

Tematy prac licencjackich dla studentów specjalności “Biofizyka molekularna” na kierunku “Zastosowanie fizyki w biologii i medycynie” w r. akad. 2012/2013

1. „Badanie enzymatycznej hydrolizy dinukleotydowych analogów kapu katalizowanej przez białko DcpS”

opiekun dr Elżbieta Bojarska, 55 40 779, elab@biogeo.uw.edu.pl

Aktywność hydrolityczna enzymów DcpS pełni kluczową rolę w ostatnim etapie jednego z podstawowych szlaków degradacji mRNA, w kierunku $3' \rightarrow 5'$. Substratami DcpS są dinukleotydowe analogi kapu m^7GpppN oraz dłuższe fragmenty zawierające do 10 nukleotydów. W wyniku hydrolizy powstaje m^7GMP oraz ppN (lub difosforan oligonukleotydu). Białka DcpS należą do rodziny hydrolaz HIT, które w centrum wiążącym mają ewolucyjnie zachowany motyw 3 reszt histydynowych. Dwie histydyny biorą udział w wiązaniu grup fosforanowych cząsteczki substratu, natomiast trzecia histydyna pełni rolę czynnika nukleofilowego w reakcji enzymatycznej. O specyficzności enzymów DcpS decyduje dodatni ładunek w wyniku obecności grupy metylowej w pozycji N7 guanozyny. Oddziaływanie warstwowe dodatnio naładowanej 7-metyloguanozyny z resztami aromatycznymi białka umożliwia wiązanie kapu. Warunkiem przebiegu reakcji hydrolizy jest obecność mostka trifosforanowego w cząsteczce substratu (mono- lub dinukleotydu), chociaż do utworzenia kompleksu wystarczą tylko dwie grupy fosforanowe. Na szybkość hydrolizy mają wpływ modyfikacje w obrębie nukleozydów. Praca licencjacka będzie polegała na zbadaniu enzymatycznej hydrolizy wybranych dinukleotydowych analogów kapu modyfikowanych w obrębie jednego lub obydwu nukleozydów. Do analizy przebiegu reakcji katalizowanej przez białko DcpS zostanie wykorzystana metoda fluorescencji oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

2. „Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w badaniach struktur kompleksów molekularnych”

opiekun: prof. dr hab. Ryszard Stolarski, 55 40772, stolarsk@biogeo.uw.edu.pl

Odkryte w połowie ubiegłego wieku zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) znalazło niezwykle szerokie zastosowania: od fizyki ciała stałego, poprzez chemię, biochemię, biofizykę i biologię molekularną, do diagnostyki medycznej (MRI, magnetic resonance imaging). Spektroskopia NMR umożliwia badania cząsteczek organicznych, od najprostszych do złożonych biopolimerów takich jak białka i kwasy nukleinowe oraz błony biologiczne, nie tylko *in vitro*, ale także w żywych komórkach i tkankach. Obok dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego na kryształach molekularnych jest to druga dostępna aktualnie metoda wyznaczania struktur przestrzennych dużych biomolekuł (białka, kwasy nukleinowe) z rozdzielczością atomową, tzn. z dokładnością do położenia poszczególnych zrębów atomowych cząsteczki, zarówno w roztworze jak i coraz częściej w ciele stałym. Praca licencjacka dotyczyć będzie zastosowań spektroskopii NMR do badania struktury kompleksów molekularnych. Ma zasadniczo charakter literaturowy lub zawierać część doświadczalną, w której przewidziane jest samodzielne wykonanie widm NMR w celu rozwiązania wybranego, prostego problemu strukturalnego.

3. „Naśladowanie reakcji enzymatycznych metodami chemicznymi”

opiekun: dr hab. Janusz Stępiński, 55 40 769, jastep@biogeo.uw.edu.pl

Praca jest eksperymentalna, w opisie wymaga wstępu teoretycznego i omówienia uzyskanych wyników. Przedmiotem badań ma być chemiczna synteza GDP (5'-difosforanu guanozyny) z GMP (5'-monofosforanu guanozyny). W żywych komórkach analogiczna reakcja przebiega z udziałem kinaz monofosforanów nukleozydów. Główną metodą badawczą części eksperymentalnej pracy będzie analiza przebiegu reakcji za pomocą HPLC (wysokociśnieniowej chromatografii ciekowej).

4. „Charakterystyka stanu oligomeryzacji, struktury drugorzędowej oraz właściwości katalitycznych wybranego mutantu cielęcej fosforylasy nukleozydów purynowych”

opiekun: dr hab. Maria Agnieszka Bzowska, 55 40789, abzowska@biogeo.uw.edu.pl

Fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP) to homooligomeryczne enzymy, homotrimery i homoheksamery, kluczowe dla metabolizmu składników kwasów nukleinowych, znajdujące się praktycznie w każdej żywej komórce. Silne selektywne inhibitory fosforylasy z tkanek ludzkich czy organizmów chorobotwórczych mają potencjalne ogromne znaczenie farmakologiczne, jako leki immunosupresyjne czy przeciw pasożytnicze, natomiast mniej specyficzne fosforylasy z niektórych bakterii są stosowane w chemii nukleozydów purynowych. Głównym celem projektu realizowanego przez naszą grupę jest poznanie biofizycznych podstaw działania fosforylasy, co ma m.in. prowadzić do syntezy silnych inhibitorów PNP o potencjalnych praktycznych zastosowaniach. Osobie zainteresowanej wykonaniem pracy magisterskiej proponujemy zbadanie właściwości jednego z otrzymanych przez nas mutantów fosforylasy ze źródła ssaczego (cielęcej), t.j. wyznaczenie jego aktywności i stabilności (przy użyciu spektroskopowego oznaczania szybkości katalizowanej reakcji), struktury drugorzędowej (przy zastosowaniu spektroskopii dichroizmu kołowego) oraz stanu oligomerycznego białka (metodą chromatografii średniociśnieniowej lub analitycznego ultrawiórowania).

5. „Badanie mechanizmu agregacji zielono fluoryzującego białka GFP”

opiekun dr Beata Wielgus-Kutrowska, 55 40 789, beata@biogeo.uw.edu.pl

6. „Uzyskanie i określenie właściwości spektroskopowe wybranego mutantu zielono fluoryzującego białka (GFP)”

opiekun dr hab. Agnieszka Bzowska, 55 40 789, abzowska@biogeo.uw.edu.pl

Przedmiotem badań prowadzonych w ramach podanych wyżej tematów są mutanty zielono fluoryzującego białka GFP. Jest to niewielkie białko, o masie około 26 kDa, złożone z 282 aminokwasów. Jego powszechne wykorzystywanie jako znacznika w badaniach biologicznych, w biotechnologii i medycynie wynika z obecności nietypowego chromoforu tworzonego przez trzy sąsiadujące ze sobą w łańcuchu białkowym aminokwasy. Są to treonina 65, tyrozyna 66 i glicyna 67. Po prawidłowym zwinięciu białka i dojrzaniu

chromofora (obejmującym cyklizację, dehydratację i utlenianie) powstaje układ emitujący promieniowanie w zielonym zakresie widma. Począwszy od lat 90-tych ubiegłego wieku projektowane są mutanty GFP o zmienionych właściwościach spektralnych. Skonstruowano m.in. białka takie jak YFP, BFP, RFP, emitujące promieniowanie odpowiednio w kolorze żółtym, niebieskim lub czerwonym. GFP ma skłonność do agregacji, która stanowi powszechny problem w medycynie (wiele chorób neurodegeneracyjnych jest stowarzyszonych z powstawaniem nierozpuszczalnych agregatów białkowych), w produkcji leków opartych na białkach, czy w produkcji białek do badań naukowych. Prace doświadczalną zaczniemy od wyhodowania białka w ilości wystarczającej do przeprowadzenia badań. W ramach pierwszego zaproponowanego tematu scharakteryzujemy kinetykę procesu agregacji GFP i spróbujemy odpowiedzieć na pytanie, czy zagregowane białko ma zdolność wychwytywania z roztworu prawidłowo zwiniętych cząsteczek. W ramach drugiego tematu scharakteryzujemy właściwości spektroskopowe nowo-uzyskanego mutantu GFP.

7. „Spektroskopowe badania oddziaływania białka eIF4E uzyskanego różnymi metodami z wybranymi analogami kapu”

opiekun: dr Anna Modrak-Wójcik, 55 40 779, ankam@biogeo.uw.edu.pl

Inicjacja translacji w komórkach eukariotycznych jest wieloetapowym procesem tworzenia kompleksów wielu białek oraz RNA i determinuje wypadkową szybkość biosyntezy białek. Regulacja tego procesu ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego wzrostu i podziału komórki, a jego “rozregulowanie” wiąże się ściśle z kancerogenezą. Szczególną rolę odgrywa białkowy czynnik translacyjny eIF4E, który inicjuje translację poprzez utworzenie kompleksu z charakterystyczną strukturą na 5'-końcu mRNA (kapem), a jego podwyższone stężenie występuje w wielu rodzajach komórek nowotworowych. Zahamowanie aktywności eIF4E może stać się skuteczną strategią w walce z nowotworami. Istotne jest więc poznanie mechanizmu oddziaływania białka eIF4E z kapem i innymi białkowymi czynnikami translacyjnymi na poziomie molekularnym. Białka do badań *in vitro* otrzymuje się metodą nadprodukcji w bakteriach *E. coli*, a następnie izoluje i oczyszcza. Celem pracy będzie zbadanie, czy oddziaływanie eIF4E z wybranymi analogami kapu zależy od zastosowanej metody uzyskania eIF4E. Jako metoda badawcza zostanie wykorzystana stacjonarna spektroskopia emisyjna.

8. „Zastosowanie fluorofosforanu i jego pochodnych do otrzymywania nukleotydowych sond do badań ^{19}F NMR”

opiekun dr Joanna Kowalska, 55 40 774, asia@biogeo.uw.edu.pl

Fluorowane pochodne związków organicznych znajdują szerokie zastosowanie jako sondy do badań NMR. Rzadkość występowania fluoru w przyrodzie w połączeniu z właściwościami jąder ^{19}F (naturalna abundancja wynosząca 100%, spin jądrowy = 1/2 i wysoki współczynnik żyromagnetyczny) sprawiają, że fluorowane pochodne umożliwiają czułe i selektywne badanie wielu procesów biochemicznych metodą spektroskopii ^{19}F NMR. Celem pracy licencjackiej jest opracowanie metody chemicznej syntezy oraz otrzymanie szeregu nukleotydowych pochodnych zawierających resztę fluorofosforanową w terminalnej pozycji mostka (oligo)fosforanowego. Zsyntetyzowane związki zostaną następnie zcharakteryzowane

metodami spektroskopowymi, w szczególności za pomocą spektroskopii ^1H , ^{31}P oraz ^{19}F NMR.

9. „Synteza i badanie właściwości nukleotydów znakowanych pirenem w łańcuchu oligofosforanowym”

opiekun dr Jacek Jemielity, 55 40 774, jacekj@biogeo.uw.edu.pl

Piren jest związkiem aromatycznym o bardzo ciekawych właściwościach. Na szczególną uwagę zasługują jego właściwości fluorescencyjne oraz zdolność do tworzenia zależnych od stężenia agregatów (tzw. ekscymerów), o innych właściwościach fluorescencyjnych niż sam piren. Te cechy powodują, że pochodne pirenu są bardzo atrakcyjnymi znacznikami biomolekuł, co znalazło szereg zastosowań w badaniach struktury i funkcji kwasów nukleinowych. W ramach pracy licencjackiej zostanie wykonana synteza nukleotydów o różnej długości łańcucha fosforanowego, które będą zawierały w terminalnej pozycji łańcucha resztę pirenową przyłączoną poprzez siarkę reszty tiofosforanowej. Otrzymane związki zostaną scharakteryzowane pod względem ich właściwości spektroskopowych, ze szczególnym uwzględnieniem spektroskopii fluorescencyjnej oraz NMR.

10. „Wpływ N-końca białka eIF4E na oddziaływanie z kapem i białkami wiążącymi 4E. Od konstruktów do białka”

opiekun: dr Joanna Żuberek, 55 40 781, jzuberek@biogeo.uw.edu.pl

Inicjacja translacji u organizmów eukariotycznych jest skomplikowanym procesem polegającym na utworzeniu multiproteinowego kompleksu z mRNA, który następnie umożliwia przyłączenie rybosomu do kodonu startu. Na 5' końcu eukariotycznego mRNA znajduje się tzw. struktura kapu, którą tworzy 7-metyloguanozyna połączona wiązaniem 5'-5' trifosforanowym z sąsiednim nukleozydem, a rozpoznanie tej struktury przez eukariotyczny czynnik inicjacyjny 4E (eIF4E) rozpoczyna w większości przypadków syntezę białka. Białko eIF4E jest składnikiem kompleksu eIF4F, w którym białko eIF4G stanowi pomost łączący białko eIF4E, związane strukturą kapu, a innymi komponentami kompleksu inicjacyjnego. Z tego względu białko eIF4E podlega wielostopniowej regulacji. Jego aktywność jest regulowana poprzez wiązanie z białkami regulatorowymi 4E-BP, konkurującymi o to samo miejsce wiązania w białku eIF4E, co czynnik eIF4G. Białka eIF4E wśród organizmów eukariotycznych posiadają silnie zakonserwowany rdzeń, natomiast N-końiec białka jest zmienny. Celem pracy jest otrzymanie mysiego czynnika eIF4E o pełnej długości oraz skróconych na N-końcu jego form i zbadanie wpływu N-końca na własności białka.

11. „Otrzymanie ludzkiego czynnika inicjującego translację 4E (hIF4E) z etykietką histydynową metodą nadprodukcji w komórkach *E. coli* i jego charakterystyka”

opiekun: dr Joanna Żuberek, 55 40 781, jzuberek@biogeo.uw.edu.pl

Inicjacja translacji u organizmów eukariotycznych jest skomplikowanym procesem polegającym na utworzeniu multiproteinowego kompleksu z mRNA, który następnie umożliwia przyłączenie rybosomu do kodonu startu. Na 5' końcu eukariotycznego mRNA

znajduje się tzw. struktura kapu, którą tworzy 7-metyloguanozyna połączona wiązaniem 5'-5' trifosforanowym z sąsiednim nukleozydem, a rozpoznanie tej struktury przez eukariotyczny faktor inicjacyjny 4E rozpoczyna w większości przypadków syntezę białka. Celem pracy jest otrzymanie konstruktu umożliwiającego ekspresję ludzkiego czynnika eIF4E z dołączoną etykietką histydynową, uzyskanie białka w komórkach *E. coli*, a następnie jego oczyszczenie metodą chromatografii metalopowinowactwa (IMAC) i wstępna charakterystyka.

12. „Konstrukcja wektora do ekspresji mutantu białka hydrolizującego strukturę kapu 5'-końca mRNA i jego oczyszczanie na złożu powinowactwa”

opiekun: dr Maciej Łukaszewicz, 55 40 781, mlukas@biogeo.uw.edu.pl

Cechą charakterystyczną eukariotycznych mRNA jest struktura kapu, obecna na końcu 5' cząsteczki (7-metyloguanozyna przyłączona do pierwszego transkrybowanego nukleotydu mostkiem trifosforanowym, m⁷GpppN). Usunięcie struktury kapu jest jednym z kluczowych etapów regulujących stabilność mRNA w komórce. Głównymi enzymami hydrolizującymi strukturę kapu są DcpS i Dcp2. Enzym Dcp2 hydrolizuje kap przyłączony do długich łańcuchów mRNA zawierających powyżej 25 nukleotydów (odcina m⁷Gpp) i tym samym inicjuje degradację w kierunku 5'→3'. Enzym DcpS hydrolizuje dinukleotydowy kap powstały w wyniku degradacji mRNA w kierunku 3'→5'. Ostatnio opisano nowy enzym hNUDT16 zaangażowany w hydrolizę kapu na końcu 5' mRNA, który podobnie jak Dcp2 należy do rodziny białek Nudix i odcina kap obecny na mRNA, jednak w odróżnieniu od Dcp2 występuje w komórkach wszystkich analizowanych tkanek i wykazuje lokalizację cytoplazmatyczno-jądrową. Ludzki enzym DcpS jest również potencjalnym celem terapeutycznym w rdzeniowym zaniku mięśni (*spinal muscular atrophy, SMA*). Celem pracy jest konstrukcja plazmidu (metodą ukierunkowanej mutagenazy) umożliwiającego ekspresję mutantu enzymu hydrolizującego kap (DcpS lub NUDT16) i jego oczyszczanie metodą chromatografii powinowactwa na złożu niklowym.

13. „Analiza wydajności translacji transkryptów mRNA lucyferazy kapowanych wybraną serią analogów struktury czapeczki (kapu) 5'-końca mRNA”

opiekun: dr Maciej Łukaszewicz, 55 40 781, mlukas@biogeo.uw.edu.pl

Otrzymywanie *in vitro* transkryptów mRNA, które z jednej strony są stabilne w środowisku wewnątrzkomórkowym, a z drugiej ulegają w nim wydajnej translacji, jest ważnym etapem opracowywania m.in. terapii genowych opartych na mRNA. Celem pracy jest otrzymanie w reakcji transkrypcji *in vitro* cząsteczek mRNA lucyferazy kapowanych wybraną serią analogów struktury czapeczki (kapu) 5'-końca mRNA. Wydajność translacji tak otrzymanych transkryptów będzie następnie analizowana w bezkomórkowym układzie translacji *in vitro* (lizat z retikulocytów króliczych - RRL), w odniesieniu do mRNA lucyferazy kapowanego standardowym analogiem m⁷GpppG. Poziom translacji badanych transkryptów w RRL mierzony będzie metodą luminometryczną.

14. „Od biofizycznych badań czynników determinujących selektywne i silne wiązanie się inhibitorów z enzymami do skuteczniejszych leków”,

opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk. , 55 40 784, borys@biogeo.uw.edu.pl

Absorpcja fotonów przez białka powoduje przejście tych cząsteczek ze stanu podstawowego do wzbudzonego, natomiast przejście odwrotne jest realizowane poprzez emisję fotonów zwaną fluorescencją. Absorpcja i emisja zależą od własności białka (enzymu) i jego oddziaływania z innymi cząsteczkami (substratami, inhibitorami) i środowiskiem, zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym. W pracy licencjackiej wykorzystane będą właściwości emisyjne białek (enzymów) w charakterystyce ich oddziaływań z ligandami (substratami, inhibitorami) oraz identyfikacji preferowanych struktur ligandów, ich form konformacyjnych i jonowych, które uczestniczą w powstawaniu stabilnych kompleksów enzym-ligand, katalizie enzymatycznej lub hamowaniu (inhibicji) reakcji enzymatycznej. Projekt pracy licencjackiej przewiduje wprowadzenie do metodologii pracy z białkami i zapoznanie się z nowoczesnymi technikami enzymologicznymi i fluorescencyjnymi. Celem pracy licencjackiej jest opis czynników fizycznych (strukturalnych, konformacyjnych, dysocjacji i asocjacji protonów) decydujących o selektywnym rozpoznawaniu i silnym wiązaniu ligandów. Wyniki będą mogły być wykorzystane w projektowaniu inhibitorów (leków) o selektywnych właściwościach terapeutycznych wobec enzymów izolowanych z pasożytów (np. nicieni) i mikroorganizmów chorobotwórczych (bakterii, wirusów), na podstawie różnic między enzymami ludzkimi i ich odpowiednikami w mikroorganizmach chorobotwórczych. Porównanie selektywności substratowo-inhibitorowej z różnicami strukturalnymi i kinetycznymi między enzymami ludzkimi, zwierzęcymi i z mikroorganizmów (bakterii, wirusów) przyczyni się także do lepszego zrozumienia mechanizmu reakcji katalitycznych.

15. „Zastosowanie spektroskopii fluorescencyjnej w badaniach właściwości fizycznych cząsteczek i makrocząsteczek biologicznych”

opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, 55 40 784, borys@biogeo.uw.edu.pl

Absorpcja fotonów przez cząsteczki i makrocząsteczki biologiczne (np., białka, barwniki roślinne) powoduje przejście tych cząsteczek ze stanu podstawowego do wzbudzonego, natomiast przejście odwrotne jest realizowane poprzez emisję fotonów zwaną fluorescencją. Absorpcja i emisja zależą od właściwości fizycznych badanej cząsteczki i jej oddziaływania z innymi cząsteczkami (otoczeniem), zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym. Wybór spektroskopii emisyjnej jako podstawowego narzędzia badawczego wynika m.in. z następujących obserwacji. Po pierwsze, chociaż metody spektroskopii emisyjnej stanów elektronowych cząsteczek biologicznych i ich kompleksów nie udzielają tak precyzyjnej informacji o strukturze jak krystalografia lub spektroskopia wielowymiarowego magnetycznego rezonansu magnetycznego (NMR), to można je uznać za komplementarne, a nawet posiadające większe możliwości. Dostarczają informacji o strukturze, oddziaływaniach i dynamice układów cząsteczkowych w roztworze, tj. w warunkach zbliżonych do takich jakie są w żywych komórkach i tkankach. W przypadku białek (enzymów) możemy to sprawdzić m.in. na podstawie pomiaru ich aktywności katalitycznej wobec typowych ligandów (substratów, inhibitorów) oraz na podstawie wpływu oddziaływania białek z ligandami na emisję znaczników emisyjnych przyczepionych kowalencyjnie do białek i ligandów. Projekt pracy licencjackiej przewiduje wprowadzenie do metodologii pracy z makrocząsteczkami i zapoznanie się z nowoczesnymi technikami fluorescencyjnymi. Celem pracy licencjackiej jest wykorzystanie zwiększonej rozdzielczości czasowej i czułości tych metod.

16. „Fizyczna interpretacja zaniku fluorescencji cząsteczek biologicznych”

opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, 55 40 784, borys@biogeo.uw.edu.pl

Celem pracy licencjackiej jest porównanie dwóch modeli opisujących kinetykę dezaktywacji elektronowych stanów wzbudzonych w białku na skutek emisji fotonów (fluorescencji). Białko to i jego kompleks z ligandem wykazują złożone relaksacje, będące wynikiem oddziaływania wzbudzonych cząsteczek z otoczeniem i transferu energii wzbudzenia do stanów elektronowych innych cząsteczek. Dotychczas do opisu zaniku fluorescencji białek zawierających reszty tyrozyny i tryptofanu stosowano sumę dyskretnych składników wykładniczych, których liczba wynikała z jakości dopasowania do danych doświadczalnych a interpretacja fizyczna poszczególnych komponentów wykładniczych była niejasna. Nasze badania wykonane w ubiegłych latach pokazały, że funkcja potęgowa otrzymana za pomocą modelu ciągłego rozkładu czasów życia w prosty sposób opisuje zaniki stanów wzbudzonych i może stanowić dobrą alternatywę dla modeli wielowykładniczych. Projekt pracy licencjackiej przewiduje także wprowadzenie do nowoczesnej metodologii czasoworozdzielczej spektrofлуorymetrii i zapoznanie się z nowoczesnymi metodami interpretacji zaników fluorescencji.

17. „Badanie wiązania guaniny przez cięące PNP (fosforylaze nukleozydów purynowych) metodami spektrometrii dichroizmu kołowego (CD)”

opiekun prof. dr hab Jan Antosiewicz, 55 40 786, jantosi@biogeo.uw.edu.pl

Procesy tworzenia kompleksów guaniny z ciętym PNP były tematem dwóch prac opublikowanych przez pracowników Zakładu Biofizyki. W badaniach tych wykorzystana została spektroskopia fluorescencyjna. Tematem proponowanej pracy licencjackiej jest powtórzenie tamtych badań, ale z wykorzystaniem spektroskopii CD jako narzędzia obserwacji tworzenia kompleksów i porównanie parametrów termodynamicznych charakteryzujących kompleksy, jakie otrzymuje się w obydwu metodach pomiarowych.

18. „Badanie rozwijania rybonukleazy A w środowisku alkalicznym metodami spektrometrii zatrzymanego przepływu”

opiekun prof. dr hab Jan Antosiewicz, 55 40 786, jantosi@biogeo.uw.edu.pl

W 1952 roku, prof. David Shugar, twórca Zakładu Biofizyki w Instytucie Fizyki Doświadczalnej, opublikował prace przedstawiającą wyniki pomiarów absorpcji światła w zakresie UV roztworów rybonukleazy A, w funkcji rosnącego pH roztworu. Autor wykazał rozwijanie struktury rybonukleazy pod wpływem wysokiego pH i że proces rozwijania może być ślędzony poprzez pomiar absorpcji roztworu, gdyż towarzyszy mu wydobywanie się reszt tyrozynowych z wnętrza białka na powierzchnię, przy czym następuje natychmiastowa deprotonacja ich grup hydroksylowych, powodująca zmianę właściwości absorpcyjnych tych reszt. Tematem proponowanej pracy licencjackiej jest przeprowadzenie obserwacji kinetyki procesu rozwijania struktury rybonukleazy A poprzez pomiar absorpcji przy mieszaniu równoobjętościowym roztworów rybonukleazy w pH neutralnym i buforu o wysokim pH, takim, że pH mieszaniny jest wystarczająco duże do inicjacji procesu rozwijania.