

AUTOREFERAT

dr inż. Jakub Siednienko

Laboratorium Białek Sygnałowych
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
Polska Akademia Nauk

Wrocław, 13 listopada 2013

1. Jakub Siednienko**2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE / ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.**

2006	Stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN (IITD PAN) we Wrocławiu na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej pt.: “Badania wpływu szlaku zależnego od cGMP na aktywność NF-κB w ludzkich jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej”. Promotor: Prof. dr hab. Wojciech Gorczyca
2002	Dyplom studiów podyplomowych, Politechnika Wroclawska, Wydział Informatyki i Zarządzania
2001	Dyplom mgr inż. na kierunku Biotechnologia, specjalność: Biotechnologia Molekularna i Biokataliza, Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, tytuł pracy magisterskiej: “Mikrobiologiczna hydroksylacja alkilo-amino-alkilowych pochodnych indolo[2,3-b]chinoliny”. Promotor: Prof. dr hab. Wanda Peczyńska-Czoch

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH.

Czas zatrudnienia:	Styczeń 2010-marzec 2011
Nazwa instytucji:	National University of Ireland in Maynooth, Molecular Immunology Lab.
Pozycja:	Post-Doctoral Research Scientist
Czas zatrudnienia:	Styczeń 2007-styczeń 2010
Nazwa instytucji:	National University of Ireland in Maynooth, Immune Signalling Lab.
Pozycja:	Post-Doctoral Research Scientist
Czas zatrudnienia:	Marzec 2006-do chwili obecnej
Nazwa instytucji:	Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN Laboratorium Białek Sygnałowych
Pozycja:	Specjalista biotechnolog
Czas zatrudnienia:	Październik 2001-Luty 2006
Nazwa instytucji:	Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN Laboratorium Białek Sygnałowych
Pozycja:	Doktorant

4. OPIS OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.).

a) osiągnięciem w myśl ww. ustawy jest wskazany poniżej jednotematyczny cykl publikacji, objęty tytułem:

„Określenie nowych mechanizmów regulacji odpowiedzi antywirusowej zależnej od receptora TLR3 ”

1. **Siednienko J.**, Jackson R., Mellett M., Delagic N., Yang S., Wang B., Tang LS., Callanan JJ., Mahon BP., Moynagh PN. (2012): Pellino3 targets the IRF7 pathway and facilitates autoregulation of TLR3- and viral-induced expression of type I interferons. *Nat Immunol.* 13(11):1055-62. **IF¹: 26,199 Liczba cytowań²: 2**

Indywidualny wkład w autorstwo: 60%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, rozmnażanie i genotypowanie myszy, przygotowanie i optymalizacja techniki shRNA, realizacja eksperymentów z wykorzystaniem wirusa EMCV, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, realizacja eksperymentów immunoprecypitacji chromatyny.

2. **Siednienko J.**, Maratha A., Yang S., Mitkiewicz M., Miggin SM., Moynagh PN. (2011): Nuclear factor κ B subunits RelB and cRel negatively regulate Toll-like receptor 3-mediated β -interferon production via induction of transcriptional repressor protein YY1. *J Biol Chem.* 286(52):44750-63. **IF: 4,773 Liczba cytowań: 3**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, przygotowanie i optymalizacja techniki DNA pull-down, wykonanie testów typu ELISA, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, realizacja eksperymentów immunoprecypitacji chromatyny.

3. **Siednienko J.**, Gajanayake T, Fitzgerald KA, Moynagh P, Miggin SM. (2011): Absence of MyD88 results in enhanced TLR3-dependent phosphorylation of IRF3 and increased IFN- β and RANTES production. *J Immunol.* 186(4):2514-22. **IF: 5,788 Liczba cytowań: 16**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, przygotowanie i optymalizacja techniki esiRNA, wykonanie testów typu Dual Luciferase Assay, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, oznaczanie poziomu IFN β metodą biologiczną, WesternBlotting.

4. **Siednienko J.**, Halle A., Nagpal K., Golenbock DT., Miggin SM. (2010): TLR3 mediated IFN- β gene induction is negatively regulated by the TLR adaptor Mal. *Eur J Immunol.* 40(11):3150-60. **IF: 4,942 Liczba cytowań: 16**

Indywidualny wkład w autorstwo: 80%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, pomiar cytokin metodą ELISA i RealTime PCR, eksperymenty na zwierzętach, wykonanie testów z peptydem blokującym białko Mal, wykonanie testów typu Dual Luciferase Assay, realizacja eksperymentów koimmunoprecypitacji białka Mal, Western Blotting.

¹ Wartość współczynnika wpływu (IF) zgodnie z rokiem opublikowania.

² Liczba cytowań(z uwzględnieniem autocytowań), według bazy Web of Science, stan z dn. 13 listopada 2013 r.

b) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Przedstawiona rozprawa habilitacyjna stanowi jednotematyczny cykl czterech prac oryginalnych (Załącznik 3) poświęconych badaniom regulacji ekspresji genu dla IFN β w kontekście aktywacji receptora TLR3 stanowiącego integralną część systemu odpowiedzi na zakażenia wirusami zawierającymi dwuniciowy RNA.

Wrodzona odpowiedź odpornościowa jest uniwersalnym mechanizmem obrony przed atakującymi patogenami. Należące do tej linii obrony receptory Toll-podobne (TLRs) zaangażowane są w rozpoznanie szerokiej gamy drobnoustrojów: bakterii, wirusów i grzybów. TLR należą do rodziny receptorów rozpoznających wzorce molekularne związane z patogenami (*Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMP*). PAMP są to wysoce konserwatywne, charakterystyczne i specyficzne dla danej klasy drobnoustrojów makrocząsteczki, takie jak peptydoglikany, lipopolisacharydy czy kwasy nukleinowe. W zależności od rozpoznawanego liganda i rodzaju indukowanej odpowiedzi receptory te charakteryzują się różnym umiejscowieniem w komórce oraz zaangażowaną w przekazanie sygnału pulą białek adaptorowych i efektorowych. Rozpoznanie czynnika stanowiącego zagrożenie i aktywacja TLR indukuje odpowiedź odpornościową mającą na celu eliminację tego czynnika z organizmu za pomocą dwóch podstawowych reakcji obronnych: zapalnej i przeciwwirusowej.

Dotychczas, u ludzi, zidentyfikowano dziesięć TLR (1-10). Wszystkie one cechują się obecnością zewnątrzkomórkowej domeny zawierającej powtórzenia bogate w leucynę oraz wewnątrzkomórkową domenę TIR (Toll/interleukin-1 receptor domain). W następstwie związania liganda dochodzi do aktywacji TLR i rekrutacji cytozolowych białek adaptorowych zawierających domenę TIR. Do tej pory zidentyfikowano pięć takich białek: MyD88 (MyD88 myeloid differentiation primary response 88), Mal (MyD88 adapter-like), Trif (TIR domain containing adaptor inducing interferon-beta), TRAM (TRIF-related adapter molecule) oraz SARM (sterile alpha and armadillo motif). Białka te łączą receptory TLR z wewnątrzkomórkowymi szlakami sygnałowymi, które obejmują między innymi kinazy: IRAK, IKK, Tak i TBK. W efekcie końcowym szlaki zależne od TLR prowadzą do aktywacji czynników transkrypcyjnych NF- κ B, AP-1, IRF i za ich pośrednictwem inicjują reakcję odpornościową.

Detekcja komponentów wirusowych przez receptory TLR powoduje aktywację odpowiedzi antywirusowej prowadzącej do indukcji interferonu typu I (IFN I). I tak, cząsteczki

pochodzenia wirusowego, w tym DNA, jednoniciowy (ss) RNA lub dwuniciowy (ds) RNA mogą być rozpoznawane odpowiednio przez receptory TLR9, TLR7/8 oraz TLR3.

Ekspresja genu dla TLR3 jest komórkowo specyficzna i zachodzi głównie w makrofagach, komórkach dendrytycznych, komórkach śródbłonna naczyń i dróg oddechowych oraz komórkach nabłonkowych. W komórkach tych TLR3 pełni ważną rolę w wykrywaniu dsRNA wirusów m.in. reowirusów i innych, które na pewnym etapie infekcji (np. podczas replikacji) wykorzystują RNA w formie dwuniciowej np. wirusy ssRNA, takie jak wirus Zachodniego Nilu, wirus RSV. W warunkach laboratoryjnych w celu aktywacji receptora TLR3 wykorzystuje się syntetyczny analog, jakim jest kwas poliinozyno-policytydylowy (poly(I:C)).

Krytycznym białkiem adaptorowym pośredniczącym w przekazywaniu sygnału przez TLR3 jest białko Trif. Pośredniczy ono również w Trif-zależnej i MyD88-niezależnej sygnalizacji od receptora TLR4. Związanie liganda przez TLR3 prowadzi do aktywacji wielu czynników transkrypcyjnych, w tym IRF, AP-1 oraz NF- κ B i ostatecznie do indukcji IFN typu I, zwłaszcza IFN β . Dokładniej, aktywacja TLR3 prowadzi do rekrutacji czynnika regulującego interferon (IRF) poprzez interakcję adaptoru Trif z kinazami: TBK1 (NAK) oraz IKKi (IKK ϵ) na drodze zależnej od białek NAP1 i TRAF3. W przypadku NF- κ B, do jego TLR3-zależnej aktywacji dochodzi dzięki oddziaływaniu C-końcowej domeny białka Trif z białkiem RIP1 (receptor interacting protein), co powoduje aktywację kompleksu kinazy TAK-1 - TAK1/TAB1/TAB2/TAB3 i fosforylację I κ B. W procesie tym uczestniczą również inne białka między innymi z rodzin IRAK i TRAF. Kinaza TAK1 odgrywa również istotną rolę w aktywacji czynnika transkrypcyjnego AP-1 regulując tworzenie kompleksu ATF-2/JNK2.

Geny indukowane przez TLR3 obejmują przede wszystkim cytokiny o aktywności przeciwwirusowej, takie jak, IFN β oraz wewnątrzkomórkowe czynniki odpowiedzi na stres. Aktywacja transkrypcji genu dla IFN β uwarunkowana jest utworzeniem kompleksu inicjującego transkrypcję, zdolnego do wiązania się do regionu promotorowego genu dla IFN β pełniącego funkcję wzmacniacza transkrypcji zwanego enhancesome. Enhancesome zbudowany jest z czterech domen regulatorowych (PRD I-IV), które współdziałają ze sobą w celu aktywacji ekspresji IFN β . Domena PRDII odpowiada za wiązanie czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, czynniki transkrypcyjne IRF3 i IRF7 wiążą się z sąsiadującymi domenami PRDIII i PRDI, określanymi również domeną PRDI-III, natomiast czynnik transkrypcyjny AP-1 (ATF-2/JNK) wiąże domenę PRDIV. Opublikowane dane wskazują, że

do optymalnej indukcji ekspresji genu dla IFN β dochodzi, gdy wszystkie domeny oddziałują ze specyficznymi czynnikami transkrypcyjnymi, jednakże domena PRDI-III odgrywa kluczową rolę.

W następstwie produkcji IFN typu I, dochodzi do zwiększenia ekspresji genów regulowanych interferonem (IRGs) takich jak: PKR, STAT1, IRF7 czy RANTES.

W niektórych przypadkach, nieprawidłowości w odpowiedzi immunologicznej prowadzić mogą do częstych infekcji i przewlekłych chorób zapalnych, takich jak zapalenie opon mózgowych czy stwardnienie rozsiane (MS). Zatem kontrolowana ingerencja w nieswoistą odpowiedź immunologiczną stanowi ogromny potencjał leczniczy w przypadku takich schorzeń. Jednak, aby wykorzystać taki potencjał potrzebne jest większe zrozumienie mechanizmów zaangażowanych w jego regulację zarówno w stanach prawidłowych, jak i chorobowych.

Receptory TLR, a konkretnie ich nadmierna aktywność, odgrywają również ważną rolę w chorobach autoimmunologicznych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, cukrzyca typu 1 i stwardnienie rozsiane. Posiadają one potencjał dla rozwoju terapii w zakresie zakażeń wirusowych i chorób autoimmunologicznych. Dotychczas zbadano i wyjaśniono wiele mechanizmów oraz wykazano rolę wielu cząsteczek sygnałowych w kontekście aktywacji szlaków sygnałowych zależnych od receptorów TLR. Pomimo tego, zaobserwować można wyraźny deficyt nowych, potencjalnych strategii umożliwiających kontrolowaną ingerencję w szlaki TLR, choć zapotrzebowanie na nowe środki przeciwwirusowe i leki immunosupresorowe stale rośnie.

Interferon β , wytwarzany przez organizm w odpowiedzi na infekcje wirusowe, jest jedną z najlepiej zbadanych i opisanych cytokin. Jego antyproliferacyjne i immunoregulatorowe właściwości wykorzystywane są w rozwoju zaawansowanych strategii terapeutycznych. IFN β wytwarzany jest farmaceutycznie z wykorzystaniem technologii rekombinacji DNA przy użyciu genetycznie zmodyfikowanych komórek eukariotycznych.

Terapia interferonowa została skutecznie wykorzystana w leczeniu HIV, WZW typu C i pandemicznych form grypy. Terapia rekombinowanym IFN β stosowana jest również w stwardnieniu rozsianym, gdzie, schematy leczenia obejmują wstrzyknięcia podskórne rekombinowanych form IFN β np. preparatu Rebif (IFN β 1 α) firmy Sereno/Pfizer.

Jednak wykorzystanie rekombinowanego IFN β (rIFN β) w terapii niesie ze sobą wiele problemów:

- rIFN β jest białkiem bardzo hydrofobowym, a co za tym idzie słabo rozpuszczalnym i problematycznym w produkcji i oczyszczaniu,
- rIFN β cechuje niska biodostępność po podaniu pacjentowi, wiąże się to z koniecznością podawania dużych dawek w celu uzyskania działania przeciwwirusowego. Wysokie stężenie powodują również szkodliwe skutki uboczne,
- wywołuje martwicę w miejscu wstrzyknięcia,
- wywołuje objawy grypopodobne, bóle głowy, złe samopoczucie,
- z czasem zmniejsza się efektywność terapii na skutek pojawiania się przeciwciał neutralizujących,
- w skrajnych przypadkach składniki preparatu mogą wywoływać wstrząs anafilaktyczny.

Biorąc pod uwagę powyższe aspekty dotyczące stosowania terapii rekombinowanym IFN β zasadnym wydaje się identyfikacja nowych mechanizmów regulacyjnych pozwalających na opracowanie w przyszłości alternatywnych strategii terapeutycznych.

Uważam, że w tym kontekście do najważniejszych i najbardziej interesujących rezultatów zawartych w przedstawionym przeze mnie do oceny cyklu prac należą:

- lepsze poznanie i zrozumienie mechanizmów zwalczania zakażeń wirusowych;

Opisanie funkcji czterech białek uczestniczących w szlakach sygnałowych zależnych od TLR3 oraz identyfikacja nowych mechanizmów regulacyjnych zapewnia szerszy wgląd w mechanizmy zwalczania infekcji wirusowej.

- identyfikacja potencjalnych celów dla kontrolowanej modulacji odpowiedzi antywirusowej; Uzyskane wyniki wskazują na białka Mal, MyD88, Pellino3 i YY1 jako nowe cele pozwalające na regulację odpowiedzi przeciwwirusowej. Ingerencja w odpowiedź komórkową za pośrednictwem tych białek może pozwolić na modulację poziomu IFN β , zmniejszając jednocześnie niepożądaną "burzę cytokin prozapalnych" towarzyszącą niektórym infekcjom wirusowym.

- określenie warunków indukcji i hamowania IFN β ;

Obecnie trwają próby wykorzystania terapii genowej w leczeniu zwierzęcego modelu stwardnienia rozsianego (EAE). Jednak terapia ta ma bardzo poważne ograniczenia wynikające chociażby z faktu, że do indukcji ekspresji genu wymaga zastosowania substancji drobnocząsteczkowych np. analogów tetracykliny, które dają wiele działań niepożądanych. Określenie mechanizmu, poprzez który blokowanie lub aktywacja wskazanych białek adaptorowych w połączeniu z aktywacją TLR3 pozwoli wpływać na poziom wydzielania

endogennego IFN β może rozwiązać wiele problemów związanych z użyciem rekombinowanych form IFN β i terapii genowej.

W kolejnej części autoreferatu przedstawiono podsumowanie wyników opisanych w wybranych do oceny publikacjach.

Siednienko J., Halle A., Nagpal K., Golenbock DT., Miggin SM. (2010): TLR3 mediated IFN- β gene induction is negatively regulated by the TLR adaptor Mal. *Eur J Immunol.* 40(11):3150-60.

Celem pracy było zbadanie funkcji białka Mal (TIRAP) w szlakach sygnałowych zależnych od TLR3, a w szczególności określenie związku pomiędzy produkcją IFN β i aktywacją TLR3 w warunkach normalnych i w nieobecności adaptora Mal. Wyniki zawarte w niniejszej pracy stanowią pierwszy raport na temat funkcji białka w Mal odpowiedzi przeciwwirusowej zależnej od TLR3.

Na tym etapie trudność podjętych badań wynikała z bardzo ograniczonej wiedzy na temat negatywnej regulacji szlaków TLR na poziomie białek adaptorowych. Białko Mal znane było ze swojej kluczowej funkcji w aktywacji odpowiedzi regulowanej przez TLR2 i TLR4. Wiedza na temat negatywnej regulacji sygnalizacji TLR3/TRIF ograniczała się do roli białka SARM. Ze względu na znaczenie odpowiedzi TLR3/TRIF-zależnej w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych, stosowne wydawało się dokładniejsze zbadanie, mechanizmów regulacji tego szlaku. Podjęto zatem próbę wyjaśnienia funkcji Mal w regulacji sygnału od TLR3.

Wykazano, że Mal nie wywiera istotnego wpływu na indukcję cytokin prozapalnych IL-6 i TNF. Pokazano również, że Mal nie wpływa na zależną od TLR3 aktywację NF- κ B, JNK i p38. Potwierdzono natomiast, że Mal negatywnie reguluje zależną od TLR3 (ale nie TLR4) produkcję IFN β . Na poziomie cząsteczkowym wykazano, że Mal oddziałuje z czynnikiem transkrypcyjnym IRF7 utrudniając tym samym indukowaną przez ligand dla TLR3 aktywację IFN β . Jednocześnie tłumaczy to fakt obserwowanej w eksperymentach, niezaburzonej aktywacji NF- κ B.

Podsumowując, uzyskane wyniki pozwoliły na zaproponowanie nowego mechanizmu, w którym Mal hamuje fosforylację czynnika transkrypcyjnego IRF7 poprzez bezpośrednią interakcję.

Siednienko J, Gajanayake T, Fitzgerald KA, Moynagh P, Miggin SM. (2011): Absence of MyD88 results in enhanced TLR3-dependent phosphorylation of IRF3 and increased IFN- β and RANTES production. *J Immunol.* 186(4):2514-22.

Również w przypadku adaptora MyD88, jego pozytywna funkcja w sygnalizacji TLR została dobrze opisana. W kontekście indukcji IFN typu I adaptor ten łączono, z odpowiedzią zależną od TLR7 indukowaną ssRNA. Ponadto wykazano, że komórki dendrytyczne izolowane ze szpiku kostnego izolowane od myszy z nokautem genu dla MyD88 były niezdolne do wydzielania IFN I w odpowiedzi na aktywację TLR9.

Podjęto zatem próbę ustalenia, czy białko MyD88, adaptor wszystkich TLR z wyjątkiem TLR3, wykazuje zdolność do regulowania szlaków sygnałowych aktywowanych przez ten receptor. Wykazano, że MyD88 nie wpływa istotnie na indukowaną przez TLR3 produkcję TNF α , natomiast znacząco redukuje zależną od TLR3 (ale nie TLR4) produkcję IFN β i chemokiny RANTES. Obserwowany proces regulacji TLR3-zależnej produkcji cytokin, różnił się od tego, jaki zachodził z udziałem białka Mal. Wykazano, że MyD88 hamuje IKK ϵ -, ale nie TBK1-indukowaną fosforylację IRF3 i jest czynnikiem niezbędnym do ograniczenia aktywacji TLR3, co chroni gospodarza przed niepożądanymi efektami związanymi z nadmiernym wydzielaniem IFN β .

Siednienko J., Jackson R., Mellett M., Delagic N., Yang S., Wang B., Tang LS., Callanan JJ., Mahon BP., Moynagh PN. (2012): Pellino3 targets the IRF7 pathway and facilitates autoregulation of TLR3- and viral-induced expression of type I interferons. *Nat Immunol.* 13(11):1055-62.

Unikatowość tej publikacji wynika z faktu, że stanowi ona pierwszy opublikowany raport opisujący fenotyp myszy z nokautem genu dla białka Pellino3 oraz funkcję tego białka w odpowiedzi przeciwwirusowej. Wykazano, że myszy ze znokautowanym genem dla ligazy ubikwityny E3 - Pellino3 cechują się zwiększoną ekspresją i wydzielaniem interferonu typu I, ale nie cytokin prozapalnych, w następstwie ekspozycji na ligand TLR3 po infekcji wirusem zapalenia mózgu (EMCV). Myszy pozbawione Pellino3 miały większą odporność na infekcję EMCV. Na poziomie cząsteczkowym zaobserwowano, że stymulacja TLR3 powoduje aktywację Pellino3 i interakcję z ubikwitynowanym białkiem TRAF6. Taka modyfikacja hamowała zdolność TRAF6 do aktywacji czynnika transkrypcyjnego IRF7, powodując

zahamowanie ekspresji genu dla IFN β . Wykazano także, że efekt ten jest zależny od domeny RING-podobnej białka Pellino3.

Obserwacja ta wskazuje na nową fizjologiczną rolę dla białka Pellino3 jako autoregulatora ekspresji interferonu typu I.

Siednienko J., Maratha A., Yang S., Mitkiewicz M., Miggin SM., Moynagh PN. (2011): Nuclear factor κ B subunits RelB and cRel negatively regulate Toll-like receptor 3-mediated β -interferon production via induction of transcriptional repressor protein YY1. *J Biol Chem.* 286(52):44750-63.

Moim zdaniem publikacja ta jest szczególnie godna uwagi, gdyż w odróżnieniu od pozostałych prac dotyczących receptora TLR3 opisuje ona mechanizm regulacji produkcji IFN β na poziomie czynników transkrypcyjnych, a nie, jak powyższe, białek adaptorowych dla TLR. Zawiera ona nowe informacje dotyczące czynnika YY1 oraz jego udziału w przebudowie kompleksów inicjujących transkrypcję genu dla IFN β w kontekście aktywacji ekspresji genu dla tej cytokiny wywołanej wirusem zawierającym dsRNA. Postulowany mechanizm wskazuje na niezwykle interesującą funkcję prozapalnego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, zaangażowanego w hamowanie sygnału inicjowanego przez TLR3. Klasyczny mechanizm aktywacji genów zależnych od NF- κ B wykorzystuje aktywację dimeru dwóch podjednostek tego czynnika – RelA i p50. W przypadku aktywacji zależnej od TLR3 podjednostka RelA nie jest transportowana do jądra komórki. Translokacji ulegają natomiast podjednostki RelB i cRel, jednakże nie biorą one bezpośrednio udziału w aktywacji genu dla IFN β . Raz aktywowane przemieszczają się do jądra komórki, gdzie oddziałują z promotorem dla genu kodującego białko YY1 (YinYang1) powodując jego aktywację i produkcję białka. Czynniki YY1 znany jest ze swoich właściwości wiązania do DNA i regulacji transkrypcji. W szlaku zależnym od TLR3, aktywowanym przez wirusy zawierające dwuniciowy RNA, białko YY1 pełni rolę represora transkrypcji hamując zdolność czynnika IRF7 do interakcji z rejonem promotorowym genu dla IFN β . Manifestuje się to spadkiem produkcji IFN β przez komórki eksponowane na działanie wirusów aktywujących TLR3. Jest to interesujące w kontekście chorób wirusowych, związanych z wysokim poziomem ekspresji interferonu typu I. Potwierdzają to wyniki uzyskane z wykorzystaniem wirusa RVFV (Rift Valley Fever Virus). Zaobserwowano, że białko niestrukturalne tego wirusa (NSs) prowadzi do aktywacji YY1 i zahamowania produkcji IFN β zwiększając stopień jego wirulencji. Uzyskane dane wskazują na to, że indukcja YY1 przez podjednostki NF- κ B działa jako układ fizjologicznego

hamowania IFN β indukowanego TLR3 i promuje czynnik YinYang1 jako cel umożliwiający "kontrolowaną ingerencję" w proces aktywacji IFN β pozwalający na opracowanie terapii chorób autoimmunologicznych i wirusowych związanych z deregulacją produkcji IFN β .

Podsumowując, wszystkie cztery publikacje wybrane do recenzji są zgodne z nowymi trendami w badaniach nad regulacją aktywności receptorów TLR i dają szczegółowy wgląd w mechanizm zależnej od TLR3 indukcji IFN β na trzech poziomach jej kontroli:

- Receptora - adaptory Mal i MyD88
- Szlaków wewnątrzkomórkowych (ubikwitynacja) - Pellino3
- Chromatyny (enhanceosome) - Represor YY1

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH.

Podsumowanie.

Mój dorobek naukowy obejmuje współautorstwo w 12 anglojęzycznych pracach oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, w tym w 11 pracach oryginalnych opublikowanych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (pierwszy autor - 7 prac), współautorstwo w 3 pracach przeglądowych oraz 1 rozdział w książce, 12 komunikatów zjazdowych, 4 referaty wygłoszone na międzynarodowych konferencjach naukowych. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF, impact factor) prac oryginalnych wynosi 66,849. Do dnia 13 listopada 2013 r., według bazy Web Of Science (WOS), prace były cytowane 72 razy (wyłączono autocytywania). Łączny IF czterech prac objętych rozprawą habilitacyjną wynosi 41,702, przy ilości cytowań 37. Ponadto, w ramach działalności naukowej uczestniczyłem w dwóch zrealizowanych projektach badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki Szkolnictwa Wyższego, jednym projekcie Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej oraz w trzech projektach badawczych Narodowego Centrum Nauki realizowanych w chwili obecnej.

a) Przebieg pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia doktora

Pracę badawczą, jak również pracę dyplomową, realizowałam pod kierunkiem prof. dr hab. Wandy Peczyńskiej-Czoch na kierunku Biotechnologii Politechniki Wrocławskiej.

Realizowana przeze mnie praca magisterska, zatytułowana „Mikrobiologiczna hydroksylacja alkilo-amino-alkilowych pochodnych indolo[2,3-b]chinoliny” dotyczyła biotransformacji mikrobiologicznych pochodnych indolo[2,3-b]chinoliny wykazujących właściwości cytostatyczne.

Po ukończeniu studiów, w 2001 r., rozpocząłem studia doktoranckie w IITD PAN we Wrocławiu, w Laboratorium Białek Sygnałowych. Tematem wiodącym tego laboratorium były cykliczne nukleotydy, a w szczególności cGMP. W trakcie studium doktoranckiego angażowałem się we wszystkie kierunki badań prowadzonych w tym laboratorium związane zarówno z enzymami produkującym ten nukleotyd, poprzez jego białka efektorowe do enzymów go rozkładających.

Poniżej przedstawiłem wybrane aspekty mojej pracy:

- W czasie studiów doktoranckich skupiłem się na badaniu wpływu szlaków sygnałowych zależnych od cGMP na aktywność NF- κ B w komórkach odpornościowych. Celem moich badań było określenie wpływu szlaku NO/cGMP na aktywność NF- κ B, a konkretnie ustalenie, które enzymy biorą udział w regulacji tego szlaku w ludzkich komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC). Wyniki jakie uzyskałem pozwoliły na zaproponowanie nowego szlaku sygnałowego i sformułowanie wniosku, że traktowanie PBMC niskimi dawkami NO prowadzi do aktywacji NF- κ B przez szlak sGC/cGMP/PKGI i chroni komórki przed apoptozą wywołaną dużymi stężeniami NO. Projekt Promotorski był finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant nr 2P04A 009 28).
- Następnie we współpracy z Kliniką Kardiologii Wojskowego Szpitala we Wrocławiu rozpocząłem badania mające na celu pomiar aktywności NF- κ B, głównego mediatora reakcji zapalnej, w PBMC izolowanych od pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca (CHF). Realizując projekt udało się wykazać, że aktywność czynnika NF- κ B w obwodowych komórkach odpornościowych jest podwyższona u pacjentów z zaawansowaną CHF, natomiast zmniejsza się u tych w stanie wyniszczenia.
- W kolejnym etapie skupiłem się na badaniach wpływu bakteriofaga T4 na aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B wywołaną wirusem HSV-1. Wykorzystując test EMSA wykazałem, że w komórkach THP-1 oraz U937 sam bakteriofag T4 nie zmienia aktywności NF- κ B. Natomiast komórki preinkubowane z fagiem, a następnie traktowane HSV-1 wykazywały zmniejszoną aktywność NF- κ B w stosunku do komórek traktowanych wyłącznie HSV-1. Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie tezy, że bakteriofagi nie aktywują NF- κ B, ale mogą hamować aktywację tego czynnika transkrypcyjnego wywołaną przez inne

wirusy. Projekt był wspierany przez grant Ministerstwa Edukacji i Nauki (grant nr 2PO5B04727).

- Brałem również udział w projekcie dotyczącym analizy ekspresji i aktywności enzymów hydrolizujących cGMP - fosfodiesteraz (PDE) cGMP. W wyniku realizacji projektu udało się wykazać, że w świeżo wyizolowanych makrofagach otrzewnowych (PEM) obecne są enzymy należące do rodzin PDE1-3, PDE5, PDE10 i PDE11. Fakt, że większość z tych PDE hydrolizuje również cAMP pozwolił na sformułowanie wniosku, że w PEM cGMP pełni funkcję regulatora sygnału zależnego od cAMP.

b) Przebieg pracy naukowej po uzyskaniu stopnia doktora

Tytuł doktora nauk biologicznych w zakresie biologii uzyskałem w 2006 roku kończąc studium doktoranckie przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej (IITD) PAN. Moje zainteresowania naukowe skupiały się na badaniach dotyczących roli cyklicznego GMP w regulacji aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B w ludzkich komórkach krwi obwodowej. W kolejnych latach odbyłem długoterminowy staż naukowy na Irlandzkim Uniwersytecie Narodowym w Maynooth w Immune Signaling Laboratory, a następnie w Laboratory of Molecular Immunology, podczas którego skupiłem się nad badaniem mechanizmu regulującego ekspresję genu dla interferonu beta (IFN β).

- Podczas pierwszego stażu podoktorskiego zaangażowany byłem w projekt związany z badaniem nowych funkcji białek adaptorowych receptorów Toll podobnych (TLR) - Mal i MyD88 w odpowiedzi antywirusowej. W swoich badaniach skupiłem się na receptorze TLR3. W czasie realizacji projektu potwierdziłem, że obydwa białka pełnią negatywną rolę w odpowiedzi zależnej od TLR3. W przypadku tego receptora indukowana ligandem aktywacja, a następnie indukcja IFN β krytycznie zależy od aktywacji czynników jądrowych z rodziny IRF. Białka Mal i MyD88 hamują fosforylację i translokację odpowiednio IRF7 i IRF3 do jądra komórki.

- Drugi staż podoktorski rozpocząłem od przygotowania modelu zwierzęcego - myszy z delecją genu dla białka Pellino3 (ligazy ubikwityny) w celu zbadania jego funkcji w regulacji odpowiedzi antywirusowej. W toku realizacji projektu potwierdziłem, że aktywacja TLR3 prowadzi do zależnej od ubikwitynacji rekrutacji białka Pellino3 do TRAF6. Oddziaływanie to blokowało zdolność TRAF6 do interakcji i aktywacji IRF7, co manifestowało się obniżeniem ekspresji interferonu typu I.

• Brałem również udział w badaniach wpływu NF- κ B na aktywność promotora dla IFN β w następstwie aktywacji receptora TLR3. Wyniki jakie uzyskałem pozwoliły na identyfikację nowego czynnika transkrypcyjnego YY1 pełniącego rolę represora transkrypcji IFN β zależnej od TLR3.

Podsumowując, uzyskane wyniki pozwoliły na bardziej szczegółowe poznanie mechanizmu indukcji genu dla IFN β zależnej od TLR3 i określenie trzech poziomów tej regulacji:

- Receptora – białka Myd88 i Mal
- Kaskady sygnałowej (ubikwitynacja) – Pellino3
- Aktywności promotora dla IFN β – represor YY1

• Po powrocie ze stażu, dzięki wsparciu Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej w ramach grantu „Homing Plus”, stworzyłem swój zespół badawczy i rozpocząłem realizację swoich projektów naukowych w IITD PAN, skoncentrowanych na badaniach nad receptorami TLR, a dokładniej nad oddziaływaniami białka adaptorowego Mal i ligazy ubikwityny Pellino3 z innymi białkami sygnałowymi. Celem prowadzonych prac badawczych jest wyjaśnienie funkcji białek Mal i Pellino3 w odpowiedzi przeciwwirusowej inicjowanej przez ligandy TLR7 i TLR9. Poznanie funkcji białek Mal i Pellino3 w szlakach sygnalizacyjnych TLR wydaje się być zadaniem ciekawym, gdyż udział tych białek w aktywacji czynników przeciwwirusowych nie został do tej pory opisany w literaturze, a odkrycie nowych mechanizmów obronnych pozwoliłoby na opracowanie nowych, celowanych terapii antywirusowych.

Aktualnie sprawuję opiekę naukową nad dwiema pracami doktorskimi i jedną pracą magisterską.

6. PRACE NAUKOWE

6.1. PRACE NAUKOWE OPUBLIKOWANE PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

6.1.1. Autorstwo lub współautorstwo publikacji naukowych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

1. Kobiąłka M., Witwicka H., **Siednienko J.**, Gorczyca WA. (2003): Metabolism of cyclic GMP in peritoneal macrophages of rat and guinea pig. Acta Biochim Pol. 50:837-48. **IF: 0,629 Liczba cytowań: 4**

Indywidualny wkład w autorstwo: 5 %, badanie obecności PKG metodą Western blot

6.1.2. Autorstwo lub współautorstwo monografii, publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

1. Kurowska E., **Siednienko J.**, Gorczyca WA. (2003): cGMP-dependent protein kinases. *Postepy Hig Med Dosw.* 57(6):631-48. **Liczba cytowań: 0**
2. **Siednienko J.**, Gorczyca WA. (2003): Regulation of NF- κ B activity. *Postepy Hig Med Dosw.* 57:19-32. **Liczba cytowań: 2**

6.2. PRACE NAUKOWE OPUBLIKOWANE PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA NAUK BIOLOGICZNYCH

6.2.1. Autorstwo lub współautorstwo publikacji naukowych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

1. Yang S., Wang B., Tang L.S., **Siednienko J.**, Callanan J.J., Moynagh P.N. (2013): Pellino3 targets RIP1 and regulates the pro-apoptotic effects of TNF- α . *Nat Commun.* 4:2583. **IF: 10,015 Liczba cytowań: 0**

Indywidualny wkład w autorstwo: 5%, rozmnażanie i przygotowanie myszy $pel13^{-/-}$, genotypowanie zwierząt, przygotowanie systemu lentiwirusowego $pel13$ shRNA.

2. ***Siednienko J.**, Jackson R., Mellett M., Delagic N., Yang S., Wang B., Tang LS., Callanan JJ., Mahon BP., Moynagh PN. (2012): Pellino3 targets the IRF7 pathway and facilitates autoregulation of TLR3- and viral-induced expression of type I interferons. *Nat Immunol.* 13(11):1055-62. **IF: 26,199 Liczba cytowań: 2**

Indywidualny wkład w autorstwo: 60%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, rozmnażanie i genotypowanie myszy, przygotowanie i optymalizacja techniki shRNA, realizacja eksperymentów z wykorzystaniem wirusa EMCV, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, realizacja eksperymentów immunoprecypitacji chromatyny.

3. ***Siednienko J.**, Maratha A., Yang S., Mitkiewicz M., Miggin SM., Moynagh PN. (2011): Nuclear factor κ B subunits RelB and cRel negatively regulate Toll-like receptor 3-mediated β -interferon production via induction of transcriptional repressor protein YY1. *J Biol Chem.* 286(52):44750-63. **IF: 4,773 Liczba cytowań: 3**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, przygotowanie i optymalizacja techniki DNA pull-down, wykonanie testów typu ELISA, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, realizacja eksperymentów immunoprecypitacji chromatyny.

4. **Siednienko J.**, Nowak J., Moynagh PN., Gorczyca WA. (2011): Nitric oxide affects IL-6 expression in human peripheral blood mononuclear cells involving cGMP-dependent modulation of NF- κ B activity. *Cytokine* 54(3):282-8. **IF: 3,019 Liczba cytowań: 5**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, autor korespondujący z redakcją, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, pomiar cGMP metodą ELISA, wykonanie testów typu EMSA oraz DLR, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR.

5. ***Siednienko J**, Gajanayake T, Fitzgerald KA, Moynagh P, Miggin SM. (2011): Absence of MyD88 results in enhanced TLR3-dependent phosphorylation of IRF3 and increased IFN- β and RANTES production. *J Immunol.* 186(4):2514-22. **IF: 5,788 Liczba cytowań: 16**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, przygotowanie i optymalizacja techniki esiRNA, wykonanie testów typu Dual Luciferase Assay, analiza ekspresji genów z wykorzystaniem RealTime PCR, oznaczanie poziomu IFN β metodą biologiczną, WesternBlotting.

6. ***Siednienko J.**, Halle A., Nagpal K., Golenbock DT., Miggin SM. (2010): TLR3 mediated IFN- β gene induction is negatively regulated by the TLR adaptor Mal. *Eur J Immunol.* 40(11):3150-60. **IF: 4,942 Liczba cytowań: 16**

Indywidualny wkład w autorstwo: 80%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, pomiar cytokin metodą ELISA i RealTime PCR, eksperymenty na zwierzętach, wykonanie testów z peptydem blokującym białko Mal, wykonanie testów typu Dual Luciferase Assay, realizacja eksperymentów koimmunoprecypitacji białka Mal, Western Blotting.

7. Zabłocka A., **Siednienko J.**, Mitkiewicz M, Gorczyca W.A., Lisowski J., Janusz M. (2010): Proline-rich polypeptide complex (PRP) regulates secretion of inflammatory mediators by its effect on NF kappaB activity. *Biomed Pharmacother* 64:16-20. **IF: 2,208 Liczba cytowań: 5**

Indywidualny wkład w autorstwo: 10%, preparacja frakcji komórkowych i oznaczanie aktywności czynnika transkrypcyjnego κB metodą EMSA

8. **Siednienko J.**, Jankowska E.A., Banasiak W., Gorczyca WA., Ponikowski P. (2007): Nuclear factor-kappaB activity in peripheral blood mononuclear cells in cachectic and non-cachectic patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 122:111-6. **IF: 2,1878 Liczba cytowań: 8**

Indywidualny wkład w autorstwo: 70%, wiodący udział w planowaniu eksperymentów i przygotowaniu pracy do druku, izolacja komórek od pacjentów i zdrowych dawców, preparacja frakcji komórkowych, pomiar aktywności czynnika transkrypcyjnego κB metodą EMSA.

9. Witwicka H., Kobińska M., **Siednienko J.**, Mitkiewicz M., Gorczyca WA. (2007): Expression and activity of cGMP-dependent phosphodiesterases is up-regulated by lipopolysaccharide (LPS) in rat peritoneal macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1773:209-18. **IF: 4,374 Liczba cytowań: 9**

Indywidualny wkład w autorstwo: 5%, badanie obecności PKG metodą Western blot i RT-PCR

10. Ciuman M., **Siednienko J.**, Czyżyk R., Witwicka H., Kolosionek E., Kobińska M., Gorczyca WA., (2006): Cyclic GMP-dependent protein kinase and soluble guanylyl cyclase disappear in elicited rat neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 1760:1618-23. **IF: 2,024 Liczba cytowań: 5**

Indywidualny wkład w autorstwo: 5%, badanie obecności PKG metodą Western blot i RT-PCR

6.2.2. Autorstwo lub współautorstwo monografii, publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

1. Zyzak J., Matuszyk J., **Siednienko J.** (2013): Multilevel maturation of Toll-like receptor 9. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 67(0):1034-46. **Liczba cytowań: 0**
2. Kowalczyk E., **Siednienko J.**, Matuszyk J. (2013): Regulation of Toll-like receptors-dependent inflammatory response. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 67:201-13. **Liczba cytowań: 0**
3. **Siednienko J.**, Miggin S.M. (2009): Expression analysis of the Toll-like receptors in human peripheral blood mononuclear cells. *Methods Mol Biol*. 517 McCoy, Claire E.; O'Neill, Luke A.J. (Eds.) **Liczba cytowań: 7**

6. UDZIELONE PATENTY MIĘDZYNARODOWE LUB KRAJOW

7. WYNAŁAZKI, WZORY UŻYTKOWE I PRZEMYSŁOWE, KTÓRE UZYSKAŁY OCHRONĘ W TYM TE, KTÓRE ZOSTAŁY WYSTAWIONE NA MIĘDZYNARODOWYCH LUB KRAJOWYCH WYSTAWACH LUB TARGACH

8. SUMARYCZNY *IMPACT FACTOR* PUBLIKACJI NAUKOWYCH WEDŁUG LISTY JOURNAL OF CITATION REPORTS (JCR), ZGODNIE Z ROKIEM OPUBLIKOWANIA.

Sumaryczny *Imact Factor* opublikowanych prac wynosi **66,849** w tym:

- przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk biologicznych: **0,629**
- po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk biologicznych: **66,22**
- sumaryczny IF prac przedłożonych jako osiągnięcia naukowe: **41,702**

9. LICZBA CYTOWAŃ PUBLIKACJI WEDŁUG BAZY WEB OF SCIENCE (WOS)

Według danych na dzień 13 Listopada 2013 r., liczba cytowań publikacji wynosi: **84**

a wyłączając cytowania własne: **72**

Liczba cytowań dla prac przedłożonych jako osiągnięcie naukowe wynosi: **37**

10. INDEKS HIRSCHA OPUBLIKOWANYCH PRAC WEDŁUG BAZY WEB OF SCIENCE (WOS)

Według danych na dzień 13 listopada 2013 r., indeks Hirscha wynosi **5**.

11. KIEROWANIE MIĘDZYNARODOWYMI LUB KRAJOWYMI PROJEKTAMI BADAWCZYMI LUB UDZIAŁ W TAKICH PROJEKTACH.

1. 2013-2016 Projekt badawczy NCN OPUS 5 "Research on anti-*C. albicans* vaccine that applies targeting to dendritic cells and activation of Dectin-1 receptor" główny wykonawca: **J. Siednienko**
2. 2013-2016 Projekt badawczy NCN OPUS 4 "Elucidating the role of Mal and Pellino3 in anti-viral Toll-like Receptor signalling " kierownik projektu: **J. Siednienko**
3. 2011-2014 Projekt badawczy NCN SONATA "Study on the mechanism of particulate guanylyl cyclase type A (GC-A) induction and its function in the regulation of inflammatory process by monocytes" główny wykonawca: **J. Siednienko**
4. 2011-2013 Projekt "Powroty Plus" Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej "PKG a novel target for modulation ant-viral response in a brain" kierownik projektu: **J. Siednienko**
5. 2004-2007 Projekt badawczy KBN " Study of the effect of bacteriophages on the activity of the transcription factor κ B, główny wykonawca: **J. Siednienko**
6. 2004-2005 Promotorski projekt badawczy KBN "cGMP signaling pathways influence on NF- κ B activity in human monocytes and T lymphocytes" główny wykonawca: **J. Siednienko**

11. MIĘDZYNARODOWE LUB KRAJOWE NAGRODY ZA DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWĄ

1. 2008-Wyróżnienie im. J. Parnasa pracy: Witwicka H, Kobińska M, Siednienko J, Mitkiewicz M, Gorczyca W.A. (2007). Expression and activity of cGMP-dependent phosphodiesterases is up-regulated by lipopolysaccharide (LPS) in rat peritoneal macrophages. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*, 1773: 209-218
2. 2007-Nagroda Dyrektora Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN za wybitne osiągnięcia naukowe.
3. 2004-Nagroda za najlepszy komunikat zjazdowy na konferencji Gordon Research Conferences on Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases.

12. WYGŁOSZONE REFERATY NA MIĘDZYNARODOWYCH LUB KRAJOWYCH KONFERENCJACH TEMATYCZNYCH

12.1. Referaty wygłoszone przed uzyskaniem stopniem doktora:

1. **Siednienko J.**, Ciuman M., Witwicka H., Kurowska E., Gorczyca W.A. (2005): Role of PKG I in modulation of NF- κ B activity in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by nitric oxide. XII Congress of Polish Society of Clinical and Experimental Immunology, Lublin, Poland.
2. Wykład pt. "Regulacja aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)" (2003) - wykład IITD PAN
3. **Siednienko J.**, Kobińska M., Witwicka H., Gorczyca W.A. (2003): Cyclic GMP affects Nuclear Factor kappaB activity in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). XXXIX Conference of Polish Biochemical Society, Gdansk, Poland

12.2. Referaty wygłoszone po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych:

1. Seminarium pt. "Nowe mechanizmy regulacji TLR3" (2013) - wykład IITD PAN
2. **Siednienko J.**, Halle A., Nagpal K., Golenbock DT., Miggin SM. (2010): MAL/TIRAP negatively regulates toll-like receptor 3-mediated IFN- β production. Biochemical Society Independent / Irish Area Section Annual Meeting - Signalling And Human Disease, Belfast, North Ireland.
3. **Siednienko J.**, Halle A., Nagpal K., Golenbock DT., Miggin SM. (2010): MAL/TIRAP negatively regulates toll-like receptor 3-mediated IFN- β production. Cytokines 2010: Cytokines In Infectious Diseases, Autoimmune Disorders And Cancer, Chicago, USA.

13. UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH LUB KRAJOWYCH KONFERENCJACH NAUKOWYCH LUB UDZIAŁ W KOMITETACH ORGANIZACYJNYCH TYCH KONFERENCJI

13.1. Udział w konferencjach przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. **Siednienko J.**, Ciuman M., Witwicka H., Gorczyca W.A. (2005): Activation of NF- κ B by nitric oxide/cGMP in human blood CD14⁺ cells. 2nd International Conference on cGMP. Potsdam, Germany. (*BMC Pharmacol*, 5 (Suppl 1): P51).
2. **Siednienko J.**, Witwicka H., Ciuman M., Kurowska E., Gorczyca W.A. (2005): Effect of soluble and particulate guanylyl cyclases on activity of proinflammatory transcription factors in human and rat mononuclear cells. 30th FEBS Congress, Budapest, Hungary. (*FEBS J*, 272 (Supplement 1): 439).
3. **Siednienko J.**, Witwicka H., Ciuman M., Kurowska E., Gorczyca W.A. (2005): Cyclic GMP-dependent protein kinase is indispensable for activation of NF-kappaB by nitric oxide/cGMP in human peripheral blood mononuclear cells. 30th FEBS Congress, Budapest, Hungary. (*FEBS J*, 272 (Supplement 1): 314-315).
4. **Siednienko J.**, Weber-Dąbrowska B., Zaczyńska E., Piasecki E., Górski A., Gorczyca W.A. (2005): Influence of phage T4 on NF- κ B activity in various human cells. XII Congress of Polish Society of Clinical and Experimental Immunology, Lublin, Poland (*Centr Eur J Immunol*, 30 (Supplement 1): 100).
5. Witwicka H, **Siednienko J.**, Kobińska M, Gorczyca W.A. (2004): Cyclic GMP-regulated phosphodiesterases in rat macrophages. Gordon Research Conferences on Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase, Il Ciocco (Braga), Italy.

13.2. Udział w konferencjach po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych:

1. Zyzak J., Kowalczyk E., Mitkiewicz M., Kuropatwa M., Kurowska E., Matuszyk J., **Siednienko J.**: Mal adaptor protein is engaged in TLR9-dependent HSV-1 antiviral response. The 2013 three Rs Event: Toll like receptors (TLRs), RIG-like receptors (RLRs) and Nod-like receptors (NLR). Londyn, 19-09-2013; plakat.

2. Kowalczyk E., Zyzak J., Mitkiewicz M., Kurowska E., Matuszyk J., **Siednienko J.**: Adaptor protein Mal is required for Toll-like Receptor 7 signaling. The 2013 three Rs Event: Toll like receptors (TLRs), RIG-like receptors (RLRs) and Nod-like receptors (NLR). Londyn, 19-09-2013; plakat.
3. Gupta S., Maratha A., Natarajan A., Gajanayake T., **Siednienko J.**, Hoashi S., Miggin S. (2013): Association Between Type 2 Diabetes & Inflammation. Irish Endocrine Society 38th Annual Meeting.
4. Gupta S., Maratha A., Gajanayake T., **Siednienko J.**, Natarajan A., Hoashi S., Miggin S (2011): Society for Endocrinology BES 2011
5. **Siednienko J.**, Gupta S., Mangan B., Miggin S., Hoashi S. (2009): Modulation Of Toll-Like Receptors In Type 2. Diabetes. 69th Scientific Sessions of American Diabetes Association.
6. Gajanayake T., **Siednienko J.**, Miggin SM. (2009): TLR3 signaling in synoviocytes is negatively regulated by extracellular atp through inhibition of NF- κ B. International Cytokine Society, Tri-Society Annual Meeting, Lisbon, Portugal.
7. Gorczyca W.A., Mitkiewicz M., **Siednienko J.**, Kurowska E., Piasecki E., Weber-Dabrowska B., Gorski A. (2007): Bacteriophages decrease activity of NF-kappa B induced in human mononuclear cells by human herpesvirus-1. 13th International Congress of Immunology: 73-77.

14. OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE I W ZAKRESIE POPULARYZACJI NAUKI

1. 2002-2004 Opiekun pracy badawczej i magisterskiej Małgorzaty Ciuman pt. "Badanie wpływu cGMP na aktywność prozapalnych czynników transkrypcyjnych w makrofagach otrzewnowych szczura".
2. 2003 wykład pt. "Regulacja aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)" - wykład IITD PAN
3. 2004 Udział w VII Dolnośląskim Festiwalu Nauki w IITD PAN pokaz "Białka Sygnałowe - wewnątrzkomórkowi kurierzy"
4. 2004-2006 Opiekun pracy badawczej i magisterskiej Moniki Tarnowskiej pt. "Badanie ekspresji i aktywności β -adrenergicznych w makrofagach otrzewnowych szczura".
5. 2005 Udział w VIII Dolnośląskim Festiwalu Nauki w IITD PAN pokaz "Białka Sygnałowe jako wewnątrzkomórkowi kurierzy".
6. 2006 Recenzent pracy magisterskiej Pauliny Skorbuk pt. "Charakterystyka oddziaływań białka Hp1230 z inicjatorowym białkiem DnaA *Helicobacter pylori*"
7. 2006 Udział w IX Dolnośląskim Festiwalu Nauki w IITD PAN pokaz "Białka Sygnałowe jako wewnątrzkomórkowi kurierzy".
8. 2011-2012 Promotor pracy magisterskiej Magdaleny Żak pt. "Wpływ cyklicznego GMP na TLR3 zależną aktywację czynników transkrypcyjnych IRF".

9. 2013 Recenzent pracy magisterskiej Olgi Utyro pt. "Analiza oddziaływania białka DnaA z wyznaczonym in silico potencjalnym regionem inicjacji replikacji chromosomu *Campylobacter jejuni*."
10. 2013-2014 Promotor pracy magisterskiej Anny Mendaluk pt. "Wyprowadzenie i charakterystyka komórek HEK293 transfekowanych genem kodującym kinazę tymidynową 1".
11. Promotor pomocniczy prac doktorskich mgr inż Joanny Zyzak i mgr Ewy Kowalczyk

19/11/2013

Jakub Siednienko

Data

Dr inż. Jakub Siednienko

Praca została częściowo sfinansowana z Projektu Homing Plus/2010-2/15 realizowanego w ramach programu Homing Plus Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego

