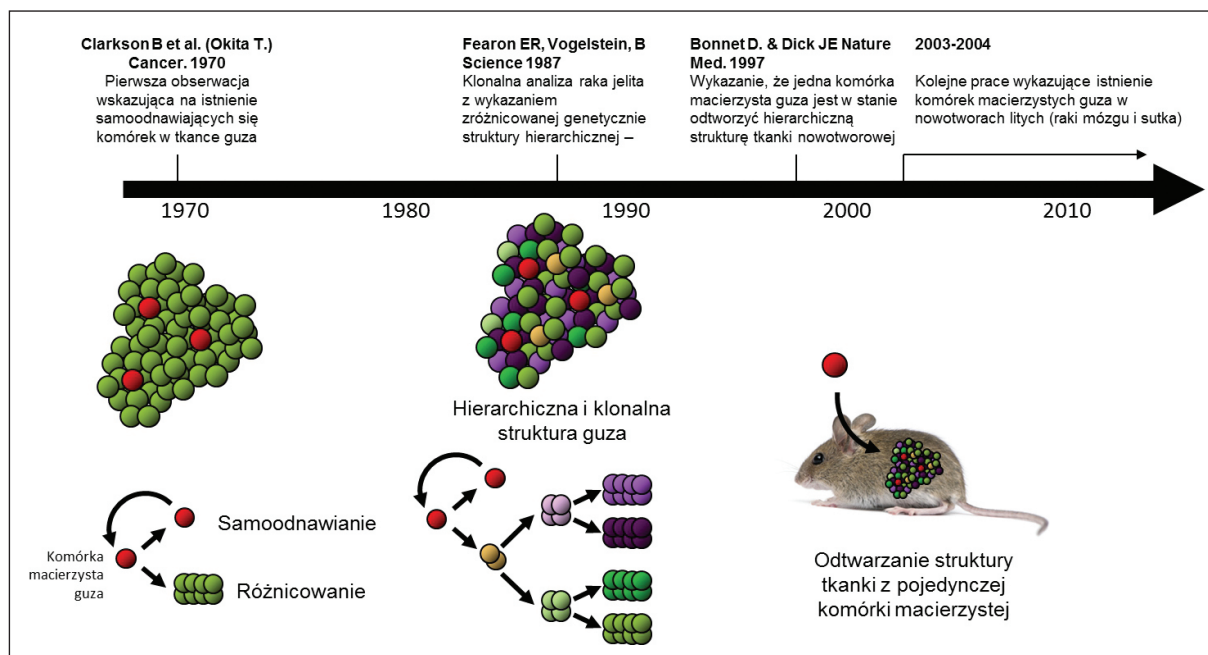
47. **Kryczek I**, Wu K, Zhao E, Wang G, Zou W. Innate Immune Regulation and Cancer Immunotherapy. Chapter 10. Relationship between Th17 and Regulatory T cells in Tumor Environment, Pages 175–193, Editor: Rongfu Wang, ISBN: 978-1-4419-9913-6, Publisher: Springer, 2012, New York.
48. Wilke CM, Wei S, Wang L, **Kryczek I**, Fang I, Wang G, Zou W. Cancer Immunotherapy, Chapter 2. T Cell and Antigen-Presenting Cell Subsets in the Tumor Microenvironment. Pages 17–44, Editor: T.J. Curiel, ISBN 978-1-4614-4732-0, Publisher: Springer, 2011, New York.
49. Barnett B, Rueter J, **Kryczek I**, Brumlik M, Cheng P, Daniel B, Coukos G, Zou W, Curiel T. Regulatory T cells: A new frontier in cancer immunotherapy. Editors: Coukos G., Berchuck A., ISBN 9780387689661), Publisher: Springer, New York, April 2008.
50. **Kryczek I**, Zou W. Regulatory T cells and Clinical Application. Part II Regulatory T cells in Disease and Clinical application, Chapter 20. Regulatory T cells and Tumor Immunotherapy, Pages 379–392, Editor: Shuiping Jiang, ISBN 978-0-387-77908-9, Publisher: Springer, New York, 2008.
51. Rüter J, Barnett B, **Kryczek I**, Brumlik M, Daniel B, Coukos B, Zou W, Curiel T. Cancer Vaccines and Tumor Immunity, Chapter 12. T Regulatory Cell Manipulation in Tumor Immunotherapy. Editors: Orentas R., Hodge JW, Johnson B., ISBN 978-0-470-07474-9, October 2007.
52. **Kryczek I**, Lange A. Rozdział Immunoterapia. (w części II Metody leczenia w onkologii – diagnostyka i leczenie) do książki *Onkologia Ginekologiczna*. Redaktor J. Markowska, (ISBN 83-87944-13-0) wydawnictwo: Urban & Partner, Wrocław 2002, s: 218–235.

Streszczenie wykładu
NOWOTWÓR
JAKO NASTĘPSTWO NIEPOŻĄDANEGO DZIAŁANIA
UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO

Niniejszy wykład ma na celu przedstawienie dość kontrowersyjnej koncepcji, według której nasz własny system odpornościowy zmienić może kod genetyczny/epigenetyczny wybranych komórek, prowadząc do ich transformacji nowotworowej, nabycia zdolności do wzrostu inwazyjnego, do przerzutowania, a w okresie remisji choroby do wznowy procesu nowotworowego w tak zwanym „drzemiącym przerzucie”.

Koncepcja ta jest atrakcyjna klinicznie, gdyż pozwala nam przyjąć, że jeśli takie mechanizmy istnieją oraz jeżeli będziemy potrafili je poznać, to wskazać to może nową strategię leczenia przeciwnowotworowego znacznie skuteczniejszymi i bezpieczniejszymi czynnikami i lekami biologicznymi.

Dla zrozumienia istoty nowotworzenia, jak również całego wykładu, ważne jest wprowadzenie definicji komórki macierzystej nowotworu. Współcześnie nowotwór spostrzega się jako uporządkowaną jak w narządzie tkankę, a nie jako zbiór zmienionych komórek, w którym jedynie mały ich odsetek wykazuje zdolność do inwazyjnego wzrostu, przemieszczania się i tworzenia

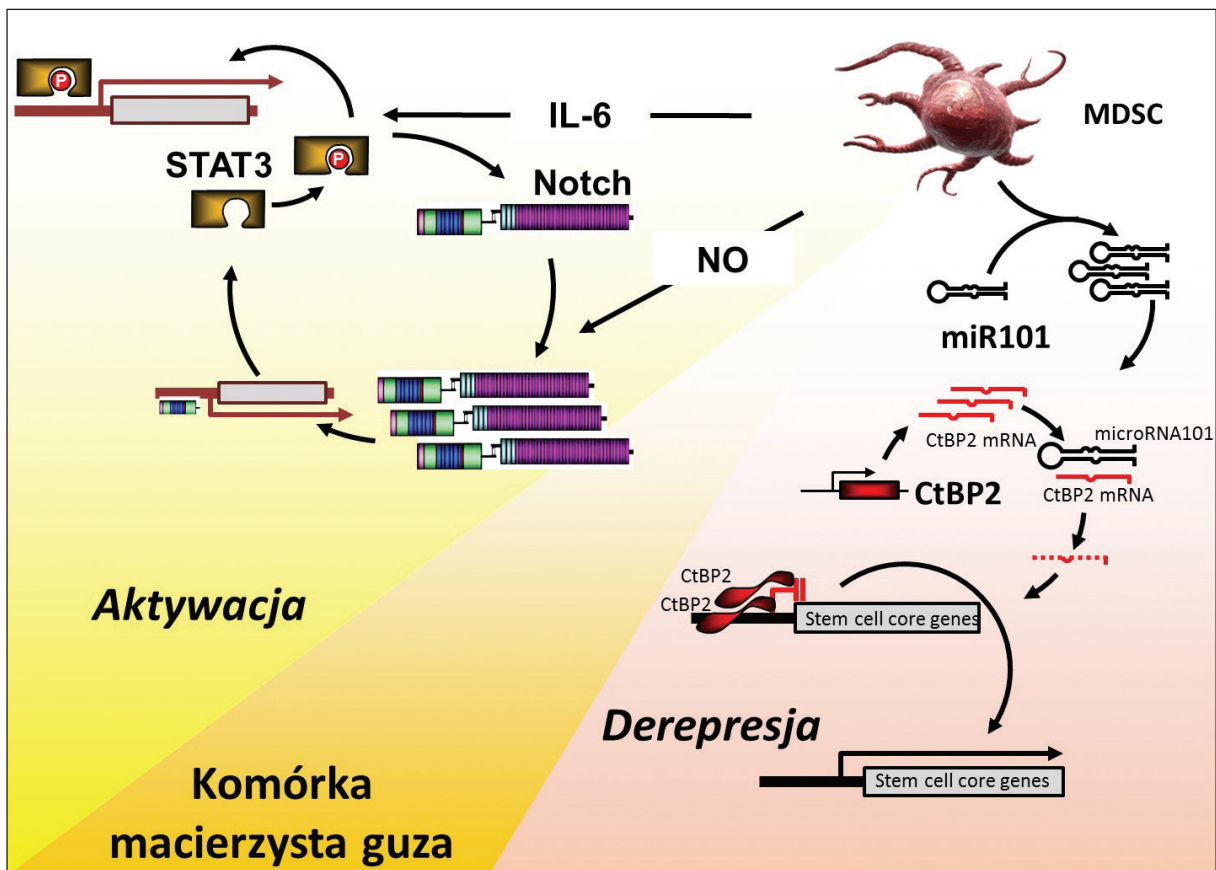


Rys. 1. Rozwój koncepcji komórki macierzystej nowotworu.

przerzutów. Komórki te nazywamy komórkami macierzystymi nowotworu i one stanowią obecnie największe wyzwanie w rozważaniu nowej strategii leczenia przeciwnowotworowego.

Historycznie koncepcja istnienia komórek macierzystych nowotworu została wprowadzona już w 1970 roku. Odkryto wtedy, że niektóre komórki nowotworowe zachowują się tak, jak normalne komórki macierzyste (embrionalne) – posiadają zdolność samoodtwarzania i odtwarzania hierarchicznej struktury guza nowotworowego. 20 lat później Fearon i Vogelstein opisali strukturę raka jelita, przedstawiając nowotwór jako złożoną tkankę, składającą się z różnego typu komórek, na różnym stopniu zróżnicowania i co najważniejsze – różniącą się między sobą kodem genetycznym. To ostatnie spostrzeżenie było bardzo istotne, jako że wszystkie komórki w naszym organizmie są genetycznie identyczne, jedynie komórki nowotworowe różnią się kodem (Rys. 1).

W 1971 roku Alfred Knudson zaproponował hipotezę przyjmującą, że nowotwór powstaje na skutek nagromadzenia się mutacji w DNA komórki. Autor ten na podstawie badań siatkowca przeprowadził analizę statystyczną i wyliczył, że prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji wynosi 2×10^{-7} . Prawdopodobieństwo to później zostało zweryfikowane eksperymentalnie i statystycznie przez wiele grup badawczych. Kiedy jednak zastanowimy się i zbierzemy razem



Rys.2. Schemat interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi i MDSC. MDSC zwiększają liczbę kopii miR101 (microRNA-101). miR101 wiąże i hamuje translację represora CtBP2. Obniżenie się poziomu represora CtBP2 powoduje odblokowanie genów macierzystości (Stem Cell Core Genes). Odblokowanie nie wystarczy do aktywacji programu embrionalnego. Równolegle MDSC produkują NO i IL-6. IL-6 aktywuje szlak STAT3, a NO szlak Notch. Obydwa szlaki wzmacniają się wzajemnie, uzyskując poziom i kinetykę aktywacji niezbędną do uruchomienia programu embrionalnego.

wszystkie fakty oraz prawdopodobieństwa, to okaże się, że w przeciągu nawet długiego życia (100 lat) nikt nie powinien zachorować na nowotwór, bo prawdopodobieństwo, że w jednej komórce nastąpi tyle mutacji, ile jest niezbędnych dla powstania nowotworu jest niezmiernie niskie (10^{-15}). Te obserwacje spowodowały, że zaczęliśmy się baczniej przyglądać środowisku, w jakim powstaje nowotwór, szukając czynnika, który by sprzyjał jego powstawaniu. W krótszym, z punktu statystycznego, życiu człowieka stwierdza się nowotwory właściwie w każdym narządzie i tkance, a tym, co je łączy, jest wszechobecność komponentów układu odpornościowego. W naszych badaniach skupiliśmy się na szczegółowej analizie kolejnych składowych tego układu z punktu widzenia interakcji z komórkami nowotworowymi, a szczególnie z ich komórkami macierzystymi.

Jedną z ważniejszych składowych układu odpornościowego, istotną z tego punktu widzenia, były mieloidalne komórki supresorowe (MDSC). Komórki MDSC stanowią unikalną populację, której funkcją jest regulacja działania układu odpornościowego, w tym i obniżanie czy wyłączenie jego funkcji. Ta aktywność jest niezwykle ważna, gdyż chroni organizm przed chorobami autoimmunologicznymi, jak również przed zniszczeniem tkanki, spowodowanym nadmiernie silną odpowiedzią na infekcję. Jednakże w odniesieniu do procesu nowotworowego ta aktywność tłumiąca jest niekorzystna, gdyż powoduje nieefektywną reakcję przeciwnowotworową, a co gorsza, może w konsekwencji promować wzrost nowotworu. W oparciu o dwa doświadczalne modele nowotworowe (raka piersi i raka jajnika) wykazaliśmy, że komórki MDSC nie tylko hamują aktywność układu odpornościowego, ale – co więcej – mogą modyfikować agresywność komórek nowotworowych, podwyższając ich zdolność do wzrostu inwazyjnego, migracji i tworzenia przerzutów, a także do inicjowania wznowy wzrostu nowotworowego. Aby dokonać tak drastycznych zmian w komórce, porównywalnych do procesu transformacji nowotworowej, komórki MDSC uruchamiają proces „powrotu do korzeni” – czyli proces różnicowania wstecznego – przekształcania się komórki nowotworowej w jej komórkę macierzystą o cechach podobnych do komórek embrionalnych.

Rys. 3. przedstawia mechanizm uruchamiania „programu embrionalnego” przez komórki MDSC.

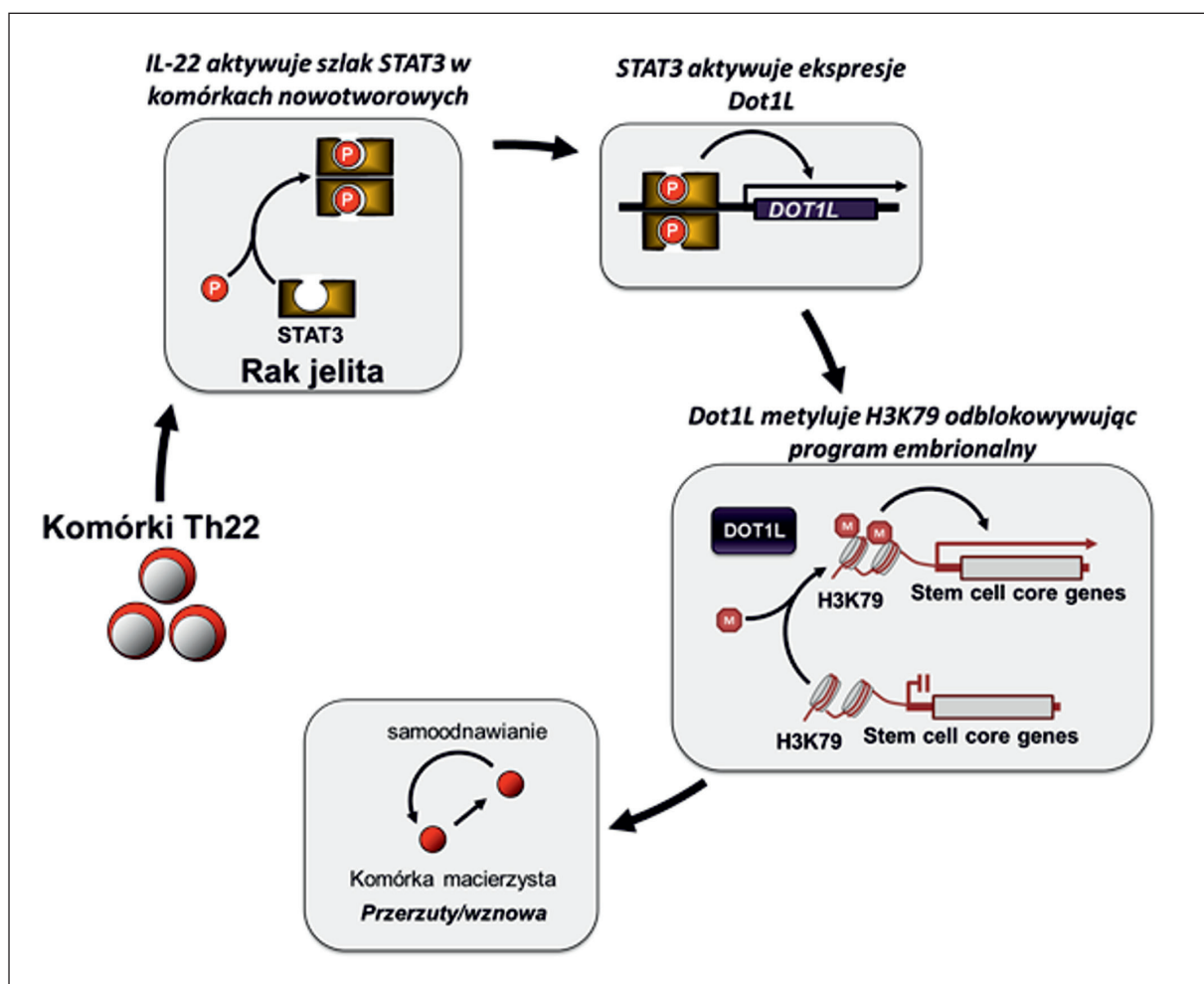
Zwykle „program embrionalny” w komórkach osobników dorosłych jest zablokowany. Blokada ta jest niezwykle silna, a została udokumentowana dzięki dokonującym się w ostatnich latach postępowi w badaniach nad cechami embrionalnymi komórek dojrzałych. Dokonuje się ona na poziomie epigenetycznym. Zmianami epigenetycznymi nazywamy wszelkie zmiany naszego kodu genetycznego, które mogą być dziedziczne, a nie są skutkiem rekombinacji, włączając w to mutacje somatyczne. Proces ten „zniekształca” przyjęte zasady genetyki Mendla, której rozumienie uległo w ostatnich latach rewolucyjnemu wręcz postępowi, głównie dzięki opracowaniu i unowocześnieniu technik molekularnych. W naszych badaniach pokazaliśmy, że MDSC mogą przywrócić „embrionalne” właściwości komórkom nowotworowym właśnie poprzez epigenetyczne odblokowanie programu embrionalnego oraz poprzez aktywację niezbędnych do jego uruchomienia szlaków metabolicznych (Rys. 3).

Przeprowadzone (ostatnio) przez nas badania wykazały, że w nowotworach, w których populacja komórek MDSC jest stosunkowo mała (np. w raku jelita), za odblokowanie programu embrionalnego odpowiada także bardzo mała populacja limfocytów T, zwana Th22. Populacja ta zmienia profil epigenetyczny komórek w sposób bardziej drastyczny i wyrafinowany w porównaniu do MDSC (Rys. 3).

Dysponując możliwością wykrywania szpikowych komórek supresorowych (MDSC), nowotworowych komórek macierzystych, jak również markerów epigenetycznych w materiale

pobranym od chorych na nowotwory jajnika, piersi i jelita grubego wykazaliśmy możliwość ich wykorzystywania jako znaczących obserwacji klinicznych, ale i mogących mieć znaczenie w przewidywaniu i w ocenie efektywności stosowanego u chorych leczenia.

W naszych pracach wykorzystujemy najbardziej współczesne metody badania materiału pobranego od chorych dla wykazania, że układ odpornościowy nie tylko wywiera mało skuteczne działanie przeciwnowotworowe, ale może także inicjować proces nowotworowy poprzez aktywację w dojrzałych, zróżnicowanych prawidłowych komórkach szlaków metabolicznych i czynników epigenetycznych, odblokowując „program „embrionalny” odpowiedzialny za inicjowanie i rozwój procesu nowotworowego. Podejmujemy starania zmierzające do rozpoczęcia badań klinicznych w przekonaniu, że poznane nowe czynniki terapeutyczne, w tym także biologiczne, wzbogacą arsenał „celowanych” czynników terapeutycznych możliwych do stosowania w terapii przeciwnowotworowej.



Rys. 3. Pro-nowotworowa aktywność interleukiny IL-22.

Komórki Th22 aktywują szlak STAT3, który bezpośrednio zwiększa poziom ekspresji genu Dot1L. Dot1L jest jednostką enzymatyczną kompleksu zdolnego do metylacji histonu H3K79. Metylacja ta ma zwykle charakter aktywujący. Wykazaliśmy, że po związaniu IL-22 przez swoisty receptor DOT1L wiąże się do regionu promotorowego genu SOX2 aktywując ekspresję genu. Wraz z Sox2 aktywowane są pozostałe geny embrionalne OCT3/4 i NANOG. Aktywacja tych genów prowadzi do zwiększenia liczby komórek macierzystych guza.

Sprawozdanie z XXI Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 23 kwietnia 2014 roku odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXI Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem do sali konferencyjnej przybyli członkowie komisji oraz zaproszony wykładowca, dr hab. Ilona Kryczek, związana z Instytutem już od studiów magisterskich, która uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w IITD PAN w 2000 roku. Obecnie pracuje jako Assistant Professor w University of Michigan School of Medicine w Ann Arbor (USA).

O godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie, które otworzył przewodniczący komisji. Uroczyste powitał zebranych słuchaczy (około 120 osób), wśród których przeważali uczniowie i nauczyciele wrocławskich szkół średnich: Liceum nr VII, XV i XVII. Ponadto byli obecni studenci, doktoranci, pracownicy naukowi instytutu oraz inni goście spoza tej placówki.

Prof. Czesław Radzikowski zaznaczył, że wykład dedykowany jest pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”. Przedstawił krótko sylwetkę naukową i osiągnięcia dr hab. Ilony Kryczek (informacja biograficzna przedstawiona osobno).

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. ***Nowotwór jako następstwo niepożądanego działania układu odpornościowego.***

Prezentacja badań własnych poprzedzona została krótkim wprowadzeniem, w którym omówione zostały dwa zagadnienia. Mianowicie dr hab. Ilona Kryczek zaprezentowała współczesne poglądy na znaczenie gromadzenia się mutacji w DNA komórki w inicjacji przemiany nowotworowej komórki oraz na udział środowiska okołonowotworowego, głównie składowych układu odpornościowego, w regulowaniu dalszego rozwoju procesu nowotworowego, zwłaszcza w ułatwianiu wzrostu progresywnego i tworzeniu przerzutów. Dla zrozumienia oryginalnej, jeszcze kontrowersyjnej, własnej koncepcji na temat możliwości zmiany kodu genetycznego czy epigenetycznego wybranych komórek przez układ odpornościowy nakreśliła rozwój poglądów na temat definicji „macierzystej komórki nowotworowej”.

Ilustrując wypowiedź pomysłowymi przeżroczami, przedstawiła swoją koncepcję interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi i komórkami układu odpornościowymi MDSC (myeloid derived suppressor cells – pochodzenia szpikowego komórki supresorowe), powodującymi zmianę kodu genetycznego/epigenetycznego „macierzystych”, aktualnie nieproliferujących komórek nowotworowych, prowadząc do ich transformacji nowotworowej, czyli nabycia zdolności do wzrostu inwazyjnego i tworzenia przerzutów. Oznacza to, że po okresie, niekiedy długotrwałej, remisji choroby nowotworowej dojść może do wznowy procesu nowotworowego.

Wykład przeprowadzony był w sposób przystępny, uwzględniający obecność także młodszych słuchaczy, urozmaicony podaniem wydarzeń z laboratorium, opowiadaniem o powstawaniu odkryć naukowych i o cierpliwości niezbędnej w żmudnych badaniach genetycznych. W przedstawieniu wykładu dr hab. Ilona Kryczek ujawniła nie tylko swą aktywność, ale i pasję badacza. O uznaniu jej zaangażowania i osiągnięciach naukowych świadczy wyróżnienie Amerykańskiego Towarzystwa Immunologicznego (AAI), które w 2013 roku przyznało jej nagrodę

w formie stypendium dla naukowców na wczesnym poziomie kariery naukowej (Early Career Faculty Travel Grant).

Wykład został bardzo dobrze przyjęty i wzbudził duże zainteresowanie. W dyskusji zabrał głos prof. Andrzej Lange, promotor pracy doktorskiej wykładowczynie, i dr Marek Drab. Profesor Radzikowski zaprosił zainteresowanych dalszą dyskusją do udziału w nieformalnym „spotkaniu po spotkaniu” przy kawie w sali konferencyjnej, które zakończyło się ok. godz. 15.

Na XXI spotkaniu byli obecni członkowie KPM PAU – profesorowie: Janusz Boratyński, Irena Frydecka i Czesław Radzikowski. Nieobecność usprawiedliwił prof. Waław Sokalski.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

8 października 2014 roku

z udziałem prof. dr hab. Andrzeja MYCA

Department of Internal Medicine, Division of Allergy, Michigan
Nanotechnology Institute for Medicine and Biological Studies, Medical School, Ann Arbor, MI, USA

Tytuł wykładu wprowadzającego:

„ADJUVANTY I SZCZEPIONKI DOŚLUZÓWKOWE”*

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

**Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr hab. Andrzej Myc – informacja biograficzna

Dr Andrzej Myc – z wykształcenia biolog-immunolog. Studia biologiczne ukończył na Uniwersytecie Wrocławskim z tytułem magistra. Po studiach podjął pracę w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu, gdzie zajmował się antygenami zgodności tkankowej, ich funkcją i ewolucją.

We wrześniu 1984 roku obronił pracę doktorską pt. „Poszukiwanie homozygotycznych komórek typujących (HTC) dla oznaczania antygenów z locus D”. Cztery lata później otrzymał stypendium podoktorskie Fundacji im. Alfreda Jurzykowskiego w Memorial Sloan-Kettering Cancer Center+ w Nowym Jorku, gdzie pracował nad metabolizmem i podziałem komórek nowotworowych. W 1993 roku przeniósł się do Indiana University, Indianapolis (IN), gdzie pracował nad mechanizmem szoku septycznego i posocznicy. Cztery lata później rozpoczął pracę na Uniwersytecie Michigan w Ann Arbor (MI), gdzie początkowo zajmował się dwoma projektami badawczymi: autoimmunologią i rakiem tarczycy oraz środkami przeciw broni biologicznej. Ten drugi projekt był ufundowany przez DARPA (Defense Advanced Research Project Agency – agencja podlegająca Pentagonowi). Trzy lata później prowadził badania nad dendrimerami (sferyczne polimery) jako nośnikami celowanych leków przeciwnowotworowych nowej generacji. W latach następnych wrócił do badań w dziedzinie immunologii, a w szczególności do badań nad szczepionkami. Obecnie pracuje nad nową generacją adjuwantów dla szczepionek dośluzówkowych.

W październiku 2012 roku uzyskał stopień doktora habilitowanego nadany przez Radę Naukową Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

W kwietniu bieżącego roku przeszedł na emeryturę, otrzymując od Uniwersytetu w Michigan honorowy tytuł *Professor Emeritus*.

Jest autorem i współautorem ponad 60 prac oryginalnych i przeglądowych, współautorem 5 rozdziałów do książek, współautorem 10 patentów amerykańskich i międzynarodowych i trzech zgłoszeń patentowych.

Oprócz pracy zawodowej zajmuje się w chwilach wolnych studiowaniem biologii, teorii ewolucji oraz zagadnieniami z zakresu historii i filozofii nauki. Pisze również artykuły popularno-naukowe, które ukazały się w polskich czasopismach. Jest ojcem dwóch synów, dziadkiem dwóch wnuków. Hobby – wycieczki górskie, produkcja wina, miodu pitnego i nalewek.

Education and Training

- 1977–09/1984 Institute of Immunology, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland; Ph.D. (Immunology; mentor Dr. Henryk Matej)
1972–06/1977 University of Wrocław, Wrocław, Poland; M.S. (Zoology, Genetics)
1969–06/1972 I Liceum Ogólnokształcące, Legnica, Poland

Postdoctoral Training

- 08/1984–01/1988 Postdoctoral Research Fellow, Institute of Immunology, Department of Clinical Immunology, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

Senior Postdoctoral Training

- 02/1988–05/1991 Postdoctoral Research Fellow, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Department of Pathology, New York, NY

Academic, Administrative, and Clinical Appointments

- 06/1991–06/1993 Research Associate, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Department of Immunochemistry, New York, NY
07/1993–08/1997 Research Associate, Indiana University, Wells Center for Pediatric Research, Indianapolis, Indiana
09/1997–02/2000 Research Associate II, Department of Internal Medicine, Division of Allergy, University of Michigan, Ann Arbor, MI
03/2000–09/2005 Research Investigator, Department of Internal Medicine, Division of Allergy, University of Michigan, Ann Arbor, MI
09/2005–4/2014 Research Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Division of Allergy, University of Michigan, Ann Arbor, MI
07/2008–4/2014 Research Assistant Professor, Michigan Nanotechnology Institute for Medicine and Biological Sciences, University of Michigan, Ann Arbor, MI
10/2012– Associate Professor, Institute of Immunology and Experimental Therapy of Polish Academy of Sciences

Research Interests

Innate and adaptive immunology
Programmed Cell Death (PCD)
Targeting anti-cancer therapy
Theory of evolution
Philosophy of Science, Epistemology

Honors and Awards

- 1988–1989 Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Postdoctoral Scholarship, New York, NY

Memberships in Professional Societies

American Society for Microbiology, since 1999

Polish Society of Immunology, since 1978

Ad hoc reviewer

1990	Cell and Tissue Kinetics
1990	Cytometry
1999	JACO
2004	Vaccine
2004	Journal of Virological Methods
2005 – present	Journal of Biomedical Nanotechnology
2007 – present	Biomacromolecules
2008 - present	Nano Letters
2009 – present	Acta Biomaterialia
2009 – present	International Journal of Nanomedicine
2009	Cancer Research
2009 – present	Acta Biochimica Polonica
2010 – present	Nanomedicine
2010 – present	Clinical Medicine Reviews in Oncology
2011 – present	Expert Opinion for Drug Delivery
2012 – present	Colloids and Surfaces B: Biointerfaces
2012 – present	BBA – General Subjects

Referee Responsibilities

2007, 2009	Medical Research Scotland (The Scottish Hospital Endowments Research Trust)
2008	Biotechnology Research Grant, North Carolina Biotechnology Center
2013	National Institutes of Health

Teaching

Instrument Training Faculty and Graduate Students

Jan 2009	SPR training graduate student, Aftin Ross
Jan 2009	SPR training graduate student, Dan McNerny
Jan–Feb 2009	Flow cytometry training faculty, Dr. Douglas Smith
Jan–Feb 2009	Flow cytometry training graduate student, Whitney Hovan
Feb 2009	SPR training faculty, Dr. Seok Ki Choi
Apr 2009	Lectures on “Nanoemulsions and their applications” for Material Science graduate students, School of Engineering, U-M
June–Sep 2010	Flow cytometry training graduate student, Becky Lahti Matz
June 2010	SPR training faculty, Dr. Su He Wang

Mentoring Research Fellow

Oct 2008–May 2009 Whitney Dunlap, MD

Research Mentorship of Graduate Students

Dec 2008–present Becky Lahti Matz
Jan–Aug 2009 Chu Mei
June 2007–2010 Whitney Hovan
Nov 2006–Mar 2007 Jeffrey Groom II
June 2009–present Shelly Leung

Research Mentorship of Undergraduate Students

Apr 2009–Mar 2010 Mark Andreas
Apr 2009–2010 Trent Rook
May 2011–present Kelly McCarthy

Directed Training for Personnel in Laboratory Animal Handling and Usage Techniques

Sep 2005–present Kasia Janczak
Mar 2007–Sep 2009 Jessica Knowlton
Mar 2007–July 2010 Nicholas Mank
Mar 2007–2010 Michael Beer
May 2008–Aug 2010 Jingga Morry
June 2010 Pamela Wong (SPR training)
June–Sep 2010 Yongyi Fan (SPR and ELISA training)
June 2010–present Catherine Mullen
Aug 2010–present Ali Hussani (undergraduate student)
Sep 2010–present Crystal Passmore

Expertise Provided

Apr 2009 To Dr. Anil K. Patri on XTT assay and xenograft tumor model
Oct 2010 Participation in the study on flow cytometry initiated by the Science Advisory Board (<http://www.scienceboard.net/>)

Committee, Organizational, and Volunteer Service

2004 Task Force on the Research Enterprise (T-FORE) Subcommittee #3, University of Michigan
2009 Global Reach – representing MNIMBS in panel discussion with officials from Amrita University, Drs. Prem Nair, Medical Director of Amrita Hospital, Shanti Nair, Director Amrita Center for Nanosciences, Krishna Sree Achuthan Ph.D, Program Co-Director, Indo-US & Int'l Initiatives
2011 Judging UROP students' posters
2011–present Member of Advisory Committee on Primary Research Appointments, Promotions, and Titles (APRAPT)
2012 Editorial Board, Scientifica; <http://www.scientifica.com/editors/biomaterials/> – the open access journal of science

Consulting Positions

Participant of National Inter-Laboratory Workshop on Enabling Standards for Nanomaterial Characterization, NCI-Frederick, Nanotechnology Characterization Lab (NCL), Frederick, MD

Patents

US Patents

1. Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date: 01/18/2000 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: US 6,015,832.
2. Methods of Preventing and Treating Microbial Infections; Issue Date: 01/14/2003 Inventors: T Hamouda, A Shih, A Myc, M Hayes, J Baker Patent Number: US 6,506,803.
3. Non-Toxic Antimicrobial Compositions and Methods of Use; Issue Date: 05/06/2003 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: US 6,559,189.
4. Non-Toxic Antimicrobial Compositions and Methods of Use; Issue Date: 10/21/2003 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: US 6,635,676.
5. Methods of Preventing and Treating Microbial Infections; Issue Date: 01/14/2003 Inventors: A Myc, A Shih, T Hamouda, J Baker Patent Number: US 6,506,803.
6. Nanoemulsion Vaccines; Issue Date: 01/01/2008 Inventors: T Hamouda, Z Cao, B Donovan, A Myc, J Baker Patent Number: US 7,314,624.
7. Antimicrobial nanoemulsion, compositions and methods. Inventors: J Baker, T Hamouda, A Shih, A Myc Patent Number: US 7,655, 252 B2, Feb 2, 2010.
8. Antimicrobial nanoemulsion compositions and methods. Inventors: J. R. Baker, Jr., T. Hamouda, A. Shih, A. Myc. Patent Number: US 8, 236, 335 B2, Aug. 7, 2012.

International Patents

1. Title: Sposób wytwarzania nowych koniugatów kwasu 4-amino -N10 metylo - pteroilo-glutaminowego z białkiem [The method of synthesis of new conjugates of acid 4-amino - N10 metylo - pteroilo-glutamic with protein; Issue Date 02/20/1981. Inventors: J. Boratyński, A. Myc Patent PRL 130458.
2. Title: Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date:10/31/2002 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: Australia 749817.
3. Title: Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date: 06/19/2007 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: Canada 2316888.
4. Title: Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date: 03/17/2007 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: Europe 1041978.
5. Title: Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date: 06/09/2007 Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: Israel 137093.
6. Title: Methods of Inactivating Bacteria, Including Bacterial Spores; Issue Date: 08/03/2007

- Inventors: J Brisker, T Hamouda, M Hayes, DC Wright, Z Cao, J Baker, A Myc, A Shih Patent Number: Hong Kong HK1031839.
7. Title: Antimicrobial Compositions and Methods of Use; Issue Date: 10/30/2006 Inventors: J Baker, A Myc, T Hamouda, A Shih Patent Number: Mexico 241579.
 8. Title: Antimicrobial Nanoemulsion Compositions and Methods; Issue Date: 04/07/2005 Inventors: J Baker, A Myc, T Hamouda, A Shih Patent Number: PCT 2002350587.
 9. Title: Antimicrobial Nanoemulsion Compositions and Methods; Issue Date: 09/06/2007 Inventors: J Baker, A Myc, T Hamouda, A Shih Patent Number: Europe 2005201276.
 10. Title: Nanoemulsion Vaccines; Issue Date: 10/04/2007 Inventors: T Hamouda, Z Cao, B Donovan, A Myc, J Baker Patent Number: PCT 2002367976.

Patent Disclosures

1. “Dendrimer Conjugates”, filed 06/04/2007, Serial # 61/097,780.
2. “Cancer Vaccine Compositions & Methods Using the Same”, filed 03/25/2008, file #4021. Serial # 61/115,421.

Bibliography

Peer-Reviewed Publications

1983–2009: 53 papers

54. Makidon PE, Nigavekar SS, Bielinska AU, Mank N, Shetty AM, Suman J, Knowlton J, Myc A, Rook T, Baker JR Jr. Characterization of stability and nasal delivery systems for immunization with nanoemulsion-based vaccines, *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery* 2010;22:1–13.
55. Myc A, Kukowska-Latallo J, Cao P, Swanson B, Battista J, Dunham T, Baker JR Jr. Targeting efficacy of dendrimer-based nanotherapeutic in heterogeneous xenograft tumors *in vivo*, *Anti-cancer Drugs* 2010;21:186–192. PMID: PMC2818998.
56. Hamouda T, Chepurinov A, Mank N, Knowlton J, Chepurnova T, Myc A, Sutcliffe J, Baker JR Jr. Efficacy, Immunogenicity and stability of a novel intranasal nanoemulsion-adjuvanted influenza vaccine in a murine model. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 2010;6: 585–594.
57. Myc LA, Gamian A, Myc A. Cancer Vaccine. Any Future? *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 2011;59:249–259.
58. Stanberry LR, Simon JK, Johnson C, Robinson PL, Morry J, Flack MR, Gracon S, Myc A, Hamouda T, Baker JR Jr. Safety and immunogenicity of a novel nanoemulsion mucosal adjuvant W₈₀5EC combined with approved seasonal influenza antigens. *Vaccine* 2011; 30: 307–316.
59. Myc A, Kukowska-Latallo JF, Smith DM, Passmore C, Pham T, Wong P, Bielinska AU, Baker JR Jr. Nanoemulsion nasal adjuvant W805EC induces dendritic cell engulfment of antigen-primed epithelial cells. *Vaccine* 2013; 31:1072–1079.
60. Das SC, Hatta M, Wilker PR, Myc A, Hamouda T, Neumann G, Baker JR Jr, Kawaoka Y. Nanoemulsion W₈₀5EC improves immune responses upon intranasal delivery of an inactivated pandemic H1N1 influenza vaccine. *Vaccine* 2012; 30:6871–6877.
61. Leung S, Smith DM, Myc A, Morry J, Baker JR Jr. OT-II TCR transgenic mice fail to produce anti-ovalbumin antibodies upon vaccination. *Cellular Immunology* 2013; 282:79–84.

62. Seok Ki Choi, Myc A., Silpe J.E., Madhuresh Sumit, Pamela Tinmoi Wong, McCarthy K, Ankur M Desai, Thommey P Thomas, Kotlyar A, Mark M. Banaszak-Holl, Bradford G. Orr, Baker JR, Jr. Dendrimer-Based Multivalent Vancomycin Nanoplatfom for Targeting the Drug-Resistant Bacterial Surface. *ACS Nano* 7:214–228, 2013.
63. Passmore C, Makidon PE, O’Konek JJ, Zahn JA, Pannu J, Hamouda T, Bitko V, Myc A, Lukacs NW, Fattom A, Baker JR Jr. Intranasal immunization with W 80 5EC adjuvanted recombinant RSV rF-ptn enhances clearance of respiratory syncytial virus in a mouse model. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 2013; 10:615–622.

Non-Peer-Reviewed Publications

1. Myc A. Ewolucja Głównego Systemu Zgodności Tkankowej [The evolution of Major Histocompatibility Complex (MHC)]. *Immunologia Polska* 1988;13:77–106.

Book Chapters

1. Darzynkiewicz Z, Traganos F, Kimmel M, Myc A. Kinetic and metabolic heterogeneity of cells in the cell cycle. In: *Stochastic Modeling in Biology. Relevant Mathematical Concepts and Recent Applications*, Tautu P (ed), World Scientific Publishing, 30–49, 1990.
2. Myc A. Perspectives. In: *Guides to Clinical Aspiration Biopsy. Flow Cytometry*. Vielh P (ed), Igaku-Shoin Medical Publishers Inc, 117–138, 1991.
3. Thomas TP, Shukla R, Majoros IJ, Myc A, Baker JR Jr. Poly(amidoamine) dendrimer-based multifunctional nanoparticles. In: *Nanobiotechnology II*, Mirkin CA, Niemeyer CM (eds), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim, 305–319, 2007.
4. Myc A, Mehta CB, Majoros IJ. Dendrimer-based targeted apoptosis sensors for medical application. In: *Dendrimer Based Nanomedicine*. Majoros IJ, Baker JR Jr (eds), World Scientific Publishing Co Pte Ltd, 209–254, 2008.
5. Majoros IJ, Ward BB, Lee KH, Choi SK, Huang B, Myc A, Baker JR Jr. Progress in Cancer Nanotechnology. In Raymond W. Ruddon, editor: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Vol. 95, Burlington: Academic Press, 2010, 193–236.

Dr hab. Andrzej Myc

Streszczenie wykładu

ADJUVANTY I SZCZEPIONKI DOŚLUZÓWKOWE

Szczepionki odniosły bezprecedensowy sukces w medycynie XX wieku. Ich zastosowanie przyczyniło się do całkowitego wyeliminowania czarnej ospy, a w niektórych regionach świata również odry i polio oraz istotnej redukcji śmiertelności spowodowanej takimi chorobami jak dyfteryt, tężec czy koklusz. Ciągłe jednak na choroby zakaźne, którym dzięki szczepionkom można zapobiec, umiera rocznie około 10 milionów dzieci poniżej piątego roku życia. Wraz z dostępem do nowych szczepionek przeciwko wirusowi rota czy zakaźnemu zapaleniu płuc znaczna część dzieci jest obecnie ochroniona przed śmiercią czy nawet zachorowaniem. Dalszy rozwój programu szczepień na całym świecie może znacznie ograniczyć zachorowalność i umieralność na takie choroby jak odra, tężec, koklusz, *Haemophilus influenzae* typ b. Nic więc dziwnego, że szczepienia są jedną z form najbardziej efektywnych i stosunkowo tanich interwencji medycznych. Potrzeba nowych ochronnych szczepionek przeciwko bakteryjnym, wirusowym i grzybiczym patogenom jest spowodowana wzrostem odporności patogenów na leki, wzrostem populacji ludzkiej na świecie i sposobem życia.

Idealna szczepionka powinna być bezpieczna i ochronna (tzn. powinna indukować zarówno neutralizujące przeciwciała, jak i silną odpowiedź komórkową). Bezpieczna – to znaczy taka, że sama nie powoduje choroby albo powikłań (alergia czy zespół Guillain–Barre), a tym bardziej śmierci. Szczepionki powinny chronić szczepionego przed chorobą zakaźną. Ochrona ta powinna trwać przynajmniej przez kilkanaście lat, a najlepiej całe życie. W końcu taka szczepionka powinna być tania i bezinwazyjna.

To oczywiście są pobożne życzenia, gdyż obecnym szczepionkom jest daleko do tego ideału. Bezpieczeństwo szczepionki jest problemem samym w sobie. Nie można udowodnić, że jakikolwiek medyczny zabieg jest całkowicie bezpieczny dla wszystkich ludzi i w każdych okolicznościach. Zawsze istnieje jakiś stopień zagrożenia. Problem drugi to brak szczepionki, która by indukowała długotrwałą ochronę przed chorobą w całej ludzkiej populacji. Ludzie starzy, niemowlęta czy ludzie z uszkodzonym układem immunologicznym będą

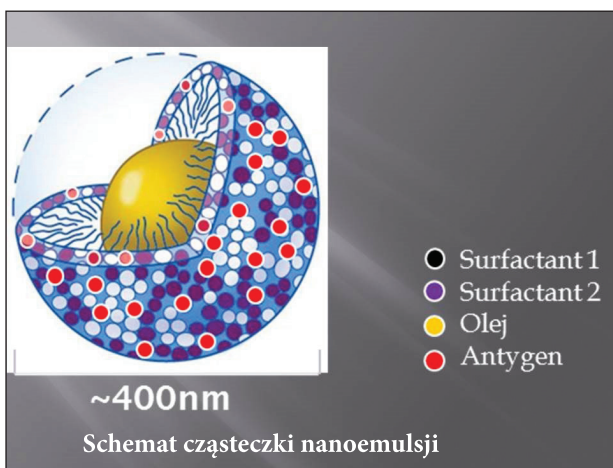
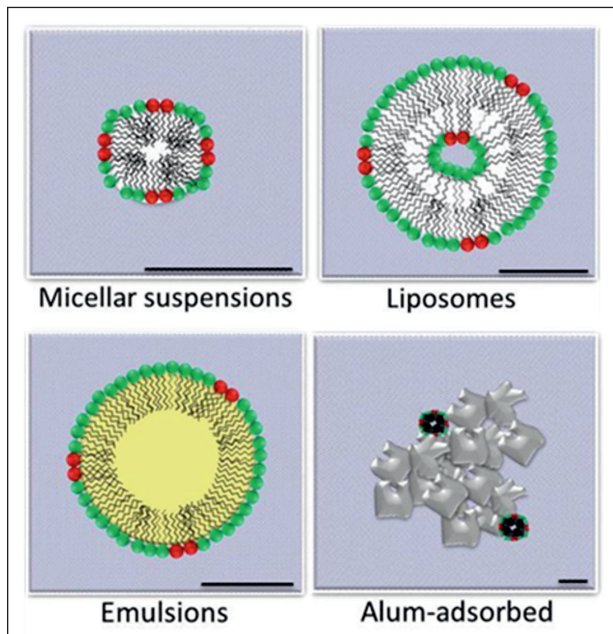
SZCZEPIENIE: HISTORIA

Wiek XVIII: Edward Jenner użył wirusa krowianki jako szczepionki przeciwko czarnej ospie.

Wiek XIX: mikroorganizmy powodujące choroby zostały po raz pierwszy wyizolowane i rozpoczęły się prace nad szczepionkami.

Wiek XX: wydawało się, że dzięki szczepionkom i antybiotykami problem chorób zakaźnych jest już rozwiązany.

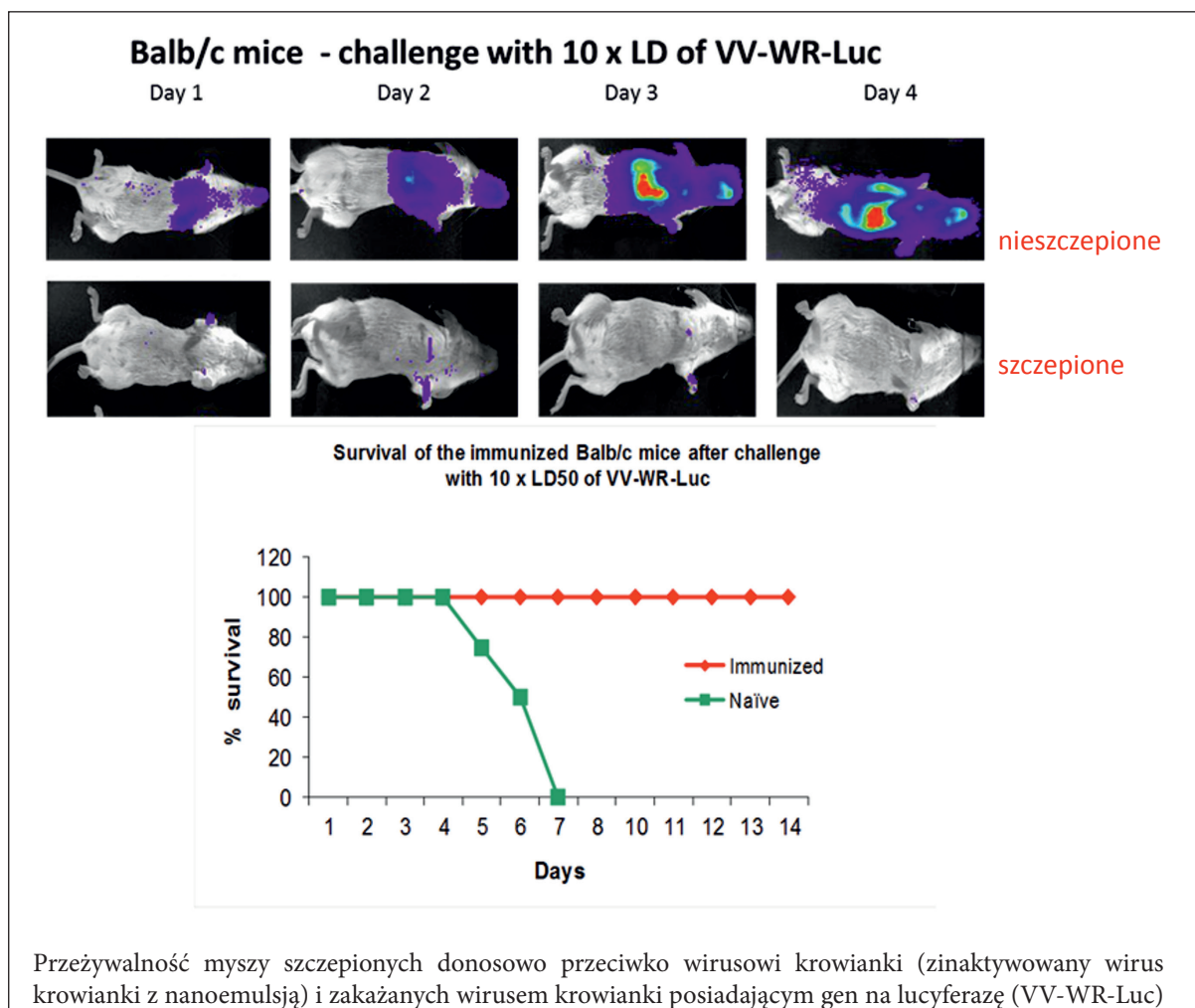
Przełom XX/XXI wieku: pojawiły się nowe choroby wirusowe (AIDS, SARS, Ebola, Dengue), a produkcja skutecznych szczepionek przeciw nim jest bardzo trudna.



odpowiadać na szczepionkę inaczej (zwykle gorzej) niż populacja ludzi młodych i zdrowych. Z tego też powodu potrzebne są różne rodzaje szczepionek w zależności od warunków zdrowotnych człowieka.

Zasadniczo szczepionki składają się z jakiegoś rodzaju antygeny oraz innych dodatków, takich jak adjuwanty, które czynią je bardziej skutecznymi. Istnieją cztery typy szczepionek: zawierające osłabiony patogen, zawierające zainaktywowany patogen, zawierające dobrze zdefiniowane białka patogenu, w końcu szczepionki DNA. Szczepionki zawierające osłabiony patogen, który nie może wywołać choroby, ale potrafi wyindukować odpowiedź odpornościową może nie być bezpieczny, szczególnie przy szczepieniu ludzi z uszkodzonym układem immunologicznym. Szczepionki zawierające zainaktywowane patogeny są bardziej bezpieczne, ale mogą nie być w pełni ochronne. Z kolei te z dobrze zdefiniowanym antygenem mogą nie okazać się ochronne przeciwko patogenom, które mutują antygeny z wysoką częstotliwością albo „ukrywają” się wewnątrz komórek gospodarza. W końcu szczepionki DNA, które są ciągle na etapie eksperymentów i nie są łatwo dostępne, mogą powodować przewlekłe zapalenia i alergię. Pomimo tych wszystkich problemów każda nowa generacja szczepionek jest bardziej bezpieczna i skuteczna.

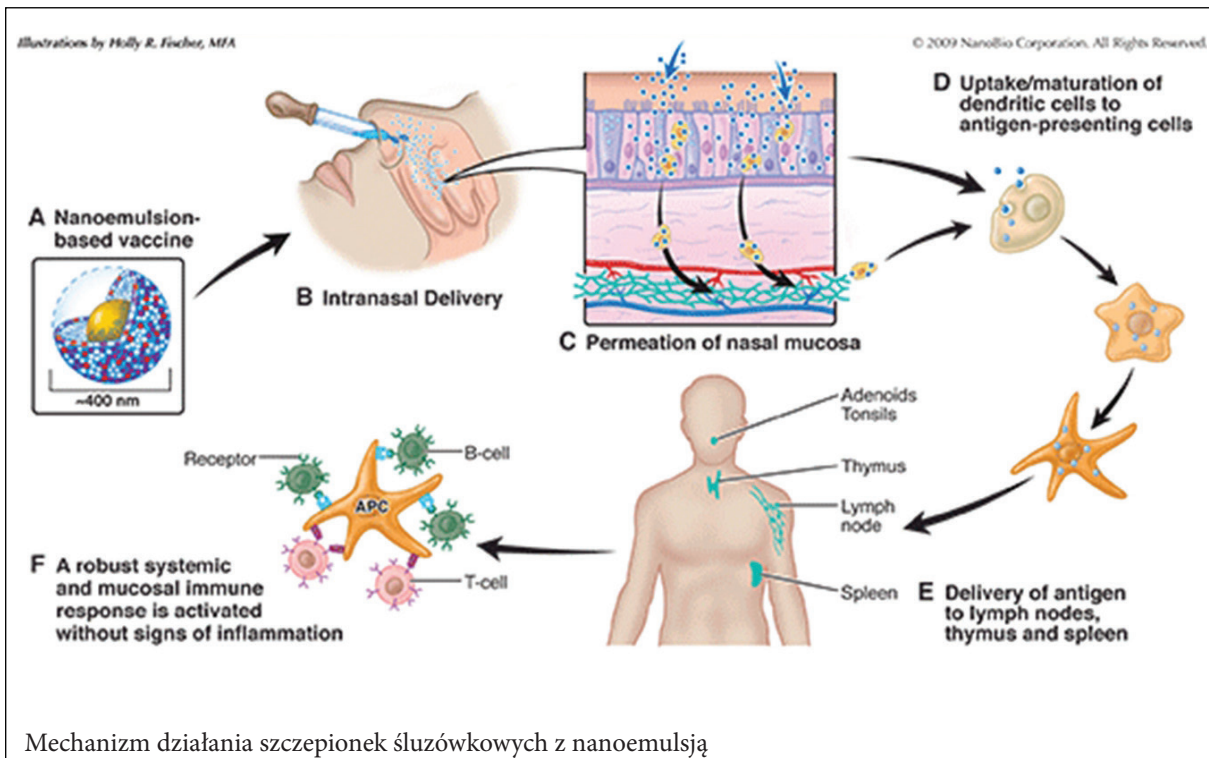
W ostatnich latach trwają intensywne poszukiwania szczepionek przeciwko nowym groźnym patogenom, takim jak wirusy Dengue czy Ebola. Prowadzone są również badania, aby nowe szczepionki były podawane w miejsca, poprzez które najczęściej dochodzi do zakażeń. Uważa się, że nowe szczepionki byłyby bardziej skuteczne od tradycyjnych podawanych podskórnym, śródskórnym czy domięśniowo, gdyby podawano je donosowo, doodbytniczo czy dopochwowo. Na uwagę tutaj zasługuje fakt, że większość patogenów zakaża człowieka poprzez układ oddechowy, którego powierzchnia jest ogromna (90 m²). Szczepienia ochronne poprzez nos byłyby tu bardzo wskazane. Takie szczepionki wymagają jednak nowych adjuwantów niż powszechnie stosowane sole aluminium, które są bezużyteczne w szczepionkach śluzówkowych (donosowych). Obecnie naukowcy pracują nad kilkoma innymi rodzajami adjuwantów: liposomami, np. wirosomami, emulsjami, ligandami dla receptorów takich jak TLR, RLR, NOD2, nad



osłabionymi składowymi toksyn i enterotoksyn oraz nad hybrydowymi adjuwantami zawierającymi cytokiny (IL1, IL2, IL12).

W naszych własnych badaniach skoncentrowaliśmy się na nanoemulsjach jako potencjalnym adjuwancie szczepionek śluzówkowych (donosowych). Wyprodukowaliśmy emulsje o wielkości cząsteczek mniejszych od mikrometra (stąd „nano” w nazwie), które składają się z oleju, obojętnego i dodatnio naładowanego emulgatora, organicznego rozpuszczalnika i wody. Wytworzone nanoemulsje charakteryzowały się stabilnością, a niektóre z nich miały właściwości nieswoistych adjuwantów.

Nanoemulsje te były przez nas użyte jako składowa donosowych szczepionek. W ten sposób otrzymane szczepionki, zawierające różne antygeny (rozpuszczalne i cząsteczkowe), były testowane na wielu gatunkach zwierząt (myszy, szczury, psy, króliki, świnki morskie i fretki) na toksyczność i skuteczną indukcję odpowiedzi immunologicznej. Badane nanoemulsje wykazywały znikomą toksyczność w koncentracji do 20% i indukowały swoistą i ochronną odpowiedź immunologiczną. Była to odpowiedź humoralna i komórkowa, zarówno systematyczna, jak i śluzówkowa. Kliniczne badania potwierdziły, że donosowa szczepionka składająca się z nanoemulsji i antygeny (sezonowa szczepionka przeciwko grypie zaaprobowana przez FDA) jest bezpieczna i skuteczna w szczepieniu donosowym ludzi. Adjuwant w kombinacji ze szczepionką okazał się bezpieczny i niewywołujący żadnych istotnych skutków ubocznych. Najwyższa



dawka 20% nanoemulsji zmieszana z 10 µg swoistego antygeny indukowała klinicznie istotną odporność, mierzoną w surowicy testem HAI: GMT and $\geq 70\%$ odporności przeciwko wszystkim trzem szczepom grypy w szczepionce. Zaobserwowano również wyższe miano swoistych przeciwciał klasy IgA w popłuczynach z nosa, co świadczy o tym, że po pojedynczej dawce szczepionki donosowej można było wyindukować zarówno systematyczną, jak i śluzówkową odpowiedź immunologiczną.

Pomimo bezprecedensowego sukcesu szczepionek w zapobieganiu chorobom zakaźnym, w ostatnich latach można zauważyć wzmożoną akcję przeciwko szczepionkom. Ludzie, będący przeciwnikami szczepionek i szczepień, nie zawsze są dobrze poinformowani i nie posiadają wystarczającej wiedzy o nich. Z reguły czerpią ją z artykułów zamieszczanych w internecie, nie mając możliwości zweryfikowania wiarygodności źródła tych danych. Prezentowane bywają w nim często półprawdy, a wyniki badań nad szczepionkami przedstawiane są nierzetelnie przez osoby, które podają się za autorytety, jakimi nie są. W końcu znajdują się tam i zwykłe kłamstwa, które mają ludzi przestraszyć i odwieść od stosowania szczepionek.

Jednym z nieporozumień w kwestii szczepionek jest ocena ich skuteczności, dokonywana z dwóch perspektyw jednocześnie: z punktu widzenia jednostki oraz społeczeństwa. W przypadku jednostki może się zdarzyć, że będzie ona nieskuteczna czy wręcz szkodliwa, natomiast mając na uwadze ogół, trudno nie uznać, że stosowanie takich metod istotnie obniża zachorowalność i śmiertelność populacji. Poszczególnym osobom szczepionka może pomóc albo nie, ale licząc bilans strat i zysków, należy zobaczyć, czy jest ona korzystna dla społeczeństwa, czy nie. Ktoś, kto decyduje o bezpieczeństwie większej grupy ludzi (prezydent, premier, minister), jest zobowiązany zarządzać uwzględniając najpierw ochronę całej społeczności, nawet jeśli nie okaże się ona skuteczna w przypadku wszystkich jej członków.

Innym ważnym aspektem jest także brak zaufania części społeczeństwa do rządów i firm farmaceutycznych i obawa, że przekupieni przez te firmy decydenci, podejmą niekorzystne dla

ogółu decyzje, w tym wypadku o niepotrzebnych szczepieniach. Istnieje także zaniepokojenie, czy nie otwiera się w ten sposób możliwości eksperymentowania na ludziach. W końcu pozostaje niepokój co do samych szczepionek: czy rzeczywiście są one bezpieczne, a firmy farmaceutyczne – rzetelne. Oczywiście jest w tych wątpliwościach trochę racji. Przekupny decydent może wziąć od firmy farmaceutycznej dużą łapówkę i zakupić szczepionki do zaszczepienia społeczeństwa. Nie tak dawno, bo jeszcze w pierwszej połowie zeszłego stulecia, w USA miały miejsce nieetyczne i bezprawne eksperymenty przeprowadzane na ludziach. Także same szczepionki z różnych przyczyn nie muszą być dla wszystkich szczepionych jednakowo bezpieczne. Najwięcej jednak obaw wynika z niewiedzy. Potrzeba więc łatwo dostępnej i rzetelnej informacji w mediach i w internecie na temat szczepionek i szczepienia, aby można było skutecznie wyeliminować nieprzychylnie społeczne nastawienie do nich.

Sprawozdanie z XXII Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 8 października 2014 roku odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXII Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem jej członkowie, prof. Hubert Krotkiewski i dr hab. Danuta Witkowska, spotkali się w sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą, dr. hab. Andrzejem Mycem, który pracował w naszym instytucie do 1988 roku. Obecnie pracuje na Uniwersytecie Michigan w Ann Arbor (MI), gdzie zajmuje się badaniami nad nową generacją adjuwantów dla szczepionek dośluzówkowych.

Punktualnie o godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Ślopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyście powitał zebranych słuchaczy (95 osób), wśród których przeważali uczniowie Liceum Ogólnokształcącego nr X i XV z nauczycielami przedmiotów przyrodniczych; ponadto byli obecni studenci, doktoranci, pracownicy naukowci instytutu oraz inni goście.

Prof. Czesław Radzikowski w krótkim wstępie przypomniał, że wykład odbywa się w ramach obchodów Roku Hirszfelda. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę wykładowcy: biologa-immunologa, który po obronie pracy doktorskiej w 1984 roku w naszym instytucie, wykorzystał z powodzeniem szansę rozwoju naukowego w USA. Pracował najpierw w Nowym Jorku, później w Indianapolis, by ostatecznie znaleźć się na Uniwersytecie Michigan w Ann Arbor (od 1997). Od października 2012 roku posiada on stopień doktora habilitowanego, nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, a od kwietnia 2014 honorowy tytuł Professor Emeritus, nadany przez Uniwersytet Michigan.

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. **Adjuwanty i szczepionki dośluzówkowe**.

Na wstępie prof. Andrzej Myc wyjaśnił podstawowe zagadnienia: na czym polega odporność na infekcję oraz jakie jest znaczenie szczepionek. Omówił historię rozwoju szczepionek od XVIII wieku. W przejrzysty sposób przedstawił zebrane fakty dotyczące rozwoju metod ich wytwarzania i metody szczepienia, podkreślając znaczenie szczepienia jako prewencji – zapobieganiu zachorowaniom na chorobę zakaźną.

Przytoczył dane WHO nt. zachorowań na choroby zakaźne u dzieci, z których wynika, że rocznie umiera na nie około 10 milionów dzieci poniżej piątego roku życia. Podał cechy idealnej szczepionki, która powinna być bezpieczna, ochronna, tania i bezinwazyjna. Na kolejnych przeziornicach przedstawił przykłady czterech typów szczepionek, zależne od rodzaju użytego antygeny. Każda nowa generacja szczepionek winna być bardziej bezpieczna i skuteczna. Prowadzone są badania nad tym, aby nowe szczepionki były podawane w miejsca, poprzez które najczęściej dochodzi do zakażeń (donosowo, doodbytniczo czy dopochwowo).

Wyjaśnił, że w badaniach prowadzonych w jego ośrodku skoncentrowano się na nanoemulsjach jako potencjalnym adjuwancie szczepionek dośluzówkowych (donosowych). Kliniczne badania potwierdziły, że donosowa szczepionka składająca się z nanoemulsji i antygeny (sezonowa szczepionka przeciwko grypie zaaprobowana przez FDA) jest bezpieczna i skuteczna w szczepieniu donosowym ludzi.

Innym, ciekawym wątkiem wykładu było przedstawienie argumentacji przeciwników szczepionek. Według prof. Myca jest kilka przyczyn wywołujących obawy przed ich stosowaniem:

nierzetelne źródła informacji, niewłaściwa ocena skuteczności, brak zaufania do decyzji rządów, a także firm farmaceutycznych (badania jeszcze w fazie eksperymentalnej, konflikt interesów).

Na zakończenie wykładu prof. Andrzej Myc podkreślił, że łatwo dostępna i rzetelna informacja w mediach i w internecie na temat szczepionek i szczepienia mogłaby skutecznie wyeliminować nieuzasadnione obawy obywateli. Dalszy rozwój programu szczepień na całym świecie może bowiem znacznie ograniczyć zachorowalność i umieralność na takie choroby jak odra, tężec, koklusz, *Haemophilus influenzae* typ b. Szczepienia są dzisiaj jedną z form najbardziej efektywnych i stosunkowo tanich interwencji medycznych.

Prof. Czesław Radzikowski podziękował za prezentację i zaprosił zebranych do zadawania pytań. W dyskusji wzięły udział m in. prof. Danuta Duś i prof. Danuta Witkowska.

Wykład spotkał się z dużym zainteresowaniem, o czym świadczyły rozmowy odbywające się po jego zakończeniu na nieformalnym „spotkaniu po spotkaniu” przy kawie w sali konferencyjnej. Uczestniczyli w nich członkowie komisji, dawni współpracownicy i inne osoby zainteresowane tematem. Ze względu na obecność doktorantki z Jemenu, część dyskusji toczyła się w języku angielskim.

W XXII spotkaniu uczestniczyli profesorowie członkowie KPM PAU: Janusz Boratyński, Aleksander Sikorski i Czesław Radzikowski. Prof. Jerzy Mozrzyk i prof. Wacław Sokalski usprawiedliwili swoją nieobecność.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXIII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

19 listopada 2014 roku

z udziałem prof. dr hab. Krzysztofa PALCZEWSKIEGO

Department of Pharmacology, School of Medicine,
Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA

Tytuł wykładu:

**„MECHANIZMY MOLEKULARNE EKSPRESJI
BIAŁEK ODPOWIEDZIALNYCH ZA WIDZENIE”***

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

Spotkanie odbędzie się

**o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Prof. dr hab. Krzysztof Palczewski – informacja biograficzna

Działalność naukowa – osiągnięcia

Wśród najważniejszych osiągnięć profesora Palczewskiego znajduje się niekwestionowany udział w zrozumieniu funkcjonowania oka poprzez badania nad metabolizmem witaminy A. Profesor Palczewski odkrył i scharakteryzował m.in. grupę dehydrogenaz witaminy A (RDHs) – bierze ona istotny udział w skomplikowanym mechanizmie regeneracji rodopsyny, który umożliwia izomeryzację retinalu z postaci all-trans w 11-cis. Wspomniane dehydrogenazy – poza ich rolą w przemianach metabolicznych siatkówki – spełniają także rolę w ochronie fotoreceptorów. Ich rola jest ogromna, gdyż zapobiegają kumulacji retinalu, czyli reaktywnej formy retinoidu powodującego obumieranie fotoreceptorów. Przełomem stało się stworzenie mysich modeli degeneracyjnych chorób siatkówki, które posiadały wybrane z dehydrogenaz zmutowane geny kodujące. Ten moment pozwolił otworzyć całkiem nowy, a zarazem kluczowy rozdział w badaniach nad zapobieganiem obumieraniu komórek światłoczułych – pozwolił więc dać nadzieję milionom pacjentów cierpiących z powodu zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem (AMD). Dzięki Profesorowi powstało jedno z najistotniejszych narzędzi badawczych, służące opisaniu fizjologicznej roli acylotransferazy lecytyna:retinol (LRAT) – specyficznego dla oka transportera retinalu z grupy ABCA – i wielu innych. Profesor Palczewski opracował także obowiązujący obecnie model, który wyjaśnia mechanizm enzymatycznego przekształcenia izomeru all-trans witaminy A w 11-cis – tym samym jest inicjatorem i pionierem badań nad mechanizmem izomeryzacji retinoidów.

Kaskada przekazywania sygnałów i regeneracja purpury wzrokowej – badania strukturalne nad białkami biorącymi w nich udział

Rok 2000 okazał się dla profesora Palczewskiego i światowej nauki wielkim odkryciem – wtedy właśnie opisał on strukturę rodopsyny. W tym czasie Palczewski wraz ze swoim zespołem skupił uwagę i włożył wiele wysiłku w projekty służące opisowi struktur białek błonowych. Przyniosło to efekt w postaci kilkunastu publikacji w najważniejszych światowych czasopismach naukowych (w tym w Nature, Science i PNAS) – prace dotyczyły m.in. aktywowanej przez światło formy rodopsyny i kompleksu rodopsyny z białkiem G, a także specyficznego dla nabłonka barwnikowego siatkówki enzymu katalizującego izomerację retinoidów, RPE65. Nadmienić trzeba, że jedna z form RPE65 została wykrystalizowana w sposób umożliwiający utrzymanie jej aktywnej konformacji. Nie można również nie wspomnieć o najnowszych sukcesach profesora Palczewskiego, którymi niewątpliwie są badania nad strukturą ABCA4, czyli specyficznego dla retinalu transportera izolowanego z dysków fotoreceptorów, oraz nad acylotransferazami lecytynowymi.

Obrazowanie siatkówki in vivo – wyzwania profesora Palczewskiego

Wydawałoby się, że oko to narząd łatwo dostępny badaniom obrazowym – nie jest pokryte powłokami ani nie przykrywa go żaden inny narząd. I jakkolwiek okuliści z dużym powodzeniem potrafią je badać, na potrzeby nauki XXI wieku konieczne są dużo bardziej precyzyjne metody. Dziś chcemy już nie tylko oglądać powierzchownie narządów, tkanek i błon – potrzebujemy narzędzi umożliwiających ocenę warstw komórek, komórek i w końcu ich organelli. Właśnie dzięki tym technikom, pozwalającym na ocenę struktury komórkowej siatkówki, możliwe

jest dalsze poznawanie mechanizmów funkcjonowania oka. Jednym z priorytetów profesora Palczewskiego stały się nieinwazyjne metody obrazowania komórek dna oka. Kolejnym przełomem, w którym miał on swój udział, było zastosowanie mikroskopii dwufotonowej do wizualizacji fotoreceptorów i komórek nabłonka barwnikowego siatkówki in vivo. W ten sposób udało się odkryć specyficzne dla retinoidów struktury komórkowe zwane retinosomami oraz obserwować zmiany w przepływie retinoidów w trakcie naświetlania i adaptacji do ciemności. Metody te już dziś wykorzystywane są w laboratoriach do oceny stanu siatkówki w chorobach degeneracyjnych – następnym krokiem będzie ich wykorzystanie w gabinetach okulistycznych.

Wkład Profesora Palczewskiego w badania podstawowe pozwala myśleć o rzeczywistym i praktycznym wykorzystaniu tej wiedzy w terapii chorób zwyrodnieniowych oka. Jednym z największych wyzwań stojących przed naukowcami zajmującymi się tematyką chorób oczu jest leczenie zwyrodnienia płamki żółtej (AMD), które prowadzi do utraty wzroku. Choroba ta dotyka 20 mln osób na świecie i pomimo dużego nakładu pracy, jej patofizjologia o wieloczynnikowej etiologii nadal nie jest do końca poznana. Dyskretne zmiany w przemianach witaminy A i regeneracji purpury wzrokowej skutkują gromadzeniem ubocznych metabolitów. Te z kolei nieuchronnie prowadzą do dysfunkcji nabłonka barwnikowego i fotoreceptorów. Model myśli odwzorowujący AMD, opracowany przez profesora Palczewskiego, jak i wspomniane nowe metody diagnostyczne umożliwiają selekcję najbardziej obiecujących i najskuteczniejszych leków.

Podsumowując, uwaga profesora Krzysztofa Palczewskiego skupia się obecnie zarówno na rozpoznawaniu, jak i opracowywaniu nowych, skutecznych terapii. Omówione sukcesy dają realne nadzieje chorym, jak na razie nieefektywnie leczonym.

Życiorys naukowy

Position Professor and Chair
Department of Pharmacology, School of Medicine, Case Western Reserve University
Cleveland, Ohio, USA

Education

1980 M.S. in Organic Chemistry, University of Wrocław, Poland
1983 (Feb–July) Research Assistant, Southern Illinois University, Carbondale, IL. Training in protein sequencing
1980–1986 Junior/Senior Research Fellow, Department of Biochemistry, Technical University of Wrocław, Poland
1986 Ph.D. in Biochemistry, Technical University of Wrocław, Poland: Topography of the active site and the mononucleotide binding site of aldolase fructose-1,6-bisphosphate. (Preceptor: Prof. Dr. M. Kochman)

Postgraduate training

1986–1988 Postdoctoral Fellow, University of Florida, Gainesville, FL. Topic: Rhodopsin phosphorylation, phosphorylation of synthetic peptides, rhodopsin kinase and phosphatase, properties of arrestin. (Preceptor: Dr. Paul A. Hargrave)

Faculty positions held (including professional experience)

1988–1989 Assistant Research Scientist, Department of Ophthalmology, University of Florida, Gainesville, FL
1990–1992 Assistant Scientist II, R.S. Dow Neurological Sciences Institute and Dept of Ophthalmology, Good Samaritan Hospital & Medical Center, Portland, OR
1990–1992 Assistant Professor of Biochemistry and Molecular Biology, Oregon Health Sciences University, Portland, OR
1990–2008 Courtesy Assistant Scientist, Department of Ophthalmology, University of Florida, Gainesville, FL
1990–1992 Research Assistant Professor of Ophthalmology, Oregon Health Sciences University, Portland, OR
1991–1992 Associate Scientist I, Robert S. Dow Neurological Sciences Institute, Good Samaritan Hospital and Medical Center, Portland, OR
1992–1994 Assistant Professor, Department of Ophthalmology, Adjunct, Pharmacology; University of Washington, Seattle, WA
1992–2005 Affiliate, Center on Human Development and Disability (CHDD); University of Washington, Seattle, WA
1994–1997 Associate Professor of Ophthalmology, Adjunct, Pharmacology; University of Washington, Seattle, WA
1997–2005 Professor of Ophthalmology; University of Washington, Seattle, WA
1997–2005 Professor (Adjunct) of Pharmacology; University of Washington, Seattle, WA

- 1998–2005 Professor (Joint) of Chemistry; University of Washington, Seattle, WA
 2003–2005 Interim Research Director; University of Washington, Seattle, WA
 1999–2005 Research Affiliate, Regional Primate Research Center; University of Washington, Seattle, WA
 1999–2005 E.K. Bishop Professor, Department of Ophthalmology; University of Washington, Seattle, WA
 2005– Professor and Chair, Department of Pharmacology; Case Western Reserve University, Cleveland, OH
 2005– John H. Hord Professor; Case Western Reserve University, Cleveland, OH
 2008– Professor, Center for Proteomics and Bioinformatics; Case Western Reserve University, Cleveland, OH

Honors and awards

- Polish Academy of Science (1978, 1985)
 Polish Ministry of Education (1986)
 Jules and Doris Stein Research to Prevent Blindness Professor (1992–1999)
 Cogan Award, Association for Research in Vision and Ophthalmology (1996)
 Humboldt Research Award for Senior U.S. Scientists (2000)
 Trustee Award, The Foundation Fighting Blindness (2000)
 Senior Scientific Investigator, Research to Prevent Blindness, Inc. (2001)
 Alcon Research Institute Award (2001)
 Tom and Sandy Trudell Research Award, The Foundation Fighting Blindness (2007)
 Sayer Lecture and Award Series at the National Eye Institute (2007)
 Senior Fellow of the American Asthma Foundation (2007–2011)
 Knight's Cross of the Order of Merit of the Republic of Poland Sep 22, 2011. New York from the President of Poland Bronislaw Komorowski
 The Roger H Johnson Macular Degeneration Award, the Department of Ophthalmology, University of Washington, June 16 2012
 The John S. Diekhoff Award 2012 Nominee "Excellence in Graduate Mentoring"
 Recipient of 2012 Award from Foundation for Polish Science (highest ranking research award in Poland)
 The CWRU Faculty Distinguished Researcher Award (2013)
 The Friedenwald Award 2014 from The Association for Research in Vision and Ophthalmology
 Distinguished Fellow of Polish-American Scientists Honored by Kosciuszko Foundation's Collegium of Eminent Scientists
 The 2014 Maurice Saltzman Award, Mt. Sinai Health Care Foundation, Cleveland
 The 2014 Beckman - Argyros Award in Vision Research (intended to reward individuals who are making significant transformative breakthroughs in vision research)

Professional organizations

- American Society for Biochemistry and Molecular Biology
 Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)
 Member, Award Committee (1998–2003)
 Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB)

Teaching responsibilities

- 2001–2004 Chemistry, Chemical Biology 532
- 1996–2001 Graduate School Supervisory Committee for Susan Carol Stankewitz-Frey (PhD student).
- 1997–2001 Graduate School Supervisory Committee for Terry Cook PhD student, Pharmacology)
- 1998–2001 Graduate School Supervisory Committee for Gary Meints (PhD student, Chemistry)
- 1999–2004 Supervisor for Joshua McBee (PhD student, Chemistry)
- 2002–2004 Graduate School Supervisory Committee for Joseph Tsung – Yo Ho (PhD student, Neurobiology and Biology, Neurosurgery)
- 2002–2004 Graduate School Supervisory Committee for Jeremy Celver (PhD student, Pharmacology)
- 2002–2005 Graduate School Supervisory Committee for Gary E. Oerli (PhD student, Molecular and Cellular Biology, Genetics)
- 2002–2005 Graduate School Supervisory Committee for James Francis Carey (PhD student, Molecular and Cellular Biology)
- 2002–2006 Supervisor for Li Zhu (PhD student, Chemistry)
- 2005–2006 Supervisor for Xiaomeng Zhou (PhD student, Pharmacology)
- 2005–2010 Supervisor for Philip Kiser (PhD student, Pharmacology)
- 2010 Promoter PhD committee Anja Mohr (Supervisor, Prof. Dr. Andreas Plückthum) Universität Zürich “Selection of specific binding designed ankyrin repeat proteins for the adenosine receptor 2A via different phage display strategies”
- 2008–2013 Supervisor for Debarshi Mustafi (M.D., Ph.D. program, Pharmacology)
- 2007 MSTP mentor
- 2007 Supervisor for Teresa Capristo (SURP student)
- 2007–2013 Graduate School Supervisory Committee for Alexander Veenstra (PhD student, Pharmacology)
- 2008 Supervisor for Xuewu Sui (PhD student, Pharmacology)
- 2008 Graduate School Supervisory Committee for Seth Villarreal (PhD student, Pharmacology)
- 2008 Graduate School Supervisory Committee for Darwin Babino (PhD student, Pharmacology)
- 2012 Graduate School Supervisory Committee for Michele Mumaw (PhD student, Pharmacology)
- 2013 Supervisor for Lukas Hofmann (PhD student, Pharmacology, Ph.D. program)
- 2013 Supervisor for Sahil Guliati (with Phoebe Stewart; PhD student, Pharmacology, Ph.D. program)

Editorial responsibilities (current)

Editorial Board (Advisory Board)

Journal of Biological Chemistry	(2007–2012; 2013–2018)
FASEB Journal	(2008–)
Investigative Ophthalmology & Visual Science	(1999–)

Biochemistry	(2005–2016)
Acta Biochimica Polonica	
(Polish Biochemical Society, Polish Academy of Sciences)	(2001–)
Drug Discovery Today: Disease Models	(2002–)
Central European Journal of Biology (CEJB)	(2005–)
The Open Pharmacology Journal	(2007–)
Molecular and Cellular Pharmacology	(2008–)

Editorial responsibilities (past)

Annexins	(2003–2006)
Molecular Pharmacology	(2002–2012)

Book and series editor

- Methods in Enzymology, volumes 315 and 316, “Phototransduction and the Visual Cycle” Academic Press (2000)
- Photoreceptors and Calcium: Advances in Experimental Medical and Biology, vol. 514. Edited by W. Baehr and K. Palczewski. Copyright © 2002 Kluwer Academic/Plenum Publishers and Landes Bioscience
- Thematic mini–reviews in J Biol Chem (6 articles) Focus on Vision. 2011
- Thematic mini–reviews in Chemical Reviews (5 articles) Chemistry and Biology of Retinoids and Carotenoids. 2014

Patents issued

1. “Method for identifying and purifying a cancer associated retinopathy autoantigen, and testing patient serum for the autoantibody to the autoantigen”; US patent 5,405,749; (with Dr. Arthur Polans).
2. “Purified protein for identifying a cancer–associated retinopathy autoantibody”; US patent 5,753,522; (with Dr. Arthur Polans).
- 3–4. “Methods for assessing a physiological state of a mammalian retina”; US patents: 7,706,863 and 8,346,345; (with Drs. Eric Seibel, Bryan Sires, Yoshikazu Imanishi).
5. “Methods for the treatment and prevention of age–related retinal dysfunction”; US patent 8,324,270; (with Drs. Tadao Maeda, David Saperstein).
6. “Retinal derivatives and methods for the use thereof for the treatment of visual disorders”; US patent 7,951,841; (with Mr. Matthew Batten).
7. “Methods for treating metabolic diseases”; US patent 8,338,394; (with Drs. Alex Moise, Vladimir Kuksa).
8. “Compounds and methods of treating ocular disorders” US patent 8,722,669 (with Drs. Akiko Maeda, and Marcin Golczak).

Bibliography

1983–2009 number of published papers: 286
 2010–2014 number of published papers: 123

287. Bereta, G., B. Wang, P.D. Kiser, W. Baehr, G.F. Jang, and **K. Palczewski**, A functional kinase homology domain is essential for the activity of photoreceptor guanylate cyclase 1. *J Biol Chem*, 2010. 285(3): p. 1899–908.
288. Cao, P., Y. Yuan, E.A. Pehek, A.R. Moise, Y. Huang, **K. Palczewski**, and Z. Feng, Alpha-synuclein disrupted dopamine homeostasis leads to dopaminergic neuron degeneration in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*, 2010. 5(2): p. e9312.
289. Goc, A., M. Chami, D.T. Lodowski, P. Bosshart, V. Moiseenkova-Bell, W. Baehr, A. Engel, and **K. Palczewski**, Structural characterization of the rod cGMP phosphodiesterase 6. *J Mol Biol*, 2010. 401(3): p. 363–73.
290. Golczak, M., G. Bereta, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Molecular biology and analytical chemistry methods used to probe the retinoid cycle. *Methods Mol Biol*, 2010. 652: p. 229–45.
291. Golczak, M., P.D. Kiser, D.T. Lodowski, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Importance of membrane structural integrity for RPE65 retinoid isomerization activity. *J Biol Chem*, 2010. 285(13): p. 9667–82.
292. Golczak, M. and **K. Palczewski**, An acyl-covalent enzyme intermediate of lecithin:retinol acyltransferase. *J Biol Chem*, 2010. 285(38): p. 29217–22.
293. Huang, J., Z. Xu, D. Wang, C.M. Ogata, **K. Palczewski**, X. Lee, and N.M. Young, Characterization of the secondary binding sites of *Maclura pomifera* agglutinin by glycan array and crystallographic analyses. *Glycobiology*, 2010. 20(12): p. 1643–53.
294. Hunter, J.J., B. Masella, A. Dubra, R. Sharma, L. Yin, W.H. Merigan, G. Palczewska, **K. Palczewski**, and D.R. Williams, Images of photoreceptors in living primate eyes using adaptive optics two-photon ophthalmoscopy. *Biomed Opt Express*, 2010. 2(1): p. 139–48.
295. Imanishi, Y. and **K. Palczewski**, Visualization of retinoid storage and trafficking by two-photon microscopy. *Methods Mol Biol*, 2010. 652: p. 247–61.
296. Jastrzebska, B., Y. Tsybovsky, and **K. Palczewski**, Complexes between photoactivated rhodopsin and transducin: progress and questions. *Biochem J*, 2010. 428(1): p. 1–10.
297. Kevany, B.M. and **K. Palczewski**, Phagocytosis of retinal rod and cone photoreceptors. *Physiology (Bethesda)*, 2010. 25(1): p. 8–15.
298. Khelashvili, G., K. Dorff, J. Shan, M. Camacho-Artacho, L. Skrabanek, B. Vroiling, M. Bouvier, L.A. Devi, S.R. George, J.A. Javitch, M.J. Lohse, G. Milligan, R.R. Neubig, **K. Palczewski**, M. Parmentier, J.P. Pin, G. Vriend, F. Campagne, and M. Filizola, GPCR-OKB: the G Protein Coupled Receptor Oligomer Knowledge Base. *Bioinformatics*, 2010. 26(14): p. 1804–5.
299. Kiser, P.D. and **K. Palczewski**, Membrane-binding and enzymatic properties of RPE65. *Prog Retin Eye Res*, 2010. 29(5): p. 428–42.
300. Lobo, G.P., J. Amengual, H.N. Li, M. Golczak, M.L. Bonet, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, Beta,beta-carotene decreases peroxisome proliferator receptor gamma activity and reduces lipid storage capacity of adipocytes in a beta,beta-carotene oxygenase 1-dependent manner. *J Biol Chem*, 2010. 285(36): p. 27891–9.
301. Lobo, G.P., S. Hessel, A. Eichinger, N. Noy, A.R. Moise, A. Wyss, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, ISX is a retinoic acid-sensitive gatekeeper that controls intestinal beta,beta-carotene absorption and vitamin A production. *FASEB J*, 2010. 24(6): p. 1656–66.
302. Lodowski, D.T., **K. Palczewski**, and M. Miyagi, Conformational changes in the g protein-coupled receptor rhodopsin revealed by histidine hydrogen-deuterium exchange. *Biochemistry*, 2010. 49(44): p. 9425–7.

303. Maeda, A., K. Okano, P.S. Park, J. Lem, R.K. Crouch, T. Maeda, and **K. Palczewski**, Palmitoylation stabilizes unliganded rod opsin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. 107(18): p. 8428–33.
304. Moise, A.R., G.P. Lobo, B. Erokwu, D.L. Wilson, D. Peck, S. Alvarez, M. Dominguez, R. Alvarez, C.A. Flask, A.R. de Lera, J. von Lintig, and **K. Palczewski**, Increased adiposity in the retinol saturase-knockout mouse. *FASEB J*, 2010. 24(4): p. 1261–70.
305. O’Byrne, S.M., Y. Kako, R.J. Deckelbaum, I.H. Hansen, **K. Palczewski**, I.J. Goldberg, and W.S. Blaner, Multiple pathways ensure retinoid delivery to milk: studies in genetically modified mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010. 298(4): p. E862–70.
306. Orban, T., G. Bereta, M. Miyagi, B. Wang, M.R. Chance, M.C. Sousa, and **K. Palczewski**, Conformational changes in guanylate cyclase-activating protein 1 induced by Ca²⁺ and N-terminal fatty acid acylation. *Structure*, 2010. 18(1): p. 116–26.
307. Orban, T., S. Gupta, **K. Palczewski**, and M.R. Chance, Visualizing water molecules in transmembrane proteins using radiolytic labeling methods. *Biochemistry*, 2010. 49(5): p. 827–34.
308. Palczewska, G., T. Maeda, Y. Imanishi, W. Sun, Y. Chen, D.R. Williams, D.W. Piston, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Noninvasive multiphoton fluorescence microscopy resolves retinol and retinal condensation products in mouse eyes. *Nat Med*, 2010. 16(12): p. 1444–9.
309. Palczewski, K., Blind dogs that can see: pharmacological treatment of Leber congenital amaurosis caused by a defective visual cycle. *Arch Ophthalmol*, 2010. 128(11): p. 1483–5.
310. Palczewski, K., Oligomeric forms of G protein-coupled receptors (GPCRs). *Trends Biochem Sci*, 2010. 35(11): p. 595–600.
311. Palczewski, K., Retinoids for treatment of retinal diseases. *Trends Pharmacol Sci*, 2010. 31(6): p. 284–95.
312. Pulagam, L.P. and **K. Palczewski**, Electrostatic compensation restores trafficking of the autosomal recessive retinitis pigmentosa E150K opsin mutant to the plasma membrane. *J Biol Chem*, 2010. 285(38): p. 29446–56.
313. Tsybovsky, Y., R.S. Molday, and **K. Palczewski**, The ATP-binding cassette transporter ABCA4: structural and functional properties and role in retinal disease. *Adv Exp Med Biol*, 2010. 703: p. 105–25.
314. von Lintig, J., P.D. Kiser, M. Golczak, and **K. Palczewski**, The biochemical and structural basis for trans-to-cis isomerization of retinoids in the chemistry of vision. *Trends Biochem Sci*, 2010. 35(7): p. 400–10.
315. Amengual, J., G.P. Lobo, M. Golczak, H.N. Li, T. Klimova, C.L. Hoppel, A. Wyss, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, A mitochondrial enzyme degrades carotenoids and protects against oxidative stress. *FASEB J*, 2011. 25(3): p. 948–59.
316. Baker, B.Y. and **K. Palczewski**, Detergents stabilize the conformation of phosphodiesterase 6. *Biochemistry*, 2011. 50(44): p. 9520–31.
317. Bereta, G. and **K. Palczewski**, Heterogeneous N-terminal acylation of retinal proteins results from the retina’s unusual lipid metabolism. *Biochemistry*, 2011. 50(18): p. 3764–76.
318. Huang, C.C., T. Orban, B. Jastrzebska, **K. Palczewski**, and J.J. Tesmer, Activation of G protein-coupled receptor kinase 1 involves interactions between its N-terminal region and its kinase domain. *Biochemistry*, 2011. 50(11): p. 1940–9.
319. Jastrzebska, B., A. Debinski, S. Filipek, and **K. Palczewski**, Role of membrane integrity on G protein-coupled receptors: Rhodopsin stability and function. *Prog Lipid Res*, 2011. 50(3): p. 267–77.

320. Jastrzebska, B., **K. Palczewski**, and M. Golczak, Role of bulk water in hydrolysis of the rhodopsin chromophore. *J Biol Chem*, 2011. 286(21): p. 18930–7.
321. Jastrzebska, B., P. Ringler, D.T. Lodowski, V. Moiseenkova–Bell, M. Golczak, S.A. Muller, **K. Palczewski**, and A. Engel, Rhodopsin-transducin heteropentamer: three-dimensional structure and biochemical characterization. *J Struct Biol*, 2011. 176(3): p. 387–94.
322. Li, H., **K. Palczewski**, W. Baehr, and M. Clagett-Dame, Vitamin A deficiency results in meiotic failure and accumulation of undifferentiated spermatogonia in prepubertal mouse testis. *Biol Reprod*, 2011. 84(2): p. 336–41.
323. Maeda, T., L. Perusek, J. Amengual, D. Babino, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, Dietary 9-cis-beta,beta-carotene fails to rescue vision in mouse models of leber congenital amaurosis. *Mol Pharmacol*, 2011. 80(5): p. 943–52.
324. Mast, N., A.J. Annalora, D.T. Lodowski, **K. Palczewski**, C.D. Stout, and I.A. Pikuleva, Structural basis for three-step sequential catalysis by the cholesterol side chain cleavage enzyme CYP11A1. *J Biol Chem*, 2011. 286(7): p. 5607–13.
325. Mustafi, D., A. Avishai, N. Avishai, A. Engel, A. Heuer, and **K. Palczewski**, Serial sectioning for examination of photoreceptor cell architecture by focused ion beam technology. *J Neurosci Methods*, 2011. 198(1): p. 70–6.
326. Mustafi, D., B.M. Kevany, C. Genoud, K. Okano, A.V. Cideciyan, A. Sumaroka, A.J. Roman, S.G. Jacobson, A. Engel, M.D. Adams, and **K. Palczewski**, Defective photoreceptor phagocytosis in a mouse model of enhanced S-cone syndrome causes progressive retinal degeneration. *FASEB J*, 2011. 25(9): p. 3157–76.
327. Orban, T., G. Palczewska, and **K. Palczewski**, Retinyl ester storage particles (retinosomes) from the retinal pigmented epithelium resemble lipid droplets in other tissues. *J Biol Chem*, 2011. 286(19): p. 17248–58.
328. Palczewski, K., Focus on vision: 3 decades of remarkable contributions to biology and medicine. *FASEB J*, 2011. 25(2): p. 439–43.
329. Peshenko, I.V., E.V. Olshevskaya, A.B. Savchenko, S. Karan, **K. Palczewski**, W. Baehr, and A.M. Dizhoor, Enzymatic properties and regulation of the native isozymes of retinal membrane guanylyl cyclase (RetGC) from mouse photoreceptors. *Biochemistry*, 2011. 50(25): p. 5590–600.
330. Sakami, S., T. Maeda, G. Bereta, K. Okano, M. Golczak, A. Sumaroka, A.J. Roman, A.V. Cideciyan, S.G. Jacobson, and **K. Palczewski**, Probing mechanisms of photoreceptor degeneration in a new mouse model of the common form of autosomal dominant retinitis pigmentosa due to P23H opsin mutations. *J Biol Chem*, 2011. 286(12): p. 10551–67.
331. Salon, J.A., D.T. Lodowski, and **K. Palczewski**, The significance of G protein-coupled receptor crystallography for drug discovery. *Pharmacol Rev*, 2011. 63(4): p. 901–37.
332. Shiose, S., Y. Chen, K. Okano, S. Roy, H. Kohno, J. Tang, E. Pearlman, T. Maeda, **K. Palczewski**, and A. Maeda, Toll-like receptor 3 is required for development of retinopathy caused by impaired all-trans-retinal clearance in mice. *J Biol Chem*, 2011. 286(17): p. 15543–55.
333. Tsybovsky, Y., B. Wang, F. Quazi, R.S. Molday, and **K. Palczewski**, Posttranslational modifications of the photoreceptor-specific ABC transporter ABCA4. *Biochemistry*, 2011. 50(32): p. 6855–66.
334. Zhu, Q., W. Sun, K. Okano, Y. Chen, N. Zhang, T. Maeda, and **K. Palczewski**, Sponge transgenic mouse model reveals important roles for the microRNA-183 (miR-183)/96/182 cluster in postmitotic photoreceptors of the retina. *J Biol Chem*, 2011. 286(36): p. 31749–60.

335. Amengual, J., M. Golczak, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, Lecithin:retinol acyltransferase is critical for cellular uptake of vitamin A from serum retinol-binding protein. *J Biol Chem*, 2012. 287(29): p. 24216–27.
336. Cao, P., W. Sun, K. Kramp, M. Zheng, D. Salom, B. Jastrzebska, H. Jin, **K. Palczewski**, and Z. Feng, Light-sensitive coupling of rhodopsin and melanopsin to G(i/o) and G(q) signal transduction in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J*, 2012. 26(2): p. 480–91.
337. Chen, Y., E.R. Farquhar, M.R. Chance, **K. Palczewski**, and P.D. Kiser, Insights into substrate specificity and metal activation of mammalian tetrahedral aspartyl aminopeptidase. *J Biol Chem*, 2012. 287(16): p. 13356–70.
338. Chen, Y., K. Okano, T. Maeda, V. Chauhan, M. Golczak, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Mechanism of all-trans-retinal toxicity with implications for Stargardt disease and age-related macular degeneration. *J Biol Chem*, 2012. 287(7): p. 5059–69.
339. Gao, S.Q., T. Maeda, K. Okano, and **K. Palczewski**, A microparticle/hydrogel combination drug-delivery system for sustained release of retinoids. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012. 53(10): p. 6314–23.
340. Golczak, M., P.D. Kiser, A.E. Sears, D.T. Lodowski, W.S. Blaner, and **K. Palczewski**, Structural basis for the acyltransferase activity of lecithin:retinol acyltransferase-like proteins. *J Biol Chem*, 2012. 287(28): p. 23790–807.
341. Hachiya, A., B. Marchand, K.A. Kirby, E. Michailidis, X. Tu, **K. Palczewski**, Y.T. Ong, Z. Li, D.T. Griffin, M.M. Schuckmann, J. Tanuma, S. Oka, K. Singh, E.N. Kodama, and S.G. Sarafianos, HIV-1 reverse transcriptase (RT) polymorphism 172K suppresses the effect of clinically relevant drug resistance mutations to both nucleoside and non-nucleoside RT inhibitors. *J Biol Chem*, 2012. 287(35): p. 29988–99.
342. Kiser, P.D., E.R. Farquhar, W. Shi, X. Sui, M.R. Chance, and **K. Palczewski**, Structure of RPE65 isomerase in a lipidic matrix reveals roles for phospholipids and iron in catalysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012. 109(41): p. E2747–56.
343. Kiser, P.D., M. Golczak, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Key enzymes of the retinoid (visual) cycle in vertebrate retina. *Biochim Biophys Acta*, 2012. 1821(1): p. 137–51.
344. Latek, D., A. Modzelewska, B. Trzaskowski, **K. Palczewski**, and S. Filipek, G protein-coupled receptors – recent advances. *Acta Biochim Pol*, 2012. 59(4): p. 515–29.
345. Maeda, A., M. Golczak, Y. Chen, K. Okano, H. Kohno, S. Shiose, K. Ishikawa, W. Harte, G. Palczewska, T. Maeda, and **K. Palczewski**, Primary amines protect against retinal degeneration in mouse models of retinopathies. *Nat Chem Biol*, 2012. 8(2): p. 170–8.
346. Mustafi, D., T. Maeda, H. Kohno, J.H. Nadeau, and **K. Palczewski**, Inflammatory priming predisposes mice to age-related retinal degeneration. *J Clin Invest*, 2012. 122(8): p. 2989–3001.
347. Okano, K., A. Maeda, Y. Chen, V. Chauhan, J. Tang, G. Palczewska, T. Sakai, H. Tsuneoka, **K. Palczewski**, and T. Maeda, Retinal cone and rod photoreceptor cells exhibit differential susceptibility to light-induced damage. *J Neurochem*, 2012. 121(1): p. 146–56.
348. Orban, T., C.C. Huang, K.T. Homan, B. Jastrzebska, J.J. Tesmer, and **K. Palczewski**, Substrate-Induced Changes in the Dynamics of Rhodopsin Kinase (G Protein-Coupled Receptor Kinase 1). *Biochemistry*, 2012. 51: p. 3404–3411.
349. Orban, T., B. Jastrzebska, S. Gupta, B. Wang, M. Miyagi, M.R. Chance, and **K. Palczewski**, Conformational dynamics of activation for the pentameric complex of dimeric G protein-coupled receptor and heterotrimeric G protein. *Structure*, 2012. 20(5): p. 826–40.

350. Padayatti, P., G. Palczewska, W. Sun, **K. Palczewski**, and D. Salom, Imaging of protein crystals with two-photon microscopy. *Biochemistry*, 2012. 51(8): p. 1625–37.
351. Palczewski, K., Chemistry and biology of vision. *J Biol Chem*, 2012. 287(3): p. 1612–9.
352. Palczewski, K., Thematic minireview series on focus on vision. *J Biol Chem*, 2012. 287(3): p. 1610–1.
353. Salom, D., P. Cao, W. Sun, K. Kramp, B. Jastrzebska, H. Jin, Z. Feng, and **K. Palczewski**, Heterologous expression of functional G-protein-coupled receptors in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J*, 2012. 26(2): p. 492–502.
354. Salom, D., B. Wang, Z. Dong, W. Sun, P. Padayatti, S. Jordan, J.A. Salon, and **K. Palczewski**, Post-translational modifications of the serotonin type 4 receptor heterologously expressed in mouse rod cells. *Biochemistry*, 2012. 51(1): p. 214–24.
355. Sexton, T.J., M. Golczak, **K. Palczewski**, and R.N. Van Gelder, Melanopsin is highly resistant to light and chemical bleaching in vivo. *J Biol Chem*, 2012. 287(25): p. 20888–97.
356. Sundermeier, T.R. and **K. Palczewski**, The physiological impact of microRNA gene regulation in the retina. *Cell Mol Life Sci*, 2012. 69(16): p. 2739–50.
357. Tu, X. and **K. Palczewski**, Crystal structure of the globular domain of C1QTNF5: Implications for late-onset retinal macular degeneration. *J Struct Biol*, 2012. 180(3): p. 439–46.
358. Maeda, T., Z. Dong, H. Jin, O. Sawada, S. Gao, D. Utkhede, W. Monk, G. Palczewska, and **K. Palczewski**, QLT091001, a 9-cis-Retinal Analog, Is Well-Tolerated by Retinas of Mice with Impaired Visual Cycles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013. 54(1): p. 455–66.
359. Zhang, N., A.V. Kolesnikov, B. Jastrzebska, D. Mustafi, O. Sawada, T. Maeda, C. Genoud, A. Engel, V.J. Kefalov, and **K. Palczewski**, Autosomal recessive retinitis pigmentosa E150K opsin mice exhibit photoreceptor disorganization. *J Clin Invest*, 2013. 123(1): p. 121–37.
360. Jastrzebska, B., D. Salom, H. Jin, P. Cao, W. Sun, **K. Palczewski**, and Z. Feng, Expression of Mammalian G Protein-Coupled Receptors in *Caenorhabditis elegans*. *Methods Enzymol*, 2013. 520C: p. 239–256.
361. Vahedi-Faridi, A., B. Jastrzebska, **K. Palczewski**, and A. Engel, 3D imaging and quantitative analysis of small solubilized membrane proteins and their complexes by transmission electron microscopy. *J. Electron Microscop (Tokyo)*, 2013. 62(1):p. 95–107.
362. Jastrzebska, B., T. Orban, M. Golczak, A. Engel, and **K. Palczewski**, Asymmetry of the rhodopsin dimer in complex with transducin. *FASEB J*, 2013. 27:p. 1572–1584.
363. Tian, M., Zallocchi M, Wang W-M, Chen C-K, K . Palczewski, Delimont D, Cosgrove D, and Peng Y-W. Light-induced translocation of RGS9-1 and G β 5L in Mouse Rod Photoreceptors. *PLOS ONE* 2013. 8(3): e58832.
364. Yan J, S. Kaur, D. DeLucia, C. Hao, J. Mehrens, C. Wang, M. Golczak, **K. Palczewski**, A. M. Gronenborn, J. Ahn, and J. Skowronski, Tetramerization of SAMHD1 is required for biological activity and inhibition of HIV infection. *J. Biol. Chem.* 2013. 288:p. 10406–10417.
365. Jastrzebska B., P. Ringler, **K. Palczewski**, and A. Engel, The rhodopsin-transducin complex houses two distinct rhodopsin molecules. *J. Struct. Biol.* 2013. 182: p. 164–172.
366. Palczewski, K., and P. D. Kiser, As good as chocolate. *Science* 2013, 340: p. 562–563.
367. Padayatti P.S., L. Wang, S. Gupta, T. Orban, W. Sun, D. Salom, S. Jordan, **K. Palczewski**, and M. R. Chance, A hybrid structural approach to analyze ligand binding by the 5-HT4 receptor. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2013. 12: p. 1259–1271.
368. Tsybovsky Y., T. Orban, R. S., Molday, D. Taylor, and **K. Palczewski**, Molecular organization and ATP-induced conformational changes of ABCA4, the photoreceptor-specific ABC transporter. *Structure* 2013. 21: p. 854–860.

369. Kohno, H., Y. Chen, B. M. Kevany, E. Pearlman, M. Miyagi, T. Maeda, **K. Palczewski**, and A. Maeda: Photoreceptor proteins initiate microglial activation via Toll-like receptor 4 in retinal degeneration mediated by all-trans-retinal. *J. Biol. Chem.* 2013. 288: p. 15326–15341.
370. Mustafi D., B.M. Kevany, X. Bai, T. Maeda, J. E. Sears, A. M. Khalil, and **K. Palczewski**: Evolutionarily conserved long intergenic non-coding RNAs in the eye. *Hum Mol Genetics* 2013. 22: p. 2992–3002.
371. Sharma, R., L. Yin, Y. Geng, W. H. Merigan, G. Palczewska, **K. Palczewski**, D. R. Williams, and J. J. Hunter, In vivo two-photon imaging of the mouse retina. *Biomedical Optics Express* 2013. 4: p. 1285–1293.
372. Palczewski K, and T. Orban, From Atomic Structures to Neuronal Functions of G protein-coupled receptors (GPCRs). *Annu Rev Neurosci* 2013. 36: p. 139–164.
373. Helbling R., C. Bolze, M. Golczak, **K. Palczewski**, A. Stocker, and M. Cascella. Cellular Retinaldehyde Binding Protein – Different Binding Modes and Micro-Solvation Patterns for High-Affinity 9-cis and 11-cis-Retinal Substrates. *J. Phys. Chem.* 2013, 117: p. 10719–10729.
374. Du Y., A. Veenstra, **K. Palczewski**, and T. S. Kern, Photoreceptor cells are major contributors to diabetes-induced oxidative stress and local inflammation in the retina. *Proc. Natl. Acad Sci.* 2013: p. 110, 16586–16591.
375. Salom D., P. S. Padayatti, and **K. Palczewski**, Crystallization of G protein-coupled receptors. *Methods in Cell Biology* 2013, 117: p. 451–468.
376. Sui, X., P.D. Kiser, J. von Lintig, and **K. Palczewski**, Structural basis of carotenoid cleavage: from bacteria to mammals. *Archives Biochem. Biophys* 2012, 539: p. 203–213.
377. Kowatz, T, D. Babino, P. Kiser, **K. Palczewski**, and J. von Lintig, Characterization of human β,β - carotene-15,15'-monooxygenase (BCMO1) as a soluble monomeric enzyme. *Archives Biochem. Biophys* 2013, 539: p. 21–222.
378. Mustafi, D, B. M.Kevany, C. Genoud, X. Bai, **K. Palczewski**. Photoreceptor phagocytosis is mediated by phosphoinositide signaling. *FASEB J* 2013, 27: p. 4585–4595.
379. Amengual J, M., M. A. K, Widjaja-Adhi, S. Rodriguez-Santiago, S. Hessel, M. Golczak, **K. Palczewski**, J. von Lintig (2013) Two carotenoid-oxygenases contribute to mammalian pro-vitamin A metabolism. *J. Biol. Chem.* 2013, 288: p. 34081–34096.
380. Maeda T., M. J. Lee, G. Palczewska, S. Marsili, P. Tesar, **K. Palczewski**, M. Takahashi, and A. Maeda. Retinal pigmented epithelial cells obtained from human induced pluripotent stem cells possess functional visual cycle enzymes in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.* 2013. 288, p. 34484–34493.
381. Chen Y., G. Palczewska, D. Mustafi, M. Golczak, Z. Dong, O. Sawada, T. Maeda, A. Maeda, and **K. Palczewski**, Systems pharmacology identifies drug targets for Stargardt disease-associated retinal degeneration. *J Clin Invest* 2013, 123: p. 5119–5134.
382. Orban T, B. Jastrzebska, and **K. Palczewski**. Structural approaches to understanding retinal proteins needed for vision. *Current Opinion in Cell Biology* 2014, 27: p. 32–43.
383. Kevany B.M., Y. Tsybovsky, I.D.G. Campuzano, P. D. Schnier, A. Engel, and **K. Palczewski**. Structural and functional analysis of the native peripherin/ROM1 complex isolated from photoreceptor cells. *J. Biol. Chem.* 2013, 288: p. 36272–36284.
384. Kiser, P. D., M. Golczak, and **K. Palczewski**, Chemistry of the Retinoid (Visual) Cycle. *Chem. Rev.* 2014, 114: p. 194–232.
385. Bolze CS, R. E. Helbling, R. L. Owen, A. R. Pearson, G. Pompidor, F. Dworkowski, M. R. Fuchs, J. Furrer, M. Golczak, **K. Palczewski**, M. Cascella, and A.Stocker, Human cellu-

- lar retinaldehyde-binding protein has secondary thermal 9-cis-retinal isomerase activity. *J. Am. Chem. Sci.* 2014, 136: p. 137–146.
386. Wu, X., G. Yu, C. Luo, A. Maeda, N. Zhang, D. Sun, Z. Zhou, A. Puntel, **K. Palczewski**, and Z-R. Lu. Synthesis and evaluation of a nanoglobular dendrimer 5-aminosalicylic acid conjugate with a hydrolyzable Schiff base spacer for treating retinal degeneration. *ACS Nano* 2014, 8, p. 153–161.
 387. Sakami S, A.V. Kolesnikov, V. J. Kefalov, **K. Palczewski**. P23H opsin knock-in mice reveal a novel step in retinal rod disc morphogenesis. *Human Mol. Genetics* 2014, 23, p. 1723–1741.
 388. Sundermeier, R. S., F. Vinberg, D. Mustafi, X. Bai, V. J. Kefalov, **K. Palczewski**. R9AP over-expression alters phototransduction kinetics in iCre75 mice. *Invest. Ophthalm. Visual Sci.* 2014, 55, p. 1339–1347.
 389. Tsybovsky, Y. and **K. Palczewski**. Expression, purification and structural properties of ABC transporter ABCA4 and its individual domains. *Protein Exp. and Purif.* 2014, 97, p. 50–60.
 390. Chen Y., Jastrzebska, B., P. Cao, J. Zhang, B. Wang, W. Sun, Y. Yuan, Z. Feng, **K. Palczewski**. Inherent instability of the retinitis pigmentosa P23H mutant opsin. *J. Biol. Chem.* 2014, 289, p. 9288–9303.
 391. Tu, X. and **K. Palczewski**. The macular degeneration-linked C1QTNF5 (S163) mutation causes higher-order structural rearrangements. *J. Struct. Biol.* 2014, 186, p. 86–94.
 392. Maeda, A., G. Palczewska, M. Golczak, H. Kohno, Z. Dong, T. Maeda, **K. Palczewski**. Two-photon microscopy reveals early rod photoreceptor cell damage in light-exposed mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014, 111, E1428-E1437.
 393. Benlian Wang, B., Y. Tsybovsky, **K. Palczewski**, and M. R. Chance. Reliable Determination of Site-specific in vivo Protein N-Glycosylation based on Collision-Induced MS/MS and Chromatographic Retention Time. *J. Am. Soc. Mass Spect.* 2014 25, p. 729–741.
 394. Sui, X, P. D. Kiser, T. Che, P. R. Carey, M. Golczak, W. Shi, J. von Lintig, and **K. Palczewski**. Analysis of carotenoid isomerase activity in a prototypical carotenoid cleavage enzyme, apocarotenoid oxygenase (ACO). *J. Biol. Chem* 2014, 289, 12286–12299.
 395. Comar W. D., S. M. Schubert, B. Jastrzebska, **K. Palczewski**, and A.W. Smith. Mobility and clustering of the opsin G protein-coupled receptor in live cells with time-resolved fluorescence spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 136, 8342–8349.
 396. Palczewska G., Z. Dong, M. Golczak, J. J. Hunter, D.R. Williams, N.S. Alexander, and **K. Palczewski**. two-photon fluorescence microscopy imaging of mouse retina and RPE through the pupil of the eye. *Nature Med.* 2014, 20, 785–789.
 397. Chen Y., H. Tang, W. Seibel, R. Papoian, K. Oh, X. Li, J. Zhang, M. Golczak, **K. Palczewski**, and P. D. Kiser. Identification and characterization of novel inhibitors of mammalian aspartyl aminopeptidase. *Mol. Pharm.* 2014, 86, 231–242.
 398. Palczewska G, M. Golczak, D.R. Williams, J.J. Hunter, and **K. Palczewski**. Endogenous fluorophores enable two-photon imaging of the primate eye. *Invest. Ophthalm. Visual Sci.* 2014, 55, 4438–4447.
 399. Sundermeier RT, N. Zhang, F. Vinberg, D. Mustafi, H. Kohno, M. Golczak, X. Bai, A. Maeda, V. J. Kefalov, and **K. Palczewski**. DICER1 is Essential for Survival of Post-Mitotic Rod Photoreceptor Cells in Mice. *FASEB J.* 2014, 28, 3780–3791.
 400. Maeda, A. and **K. Palczewski**. Retinal degeneration in animal models with a defective visual cycle. *Drug Discovery Today: Disease Models.* 2014, 10, e163-e172.

401. Yuan S., S. Filipek, **K. Palczewski**, H. Vogel. Activation of G-protein-coupled receptors correlates with the formation of a continuous internal water pathway. *Nat. Commun.* (2014), 5:4733 doi: 10.1038/5733.
402. Hofmann L. and **K. Palczewski**. The G protein-coupled receptor rhodopsin: a historical perspective. *Methods in Molecular Biology 2014* (in press).
403. Baker, B.Y., S. Gulati, W. Shi, B. Wang, P.L. Stewart, **K. Palczewski**. Crystallization of Proteins from Crude Bovine Rod Outer Segments. *Methods in Enzymol.* 2014 (in press).
404. Amengual J., N. Zhang, M. Kemerer, T. Maeda, **K. Palczewski**, J. von Lintig. STRA6 is critical for cellular vitamin A uptake and homeostasis. *Hum. Mol. Genetics 2014* (in press).
405. Mustafi, D., S. Kikano, and **K. Palczewski**. Serial block face-scanning electron microscopy: a method to study retinal degenerative phenotypes. *Current Protocols in Mouse Biology* (214) (in press).
406. Palczewski K. The Friedenwald lecture: Chemistry and Biology of the Initial Steps in Vision. *Invest. Ophthalm. Visual Sci.* 2014 (in press).
407. Chiang, W-C., H. Kroeger, S. Sakami, C. Messah, D. Yasumura, M.T. Matthes, J.A. Cop-pinger, **K. Palczewski**, M.M. LaVail, and J.H. Lin. Robust Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation of Rhodopsin Precedes Retinal Degeneration. *Molecular Neurobiology* 2014 (in press).
408. Baker B.Y, W. Shi, B. Wang, and **K. Palczewski**. High Resolution Crystal Structures of the Photoreceptor Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) with Three and Four-bound NAD Molecules. *Protein Science* 2014 (in press).
409. Golczak M., A.E. Sears, P.D. Kiser, and **K. Palczewski**. LRAT-specific domain facilitates Vitamin A metabolism by domain swapping in HRASLS. *Nature Chem. Biol.* 2014 (in press).
410. Activation of G-protein-coupled receptors correlates with the formation of a continuous internal water pathway. *Nat. Commun.* (2014), 5:4733 doi: 10.1038/5733.

Other published articles

1. Buczylo J, **Palczewski K**, Kochman M: Purification and properties of brain aldolase C. *Intl J Biochem* 1983; 15:453–61.
2. Hargrave PA, **Palczewski K**, Arendt A, Adamus G, McDowell JH: “Rhodopsin and Its Kinase,” In: Piatigorsky J, Zelenka T, Shinohara T (eds.): *Molecular Biology of the Eye: Genes, Vision and Ocular Disease*. UCLA Symposium on Molecular and Cellular Biology, New Series, Vol. 88. Copyright © 1988 Alan R. Liss, Inc., New York.
3. **Palczewski K**, Hargrave PA: “The Phosphorylation of Rhodopsin,” In: Hargrave PA, Hoffmann KP, Kaupp UB (eds.): *Mechanism of Phototransduction*. Copyright © 1991 Springer-Verlag, New York; p. 151–59.
4. **Palczewski K**, Hargrave PA: “The Phosphorylation of Rhodopsin,” In: Hargrave PA, Hofmann KP, Kaupp UB (eds.): *Signal Transduction in Photoreceptor Cells*. Copyright © 1992 Springer-Verlag, pp. 151–59.
5. Buczylo J, **Palczewski K**: “Purification of Arrestin from Bovine Retinas,” In: Hargrave PA (ed.): *Methods in Neurosciences*, vol. 15. Copyright © 1993 Academic Press, Inc., New York; Chapter 15: pp. 226–36.
6. Crabb JW, Johnson C, West K, Buczylo J, **Palczewski K**, Hou J, McKeehan K, Kan M, McKeehan WL, Huddleston MJ, Carr SA: “Analysis of Serine, Threonine and Tyrosine Phos-

- phorylation Sites with Mass Spectrometry,” In: Angeletti RH (ed.): *Techniques in Protein Chemistry IV, Section III: “Phosphorylated Proteins.”* Copyright © 1993 Academic Press, Inc., San Diego; pp. 171–78.
7. **Palczewski K:** “Purification of Rhodopsin Kinase from Bovine Rod Outer Segments,” In: Hargrave P (ed.): *Methods in Neurosciences*, vol. 15. Copyright © 1993 Academic Press, Inc., New York; Chapter 14: pp. 217–25.
 8. **Palczewski K:** “Role of Rhodopsin Kinase and Arrestin in the Quenching of Phototransduction,” In: Shima A et al. (eds.): *Frontiers of Photobiology*. Copyright © 1993 Elsevier, Amsterdam; pp. 201–04.
 9. **Palczewski K, Donoso LA:** “Arrestin,” In: Haeberli A (ed.): *Human Protein Data*. Copyright © 1993 VCH Verlagsges. mbH, Weinheim.
 10. Kaplan MW, **Palczewski K:** “pH-Assay of Rod Outer Segment cGMP phosphodiesterase activity,” In: Hargrave PA (ed.): *Methods in Neurosciences*, vol. 15. Copyright © 1993 Academic Press, Inc., New York; Chapter 13, pp. 205–16.
 11. Polans AS, Crabb J, **Palczewski K:** “Calcium-binding Proteins in the Retina,” In: Hargrave PA (ed.): *Methods in Neurosciences*, vol. 15. Copyright © 1993 Academic Press, Inc., New York; Chapter 17, pp. 248–60.
 12. Baehr W, **Palczewski K:** “Two distinct guanylate cyclase-activating proteins in the mammalian retina.” *Proceedings of The Second Great Basin Visual Science Symposium, “Physiological and Molecular Mechanisms of Retinal Function,”* 8/25/95, Salt Lake City, Utah, Vol. II, pp. 22–27.
 13. Baehr W, Subbaraya I, Gorczyca WA, **Palczewski K:** “Guanylate cyclase-activating protein (GCAP): A novel Ca²⁺-binding protein in vertebrate photoreceptors,” In: Anderson RE et al. (eds.): *Degenerative Diseases of the Retina*. Copyright © 1995 Plenum Press, New York; pp. 339–47.
 14. **Palczewski K:** “Rhodopsin Kinase,” In: Haeberli A (ed.): *Human Protein Data*. Copyright © 1995 VCH Verlagsges. mbH, Weinheim.
 15. Polans AS, **Palczewski K, Gorczyca WA, Crabb JW:** “Methods for the purification and characterization of calcium-binding proteins from retina,” In: Crabb JW (ed.): *Techniques in Protein Chemistry VI*. Copyright © 1995 Academic Press, Inc., San Diego; pp. 285–92.
 16. **Palczewski K, Verlinde CLMJ, Haeseleer F:** “Molecular mechanism of visual transduction,” *Novartis Foundation Symposium 224, Rhodopsins and Phototransduction*. Copyright © Novartis Foundation 1999, published by John Wiley & Sons, Ltd.; pp. 191–207.
 17. **Palczewski K, Van Hooser JP, Ohguro H:** “Identification of residues that are phosphorylated within a receptor,” In: Benovic J (ed.): *Regulation of G Protein-coupled receptor function and expression*. Copyright © 2000 Wiley-Liss, New York; Chapter 4: pp. 69–91.
 18. Maeda T, Imanishi Y, **Palczewski K:** Rhodopsin phosphorylation: 30 years later. In: Osborne NN and Chader GJ (eds.): *Progress in Retinal and Eye Research*. © Copyright 2003 Pergamon Press, vol. 22, pp. 417–34.
 19. Ernst OP, Hofmann KP, **Palczewski K:** “Vertebrate Rhodopsins” In: Batschauer A (ed.): *Photoreceptors and Light Signaling*. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, U.K. 2003; 3:77–123.
 20. Salom D, Li N, Zhu L, Sokal I, **Palczewski K:** “Purification of the G Protein-Coupled Receptor Rhodopsin for Structural Studies” In: George S and O’Dowd BF (ed): *G Protein Coupled Receptor-Protein Interactions*. In the series (ed. Sibley D) “Receptor Biochemistry and Methodology”. John Wiley & Sons, Inc. 2005, 1–17.

21. Engel A, **Palczewski K**: Forward to “The G protein-coupled receptor handbook G protein-coupled receptors – a perspective”. Humana Press Inc. 2005 (ed. Devi Lakshmi).
22. **Palczewski K**, Baehr W: “The retinoid cycle and retinal disease” in Nature Encyclopedia of Life Sciences. Macmillan Reference Ltd, 2005, 1–10.
23. Howes KA, Baehr W, **Palczewski K**: The Retinal Insider. Dry AMD: From Theory to Therapy. Review of Ophthalmology 2006; 67–73.
24. Pulagam LV, **Palczewski K**: Phototransduction: rhodopsin. In: Darlene A. Dartt, editor. Encyclopedia of the Eye. Vol 3. Oxford: Academic Press. 2010; 403–412.
25. Salom D, **Palczewski K**: Structural biology of membrane proteins. In “Production of membrane proteins: strategies for expression and isolation.” (ed. Anne Skaja Robinson) 2011, 9, 249–273. Wiley–VCH publisher.
26. Lodowski TD, **Palczewski K**: The impact of G protein-coupled receptor (GPCR) structures on understanding signal transduction, in “G protein-coupled receptors: from structure to function.” Giraldo J and Pin Jean-Philippe editors, 2011. The Royal Society of Chemistry. Drug discovery Series No 8. p. 3–27.
27. Engel A, **Palczewski K**: Stability and Structural Organization of Rhodopsin in Membrane. Encyclopedia of Biophysics. Editor-in-Chief P. Roberts. Publisher the European Biophysical Societies Association (EBSA) and Springer. Receptor section editor (Ulrike Alexiev) 2012 <http://www.springerreference.com/docs/html/chapterdbid/332561.html>.
28. Tsybovsky Y. and **K. Palczewski** “Retinoid pathway gene mutations and the pathophysiology of related visual diseases” in “The Retinoids: Biology, Biochemistry, and Disease” (Editors Pascal Dollé and Karen Niederreither). Publisher Wiley–Blackwell.

Prof. dr hab. Krzysztof Palczewski

Streszczenie wykładu

MECHANIZMY MOLEKULARNE ODPOWIEDZIALNE ZA WIDZENIE

Wprowadzenie

W niniejszym wykładzie przedstawię kilka zagadnień badawczych oraz nowe, nasuwające się pytania, na które próbujemy odpowiedzieć stosując techniki eksperymentalne rozwinięte w ostatnich latach. Zacznę od omówienia postępów w rozumieniu struktury i mechanizmów aktywacji receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCRs – ang. *G-protein coupled receptors*), głównie na przykładzie rodopsyny (Rho). Następnie omówię mechanizm aktywacji białka G sprzężonego z Rho, transducyny G_t .

Transdukcja sygnału, inicjowana przez wiele różnych GPCRs, prowadzi często do takiej samej odpowiedzi komórkowej, na przykład wzrostu cytoplazmatycznego stężenia cGMP lub jonów wapnia. Zdobyta wiedza na temat transdukcji sygnału przez różne receptory prowadząca do określonej odpowiedzi umożliwia szerokie zastosowania terapeutyczne. Przykładem może być ochrona siatkówki przed uszkodzeniem wywołanym światłem, w mysim modelu choroby Stargardta, przy zastosowaniu różnych aktywatorów i inhibitorów GPCRs, już zaakceptowanych jako leki stosowane w innych celach. Wszystkie te środki, poprzez działanie na receptory sprzężone z różnymi białkami G, zapobiegają podwyższonemu stężeniu i w konsekwencji uwalnianiu jonów wapnia do cytoplazmy, co wystarcza, aby zapobiec śmierci fotoreceptorów, gdy są ekspozowane na nadmierne światło.

Naszą wiedzę na temat podstawowych procesów biochemicznych zachodzących w siatkówce wykorzystujemy również w rozwijaniu metod diagnostycznych i monitorowaniu skuteczności terapii we wczesnych etapach rozwoju zwyrodnienia plamki żółtej (AMD – ang. *age-related macular degeneration*) – choroby, która jest najczęstszą przyczyną ślepoty u starszych ludzi w krajach rozwiniętych. Jako przykład przedstawię zastosowanie mikroskopii dwufotonowej do monitorowania zawartości retinolu, estrów retinylu i produktów kondensacji retinalu do wykrywania zmian we wczesnych etapach AMD.

Na koniec przedstawię wyniki ostatnich eksperymentów, w których używając podczerwonego promieniowania laserowego uzyskaliśmy absorpcję dwufotonową w czopkach siatkówki i percepcję kolorów odpowiadającą podwojonej częstotliwości fali promieniowania z lasera u 30 ochotników.

Rodzina receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCRs) na przykładzie rodopsyny

Rodzina GPCRs to największa klasa receptorów transbłonowych, do której należą czujniki molekularne kluczowe w wielu ważnych procesach fizjologicznych. Ze względu na szerokie zastosowania terapeutyczne kontrolowanie funkcji tych receptorów stało się jednym z wiodących

celów farmakologii. Do zrozumienia działania receptorów niezbędne jest poznanie ich struktury czwartorzędowej. Rozpracowanie struktury rodopsyny – pierwszej struktury ssaczego GPCR – utorowało drogę do poznania struktur innych GPCRs: receptorów β_1 - i β_2 -adrenergicznych, receptora chemokinowego CXCR4, receptora dopaminy i receptora A_{2A} -adenozyny (1–5). Badania te pozwoliły w znacznym stopniu wyjaśnić związek pomiędzy strukturą i funkcją tych receptorów (6–8).

Struktury GPCRs. Homologie sekwencji aminokwasów wśród GPCRs są raczej niskie i ograniczone tylko do niektórych motywów funkcjonalnych (9). Mimo to wszystkie GPCRs charakteryzują się wspólną cechą: siedmioma transbłonowymi helisami α . Choć poznano już wiele nowych struktur GPCR, Rho nadal nadaje się najlepiej do badań biochemicznych, biofizycznych i strukturalnych, ponieważ jest jedynym GPCR, który jest dostępny w stanie natywnym w ilościach potrzebnych do analiz.

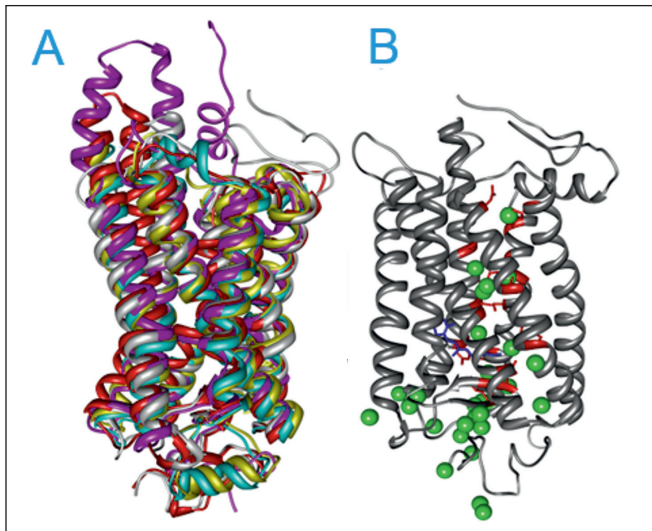
Pierwszą strukturę krystaliczną GPCR – Rho – w stanie nieaktywnym zbadano za pomocą biologii strukturalnej (1). Udoskonalenie warunków krystalizacji umożliwiło ulepszenie rozdzielczości i stworzenie modelu z dokładnością do 2,2 Å. Do dnia dzisiejszego ta struktura Rho pozostaje strukturą opisaną z najlepszą rozdzielczością w porównaniu ze strukturami innych GPCRs (3).

Zmiany konformacyjne rodopsyny po fotoaktywacji. Po absorpcji fotonu przez Rho w stanie nieaktywnym, Rho przechodzi przez szereg stanów przejściowych: batorodopsynę, lumirodopsynę, i metarodopsynę I, zanim dojdzie do biochemicznie aktywnego stanu metarodopsyny II (Meta II). Stany przejściowe mają charakterystyczne maksyma absorpcji i mogą być wyizolowane poprzez zamrożenie w odpowiedniej temperaturze, stabilizowanie niskocząsteczkowymi substancjami chemicznymi lub peptydami analogowymi do białka G_i . Struktury wszystkich stanów przejściowych fotoaktywowanej Rho zostały rozpracowane za pomocą metod krytalograficznych, rentgenografii, spektroskopii w podczerwieni oraz mikroskopii elektronowej i sił atomowych (10,11). Z ich pomocą poznano również strukturę fotoaktywowanej Rho^* , która wykazuje takie same widmo absorpcji optycznej i zdolność aktywacji G_i jak biochemicznie aktywny stan przejściowy Meta II.

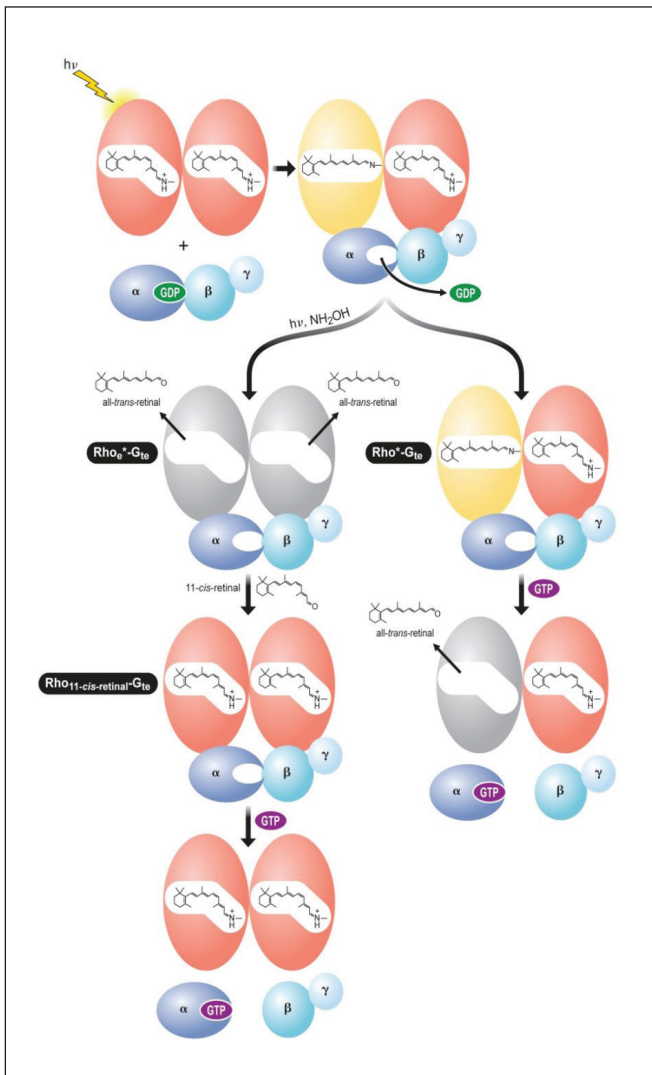
Co ciekawe, struktury stanów przejściowych Rho sugerują, że przy fotoaktywacji nie zachodzi na dużą skalę ruch całych helis. Wykazano natomiast, że fotoaktywacja następuje poprzez szereg małych, lokalnych zmian propagowanych w stronę pętli cytoplazmatycznych, zwłaszcza na końcu helis V i VI. Zmiany struktury w trakcie fotoaktywacji rodopsyny są podobne jak przy aktywacji innych GPCRs wywołanej wiązaniem agonisty, co zostało niedawno podsumowane przez Spranga (12).

Porównanie struktury fotoaktywowanej rodopsyny z opsyną. Wykazano, że struktura opsyny ujawnia wyraźne podobieństwa do Rho^* (13). Tak jak w Rho^* , helisy V i VI po stronie cytoplazmatycznej opsyny są rozchylone, tworząc w ten sposób wnękę umożliwiającą wiązanie G_i . W ostatnich badaniach uzyskano dodatkowe struktury Rho^* , otrzymane poprzez traktowanie kryształów opsyny całkowicie-*trans*-retinalem, które pokrywają się sinusoidalnie ze strukturą opsyny i są spektralnie nie do odróżnienia od struktury naszego Rho^* lub Meta II w roztworze (O. Ernst, *rozmowa prywatna*). Niewielkie różnice strukturalne są prawdopodobnie spowodowane oddziaływaniem kryształu z podłożem lub wpływem preparatów potrzebnych do krystalizacji na dynamikę i strukturę szkieletu Rho i opsyny.

Struktury fotoaktywowanych mutantów Rho. Poznano również struktury aktywowanych mutantów Rho (Oprian, *rozmowa prywatna*), charakteryzujące się zmianami ruchu helisy V i VI w porównaniu z Rho, które są zgodne z proponowanymi modelami fotoaktywacji.



Rys. 1. Podobieństwo ogólnej struktury i dystrybucji cząsteczek wody zachowanych w strukturach krystalicznych GPCRs. A) Superpozycja struktur różnych GPCRs wykazująca znaczne podobieństwa między ludzką Rho (różowy), receptorami adrenergicznymi β_1 i β_2 , (jasno-niebieski), receptorami adrenergicznymi (żółty) i Rho krowy (biały). B) Struktura Rho z cząsteczkami wody (zielone kulki), które są zachowane też w innych strukturach krystalicznych GPCRs.



Rys. 2. Schemat powstawania i rozpadu kompleksów utworzonych między Rho* a G_t. Po absorpcji fotonu, zmiany strukturalne w Rho umożliwiają wiązanie G_t do dimeru Rho*-Rho. Wiązanie to stymuluje uwolnienie GDP z miejsca wiążącego w G_t. Następnie, jak przedstawiono na drodze aktywacji białka G/transducyny po prawej stronie, kompleks Rho*•G_{te} umożliwia wiązanie GTP do G_t, co powoduje dysocjacje od dimeru Rho*-Rho podjednostki α G_t ze związanym GTP i podjednostek β i γ G_t. Na drodze aktywacji białka G/transducyny przedstawionej po lewej stronie, chromofor w kompleksie Rho*•G_{te} jest dostępny dla NH₂OH, co prowadzi do jego hydrolizy i dysocjacji z miejsca wiążącego. Prowadzi to do powstania kompleksu z pustymi miejscami wiążącymi chromofor i nukleotydy (Rho^e•G_{te}). Poprzez dodanie 11-cis-retinalu można wygenerować stan ciemny Rho w kompleksie Rho^e•G_{te} – co prowadzi do powstania kompleksu Rho•G_{te}. Kompleks ten można rozdzielić poprzez dodanie GTP. Czerwone owale symbolizują Rho w ciemności, żółte – fotoaktywowana Rho* do stanu Meta II, szare – opsyny (Rho_e), niebieskie – trzy podjednostki transducyny/białka G (G_{ta $\beta\gamma$}).

Uzyskanie struktur innych GPCR w stanie aktywnym okazało się dużo bardziej skomplikowane niż w przypadku aktywnej rodopsyny lub opsyny ze względu na znaczną niestabilność GPCRs związanych z agonistami pod nieobecność białka G (14–17). Taki brak stabilności na skali czasowej 50 μ s wykazano w symulacji przeprowadzonej metodami dynamiki molekularnej. Dopiero po zastosowaniu przeciwciała wiążącego aktywny receptor β_2 - zidentyfikowano fragment tego przeciwciała i wykazano, że po związaniu go powinowactwo receptora do jego agonisty (izoprenaliny) wzrasta prawie stukrotnie. Dzięki temu udało się uzyskać strukturę kryształiczną całego kompleksu, która ujawnia duże podobieństwo do opsyny. Wyjątkiem jest obecność pętli polipeptydowej „nanociała” we wnętrzu aktywnego receptora β_2 -adrenergicznego, która w przypadku opsyny jest miejscem wiązania karboksylowego końca G_t .

Pomimo znacznych osiągnięć, do lepszego zrozumienia oddziaływania GPCRs z białkami G potrzebne są dalsze badania strukturalne. W szczególności następujące punkty są godne uwagi:

1. Pomimo niskiego podobieństwa sekwencji pierwszorzędowej, ogólne pofałdowanie strukturalne jest zadziwiająco podobne dla różnych GPCRs (rys. 1). Dla wszystkich struktur Rho przesunięcia przestrzenne pomiędzy odpowiednimi fragmentami łańcuchów z regionów transbłonowych, mierzone jako pierwiastek z sumy średniej kwadratów odchyień (RMSDs – ang. *root mean squared deviations*), mieszczą się w zakresie 1,8 Å. Porównanie receptorów adrenergicznych z Rho wskazuje, że odchylenia te wynoszą 3,3–3,5 Å w przypadku receptorów adrenergicznych β_2 i nieco więcej – 4,3–4,7 Å – w przypadku receptorów adrenergicznych β_1 (10,18). Wynika z tego, że do wiązania i aktywacji białka G wymagane jest zachowanie tylko kilku podstawowych funkcji (19).

2. Zmiany strukturalne 2–8 Å obserwowane po aktywacji GPCRs sugerują, że takie subtelne zmiany mogą prowadzić bezpośrednio do różnych receptorów lub pośrednio wpływają na zakres protonowania/deprotonowania pozostałości klucza, np. D (E) RY motyw na powierzchni cytoplazmy odpowiedzialny za skuteczność G białka sprzęgającego oraz dalszych zmian konformacyjnych. W przypadku fotoaktywowanych stanów przejściowych Rho jedynie Meta II jest zdolna do aktywacji G_t i chemicznie różni się od innych fotoindukowanych stanów przejściowych tylko przez deprotonację zasady Schiffa i absorpcję protonu z rozpuszczalnika (20). GPCRs mogą wiązać różnych agonistów, co prowadzi do różnych poziomów aktywności. Niewielkie zmiany strukturalne wywołane przez związanego agonistę powodują różnice w skuteczności takich ligandów w aktywacji białka G (14).

3. Elastyczność struktury GPCRs pozwala na dynamiczne zmiany konformacyjne wywołane tylko przez część energii pochodzącej z wiązania ligandu.

4. Wydaje się, że cząsteczki wody odgrywają krytyczną rolę w procesie aktywacji poprzez mechanizm protonacji/deprotonacji (21–23). „Zachowane” cząsteczki wody, które obserwuje się w wielu strukturach GPCR (rys. 1B), oraz łańcuchy boczne aminokwasów tworzą sieci transmisji sygnału, rozciągające się od strony wiązania ligandu do powierzchni cytoplazmy.

5. Zgodnie z ogólnie przyjętym konsensusem jednostką funkcjonalną GPCR są oligomery (11,24–26).

Wszystkie powyższe punkty są warte dalszych badań.

Aktywacja G_t przez Rho* jako początek szlaku transdukcji sygnału

W momencie aktywacji Rho przez światło 11-*cis*-retinal izomeryzuje do formy całkowicie-*trans*-retinalu, co powoduje przejście Rho do wcześniej wspomnianego, biochemicznie aktywnego, stanu Meta II. Przez wiele lat Meta II była uważana tylko za produkt przejściowy

fotoaktywacji Rho, który wiąże G_t i postulowano, że to wiązanie powoduje duże zmiany strukturalne i rozpad nukleotydów (27). Istnieją dwa rodzaje Meta II: IIa i IIb. Meta IIa powstaje poprzez deprotonowanie Schiffa, natomiast Meta IIb w wyniku absorpcji wolnego protonu z roztworu wodnego (28) (21–23). Porównanie struktury fotowzbudzonej Rho^* z jej stanem podstawowym Rho dostarczyło dowodów, by stwierdzić, że tym, co różni te stany receptorów, jest miejsce dokowania heterotrimerycznego G_t (29). Ponadto powinowactwo G_t do ciemnego stanu Rho, zmierzone za pomocą powierzchniowego rezonansu plazmonowego, jest w zakresie nanomolarnym (29,30). Wyniki tych badań sugerują, że stan ciemny Rho może tworzyć „wstępne” kompleksy z G_t , co jest najprawdopodobniej potrzebne, aby zapewnić szybką odpowiedź na bodziec, jakim jest światło, i zwiększyć wydajność transdukcji sygnału (31). Tak może być również w przypadku wielu innych białek G, które pośredniczą w transdukcji sygnału i prowadzą do odpowiedzi komórkowej w ciągu dziesiątek lub setek milisekund. Ta hipoteza „fizycznego rusztowania” sugeruje bezpośrednie lub pośrednie oddziaływania elementów konkretnego białka (32) i wydaje się bardziej odpowiednia niż uprzednie sugestie oddziaływania w wyniku przypadkowego zderzenia Rho i G_t swobodnie dyfundujących w błonie dysku (33). W oparciu o powyższe wyniki można też sugerować, że tylko subtelne zmiany są niezbędne do „relaksacji” struktury (34) i pozwalają na dokowanie właściwego białka G, które umożliwia dalsze zmiany w strukturze GPCR i ostatecznie powoduje wymianę GDP na GTP w białku G. Takie zmiany mogą obejmować pozostałości klucza w GPCRs w postaci cząsteczek wody ulegających wewnętrznemu protonowaniu/deprotonowaniu (35,36).

Kompleksy Rho^-G_t* W jaki sposób fotoaktywowana Rho^* w błonie dysku powoduje aktywację białka G znajdującego się 40 Å lub dalej i wywołuje odpowiedź komórkową? Jak zmiany struktury i dynamiki Rho mogą doprowadzić do wiązania G_t ? Aby odpowiedzieć na te pytania, potrzebna jest znajomość struktur, które są zaangażowane w proces przechwytywania. Chociaż poznano, z różnymi rozdzielczościami, wiele struktur aktywnych stanów poszczególnych składników kompleksu $Rho^* \cdot G_t$, niewiele wiadomo o mechanizmie, przez który Rho^* wiąże się z jego własnym białkiem G i katalizuje wymianę nukleotydów.

Dwa zdarzenia są krytyczne dla powstawania stabilnego kompleksu pomiędzy rodopsyną i transducyną (białkiem G_t), a mianowicie: aktywacja rodopsyny przez światło i uwolnienie GDP z miejsca wiążącego nukleotydy w G_t . Utrzymanie białka G_t w formie niezwiązanej z nukleotydem jest krytyczne dla stabilności tego kompleksu. Chociaż w komórce kompleks ten jest bardzo krótkotrwały i ulega rozdysocjowaniu natychmiast po związaniu GTP przez białko G_t , po wyizolowaniu z pręcików siatkówki pozostaje stabilny przez kilka tygodni, a białko G_t nie traci zdolności wiązania GTP. Rodopsyna w tym kompleksie posiada właściwości swojej fotoaktywowanej formy, w której związana kowalencyjnie z częścią białkową (opsyną) grupa prostetyczna 11-*cis*-retinal uległa pod wpływem światła izomeryzacji i przejściu w formę all-*trans*-retinalu. Pomimo że aktywacja światłem powoduje hydrolizę i uwolnienie retinalu z kieszeni hydrofobowej wiążącej retinal, proces ten jest zablokowany w wyizolowanym, stabilnym kompleksie pomiędzy rodopsyną i G_t . Jednakże dodanie GTP do tego kompleksu stymuluje jego dysocjację oraz uwolnienie retinalu i akumulację opsyny (rys. 2, prawa droga aktywacji G).

Farmakologia systemów

Odkrycie potencjalnego nowego leku to dopiero początek długiej i trudnej drogi prowadzącej do jego zastosowania w leczeniu. Proponujemy nowatorskie podejście do tego problemu w oparciu o farmakologię systemów. Identyfikuje ona efekty biochemiczne i komórkowe różnych ścieżek transdukcji sygnałów biochemicznych i wykorzystuje tę wiedzę do znalezienia wspólnych efektów końcowych inicjowanych sygnałami przesyłanymi przez różne receptory. Jak wcześniej wspomniano, białka G w połączeniu z GPCRs, takimi jak receptory muskarynowe, adrenergiczne, adenyliczne i około 800 innych w ludzkim genomie, odgrywają istotną rolę we wszystkich podstawowych procesach komórkowych, dlatego też GPCRs są najczęstszym celem przy poszukiwaniu nowych leków na różne choroby. Pierwszym krokiem w farmakologii systemów jest identyfikacja biochemicznych efektów komórkowych w tkankach dotkniętych chorobą i oznaczenie ekspresji genów związanych z różnymi szlakami GPCRs w nich. Pozwala to na zapobieżenie zmianom chorobowym poprzez uaktywnienie szlaków GPCRs, które przeciwdziałają się tym zmianom.

Takie podejście zastosowaliśmy w przypadku mysiego modelu choroby Stargardta, w którym usunęliśmy geny kodujące część enzymów odpowiedzialnych za usuwanie *całkowicie-trans*-retinalu po hydrolizie z pigmentów wzrokowych (Chen, Y., G. Palczewska, D. Mustafi, M. Golczak, Z. Dong, O. Sawada, T. Maeda, A. Maeda, and K. Palczewski. Systems Pharmacology Identifies Drug Targets for Stargardt Disease-Associated Retinal Degeneration. *J Clin Invest* 123: 5119–34). Siatkówka tych myszy dość szybko ulega degeneracji podobnej jak u ludzi dotkniętych chorobą Stargardta, jeśli są one hodowane w cyklicznym oświetleniu. Podatność siatkówki na fotouszkodzenie staje się widoczna po trzydziestominutowej ekspozycji myszy na światło z lampki biurowej, które powoduje niemal całkowite zniszczenie fotoreceptorów. Wykazaliśmy, że przyczyną podatności fotoreceptorów na śmierć wywołaną światłem jest akumulacja cytotoksycznych stężeń *całkowicie-trans*-retinalu, która powoduje aktywację oksydazy NADPH, wzrost generacji reaktywnych form tlenu oraz aktywację GPCR sprzężonego z G_q . To ostatnie z kolei aktywuje fosfolipazę C (PLC), która poprzez rozpad dwufosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP2) może aktywować kinazę białkową C (PKC). Kinaza białkowa C (PKC) aktywuje wówczas cyklazy adenylowe (AC) 1, 2, 3, 5 i 7 i działa hamująco na AC6. Cyklazy syntetyzują cAMP, które w różnych komórkach wpływa na różne procesy. Między innymi, cAMP może się wiązać do kanałów jonowych bramkowanych tymi nukleotydami i powodować ich otwarcie, tym samym umożliwiając napływ jonów wapnia do cytoplazmy. Zwiększenie stężenia wapnia w cytoplazmie może być również spowodowane działaniem PLC, które generuje trójfosforan inozytolu (IP3). Związanie IP3 do jego receptora w siateczce śródplazmatycznej, który jest kanałem wapniowym, powoduje otwarcie tego kanału i uwolnienie jonów wapnia do cytoplazmy. Wzrost cytoplazmatycznego stężenia Ca^{2+} jest sygnałem do apoptozy.

W celu dobrania odpowiedniej terapii farmakologicznej przeanalizowaliśmy transkrypcje genów w siatkówce myszy i, aby te badania miały zastosowanie u człowieka, również w siatkówce ludzkiej. Pozwoliło to zidentyfikować w siatkówce cały szereg GPCRs – 11 receptorów serotoniny (THR) i 6 receptorów adrenergicznych (AR), które są sprzężone z białkami G stymulującymi (G_s) lub hamującymi (G_i) cyklazy adenylowe (AC). Wykryliśmy również „targety” szlaków inicjowanych przez te GPCRs – 10 różnych cyklaz adenylowych i białka odpowiedzialne za ich inaktywację (7 kinaz GPCRs i 4 arestyny). Większość tych białek miało podobną ekspresję w siatkówce ludzkiej i mysiej. Dzięki temu mogliśmy wybrać z dostępnych leków te, które działając na istniejące w siatkówce GPCRs, oferują działanie przeciwstawne do inicjowanego

przez skumulowany *całkowicie-trans*-retinal. Należy przy tym pamiętać, że dotarcie leków do fotoreceptorów może być utrudnione przez barierę krew-siatkówka. Wybraliśmy kilka leków, które są antagonistami $\alpha 1$ -AR lub różnych HTRs i kilka agonistów $\alpha 2$ -AR. Antagoniści $\alpha 1$ -AR mogą przesuwać równowagę aktywacji $\alpha 1$ -AR w stronę nieaktywną, a zatem hamować sygnał przesyłany przez G_q i zmniejszać aktywację PLC. Antagoniści HTRs hamują sygnał przesyłany przez G_s aktywujący cyklazę adenylową. Agoniści $\alpha 2$ -AR przesuują równowagę aktywacji $\alpha 2$ -AR w stronę aktywną, a zatem stymulują G_p , które hamuje aktywację cyklazy adenylowej. Zatem leki te mają potencjał zmniejszenia aktywności AC. Nasze wyniki pokazały, że wykazują one znaczące działanie chroniące siatkówkę przed fotouszkodzeniem. Również bezpośredni inhibitor cyklazy adenylowej wykazał podobne działanie ochronne. Dodatkowo przeprowadziliśmy analizę skuteczności leków w zależności od dawki, analizę następstw oraz analizę skutków ubocznych, co pozwoliło wybrać te najlepsze do dalszych badań i ostatecznie dopuścić je do prób klinicznych zahamowania postępu rozwoju choroby Stargarda.

Podobne podejście farmakologii systemowej może być skuteczne przy leczeniu związanego z wiekiem zwyrodnienia plamki żółtej (AMD) i innych chorób o złożonej etiologii, w których prawdopodobnie występuje brak równowagi pomiędzy kilkoma ścieżkami sygnalizacji. Zatem odpowiednie zahamowanie lub aktywacja tych dróg może pomóc w zachowaniu zdrowej siatkówki. Istnieje pilna potrzeba medyczna zrozumienia etiologii i patofizjologii AMD oraz rozwoju leczenia tego schorzenia, prowadzącego do ślepoty. Uszkodzenia tkanek powodowane AMD są łatwe do wykrycia poprzez techniki obrazowania pozwalające zmierzyć parametry, dzięki którym można śledzić rozwój tej choroby. Jednak w większości przypadków diagnoza pojawia się w momencie, kiedy choroba już trwa i spowodowała widoczne uszkodzenie siatkówki. Proponowane badania mogą pomóc zidentyfikować nowy zestaw diagnostyczny cząsteczek obecnych w krwi/moczu, które pozwolą przewidzieć początek i postęp AMD zanim nastąpią zmiany strukturalne. Taka prosta, nieinwazyjna, analityczna metoda pozwoli na wczesne wykrycie choroby, a co za tym idzie, ułatwi szybki rozwój i testowanie szerszego zakresu możliwości leczenia, mającego na celu zapobieganie nieodwracalnym zmianom w oku i utrzymanie wzroku.

Staje się oczywiste, że minęły czasy klasycznego podejścia farmakologii, w którym jeden receptor lub enzym był „targetem” do stworzenia odpowiedniego agonisty/antagonisty. Zamiast tego należy rozważać wiele receptorów i ścieżek sygnalizacji, co jest niezbędne do skutecznego leczenia i unikania „niespodziewanych” efektów ubocznych. Zatem farmakologia systemów otwiera nowy rozdział w tej dziedzinie nauki, pozwalający wzmocnić racjonalne strategie terapeutyczne. Z pewnością farmakologia systemów stanie się przełomem w medycynie.

Badanie mechanizmów odpowiedzialnych za opóźnioną adaptację do ciemności w zależnej od wieku degeneracji plamki (AMD)

Pręciki charakteryzują się niezmiernie wysoką czułością i stosunkiem sygnału do szumu. Absorpcja pojedynczego fotonu wystarcza do wygenerowania mierzałnej odpowiedzi w postaci zahamowania napływu kationów i hiperpolaryzacji błony plazmatycznej pręcika. Taka wysoka czułość jest możliwa tylko w pręcikach zaadaptowanych do ciemności. Jak wspomniano wcześniej, nie tylko Meta II, ale również opsyna może aktywować G_t . Chociaż stała szybkości aktywacji G_t przez opsynę jest od 4000 do 2 000 000 razy mniejsza niż przez Meta II, obecność opsyny zwiększa „ciemny” szum, niezwiązany z absorpcją fotonów. Wobec tego, dopóki istnieją w pręciku opsyny, będą one podwyższać szum, a zatem podwyższać próg czułości (38). Zatem do odzyskania maksymalnej czułości niezbędna jest regeneracja wszystkich pigmentów wzro-

kowych. Normalnie regeneracja rodopsyny zajmuje 15–20 minut po ekspozycji na błysk światła, doprowadzający do blaknięcia nawet wszystkich jej cząsteczek. W przypadku niewielkiego początkowego blaknięcia, do około 10%, kinetyka odzysku czułości widzenia odpowiada kinetyce regeneracji rodopsyny. Obie mogą być z łatwością mierzone za pomocą spektrometrii światła odbitego z siatkówki, elektroretinografii lub bardziej subiektywnej metody postrzegania bodźców świetlnych o narastającej intensywności.

W początkowych stadiach AMD adaptacja do ciemności pręcików jest opóźniona w porównaniu do osób zdrowych w tym samym wieku (39). Zatem jej pomiar jest metodą pozwalającą na wykrywanie tej choroby na wczesnym etapie i monitorowanie jej postępu (np. praca z G. Jackson). Co więcej, pomiar adaptacji do ciemności może mieć zasadnicze znaczenie dla określenia skuteczności interwencji terapeutycznych. W naszych badaniach próbujemy znaleźć odpowiedź na pytanie, co jest powodem opóźnionej adaptacji do ciemności u osób z AMD? Rozważamy kilka potencjalnych przyczyn. Po pierwsze opóźnienie regeneracji pigmentów wzrokowych może być spowodowane zahamowaną syntezą ich chromoforu pigmentów (11-*cis*-retinalu). Jeśli tak, to nasuwa się następne pytanie – czy to zahamowanie wynika z braku substratu – estrów retinyli, które są gromadzone w RPE? W zdrowych oczach ludzkich zapasy estrów retinyli wystarczają na dwu i półkrotną regenerację rodopsyny po jej całkowitym wyblaknięciu. Przy AMD jest znacznie podwyższony stres oksydacyjny siatkówki. Retinoidy są dość labilne i mogą ulegać utlenianiu, co może prowadzić do ich szybszej degradacji oksydacyjnej i mniejszych zapasów w postaci estrów retinyli zgromadzonych w RPE.

W przypadku, kiedy nie ma wystarczających zapasów estrów retinyli w RPE, to synteza tych estrów następuje z *całkowicie-trans*-retinolu, dostarczonego do RPE z zewnętrznych segmentów pręcików (ROS – ang. *rod outer segments*) (40). Jeśli transport *całkowicie-trans*-retinolu z ROS do RPE jest utrudniony, np. z powodu zmian strukturalnych ROS, które z wiekiem stają się poskręcane i często hipertroficzne, może to być przyczyną zahamowania produkcji estrów i w konsekwencji – syntezy 11-*cis*-retinalu. Co więcej, enzymatyczna produkcja *całkowicie-trans*-retinolu w ROS może być zahamowana na przykład ze względu na podatność na fotoinaktywację enzymów odpowiedzialnych za transbłonowy transport i redukcję *całkowicie-trans*-retinalu zhydrolizowanego z opsyny do *całkowicie-trans*-retinolu.

Kolejną przyczyną opóźnionej adaptacji do ciemności może być zahamowana mobilizacja estrów retinyli. Mechanizm odpowiedzialny za ich mobilizację nadal nie jest całkiem jasny. Estrы *całkowicie-trans*-retinyli są izomeryzowane i hydrolizowane przez enzym RPE65 o wysokiej zawartości w RPE. W wyniku działania RPE65 powstaje 11-*cis*-retinol, który jest wiązany przez komórkowe białko wiążące formy 11-*cis* retinolu i retinalu. Następnie 11-*cis*-retinol jest enzymatycznie utleniany do 11-*cis* retinalu i transportowany do ROS, gdzie po związaniu z opsyną, regeneruje stan ciemny rodopsyny. Te etapy syntezy i transportu 11-*cis* retinalu też mogą ulec zaburzeniu w AMD.

Celem zidentyfikowania mechanizmu odpowiedzialnego za opóźnioną adaptację do ciemności u ludzi z AMD przeprowadzamy analizę ilościową różnych form retinoidów za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją absorpcyjną. Te badania biochemiczne uzupełniamy badaniami obrazującymi strukturę i funkcjonowanie siatkówki: tomografią z wykorzystaniem światła częściowo spójnego OCT (OCT – ang. *optical coherence tomography*), skaningową oftalmoskopią laserową (SLO – ang. *scanning laser ophthalmoscope*), mikroskopią wielofotonową, elektroretinografią (ERG) i histologią. Pomiarы takie przeprowadzamy na ludzkich oczach pochodzących od osób zmarłych w różnym wieku, zdrowych oraz dotkniętych AMD.

Dodatkowo prowadzimy również badania na myszach modyfikowanych genetycznie, które służą jako modele AMD i innych chorób z zaburzeniami cyklu retinoidowego. Przykładem takiej choroby jest choroba Stargardta, która jest dziedzicznym schorzeniem, powodującym zwyrodnienie plamki żółtej siatkówki w młodym wieku, co prowadzi do progresywnej utraty wzroku u dzieci i młodych ludzi – i ostatecznie do ślepoty. Myszom tym podajemy modulatory cyklu retinoidowego (np. retinylaminę, ACU-4429, QLT091001), co pozwala na lepszy wgląd w źródło problemu i co więcej, pozwala na ocenę skuteczności terapeutycznej tych potencjalnych leków.

W następnej części referatu przedstawię nieinwazyjną metodę, dzięki której możemy monitorować cykl retinoidowy w czasie rzeczywistym u żywych zwierząt.

Obrazowanie dna oka i testowanie widzenia za pomocą dwufotonowego wzbudzenia endogennych fluoroforów i pigmentów wzrokowych

Siatkówka nadaje się idealnie do obrazowania za pomocą mikroskopii z zastosowaniem dwufotonowego wzbudzenia endogennych fluoroforów (TPM – ang. *two-photon microscopy*) laserem emitującym wiązkę z bliskiej podczerwieni (IR), ponieważ układ optyczny oka, składający się z rogówki, płynu, soczewki i ciała szklanego, jest przezroczysty dla IR aż do 1400 nm i pozwala na precyzyjne skupienie wiązki lasera na wybranym punkcie siatkówki (41,42). Ponadto twardówka oka myszy jest również przezroczysta dla IR, więc w przypadku braku melaniny w naczyniówce również pozwala na obrazowanie siatkówki. Ze względu na dłuższą długość fali IR w porównaniu ze światłem widzialnym obrazowanie z użyciem IR jest znacznie mniej wrażliwe na zwiększoną gęstość optyczną soczewki, i czasem również rogówki, jaka występuje z wiekiem.

Co więcej, aby poprawić rozdzielczość i zminimalizować moc wiązki lasera, stosujemy układ optyczny korygujący artefakty związane z aberracjami optycznymi przedniej części oka, co pozwala na uzyskanie prawidłowego czoła fali (AO – ang. *adaptive optics*). Dzięki temu za pomocą TPM możemy monitorować *in vivo* w czasie rzeczywistym szereg procesów biochemicznych w RPE, fotoreceptorach i innych komórkach siatkówki. Należy podkreślić, że to nieinwazyjne obrazowanie o wysokiej rozdzielczości jest wspaniałym narzędziem diagnostycznym dla przed- i pooperacyjnej oceny tkanki i monitorowania skuteczności terapii (43). Promieniowanie IR wnika w tkanki głębiej niż promieniowanie widzialne i pozwala na zogniskowanie wiązki lasera w wybranym punkcie, gdzie zachodzi niemal jednoczesna absorpcja dwóch fotonów powodująca elektronowe wzbudzenie fluoroforów, które powracają do stanu podstawowego w sposób promienisty (44,45). Ze względu na konieczność absorpcji dwóch fotonów natężenie fluorescencji jest proporcjonalne do kwadratu chwilowego natężenia światła. Ta zależność sprawia, że rozdzielczość TPM nie jest ograniczona limitem dyfrakcyjnym, charakteryzuje się wysokim stosunkiem sygnału do szumu, co prowadzi do wysokiego kontrastu w obrazowaniu za pomocą TPM (46). Metoda ta pozwala osiągnąć większą rozdzielczość i czułość niż inne sposoby obrazowania *in vivo* (47,48).

Jednym z najważniejszych procesów niezbędnych do widzenia jest synteza chromoforu – 11-*cis*-retinalu potrzebnego do regeneracji pigmentów wzrokowych. Jak wspomniano wcześniej, fotoaktywacja Rho, jak również pigmentów wzrokowych czopków, prowadzi do fotoizomeryzacji 11-*cis*-retinalu do formy *całkowicie-trans*. *Całkowicie-trans*-retinal ulega hydrolizie z miejscą wiążącego opsyny i jest enzymatycznie zredukowany do *całkowicie-trans*-retinolu. Następnie *całkowicie-trans*-retinol jest transportowany z zewnętrznych segmentów fotoreceptorów do

RPE, gdzie jest estryfikowany z resztami kwasów tłuszczowych, takimi jak palmitynian lub stearynian. W zależności od potrzeb estry retinyłu mogą się akumulować w wyspecjalizowanych strukturach zwanych retinosomami lub służyć jak substrat enzymu RPE65. RPE65 izomeryzuje formę *całkowicie-trans* do formy *11-cis* i hydrolizuje wiązanie estrowe. W wyniku tych sprzężonych procesów powstaje *11-cis-retinol*, który jest enzymatycznie utleniany do *11-cis-retinalu*. W ten sposób chromofor pigmentów wzrokowych jest odnawiany i po przetransportowaniu z RPE do zewnętrznych segmentów fotoreceptorów może się wiązać z opsyną, regenerując stan ciemny Rho. Ze względu na cykliczność zużycia i regeneracji proces ten jest znany jako cykl retinoidowy. W odróżnieniu do niefluoryzujących retinali zarówno retinole, jak i estry retinyłu charakteryzują się sporymi wydajnościami kwantowymi fluorescencji, a kinetyka zmian zawartości tych fluoroforów w obszarze zewnętrznych segmentów fotoreceptorów i RPE odzwierciedla sprawność kluczowych etapów cyklu retinoidowego (40). Kinetykę tych zmian możemy monitorować mikroskopią dwufotonową *in vivo* w czasie adaptacji do ciemności lub w trakcie ciągłej ekspozycji na światło.

Co więcej, zmiany w zawartości retinoidów i ich kinetykę w odpowiedzi na światło możemy monitorować przy różnorodnych manipulacjach genetycznych i podejściach terapeutycznych. Testujemy też leki będące pochodnymi witaminy A, które również są podatne na wzbudzenie dwufotonowe. TPM może wykrywać także produkty kondensacji retinali, które mają właściwości fluorescencyjne, gromadzą się z wiekiem w RPE i mogą mieć znaczenie w rozwoju AMD (49–52).

Lista cytowanych prac

1. Palczewski, K., Kumasaka, T., Hori, T., Behnke, C. A., Motoshima, H., Fox, B. A., Le Trong, I., Teller, D. C., Okada, T., Stenkamp, R. E., Yamamoto, M., and Miyano, M. (2000) Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science* 289, 739–745.
2. Okada, T., Le Trong, I., Fox, B. A., Behnke, C. A., Stenkamp, R. E., and Palczewski, K. (2000) X-Ray diffraction analysis of three-dimensional crystals of bovine rhodopsin obtained from mixed micelles. *J. Struct. Biol.* 130, 73–80.
3. Okada, T., Sugihara, M., Bondar, A. N., Elstner, M., Entel, P., and Buss, V. (2004) The retinal conformation and its environment in rhodopsin in light of a new 2.2 Å crystal structure. *J. Mol. Biol.* 342, 571–583.
4. Li, J., Edwards, P. C., Burghammer, M., Villa, C., and Schertler, G. F. (2004) Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form. *J. Mol. Biol.* 343, 1409–1438.
5. Stenkamp, R. E. (2008) Alternative models for two crystal structures of bovine rhodopsin. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* D64, 902–904.
6. Hubbell, W. L., Altenbach, C., Hubbell, C. M., and Khorana, H. G. (2003) Rhodopsin structure, dynamics, and activation: a perspective from crystallography, site-directed spin labeling, sulfhydryl reactivity, and disulfide cross-linking. *Adv. Protein Chem.* 63, 243–290.
7. Lu, Z. L., Saldanha, J. W., and Hulme, E. C. (2002) Seven-transmembrane receptors: crystals clarify. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 140–146.
8. Park, P. S., Filipek, S., Wells, J. W., and Palczewski, K. (2004) Oligomerization of G protein-coupled receptors: past, present, and future. *Biochemistry* 43, 15643–15656.
9. Becker, O. M., Shacham, S., Marantz, Y., and Noiman, S. (2003) Modeling the 3D structure of GPCRs: advances and application to drug discovery. *Curr Opin Drug Discov Devel* 6, 353–361.

10. Lodowski, D. T., Angel, T. E., and Palczewski, K. (2009) Comparative analysis of GPCR crystal structures. *Photochem. Photobiol.* 85, 425–430.
11. Park, P. S., Lodowski, D. T., and Palczewski, K. (2008) Activation of G-protein-coupled receptors: beyond two-state models and tertiary conformational changes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 48, 107–141.
12. Sprang, S. R. (2011) Cell signalling: Binding the receptor at both ends. *Nature* 469, 172–173.
13. Topiol, S., and Sabio, M. (2009) X-ray structure breakthroughs in the GPCR transmembrane region. *Biochem. Pharmacol.* 78, 11–20.
14. Rosenbaum, D. M., Rasmussen, S. G., and Kobilka, B. K. (2009) The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature* 459, 356–363.
15. Rosenbaum, D. M., Zhang, C., Lyons, J. A., Holl, R., Aragao, D., Arlow, D. H., Rasmussen, S. G., Choi, H. J., Devree, B. T., Sunahara, R. K., Chae, P. S., Gellman, S. H., Dror, R. O., Shaw, D. E., Weis, W. I., Caffrey, M., Gmeiner, P., and Kobilka, B. K. (2011) Structure and function of an irreversible agonist-beta(2) adrenoceptor complex. *Nature* 469, 236–240.
16. Rasmussen, S. G., Choi, H. J., Fung, J. J., Pardon, E., Casarosa, P., Chae, P. S., Devree, B. T., Rosenbaum, D. M., Thian, F. S., Kobilka, T. S., Schnapp, A., Konetzki, I., Sunahara, R. K., Gellman, S. H., Pautsch, A., Steyaert, J., Weis, W. I., and Kobilka, B. K. (2011) Structure of a nanobody-stabilized active state of the beta(2) adrenoceptor. *Nature* 469, 175–180.
17. Warne, T., Moukhametzianov, R., Baker, J. G., Nehme, R., Edwards, P. C., Leslie, A. G., Schertler, G. F., and Tate, C. G. (2011) The structural basis for agonist and partial agonist action on a beta(1)-adrenergic receptor. *Nature* 469, 241–244.
18. Jaakola, V. P., Griffith, M. T., Hanson, M. A., Cherezov, V., Chien, E. Y., Lane, J. R., Ijzerman, A. P., and Stevens, R. C. (2008) The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist. *Science* 322, 1211–1217.
19. Mirzadegan, T., Benko, G., Filipek, S., and Palczewski, K. (2003) Sequence analyses of G-protein-coupled receptors: similarities to rhodopsin. *Biochemistry* 42, 2759–2767.
20. Salom, D., Lodowski, D. T., Stenkamp, R. E., Le Trong, I., Golczak, M., Jastrzebska, B., Harris, T., Ballesteros, J. A., and Palczewski, K. (2006) Crystal structure of a photoactivated deprotonated intermediate of rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 16123–16128.
21. Garczarek, F., and Gerwert, K. (2006) Functional waters in intraprotein proton transfer monitored by FTIR difference spectroscopy. *Nature* 439, 109–112.
22. Wikstrom, M., Verkhovskiy, M. I., and Hummer, G. (2003) Water-gated mechanism of proton translocation by cytochrome c oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* 1604, 61–65.
23. Osyczka, A., Moser, C. C., and Dutton, P. L. (2005) Fixing the Q cycle. *Trends Biochem. Sci.* 30, 176–182.
24. Terrillon, S., and Bouvier, M. (2004) Roles of G-protein-coupled receptor dimerization. *EMBO Rep* 5, 30–34.
25. Angers, S., Salahpour, A., and Bouvier, M. (2002) Dimerization: an emerging concept for G protein-coupled receptor ontogeny and function. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 42, 409–435.
26. Milligan, G., Canals, M., Padiani, J. D., Ellis, J., and Lopez-Gimenez, J. F. (2006) The role of GPCR dimerisation/oligomerisation in receptor signalling. *Ernst Schering Found Symp Proc*, 145–161.
27. Filipek, S., Stenkamp, R. E., Teller, D. C., and Palczewski, K. (2003) G protein-coupled receptor rhodopsin: a prospectus. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 851–879.

28. Arnis, S., and Hofmann, K. P. (1993) Two different forms of metarhodopsin II: Schiff base deprotonation precedes proton uptake and signaling state. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 7849–7853.
29. Salamon, Z., Wang, Y., Soulages, J. L., Brown, M. F., and Tollin, G. (1996) Surface plasmon resonance spectroscopy studies of membrane proteins: transducin binding and activation by rhodopsin monitored in thin membrane films. *Biophys. J.* 71, 283–294.
30. Alves, I. D., Salgado, G. F., Salamon, Z., Brown, M. F., Tollin, G., and Hruby, V. J. (2005) Phosphatidylethanolamine enhances rhodopsin photoactivation and transducin binding in a solid supported lipid bilayer as determined using plasmon-waveguide resonance spectroscopy. *Biophys. J.* 88, 198–210.
31. Fotiadis, D., Jastrzebska, B., Philippsen, A., Muller, D. J., Palczewski, K., and Engel, A. (2006) Structure of the rhodopsin dimer: a working model for G-protein-coupled receptors. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 16, 252–259.
32. Hille, B. (1992) G protein-coupled mechanisms and nervous signaling. *Neuron* 9, 187–195.
33. Gilman, A. G. (1987) G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu. Rev. Biochem.* 56, 615–649.
34. Struts, A. V., Salgado, G. F., Martinez-Mayorga, K., and Brown, M. F. (2011) Retinal dynamics underlie its switch from inverse agonist to agonist during rhodopsin activation. *Nat Struct Mol Biol.*
35. Angel, T. E., Chance, M. R., and Palczewski, K. (2009) Conserved waters mediate structural and functional activation of family A (rhodopsin-like) G protein-coupled receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 8555–8560.
36. Orban, T., Gupta, S., Palczewski, K., and Chance, M. R. (2010) Visualizing water molecules in transmembrane proteins using radiolytic labeling methods. *Biochemistry* 49, 827–834.
37. Jastrzebska, B., Golczak, M., Fotiadis, D., Engel, A., and Palczewski, K. (2009) Isolation and functional characterization of a stable complex between photoactivated rhodopsin and the G protein, transducin. *FASEB J.* 23, 371–381.
38. Jin, S., Cornwall, M. C., and Oprian, D. D. (2003) Opsin activation as a cause of congenital night blindness. *Nat. Neurosci.* 6, 731–735.
39. Owsley, C., McGwin, G., Jr., Jackson, G. R., Kallies, K., and Clark, M. (2007) Cone- and rod-mediated dark adaptation impairment in age-related maculopathy. *Ophthalmology* 114, 1728–1735.
40. Kiser, P. D., Golczak, M., and Palczewski, K. (2014) Chemistry of the retinoid (visual) cycle. *Chem. Rev.* 114, 194–232.
41. van den Berg, T. J., and Spekrijse, H. (1997) Near infrared light absorption in the human eye media. *Vision Res.* 37, 249–253.
42. Boettner, E. A., and Wolter, J. R. (1962) Transmission of the ocular media. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1, 776–183.
43. Wolf, W. (2011) The unique potential for noninvasive imaging in modernizing drug development and in transforming therapeutics: PET/MRI/MRS. *Pharm. Res.* 28, 490–493.
44. Masters, B. R., and So, P. T. (2004) Antecedents of two-photon excitation laser scanning microscopy. *Microsc. Res. Tech.* 63, 3–11.
45. Goppert-Mayer, M. (2009) Elementary processes with two quantum transitions. *Annalen Der Physik* 18, 466–479.
46. Zipfel, W. R., Williams, R. M., and Webb, W. W. (2003) Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences. *Nat. Biotechnol.* 21, 1369–1377.

47. So, P. T., Dong, C. Y., Masters, B. R., and Berland, K. M. (2000) Two-photon excitation fluorescence microscopy. *Annu Rev Biomed Eng* 2, 399–429.
48. Helmchen, F., and Denk, W. (2005) Deep tissue two-photon microscopy. *Nat Methods* 2, 932–940.
49. Palczewska, G., Maeda, T., Imanishi, Y., Sun, W., Chen, Y., Williams, D. R., Piston, D. W., Maeda, A., and Palczewski, K. (2010) Noninvasive multiphoton fluorescence microscopy resolves retinol and retinal condensation products in mouse eyes. *Nat. Med.* 16, 1444–1449.
50. Palczewska, G., Dong, Z., Golczak, M., Hunter, J. J., Williams, D. R., Alexander, N. S., and Palczewski, K. (2014) Noninvasive two-photon microscopy imaging of mouse retina and retinal pigment epithelium through the pupil of the eye. *Nat. Med.* 20, 785–789.
51. Imanishi, Y., Batten, M. L., Piston, D. W., Baehr, W., and Palczewski, K. (2004) Noninvasive two-photon imaging reveals retinyl ester storage structures in the eye. *J. Cell Biol.* 164, 373–383.
52. Imanishi, Y., Gerke, V., and Palczewski, K. (2004) Retinosomes: new insights into intracellular managing of hydrophobic substances in lipid bodies. *J. Cell Biol.* 166, 447–453.

Sprawozdanie z XXIII Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 19 listopada 2014 roku odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXIII Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem jej członkowie spotkali się w sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą, prof. dr. hab. Krzysztofem Palczewskim, który po studiach na Uniwersytecie Wrocławskim uzyskał w 1986 roku stopień doktora (specjalność biochemia) na Politechnice Wrocławskiej. Obecnie kieruje Zakładem Farmakologii w School of Medicine, Case Western Reserve University w Cleveland w Ohio.

O godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyste powitał słuchaczy (ok. 190 osób), wśród których przeważali uczniowie Liceum Ogólnokształcącego nr IV, VII, X i XV z nauczycielami przedmiotów przyrodniczych; ponadto byli obecni studenci, doktoranci, pracownicy naukowcy instytutu oraz inni goście, także z Kliniki Okulistycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Prof. Czesław Radzikowski w krótkim wstępie przypomniał, że wykład odbywa się w ramach obchodów Roku Hirszfelda. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i bogaty dorobek wykładowcy (szczegółowa informacja biograficzna w załączeniu). Wspomniał także o owocnym, kilkuletnim stażu naukowym zmarłego profesora Wojciecha Gorczyca, zasłużonego pracownika Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. ***Mechanizmy molekularne ekspresji białek odpowiedzialnych za widzenie***, na wstępie którego Krzysztof Palczewski złożył podziękowania swoim nauczycielom, dzięki którym znalazł się w Oregonie. Profesor wyjaśnił podstawowe zagadnienia z zakresu chemii i biologii widzenia. Omówił rozwój badań procesu fototransdukcji, poczynając od pierwszego eksperymentu na oku żaby (Boll, 1876). W przejrzysty sposób przedstawił zebrane fakty dotyczące rodopsyny, receptora odpowiedzialnego za absorpcję światła. Wyjaśnił, na czym polega widzenie barw i adaptacja sensoryczna oka do światła i do ciemności. Na kolejnych przezroczach przedstawił cykl retinoidowy i strukturę krystaliczną izomerazy retinoidów.

Jak powiedział, kliniczne badania potwierdziły, że możliwe jest przywracanie wzroku we wrodzonej ślepotcie Lebera (dotyczy ona 20% dzieci w szkołach dla niewidzących). Pokazał krótki film o ślepym psie, którego zachowanie zmieniło się po zastosowaniu terapii zastępczej 9-cis-retinolem.

Innym ciekawym wątkiem wykładu było omówienie zmian zachodzących w oku, związanych ze starzeniem (katarakta, zwyrodnienie plamki żółtej). Wpływają one na wrażliwość na kontrast, adaptację do warunków oświetlenia, ostrość widzenia, postrzeganie kolorów. Ponadto wykładowca zwrócił uwagę – zwłaszcza młodym palaczom – na fakt, że zmiany spowodowane paleniem będą widoczne również w oku, nie tylko w płucach.

Na zakończenie wykładu profesor Palczewski przedstawił wyniki ostatnich eksperymentów, w których używając podczerwonego promieniowania laserowego uzyskano absorpcję dwufotonową w czopkach siatkówki i percepcję kolorów odpowiadającą podwojonej częstości fali promieniowania z lasera u 30 ochotników.

Prof. Czesław Radzikowski podziękował za prezentację i zaprosił zebranych do zadawania pytań. W dyskusji wzięli udział m.in. dr hab. Małgorzata Cebrat, prof. dr Marian Kochman, prof. dr Piotr Kuśnierczyk, p. Wiesław Palczewski (brat wykładowcy).

Osoba wykładowcy przyciągnęła licznie zgromadzonych słuchaczy (niemieszczących się w auli), a sam wykład spotkał się z dużym zainteresowaniem. Przy kawie w sali konferencyjnej spotkało się ok. 30 osób zainteresowanym tematem, m.in. zaproszonych z Kliniki Okulistyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

W XXIII spotkaniu uczestniczyli profesorowie, członkowie KPM PAU: J. Boratyński, A. Sikorski, W. Sokalski, Cz. Radzikowski, K. Prosek. Pozostali nie usprawiedliwili nieobecności. O niemożności uczestniczenia w spotkaniu poinformowali niżej wymienieni członkowie komisji; profesorowie: Irena Frydecka, Małgorzata Maria Sąsiadek, Bożena Obmińska-Mrukowicz, Jerzy Mozrzyk i Paweł Kafarski.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXIV otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

25 marca 2015 roku

z udziałem prof. dr hab. Grażyny ADAMUS

Oregon Health & Science University, Ocular Immunology Laboratory, Casey Eye Institute,
Department of Ophthalmology, Portland, OR 97239, USA

Tytuł wykładu:

„AUTOIMMUNOLOGICZNE MECHANIZMY W DEGENERACYJNYCH CHOROBYCH OKA”*

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

**Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Prof. dr hab. Grażyna Adamus – informacja bibliograficzna

Address Oregon Health & Science University
Ocular Immunology Laboratory
Casey Eye Institute, Department of Ophthalmology
3181 SW Sam Jackson Park Rd
Portland, OR 97239, U.S.A.
Tel (503) 418-2540
FAX (503) 418-2541
EMAIL: adamusg@OHSU.EDU

Degrees

1974 M.S. in Biochemistry
University of Wroclaw, Wroclaw, Poland
1978 Ph.D. in Immunochemistry
Institute of Immunology and Experimental Therapy,
Polish Academy of Sciences, Wroclaw, Poland

Professional experience

1978–1983 Research Scientist, Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wroclaw, Poland.
1983–1985 Postdoctoral Research Associate, Department of Medical Biochemistry, Southern Illinois University at Carbondale, Illinois, USA
1985–1986 Research Associate, Department of Ophthalmology, University of Florida Medical School, Gainesville, Florida, USA
1986–1993 Assistant Scientist (=Assistant Professor), Department of Ophthalmology, University of Florida Medical School, Gainesville, Florida, USA
Associate Scientist, R.S. Dow Neurological Sciences Institute and Devers Eye Institute, Legacy-Good Samaritan Hospital & Medical Center Portland, Oregon, USA
1998–2000 Associate Scientist, Neurological Sciences Institute, and Assistant Professor of Ophthalmology, Oregon Health Sciences University, Portland, Oregon
1999–2007 Director of Summer Internship in Neuroscience Program, NSI, Portland, OR
2000–2007 Senior Scientist and Professor, Neurological Sciences Institute, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon
2005–present
Director of Ocular Immunology Laboratory OHSU, Portland, OR
2007–present
Professor of Ophthalmology and Professor of Graduate Neuroscience, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Oregon Health & Science University, Portland

Honors

- 2003 – OHSU Faculty Award for Collaboration
- 2003 – Recognition for Outstanding Contribution in Science Education
- 2004 – Honors for 10 years mentorship in the ASE program
- 2010 – Silver Fellow in the ARVO Fellow Class of 2010
- 2011 – Technology Innovation Award, Top Three Licensee Award – OHSU, 2011
- 2012 – Keynote speaker – 17th Annual American Uveitis Society Winter Symposium
- 2013 – Keynote speaker – Autoimmune Retinopathy Workshop, National Eye Institute, NIH
- 2014 – Invited speaker – International Society for Eye Research Symposium

Professional affiliations

- American Association of Immunologists (elected member)
- Association for Research in Vision and Ophthalmology
- American Association for Advancement in Science
- International Society for Neuroimmunology
- International Society for Eye Research

Study sections (Grant reviews)

- 1994 Ad hoc reviewer for NIH Study Section VisC
- 1995 Special reviewer for NIH Study Section VisC
- 1996 Ad hoc reviewer for NIH Study Section VisC
- 1999 Reviewer for DOD/VA Health Research Program
- 2000 Ad hoc reviewer for NIH Study Section VisA
- 2000 Reviewer for the Army Research Program
- 2004 Reviewer for The Lytmos Group
- 2005 Ad hoc reviewer for The Canadian Eye Foundation
- 2007 Ad hoc reviewer for the GDD NIH Study Section
- 2008–2012
Permanent member of the GDD NIH Study section
- 2010 Reviewer for The Lytmos Group
- 2010 Ad hoc reviewer for ZRG1 -BST -K - (90) NIH Study Section
- 2010 Ad hoc reviewer for ZNSI SRB-M NIH NINDS Study Section
- 2011 Ad hoc reviewer for ZRG1 -BDCN-Q NIH Study Section
- 2011 Ad hoc reviewer for ZNS1 -SRB -M NIH NINDS Study Section
- 2012 Ad hoc reviewer for ZNS1 -SRB -M NIH NINDS Study Section
- 2012 Ad hoc reviewer for DPVS study section -NIH Study Section
- 2013 Ad hoc reviewer for ZNS1 -SRB -M NIH NINDS Study Section
- 2014 Ad hoc reviewer for ZNS1 -SRB -M NIH NINDS Study Section
- 2014 Ad hoc reviewer for DPVS study section -NIH Study Section

Journal reviews

Frequent Reviewer for:

Investigative of Ophthalmology and Visual Science, Current Eye Research, Experimental Eye Research, Archives of Ophthalmology, American Journal of Ophthalmology, British Journal of Ophthalmology, Journal of Neuroscience, Journal of Immunology, Journal of Autoimmunity, Journal of Clinical Immunology, Ocular Immunology and Inflammation, Molecular Immunology, Journal Biological Chemistry, Cancer Research, Cellular and Molecular Life Sciences, Survey of Ophthalmology, Molecular Vision, Cancer Immunology and Immunotherapy Journal, BMC Neuroscience, FEMS Immunology and Medical Microbiology, JAMA, PLOS ONE, and others.

Editorial Board Member for Journal of Clinical & Experimental Ophthalmology

Publications (Peer-reviewed References)

1980–2009 number of published papers: 73

2010–2014 number of published papers: 25

1. Wang S, Lu B, Girman S, Duan J, McFarland T, Zhang Q, Grompe M, Adamus G, Appukuttan B, Lund R: Non-invasive stem cell therapy in a rat model for retinal degeneration and vascular pathology. *PLoS ONE* 2010, 5(2): e9200.
2. Kruer MC, Koch TK, Bourdette DN, Chabas D, Waubant E, Mueller S, Moscarello MA, Dalmau J, Woltjer RL, Adamus G: NMDA Receptor Encephalitis Mimicking Seronegative Neuromyelitis Optica. *Neurology* 2010, 74(18): 1473–1475.
3. Adamus G, Karren L, Mooney J, Burrows G: A Promising Therapeutic Approach for Treatment of Posterior Uveitis: Recombinant T Cell Receptor Ligand Protects Lewis rats from Acute and Recurrent Experimental Autoimmune Uveitis. *Ophthalmic Res* 2010, 44(1): 24.
4. Chan-Kai BT, Yeh S, Weleber RG, Francis PJ, Adamus G, Witherspoon SR, Lauer AK: Electroretinographic findings in transplant chorioretinopathy. *Clin Ophthalmol* 2010, 4: 777.
5. Jiang B, Harper MM, Kecova H, Adamus G, Kardon RH, Grozdanic SD, Kuehn MH: Neuroinflammation in advanced canine glaucoma. *Mol Vis* 2010, 16: 2092.
6. Raghunath A, Adamus G, Bodurka DC, Liu J, Schiffman JS: Cancer-Associated Retinopathy in Neuroendocrine Carcinoma of the Fallopian Tube. *Journal of Neuro-Ophthalmol* 2010 (3): 252.
7. Tanaka A, Takase H, Adamus G, Mochizuki M: Cancer-associated retinopathy caused by benign thymoma. *Brit J Ophthalmol* 2010, 94(4):526.
8. Wood W, Garg S, Adamus G, Gabriel D, Shea T, Serody J: Alloimmune retinopathy associated with antibodies to transducin-alpha as a complication of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(1):135.
9. Adamus G, Brown L, Schiffman J, Iannaccone A: Diversity in autoimmunity against retinal, neuronal, and axonal antigens in acquired neuro-retinopathy, *J Ophthalm Inflamm Infect* 2011, 1: 111–121.
10. Kondo M, Sanuki R, Ueno S, Nishizawa Y, Hashimoto N, Ohguro H, Yamamoto S, Machida S, Terasaki H, Adamus G, Furukawa T: Identification of Autoantibodies against TRPM1 in Patients with Paraneoplastic Retinopathy Associated with ON Bipolar Cell Dysfunction, *PLoS ONE* 2011, 6:e19911.
11. Mets RB, Golchet P, Adamus G, Anitori R, Wilson D, Shaw J, Jampol LM: Bilateral Diffuse

- Uveal Melanocytic Proliferation With a Positive Ophthalmoscopic and Visual Response to Plasmapheresis, *Arch Ophthalmol* 2011, 129: 1235–1238.
12. Wu X, Rosenbaum JT, Adamus G, Zhang GL, Duan J, Weinberg A, Zhang Z: Activation of OX40 Prolongs and Exacerbates Autoimmune Experimental Uveitis, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011, 52:8520–8526.
 13. Abazari A, Allam SS, Adamus G, Ghazi NG: Optical Coherence Tomography Findings in Autoimmune Retinopathy, *Am J Ophthalmol* 2012, 153,750–756.
 14. Aronow M, Adamus G, Wang Y, Chan CC, and Arun D: Paraneoplastic Vitelliform Retinopathy: Clinicopathologic Correlation and Review of the Literature, *Surv Ophthalmol* 2012, 57, 558–564.
 15. Carboni, G, Forma G, Bond AD, Adamus G, Iannaccone A: Bilateral paraneoplastic optic neuropathy and unilateral retinal compromise in association with prostate cancer: A differential diagnostic challenge in a patient with unexplained visual loss. *Doc Ophthalmol* 2012, 125, 63–70.
 16. Adamus, G., Wang, S., Kyger, M., Worley, A., Lu, B., Burrows, G.G.: Systemic Immunotherapy Delays Photoreceptor Cell Loss and Prevents Vascular Pathology in RCS Rats. *Mol Vis* 2012, 18, 2323–2337.
 17. Adamus, G., Brown, L., Andrew, S., Meza-Romero, R., Burrows, G.G., Vandenbark, A.A.: Neuroprotective Effects of Recombinant T-Cell Receptor Ligand In Autoimmune Optic Neuritis In HLA-DR2 Mice”. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012, 53, 406–412.
 18. Kyger, M., Worley, A., Adamus, G.: Autoimmune responses against photoreceptor antigens during retinal degeneration and their role in macrophage recruitment into retinas of RCS rats. *J Neuroimmunol* 2013, 254, 91–100.
 19. Kyger, M., Worley, A., Huan, J., McDowell, H., Smith, W.C., Burrows, G.G., Mattapallil, M.J., Caspi, R.R., Adamus, G., Effective Arrestin-Specific Immunotherapy of Experimental Autoimmune Uveitis with RTL: A Prospect for Treatment of Human Uveitis. *Translational Vision Science & Technology* 2013, 2, 1.
 20. Xiong W-H, Duvoisin R, Adamus G, Jeffrey B, Gellman C, Morgans C.: Serum TRPM1 autoantibodies from melanoma associated retinopathy patients enter retinal on-bipolar cells and attenuate the electroretinogram in mice. *PLoS One*. 2013, 8(8).
 21. Adamus G, L Brown, R Bonnah, and L David.: Detection of autoantibodies against heat shock proteins and collapsin response mediator proteins in autoimmune retinopathy. *BMC Ophthalmology*. 2013, 13(1): 48.
 22. Adamus G, D Choi, and J Schiffman: Significance of Anti-Retinal Autoantibodies in Cancer-Associate Retinopathy with Gynecological Cancers. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013, 4(6) 307.
 23. Adamus G, Chew E, Ferris F, Klein M. Prevalence of anti-retinal autoantibodies in different stages of Age-related macular degeneration. *BMC Ophthalmol*. 2014; 14(1): 154.
 24. EHC van Dijk, CML. van Herpen, M Marinkovic, JBAG. Haanen, D Amundson, GPM. Luyten, MJ Jager, EHW Kapiteijn, JEE Keunen, G Adamus, CJF Boon: Serous retinopathy associated with MEK inhibition (binimetinib) for metastatic cutaneous and uveal melanoma. in review.
 25. B Lu, Y Lin, Y Tsai, S Girman, G Adamus, MK Jones, B Shelley, C Svendsen, S Wang: A subsequent human neural progenitor transplant into the degenerate retina does not compromise initial graft survival or therapeutic efficacy. *Translational Vision Science & Technology*, in review.

Book chapters

1. **Adamus, G.**, A. Arendt, P.A. Hargrave, R. Jackson, J.H. McDowell, A. Szary, H.E. Hamm: "Use of synthetic peptides to evaluate cross-reactivity of monoclonal antibodies raised against frog rhodopsin." "Peptides: Structure and Function", (Eds. C.M. Deber, V.J. Hruby and K.D. Kopple), 1985, Pierce Chem. Co., p. 55–58.
2. **Adamus, G.**, J.H. McDowell, A. Arendt, P.A. Hargrave, E. Smyk-Randall, J. Sheehan: "Structure, function and topography of rhodopsin as determined using monoclonal antibodies." In *Biophysical Studies of Retinal Proteins*, eds. T.G. Ebrey, H. Fraunfelder, B. Honing and K. Nakanishi, 1987, p. 86-94. University of Illinois Press, Urbana, IL.
3. McDowell, J.H., E. Smyk-Randall, J. Sheehan, A. Szary, R.W. Jackson, G. Adamus, P.A. Hargrave: "Use of monoclonal antibodies to study rhodopsin's topography and function." In *Membrane Proteins*, ed. S.C. Goheen, BioRad Laboratories, 1987, p. 71–80.
4. Hargrave, P.A., K. Palczewski, A. Arendt, G. Adamus, J.H. McDowell: "Rhodopsin and its kinase." In *Molecular Biology of the Eye: Genes, Vision and Ocular Disease*, A.R. Liss, Inc., 1988, p. 34–44.
5. **Adamus, G.**: "Immunological measurement of rhodopsin". In *Methods of Neurosciences*, 1993, Vol.15 (ed. P.A. Hargrave), p. 151–160.
6. **Adamus, G.**, B. Sugden, M. Manczak, A. Arendt, P.A. Hargrave. "Pathogenicity Of Myelin Basic Protein In Anterior Uveitis" In: *New Insights Into Retinal Degenerative Diseases*. Ed. Anderson Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2001, p. 217–222.
7. **Adamus, G.** "The Role of Recoverin in Autoimmunity" In "Neuronal Calcium Sensor Proteins" Eds. Philippov and Koch; 2006; p. 181–199.
8. **Adamus, G.** "Paraneoplastic Retinal Degeneration" in *Ocular Disease: Mechanisms and Management*, Ed. Levin, LA, and Albert, DM, 2010, p. 599–606.

Editorials and Commentaries

1. **Adamus, G.**: "Antirecoverin antibodies and autoimmune retinopathy". *Arch Ophthalmol*. 2000; 118: 1577–8.
2. **Adamus, G.** and Wilson, D.J. The Need for Standardization of Antiretinal Antibody Detection and Measurement. *Am J Ophthalmol* 2009, 147, 557.
3. Adamus G: "Is zonal occult outer retinopathy an autoimmune disease?" *J. Clin Experim Ophthalmol* 2011, 2:9.
4. Adamus,G, D. Wilson, "Letter to the Editor: Detection of Anti-Retinal Autoantibodies in Serum by Western Blotting" Accepted to *JAMA Ophthalmol*. 2013, 31(10):1371–1371.
5. Adamus G. Mitochondrial Heat Shock Protein 70: New Target for Optic Neuritis Therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014; 55(8):5227.

Reviews (Peer-reviewed)

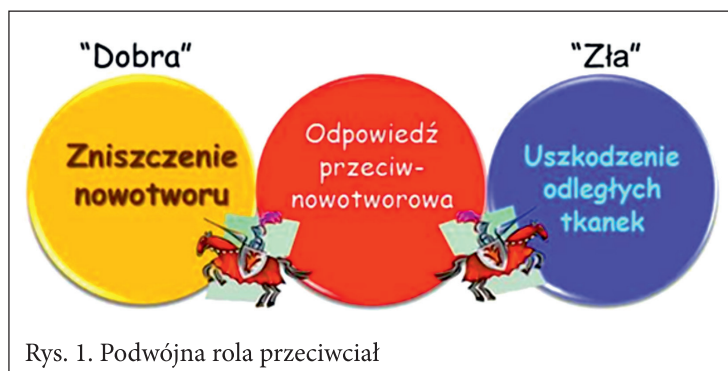
1. Adamus G, "Autoantibody-induced apoptosis as a possible mechanism of autoimmune retinopathy". *Autoimmun Rev*. 2003; 2(2):63–8.
2. Becker MD, Adamus G, Davey MP, Rosenbaum JT. "The role of T cells in autoimmune uveitis". *Ocul Immunol Inflamm*. 2000; 8(2):93–100.
3. Adamus G, Chan CC. "Experimental autoimmune uveitides: multiple antigens, diverse diseases". *Int Rev Immunol*. 2002; 21(2-3):209–29.
4. **Adamus, G.** "Autoantibody Targets and their Cancer Relationship in the Pathogenicity of Paraneoplastic Retinopathy". *Autoimmun Rev*. 2009, 8: 410–414.
5. **Adamus, G.**: "Latest Updates on Anti-Retinal Autoantibodies Associated with Vision Loss and Breast Cancer". 2014 in review

Streszczenie wykładu

**MECHANIZMY AUTOIMMUNOLOGICZNE
W DEGENERACYJNYCH CHOROBYCH OKA**

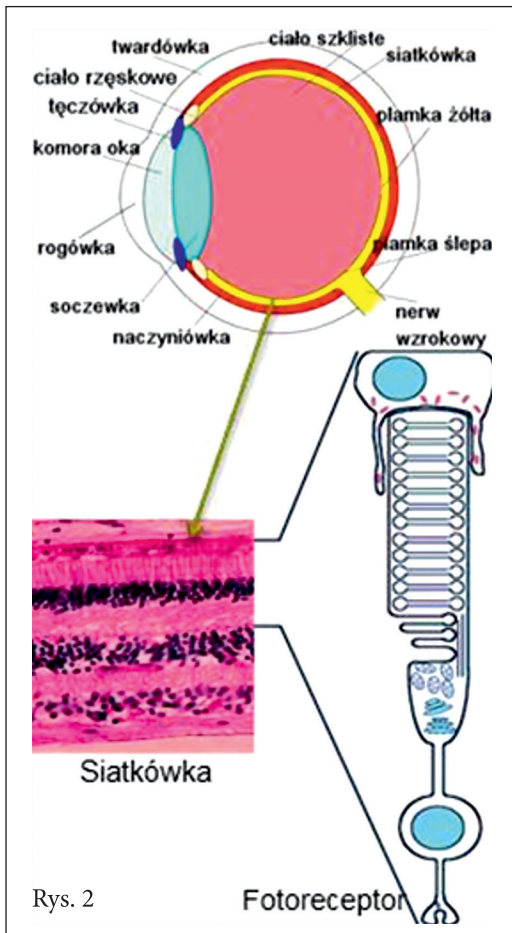
Układ immunologiczny stoi na straży naszego zdrowia i zazwyczaj bezbłędnie rozpoznaje wirusy i bakterie, skutecznie z nimi walcząc. Jednak zdarza się, że atakuje własne tkanki i rozpoczyna produkcję przeciwciał, które mogą je zniszczyć. Prowadzi to do rozwoju wielu chorób autoimmunologicznych, w tym chorób oka, które są podstawą badań naukowych prowadzonych w moim laboratorium. Koncentrujemy się na chorobach powodujących degenerację siatkówki i nerwu wzrokowego, wywołanych zarówno humoralną, jak i komórkową odpowiedzią autoimmunologiczną. Zrozumienie podstaw patogenezy choroby jest konieczne dla opracowania lepszej diagnostyki, jak również nowych i skutecznych terapii.

Moje zainteresowanie powiązaniem degeneracyjnych schorzeń układu nerwowego z chorobami nowotworowymi rozwijającymi się poza układem nerwowym zaczęło się od przypadku pacjentki, która w ciągu kilku miesięcy od wykrycia u niej choroby nowotworowej płuc, straciła wzrok z nieznanymi wtedy powodów. Nasze badania wykazały, że czasem u chorego dochodzi w komórkach nowotworowych do ekspresji białek charakterystycznych dla komórek nerwowych (siatkówki). W tym przypadku była to rekoweryna – białko wiążące wapń w fotoreceptorach. Ustaliliśmy, że białka guza indukują wówczas odpowiedź immunologiczną i w surowicy pojawiają się przeciwciała swoiste, działające zarówno na komórki rakowe, jak i komórki siatkówki. Prowadzi to do destrukcji obu rodzajów komórek, dlatego takie autoprzeciwciała odgrywają podwójną rolę immunopatologiczną: pozytywną i negatywną (Rys. 1). Takie powiązania chorobowe, jakimi są retinopatie towarzyszące chorobie nowotworowej, noszą miano



paranowotworowych zespołów neurologicznych. Najczęściej spotykane okulistyczne zespoły paranowotworowe to retinopatia współistniejąca z rakiem (CAR – *cancer associated retinopathy*) i retinopatia współistniejąca z czerniakiem (MAR – *melanoma associated retinopathy*).

Siatkówka z nerwem wzrokowym stanowi integralną część centralnego układu nerwowego. Jest to wrażliwa tkanka w tylnej części oka, która jest zbudowana z kilku warstw wyspecjalizowanych neuronów, przypominająca trochę błonę fotograficzną (Rys. 2). Sygnał świetlny zostaje zamieniony na impuls nerwowy w warstwie komórek fotoreceptorowych, którą tworzą



Rys. 2

Fotoreceptor

czopki (widzenie barw) i pręciki (widzenie przy niskim natężeniu światła). Czopki (6 milionów w ludzkim oku) znajdują się w większości w centralnej części siatkówki, nazywanej plamką żółtą. Około 120 milionów pręcików mieści się głównie w siatkówce obwodowej. Często pręciki podlegają uszkodzeniu i zanikowi przed czopkami.

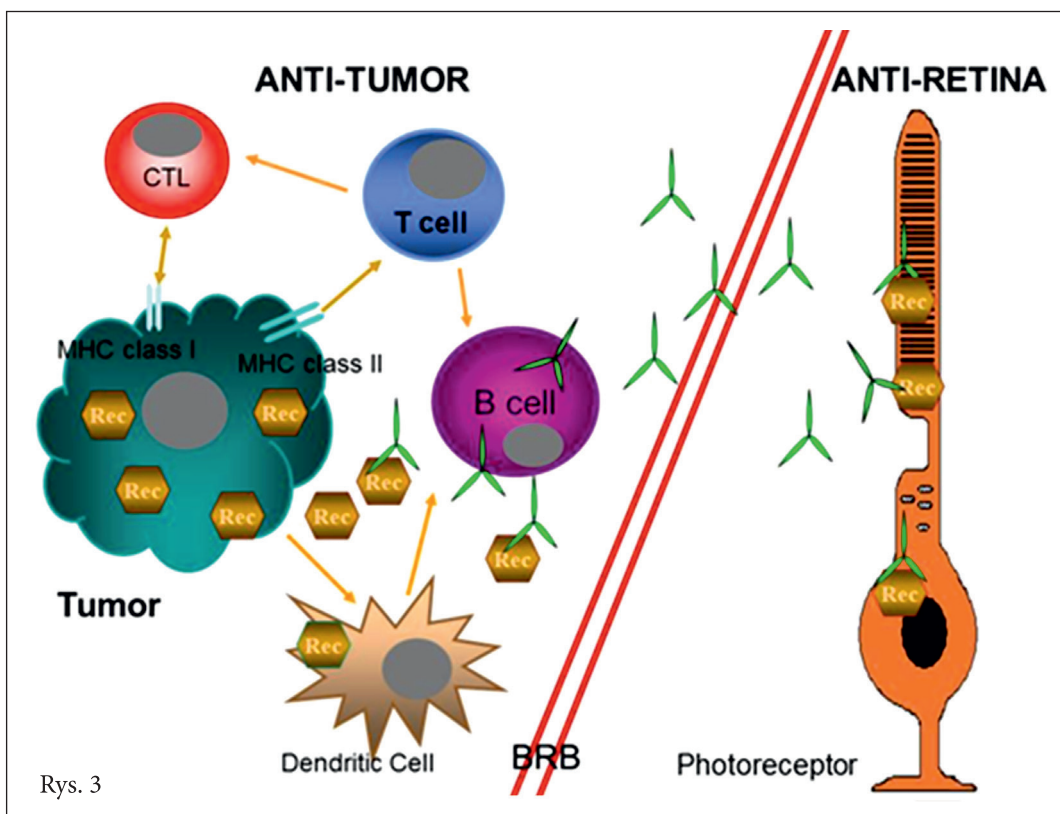
W surowicach chorych na CAR, a także u chorych, którzy mają oczne objawy podobne do CAR, ale nie mają rozpoznanego nowotworu, w czasie wstępnych badań okulistycznych pojawiają się przeciwciała przeciwko antygenom białkowym siatkówki. Taki zespół nazywamy retinopatią autoimmunologiczną (AR). Mechanizm immunopatogeny w CAR i AR wygląda podobnie, ale u pacjentów z retinopatią bez nowotworu antygeny siatkówki mogą pojawiać się poza okiem z powodów innych niż ich ekspresja przez komórki rakowe, np. na skutek uszkodzeń siatkówki (pręcików i czopków) i naczyniówki w procesach zapalnych i degeneracyjnych.

Wczesne badania nad immunopatologią zapalenia błony naczyniowej (*uveitis*) pokazały, że powodem indukcji reakcji autoimmunologicznej mogą być również podobieństwa antygenowe białek obcych, występujących w bakteriach czy wirusach,

do antygenów siatkówki (molekularna mimikra). W obydwu rodzajach schorzeń dochodzi do indukcji odpowiedzi zarówno humoralnej, jak i komórkowej. W moim laboratorium badając podłoże immunopatogenne powodujące degenerację fotoreceptorów postawiliśmy hipotezę, że w CAR są to głównie przeciwciała przeciwko antygenom siatkówki, a w nieinfekcyjnych stanach zapalnych naczyniówki i siatkówki (*autoimmune uveitis*) autoagresja rozwija się głównie przez aktywowane limfocyty T. Punktem wyjścia takich badań są poszukiwania swoistych przeciwciał oraz immunoreaktywnych limfocytów we krwi chorych.

W CAR molekularny mechanizm działania autoprzeciwciał na siatkówkę oparty jest na założeniu, że są one wstępną odpowiedzią na rosnący nowotwór. Jak pokazuje rycina (Rys. 3), antygeny uwolnione z komórek rakowych stymulują układ immunologiczny do produkcji między innymi swoistych autoprzeciwciał będących częścią odpowiedzi przeciwnowotworowej. Przeciwciała te z surowicy przedostają się przez barierę komórkową do siatkówki i tam penetrują komórki fotoreceptorów mających odpowiedni białkowy antygen. Udowodniliśmy, że większość przeciwciał skierowana jest przeciwko rozpuszczalnemu białkom, takim jak rekoweryna, enolaza, adolaza, a więc swoiste przeciwciała muszą dostać się do wnętrza komórki fotoreceptorowej.

Zidentyfikowaliśmy około 30 ważnych białek, które często odgrywają istotną rolę w funkcjach komórkowych, w tym fototransdukcji i glikolizy. Ich blokada prowadzi do utraty funkcji enzymatycznej i w następstwie do uszkodzenia fotoreceptorów. Byliśmy pierwszym laboratorium, które wykazało, że autoprzeciwciała przeciwko tym białkom są cytotoksyczne. Gdy hodowaliśmy żywe komórki siatkówki w obecności patogennych przeciwciał przeciw rekowerynie, te



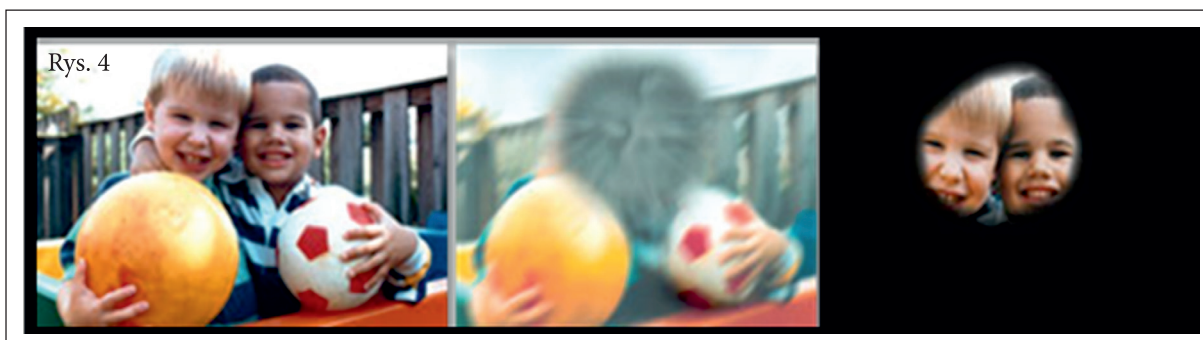
Rys. 3

komórki ulegały martwicy. Ustaliliśmy, że mechanizmem za to odpowiedzialnym jest tzw. programowa śmierć komórkowa, zwana apoptozą, charakteryzująca się kondensacją chromatyny i fragmentacją DNA.

W następnych latach wykazaliśmy, że różne przeciwiatakówkowe przeciwciała wnikają do komórki dzięki endocytozie, blokując funkcję białka antygenowego, co prowadzi do obniżenia pH, podwyższenia poziomu wapnia wewnątrzkomórkowego i do aktywacji procesu apoptozy, ale tylko wtedy, gdy jest obecny swoisty antygen. Normalne, nieswoiste przeciwciała nie mają takich właściwości. Komplement nie odgrywa większej roli w tego rodzaju cytotoxyczności komórkowej autoprzeciwciał.

Udało nam się również wykazać na modelach zwierzęcych, że wszczepienie (dożylnie lub bezpośrednio do oka) swoistych autoprzeciwciał przeciw rekowerynie lub enolazie powoduje ich dotarcie do odpowiednich komórek z antygenami obecnymi w siatkówce (np. fotoreceptory, komórki dwubiegunowe lub zwojowe) i wywołuje ich apoptozę. W przypadku działania autoprzeciwciał przeciw rekowerynie następuje martwica fotoreceptorów i zewnętrzna siatkówka staje się coraz cieńsza przez utratę komórek. Następuje również napływ makrofagów do siatkówki. Te procesy prowadzą do zaburzenia funkcji komórek, zaburzenia procesu widzenia i nieodwracalnej ślepoty tak u zwierząt, jak i u ludzi.

Równoległe z badaniami podstawowymi prowadzimy badania kliniczne chorych, którzy mieli szybko postępujące, niewyjaśnione w badaniu okulistycznym, pogorszenie wzroku oraz zaburzenia pola widzenia, sugerujące retinopatie paranowotworowe. Choroba taka atakuje ludzi w średnim wieku, zwykle po 50. roku życia. Zwyrodnienie siatkówki może być związane z różnymi nowotworami, na przykład nowotworami płuc, odbytnicy, piersi i narządów płciowych u kobiet, prostaty u mężczyzn, jak również z ziarnicą złośliwą i białaczkami. Ostatnie



nasze badania wykazały, że najszybciej rosnącą grupą chorych z tego typu zaburzeniami widzenia są chore na raka piersi. Retinopatie związane z czerniakiem (MAR) również są coraz częstsze i pojawiają się zwykle po rozpoznaniu czerniaka skóry.

Zwyrodnienie siatkówki charakteryzuje się utratą fotoreceptorowych komórek i jest główną przyczyną nieuleczalnej ślepoty. Do najbardziej charakterystycznych objawów w autoimmunologicznej retinopatii należą: nagłe i postępujące, bezbolesne pogorszenie wzroku z nocną ślepotą, światłowstręt, błyski przed oczami, zaburzenia widzenia barw oraz zmiany w funkcji komórek fotoreceptorowych. Zaburzenia w polu widzenia mogą dotyczyć części centralnej lub polegają na koncentrycznym zawężeniu pola widzenia (Rys. 4). Choroby te nie są zbyt częste, ale przez lata zgromadziliśmy największą na świecie kolekcję surowic (źródło przeciwciał) z klinicznymi opisami chorych. Próbujeśmy połączyć informacje z badań serologicznych z objawami okulistycznymi i ustalić biomarkery retinopatii dla określenia ryzyka utraty wzroku. Opracowaliśmy do tej pory 6 możliwych chorobowych fenotypów retinopatii związanych ze swoistymi przeciwciałami (rozpoznawcze biomarkery choroby).

Nasze badania nad przeciwciałami o swoistym działaniu przeciw białkom siatkówki zainteresowały klinicystów z całego świata i dlatego ponad 10 lat temu otworzyliśmy laboratorium diagnozujące retinopatie autoimmunologiczne i paranowotworowe (Ocular Immunology Laboratory OHSU). Naszym celem jest zastosowanie opracowanych przez nas testów w rozpoznawaniu zmian chorobowych w siatkówce, w ustalaniu najlepszego sposobu leczenia, a w pewnych przypadkach zwrócenie uwagi na możliwą obecność choroby nowotworowej. Rozpoznanie zespołu paranowotworowego ma w takich sytuacjach ogromne znaczenie ze względu na możliwość wyleczenia nowotworu na wczesnym etapie jego rozwoju. Prowadzone przez nas badania naukowe są dobrym przykładem twórczego powiązania badań podstawowych z klinicznymi w dziedzinie chorób autoimmunologicznych oka.

Sprawozdanie z XXIV Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 25 marca 2015 roku odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda kolejne, XXIV Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Pół godziny przed wykładem do sali konferencyjnej przybyli członkowie komisji oraz zaproszony wykładowca, prof. dr Grażyna Adamus, która po uzyskaniu stopnia doktora w naszym instytucie (1978) wyjechała w 1983 roku na staż podoktorski do USA. Obecnie pracuje w Zakładzie Oftalmologii na uniwersytecie Oregon Health & Science w Portland (USA). Od 2005 roku kieruje Ocular Immunology Laboratory. Jest uznaną specjalistką w swojej dziedzinie, o czym świadczy jej dorobek naukowy, powierzane funkcje i uzyskane wyróżnienia.

Punktualnie o godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczście powitał zebranych słuchaczy (około 90 osób), wśród których przeważali uczniowie Liceum Ogólnokształcącego nr IV, X i XV z nauczycielami przedmiotów przyrodniczych, ponadto byli obecni doktoranci i pracownicy naukowci instytutu.

Prof. Czesław Radzikowski po krótkim wstępie przedstawił życiorys naukowy prof. Grażyny Adamus i zaprosił do wysłuchania wykładu.

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. *Autoimmunologiczne mechanizmy w degeneracyjnych chorobach oka*. Profesor Adamus uwzględniła potrzebę zrozumienia treści wykładu przez licznie reprezentowaną młodszą część audytorium i na wstępie wyjaśniła podstawowe terminy, takie jak autoodporność, autoprzeciwciała, choroby autoimmunologiczne.

Choroby oka, powodujące degenerację siatkówki i nerwu wzrokowego, są podstawą zainteresowań i badań naukowych prowadzonych w jej laboratorium. Podczas ponadgodzinnej prezentacji profesor Adamus, omawiając wyniki swoich niezwykle ciekawych badań, przedstawiła m.in. budowę siatkówki (zwanej „oknem do mózgu”), patologię jej degeneracji, rolę przeciwciał w procesach zapalnych. Pokazała obrazy widziane okiem zdrowym i okiem pacjentów z retinopatią. Opracowano 6 chorobowych fenotypów retinopatii rozpoznawanych przez swoiste przeciwciała (rozpoznawcze markery choroby). Stwierdziła, że zwyrodnienie siatkówki – przyczyna nieuleczalnej ślepoty – może być związane z różnymi nowotworami (np. rakiem piersi). W Ocular Immunology Laboratory prowadzone są również badania nad zespołami paranowotworowymi, które jako pierwszy objaw raka mogą manifestować się w innym narządzie (oku) odległym od nowotworu.

Okazuje się, że przeciwciała przeciwko rekowerynie mogą się pojawić już 5 lat przed rozpoznaniem nowotworu, a przeciwciała przeciw-CAII – 3 lata wcześniej. Badania takie mają duże znaczenie dla wczesnej diagnostyki i w konsekwencji mogą przyczynić się do efektywnego leczenia, a nawet do wyleczenia.

Wykład był bardzo ciekawy i jasno przedstawiony; wysłuchany został w skupieniu. Po jego zakończeniu w spotkaniu w sali konferencyjnej uczestniczyli członkowie komisji, dyrektor Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, dawni współpracownicy profesor Adamus oraz uczennice z X Liceum.

W XXIV spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. Janusz Boratyński, prof. Anna Chelmońska-Soyta, prof. Irena Frydecka, prof. Egbert Piasecki, prof. Czesław Radzikowski i niżej podpisana Katarzyna Prosek; niemożność uczestniczenia zgłosili profesorowie: Paweł Kisielow, Jerzy Mozrzyk i Stanisław Sokalski.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek
Sekretarz KPM PAU

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXV otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu

9 kwietnia 2015 roku

z udziałem Dr n. biol. Anny GRZEGORZEWICZ

Colorado State University, Department of Microbiology, Immunology and
Pathology, Fort Collins, CO - 80525 USA

Tytuł wykładu:

**„LEKI PRZECIWGRUŹLICZE
O NOWYCH MECHANIZMACH DZIAŁANIA”***

*wykład dedykowany pamięci prof. Ludwika Hirszfelda w ramach obchodów „Roku Hirszfelda”

**Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.**

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr n. biol. Anna GRZEGORZEWICZ – informacja biograficzna

Address 1682 Campus Delivery
Colorado State University
Dept. Microbiology, Immunology, and Pathology
Fort Collins, CO 80523-1682
Phone: 970 491 4067
Fax: 970 491 10603
e-mail: agrzeg@colostate.edu

Education

- Ph.D. (2003) Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Dept. of Immunology of Infectious Diseases, Laboratory of Medical Microbiology;
Thesis: Surface components of actinobacterial cell wall.
Supervisor: Prof. Andrzej Gamian Ph.D
- M.Sc. (1995) University of Wroclaw, Faculty of Natural Sciences, Biotechnology,
Thesis: Studies of phospholipase A2 activity in nuclear matrix and its protein components.
Supervisor: Prof. Arkadiusz Kozubek, Ph.D

Research experience

- 03/1997 – 01/1998 technical assistant, Institute of Immunology, Polish Academy of Sciences, Wroclaw, Poland
- 01/1998 – 09/2004 research assistant, Institute of Immunology, Polish Academy of Sciences, Wroclaw, Poland
- 2000–2001 multiple scientific stays at Lund University, Chemical Center, Dept. Pure and Applied Biochemistry, Lund, Sweden
- 10/2004 – 07/2008 post-doctoral fellow, Colorado State University, Fort Collins, USA
Supervisor: Michael McNeil, Ph.D.
- 07/2008 – 08/2011 post-doctoral fellow, Colorado State University, Fort Collins, USA
Supervisor: Mary Jackson, Ph.D.
- 08/2011 – present research scientist/scholar I, Colorado State University, Fort Collins, USA
Supervisor: Mary Jackson, Ph.D.

Professional experience

microbiology of actinobacteria
structural studies on actinobacterial glycolipids
studies on biological activities and location of actinobacterial glycolipids in the cell
investigation of the antitubercular drugs mode of action
development of high throughput assays

studies on the function of the mycobacterial proteins involved in the cell wall synthesis
(enzymes and transporters)
studies on mycobacterial epoxide hydrolases

Current Research Interest

My research focuses on the elucidation of the mode of action of antitubercular drugs. The increasing prevalence of multidrug resistant tuberculosis highlights the need for drugs with bactericidal mechanism different from those of presently available agents. My work involves elucidating the molecular mechanism of action of new and well-established antitubercular drugs as an aid in developing new therapeutic agents with greater potency, improved pharmacokinetics and reduced toxicity.

I'm particularly interested in finding inhibitors affecting the synthesis of the mycobacterial cell envelope lipids, which form a hydrophobic barrier that prevents the entry of potential antibiotics. I'd like to mention two groups of compounds we've been working on: adamantyl urea and thiocarbamide compounds.

It was established in our laboratory that the bactericidal activity of adamantyl urea compounds on *Mycobacterium tuberculosis* result from the abolition of translocation of trehalose monomycolate across the plasma membrane. Further studies shown that the inner membrane transporter, MmpL3, carries out trehalose monomycolate transport. As a result of MmpL3 inhibition by adamantyl urea the cell envelope outer membrane is not formed. MmpL3 protein is a new promising target for antitubercular drugs.

The Isoxyl and thiacetazone are thiocarbamide-containing prodrugs, which have been used in the clinical treatment of tuberculosis, but their clinical use has been restricted due to low bioavailability or toxicity.

It has been known for the long time that these drugs inhibit *Mycobacterium tuberculosis* growth through the inhibition of mycolic acid synthesis but their targets in this pathway have remained unknown. Our recent studies have shown that isoxyl and thiacetazone inhibit the dehydration step of the type II fatty acid synthase cycle. The detailed understanding of the inhibition mechanism of dehydratases by thiacetazone and isoxyl would allow for rational development of optimized inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* growth.

Awards

Medical Sciences PAN Department's Group Award for studies on immunochemistry human pathogens actinobacteria – Warszawa, 2005

Memberships

2000 – Member of Polish Society for Biochemistry

Publications

1. Hidri N., Farina C., Mordarska H., Szponar B., Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Gamian A., Boiron P. *Nocardia*, nocardiosis and nocardiomycosis. *Mikrobiologia Medycyna.* (in Polish) 2000, 3, 4 (24, 25): 10–17.

2. Hidri N., Farina C., Boiron P., Mordarska H., Szponar B., Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Gamian A. *Nocardia* and human nocardiosis.. Mikologia Lekarska. 2000, 7(4) 1–6.
3. Hidri N., Farina C., Mordarska H., Szponar B., Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Gamian A., Boiron P. *Nocardia* and human nocardiosis. Pneumol. Alergol. Pol., (in Polish) 2001, 69, 11–12, 667–676.
4. Paściak M., Ekiel I., **Grzegorzewicz A.**, Mordarska H., Gamian A. Structure of the major glycolipid from *Rothia dentocariosa*. Biochim. Biophys. Acta. 2002, 1594, 199–205.
5. **Grzegorzewicz A.**, Gamian A. Atomic force microscope a new investigation tool in microbiology. Post. Mikrobiol. (in Polish) 2003, 42(4): 419–436.
6. Paściak M., Holst O., Lindner B., Mierzchała M., **Grzegorzewicz A.**, Mordarska H., Gamian A. Structural and serological characterization of the major glycolipid from *Rothia mucilaginosa*. Biochim Biophys Acta. 2004, 1675(1–3):54–61.
7. Novik G.I., Astapovich N.I., **Grzegorzewicz A.**, Gamian A. Isolation and comparative analysis of glycolipid fractions in bifidobacteria. Mikrobiologija. (in Russian) 2005, 74(6):772–80.
8. **Grzegorzewicz A.E.**, Ma Y., Jones V., Crick D., Liav A., McNeil MR. Development of a microtitre plate-based assay for lipid-linked glycosyltransferase products using the mycobacterial cell wall rhamnosyltransferase WbbL. Microbiology. 2008, 154:3724–30.
9. Birch H.L., Alderwick L.J., Rittmann D., Krumbach K., Etterich H., **Grzegorzewicz A.**, McNeil M.R., Eggeling L, Besra G.S. Identification of a terminal rhamnopyranosyltransferase (RptA) involved in *Corynebacterium glutamicum* cell wall biosynthesis. J Bacteriol. 2009, 191(15):4879–87.
10. Sivendran S., Jones V., Sun D., Wang Y., **Grzegorzewicz A.E.**, Scherman M.S., Napper A.D., McCammon J.A., Lee R.E., Diamond S.L., McNeil M. Identification of triazinoindol-benzimidazolones as nanomolar inhibitors of the Mycobacterium tuberculosis enzyme TDP-6-deoxy-d-xylo-4-hexopyranosid-4-ulose 3,5-epimerase (RmlC). Bioorg Med Chem. 2010,18(2):896–908.
11. Gil F, **Grzegorzewicz A.E.**, Catalão M.J., Vital J., McNeil M.R., Pimentel M. Mycobacteriophage Ms6 LysB specifically targets the outer membrane of *Mycobacterium smegmatis*. Microbiology. 2010, 156(Pt 5):1497–504.
12. Brown J.R., North E.J., Hurdle J.G., Morisseau C., Scarborough J.S., Sun D., Korduláková J., Scherman M.S., Jones V., **Grzegorzewicz A.**, Crew R.M., Jackson M., McNeil M.R., Lee R.E. The structure-activity relationship of urea derivatives as anti-tuberculosis agents. Bioorg Med Chem. 2011, 19(18):5585–95.
13. **Grzegorzewicz A.E.**, Pham H., Gundi V.A., Scherman M.S., North E.J., Hess T., Jones V., Gruppo V., Born S.E., Korduláková J., Chavadi S.S., Morisseau C., Lenaerts A.J., Lee R.E., McNeil M.R., Jackson M. Inhibition of mycolic acid transport across the *Mycobacterium tuberculosis* plasma membrane. Nat Chem Biol. 2012, 8(4):334–41.
14. Scherman M.S., North E.J., Jones V., Hess T.N., **Grzegorzewicz A.E.**, Kasagami T., Kim I.H., Merzlikin O., Lenaerts A.J., Lee R.E., Jackson M., Morisseau C., McNeil M.R. Screening a library of 1600 adamantyl ureas for anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity in vitro and for better physical chemical properties for bioavailability MR. Bioorg Med Chem. 2012, 20(10):3255–62.
15. **Grzegorzewicz A.E.**, Korduláková J., Jones V., Born S.E., Belardinelli J.M., Vaquié A., Gundi V.A., Madacki J., Slama N., Laval F, Vaubourgeix J, Crew R.M., Gicquel B, Daffé M., Morbidoni H.R., Brennan P.J., Quéward A., McNeil M.R., Jackson M. A common mechanism of inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* mycolic acid biosynthetic pathway by isoxyl and thiacetazone. J Biol Chem. 2012, 287(46):38434–41.

16. **Grzegorzewicz A.E.**, Jackson M.: Subfractionation and analysis of the cell envelope (lipo)polysaccharides of *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods Mol Biol.* 2013; 966:309–24.
17. North E.J., Scherman M.S., Bruhn D.F., Scarborough J.S., Maddox M.M., Jones V., **Grzegorzewicz A.**, Yang L., Hess T., Morisseau C., Jackson M., McNeil M.R., Lee R.E. Design, synthesis and anti-tuberculosis activity of 1-adamantyl-3-heteroaryl ureas with improved in vitro pharmacokinetic properties. *Bioorg Med Chem.* 2013, 21(9):2587–99.
18. Favrot L., **Grzegorzewicz A.E.**, Lajiness D.H., Marvin R.K., Boucau J., Isailovic D., Jackson M., Ronning D.R. Mechanism of inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* antigen 85 by ebselen. *Nat Commun.* 2013, 4:2748.
19. Li W., Upadhyay A., Fontes F.L., North E.J., Wang Y., Crans D.C., **Grzegorzewicz A.E.**, Jones V., Franzblau S.G., Lee R.E., Crick D.C., Jackson M. Novel Insights into the Mechanism of Inhibition of MmpL3, a Target of Multiple Pharmacophores in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Aug 18 (in print).

Communications

1. Paściak M., Mordarska H., **Grzegorzewicz A.** Glycolipid markers of *Propionibacterium propionicum* – the application in serodiagnosis of actinomycete-like infections. IX Meeting of Polish Society of Experimental & Clinical Immunology, Warsaw, Poland, 16–18.09.1998.
2. Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Mordarska H., Gamian A. Identification of actinomycete-like clinical isolate by chemical markers using analytical methods. 4. International Symposium on the Interface between Analytical Chemistry and Microbiology. Tregastel, France, 4–7.06.2000.
3. Paściak M., Szponar B., Mordarska H., **Grzegorzewicz A.** Application of chemiotaxonomic methods in diagnosis of actinomycete like diseases. XXIV Congress of the Polish Society of Microbiologists. Bialystok, Poland, 12–15.09.2000.
4. **Grzegorzewicz A.**, Mordarska H., Gamian A., Paściak M. Location of major glycolipids in the cell of *Propionibacterium propionicum*. XXIV Congress of the Polish Society of Microbiologists. Bialystok, Poland, 12–15.09.2000.
5. Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Mordarska H., Gamian A. Application of GC-MS for identification of an actinomycete-like clinical isolate. Summer course on mass spectrometry in biotechnology and medicine. Dubrovnik, Croatia, 16–21.09.2001.
6. Bednarz I., **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Paściak M., Mordarska H., Gamian A. Polar lipids of *Oerskovia xanthineolytica* characterized by GC-MS and MALDI-TOF. Summer course on mass spectrometry in biotechnology and medicine. Dubrovnik, Croatia, 16–21.09.2001.
7. **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Paściak M., Gamian A. Cell envelope of *Gordonia bronchialis*. XXXVIII Meeting of Polish Biochemical Society, Wrocław, Poland, 18–22.09.2002.
8. **Grzegorzewicz A.**, Gamian A., Paściak M., Szponar B. Location of the major glycolipids of *Rhodococcus equi* and *Saccharopolyspora hirsuta* in the bacterial cell. Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Paris, France, 27.07–01.08.2002.
9. **Grzegorzewicz A.**, Gamian A., Budashov I., Danielsson B. Studies on Actinobacteria characteristics by atomic force microscope image. Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Paris, France, 27.07–01.08.2002.
10. Paściak M., Szponar B., **Grzegorzewicz A.**, Niekrasz E., Gamian A. Actinobacterial phospholipid composition of total and purified cell wall lipids fractions analyzed by HPLC approach.

Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Paris, France, 27.07–01.08.2002.

11. Paściak M., **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Mordarska H., Gamian A. Identification of mycolic acid-containing actinomycetal clinical strain isolated from a cardiosurgery patient by the analysis of chemical markers. Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Paris, France, 27.07–01.08.2002.
12. Paściak M., Szponar B., **Grzegorzewicz A.**, Mordarska H., Gamian A. Application of GC-MS for the identification of a mycolic acid-containing actinomycete, isolated from a cardiosurgery patient. International Conference on Indoor Environment Quality in Hospitals. Prag, Czechy, 10–11.10.2002.
13. Korzeniowska-Kowal A., **Grzegorzewicz A.**, Szponar B., Kaczyński Z., Lindner B., Holst O., Gamian A. Structure and immunological activity of glycolipids from *Nocardioopsis dassonvillei*, The Carbohydrate Workshop, Borstel, Germany, 17–20.03.2004.
14. Tweedy T., **Grzegorzewicz A.**, Jackson M., Skovierova H., and McNeil M. Determining the Function of the Proteins Encoded by Rv0228 and Rv0225 as Possible Drug Targets for Tuberculosis. Celebrate Undergraduate Research and Creativity, Fort Collins, April 2008.
15. **Grzegorzewicz A.**, Kurosu M., Jones V., Ma Y., McNeil M. Towards development of a high throughput assay for rhamnosyl transferase. Keystone Symposia, Vancouver, Canada, 20–25.03. 2007.
16. **Grzegorzewicz A.E.**, Ma Y., Jones V., Crick D., Liav A., McNeil MR. Characterization of a mycobacterial rhamnosyl transferase and development of a microtiter plate based assay for its activity. Keystone Symposia, Keystone, USA, 25–30.01.2009.
17. Gil F., **Grzegorzewicz A.**, Catalão M.J., Vital J., Pimentel M., McNeil M. LysB: a new phage protein with lipolytic activity that hydrolyses mycobacterium lipids. Keystone Symposia, Keystone, USA, 25–30.01.2009.
18. **Grzegorzewicz A.E.**, Pham H., Gundi V., Scherman M.S., North J., Hess T., Jones V., Gruppo V., Born S., Morisseau C., Lenaerts A.J., Lee R.E., McNeil M.R., Jackson M. Identification of an inner membrane transporter required for the translocation of mycolic acids across the plasma membrane. Gordon conference, Italy, June 3–8, 2011.
19. **Grzegorzewicz A.E.**, Korduláková J., Jones V., Born S.E., Belardinelli J.M., Vaquié A., Gundi V.A., Madacki J., Slama N., Laval F., Vaubourgeix J., Crew R.M., Gicquel B., Daffé M., Morbidoni H.R., Brennan P.J., Quémard A., McNeil M.R., Jackson M. A Common Mechanism of Inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* mycolic acid biosynthetic pathway by isoxyl and thiacetazone. Gordon Conference, Italy, July 21–26, 2013.

Streszczenie wykładu

**LEKI PRZECIWGRUŻLICZE
O NOWYCH MECHANIZMACH DZIAŁANIA**

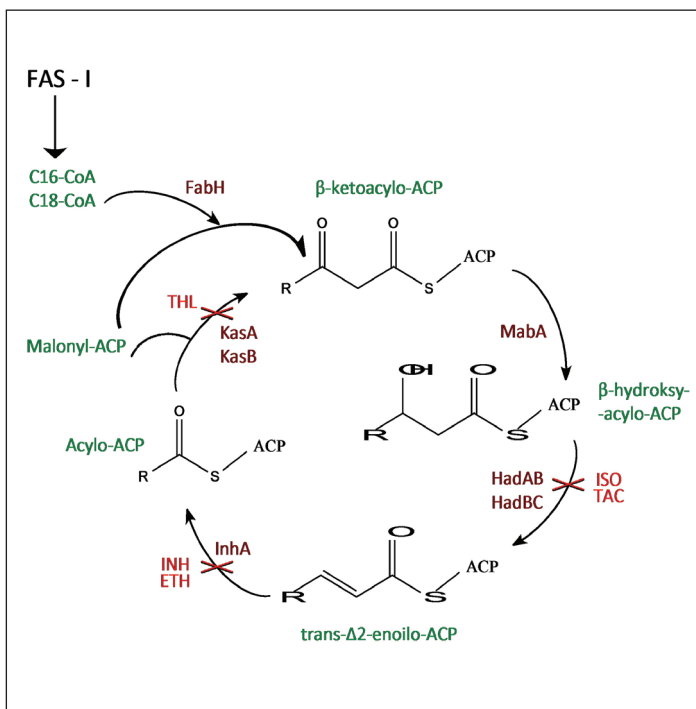
Gruźlica należy do najbardziej rozpowszechnionych chorób zakaźnych na Ziemi. Mimo dostępności skutecznej terapii, ocenia się, że rocznie choruje na nią około 9 milionów osób, a umiera 1,5 miliona. W Polsce jest ona chorobą zanikającą. W ostatniej dekadzie liczba przypadków gruźlicy w naszym kraju zmniejszyła się o 30%, ciągle jednak jest wyższa niż w innych krajach Unii Europejskiej (13, 21).

Czynnikiem etiologicznym tej choroby jest prątek gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), zidentyfikowany przez Roberta Kocha w 1882 roku. Gruźlica przenosi się przede wszystkim drogą kropelkową. Prątki lokalizują się w pęcherzykach płucnych i makrofagach. W wyniku uruchomienia mechanizmów obronnych dochodzi do samoograniczenia zakażenia poprzez utworzenie typowych dla gruźlicy ziarniaków, w których prątki mogą przetrwać w stanie uśpienia przez wiele lat. Zakażenie zatem nie jest równoznaczne z rozwinięciem aktywnej choroby i może pozostawać bezobjawowe. Tylko około 10% osób zakażonych zachoruje, w tym 5% w okresie dwóch lat od zetknięcia się z prątkiem gruźlicy. Czynniki sprzyjającymi uaktywnieniu się choroby są między innymi: zakażenie wirusem HIV, choroby nowotworowe, cukrzyca, niedożywienie, alkoholizm, młody lub zaawansowany wiek zakażonego (14).

Pierwszy skuteczny lek przeciwko gruźlicy – streptomycynę – wprowadzono dopiero po II wojnie światowej. Bardzo szybko jednak pojawiły się szczepy prątka odporne na ten antybiotyk i leczenie nie przynosiło oczekiwanych efektów. Już wtedy zaobserwowano, że prątek gruźlicy ma niezwykłą łatwość nabywania oporności. Dlatego właśnie w celu osiągnięcia pozytywnych efektów terapeutycznych niezbędne jest zastosowanie terapii wielolekowej. Wynalezienie w latach 50. i 60. XX wieku kolejnych antybiotyków: izoniazydu, etambutolu, rifampicyny, pyrazinamidu i etionamidu pozwoliło na opracowanie skutecznej terapii przeciwgruźliczej. Leczenie gruźlicy wielolekoopornej wymaga zastosowania dodatkowych antybiotyków, między innymi z grupy aminoglikozydów, chinolonów i polipeptydów (14, 22).

Istnieje kilka przyczyn wysokiej śmiertelności spowodowanej gruźlicą. Stosowana obecnie szczepionka BCG ma ograniczoną skuteczność, ponieważ nie zapobiega zakażeniu, a jedynie łagodzi przebieg choroby u dzieci (1).

Jednym z podstawowych problemów jest długość trwania terapii przeciwgruźliczej. Gruźlica lekowrażliwa leczona jest przez okres od 6 do 9 miesięcy. W wypadku gruźlicy wielolekoopornej terapia warunkująca całkowite wyleczenie trwa od 18 do 24 miesięcy. Leki przeciwgruźlicze mają często działanie niepożądane, uniemożliwiające normalne funkcjonowanie chorego. Z tego względu pacjenci przerywają terapię, co z kolei przyczynia się do powstania szczepów lekoopornych.



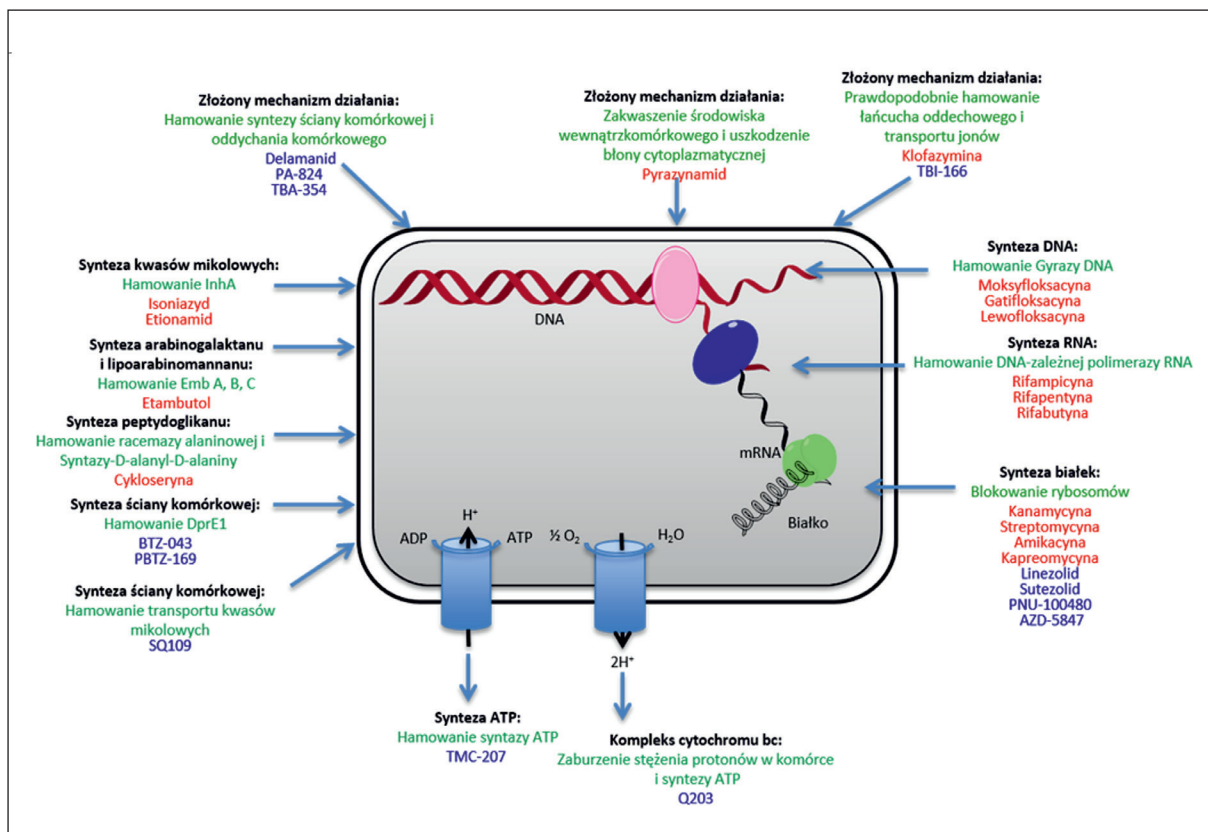
Rys. 1. Cykl elongacji kwasów mikołowych przeprowadzany przez kompleks syntazy kwasów tłuszczowych II (FAS II) oraz miejsca działania w nim leków przeciwprątkowych. Substratami systemu FAS II są malonyl-ACP i acylo-CoA (C16-C26) produkt systemu FAS I. Pierwsza reakcja w systemie FAS II, katalizowana przez białko FabH prowadzi do powstania β -ketoacylo-ACP, który następnie ulega redukcji w reakcji katalizowanej przez enzym MabA. Utworzony β -hydroksy-acylo-ACP jest następnie odwadniany przy udziale dehydrataz HadAB i HadBC i redukowany przez reduktazę enoilo-ACP (InhA). W kolejnym etapie KasA lub KasB katalizują reakcję kondensacji acylo-ACP z malonyl-S-ACP inicjując w ten sposób kolejny cykl elongacji. Isoniazyd (INH) i etionamid (ETH) są inhibitorami InhA. ISO i TAC hamują etap dehydratacji. Tio-laktomycyna (THL) działa na KasA.

Stosowanie terapii wielolekowej w leczeniu gruźlicy nie wynika jedynie z łatwości nabywania przez tę bakterię oporności. Prątki znajdujące się w płucach nie stanowią jednolitej populacji. Można wyróżnić prątki aktywnie namnażające się oraz będące w stanie uśpienia. Dlatego niezbędne jest stosowanie antybiotyków o różnych mechanizmach molekularnych, działających na różne ich populacje.

W ostatnich latach obserwuje się wzrastającą zapadalność na wielolekooporną gruźlicę z opornością co najmniej na rifampicynę i izoniazyd (MDR-TB, *multidrug resistant tuberculosis*) oraz gruźlicę z lekoopornością wielolekową (XDR-TB, *extensively drug resistant tuberculosis*) o rozszerzonej oporności prątków na rifampicynę, izoniazyd, chinolony oraz aminoglikozydy. Leczenie gruźlicy wielolekoopornej jest długie, kosztowne i bardzo często kończy się niepowodzeniem. Kolejnym problemem są interakcje pomiędzy lekami antywirusowymi, stosowanymi u chorych zakażonych wirusem HIV, a lekami przeciwgruźliczymi (14, 22).

Zdolność do przetrwania prątka wewnątrz makrofagów wynika z jego niezwyklej budowy osłon komórkowych. Szkielet ich ściany komórkowej tworzy kompleks peptidoglikan-arabino-galaktan, estryfikowany przez kwasy mikołowe. Ze szkieletem są związane inne składniki ściany komórkowej, przede wszystkim lipidy i glikokoniugaty. Zewnętrzną, kontaktującą się ze środowiskiem warstwę, stanowi otoczka zbudowana z polisacharydów oraz mniejszej ilości białek i lipidów.

Znamienną cechą osłon komórkowych prątków jest bogactwo lipidów i glikokoniugatów o unikatowej strukturze, znajdujących się zarówno w błonie cytoplazmatycznej, jak i w zewnętrznych warstwach osłon komórkowych (5, 9). Przykładem są wyżej wspomniane kwasy mikołowe, które są długołańcuchowymi, α -hydroksy, β -alkilo kwasami tłuszczowymi. Wyróżniamy trzy główne typy kwasów mikołowych α -, keto- i metoksymikołany. Synteza kwasów tłuszczowych, w tym kwasów mikołowych, u prątków jest przeprowadzana przez dwa systemy. W pierwszym z nich, syntaza kwasów tłuszczowych typu I (FAS I, *Fatty acid synthase I*) dostarcza kwasów tłuszczowych o średniej długości (C_{16} - C_{24}), natomiast w drugim syntaza kwasów tłuszczowych

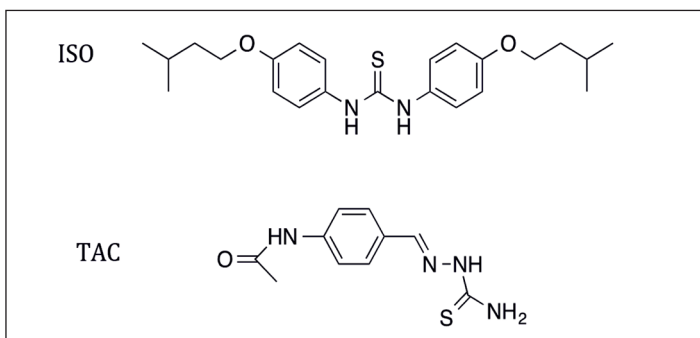


Rys. 2. Mechanizm działania obecnie stosowanych leków przeciwprątkowych (w kolorze czerwonym) oraz leków będących w fazie badań klinicznych (w kolorze niebieskim).

typu II (FAS II, *Fatty acid synthase II*) jest odpowiedzialna za syntezę kwasu tłuszczowych o długości do 60 atomów węgla (Rys. 1) (20).

Kwasy mikołowe są nie tylko ważnym składnikiem ściany komórkowej, ale również biorą udział w interakcjach z układem immunologicznym gospodarza. Nie jest zatem zaskoczeniem, że jeden z najbardziej skutecznych leków przeciwgruźliczych, izoniazyd, działa właśnie na syntezę kwasów mikołowych. Przez wiele lat starano się poznać mechanizm działania tego leku. Obecnie wiadomo, że hamuje on reduktazę enoilo-ACP (InhA), enzymu wchodzącego w skład systemu FAS II (6, 17). Działanie przeciwbakteryjne poprzez hamowanie InhA wywiera również etionamid, ale odznacza się on mniejszą skutecznością niż izoniazyd (2). Isoniazyd i etionamid oddziałują przede wszystkim na prątki aktywnie namnażające się. Etambutol hamuje syntezę arabinianowej składowej arabinogalaktanu i lipoarabinomannanu (15, 19). Rifampicyna, poprzez hamowanie DNA-zależnej RNA polimerazy, blokuje proces transkrypcji, dlatego zabija również bakterie o niskiej aktywności metabolicznej. Aminoglikozydy, do których należy streptomycyna, zakłócają syntezę białek (11). Mechanizm działania obecnie stosowanych leków przeciwgruźliczych oraz leków będących w fazie badań klinicznych został przedstawiony na rysunkach 1 i 2.

W celu zmniejszenia przypadków gruźlicy potrzebne są skuteczniejsze leki o nowych mechanizmach działania, działające zarówno na prątki aktywnie się namnażające, jak również będące w stanie uśpienia. Niezbędne byłoby także skrócenie leczenia przynajmniej do dwóch miesięcy, jak i zmniejszenie częstości podawania leków. Nowe leki powinny być także kompatybilne z terapią antywirusową.



Rys. 3. Struktura chemiczna izoksylu i tiocetazonu

Oprócz poszukiwania nowych związków prątkobójczych prowadzone są również badania, których celem jest poznanie mechanizmu działania znanych już leków przeciwgruźliczych. Dogłębne jego zrozumienie pozwoli na opracowanie leków o podobnej skuteczności, ale odznaczających się lepszymi właściwościami farmakokinetycznymi oraz mniejszą toksycznością.

Izoksyl (ISO) i tiocetazon (TAC) są to leki (Rys. 3), które były stosowane w leczeniu gruźlicy w latach 70. i 80. XX wieku w Afryce i Ameryce Łacińskiej. Ze względu na szereg działań niepożądanych, występujących przy ich przyjmowaniu, oraz wskutek pojawienia się szczepów na nie opornych, wycofano je z użycia (4). Obydwa te związki, będące tiomocznikami, są prolekami wymagającymi aktywacji przez monooxygenazę prątków EthA (7, 12). Ich aktywna forma, posiadająca działanie bakteriobójcze, nie była do tej pory znana. Przez wiele lat było wiadomo, że ISO i TAC hamują syntezę kwasów mikołowych, ale enzym, na który działają nie został do tej pory zidentyfikowany (16). W celu wyjaśnienia mechanizmu działania ISO i TAC zostały zastosowane metody biochemiczne i metody biologii molekularnej. Identyfikacja enzymu, który jest hamowany przez dany związek, odbywa się poprzez próbę izolacji opornych mutantów. Następnie, celem zlokalizowania mutacji warunkującej oporność, wykonuje się sekwencjonowanie całego genomu lub poszczególnych genów. Taką metodę zastosowano w celu poznania enzymu lub enzymów hamowanych przez oba leki. Wyizolowano bakterie prątka odporne na ISO i TAC, w których stwierdzono obecność mutacji w operonie, na który składają trzy geny *hadA*, *hadB* i *hadC* (3, 10). Geny te kodują dehydratazę β -hydroksyacylu, enzym, który katalizuje etap dehydratacji β -hydroksyacylu-ACP w systemie FAS II (Rys. 1). Białko HadB, posiadające centrum katalityczne, tworzy heterodimer z HadA lub HadC. Heterodimer HadAB jest odpowiedzialny za syntezę krótszych kwasów mikołowych, podczas gdy heterodimer HadBC katalizuje powstanie dłuższych kwasów mikołowych (18). W kolejnym etapie badań dokonano nadekspresji genów z operonu *hadABC*. Nadekspresja kombinacji genów *hadAB* lub *hadBC* warunkowała oporność bakterii na ISO i TAC. Jednocześnie nadekspresja innych genów, należących do systemu FAS II, takich jak *inhA*, *kasA*, *mabA* nie zmieniała wrażliwości bakterii na oba leki. Wyniki te potwierdziły, że enzym kodowany przez geny *hadABC* jest hamowany przez ISO i TAC (3, 10).

Powyższe wyniki, uzyskane metodami biologii molekularnej, zostały również potwierdzone za pomocą spektrometrii masowej. Aktywnie rosnące bakterie prątka inkubowano z ISO lub TAC. Następnie metodą chromatografii gazowo-cieczowej (GC-MS) lub cieczowej (LC-MS) sprzężonej ze spektrometrią masową wykonano analizę kwasów tłuszczowych, która wykazała akumulację 3-hydroksy C_{18} - C_{22} kwasów tłuszczowych, wskazując na zahamowanie etapu dehydratacji w systemie FAS II (10).

Na tym etapie badań trudno było stwierdzić, w jaki sposób ISO i TAC hamują dehydratazę. Może się to odbywać poprzez bezpośrednie wiązanie inhibitora z enzymem lub, zakładając bardziej skomplikowany mechanizm, poprzez zaburzenie interakcji pomiędzy białkami w systemie FAS II.

Najczęściej pojawiającą się mutacją u szczepów wykazujących oporność na ISO i TAC, była niesynonimiczna mutacja punktowa w genie *hadA*, zmieniająca cysteinę na serynę (C61S) (10).

Wysunięto hipotezę, że grupa tiomocznikowa ISO i TAC wiąże się kowalencyjnie z cysteiną białka HadA. Próby udowodnienia tej hipotezy w systemie *in vitro*, w którym inkubowano oczyszczone białka HadA z ISO lub TAC, nie powiodły się, prawdopodobnie ze względu na brak prawidłowej aktywacji obydwu leków, do której wymagana jest obecność wspomnianej wcześniej monoooksygenazy EthA. Skonstruowano szczep *Mycobacterium bovis* BCG syntetyzujący białko HadA i poddano go działaniu ISO lub TAC, a następnie wyizolowano i oczyszczono białko HadA, które zanalizowano metodami spektrometrii masowej. Wykazano kowalencyjne wiązanie się ISO lub TAC poprzez mostek dwusiarczkowy z cysteiną białka HadA (8). Przewagą systemu, w którym jako gospodarza użyto *M. bovis* BCG, była obecność u tej bakterii monoooksygenazy EthA, aktywatora obu związków. Wiązanie ISO lub TAC do cysteiny białka HadA najprawdopodobniej blokuje dostęp substratu do kanału wiążącego jego część acylową, znajdującego się na pograniczu białek HadA i HadB. W wyniku zahamowania aktywności dehydrataz zostaje przerwana synteza kwasów mikołowych, a rezultatem jest śmierć komórki bakteryjnej. Badania te również dostarczyły informacji na temat aktywnych form ISO i TAC, które są ich pochodnymi sulfonowymi.

Jednym z podstawowych problemów przy stosowaniu ISO i TAC było powstawanie szczepów opornych z mutacją w genie *ethA*, odpowiedzialnym za aktywację obu proleków. Dzięki poznaniu aktywnej formy ISO i TAC można zaprojektować leki, które nie wymagałyby etapu aktywacji, omijając w ten sposób możliwość powstania szczepów opornych. Powyżej opisane odkrycia powinny pomóc w syntezie nowych inhibitorów etapu dehydratacji.

Opracowanie nowych leków przeciwgruźliczych jest niezwykle długotrwałym procesem, dlatego próby zrozumienia mechanizmu działania już sprawdzonych i skutecznych leków, w celu opracowania ich odpowiedników o lepszych właściwościach farmakokinetycznych i mniejszej toksyczności, wydają się być odpowiednim podejściem.

Piśmiennictwo

1. Aagaard C., Dietrich J., Doherty M., Andersen P.: TB vaccines: current status and future perspectives. *Immunol. Cell Biol.*, 2009; 87: 279–286.
2. Baulard A.R., Betts J.C., Engohang-Ndong J., Quan S., McAdam R.A., Brennan P.J., Lochter C., Besra G.S. Activation of the pro-drug ethionamide is regulated in mycobacteria. *J Biol Chem.* 2000; 275: 28326–28331.
3. Belardinelli J.M., Morbidoni H.R. Mutations in the essential FAS II β -hydroxyacyl ACP dehydratase complex confer resistance to thiacetazone in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium kansasii*. *Mol Microbiol.* 2012; 86: 568–579.
4. Belardinelli J.M., Morbidoni H.R. Recycling and refurbishing old antitubercular drugs: the encouraging case of inhibitors of mycolic acid biosynthesis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11: 429–440.
5. Brennan PJ, Crick DC. The cell-wall core of *Mycobacterium tuberculosis* in the context of drug discovery. *Curr Top Med Chem.* 2007; 7: 475–488.
6. Dessen A., Quémard A., Blanchard J.S., Jacobs W.R. Jr, Sacchettini JC. Crystal structure and function of the isoniazid target of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 1995; 17: 1638–1641.
7. Dover L.G., Alahari A., Gratraud P., Gomes J.M., Bhowruth V., Reynolds R.C., Besra G.S., Kremer L. EthA, a common activator of thiocarbamide-containing drugs acting on different mycobacterial targets. *Antimicrob Agents Chemother.* 200; 51: 1055–1063.

8. Grzegorzewicz A.E., Eynard N., Quémard A., North J.E., Margolis A., Lindenberger J.J., Jones V., Korduláková J., Brennan P.J., Lee R.E., Ronning D.R., McNeil M.R., Jackson M. Covalent Modification of the Mycobacterium tuberculosis FAS-II Dehydratase by Isoxyl and Thiacetazone. *ACS Infect. Dis.* 2015, 1: 91–97.
9. Grzegorzewicz A.E., Jackson M. Subfractionation and analysis of the cell envelope (lipo) polysaccharides of Mycobacterium tuberculosis. *Methods Mol Biol.* 2013; 966: 309–324.
10. Grzegorzewicz A.E., Korduláková J., Jones V., Born S.E., Belardinelli J.M., Vaquié A., Gundi V.A., Madacki J., Slama N., Laval F., Vaubourgeix J., Crew R.M., Gicquel B., Daffé M., Morbidoni H.R., Brennan P.J., Quémard A., McNeil M.R., Jackson M. A common mechanism of inhibition of the Mycobacterium tuberculosis mycolic acid biosynthetic pathway by isoxyl and thiacetazone. *J Biol Chem.* 2012; 287: 38434–38441.
11. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Collins J.J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8: 423–435.
12. Korduláková J., Janin Y.L., Liav A., Barilone N., Dos Vultos T., Rauzier J., Brennan P.J., Gicquel B., Jackson M. Isoxyl activation is required for bacteriostatic activity against Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 3824–9.
13. Korzeniewska-Koseła M. Tuberculosis in Poland in 2010. *Przegl Epidemiol.* 2012; 66: 329–334.
14. Michałowska-Mitczuk D. Farmakoterapia gruźlicy. *Postępy Farmakoterapii.* 2009; 65: 51–58.
15. Mikusová K., Slayden R.A., Besra G.S., Brennan P.J. Biogenesis of the mycobacterial cell wall and the site of action of ethambutol. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 2484–2489.
16. Phetsuksiri B., Baulard A.R., Cooper A.M., Minnikin D.E., Douglas J.D., Besra G.S., Brennan P.J. Antimycobacterial activities of isoxyl and new derivatives through the inhibition of mycolic acid synthesis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 1042–1051.
17. Quémard A., Sacchetti J.C., Dessen A., Vilcheze C., Bittman R., Jacobs W.R. Jr, Blanchard J.S. Enzymatic characterization of the target for isoniazid in Mycobacterium tuberculosis. *Biochemistry.* 1995; 34: 8235–8241.
18. Sacco E., Covarrubias A.S., O'Hare H.M., Carroll P., Eynard N., Jones T.A., Parish T., Daffé M., Bäckbro K., Quémard A. The missing piece of the type II fatty acid synthase system from Mycobacterium tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104: 14628–14633.
19. Takayama K., Kilburn J.O. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in Mycobacterium smegmatis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33: 1493–1499.
20. Takayama K., Wang C., Besra G.S. Pathway to synthesis and processing of mycolic acids in Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18: 81–101.
21. World Health Organization. Global tuberculosis report. WHO Report 2014, Geneva.
22. Zumla A.I., Gillespie S.H., Hoelscher M., Philips P.P., Cole S.T., Abubakar I., McHugh T.D., Schito M., Maeurer M., Nunn A.J. New antituberculosis drugs, regimens, and adjunct therapies: needs, advances, and future prospects. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14: 327–340.

Sprawozdanie z XXV Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 9 kwietnia 2015 roku w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda odbyło się kolejne, XXV Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem, jak zwykle o godz. 12.30, do sali konferencyjnej przybyli członkowie komisji, przedstawiciele dyrekcji instytutu oraz zaproszona dr n. biol. Anna Grzegorzewicz, która rok po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych (2003) w instytucie wyjechała na staż podoktorski do USA. Obecnie pracuje na Uniwersytecie Stanowym Colorado w Fort Collins w Zakładzie Mikrobiologii, Immunologii i Patologii. W tej części spotkania przewodniczący komisji, prof. Czesław Radzikowski, wręczył akty powołania nowym członkom Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU, to jest prof. Annie Chełmońskiej-Sojcie, prof. Andrzejowi Gamianowi, dr hab. Aleksandrze Klimczak oraz Katarzynie Prosek, pełniącej funkcję sekretarza komisji od 2013 roku.

W Auli im. Stefana Ślopka o godzinie 13.10 przewodniczący komisji otworzył spotkanie dydaktyczno-naukowe. Uroczyście powitał zebranych słuchaczy (około 100 osób), wśród których większość stanowiła młodzież licealna (LO nr VII, X, XV) z nauczycielami przedmiotów przyrodniczych, ponadto byli obecni doktoranci i pracownicy naukowcy instytutu. Niestety nie został zrealizowany przekaz audiowizualny wykładu do Liceum nr V, które było zainteresowane taką formą udostępnienia jego treści.

Prof. Czesław Radzikowski po krótkim wstępie poprosił prof. Andrzeja Gamiana (promotora rozprawy doktorskiej gościa) o przedstawienie życiorysu naukowego dr Anny Grzegorzewicz.

O godzinie 13.15 rozpoczął się wykład pt. ***Leki przeciwgruźlicze o nowych mechanizmach działania***. Na jego początku doktor Grzegorzewicz przedstawiła podstawowe informacje dotyczące gruźlicy, czynników sprzyjających zachorowaniu, objawów oraz wykrywania choroby – mimo iż w Polsce gruźlica jest chorobą zanikającą, jednak w 2013 roku zanotowano 7250 zachorowań. Podała także rozwój metod leczenia gruźlicy. Pierwszy skuteczny lek – streptomycynę – wprowadzono dopiero po II wojnie światowej. Wcześniej stosowano głównie leczenie klimatyczne.

Podczas godzinnej prezentacji dr Grzegorzewicz omówiła wyniki swoich pięcioletnich badań nad aktywnymi formami związków ISO (izoksyl) i TAC (tiocetazon), które mogą posłużyć jako wzorce do projektowania nowych, potencjalnie efektywnych leków. Omówiła schemat działania leków przeciwgruźliczych. Wskazała na przyczyny niepowodzenia terapii przeciwgruźliczej, m.in.: niepożądane efekty uboczne powodujące konieczność przerwania terapii, wzrastającą liczbę przypadków trudnych do leczenia z uwagi na pojawianie się populacji prątków niewrażliwych na antybiotyki oraz interakcje pomiędzy lekami antywirusowymi (u osób z HIV) a lekami przeciwgruźliczymi. Ze względu na właściwości prątka gruźlicy i rozwój lekooporności prątków, niezbędne jest zastosowanie terapii wielolekowej. Podsumowując wykład, stwierdziła, że należy dążyć do skrócenia leczenia, zmniejszenia częstości podawania leków i stosowania leków kompatybilnych z terapią antywirusową – wtedy antybiotykoterapia przeciwgruźlicza będzie skuteczna. Oprócz poszukiwania nowych związków prątkobójczych prowadzone są badania, których celem jest poznanie mechanizmu działania znanych już leków przeciwgruźliczych.

Pozwoli to na opracowanie leków o podobnej skuteczności, ale odznaczających się lepszymi właściwościami farmakokinetycznymi oraz mniejszą toksycznością.

Tematyka wykładu zainteresowała słuchaczy, o czym świadczyły zadawane w dyskusji pytania. W spotkaniu w sali konferencyjnej po wykładzie, które zakończyło się ok. godz.15.30, uczestniczyli członkowie komisji, prof. Danuta Duś, dawni współpracownicy dr Grzegorzewicz oraz dr hab. Andrzej Myc, który był gościem KPM PAU w poprzednim roku.

W XXV spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. Janusz Boratyński, prof. Anna Chełmońska-Soyta, prof. Andrzej Gamian, dr hab. Aleksandra Klimczak, prof. Czesław Radzikowski, prof. Waław Sokalski i Katarzyna Prosek; niemożność uczestniczenia zgłosili profesorowie: Paweł Kisielow, Bożena Obmińska-Mrukowicz, Małgorzata Sąsiadek i Aleksander Sikorski.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek
Sekretarz Komisji

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

Część III
SPPRAWY ORGANIZACYJNE



**KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU
WE WROCLAWIU**

Wrocław, 12 grudnia 2014 r.

Pan
Prof. dr hab. Jerzy Wyrozumski
Sekretarz Generalny PAU
ul. Sławkowska 17
31-016 Kraków
office@pau.krakow.pl

Szanowny Panie Profesorze,

Zwracam się z prośbą o zgodę na uzupełnienie składu prowadzonej przeze mnie Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU we Wrocławiu z siedzibą w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirsztfelda o niżej podanych kandydatów, których dorobek naukowy przekazany w życiorysach naukowych jest mi znany.

Uzupełnienie składu Komisji wydaje się celowe ze względu na spodziewany ubytek liczby członków spowodowany niemożnością czynnego udziału w działaniach Komisji w ciągu ostatnich 3 lat.

Przy wyborze kandydatów brałem pod uwagę nie tylko ich dorobek naukowy, zgodę na uczestniczenie w pracach Komisji, ale także ich zatrudnienie poza Instytutem w uczelniach wyższych.**

Z poważaniem,

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Przewodniczący KPM PAU we Wrocławiu



KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU
WE WROCŁAWIU

Proponowani nowi członkowie Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU we Wrocławiu:

1. Prof. dr hab. Paweł Kisielow, członek czynny PAU (wyraził zgodę na członkostwo w KPM PAU we Wrocławiu)

Niżej podane osoby wyraziły zgodę na kandydowanie na członków Komisji PAU we Wrocławiu:**

2. Prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta, IITD PAN i UPrzyr.
3. Prof. dr hab. Andrzej Gamian, IITD PAN i UMed.
4. Prof. dr hab. Aleksandra Klimczak, IITD PAN.(zastępca przewodniczącego)
5. Prof. dr hab. Jolanta Zakrzewska-Czerwińska, IITD PAN i UWroc.
6. Katarzyna Prosek, IITD PAN (sekretarz Komisji)

**** Przyjęta zasada – miejsce pracy w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (IITD PAN), a także na Uczelni: – Uniwersytet Medyczny (UMed.), Uniwersytet Wrocławski (UWroc.), Uniwersytet Przyrodniczy(UPrzyr.).**

Rada PAU zatwierdziła
kandydatów w dniu 24 III 2015
Jężykowska

**WYKAZ LICEÓW PRZYRODNICZYCH,
KTÓRYCH UCZNIOWIE UCZESTNICZĄ
W SPOTKANIACH DYDAKTYCZNO-NAUKOWYCH KPM PAU
WE WROCŁAWIU**

Nr	Data	Numery liceów
XX	09.04.2014	IV, VII, X, XVII, Zespół Szkół nr 5
XXI	23.04.2014	VII, XV, XVII
XXII	08.10.2014	X, XV
XXIII	19.11.2014	IV, VII, X, XV
XXIV	25.03.2015	IV, IX, XV
XXV	09.04.2015	VII, X, XV

Część IV
KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU
Z SIEDZIBĄ WE WROCŁAWIU – WYKAZ CZŁONKÓW, ADRESY

INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ PAN (IITD PAN)

Czesław RADZIKOWSKI (organizator Komisji) (601 752 917, w Instytucie 71 337 3492)	radzikow@iitd.pan.wroc.pl
Janusz BORATYŃSKI	borat@iitd.pan.wroc.pl
Irena FRYDECKA (UMed) (661 317 832)	frydecka@hemat.am.wroc.pl
Egbert PIASECKI	piasecki@iitd.pan.wroc.pl
Marta SOCHOCKA	mars@iitd.pan.wroc.pl

UNIwersytet Medyczny (UMed)

Jerzy MOZRZYMAS (71 784 1400)	jerzy.mozrzymas@umed.wroc.pl
Małgorzata SAŚLADEK (71 784 1256)	maria.sasiadek@umed.wroc.pl
Maria WITKOWSKA (601 851 027)	mar.witkowska@wp.pl

UNIwersytet Wrocławski (UWr)

Adam JEZIEŃSKI (71 328 6325)	dziekan@chem.uni.wroc.pl
Jacek OTLEWSKI (71 375 2824)	otlewski@prote.in.pl
Aleksander F. SIKORSKI (71 375 6233)	afsbc@iibmb.uni.wroc.pl

UNIwersytet Przyrodniczy (UP)

Bożena OBMIŃSKA-MRUKOWICZ (71 320 5209)	m.mrukowicz@triangulum.pl
Stanisław PRZESTALSKI (512 774 742)	stanislaw.przestalski@up.wroc.pl

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA (PWr)

Paweł KAFARSKI (71 320 3682)	pawel.kafarski@pwr.wroc.pl
Marek LANGNER (71 320 6580)	marek.langner@pwr.wroc.pl
Andrzej W. SOKALSKI (71 320 4466)	sokalski@pwr.wroc.pl

UZUPEŁNIONY SKŁAD KOMISJI, zatwierdzony uchwałą Rady PAU w dniu 24 marca 2015 r.

Anna CHEŁMOŃSKA-SOYTA (IITD PAN i UP)	soyta@iitd.pan.wroc.pl
Andrzej GAMIAN (IITD PAN i UMed)	gamian@iitd.pan.wroc.pl
Paweł KISIELOW (IITD PAN)	kisielow@iitd.pan.wroc.pl
Aleksandra KLIMCZAK (IITD PAN)	klimczak@iitd.pan.wroc.pl
Katarzyna PROSEK (IITD PAN)	prosek@iitd.pan.wroc.pl
Jolanta ZAKRZEWSKA-CZERWIŃSKA (IITD PAN i UWr)	zakrzew@iitd.pan.wroc.pl

SPIS TREŚCI

Część I

STRONA INTERNETOWA	3
SKŁAD KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU WE WROCŁAWIU	5

Część II

SPOTKANIA NAUKOWO-DYDAKTYCZNE W OKRESIE 2014/2015	7
---	---

XX spotkanie naukowo-dydaktyczne – 9 kwietnia 2014 r.

Wykładowca: DR HAB. JOANNA KÜBLER-KIEŁB (Eunice Kennedy Shiver National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) Tytuł wykładu: <i>Zapobieganie przenoszeniu zarodźców malarii między komarami i człowiekiem – nowe rozwiązania</i>	9
--	---

XXI spotkanie naukowo-dydaktyczne – 23 kwietnia 2014 r.

Wykładowca: dr hab. ILONA KRYCZEK (University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA) Tytuł wykładu: <i>Nowotwór jako następstwo niepożądanego działania układu odpornościowego</i>	23
--	----

XXII spotkanie naukowo-dydaktyczne – 8 października 2014 r.

Wykładowca: dr hab. ANDRZEJ MYC (Department of Internal Medicine, Division of Allergy, Michigan Nanotechnology Institute for Medicine and Biological Studies, Medical School, Ann Arbor, MI, USA) Tytuł wykładu: <i>Adjuwanty i szczepionki dośluzówkowe</i>	37
--	----

XXIII spotkanie naukowo-dydaktyczne – 19 listopada 2014 r.

Wykładowca: prof. dr hab. KRZYSZTOF PALCZEWSKI (Department of Pharmacology, School of Medicine, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA) Tytuł wykładu: <i>Mechanizmy molekularne ekspresji białek odpowiedzialnych za widzenie</i>	53
--	----

XXIV spotkanie naukowo-dydaktyczne – 25 marca 2015 r.

Wykładowca: prof. dr hab. GRAŻYNA ADAMUS

(Oregon Health & Science University, Ocular Immunology Laboratory,
Casey Eye Institute, Department of Ophthalmology, Portland, OR, USA)

Tytuł wykładu: *Autoimmunologiczne mechanizmy w degeneracyjnych chorobach oka* 85

XXV spotkanie naukowo-dydaktyczne – 9 kwietnia 2015 r.

Wykładowca: dr n. biol. ANNA GRZEGORZEWICZ

(Colorado State University, Department of Microbiology, Immunology
and Pathology, Fort Collins, CO, USA)

Tytuł wykładu: *Leki przeciwwirusowe o nowych mechanizmach działania* 97

Część III

SPRAWY ORGANIZACYJNE

Korespondencja z Radą Naukową PAU w sprawie zatwierdzenia nowych członków
Komisji 111

Wykaz liceów przyrodniczych, których uczniowie uczestniczą w spotkaniach
naukowo-dydaktycznych 113

Część IV

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU

Z SIEDZIBĄ WE WROCŁAWIU – wykaz członków, adresy 115