

Autoreferat

- I. IMIĘ I NAZWISKO Tomasz Niedziela
- II. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE / ~~ARTYSTYCZNE~~ – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.
- | | |
|------|--|
| 1995 | doktor nauk biologicznych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław; za pracę: "Budowa chemiczna i charakterystyka serologiczna wielocukrów O-swoistych i oligocukrów rdzeniowych lipopolisacharydów <i>Hafnia alvei</i> 744, PCM 1209 i 1213" |
| 1991 | magister biotechnologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski; za pracę: "Charakterystyka immunochemiczna lipopolisacharydu <i>Hafnia alvei</i> 1203" (praca wykonana w Zakładzie Immunochemii, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław) |
- III. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH / ~~ARTYSTYCZNYCH~~
- | | |
|--------------------|--|
| Obecne stanowisko: | asystent p.o. adiunkta, Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław |
| 2002 – 2006 | adiunkt, Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław |
| 2000 – 2002 | postdoc, Department of Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala, Szwecja |
| 1995 – 2000 | adiunkt, Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław |
| 1993 – 1995 | asystent, Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław |
| 1991 – 1992 | staż naukowy (stypendium) w ramach programu EC TEMPUS 1991/92 na Wydziale Biotechnologii TNO (Netherlands Organisation for Applied Scientific Research, Zeist, Holandia) |

IV. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO / ARTYSTYCZNEGO

„Strukturalne zróżnicowanie oligocukrów rdzeni lipopolisacharydów *Plesiomonas shigelloides*, *Bordetella pertussis*, *Escherichia coli* i *Yokenella regensburgei* oraz analiza oddziaływań tworzonych przez nie epitopów ze swoistymi przeciwciałami.”

1. Niedziela, T., Jachymek, W., Lukaszewicz, J., Maciejewska, A., Andersson, R., Kenne, L., and Lugowski, C. (2010) Structures of two serologically non-related core oligosaccharides of *Yokenella regensburgei* lipopolysaccharides differing only by a single hexose substitution. **Glycobiology**, 20, 207-214 [IF 3,791]
2. Niedziela, T., Dag, S., Lukaszewicz, J., Dzieciatkowska, M., Jachymek, W., Lugowski, C., and Kenne, L. (2006) Complete lipopolysaccharide of *Plesiomonas shigelloides* O74:H5 (strain CNCTC 144/92) Part 1. Structural analysis of the highly hydrophobic lipopolysaccharide, including the O-antigen, its biological repeating unit, the core oligosaccharide, and the linkage between them. **Biochemistry** 45, 10422-10433. [IF 3,633]
3. Niedziela, T., Letowska, I., Lukaszewicz, J., Kaszowska, M., Czarnecka, A., Kenne, L., and Lugowski, C. (2005) Epitope of the vaccine-type *Bordetella pertussis* strain 186 lipooligosaccharide and antiendotoxin activity of antibodies directed against the terminal pentasaccharide-tetanus toxoid conjugate, **Infect Immun** 73, 7381-7389. [IF 3,933]
4. Niedziela, T., Lukaszewicz, J., Jachymek, W., Dzieciatkowska, M., Lugowski, C., and Kenne, L. (2002) Core oligosaccharides of *Plesiomonas shigelloides* O54:H2 (strain CNCTC 113/92): structural and serological analysis of the lipopolysaccharide core region, the O-antigen biological repeating unit, and the linkage between them, **J Biol Chem** 277, 11653-11663. [IF 6,696]
5. Lugowski, C., Niedziela, T., and Jachymek, W. (1996) Anti-endotoxin antibodies directed against *Escherichia coli* R-1 oligosaccharide core-tetanus toxoid conjugate bind to smooth, live bacteria and smooth lipopolysaccharides and attenuate their tumor necrosis factor stimulating activity, **FEMS Immunol Med Microbiol** 16, 31-38. [IF 1,235]

OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA.

Wybrane prace stanowią cykl publikacji poświęconych analizie strukturalnej i antygenowej różnorodności oligocukrów rdzeniowych lipopolisacharydów *Plesiomonas shigelloides*, *Bordetella pertussis*, *Escherichia coli* oraz *Yokenella regensburgei*.

Lipopolisacharydy są dominującą grupą cząsteczek powierzchniowych bakterii Gram-ujemnych, biorących udział w interakcjach typu gospodarz-patogen i odpowiedzialnych za szereg właściwości endotoksycznych. Lipopolisacharyd (LPS) jest niewrażliwym na działanie podwyższonej temperatury bakteryjnym antygenem O. Zbudowany jest z trzech, różniących się pod względem strukturalnym, regionów: (i) części O-swoistej, (ii) rdzenia i (iii) lipidu A. Część O-swoista, skierowana na zewnątrz komórki, jest zbudowana z powtarzających się podjednostek oligosacharydowych, których budowa chemiczna jest

charakterystyczna dla szczepów różnych gatunków bakterii, a nawet dla różnych serotypów w obrębie tego samego gatunku. Oligosacharydowy region rdzeniowy obejmuje zazwyczaj dwie części, wyróżniane ze względu na występowanie charakterystycznych składników - zewnętrzną część heksozową i wewnętrzną, złożoną z podregionów - heptozowego i Kdo (kwas 2-keto-3-deoksyoktulozonowy). Oligosacharyd rdzeniowy stanowi segment łączący polisacharyd O-swoisty z lipidem A. Część zewnętrzna rdzenia - podobnie jak część O-swoista - pełni funkcję receptora dla fagów, aktywuje dopełniacz, wiąże receptory powierzchniowe na limfocytach T oraz nadaje swoistość serologiczną LPS bakteriom pozbawionym części O-swoistej. Część wewnętrzna, zbudowana z monosacharydów charakterystycznych dla lipopolisacharydów (L,D-heptoza, D,D-heptoza, Kdo) łączy się bezpośrednio z lipidem A.

Lipopolisacharydy uwalniane z Gram-ujemnych bakterii podczas uogólnionych infekcji są bezpośrednio odpowiedzialne za rozwój wstrząsu endotoksycznego. Nie znane są ciągle skuteczne metody profilaktyki i terapii wstrząsu endotoksycznego, jednak wieloletnie badania nad zależnością pomiędzy strukturą i funkcją LPS prowadzone w renomowanych ośrodkach na całym świecie przybliżają zrozumienie mechanizmów tego procesu. Zastosowanie antybiotyku podczas uogólnionej infekcji nie gwarantuje skuteczności terapii, ponieważ leki te nie inaktywują endotoksyn, a niektóre z nich nawet wzmagają uwalnianie LPS z powierzchni zabitych komórek bakteryjnych. Dalsze leczenie musi więc polegać na neutralizacji uwolnionych endotoksyn, aby nie dopuścić do ich szkodliwego działania. W przypadkach uogólnionych infekcji szpitalnych, w neutralizacji toksycznych efektów LPS zastosowanie mogą znaleźć przeciwciała ochronne o szerokim spektrum działania, natomiast w infekcjach z wyraźnie określonym czynnikiem zakaźnym (np. *Bordetella pertussis*) możliwe jest efektywne zneutralizowanie szkodliwych aktywności endotoksyny tych bakterii przez swoiste przeciwciała.

Jednym z realizowanych w prezentowanych pracach celów badawczych była próba określenia zależności pomiędzy swoistością przeciwciał antylipopolisacharydowych, wyrażoną poprzez identyfikację oligocukrowego epitopu w obrębie LPS i charakterystyką jego interakcji z miejscem wiążącym przeciwciała, a zdolnością tych przeciwciał do neutralizowania niekorzystnej dla zakażonego organizmu biologicznej aktywności endotoksyn. Podjęcie powyższego tematu badań uzasadnia także bardzo ograniczona wiedza dotycząca elementów strukturalnych lipopolisacharydów biorących bezpośredni udział w tworzeniu epitopów w obrębie O-antygenów. Szczególnie istotne wydają się możliwości identyfikacji i charakterystyki

wspólnych elementów strukturalnych zlokalizowanych w obrębie oligocukrów rdzeniowych, tworzących konserwatywny segment w cząsteczkach LPS wielu różnych szczepów bakterii Gram-ujemnych.

Znajomość struktury oligosacharydów jest także niezbędna w procesie syntezy neoglikokoniugatów oligocukrów z białkami. Umożliwia ona zastosowanie procedur chemicznych właściwych ze względu na stwierdzone składniki i pożądanych, ze względu na oczekiwane właściwości antygenowe. Wyczerpujące informacje strukturalne pozwalają na określenie warunków przygotowania immunogennych preparatów o cechach antygenów T-zależnych w formie kowalencyjnych neoglikokoniugatów fragmentów rdzeniowych LPS z białkami. Zastosowanie odpowiednich nośników białkowych oraz wiązań łączących oligocukry z białkami (np. zredukowana zasada Schiffa) stwarza realne perspektywy wykorzystania tego typu neoglikokoniugatów w szczepionkach.

Od struktury do neoglikokoniugatu i przeciwciał antyendotoksynowych - metodyka

Badania zaprezentowane w pracach wchodzących w skład niniejszej rozprawy charakteryzuje metodyczna oraz koncepcyjna spójność. Wszystkie prace były prowadzone z wykorzystaniem nowoczesnych technik instrumentalnych stosowanych we współczesnej immunochemii. We wszystkich badaniach lipopolisacharydów oraz ich oligosacharydowych segmentów, oprócz stosowanych rutynowo jedno- i dwuwymiarowych metod ^1H , ^{13}C i ^{31}P spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), eksperymentów typu COSY, TOCSY, NOESY, HMQC, HSQC i HMBC niezbędnych do określenia elementów strukturalnych O-antygenów, zastosowano również unikatowe techniki HR-MAS NMR (*high resolution magic angle spinning*) oraz STD NMR (*saturation transfer difference*). STD NMR jest obok takich metod jak ELISA, SPR (*surface plasmon resonance*), oraz immunoblotting, jedną z technik stosowanych w badaniach immunochemicznych do oznaczania i charakterystyki epitopów odpowiedzialnych za wiązanie ligandów z przeciwciałami. Technika ta pozwala na bezpośrednie mapowanie oddziaływań oligocukrowych ligandów ze swoistymi przeciwciałami.

Klasyczne badania endotoksyn prowadzi się na wyizolowanych i oczyszczonych cząsteczkach oraz ich fragmentach. Takie podejście do badania struktur lipopolisacharydów wymaga ich izolacji, często w warunkach, w których istnieje możliwość degradacji badanych makrocząsteczek, oraz usuwa badane endotoksyny z ich naturalnego środowiska, jakim jest osłona komórkowa bakterii. Dopiero połączenie metod immunologicznych, które jednak same w sobie niosą ograniczoną informację strukturalną, z nowoczesnymi

metodami instrumentalnymi, zwłaszcza technikami spektrometrii mas (np. MALDI-TOF MS, ESI MS) i spektroskopii HR-MAS NMR, pozwala badać LPS z zachowaniem labilnych składników i wiązań, umożliwiając wgląd w rzeczywistą strukturę tych makrocząsteczek.

Zastosowanie w prezentowanych pracach spektroskopii NMR i spektrometrii mas umożliwiło pełną charakterystykę strukturalną monosacharydowych składników oligocukrów (rodzaj i forma monosacharydów, absolutna konfiguracja, anomeria wiązań), ustalenie sekwencji reszt cukrowych, oraz wykazanie obecności niecukrowych podstawników. Badania oddziaływań swoistych przeciwciał z lipopolisacharydami prowadzono z wykorzystaniem takich metod serologicznych, jak ELISA, immunoblotting i cytofluorymetria przepływowa. W analizach strukturalnych badanych oligosacharydów równoległe wykorzystywano także klasyczne metody chemiczne, takie jak analiza cukrowa i metylacyjna, w połączeniu ze specyficznymi degradacjami.

Nowe typy oligocukrów rdzeniowych *Yokenella regensburgei* PCM 2476 i PCM 2477 (publikacja nr 1).

Strukturę oligosacharydów rdzeniowych wyizolowanych z LPS *Y. regensburgei* określono po raz pierwszy dla tego gatunku. Badania prowadzono wykorzystując techniki spektrometrii mas i spektroskopii ^1H , ^{13}C NMR, uzupełnione metodami analizy cukrowej i metylacyjnej. Analiza MALDI-TOF wykazała, że w przypadku obu rdzeni mamy do czynienia z oligosacharydami w formie undekasacharydów o identycznej masie cząsteczkowej. Wstępne dane z analiz immunochemicznych lipopolisacharydów *Y. regensburgei* z użyciem przeciwciał skierowanych przeciwko O-antygenom *Y. regensburgei* PCM 2476 i PCM 2477 wskazywały na obecność dwóch immunotypów związanych z różnicami strukturalnymi w obrębie rdzeni.

Podjęto udaną próbę wyizolowania frakcji przeciwciał swoiście reagujących z analizowanymi oligosacharydami i mających zdolność rozróżniania obu immunotypów. Kompletna analiza strukturalna obu oligocukrów pozwoliła na identyfikację reszty heksopiranozowej różniącej oba szczepy (PCM 2476: α -D-Glcp; PCM 2477: α -D-Galp), która decydowała o występowaniu dwóch glikoform rdzenia u badanych szczepów *Y. regensburgei*, rozpoznawanych przez swoiste przeciwciała.

Nietypową cechą badanych oligosacharydów okazał się także brak fosforanów w strukturze rdzenia - źródłem ujemnych ładunków w tym segmencie lipopolisacharydu stały się grupy karboksylowe kwasu galakturonowego oraz reszty Kdo.

Zidentyfikowano dwa nowe typy oligocukrów rdzeni *Y. regensburgei* różniące się pojedynczą resztą cukrową w regionie tradycyjnie uważanym za strukturalnie konserwatywny w obrębie LPS.

Nowy typ oligocukrów rdzeniowych *Plesiomonas shigelloides* O74 (publikacja nr 2).

Lipopolisacharyd *P. shigelloides* O74 wyizolowano stosując metodę fenolowo-wodną, jednak w przeciwieństwie do preparacji prowadzonych dla innych gładkich szczepów bakteryjnych O-antygeny były izolowane głównie z fazy fenolowej. Preparaty oligosacharydów uzyskane w wyniku łagodnej hydrolizy badano przy pomocy metod chemicznych (analiza cukrowa i metylacyjna) oraz technik spektroskopii ^1H , ^{13}C NMR i spektrometrii MALDI-TOF MS.

Główny wyizolowany oligosacharyd składał się z części rdzeniowej podstawionej pojedynczą podjednostką łańcucha O-swoistego. Analiza tej frakcji pozwoliła określić strukturę biologicznej podjednostki oraz typ wiązania i miejsce podstawienia oligocukru rdzenia podjednostką.

Oligosacharyd rdzeniowy zidentyfikowano jako oktasacharyd, pozbawiony grup fosforanowych tworzący nowy typ rdzenia *P. shigelloides*, charakterystyczny dla serotypu O74.

W przypadku badanych O-serotypów *P. shigelloides* (O54, O74) cechą charakterystyczną opisanych oligocukrów jest nieobecność grup fosforanowych. Ponadto w przeciwieństwie do struktur rdzeniowych *Enterobacteriaceae* w oligosacharydach tych zacierają się także tradycyjnie przyjęty podział na części heksozową i heptozową (heksozy zidentyfikowane w rdzeniu wewnętrznym).

Oligosacharyd wyizolowany z lipooligosacharydu *Bordetella pertussis* – detoksyfikacja LOS z zachowaniem właściwości antygenowych i swoiste przeciwciała antyneoglikokoniugatowe neutralizujące aktywności LOS *in vitro* (publikacja nr 3).

Bordetella pertussis jest Gram-ujemną pałeczką i czynnikiem etiologicznym krztuśca u ludzi. Krztusiec jest chorobą zakaźną wieku dziecięcego, szczególnie niebezpieczną dla noworodków i dzieci, z obserwowaną wzrastającą liczbą zachorowań także wśród osób starszych. Pałeczki krztuśca wytwarzają szereg toksyn i substancji toksynopodobnych, które odgrywają rolę w patogenezie krztuśca, uczestniczą w odpowiedzi gospodarza na zakażenie i mają znaczenie w powstawaniu odporności. Jedną z tych substancji jest endotoksyna. Endotoksyna *B. pertussis* różni się budową chemiczną od LPS innych bakterii Gram-ujemnych - posiada strukturę tzw. lipooligosacharydu (LOS) - ma jednak podobne do nich właściwości biologiczne. LOS jest głównym antygenem powierzchniowym *B. pertussis*, za celowe uznano zatem zbadanie epitopów zlokalizowanych w obrębie LOS, jako miejsc wiążących dla przeciwciał. Do badań użyto szczepów stosowanych w formulacji polskiej komórkowej szczepionki przeciwkrztuścowej.

W badaniach oligosacharydów LOS *B. pertussis* 186 wykorzystano techniki spektroskopii NMR i

spektrometrii MALDI-TOF MS w celu uzyskania danych o strukturze oligocukru rdzeniowego badanego szczepu. Zidentyfikowana w części dystalnej rdzenia glukozamina pozwoliła na przeprowadzenie selektywnej deaminacji, prowadzącej do wyizolowania pentasacharydowego fragmentu i syntezy neoglikokoniugatu z toksoidem tężcowym. Uzyskane przeciwciała antyneoglikokoniugatowe wykorzystano do przeprowadzenia analiz immunochemicznych epitopów rozpoznawanych w strukturze wyizolowanego LOS, jak i na powierzchni żywych komórek bakteryjnych.

Wykonane eksperymenty STD NMR pozwoliły zidentyfikować elementy strukturalne biorące bezpośredni udział w oddziaływaniu przeciwciał antyneoglikokoniugatowych z pentasacharydowym fragmentem wyizolowanym z LOS *B. pertussis*. Przeprowadzono analizę zdolności uzyskanych przeciwciał do hamowania produkcji TNF α , IL-6 i NO w testach *in vitro*, z wykorzystaniem linii komórek makrofagopodobnych J744.1. Przeciwciała te w znaczący sposób hamowały produkcję TNF α , IL-6 i NO przez komórki J744.1 stymulowane przez LOS *B. pertussis*.

Nowy typ oligocukrów rdzeniowych *Plesiomonas shigelloides* O54 (publikacja nr 4).

Przeprowadzone analizy strukturalne oligocukrów rdzeniowych *P. shigelloides* O54, pozwoliły zidentyfikować i opisać po raz pierwszy struktury oligosacharydów rdzeniowych dla gatunku *P. shigelloides*. Struktury oligosacharydów badano wykorzystując klasyczne metody chemiczne oraz techniki spektroskopii ^1H , ^{13}C NMR i spektrometrii mas typu FAB-MS/MS, MALDI-TOF MS.

Główny oligocukier rdzeniowy *P. shigelloides* O54 zidentyfikowano jako dekasacharyd. Wykazano także pewną heterogenność związaną z miejscem podstawienia oligocukru rdzenia *P. shigelloides* O54 przez podjednostkę łańcucha O-swoistego oraz obecność reszt heksozowych w regionie rdzenia wewnętrznego. W trakcie analizy zidentyfikowano frakcję oligosacharydową zawierającą dodatkowo składniki typowe dla wcześniej opisanego łańcucha O-swoistego. Frakcja ta została opisana jako populacja oligocukru rdzenia podstawionego pojedynczą podjednostką łańcucha O-swoistego.

Wyodrębnienie tak złożonej frakcji umożliwiło z kolei jednoczesne określenie miejsca połączenia polisacharydu O-swoistego z oligocukrem rdzeniowym, wskazanie typu wiązania i reszt biorących udział w tym wiązaniu, oraz pozwoliło na zdefiniowanie struktury biologicznej podjednostki O-antygeny *P. shigelloides* O54. Stwierdzoną cechą charakterystyczną badanych oligosacharydów był brak fosforanów w strukturze rdzenia.

Wykorzystując fakt, że była to pierwsza zidentyfikowana i opisana struktura rdzenia LPS gatunku *P. shigelloides* przygotowano glikokoniugaty wyizolowanych oligocukrów rdzeniowych *P. shigelloides* O54 z BSA oraz uzyskano przeciwciała skierowane przeciwko oligocukrowi rdzenia. Przeciwciała te wykorzystano do przeszukania wszystkich dostępnych O-serotypów *P. shigelloides* w celu identyfikacji pokrewnych epitopów reagujących krzyżowo. Stwierdzono, że spośród 69 przeanalizowanych O-serotypów *P. shigelloides*, tylko trzy (O24, O37 i O96), wykazują antygenowe podobieństwo do serotypu O54. Istnienie wielu O-serotypów, które nie wykazywały reakcji krzyżowych z przeciwciałami skierowanymi przeciwko oligocukrowi rdzenia O54, wskazuje na brak jednej, dominującej struktury rdzenia wśród badanych O-serotypów.

Neoglikokoniugaty oligocukrów rdzeniowych *E. coli* – właściwości antyendotoksynowe przeciwciał skierowanych przeciwko koniugatowi rdzenia R1 z toksoidem tężcowym (publikacja nr 5).

Bakterie *Escherichia coli* należą do najczęściej izolowanych drobnoustrojów w przypadkach sepsy, z czego u 60-80% izolowanych szczepów stwierdza się występowanie oligocukru rdzeniowego typu R1. W ramach prowadzonych przez nasz zespół badań nad przeciwciałami antylipopolisacharydowymi określiliśmy warunki przygotowania immunogennych preparatów o cechach antygenów T-zależnych z wykorzystaniem kowalencyjnych koniugatów oligocukrów rdzeniowych LPS *E. coli* z toksoidem tężcowym.

Analizowano reaktywności przeciwciał skierowanych przeciwko neoglikokoniugatowi rdzenia *E. coli* R1 z lipopolisacharydami *Enterobacteriaceae*. Zaobserwowano reakcje z lipopolisacharydami należącymi do 8 O-serotypów *E. coli* oraz *Shigella sonnei* fazy I. Zdolność przeciwciał antyneoglikokoniugatowych do reakcji z lipopolisacharydami gładkich szczepów *E. coli* bezpośrednio na powierzchni komórek bakteryjnych analizowano z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Jednocześnie badano hamowanie produkcji czynnika nekrozy nowotworów (TNF α) oraz tlenku azotu (NO) przez przeciwciała antyglukokoniugatowe *in vitro* (linia makrofagopodobna J774.1 stymulowana przez gładki typ LPS *E. coli* O1) oraz *in vivo* (myszy). Surowice odpornościowe hamowały w znacznym stopniu aktywność endotoksyny indukującą wytwarzanie TNF α oraz tlenku azotu – jednych z najważniejszych czynników w rozwoju wstrząsu endotoksycznego. Wykazano hamowanie produkcji TNF α oraz NO przez przeciwciała antyneoglikokoniugatowe zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że reakcje przeciwciał z LPS obserwowano dla szczepów gładkich – posiadających zmodyfikowany przez podstawienie łańcuchem O-swoistym rdzeń. Wykazano, że związanie się takiego przeciwciała z LPS zmienia konformację

lipidu A w stopniu wystarczającym do odtoksyczenia tych substancji.

PODSUMOWANIE:

Znajomość budowy chemicznej całej cząsteczki lipopolisacharydu jest pierwszym etapem ustalania zależności pomiędzy strukturą a funkcją endotoksyny. Charakterystyka elementów strukturalnych bezpośrednio zaangażowanych w oddziaływanie ze swoistymi przeciwciałami jest zaś warunkiem poznania właściwości neoglikokoniugatów, umożliwiającym projektowanie bardziej bezpiecznych i immunogennych szczepionek koniugatowych, które mogą znaleźć zastosowanie w zapobieganiu i zwalczaniu infekcji wywołanych przez bakterie Gram-ujemne.

Użycie przeciwciał skierowanych przeciwko neoglikokoniugatom oligocukrów wyizolowanych z LPS z białkami w połączeniu z metodami spektroskopii NMR otwiera nowe możliwości w badaniach epitopów rozpoznawanych przez przeciwciała antykoniugatowe na poziomie molekularnym. Korelacja danych dotyczących struktur badanych epitopów z właściwościami antyendotoksynowymi *in vitro* przeciwciał skierowanych przeciwko zdefiniowanym oligocukrom pozwala na formułowanie wniosków dotyczących optymalnej budowy immunogenu. Wyniki analizy strukturalnej, połączonej z poszukiwaniem immunogennych struktur wspólnych dla wielu szczepów bakteryjnych, mogą stać się więc istotne dla diagnostyki i profilaktyki zakażeń bakteryjnych. Uzyskane dane posłużyły do zainicjowania realizowanego obecnie zadania badawczego dla Wrocławskiego Centrum Badań EIT+, pt. „Szczepionki przeciwbakteryjne nowej generacji: otrzymywanie, charakterystyka immunochemiczna, właściwości ochronne” (projekt wskazany w punkcie Va autoreferatu).

V. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO – BADAWCZYCH.

OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

Przedmiotem mojego zainteresowania przed uzyskaniem stopnia doktora były:

- Badania strukturalne i serologiczne regionu rdzeniowego lipopolisacharydów *Hafnia alvei*,
- Badania strukturalne O-antygeny lipopolisacharydu *Hafnia alvei* PCM 1192,
- Badania możliwości stosowania biosensorów do wykrywania pestycydów jako inhibitorów acetylocholinoesteraz metodą pomiaru zmian impedancji roztworu.

W latach 1986-1991 studiowałem na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego

(kierunek: Biotechnologia). W roku 1990 odbyłem praktykę studencką pod kierunkiem prof. dr hab. Czesława Ługowskiego w Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek IITD PAN. Poznałem wówczas specyfikę laboratorium i podstawowe metody immunochemiczne stosowane w badaniach lipopolisacharydów. Efektem zainteresowania badaniami prowadzonymi w Laboratorium było przygotowanie pracy magisterskiej pt: "Charakterystyka immunochemiczna lipopolisacharydu *Hafnia alvei* 1203." Bezpośrednio po ukończeniu studiów dzięki stypendium z programu Wspólnoty Europejskiej (EC) TEMPUS 1991-1992 odbyłem staż naukowy na Wydziale Biotechnologii TNO (*Netherlands Organisation for Applied Scientific Research*) w Zeist, Holandia. W czasie stażu dołączyłem do zespołu dr Richarda Schasfoort. Poznałem tam zasady funkcjonowania laboratorium zajmującego się konstruowaniem i badaniami biosensorów oraz ich praktycznym wykorzystaniem. Zajmowałem się analizą zastosowania nowego, prototypowego biosensora, przeznaczonego do szybkiego wykrywania i monitorowania obecności pestycydów – inhibitorów acetylocholinoesterazy (32)¹.

W 1993 roku rozpocząłem pracę w Zakładzie Immunochemii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Dołączyłem do zespołu kierowanego przez prof. dr hab. Czesława Ługowskiego. W początkowym okresie brałem udział w badaniach strukturalnych i serologicznych lipopolisacharydów *Hafnia alvei*, ze szczególnym uwzględnieniem regionów rdzeniowych w LPS dla wszystkich dostępnych wówczas szczepów *H. alvei* (30, 31). W analizach strukturalnych stosowano metody chemiczne (analizy cukrowa i metylacyjna z wykorzystaniem GC-MS) oraz nieniszczącą technikę 1D NMR, uzupełniane oznaczeniami immunochemicznymi (immunoelektroforeza, immunoblotting, ELISA). W celu ustalenia zależności antygenowych pomiędzy oligosacharydami rdzeniowymi pochodzącymi z różnych szczepów *H. alvei* uzyskano przeciwciała skierowane przeciwko przygotowanym neoglikokoniugatom rdzenia standardowego szczepu *H. alvei* ATCC 13337. Potwierdzono występowanie jednego dominującego typu rdzenia wśród analizowanych szczepów *H. alvei* (29). W badaniach tych wykazano z jednej strony znaczną konserwatywność regionu rdzeniowego *H. alvei*, przy znaczącej zmienności elementów strukturalnych w części O-swoistej i obecności nietypowych składników.

W latach 1994 i 1995 w czasie dwu dwumiesięcznych pobytów na Wydziale Chemii, SLU w Uppsali (Szwecja) brałem udział w badaniach struktur chemicznych lipopolisacharydów realizowanych pod

¹ Pozycje publikacji wg spisu załączonego w punkcie Va

kierunkiem prof. Lennarta Kenne w ramach współpracy pomiędzy Polską Akademią Nauk oraz Szwedzką Królewską Akademią Nauk. W tym czasie poznawałem w praktyce wykorzystanie technik spektrometrii masowej MALDI-TOF, FAB-MS i spektroskopii NMR w analizie strukturalnej makrocząsteczek biologicznych, w tym cukrowych antygenów bakteryjnych. Przeprowadzono wówczas początkowe analizy NMR i MALDI-TOF MS niezbędne do identyfikacji nowych O-antygenów *H. alvei* szczepów 32, 744, PCM 1194, PCM 1206, PCM 1209, PCM 1210, PCM 1213.

W 1995 roku obroniłem rozprawę doktorską pt. „Budowa chemiczna i charakterystyka serologiczna wielocukrów O-swoistych i oligocukrów rdzeniowych lipopolisacharydów *Hafnia alvei* 744, PCM 1209 i 1213.” Materiał zawarty w rozprawie został opublikowany w formie dwu prac już po uzyskaniu stopnia doktora (22, 25). W 1995 roku brałem także aktywny udział we wdrażaniu nowych technik immunochemicznych i immunologicznych, w tym hodowli mysich komórek makrofagopodobnych, w celu prowadzenia badań efektów biologicznych endotoksyn *in vitro* na potrzeby nowych projektów realizowanych w Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek, IITD PAN. W roku 1997 zostałem wyróżniony Stypendium Krajowym Fundacji Nauki Polskiej dla młodego badacza.

OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

Przedmiotem mojego zainteresowania w okresie po uzyskaniu stopnia doktora są:

- Analiza strukturalna i badania właściwości immunochemicznych lipopolisacharydów (*Hafnia alvei*, *Yokenella regensburgei*, *Plesiomonas shigelloides*),
- Uzyskiwanie i charakterystyka immunochemiczna kowalencyjnych neoglikokoniugatów oligocukrów rdzeniowych lipopolisacharydów z białkami,
- Neoglikokoniugaty oligocukrów rdzeniowych LOS *Bordetella pertussis*,
- Zastosowanie technik HR-MAS NMR i elementów analizy multiwariacyjnej (NMR+PCA) do chemotypowania i grupowania serotypów O *Plesiomonas shigelloides*,
- Zastosowanie zaawansowanych technik spektroskopowych w analizie makrocząsteczek – określanie pełnej struktury lipopolisacharydów w oparciu o techniki spektroskopii NMR, spektrometrii mas (MALDI-TOF) wraz z charakterystyką właściwości antygenowych i endotoksycznych.

Prowadzone w latach 1996-1999 badania strukturalne i immunochemiczne O-antygenów wyizolowanych z *H. alvei* szczepów 32, PCM 1206, PCM 1190 oraz PCM 1210 były kontynuacją prac realizowanych w Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek (22-24, 28). W tym czasie

rozwijano współpracę z Laboratorium prof. Lennarta Kenne, uzyskując dzięki temu nieskrępowany dostęp do unikatowej aparatury badawczej. W badaniach zastosowano, oprócz klasycznych metod analizy chemicznej (analiza cukrowa, metylacyjna, specyficzne degradacje) techniki spektroskopii NMR (400 MHz i 600 MHz) oraz spektrometrii mas MALDI-TOF i FAB. Efektem tych badań było opisanie nowych O-antygenów *H. alvei*. Szczególnie istotne było zidentyfikowanie w nich nowych grup niecukrowych. Stwierdzono obecność związanej glikozydowo grupy fosforanowej, nadającej polisacharydom O-swoistym *H. alvei* 744, PCM 1194 oraz PCM 1210 charakter kwasów tejchojowych (22). Po raz pierwszy zidentyfikowano D-allotreoninę związaną amidowo z resztą kwasu D-galaktouronowego O-antygeny *H. alvei* PCM 1206 (23).

W roku 1996 (listopad-grudzień) brałem udział w praktycznym kursie spektroskopii NMR, zorganizowanym przez Wydział Chemii, SLU w Uppsali (Szwecja), obejmującym procedury przygotowywania, przeprowadzania eksperymentów i uzyskiwania jedno i dwuwymiarowych widm NMR. Poznałem wówczas zaawansowane metody analizy uzyskiwanych danych, w zakresie niezbędnym do pełnej charakterystyki systemów spinowych polisacharydów i oligosacharydów. Zdobyte w czasie kursu umiejętności wraz z wprowadzeniem niezbędnego oprogramowania (np. XwinNMR, Topspin, Sparky) pozwoliły w kolejnych latach na rozszerzenie zakresu badań prowadzonych w Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek IITD PAN, umożliwiając samodzielne prowadzenie badań z wykorzystaniem techniki NMR.

W latach 1997 i 1998 w ramach prowadzonej aktywnie współpracy polsko-szwedzkiej odbyłem kolejne staże naukowe na Wydziale Chemii, SLU. Uczestniczyłem wtedy w analizie nietypowych struktur rdzeniowych zidentyfikowanych u trzech szczepów *H. alvei* 23, 1222 i 39. Na podstawie badań strukturalnych z wykorzystaniem spektroskopii NMR oraz spektrometrii MALDI-TOF MS potwierdzono wskazania z analiz serologicznych – w szczepach *H. alvei* 23 i 1222 zidentyfikowano rdzeń typu *E. coli* R4, zaś rdzeń szczepu 39 określono jako typ opisany dla *Salmonella* Ra (19). W tym czasie po raz pierwszy zetknąłem się w praktyce z zastosowaniem techniki HR-MAS (*high resolution magic-angle-spinning*) NMR w analizie O-antygenów bezpośrednio na powierzchni komórek bakteryjnych.

W latach 2000-2002 (łącznie 32 miesiące) pracowałem jako *postdoc* na Wydziale Chemii, SLU w Uppsali, w Laboratorium prof. Lennarta Kenne. Przedmiotem mojego zainteresowania była wyczerpująca analiza struktur O-antygenów bakterii *Plesiomonas shigelloides*, *Bordetella pertussis* oraz *Yokenella regensburgeri* z

wykorzystaniem zaawansowanych technik spektroskopii NMR oraz spektrometrii mas. W przeciwieństwie do tradycyjnie stosowanego opisu struktur polisacharydów i oligosacharydów bakteryjnych, jako odrębnych segmentów, rozwijałem podejście całościowe, mające charakter multidyscyplinarny i prezentujące pełny opis badanych O-antygenów. Opis taki uwzględniał nie tylko indywidualne składniki poszczególnych segmentów, lecz także sposoby ich połączenia z uwzględnieniem typów i charakterystyki wiązań, oraz z zachowaniem reszt wrażliwych na warunki izolacji. Zidentyfikowane struktury były też weryfikowane w analizach O-antygenów prowadzonych bezpośrednio na bakteriach. Całość opisu uzupełniano badaniami właściwości immunologicznych badanych endotoksyn. Realizowane w tym czasie projekty obejmowały zarówno badania kompletnych struktur LPS wybranych szczepów *P. shigelloides*, jak również analizę wszystkich dostępnych O-serotypów *P. shigelloides in situ* z użyciem techniki HR-MAS NMR. W tym czasie prowadziłem analizy strukturalne nowych oligocukrów rdzeniowych *P. shigelloides* O54 (16), *P. shigelloides* O74 (10) oraz *Y. regensburgei* PCM 2476 i PCM 2477 (4). Po raz pierwszy opisano wtedy struktury oligocukrów rdzeniowych dla tych gatunków bakterii. Pracowałem także nad ustaleniem struktur O-antygenów wyizolowanych z *P. shigelloides* O74 z uwzględnieniem analizy O-antygenów bezpośrednio na komórkach bakteryjnych. W strukturze tego O-antygenu zidentyfikowałem nietypowy podstawnik – pochodną 5-oxo-proliny (3-hydrokso-2,3-dimetylo-5-oxo-prolinę). W celu pełnej identyfikacji sygnałów pochodzących od O-antygenów zastosowałem analizę NMR prowadzoną w warunkach umożliwiających obserwację i identyfikację protonów grup aminowych i hydroksylowych składników podjednostki O-antygeny (H_2O , temp. 283K i 263K). Uczestniczyłem też w wyjaśnieniu niestandardowego zachowania lipopolisacharydu tego szczepu w trakcie izolacji metodą fenolowo-wodną, spowodowanego nadzwyczajną hydrofobowością części O-swoistej (10). (Część z przeprowadzonych badań weszła w skład cyklu prac wskazanych, jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy i została opisana w punkcie IV autoreferatu).

W czasie pobytu w SLU przeprowadziłem mikroanalizę O-antygenów wszystkich dostępnych O-serotypów *P. shigelloides in situ* stosując technikę HR-MAS NMR. W analizach tych wykorzystano miligramowe ilości masy bakteryjnej. Uzyskane dane poddawano analizie multiwariacyjnej (PCA, *principle component analysis*), grupując O-serotypy wg podobieństw strukturalnych, identyfikowanych jako sygnały pochodzące od tzw. grup reporterowych. Dane strukturalne korelowano z wynikami oznaczeń serologicznych wskazujących na krzyżową reaktywność w obrębie niektórych O-antygenów. Wyniki tych prac były prezentowane w formie referatów na dwóch konferencjach (6th International Endotoxin Society

Meeting, Paris, France, 2000 oraz 12th European Carbohydrate Symposium, Grenoble, France, 2003). Wykazano, że możliwe jest przeprowadzenie chemotypowania O-antygenów bezpośrednio na powierzchni komórek bakteryjnych. Technikę HR-MAS NMR zastosowano także w procedurach walidacji struktur O-antygenów *in situ*. Standardowe analizy 1D HR-MAS NMR uzupełniono eksperymentami ¹H, ¹³C – HSQC NMR, stosując bakterie znakowane w hodowli z użyciem mediów zawierających (1-¹³C)-D-glukozę lub (¹³C)-D-glukozę.

Zainicjowałem zastosowanie w badaniach epitopów O-antygenów nowej techniki STD (*saturation transfer difference*) NMR, pozwalającej na bezpośrednią analizę oddziaływań ligand-przeciwciała (13). Została ona wykorzystana w badaniach interakcji przeciwciał anti-neoglikokoniugatowych oraz przeciwciał anti-endotoksynowych z oligosacharydami (*B. pertussis*, *Y. regensburgei*) oraz frakcjami O-antygenów o różnym stopniu spolimeryzowania (*Y. regensburgei*, *P. shigelloides*).

Pobyty w SLU pozwolił mi na zdobycie doświadczenia w praktycznym stosowaniu technik spektroskopii NMR, spektrometrii mas oraz poznanie metod obróbki i analizy danych z wykorzystaniem specjalistycznego oprogramowania, w stopniu umożliwiającym prowadzenie samodzielnych prac badawczych. Poznałem też sposoby efektywnej prezentacji danych, opracowania wyników oraz przygotowania publikacji. Podczas pobytu w SLU pełniłem funkcję promotora pomocniczego pracy doktorskiej Semihy Dag (temat pracy: „STRUCTURAL STUDIES OF SOME BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDES AND EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDES USING NMR SPECTROSCOPY AND MASS SPECTROMETRY”).

Po powrocie ze Szwecji w czwartym kwartale 2002 kontynuowałem badania złożonych oligosacharydów rdzeniowych *Y. regensburgei* oraz nietypowych składników łącznikowych zidentyfikowanych w O-antygenach niektórych szczepów *H. alvei*, uzyskując i analizując dane NMR niezbędne do ich identyfikacji i wyczerpującej charakterystyki (7). Brałem także udział w prowadzeniu analiz strukturalnych O-antygenów nowych szczepów *P. shigelloides* oraz badaniu rozmieszczenia grup O-acetylowych w strukturach pokrewnych serologicznie O-antygenów *H. alvei* PCM 1200, 1203 i 1205 (14). Uczestniczyłem w analizie strukturalnej O-antygeny *P. shigelloides* O51 (6), w którym zidentyfikowano rzadko spotykaną resztę kwasu 2,3-diamino-glukozaminouronowego oraz takie podstawniki, jak kwas 3-hydroksymasłowy i grupa acetamidynowa. W badaniach O-antygeny *H. alvei* PCM 1195 określiłem nową strukturę heksasacharydowej podjednostki z glikozydowo związaną grupą fosforanową, tworzącą łącznik pomiędzy podjednostkami (3). Brałem także udział w analizie strukturalnej oraz określeniu aktywności

endotoksycznych lipidów *A. P. shigelloides* O54 (12) oraz *H. alvei* szczepów 32 i PCM 1192 (5). W tym czasie współpracowałem także z prof. dr hab. Andrzejem Stolarzewiczem (Uniwersytet Śląski, Katowice) wykonując analizy MALDI-TOF MS syntetycznych polimerów (8,9).

W latach 2003-2004 przygotowałem, a następnie kierowałem realizacją projektu grantowego (2004-2007) dotyczącego badań immunochemicznych głównych powierzchniowych antygenów bakterii Gram-ujemnych, podejmując próbę określenia zależności pomiędzy swoistością przeciwciał antyilipopolisacharydowych, a zdolnością tych przeciwciał do neutralizowania niekorzystnych dla zakażonego organizmu biologicznych aktywności endotoksyn. W ramach zadań realizowanych w Laboratorium Immunochemii Drobnoustrojów i Szczepionek IITD PAN biorę także udział w realizacji projektu rozwojowego NCBiR (2010-2013). W latach 2007-2009 brałem aktywny udział w przygotowaniu projektu dla tworzonego Wrocławskiego Centrum Badań EIT+. Efektem tych prac jest trwająca obecnie (zaplanowana na lata 2009-2014) realizacja zadania badawczego pt. „Szczepionki przeciwbakteryjne nowej generacji: otrzymywanie, charakterystyka immunochemiczna, właściwości ochronne” w ramach projektu „Biotechnologia i zaawansowane technologie medyczne” finansowanego ze środków Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

W całym dotychczasowym okresie mojej aktywności badawczej zostały opublikowane z moim udziałem 32 prace oryginalne (31 prac indeksowanych w bazie Web-of-Science) oraz 3 prace przeglądowe. Sumaryczny IF (*impact factor*, wg roku opublikowania²) dla wszystkich opublikowanych prac, w których jestem współautorem wynosi: Σ **IF 83,94**. Sumaryczny IF dla czasopism, w których opublikowano prace wchodzące w skład habilitacji wynosi: Σ **IF 19,29**. Część wyników badań, w których brałem udział była także prezentowana na zjazdach naukowych w kraju i za granicą (42 komunikaty zjazdowe).

Va OSIĄGNIĘCIA NAUKOWO- BADAWCZE (Dz. U. Nr 196, poz. 1165 § 3 i § 4).

- 1) autorstwo lub współautorstwo publikacji naukowych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR),

Zestawienie obejmuje oryginalne opublikowane prace twórcze z podziałem na prace opublikowane po uzyskaniu i przed uzyskaniem stopnia doktora. W kolejnych nawiasach [---] podano udział własny opisowo i wyrażony procentowo oraz wartość *Impact Factor* (IF) dla czasopism z roku publikacji. Gwiazdką (*) oznaczono prace wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej.

² Dla publikacji z lat 2011 i 2012 przyjęto ostatni dostępny w bazie *Journal Citation Report* wskaźnik IF czasopism, tj. z roku 2010.

Prace oryginalne opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora

1. Swierzko, A., Lukasiewicz, J., Cedzynski, M., Maciejewska, A., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Matsushita, M., Lugowski, C. New functional ligands for ficolin-3 among lipopolysaccharides of *Hafnia alvei*, *Glycobiology*, 2012, 22(2): 267-280.
[Udział w uzyskaniu i analizie danych eksperymentalnych NMR, udział w przygotowaniu manuskryptu pracy do druku] [5%] [IF 3,791]
2. Misiuk-Hojło, M., Międzybrodzki, R., Grzybowski, A., Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Turno-Kręcicka, A., Szymaniec, S. Elevated levels of anti-endotoxin antibodies in patients with bilateral idiopathic acute anterior uveitis, *Acta Ophthalmologica*, 2011, 89:e283-e288.
[Wykonanie analiz serologicznych, zebranie danych do analiz statystycznych, wykonanie wstępnych analiz] [25%] [IF 2,801]
3. **Niedziela, T.**, Kenne, L., Lugowski, C. Novel O-antigen of *Hafnia alvei* PCM 1195 lipopolysaccharide with a teichoic acid-like structure, *Carbohydrate Research*, 2010, 345(2): 270-274.
[Wiodący udział w planowaniu i wykonywaniu eksperymentów, przeprowadzenie analiz NMR i MS; opracowanie wyników i przygotowanie pracy do druku, prowadzenie korespondencji z wydawcą] [95%] [IF 1,898]
4. ***Niedziela, T.**, Jachymek, W., Lukasiewicz, J., Maciejewska, A., Andersson, R., Kenne, L., Lugowski, C. Structures of two novel, serologically nonrelated core oligosaccharides of *Yokenella regensburgei* lipopolysaccharides differing only by a single hexose substitution, *Glycobiology*, 2010, 20(2): 207-214.
[Wiodący udział w planowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów, przeprowadzenie analiz NMR i MS; izolacja przeciwciał wraz z analizą ich oddziaływań, opracowanie wyników i przygotowanie pracy do druku, prowadzenie korespondencji z wydawcą] [75%] [IF 3,791]
5. Lukasiewicz, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Kenne, L., Lugowski, C. Structural analysis of the lipid A isolated from *Hafnia alvei* 32 and PCM 1192 lipopolysaccharides, *Journal of Lipid Research*, 2010, 51(3): 564-574.
[Udział w analizie danych eksperymentalnych ESI-MS i MALDI-TOF MS, udział w przygotowaniu manuskryptu pracy do druku] [10%] [IF 6,115]
6. Maciejewska, A., Lukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Szewczuk, Z., Lugowski, C. Structural analysis of the O-specific polysaccharide isolated from *Plesiomonas shigelloides* O51 lipopolysaccharide, *Carbohydrate Research*, 2009, 344(7): 894-900.
[Udział w planowaniu i wykonywaniu eksperymentów NMR, udział w przygotowaniu pracy do druku] [25%] [IF 2,025]
7. Lukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Kenne, L., Lugowski, C. Two Kdo-Heptose Regions Identified in *Hafnia alvei* 32 Lipopolysaccharide: the Complete Core Structure and Serological Screening of Different *Hafnia* O Serotypes, *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(2): 533-544.
[Wykonanie analiz NMR oraz interpretacja uzyskanych danych, udział w przygotowaniu materiałów do publikacji] [30%] [IF 3,94]
8. Pisarski, W.A., Swinarew, A.S., Czaja, M., Piekarnik, B., Grobelny, Z., Getautis, V., Grazulevicius, J.V., **Niedziela, T.**, Trzebicka, B., Stolarzewicz, A. Optically induced carbazoyl containing polyethers: Concentration effects, *Journal of Molecular Structure*, 2008, 887(1-3): 205-208.
[Wykonanie analiz MALDI-TOF MS, opracowanie wyników analiz oraz opracowanie danych do publikacji] [1%] [IF 1,594]
9. Morejko, B., Stolarzewicz, A., Grobelny, Z., Piekarnik, B., **Niedziela, T.**, Trzebicka, B. New kind of star-shaped polyethers prepared with cyclic oligo(potassium glycidoxide) as a macroinitiator, *Reactive & Functional Polymers*, 2007, 67(7): 669-674.

- [Wykonanie analiz MALDI-TOF MS, opracowanie wyników analiz oraz opracowanie danych do publikacji] [5%] [IF 1,72]
10. ***Niedziela, T.**, Dag, S., Lukaszewicz, J., Dzieciatkowska, M., Jachymek, W., Lugowski, C., Kenne, L. Complete lipopolysaccharide of *Plesiomonas shigelloides* O74 : H5 (strain CNCTC 144/92). 1. Structural analysis of the highly hydrophobic lipopolysaccharide, including the O-antigen, its biological repeating unit, the core oligosaccharide, and the linkage between them, *Biochemistry*, 2006, 45(35): 10422-10433.
- [Wiodący udział w planowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów, wykonanie analiz NMR wraz z interpretacją widm, przygotowanie pracy do druku, prowadzenie korespondencji z wydawcą] [75%] [IF 3,633]
11. Lukaszewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Kenne, L., Lugowski, C. Structure of the lipid A-inner core region and biological activity of *Plesiomonas shigelloides* O54 (strain CNCTC 113/92) lipopolysaccharide, *Glycobiology*, 2006, 16(6): 538-550.
- [Udział w planowaniu i wykonywaniu eksperymentów NMR, udział w przygotowaniu pracy do druku] [30%] [IF 3,668]
12. Lukaszewicz, J., Dzieciatkowska, M., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Augustyniuk, A., Kenne, L., Lugowski, C. Complete lipopolysaccharide of *Plesiomonas shigelloides* O74 : H5 (strain CNCTC 144/92). 2. Lipid A, its structural variability, the linkage to the core oligosaccharide, and the biological activity of the lipopolysaccharide, *Biochemistry*, 2006, 45(35): 10434-10447.
- [Udział w planowaniu i wykonywaniu eksperymentów NMR, udział w przygotowaniu pracy do druku] [25%] [IF 3,633]
13. ***Niedziela, T.**, Letowska, I., Lukaszewicz, J., Kaszowska, M., Czarnecka, A., Kenne, L., Lugowski, C. Epitope of the vaccine-type *Bordetella pertussis* strain 186 lipooligosaccharide and antiendotoxin activity of antibodies directed against the terminal pentasaccharide-tetanus toxoid conjugate, *Infection and Immunity*, 2005, 73(11): 7381-7389.
- [Wiodący udział w planowaniu i wykonywaniu eksperymentów; wykonanie eksperymentów NMR wraz z interpretacją widm; wykonanie analiz MALDI-TOF MS; izolacja przeciwciał wraz z analizą ich oddziaływań, przygotowanie pracy do druku, prowadzenie korespondencji z wydawcą] [75%] [IF 3,933]
14. Dag, S., **Niedziela, T.**, Dzieciatkowska, M., Lukaszewicz, J., Jachymek, W., Lugowski, C., Kenne, L. The O-acetylation patterns in the O-antigens of *Hafnia alvei* strains PCM 1200 and 1203, serologically closely related to PCM 1205, *Carbohydrate Research*, 2004, 339(15): 2521-2527.
- [Wiodący udział w planowaniu eksperymentów, wykonanie analiz HR-MAS NMR wraz z interpretacją wyników, koordynacja analiz serologicznych z badaniami strukturalnymi, udział w przygotowaniu pracy do druku] [35%] [IF 1.451]
15. Lukaszewicz, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Dzieciatkowska, M., Lakomska, J., Miedzybrodzki, R., Fortuna, W., Szymaniec, S., Misiuk-Hojlo, M., Lugowski, C. Serological characterization of anti-endotoxin serum directed against the conjugate of oligosaccharide core of *Escherichia coli* type R4 with tetanus toxoid, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2003, 37(1): 59-67.
- [Wykonanie części analiz immunochemicznych] [5%] [IF 1,789]
16. ***Niedziela, T.**, Lukaszewicz, J., Jachymek, W., Dzieciatkowska, M., Lugowski, C., Kenne, L. Core oligosaccharides of *Plesiomonas shigelloides* O54 : H2 (strain CNCTC 113/92) - Structural and serological analysis of the lipopolysaccharide core region, the O-antigen biological repeating unit, and the linkage between them, *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(14): 11653-11663.
- [Wiodący udział w planowaniu struktury pracy, wykonywanie eksperymentów NMR wraz z interpretacją widm; wykonanie analiz MALDI-TOF MS, interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu pracy do druku] [70%] [IF 6,696]

17. Lukaszewicz, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Malik-Gebicka, M., Dzieciatkowska, M., Lugowski, C. Comparison of serological specificity of anti-endotoxin sera directed against whole bacterial cells and core oligosaccharide of *Escherichia coli* J5-tetanus toxoid conjugate, *Acta Biochimica Polonica*, 2002, 49(3): 721-734.
[Wykonanie części analiz immunochemicznych] [5%] [IF 0,6]
18. Czaja, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Lugowski, C., Aldova, E., Kenne, L. Structural studies of the O-specific polysaccharide from *Plesiomonas shigelloides* strain CNCTC 113/92, *European Journal of Biochemistry*, 2000, 267(6): 1672-1679.
[Wykonanie części analiz chemicznych oraz analiz MALDI-TOF MS, udział w interpretacji wyników i przygotowaniu manuskryptu publikacji] [15%] [IF 2,852]
19. Romanowska, E., Katzenellenbogen, E., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Bogulska, M., Lugowski, C. Non-typical lipopolysaccharide core regions of some *Hafnia alvei* strains: structural and serological studies, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 1999, 24(1): 63-71.
[Udział w wykonaniu eksperymentów NMR i analizach MALDI-TOF MS, opracowanie danych do publikacji] [15%] [IF 1,329]
20. Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Petersson, C., Lugowski, C., Czaja, J. Kenne, L. Structures of the O-specific polysaccharides from *Yokenella regensburgei* (*Koserella trabulsii*) strains PCM 2476, 2477, 2478, and 2494: High-resolution magic-angle spinning NMR investigation of the O-specific polysaccharides in native lipopolysaccharides and directly on the surface of living bacteria, *Biochemistry*, 1999, 38(36): 11788-11795.
[Otrzymywanie preparatów bakterii, LPS, PS i OS; planowanie i wykonanie analiz chemicznych, wykonanie analiz MALDI-TOF MS polisacharydów, interpretacja wyników, udział w przygotowaniu publikacji] [25%] [IF 4,493]
21. Jachymek, W., Czaja, J., **Niedziela, T.**, Lugowski, C., Kenne, L. Structural studies of the O-specific polysaccharide of *Hafnia alvei* strain PCM 1207 lipopolysaccharide, *European Journal of Biochemistry*, 1999, 266(1): 53-61.
[Wykonanie części analiz chemicznych, wykonanie testów serologicznych wraz z opracowaniem wyników, udział w przygotowaniu publikacji] [20%] [IF 3,307]
22. Petersson, C., Jachymek, W., Klonowska, A., Lugowski, C., **Niedziela, T.**, Kenne, L. Structural studies of the O-specific chains of *Hafnia alvei* strains 744, PCM 1194 and PCM 1210 lipopolysaccharides, *European Journal of Biochemistry*, 1997, 245(3): 668-675.
[Otrzymywanie preparatów bakterii, LPS i PS wykonanie analiz chemicznych, udział w wykonaniu analiz NMR i MALDI-TOF MS polisacharydów, interpretacja wyników, udział w przygotowaniu publikacji] [25%] [IF 3,136]
23. Petersson, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Kenne, L., Zarzecki, P., Lugowski, C. Structural studies of the O-specific polysaccharide of *Hafnia alvei* strain PCM 1206 lipopolysaccharide containing D-allothreonine, *European Journal of Biochemistry*, 1997, 244(2): 580-586.
[Udział w otrzymywaniu preparatów bakterii, LPS i PS, wykonanie części eksperymentów immunochemicznych, udział w interpretacji i przygotowaniu wyników do publikacji] [35%] [IF 3,136]
24. Petersson, C., Jachymek, W., Kenne, L., **Niedziela, T.**, Lugowski, C. Structural studies of the O-specific chain of *Hafnia alvei* strain PCM 1190 lipopolysaccharide, *Carbohydrate Research*, 1997, 298(3): 219-227.
[Wykonanie części eksperymentów, udział w interpretacji i przygotowaniu wyników do publikacji] [25%] [IF 1,437]
25. **Niedziela, T.**, Petersson, C., Helander, A., Jachymek, W., Kenne, L., Lugowski, C. Structural studies of the O-specific polysaccharide of *Hafnia alvei* strain 1209 lipopolysaccharide, *European Journal of Biochemistry*, 1996, 237(3): 635-641.

- [Otrzymywanie preparatów bakterii, LPS i PS, wykonanie analiz chemicznych, udział w wykonaniu analiz NMR i MALDI-TOF MS polisacharydów, interpretacja wyników, udział w przygotowaniu publikacji] [65%] [IF 3,275]
26. Lugowski, C., ***Niedziela, T.**, Jachymek, W. Anti-endotoxin antibodies directed against *Escherichia coli* R-1 oligosaccharide core tetanus toxoid conjugate bind to smooth, live bacteria and smooth lipopolysaccharides and attenuate their tumor necrosis factor stimulating activity, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 1996, 16(1): 31-38.
[Wykonanie części analiz serologicznych, prowadzenie hodowli komórkowych, udział w opracowaniu i przeprowadzeniu testów hamowania wytwarzania TNF α i NO, opracowanie danych do publikacji] [65%] [IF 1,235]
27. Lugowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Rowinski, S. Serological characterisation of anti-endotoxin sera directed against the conjugates of oligosaccharide core of *Escherichia coli* type R1, R2, R3, J5 and Salmonella Ra with tetanus toxoid, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 1996, 16(1): 21-30.
[Udział w przygotowaniu neoglikokoniugatów, udział w przygotowaniu surowic i wykonywaniu analiz serologicznych uzyskanych przeciwciał, opracowanie danych do publikacji] [35%] [IF 1,235]
28. Jachymek, W., Petersson, C., Helander, A., Kenne, L., **Niedziela, T.**, Lugowski, C. Structural studies of the O-specific chain of *Hafnia alvei* strain 32 lipopolysaccharide, *Carbohydrate Research*, 1996, 292: 117-128.
[Udział w otrzymywaniu preparatów bakterii, LPS i PS, udział w wykonaniu analiz chemicznych, udział w wykonaniu analiz MALDI-TOF MS polisacharydów, przygotowanie preparatów oligosacharydowych do analiz FAB MS, udział w opracowaniu i interpretacji wyników, udział w przygotowaniu publikacji] [15%] [IF 1,417]

Prace oryginalne opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora

29. Lugowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Romanowska, A., Witkowska, D., Romanowska, E. Lipopolysaccharide Core Region of *Hafnia alvei* - Serological Characterization, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 1995, 10(2): 119-124.
[Udział w przygotowaniu preparatów bakteryjnych, LPS, preparacje OS udział w przygotowaniu neoglikokoniugatów, udział w immunizacjach i przygotowaniu surowic, wykonywanie analiz serologicznych uzyskanych przeciwciał] [5%] [IF 1,056]
30. Lugowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Klonowska, A., Czarny, A., Rowinski, S., Petersson, C., Kenne, L. Structural and serological characterization of *Hafnia alvei* lipopolysaccharide core region, *Acta Biochimica Polonica*, 1995, 42(1): 51-54.
[Udział w przygotowaniu preparatów bakteryjnych, LPS, PS i OS, udział w analizach immunochemicznych] [20%] [IF 0,367]
31. Jachymek, W., Petersson, C., Helander, A., Kenne, L., Lugowski, C., **Niedziela, T.** Structural Studies of the O-Specific Chain and a Core Hexasaccharide of *Hafnia alvei* Strain-1192 Lipopolysaccharide, *Carbohydrate Research*, 1995, 269(1): 125-138.
[Udział w przygotowaniu preparatów bakteryjnych, LPS, PS i OS, udział w analizach immunochemicznych] [10%] [IF 1,506]
32. Schasfoort, R.B.M., **Niedziela, T.** Detection of Inhibitory Compounds of Acetylcholine Esterase with a Novel Ion Responding Impedance Sensor (Iris), *Sensors and Actuators B-Chemical*, 1994, 18(1-3): 175-177.
[Udział w projektowaniu i przygotowaniu instalacji testowej sensora, wykonanie pomiarów, opracowanie wyników] [45%] [IF 1,074]

2) udzielone patenty międzynarodowe lub krajowe,

Patenty (zgłoszenia patentowe)

Polskie zgłoszenie patentowe nr P 391475 z dnia 11.06.2010. „Polisacharyd oraz jego pochodne posiadające powinowactwo do ficoliny-3, sposób ich otrzymywania i zastosowania”;

Twórcy: Łukasiewicz J, Świerzko A, Cedzyński M, Ługowski C, Maciejewska A, Jachymek W, **Niedziela T.**

Jednostki zgłaszające: Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław oraz Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź

Zgłoszenie międzynarodowe PCT/PL2011/050024. (11.06.2011) Polysaccharide and derivative thereof, showing affinity to ficolin-3, method of preparation and use.

Twórcy: Łukasiewicz J, Świerzko A, Cedzyński M, Ługowski C, Maciejewska A, Jachymek W, **Niedziela T.**

Jednostki zgłaszające: Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław oraz Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź

3) wynalazki, wzory użytkowe i przemysłowe, które uzyskały ochronę, w tym te, które zostały wystawione na międzynarodowych lub krajowych wystawach lub targach,

4) autorstwo lub współautorstwo monografii, publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazach lub na liście Journal Citation Reports (JCR),

Pozostałe publikacje - prace przeglądowe

1. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Czaja, J., Letowska, I. The acellular pertussis vaccine. Nova Acta Leopoldina NF, 1999. 80(312): p. 259-263.

[Udział w planowaniu struktury pracy, udział w przygotowaniu manuskryptu pracy do druku] [25%]

2. **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Ługowski, C. Endotoksyny bakteryjne – metody analizy strukturalnej [Bacterial endotoxins--methods of structural analysis]. Postepy Hig Med Dosw, 1996. 50(5): p. 419-429.

[Wiodący udział w planowaniu struktury pracy, przygotowanie manuskryptu pracy do druku] [75%]

3. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W. Endotoksyny bakteryjne: struktura, aktywności biologiczne, szczepionki koniugatowe [Bacterial endotoxins – structure, biological activities, conjugate vaccines]. Mikrobiologia Medycyna, 1996. 4(9): p. 28-39.

[Udział w planowaniu struktury pracy, udział w przygotowaniu manuskryptu pracy do druku] [35%]

5) autorstwo lub współautorstwo odpowiednio dla danego obszaru: opracowań zbiorowych, katalogów zbiorów, dokumentacji prac badawczych, ekspertyz, utworów i dzieł artystycznych;

6) sumaryczny *impact factor* publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania : **83,94**

- 7) liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): 347³
- 8) indeks Hirscha opublikowanych publikacji według bazy Web of Science (WoS), 11
- 9) kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach;

Obecnie realizowane projekty badawcze

- 2009-2014 wykonawca w realizacji zadania badawczego dla Wrocławskiego Centrum Badań EIT+ pt. „Szczepionki przeciwbakteryjne nowej generacji: otrzymywanie, charakterystyka immunochemiczna, właściwości ochronne” w ramach projektu „Biotechnologia i zaawansowane technologie medyczne” finansowanego ze środków Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka
- 2010-2013 wykonawca w projekcie rozwojowym, grant NCBiR, pt. „Produkty lizy bakterii Gram-ujemnych jako potencjalne preparaty przeciwnowotworowe. Charakterystyka chemiczna i biochemiczna oraz badanie aktywności biologicznych. Opracowanie technologii produkcji substancji czynnej”

Kierowanie projektami badawczymi

- 2004-2007 „Badania strukturalne epitopów na bakteryjnych endotoksynach oraz analiza oddziaływań z rozpoznającymi je przeciwciałami obecnymi w surowicach odpornościowych” - grant KBN 2 P05A 054 27
- 1998-2000 „Endotoksyny *Plesiomonas shigelloides* – porównawcze badania strukturalne preparatów izolowanych z serologicznie pokrewnych szczepów.” - grant KBN 6 P04A 051 14
- 1995-1996 „Badania strukturalne i serologiczne lipopolisacharydu *Hafnia alvei* PCM 1195” -grant „młodego badacza” - grant KBN 6 P04A 031 09

Udział w projektach badawczych (wykonawca)

- 2007-2010 „Badanie swoistości oddziaływań ludzkiej lektyny wiążącej mannan (MBL) z endotoksynami bakteryjnymi” - grant MNiSW Nr N401 084 32
- 2002-2005 „Struktura chemiczna i aktywności biologiczne endotoksyn *Plesiomonas shigelloides* uzyskanych ze szczepów chorobotwórczych dla człowieka - rola wielocukrów O-swoistych i oligocukrów rdzenia w modulacji aktywności lipidu A” - grant KBN 3P04A 091 22
- 2000-2002 „Badania kompletnych struktur i właściwości biologicznych endotoksyn *H. alvei* o unikatowym połączeniu wielocukru O-swoistego z oligocukrem rdzeniowym” - grant KBN 6P04A 069 19
- 1997-1999 „Kowalencyjne koniugaty oligocukrów rdzenia endotoksyny *Bordetella pertussis* z białkiem jako składniki bezkomórkowej szczepionki przeciwkrztuścowej: otrzymywanie, właściwości immunogenne, aktywności biologiczne swoistych surowic odpornościowych” - grant KBN nr P05A 105 12
- 1993-1996 „Zastosowanie przeciwciał antylipopolisacharydowych w uogólnionych zakażeniach wywoływanych przez bakterie Gram-ujemne - właściwości ochronne i lecznicze” - grant KBN nr 6P203 071 04

³ Ostatnia aktualizacja 13-03-2012

10) międzynarodowe lub krajowe nagrody za działalność naukową

11) wygłoszenie referatów na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych.

Niedziela T., Nord L., Ługowski C., Kenne L.: Chemotyping and grouping of *Plesiomonas shigelloides* O-serotypes using high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy and multivariate analysis. 12th European Carbohydrate Symposium, Grenoble, Francja, 2003 (referat)

Niedziela, T., Kenne, L. & Ługowski, C. High-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy used for rapid characterisation of *Plesiomonas shigelloides* O-antigens. Correlation of the HR-MAS profiles with the results of immunological studies. 6th International Endotoxin Society Meeting, Paris, Francja, 2000 (referat)

Vb. DOROBEK DYDAKTYCZNY I POPULARYZATORSKI ORAZ WSPÓŁPRACA MIĘDZYNARODOWA HABILITANTA (Dz. U. Nr 196, poz. 1165 § 5).

1) uczestnictwo w programach europejskich i innych programach międzynarodowych lub krajowych;

2) udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach naukowych lub udział w komitetach organizacyjnych tych konferencji;

KOMUNIKATY ZJAZDOWE

1. Swierzko, A., Lukasiewicz, J., Cedzynski, M., Maciejewska, A., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Matsushita, M., Lugowski, C. „New functional ligands for H-ficolin among lipopolysaccharides of *Hafnia alvei*”. International Lectin Conference Interlec Brisbane, Australia (2011).
2. Swierzko, A., Lukasiewicz, J., Cedzynski, M., Maciejewska, A., Jachymek, W. **Niedziela, T.**, Matsushita, M., Lugowski, C. „New functional ligands for H-ficolin among lipopolysaccharides of *Hafnia alvei*”. V International Complement Therapeutics Conference, Rodos, Grecja (2011).
3. Maciejewska, A., Lukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Lugowski, C. „Core oligosaccharide of *Plesiomonas shigelloides* O17 (PCM 2231) lipopolysaccharide – structural and serological analysis. XXV International Carbohydrate Symposium, Tokio, Japonia (2010).
4. Lukasiewicz, J., Swierzko, A., Maciejewska, A., Farys, M., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Lugowski, C. „Activation of the complement lectin pathway via interaction between human and mouse mannose-binding lectin (MBL) and lipopolysaccharides of *Hafnia alvei*- identification of binding regions and biological activity of this complex”. XXV International Carbohydrate Symposium, Tokio, Japonia (2010).
5. Lukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Augustyniuk, A., Lugowski, C. „Kdo-containing outer core oligosaccharides as the ligation sites for the O-antigens in *Hafnia alvei* lipopolysaccharides”. XXIV International Carbohydrate Symposium, Oslo, Norwegia (2008).
6. Augustyniuk, A., Lukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Lugowski, C. „Structural studies of *Plesiomonas shigelloides* O51 lipopolysaccharide”. XXIV International Carbohydrate Symposium, Oslo, Norwegia (2008).
7. Ługowski C., **Niedziela T.**, Łukasiewicz J., Dzieciatkowska M., Kaszowska M., Jachymek

- W., Kenne L. „Structural analysis of KDO region of core oligosaccharides isolated from smooth *Plesiomonas shigelloides* and *Hafnia alvei* lipopolysaccharides”. 8th International Endotoxin Society Conference, Kyoto, Japan (2004).
8. **Niedziela T.**, Dzieciatkowska M., Dag S., Łukasiewicz J., Kaszowska M., Jachymek W., Kenne L., Ługowski C. „The complete structure of *Plesiomonas shigelloides* O74 and the immunodominant epitope within its O-antigen”. 8th International Endotoxin Society Conference, Kyoto, Japan, (2004).
 9. Łukasiewicz, J., Dzieciatkowska, M., **Niedziela, T.**, Kaszowska, M., Jachymek, W., Kenne, L., Ługowski, C. „Structural analysis of *Plesiomonas shigelloides* lipid A using MALDI-TOF and ESI mass spectrometry”. 8th International Endotoxin Society Conference, Kyoto, Japan (2004).
 10. Kaszowska, M., Ługowski, C., Łukasiewicz, J., Dzieciatkowska, M., **Niedziela, T.** „Structural studies of endotoxin from *Plesiomonas shigelloides* O37 (CNCTC 39/89)”. 3rd German-Polish-Russian Meeting on Bacterial Carbohydrates, Wrocław, Polska (2004).
 11. Łukasiewicz, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Kenne, L., Ługowski, C. „Structural analysis of *Hafnia alvei* 32 lipid A molecule using MALDI-TOF and ESI mass spectrometry”. 3rd German-Polish-Russian Meeting on Bacterial Carbohydrates, Wrocław, Polska (2004)
 12. Dag, S., **Niedziela, T.**, Łukasiewicz, J., Jachymek, W., Dzieciatkowska, M., Ługowski, C., Kenne, L. „The lipopolysaccharide of a *Plesiomonas shigelloides*”. 3rd German-Polish-Russian Meeting on Bacterial Carbohydrates, Wrocław, Polska (2004).
 13. **Niedziela, T.**, Nord, L., Ługowski, C., Kenne, L. „Chemotyping and grouping of *Plesiomonas shigelloides* O-serotypes using high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy and multivariate analysis”. 12th European Carbohydrate Symposium, Grenoble, France (2003) **referat**
 14. Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Łukasiewicz, J., Dzieciatkowska M., Ługowski, C. „Core oligosaccharides of *Hafnia alvei* 32, structural and serological analysis of the endotoxin core region, the O-antigen and the linkage between them”. XXIst International Carbohydrate Symposium. Cairns, Australia (2002).
 15. Ługowski, C., Łukasiewicz, J., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Dzieciatkowska, M. „The influence of non-typical structure of core oligosaccharide on biological activity of *Plesiomonas shigelloides* lipopolysaccharides”. XXIst International Carbohydrate Symposium, Cairns, Australia (2002).
 16. Jachymek, W., Łukasiewicz, J., Niedziela, T., Dzieciatkowska, M., Kaszowska, M., Ługowski, C. „Structural and serological studies of *Plesiomonas shigelloides* CNCTC 39/89 (O37) lipopolysaccharide: core oligosaccharide and O-antigen polysaccharide”. The Carbohydrate Workshop 2002, Research Center Borstel, Niemcy (2002).
 17. Łukasiewicz, J., Jachymek, W., Niedziela, T., Dzieciatkowska, M., Ługowski, C. „Serological characterization of anti-endotoxin sera directed against the conjugates of core oligosaccharides of *Escherichia coli* type R4 and J5 with tetanus toxoid”. The Carbohydrate Workshop 2002, Research Center Borstel, Niemcy (2002).
 18. Łukasiewicz, J., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Ługowski, C. Dzieciatkowska, M. „Structure and biological activity of lipid A as part of *Plesiomonas shigelloides* CNCTC 113/92 lipopolysaccharide”. Eurocarb XVI, Lizbona, Portugalia (2001)
 19. Łukasiewicz J., Jachymek W., **Niedziela T.**, Czarnecka A., Ługowski C. „Immunochemical studies of *Plesiomonas shigelloides* CNCTC 113/92 lipopolysaccharide”. XIV-Kdo Sympozjum, Borstel Research Center, Niemcy (2001).
 20. Jachymek W., Łukasiewicz J., **Niedziela T.**, Czarnecka A., Ługowski C. „Structural studies on *Yokenella regensburgei* lipopolysaccharide core region”. XIV-Kdo Meeting, Borstel Research Center, Niemcy (2001).
 21. **Niedziela, T.**, Czaja, J., Jachymek, W., Kenne, L & Ługowski, C. „A novel core oligosaccharide of *Plesiomonas shigelloides* devoid of phosphate residues”.

- 20th International Carbohydrate Symposium, Hamburg, Germany (2000).
22. **Niedziela, T.**, Kenne, L. & Ługowski, C. „High-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy used for rapid characterisation of *Plesiomonas shigelloides* O-antigens. Correlation of the HR-MAS profiles with the results of immunological studies.” 6th International Endotoxin Society Meeting, Paris, France (2000) **referat**.
 23. **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Petersson, C., Kenne, L., Czaja, J. & Ługowski, C. „Structural studies of the O-specific polysaccharides isolated from *Yokenella regensburgei* (*Koserella trabulsii*) strains 2476, 2477, 2478 and 2494 lipopolysaccharides”. 19th International Carbohydrate Symposium, San Diego, USA (1998).
 24. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Łętowska, I., Czaja, J. & Hryniewicz, W. „Antibodies directed against *B. pertussis* core oligosaccharide-tetanus toxoid conjugate recognize endotoxin present on live bacterial cells”. 19th International Carbohydrate Symposium, San Diego, USA (1998).
 25. Ługowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Czaja, J. „Conjugate anti-endotoxin vaccines”. 2nd International Conference Progress in Intensive Care Medicine with Associated Meeting Immunology of Infection, Wrocław (1998).
 26. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Czaja, J. „Conjugate anti-endotoxin vaccines”. Amgen, Thousand Oaks, USA (1998).
 27. Łętowska, I., Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Czaja, J., Hryniewicz, W. „Immunogenic activity of *B. pertussis* core oligosaccharide-tetanus toxoid conjugate”. First World Congress on Vaccines and Immunization, Istanbul, Turkey (1998).
 28. Ługowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.** „Conjugate anti-endotoxin vaccines”. Central European Conference on Modern Vaccinology, Vaccines and Immunization, Puławy, Polska (1997).
 29. Szymaniec, S., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Skowrońska, J., Tomaszewski, M.T., Porycki, J., Gogo-Kosiorok, J. Ługowski, C. „The level of antibodies directed against *Helicobacter pylori* endotoxin in human sera”. *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Pathology, II International Symposium, Kraków, Polska (1997).
 30. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W. „Nowe generacje szczepionek”. Zaburzenia wieku rozwojowego, II Konferencja Naukowo-Szkoleniowa, Wrocław (1997).
 31. Romanowska, E., Katzenellenbogen, E., Gamian, A., Dabrowski, U., Dabrowski, J., Ługowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.**: „Core structure of *Hafnia alvei* LPS. 4th Conference of the International Endotoxin Society, Nagoya, Japonia, (1996)
 32. Ługowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.** „Neoglikokoniugatowe szczepionki antybakteryjne”. XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Łódź, Polska (1996).
 33. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W. „Badania strukturalne wielocukrów O-swoistych lipopolisacharydów *Hafnia alvei*”. XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Łódź, Polska (1996).
 34. Petersson, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Ługowski, C., Kenne L. „Structural studies of the repeating units of *Hafnia alvei* strains 1206, 1190 and 32 using MALDI-TOF and FAB-MS/MS in combination with partial acid hydrolysis and Smith degradations”. XVIII International Carbohydrate Symposium, Milano, Włochy (1996).
 35. **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Petersson, C., Helander, A., Kenne, L., Ługowski, C. „Badania strukturalne wielocukru O-swoistego i heksasacharydu rdzeniowego lipopolisacharydu *H. alvei* PCM 1192”. VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologicznego, Wrocław, Polska (1995).
 36. Jachymek, W., Petersson, C., Helander, A., Kenne, L., Ługowski, C., **Niedziela, T.** „Badania strukturalne lipopolisacharydu *H. alvei* 32”. VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologicznego, Wrocław, Polska (1995).

37. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Romanowska, E., Petersson, C., Helander, A., Kenne L. „Badania strukturalne i serologiczne oligocukrów rdzeniowych lipopolisacharydów *Hafnia alvei*”. XXX Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Szczecin, Polska (1994).
38. Ługowski, C., Jachymek, W., **Niedziela, T.**, Kwiecińska, E. „Protective anti-core type R1-tetanus toxoid conjugate serum binds to smooth lipopolysaccharides and smooth, alive bacterial cells”. 3rd Conference of the International Endotoxin Society, Helsinki, Finlandia (1994).
39. Ługowski, C., **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Romanowska, E., Petersson, C., Helander, A., Kenne L. „Structural and serological characterization of *Hafnia alvei* lipopolysaccharide core region”. 3rd Conference of the International Endotoxin Society, Helsinki, Finlandia (1994).
40. **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Ługowski, C., Helander, A., Kenne, L., Petersson, C. „Structural studies of the biological repeating unit and core of *Hafnia alvei* derived from strain 32”. 7th European Carbohydrate Symposium, Kraków, Polska (1993).
41. **Niedziela, T.**, Jachymek, W., Ługowski, C., Helander, A., Kenne, L., Petersson, C. „Structural studies of the biological repeating units and cores of *Hafnia alvei* derived from strains 1192 and 1209”. 7th European Carbohydrate Symposium, Kraków, Polska (1993).
42. Schasfoort, R.B.M., **Niedziela, T.** „Detection of inhibitory compounds of acetylcholine esterase with a novel ion responding impedance sensor (IRIS)”. Eurosensors VII, Budapest, Węgry (1993).

3) otrzymane nagrody i wyróżnienia;

2010	Nagroda Dyrektora Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN za osiągnięcia naukowe (współautor) w 2009 roku
2003	stypendium konferencyjne Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dofinansujące udział w 12. Europejskim Sympozjum Węglowodanowym (12 th European Carbohydrate Symposium, Grenoble, Francja, 6 – 11 lipca 2003)
1997	stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (Stypendium Krajowe edycja 1997 dla Młodych Naukowców)
1996	Nagroda Dyrektora Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN za osiągnięcia naukowe

4) udział w konsorcjach i sieciach badawczych;

5) kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych, a w przypadku badań stosowanych we współpracy z przedsiębiorcami;

6) udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism;

7) członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych;

8) osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki;

Wygłoszone wykłady:

„Analiza strukturalna antygenów cukrowych” – wykład w ramach posiedzeń naukowych IITD PAN, styczeń 2008.

„Techniki spektrometrii masowej, spektroskopii NMR i analiza multiwariacyjna w badaniach makrocząsteczek biologicznych”- wykład dla studentów Akademii Rolniczej we Wrocławiu, kwiecień, 2004

„Zastosowanie spektroskopii NMR i analizy multiwariacyjnej w chemotypowaniu serotypów O *Plesiomonas shigelloides* - czyli rzecz o nowoczesnych metodach analizy dużych zbiorów danych” – wykład w ramach posiedzeń naukowych IITD PAN, listopad, 2003

„Rapid characterization of epitopes present on carbohydrate bacterial antigens using modern techniques. Correlation of the HR-MAS profiles with the results of immunological studies” - wykład w ramach Konferencji z okazji Jubileuszu 50-lecia IITD PAN, grudzień, 2002

„Szczepionki antylipopolisacharydowe” -Referat na posiedzeniu naukowym IITD PAN, marzec 1997

"Badania strukturalne lipopolisacharydów *Hafnia alvei* 1209 i 1213 - wykorzystanie metod spektrometrii masowej (EI, FAB, MS/MS, MALDI-TOF)." - Referat na posiedzeniu naukowym IITD PAN, czerwiec 1995

"Region rdzeniowy lipopolisacharydów - struktura i serologia."- Referat na posiedzeniu naukowym IITD PAN, 22 marca 1994

9) opieka naukowa nad studentami;

Kierowanie pracami magisterskimi

Anna Czarnecka, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, Biotechnologia, 2000

Tytuł pracy: „ GLIKOKONIUGATY OLIGOSACHARYDOWEGO FRAGMENTU LIPOPOLISACHARYDU *BORDETELLA PERTUSSIS* Z TOKSOIDEM TĘŻCOWYM – OTRZYMYWANIE I CHARAKTERYSTYKA IMMUNOCHEMICZNA”

Kierowanie pracami licencjackimi

Anna Kępa, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, Biotechnologia, 1998

Tytuł: „BUDOWA I FUNKCJE ENDOTOKSYN BAKTERII GRAM-UJEMNYCH”

10) opieka naukową nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego, z podaniem tytułów rozpraw doktorskich;

Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim - assistant supervisor, 2000-2005

Semiha Dag, Department of Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Szwecja, 2005

Tytuł rozprawy doktorskiej: ” STRUCTURAL STUDIES OF SOME BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDES AND EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDES USING NMR SPECTROSCOPY AND MASS SPECTROMETRY”

11) staże w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich;

2000-2002 postdoc, Department of Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala, Szwecja

- 1994-1998 staże naukowe oraz udział w kursie spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), Department of Chemistry, SLU, Uppsala, Szwecja w ramach współpracy z IITD PAN, Wrocław (wspierane finansowo przez Swedish Natural Science Research Council, Royal Swedish Academy of Sciences, stypendium SLU oraz Polską Akademię Nauk) łącznie ~8 miesięcy
- 1991-1992 staż naukowy (stypendium) w ramach programu EC TEMPUS 1991/92 na Wydziale Biotechnologii TNO (Netherlands Organisation for Applied Scientific Research, Zeist, Holandia), 10 miesięcy

12) wykonanie ekspertyz lub innych opracowań na zamówienie organów władzy publicznej, samorządu terytorialnego, podmiotów realizujących zadania publiczne lub przedsiębiorców;

13) udział w zespołach eksperckich i konkursowych;

Udział w pracach zespołu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego do oceny projektów badawczych (2007).

14) recenzowanie projektów międzynarodowych lub krajowych oraz publikacji w czasopiśmie międzynarodowych i krajowych.

Wykonywałem recenzje prac na zamówienie redakcji międzynarodowych czasopism:

- Carbohydrate Research (2010, 2009, 2005),
- FEBS Journal (2006, 2005),
- Biomacromolecules (2008, 2007).

W roku 2007 recenzowałem i brałem udział w ocenie wniosków o finansowanie projektów badawczych oraz sprawozdań z realizacji projektów (2011) na zlecenie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

23 marca 2012

Data

Tomasz Dziubek

(podpis habilitanta)