

AUTOREFERAT

Dr inż. Marcin Wiśniewski
Zakład Parazytologii i Inwazjologii,
Katedra Nauk Przedklinicznych,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2016

1. Imię i nazwisko: Marcin Wiśniewski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

2001 – tytuł zawodowy: **magister inżynier biotechnologii** w zakresie biotechnologii w produkcji i ochronie zdrowia zwierząt; Międzywydziałowe Studium Biotechnologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,.

2005 - stopień naukowy: **doktor nauk weterynaryjnych,**

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Klonowanie cDNA i analiza ekspresji genu proteazy asparaginianowej *Ancylostoma ceylanicum* oraz ocena jej przydatności jako antygeny szczepionkowego”, promotor pracy: prof. dr hab. Halina Wędrychowicz, recenzenci: prof. nadzwyczajny SGGW – dr hab. Danuta Klimuszko, prof. dr hab. Andrzej Płucienniczak **(stopień uzyskany z wyróżnieniem)**

2012 – dyplom ukończenia Studium Poradnictwa Psychologicznego, SPCh w Warszawie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:

Od 16.03.2005 do dnia dzisiejszego: Zakład Parazytologii i Inwazjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, adiunkt; od 01.09.2012 - **Kierownik Zakładu.**

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

4.1. Osiągnięcie pod tytułem:

„Ocena przydatności wybranych szczepionek nowej generacji w zwalczaniu ancylostomatozy na modelu laboratoryjnym *Ancylostoma ceylanicum* – chomik”

tworzy jednotematyczny cykl następujących oryginalnych publikacji:

4.1.1 Prace oryginalne (5)

- 1) Siwinska A.M., Baska P., Danilowicz-Luebert E., Januszkiewicz K., Dlugosz E., Wedrychowicz H., Cappello M. and **Wisniewski M.** 2013. Cloning and molecular characterization of cDNAs encoding three *Ancylostoma ceylanicum* secreted proteins. *Acta Parasitologica*, 58(1):112–118 (MNiSW:15 pkt, IF: 0,965).

Udział własny 60%: planowanie doświadczeń, nadzorowanie przebiegu prowadzenia projektu badawczego, wykonanie części doświadczeń (klonowanie końców cDNA), analiza uzyskanych wyników, interpretacja wyników, współprzygotowanie publikacji i autor korespondencyjny.

- 2) **Wiśniewski M**, Jaros S, Baska P, Cappello M, Wędrychowicz H. 2013. *Ancylostoma ceylanicum* metalloprotease 6 DNA vaccination induces partial protection against hookworm challenge infection. *Acta Parasitologica*, 58(3):376-83 (MNiSW: 15 pkt, IF: 0,965).

Udział własny 75%: planowanie doświadczeń, nadzorowanie przebiegu projektu badawczego, wykonanie części doświadczeń (przygotowanie konstruktów szczepionkowych, próby szczepionkowe), analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny.

- 3) **Wiśniewski M**, Lapiński M, Zdziarska A, Długosz E, Baska P. 2014. Molecular cloning and analysis of *Ancylostoma ceylanicum* glutamate-cysteine ligase. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 196(1):12-20 (MNiSW: 25 pkt, IF: 1,787).

Udział własny 70%: planowanie doświadczeń, nadzorowanie przebiegu projektu badawczego, wykonanie części doświadczeń (sklonowanie cDNA, próby szczepionkowe, opracowanie warunków otrzymywania i oczyszczenia białek rekombinowanych), analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny

- 4) **Wiśniewski M**, Jaros S, Baska P, Cappello M, Długosz E, Wędrychowicz H. 2016. Hamsters vaccinated with *Ace-mep-7* DNA vaccine produced protective immunity against *Ancylostoma ceylanicum* infection. 2016. *Experimental Parasitology*, 163:1-7 (MNiSW: 25 pkt, IF₂₀₁₅: 1,623).

Udział własny 75%: planowanie doświadczeń, nadzorowanie przebiegu projektu badawczego, wykonanie części doświadczeń (przygotowanie konstruktów genetycznych, próby szczepionkowe), analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny.

- 5) **Wiśniewski M**, Łapiński M, Daniłowicz-Luebert E, Jaros S, Długosz E, Wędrychowicz H. 2016. Vaccination with a cocktail of *Ancylostoma ceylanicum* recombinant antigens leads to worm burden reduction in hamsters. *Acta Parasitologica*, 61(3):556-61 (MNiSW: 15 pkt, IF₂₀₁₅: 1,293).

Udział własny 75%: planowanie doświadczeń, nadzorowanie przebiegu projektu badawczego, wykonanie części doświadczeń (otrzymywanie i oczyszczanie rekombinowanych antygenów pasożytniczych, próby szczepionkowe, określenie poziomu specyficznych przeciwciał w surowicy badanych zwierząt), analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny.

4.1.2 Publikacja przeglądowa stanowiąca wstęp do podjętych badań:

- 1) **Wiśniewski M**, Długosz E, Baska P, Wędrychowicz H. 2006. Poszukiwanie antygenów wzbudzających odporność przeciwko inwazjom tęgorycjów. *Wiadomości Parazytologiczne* 52(4), 271-276 (MNiSW: 4 pkt).

Udział własny 85%: koncepcja i przygotowanie publikacji i autor korespondencyjny.

Łączna punktacja prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji (dla prac opublikowanych w 2016 roku przyjęto wskaźniki z roku 2015):

- wg listy czasopism punktowanych MNiSW: 99 pkt
- łączny współczynnik wpływu (IF): 6,633

Kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy znajdują się w załączeniu.

4.2 Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.2.1 Wprowadzenie

Podjęte przeze mnie badania wpisywały się w trwający już kilkadziesiąt lat proces naukowy zmierzający do opracowania skutecznej szczepionki przeciwko ancylostomatozie, zwanej również tęgoryjczycą. Krwio pijne nicienie wywołujące tę chorobę przyczyniają się do cierpienia, w zależności od źródła, od 440 do 750 mln ludzi na kuli ziemskiej, z czego 55 000 rocznie umiera. Chorobotwórcze działanie tęgoryjców polega na uszkodzaniu błony śluzowej jelita cienkiego i niedokrwistości pojawiającej się na skutek utraty krwi przez powstające uszkodzenia. Inną przykrą dolegliwością dla ludzi jest schorzenie skórne, określane jako pełzająca wysypka (ang. - *creeping eruption*), a powstające na skutek migracji larw w powierzchniowych warstwach skóry. Wywoływane jest głównie przez tęgoryjce, których naturalnymi żywicielami są psy lub koty (głównie *Ancylostoma brasiliense*). Często tego typu dermatozom towarzyszy wtórne zakażenie bakteryjne.

Inwazje tęgoryjców stanowiące poważny problem medycyny ludzkiej są bardzo rozpowszechnione w strefie tropikalnej [1]. Szczególnie na terenach zamieszkałych przez ludność biedną, gdzie występuje niedożywienie, a przestrzeganie zasad higieny oraz opieka zdrowotna stoją na najniższym poziomie. Inwazje mają najczęściej przebieg przewlekły, rzadko prowadzą do śmierci żywicieli, lecz bardzo często, szczególnie u dzieci, prowadzą do fizycznego wyniszczenia organizmu. Konsekwencją tego są zaburzenia w rozwoju fizycznym i psychicznym, które mogą mieć wpływ na znaczne opóźnienie w rozwoju intelektualnym. Tęgoryjczyca stanowi też ważny problem medycyny weterynaryjnej, gdyż określone gatunki nicieni należące do rodziny Ancylostomatidae zarażają psy, koty, a także bydło, owce, kozy, świnie oraz zwierzęta dzikie. Uprawnionym wydaje się być stwierdzenie, że przedstawiciele rodziny Ancylostomatidae stanowią problem medyczny praktycznie we wszystkich szerokościach geograficznych naszego globu.

Do momentu podjęcia przeze mnie badań, mimo pewnych sukcesów w zakresie poszukiwań skutecznej szczepionki przeciwko tęgoryjczycy, nadal nie uzyskano wyników, które umożliwiłyby wprowadzenie otrzymanych rozwiązań do powszechnego użycia. Pierwsze publikacje dotyczące immunizacji przeciwko inwazjom tęgoryjców pochodzą z lat trzydziestych ubiegłego wieku [2-5]. Przeprowadzono próby uzyskania odporności u psów lub myszy na inwazje *Ancylostoma caninum* poprzez kontrolowane ich zarażenie niewielkimi dawkami żywych larw L3 tego nicienia. Immunizowane w ten sposób zwierzęta wykazywały

łagodniejsze objawy chorobowe. Ponadto, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, nie obserwowano skutków śmiertelnych przy stosowaniu wysokich dawek larw inwazyjnych. I choć nie udało się uzyskać pełnej ochrony przed inwazją *A. caninum*, to jednak zauważono znaczną redukcję liczebności dorosłych nicieni zasiedlających jelito uodpornianych zwierząt. W latach sześćdziesiątych ubiegłego stulecia rozpoczęto badania z wykorzystaniem larw inwazyjnych (L3) tęgoryjców osłabionych promieniowaniem gamma. Opracowano i prowadzono na rynek skuteczną szczepionkę przeciwko *A. caninum*, zawierającą odpowiednią dawkę L3 napromieniowanych promieniami γ [6]. Jednak mimo dostatecznie dużej skuteczności, została ona wycofana z rynku ze względów ekonomicznych. Na jej niekorzyść przemawiały trudności w zdobyciu wystarczającej liczby larw. Dodatkowo niepokój wywoływała możliwość wywołania stanu chorobowego, jeśli osłabianie larw przebiegłoby w sposób nieprawidłowy lub osobnik, któremu podano szczepionkę okazałby się wyjątkowo wrażliwy [7]. Mimo wszystko, wyniki uzyskane podczas immunizacji osłabionymi larwami L3 pokazały, że antygeny postaci inwazyjnych wywołują odpowiedź immunologiczną żywiciela chroniącą go przed inwazją pasożyta. Stąd rozpoczęto poszukiwania skutecznych antygenów szczepionkowych przede wszystkim wśród białek tego stadium rozwojowego nicienia. Trudności, jakie pojawiają się w opracowaniu szczepionek wynikają z konieczności doboru odpowiedniego antygeny, który powinien być swoisty dla pasożyta i ochronny dla żywiciela. Niestety, fakt że antygen jest wysoce immunogeny nie jest jednoznaczny z tym, że będzie wywoływał odpowiedź immunologiczną chroniącą organizm żywiciela przed inwazją pasożyta. Wszystko to sprawia, że poszukiwanie nowych antygenów, które okazałyby się skuteczne w walce przeciwko tęgoryjcom ciągle trwa. W próbach szczepionkowych bada się enzymy pasożyta uczestniczące w penetracji przez skórę żywiciela, migracji przez tkanki, odżywianiu się, czy obronie przed układem immunologicznym żywiciela. Grupami antygenów, z którymi wiąże się ogromne nadzieje, są białka wydzielane przez larwy na etapie przekształcania się ze stadium L3 wolno żyjącego w L3 pasożytnicze (ssL3: ang. serum stimulated L3, larwy L3 stymulowane surowicą) oraz ogólnie antygeny wydalniczo-wydzielnicze, również stadium dorosłego.

Dalsza, pełniejsza charakterystyka samych antygenów i wyników ogólnoswiatowych prób szczepionkowych z ich wykorzystaniem, przeprowadzonych do roku 2006, została przedstawiona w publikacji przeglądowej:

„Poszukiwanie antygenów wzbudzających odporność przeciwko inwazjom tęgoryjców”.
Wiśniewski M, Długosz E, Baska P, Wędrychowicz H. 2006. *Wiadomości Parazytologiczne*, 52(4), 271-276.

Fakt niewyodrębnienia do tej pory skutecznego antygeny szczepionkowego, wzrastająca lekooporność szczepów tęgoryjców, jak też niemożność podejmowania leczenia chemioterapeutykami wśród kobiet w ciąży wydały się być uzasadnionymi argumentami za kontynuowaniem badań zmierzających do określenia skutecznej szczepionki przeciwko inwazjom tego pasożyta. Obecnie, oprócz naszego laboratorium w Zakładzie Parazytologii i Inwazjologii, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, badania nad opracowaniem szczepionki przeciwko tęgoryjczy u ludzi prowadzi konsorcjum Sabin Vaccine Institute PDP (USA). Wykorzystuje ono rekombinowane białka *Necator americanus*, tęgoryjca występującego jedynie u ludzi. Mimo ogromnych nakładów finansowych ponoszonych przez konsorcjum (do roku 2014 - 52,8 mln \$, 11,9 mln €) i pracy zespołów naukowych działających w projekcie The Human Hookworm Vaccine Initiative prowadzonym przez wymieniony Sabin Vaccine Instytut do dziś nie udało się wypracować komercyjnie dostępnej szczepionki (www.sabin.org/programs/vaccine-development/human-hookworm-vaccine).

Badania prowadzone pod moim kierunkiem, skupiają się na wykorzystaniu antygenów tęgoryjca pasożytującego zarówno u ludzi jak i u zwierząt - *Ancylostoma ceylanicum*. Dlatego też mamy nadzieję, że w przeciwieństwie do amerykańskiego instytutu, osiągnięcia naszego zespołu będą mogły być wykorzystane zarówno w medycynie weterynaryjnej jak i ludzkiej.

Głównymi celami prowadzonych przeze mnie badań było:

- 1) Wytypowanie potencjalnych antygenów szczepionkowych oraz klonowanie kodujących je cDNA techniką RACE-PCR.
- 2) Uzyskanie ekspresji wybranych cDNA w układzie ekspresyjnym pET lub utworzenie konstruktów genetycznych (szczepionek DNA) niosących cDNA kodujących dwie metaloproteazy.
- 3) Przeprowadzenie prób szczepionkowych na modelu *Ancylostoma ceylanicum* – chomik syryjski oraz analiza uzyskanych wyników.

4.2.2 Syntetyczne omówienie publikacji stanowiących osiągnięcie badawcze

W toku przeprowadzonych badań, mających na celu ocenę przydatności wybranych szczepionek nowej generacji, swoją uwagę badawczą skupiłem na przetestowaniu wybranych pasożytniczych białek rekombinowanych i plazmidów niosących cDNA kodujące dwie metaloproteazy *Ancylostoma ceylanicum* (tzw. szczepionki DNA lub z nagiego DNA). Każda próba szczepionkowa wiązała się z otrzymaniem metodami inżynierii genetycznej cDNA

kodujących badane antygeny szczepionkowe (**o nieznannej do tej pory sekwencji**), uzyskaniem odpowiednich konstruktów genetycznych i na koniec produkcją i oczyszczeniem rekombinowanych białek przy użyciu prokariotycznego systemu ekspresyjnego pET. Dopiero ostateczny produkt tego czaso- i pracochłonnego etapu pozwalał na przystąpienie do prób szczepionkowych.

W publikacji:

Cloning and molecular characterization of cDNAs encoding three *Ancylostoma ceylanicum* secreted proteins". Siwinska A M, Baska P, Danilowicz-Luebert E, Januszkiewicz K, Dlugosz E, Wedrychowicz H, Cappello M and Wisniewski M. 2013. *Acta Parasitologica* 58(1):112-118,

przedstawione zostały etapy uzyskiwania metodą RACE-PCR cDNA kodujących trzy białka sekrecyjne *Ancylostoma ceylanicum* (Ace-ASP-3, 4 i 5) oraz analizy ich sekwencji. W oparciu o silnie konserwatywne regiony znanych sekwencji cDNA kodujących białka sekrecyjne blisko spokrewnionych gatunków nicieni (*A. caninum*, *N. americanus*, *A. duodenale*) zaprojektowano startery i namnożono początkowo końce, a następnie kompletne cząsteczki cDNA kodujące omawiana białka sekrecyjne *A. ceylanicum*. Analizy bioinformatyczne przewidywanych sekwencji aminokwasowych kodowanych przez uzyskane cDNA białek potwierdziły ich przynależność do grupy antygenów wydalniczo – wydzielniczych. Udało się potwierdzić obecność charakterystycznej dla białek sekrecyjnych domeny SCP (Sperm Coating Protein). Dodatkowo, metodą PCR w czasie rzeczywistym wykazano, że na poziomie RNA ekspresja genów kodujących te białka była najwyższa odpowiednio dla: *Ace-asp-3* i *Ace-asp-5* w stadium dorosłym pasożyta, a dla *Ace-asp-4* w stadium larwy inwazyjnej. **Ustalenie to było szczególnie ważne, gdyż wskazywało, że udało się uzyskać i poddać analizie sekwencje nukleotydów cDNA kodujących białka sekrecyjne *Ancylostoma ceylanicum*, których poziom ekspresji genów wzrasta podczas inwazji, co może świadczyć o ich istotnej roli w interakcji pasożyt - żywiciel.**

To osiągnięcie przyczyniło się do wytworzenia i oczyszczenia rekombinowanych antygenów, które stały się podstawą do przygotowania szczepionki nowej generacji, tzw. koktajlu antygenowego. Przebieg doświadczeń opisujących otrzymywanie poszczególnych składników szczepionki oraz wyniki oceny jej skuteczności w zapobieganiu ancylostomatozie zostały opisane w publikacji:

Vaccination with a cocktail of *Ancylostoma ceylanicum* recombinant antigens leads to worm burden reduction in hamsters". Wiśniewski M, Łapiński M, Danilowicz-

Luebert E, Jaros S, Długosz E, Wędrychowicz H. 2016. *Acta Parasitologica* 61(3):556-61.

Niewątpliwym sukcesem było otrzymanie i oczyszczenie rekombinowanych antygenów szczepionkowych: białek sekrecyjnych Ace-ASP-3 i Ace-ASP-4, proteazy asparaginianowej Ace-APR-1 i dwóch metaloproteaz Ace-ASP-6 i 7 z wykorzystaniem wydajnego bakteryjnego systemu ekspresyjnego pET. Przedstawiony w publikacji sposób otrzymania i oczyszczania badanych antygenów umożliwia efektywne uzyskanie rekombinowanych białek pasożytniczych, co pozwala wyeliminować często kosztowne i czasochłonne metody pozyskiwania ich natywnych odpowiedników. Mimo, że prace nad Ace-APR-1 były już prowadzone w ramach pracy doktorskiej, to jednak na potrzeby eksperymentów opisanych w powyższej publikacji znacznie zmodyfikowano sposób oczyszczania produktów ekspresji uzyskanych wcześniej cDNA.

Immunizacja koktajlem antygenowym przyczyniła się do redukcji liczebności tęgorycjów w jelicie immunizowanych chomików na poziomie 33,5 %. Wynik ten uznano za podstawę do dalszych prac nad poszukiwaniem takiej drogi immunizacji i/lub dopracowania składu mieszaniny szczepionkowej, które umożliwią zwiększenie skuteczności szczepienia. Jednocześnie wyniki badań pokazały, że redukcja liczebności nicieni w jelitach chomików ściśle wiąże się ze statystycznie istotnym wzrostem poziomu przeciwciał specyficznych dla epitopów poszczególnych testowanych antygenów, jak i całej ich mieszaniny. Zaobserwowano, że odpowiedź ze strony układu immunologicznego żywiciela względem każdego z białek była różna. W kolejności, największą immunogennością charakteryzowały się: proteaza asparaginianowa, białko sekrecyjne 4, obie metaloproteazy i najmniejszą – białko sekrecyjne 3.

Opisane w literaturze dobrze rokujące próby szczepionkowe z wykorzystaniem tzw. antygenów ukrytych *Haemonchus contortus* [8] stały się inspiracją dla poszukiwań skutecznej szczepionki nowej generacji opartej na antygenie/antygenach, które w trakcie inwazji *A. ceylanicum* nie są prezentowane układowi immunologicznemu żywiciela. W konsekwencji wielomiesięcznych poszukiwań udało się sklonować cDNA kodujące dwie podjednostki (katalityczną – Ace-GCLC i modyfikatorową – Ace-GCLM) ligazy glutaminianowo – cysteinowej (Ace-GCL), uzyskać rekombinowane białka oraz dokonać wstępnych biochemicznych, immunologicznych i szczepionkowych analiz. Wszystko to zostało opisane w pracy:

Molecular cloning and analysis of *Ancylostoma ceylanicum* glutamate-cysteine ligase. Wiśniewski M, Lapiński M, Zdziarska A, Długosz E, Baska P. 2014. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 196(1):12-20.

Wykazanie obecności jednostki modyfikatorowej ligazy glutaminianowo – cysteinowej (Ace-GCLM) było pierwszym w świecie doniesieniem występowania jej u nicieni z rodziny *Ancylostomatidae*. Okazało się, że *Ace-gclc* i *Ace-gclm* cDNA kodują białka o sekwencji odpowiednio 655 i 254 aminokwasów i oczekiwanej masie molekularnej 74,76 i 28,51 kDa. O ile sekwencja aminokwasów Ace-GCLC wykazała aż 70% identyczności i 80% podobieństwa do sekwencji ortologicznych białek *Loa loa*, *Onchocerca volvulus*, *Brugia malayi*, czy *Ascaris suum*, to sekwencja aminokwasów Ace-GCLM posiadała jedynie około 30% identyczności i 50% podobieństwa do wyżej wymienionych białek ortologicznych. Wykorzystując dwuhybrydowy system ekspresyjny *Pichia pastoris* potwierdzono interakcję badanych podjednostek. Jednocześnie nasze badania potwierdziły, że białka te nie są rozpoznawane przez układ immunologiczny żywiciela, gdyż nie wykryto specyficznych chemicznych przeciwciał skierowanych przeciwko ich epitopom nawet po 120 dniach trwania inwazji. Ekspresja genów *Ace-gclm* i *Ace-gclc* wykazała najwyższy poziom w stadium dorosłym *A. ceylanicum*. Wszystkie te wyniki oraz biochemiczna charakterystyka ortologicznych białek opisana w literaturze, jednoznacznie pozwalają sądzić, że Ace-GCL jest białkiem charakterystycznym dla stadium dorosłego nicienia i uczestniczy w syntezie glutationu, który chroni komórki nicienia przed stresem oksydacyjnym.

Niestety badane antygeny nie wywołały ochronnej odpowiedzi immunologicznej u immunizowanych nimi żywicieli. Chomiki, które szczepiono rekombinowanym Ace-GCLC bądź Ace-GCLM nie wykazały istotnej statystycznie różnicy w liczbie pasożytów zasiedlających jelita ani też nie obserwowano poprawy parametrów krwi (hematokrytu i hemoglobiny), czy redukcji liczby jaj w kale. **Mimo, że nasze badania nie potwierdziły przydatności powyższych białek jako antygenów potencjalnej szczepionki, to można mieć nadzieję, że leki będące inhibitorami tych podjednostek mogą w przyszłości stać się nowym narzędziem do zwalczania inwazji tęgoryjców.**

Kolejne dwie publikacje:

- 1) **"*Ancylostoma ceylanicum* metalloprotease 6 DNA vaccination induces partial protection against hookworm challenge infection".** Wiśniewski M, Jaros S, Baska P, Cappello M, Wędrychowicz H. 2013. *Acta Parasitologica*, 58(3):376-83.

2) **“Hamsters vaccinated with *Ace-mep-7* DNA vaccine produced protective immunity against *Ancylostoma ceylanicum* infection”**. 2016. Wiśniewski M, Jaros S, Bąska P, Cappello M, Długosz E, Wędrychowicz H. 2016. *Experimental Parasitology*, 163:1-7.

przedstawiają wyniki prób szczepionkowych z wykorzystaniem tzw. szczepionek DNA. Obie prace opisują w jaki sposób można przygotować szczepionkowy konstrukt genetyczny, czyli eukariotyczny wektor ekspresyjny pcDNA3.1+ niosący cDNA kodujący antygen szczepionkowy. W opisanych przypadkach rekombinowane plazmidy były nośnikiem informacji kodującej dwie metaloproteazy *A. ceylanicum*: Ace-MEP-6 i 7. Osiągnięciem godnym zwrócenia uwagi było sklonowanie metodą RACE-PCR *Ace-mep-6* i *Ace-mep-7* cDNA, których długość wynosi odpowiednio 2815 i 2710 par zasad i koresponduje z przewidywaną masą molekularną kodowanych przez nie białek: 101,87 kDa i 98,8 kDa. W obu enzymach udało się zidentyfikować narzędziami bioinformatycznymi charakterystyczną dla metaloproteaz domenę M13 oraz transmembranowy peptyd, dzięki któremu enzymy te kotwiczą w mikrokosmkach jelitowych nicienia i uczestniczą w trawieniu hemoglobiny [9]. Opierając się na tych wynikach można przypuszczać, że badane enzymy również uczestniczą w odżywianiu się pasożyta, przez co stanowią potencjalny cel w opracowywaniu szczepionki przeciwko ancylostomatozie. Nowatorskie podejście polegało na wykorzystaniu jako nośnika DNA preparatu Fugene 6, który jest nieliposomalnym, kationowym związkiem wykorzystywanym do transfekcji komórek eukariotycznych, charakteryzującym się wysoką skutecznością transfekcji i niską toksycznością dla komórek. W przeprowadzonych eksperymentach wykazano, że już jednokrotna immunizacja pcDNA3.1(+)/*Ace-mep-6* **przyczyniła się do 80% redukcji liczby robaków** w stosunku do grupy kontrolnej (chomiki nieimmunizowane, zarażone) i statystycznie istotnego 33% wzrostu hematokrytu. Jednocześnie wykazano, że samo podanie nierekombinowanego plazmidu w jednokrotnej dawce powoduje istotną statystycznie redukcję liczby robaków w jelicie zarażonych zwierząt (53% redukcji), jednak bez wzrostu hematokrytu. Z kolei immunizacja pcDNA3.1(+)/*Ace-mep-7* przyczyniła się do 50% redukcji liczby robaków w jelicie i **78% redukcji liczby jaj w kale** oraz 8% wzrostu hematokrytu w grupie immunizowanych zwierząt względem grupy kontrolnej, co wiązało się z istotnie wyższym poziomem specyficznych przeciwciał anti-Ace- MEP-7. Tak wysoki procent redukcji jaj w kale jest bardzo pożądanym wynikiem, gdyż może zapewnić istotne zahamowanie rozprzestrzeniania się inwazji w środowisku.

4.2.3 Podsumowanie

Przedstawione powyżej wyniki potwierdziły skuteczność techniki RACE-PCR w otrzymywaniu cDNA kodujących antygeny pasożytniczego nicienia *Ancylostoma ceylanicum* w oparciu o znane jedynie konserwatywne fragmenty DNA u spokrewnionych gatunków tęgoryjców. Wykorzystanie prokariotycznego układu ekspresyjnego pET umożliwia efektywną produkcję rekombinowanych białek pasożytniczych i może stanowić wydajne źródło pozyskiwania antygenów szczepionkowych, które mimo pewnych różnic wynikających z braku charakterystycznych dla komórek eukariotycznych modyfikacji potranslacyjnych, są w stanie wywołać ochronną odpowiedź żywiciela.

Dotychczas wykonane przeze mnie badania nad skutecznością szczepionek nowej generacji, prowadzone na modelu *Ancylostoma ceylanicum* – chomik, wykazały, że szczepienie „nagim” DNA przyniosło najkorzystniejszy efekt ochronny przeciwko ancylostomatozie. Ogólnie uważa się, że cDNA kodujący pasożytniczy antygen włączony w DNA wektora pcDNA3.1(+) ulega ekspresji wewnątrz komórki, a powstające tam białko jest prezentowane układowi immunologicznemu żywiciela przez cząsteczki MHC klasy I. To sprawia, że dochodzi do pobudzenia odpowiedzi immunologicznej Th-1 zależnej, która w tym przypadku mogła odegrać kluczową rolę w znaczącej redukcji liczby robaków (Ace-MEP-6) czy również na wysokim poziomie, redukcji liczby jaj w kale żywiciela (Ace-MEP-7). W przypadku szczepienia *Ace-mep-7* zaobserwowano także wyraźny wzrost poziomu specyficznych IgG skierowanych przeciwko Ace-MEP-7 korelujący z uzyskaną ochroną odpowiedzią. Dane literaturowe wskazują, że immunizacja „nagim” DNA z wykorzystaniem wektora pcDNA3.1(+) może wywoływać również humoralną i komórkową odpowiedź ze strony układu immunologicznego [10]. Ostatecznie mogę stwierdzić, że otrzymane przeze mnie wyniki – istotna redukcja liczebności robaków w jelicie oraz ich jaj w kale chomików szczepionych odpowiednio pcDNA3.1(+)/*Ace-mep-6* i pcDNA3.1(+)/*Ace-mep-7*, stanowią zamknięty etap typowania dobrze rokujących szczepionek nowej generacji i umożliwiają przejście do dalszych badań zmierzających do opracowania skutecznej szczepionki przeciwko ancylostomatozie, już na poziomie klinicznym.

Piśmiennictwo

- [1] de Silva, N.R., Brooker, S., Hotez, P.J., Montresor, A., Engels, D., Savioli, L., 2003. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol.* 19, 547e551.

- [2] McCoy O.R. 1931. Immunity reactions of the dog against hookworm (*Ancylostoma caninum*) under conditions of repeated infection. *American Journal of Hygiene* 14: 268–303.
- [3] Foster A.O. 1935. The immunity of dogs to *Ancylostoma caninum*. *American Journal of Hygiene* 22:65–105.
- [4] Kerr K.B. 1936. Studies on acquired immunity to the dog *Ancylostoma caninum* *American Journal of Hygiene* 23: 381–406.
- [5] Otto G.F., Kerr K.B. 1939. The immunization of dogs against hookworm *Ancylostoma caninum*, by subcutaneous injection of graded doses of larvae. *American Journal of Hygiene* 33(D): 23–27.
- [6] Miller T.A. 1978. Industrial development and field use of the canine hookworm vaccine. *Advances in Parasitology* 16: 333–342.
- [7] Emery D.L. 1996. Vaccination against worm parasites of animals. *Veterinary Parasitology* 64: 31–45.
- [8] Munn E.A., Greenwood C.A., Coadwell W.J. 1987. Vaccination of young lambs by means of a protein fraction extracted from adult *Haemonchus contortus*. *Parasitology* 94: 385–397.
- [9] Ranjit N., Zhan B., Hamilton B., Stenzel D., Lowther J., Pearson M., Gorman J., Hotez P., Loukas A. 2009. Proteolytic degradation of hemoglobin in the intestine of the human hookworm *Necator americanus*. *Journal of Infectious Diseases*, 15, 199(6), 904–912.
- [10] Quinnell, R.J., Pritchard, D.I, Raiko, A., Brown, A.P., Shaw, M.A., 2004. Immune responses in human necatoriasis: association between interleukin-5 responses and resistance to reinfection. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(3), 430-8.

5. Pozostałe osiągnięcia naukowo – badawcze

5.1 Osiągnięcia naukowo – badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

W początkowej swojej działalności naukowej byłem zaangażowany w wiele projektów badawczych, w których mogłem wykorzystywać swoją wiedzę i umiejętności biotechnologiczne, szczególnie z zakresu inżynierii genetycznej i biologii molekularnej.

Już w trakcie studiów biotechnologicznych uczestniczyłem między innymi w trzech projektach badawczych, których osiągnięcia zostały przedstawione w następujących publikacjach:

- 1) **Wisniewski M**, Cabaj W, Moskwa B., Wedrychowicz H. 2002 The first detection of *Neospora caninum* DNA in brains of calves in Poland. *Acta Veterinaria* 51, 393-401 (MNiSW: 10 pkt, IF: 0,146).

- 2) **Wiśniewski M.**, Mieszczanek J., Wędrychowicz H. 2004. Ekspresja i oczyszczanie rekombinowanego białka fuzyjnego GST-proteaza cysteinowa *Ancylostoma ceylanicum*. *Wiadomości Parazytologiczne* 50(3): 491-494 (MNiSW: 3 pkt).

Pierwsza publikacja opisuje wyniki, jakie udało mi się uzyskać w ramach praktyk studenckich, które odbywałem w Instytucie Parazytologii i Inwazjologii PAN w Warszawie (2002). Mój udział w projekcie badawczym: “Wykorzystanie metody nested – PCR w diagnozowaniu neosporozy u cieląt, których matki były seropozytywne” polegał na potwierdzeniu techniką nested – PCR obecności DNA *Neospora caninum* w mózгах zarażonych polskich cieląt. Było to pierwsze doniesienie tego typu w Polsce.

Druga publikacja opisuje osiągnięte wyniki podczas mojej pracy magisterskiej, w ramach której uzyskałem odpowiednie konstrukty genetyczne – rekombinowane plazmidy ekspresyjne, ekspresję cDNA proteazy cysteinowej *A. ceylanicum* w komórkach bakteryjnych oraz opracowałem warunki oczyszczenia białka fuzyjnego GST-proteaza cysteinowa metodą elektroelucji.

W dalszym toku rozwoju naukowego przygotowując swoją rozprawę doktorską zgromadziłem i przeanalizowałem dostępną aktualną wiedzę na temat postępów w opracowywaniu szczepionek przeciwko żołądkowo – jelitowym helmintom, ze szczególnym zwróceniem uwagi na rolę proteaz asparaginianowych tęgoryjców w układzie pasożyt – żywiciel. Osiągnięcia mojej pracy znalazły odzwierciedlenie w następujących pracach przeglądowych:

- 1) Wędrychowicz H., **Wiśniewski M.** 2003. Progress in development of vaccines against most important gastrointestinal helminth parasites of humans and animals. *Acta Parasitologica* 48(4): 239-245 (MNiSW: 10 pkt, IF: 0,56).
- 2) **Wiśniewski M.**, Zatorska A., Wędrychowicz H. 2004. Proteazy asparaginianowe tęgoryjców i ich biologiczna rola w układzie pasożyt – żywiciel. *Medycyna Weterynaryjna* 60 (8): 808-811 (MNiSW: 10 pkt, IF: 0,285).

Jednocześnie wyniki badań projektów, w których uczestniczyłem zostały zaprezentowane na konferencjach w Polsce i za granicą:

- 1) Mieszczanek J., Wiśkowska A., **Wiśniewski M.**, Wędrychowicz H. 1999. Ekspresja i oczyszczanie proteaz tęgoryjców – potencjalnych antygenów szczepionkowych.

Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii, Warszawa 10-11.99.

- 2) **Wiśniewski M.**, Cabaj W., Moskwa B., Wędrychowicz H. 2001. Wykorzystanie metody gniazdowej PCR w diagnozowaniu neosporozy u cieląt, których matki były seropozytywne. *Biologia Molekularna w Diagnostyce chorób Zakaźnych i Biotechnologii*, Warszawa 8.12.01
- 3) Mieszczanek J., **Wiśniewski M.**, Wędrychowicz H. 2001. Evaluation of protectivity of ACEY-1 cysteine proteinase. *18th International Conference WAAVP*, Stresa.
- 4) Mieszczanek J., **Wiśniewski M.**, Krzywosińska E., Zysiak D, Wędrychowicz H, 2002. Molecular cloning of cDNA excretory/secretory proteins of adult *Haemonchus contortus* using PCR. *International conference ISNA*, Warszawa
- 5) **Wiśniewski M.**, Jaros S., Bąska P., Daniłowicz E., Januszkiewicz K., Gajewska A., Wędrychowicz H. 2003. Klonowanie cDNA potencjalnych antygenów szczepionkowych *Ancylostoma ceylanicum* metodą RACE-PCR. Forum Młodych Biotechnologów, Łódź 25.06.2003.
- 6) **Wiśniewski M.**, Jaros S., Bąska P, Daniłowicz E., Januszkiewicz K, Gajewska A, Wędrychowicz H. 2003. Zastosowanie wybranych metod biologii molekularnej w otrzymywaniu potencjalnych antygenów szczepionkowych *Ancylostoma ceylanicum*. Uczelniany Przegląd Kół Naukowych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego.
- 7) Jaros S., **Wiśniewski M.**, Wędrychowicz H. 2004. Analiza nowopoznanych sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych metalopeptydaz cynkowych *Ancylostoma ceylanicum*. I Seminarium Studentów Biotechnologii, Politechnika Warszawska, Warszawa 29.06.04.
- 8) Bąska P., Daniłowicz E., **Wiśniewski M.**, Wędrychowicz Wędrychowicz H. 2004. Ekspresja cDNA kodujących Ace-ASP-3 i Ace-ASP-4 *Ancylostoma ceylanicum* w bakteryjnym systemie ekspresyjnym pET. VI Ogólnopolskie Seminarium Kół Naukowych Studentów Biotechnologii, Warszawa, 26-28.11.04.
- 9) **Wisniewski M.**, Jaros S., Cappello M., Wędrychowicz H. 2004. Molecular cloning of cDNAs and expression analysis of novel genes encoding two zinc metallopeptidases from adult *Ancylostoma ceylanicum*. IX European Multicolloquium of Parasitology (EMOP 9), Walencja, Hiszpania 18-23.07.04; VII International Meeting on Molecular Epidemiology

and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases (MEEGID 7), Walencja, Hiszpania 19-22.07.04.

- 10) **Wisniewski M.**, Harrison L.M. Cappello M. 2004. Molecular cloning of cDNA and expression analysis of a novel gene encoding aspartic protease from *Ancylostoma ceylanicum*. IX European Multicolloquium of Parasitology (EMOP 9), Walencja, Hiszpania 18-23.07.04; VII International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases (MEEGID 7), Walencja, Hiszpania 19-22.07.04.

W tym też czasie uczestniczyłem w projektach badawczych w charakterze pracownika pomocniczego (1, 2) lub wykonawcy (3, 4), w ramach grantów przyznawanych przez Komitet Badań Naukowych:

- 1) „Klonowanie rodziny proteaz cysteinowych *Ancylostoma ceylanicum* kodujących potencjalne antygeny protekcyjne tegoryjcom”, projekt nr.5 P06K 023 16 (1999-2001).
- 2) „Badania nad szczepionką genetyczną przeciwko pasożytom żołądkowo - jelitowym przeżuwaczy na modelu owca – *Haemonchus contortus*”, projekt nr 5 P06K 005 19 (2000-2002).
- 3) „Opracowanie wieloskładnikowej szczepionki przeciwko *Ancylostoma ceylanicum*” – Projekt nr 3P06K 024 24 (2003 – 2005).
- 4) „Badania biochemiczne i biofizyczne układu hepatocyt – *Fasciola hepatica*” – Projekt nr 3P06K 01724 (2003 – 2005).

5.2 Osiągnięcia naukowo – badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych i zatrudnieniu w Zakładzie Parazytologii i Inwazjologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie kontynuowałem prace badawcze w kierunku poszukiwania potencjalnych antygenów szczepionkowych przeciwko tegoryjcom z rodziny Ancylostomatidae, ich analizy bioinformatycznej, a także, w kolejnych latach, charakterystyki odpowiedzi układu immunologicznego żywiciela w efekcie szczepienia i zarażenia. Uzyskane wyniki (poza tymi, o których była mowa już wcześniej) zostały opisane w publikacjach:

- 1) Bąska P, **Wiśniewski M.**, Mieszczanek J, Wędrychowicz H.. 2006. Computational analysis of *Ancylostoma ceylanicum* cysteine proteinase. *Wiadomości Parazytologiczne* 52(4), 277-281. (MNiSW pkt: 4)

- 2) Baska P, **Wiśniewski M**, Krzyzowska M, Dlugosz E, Zygnier W, Gorski P, Wedrychowicz H. 2013. Molecular cloning and characterisation of in vitro immune response against astacin-like metalloprotease Ace-MTP-2 from *Ancylostoma ceylanicum*. *Experimental Parasitology* 133(4):472-82 (MNiSW pkt: 25, IF: 1,859)

W działalności naukowej swoje zainteresowania poszerzyłem na innych przedstawicieli rodziny Ancylostomatidae, nie tylko *Ancylostoma ceylanicum*. Biorąc udział w projekcie z dr Górkim Zakładu Parazytologii i Inwazjologii SGGW dokonaliśmy molekularnej charakterystyki nicieni z rodzaju *Uncinaria* pasożytujących u lisa i psa. W oparciu o badanie parametrów morfologicznych oraz markerów genetycznych wykazaliśmy, że nicienie te należą do rodzaju *U. stenocephala*. Wyniki tej pracy zostały przedstawione w publikacji:

Górski P, Rodowańska A, Jaros D, **Wiśniewski M**. 2006. Morfologiczne i molekularne porównanie nicieni z rodzaju *Uncinaria* pasożytujących u lisa (*Vulpes vulpes*) i psa (*Canis familiaris*). *Wiadomości Parazytologiczne* 52(4), 317-320. (MNiSW pkt: 4)

Dodatkowo koordynowałem projekt, który zmierzał do sklonowania i analizy sekwencji cDNA oraz ekspresji genu kodującego proteazę asparaginianową *Uncinaria stenocephala*. Osiągnięcia opisujące sklonowanie nieznanego do tej pory cDNA tego enzymu oraz analizę jego ekspresji zostały przedstawione w pracy:

Wasyl K, Zawistowska-Deniziak A, Baska P, Wędrychowicz H, **Wiśniewski M**. 2013. Molecular cloning and expression of the cDNA sequence encoding a novel aspartic protease from *Uncinaria stenocephala*. *Experimental Parasitology* 134(2):220-7. (MNiSW pkt: 25, IF: 1,859).

Osiągnięciem, które zasługuje na szczególną uwagę, opisanym w tej pracy, jest fakt, że specyficzne przeciwciała rozpoznające proteazę asparaginianową *A. ceylanicum* krzyżowo rozpoznawały także homologiczne białko *U. stenocephala*. Jednocześnie specyficzne przeciwciała skierowane przeciwko proteazie *U. stenocephala* wiązały się krzyżowo z antygenem *A. ceylanicum*. Dzięki temu możemy snuć przypuszczenie, że szczepionka oparta o ten antygen będzie mogła być wykorzystywana w zapobieganiu inwazji przynajmniej kilku gatunków należących do rodziny Ancylostomatidae.

W trakcie mojej działalności naukowej uczestniczyłem również w projektach pozwalających określić przydatność typowanych antygenów szczepionkowych w zapobieganiu inwazji *Fasciola hepatica*, a także badaniu mechanizmów interakcji pomiędzy przywrą, a jej żywicielem. Już podczas studiów doktoranckich rozpoczęta współpraca z dr Gajewską zaowocował pierwszą publikacją dotyczącą tego pasożyta:

Gajewska A., Smaga-Kozłowska K., **Wiśniewski M.** 2005. Zmiany patologiczne wątroby w inwazji przywry *Fasciola hepatica*. *Wiadomości Parazytologiczne* 51(2), 115-123 (MNiSW: 4 pkt). Jest ona odzwierciedleniem uzyskanych wyników realizowanych w ramach projektu badawczego finansowanego przez Komitet Badań Naukowych, którego byłem wykonawcą. Jednocześnie było to rozpoczęcie z mojej strony aktywności badawczej w kierunku analizy molekularnych mechanizmów interakcji pomiędzy antygenami pasożytniczymi *Fasciola hepatica* a żywicielem, a także wytypowania potencjalnego antygeny szczepionkowego przeciwko fascjolozie, które to badania były kontynuowane w dalszych latach we współpracy z zespołem pani prof. Wędrychowicz z Instytutu Parazytologii Polskiej Akademii Nauk w Warszawie.

We współpracy z pracownikami Instytutu Parazytologii PAN w Warszawie dokonaliśmy charakterystyki ekspresji dwóch nowych katepsyn L3 stadium NEJ *F. hepatica*, opisaliśmy pojawiającą się odpowiedź układu immunologicznego żywiciela przeciwko natywnym i rekombinowanym antygenom przywry oraz wykazaliśmy, że produkty wydaliniczo wydzielnicze *F. hepatica* indukują śmierć ludzkich hepatocytów. Osiągnięcia te zostały opublikowane odpowiednio w następujących pracach:

- 1) Zawistowska-Deniziak A, Wasyl K, Norbury L.J, Wesołowska A, Bień J, Grodzik M, **Wiśniewski M**, Baska P, Wędrychowicz H. 2013. Characterization and differential expression of cathepsin L3 alleles from *Fasciola hepatica*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 190(1):27-37 (MNiSW: 30 pkt, IF: 2,243).
- 2) Baska P, Zawistowska-Deniziak A, Zdziarska AM, Wasyl K, **Wiśniewski M**, Cywińska A, Klockiewicz M, Januszkiewicz K, Wędrychowicz H. 2013. *Fasciola hepatica* - the pilot study of in vitro assessing immune response against native and recombinant antigens of the fluke. *Acta Parasitologica* 58(4):453-62 (MNiSW: 15 pkt; IF: 0,965).
- 3) Baska P, Norbury L.J, **Wiśniewski M**, Januszkiewicz K, Wędrychowicz H. 2013. Excretory/secretory products of *Fasciola hepatica* but not recombinant phosphoglycerate kinase induce death of human hepatocyte cells. *Acta Parasitologica*, Volume 58(2):215-217 (MNiSW: 15 pkt, IF: 0,965).

Kolejny kierunek badań, którego byłem pomysłodawcą, koordynatorem i współwykonawcą wiązał się z otrzymaniem rekombinowanych cytokin chomika syryjskiego i wykorzystaniem ich do produkcji kurzych przeciwciał rozpoznających ich natywne odpowiedniki. Chomik syryjski (*Mesocricetus auratus*) jest powszechnie wykorzystywanym

modelem laboratoryjnym dla wielu chorób, takich jak oporność na insulinę, nowotwory, choroby bakteryjne, pierwotniacze, grzybicze i prionowe. Ponadto chomik jest doskonałym żywicielem do badania wielu aspektów zarażenia tęgoryjcami u ludzi. Jednak poważnym utrudnieniem w wykorzystywaniu tego modelu były skąpe informacje o mechanizmach odpowiedzi immunologicznej chomików, co powoduje, że nie mogą one być szerzej wykorzystane do badań. Główną przyczyną takiego stanu rzeczy jest brak komercyjnie dostępnych surowic rozpoznających cytokiny, bądź inne markery odpowiedzi immunologicznej chomika. Niestety próby przeprowadzone w Zakładzie Parazytologii i Inwazjologii, SGGW z wykorzystaniem do badań surowic rozpoznających cytokiny innych gatunków (człowiek, szczur, mysz) wykazały niską efektywność reakcji krzyżowych, przez co niemożliwe było wykorzystanie ich w tego typu analizach. Stąd nasz zespół skłoniwał wybrane cDNA kodujące chomicze interleukiny (2, 4, 10, 12; IFN- γ , TNF- α , TGF- β), otrzymał rekombinowane białka w układzie prokariotycznym pET oraz uzyskał poliklonalne kurze surowice rozpoznające pożądane cytokiny, by następnie określić ekspresję cytokin w przebiegu zarażenia tęgoryjcem *A. ceylanicum*. Przebieg eksperymentów i wyniki zostały przedstawione w cyklu publikacji:

- 1) E. Długosz, M. **Wiśniewski**, L. Wójcik, H. Wędrychowicz. 2010. In vitro IL-4, IL-12, and IFN- γ - production by splenocytes from *Ancylostoma ceylanicum* infected hamsters. *Bull Vet Inst Pulawy* 54, 321-325 (MNiSW: 20 pkt, IF: 0,321).
- 2) Długosz E, Lenard A, Baska P, Wedrychowicz H, **Wisniewski M**. 2011. Production of TGF-b1 specific chicken polyclonal antibodies and their use in analysis of cytokine level in hookworm infected hamsters. *Bull Vet Inst Pulawy* 55, 663-668 (MNiSW: 20 pkt, IF: 0,414).
- 3) Długosz, E, Cendrowski J, Baska P, Siwinska A, Wedrychowicz H, **Wisniewski M**. 2012. Analysis of IL-2 production in hookworm infected Hamsters using generated polyclonal antibodies. *Bull Vet Inst Pulawy* 56, 37-42 (MNiSW: 20 pkt, IF: 0,377).

Poza omawianymi do tej pory pracami w mojej historii badawczej byłem współautorem również kilku prac przeglądowych:

- 1) Długosz E, **Wiśniewski M**. 2006. Wykorzystanie sekwencji genu rRNA w molekularnej diagnostyce parazytologicznej. *Wiadomości Parazytologiczne* (4) 52, 263-269 (MNiSW: 4 pkt).
- 2) Zygner W, **Wiśniewski M**. 2006. Choroby przenoszone przez kleszcze zagrażające psom w Polsce. *Wiadomości Parazytologiczne* 52(2), 85-92 (MNiSW: 4 pkt).

- 3) **Wisniewski M**, Żak D. 2010. Osiągnięcia i perspektywy w badaniach nad opracowaniem szczepionki przeciwko malarii. *Wiadomości Parazytologiczne* 56(2), 133-140 (MNiSW: 6 pkt).

Ponadto włączając się w inne projekty wykorzystywałem swoją wiedzę i umiejętności z zakresu parazytologii molekularnej i inżynierii genetycznej, które zaowocowały następującymi pracami:

- 1) W. Zygner, P. Baska, M. **Wiśniewski**, H. Wedrychowicz. 2010. The molecular evidence of *Babesia microti* in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Polish Journal of Microbiology* 59(2), 95-97 (MNiSW: 9 pkt, IF=0,66).
- 2) Długosz E, Wasyl K, Klockiewicz M, **Wiśniewski M**. 2015. *Toxocara canis* mucins among other excretory-secretory antigens induce in vitro secretion of cytokines by mouse splenocytes. *Parasitology Research* 114(9):3365-71 (MNiSW: 30 pkt, IF: 2,027).
- 3) Długosz E, **Wisniewski M**. 2016. *Toxocara canis* glycans influence antigen recognition by mouse IgG1 and IgM antibodies. *Acta Parasitologica* 61(1):191-4 (MNiSW: 15 pkt, IF2015: 1,293).

W dotychczasowej pracy badawczej dużą część swoich badań poświęciłem sklonowaniu i analizie nieznanych do tej pory cDNA kodujących różne białka pasożytnicze, interleukiny chemiczne oraz fragmenty genów, które mogą być wykorzystywane do diagnostyki inwazji, bądź identyfikacji pasożyta. Osiągnięcia tej pracy zostały przedstawione poprzez opublikowanie poznanych sekwencji w **bazie danych GenBank** pod odpowiednim numerem dostępu (w nawiasie):

- 1) 2002 - *Ancylostoma ceylanicum* cathepsin D-like aspartic protease (AY181028)
- 2) 2003 - *Ancylostoma ceylanicum* zinc metallopeptidase 7 (AY371702)
- 3) 2003 - *Ancylostoma ceylanicum* secreted protein 4 precursor (AY423766)
- 4) 2003 - *Ancylostoma ceylanicum* secreted protein 3 precursor (AY423765)
- 5) 2003 - *Ancylostoma ceylanicum* zinc metallopeptidase 6 (AY371701)
- 6) 2005 - *Ancylostoma ceylanicum* secreted protein 5 (DQ250680)
- 7) 2005 - *Ancylostoma ceylanicum* translation elongation factor 1-alpha (DQ250681)
- 8) 2005 - *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase (DQ112667)
- 9) 2006 - *Mesocricetus auratus* immunoglobulin heavy chain mRNA (DQ473436)
- 10) 2006 - *Fasciola hepatica* cathepsin D-like aspartic protease mRNA (EF000001)
- 11) 2007 - *Fasciola hepatica* dev-stage metacercariae procathepsin L mRNA (EU195859)

- 12) 2007 - *Fasciola hepatica* dev-stage metacercariae cathepsin L mRNA (EU191984)
- 13) 2008 - *Fasciola hepatica* cathepsin D-like aspartic protease mRNA (FJ168036)
- 14) 2007 - *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase mRNA (DQ112667)
- 15) 2008 - *Hypoderma diana* serine protease 2 mRNA (EU869872)
- 16) 2008 - *Hypoderma diana* serine protease 1 mRNA (EU869219)
- 17) 2008 - *Mesocricetus auratus* interleukin 2 mRNA (EU729351)
- 18) 2008 - *Uncinaria stenocephala* aspartic protease 1 mRNA (FJ 147198)
- 19) 2008 - *Hypoderma diana* serine protease 3 mRNA (EU 99953)
- 20) 2008 - *Fasciola hepatica* thioredoxin peroxidase mRNA (FJ168037)
- 21) 2009 - *Ancylostoma ceylanicum* putative glutamate-cysteine ligase modifier subunit (*gclm*) mRNA (FJ809760)
- 22) 2009 - *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase mRNA (FJ666097)
- 23) 2009 - *Fasciola hepatica* cathepsin 1L mRNA (FJ617001)
- 24) 2009 - *Fasciola hepatica* cathepsin 2L mRNA (FJ617000)
- 25) 2009 - *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase mRNA (FJ 147198)
- 26) 2009 - *Ancylostoma ceylanicum* putative glutamate-cysteine ligase catalytic subunit (*gclc*) mRNA (FJ809761)
- 27) 2010 - *Babesia microti* 18 S ribosomal RNA (EU882727)

Osiągnięcia naukowe uzyskane po doktoracie były również prezentowane na wielu konferencjach naukowych w kraju i za granicą:

- 1) Jaros S, Jaros D, **Wiśniewski M**, Wędrychowicz H. 2005. Molecular cloning of cDNA of a novel gene encoding phosphoglycerate kinase from adult *Fasciola hepatica*. 2nd Polish Biotechnology Conference, Gdańsk, 14-15.10.05.
- 2) **Wiśniewski M**, Jaros S, Baska P, Daniłowicz E, Długosz E, Jaros D, Harrison L.M, Cappello M, Wędrychowicz H. 2005. Research on vaccine against *Ancylostoma ceylanicum* using a variety of recombinant antigens". 2nd Polish Biotechnology Conference, Gdańsk, 14-15.10.05.
- 3) Baska P., Daniłowicz E., **Wisniewski M.**, Wędrychowicz H. 2005. Molecular cloning of cDNAs of excretory/secretory proteins from adult *Ancylostoma ceylanicum* using RACE-PCR method and expression of Ace-ASP-3 and Ace-ASP-4 in pET system. International Biology Students' Conference, Riga, Latvia 10-16.04.05.
- 4) Januszkiewicz K, **Wisniewski M**. 2005. Klonowanie cDNA *Ancylostoma ceylanicum* kodującego potencjalne antygen szczepionkowy Ace-ASP-5 przy użyciu techniki RACE-

- PCR. VII Ogólnopolskie Akademickie Seminarium Studentów Biotechnologii, Wrocław, 18-20.11.05.
- 5) Daniłowicz E, **Wisniewski M.** 2005. Ocena przydatności wybranych antygenów szczepionkowych *Ancylostoma ceylanicum* w zwalczaniu inwazji tęgoryjców. VII Ogólnopolskie Akademickie Seminarium Studentów Biotechnologii, Wrocław 18-20.11.05.
 - 6) **Wiśniewski M.**, Bąska P., Daniłowicz E., Januszkiewicz K., Jaros S., Harrison L.M., Cappello M., Wędrychowicz H. 2006. Vaccination of hamsters against *Ancylostoma ceylanicum* infections with cDNAs encoding three novel enzymes of the parasite. XI International Congress of Parasitology (ICOPA), Glasgow, Szkocja, 06-11.08.2006.
 - 7) **Wiśniewski M.**, Bąska P., Daniłowicz E., Januszkiewicz K., Jaros S., Harrison L.M., Cappello M., Wędrychowicz H. 2006. Molecular cloning and computational sequence analysis of cDNAs encoding three secretory proteins from adult *Ancylostoma ceylanicum*. XI International Congress of Parasitology (ICOPA), Glasgow, Szkocja, 06-11.08.06.
 - 8) **Wisniewski M.**, Lapinski M, Wędrychowicz H. 2006. Glutathione synthesis: a potential target for new medicine against ancylostomiasis. Ogólnopolska konferencja naukowa upamiętniająca 60 lat działalności Zakładu Parazytologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, 28.10.06.
 - 9) Jarząbkowski M, **Wiśniewski M.**, Bąska P, Wędrychowicz H. 2006. Molecular cloning of cDNA of a novel gene encoding cathepsin D- like protease from *Fasciola hepatica*. 2006. Ogólnopolska konferencja naukowa upamiętniająca 60 lat działalności Zakładu Parazytologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, 28.10.06.
 - 10) **Wiśniewski M.** Nowe metody w poszukiwaniu antygenów protekcyjnych, a postęp w pracach nad szczepionką przeciwko inwazjom tęgoryjców. 2006. Ogólnopolska konferencja naukowa upamiętniająca 60 lat działalności Zakładu Parazytologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, 28.10.06.
 - 11) Łapiński M, **Wisniewski M.** 2006. Syntetaza glutaminianowocysteinowa – potencjalne wykorzystanie w zwalczaniu tęgoryjczy. VIII Ogólnopolskie Seminarium Studentów Biotechnologii, Kraków, 17-19.11.06, .
 - 12) Cendrowski J, Lenard A, Korecka A, **Wisniewski M.** 2006. Klonowanie i ekspresja cDNA kodujących cytokiny *Mesocricetus auratus* z wykorzystaniem prokariotycznego układu

- ekspresyjnego pET. VIII Ogólnopolskie Seminarium Studentów Biotechnologii, Kraków 17-19.11.06.
- 13) **Wiśniewki M.** Jak biotechnologia pomaga w tworzeniu szczepionek nowej generacji?. 2007. Ogólnopolska konferencja naukowa „DNA – encyklopedia życia”. Warszawa, 15-29.04.07.
 - 14) Zawistowska A, **Wisniewski M.** 2007. Klonowanie cDNA i wstępna analiza sekwencji potencjalnych antygenów szczepionkowych *Fasciola hepatica*. XXXIV Przegląd Dorobku Kół Naukowych SGGW, Warszawa, 14.12.07.
 - 15) Lenard A, **Wisniewski M.** Analiza poziomu ekspresji cytokin w przebiegu tęgoryjczy u złotego chomika syryjskiego przy użyciu przeciwciał otrzymanych w kurzej surowicy. 2007. IX Ogólnopolskie Seminarium Studentów Biotechnologii, Łódź, 23-25.11.07.
 - 16) Cendrowski J, **Wisniewski M.** 2007. Klonowanie cDNA i analiza strukturalna translacyjnych czynników elongacyjnych *Ancylostoma ceylanicum* i ich ewentualne wykorzystanie jako cele dla leków. Ogólnopolskie Seminarium Studentów Biotechnologii, Łódź 23-25.11.07.
 - 17) Lenard A, Cendrowski J, **Wisniewski M.** 2007. Application of anti-IL-2 immunoglobulins obtained in chicken serum to hamster IL-2 expression dynamics analysis. International Life Sciences Students' Conference, Ljubljana, Słowenia, 7-11.11.07.
 - 18) Lenard A, **Wisniewski M.** 2007. Cloning of cDNA encoding TGF beta homolog from *Uncinaria Stenocephala* and its possible immunosuppressive function during hookworm invasion. Biocoin, Wilno, Litwa 20-24.03. 07.
 - 19) Cendrowski J, **Wisniewski M.** 2007. Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding *A. ceylanicum* translation elongation factors and possible use of EF-1alpha, EF-1beta and MEF as drug targets in hookworm infection. Biocoin, Wilno, Litwa 20-24.03. 07.
 - 20) Lenard A, **Wisniewski M.** 2007. Cloning and expression of cDNAs encoding *Mesocricetus auratus* cytokines using prokaryotic expression system pET. Biocoin, Wilno, Litwa 20-24.03. 07.
 - 21) Łapiński M, **Wiśniewski M.** 2008. Glutamate-cysteine synthetase modifier subunit: a novel approach to the treatment of the ancylostomiasis. International Life Sciences Student's Conference, SGGW, Warsaw 10-14.09.08.
 - 22) Łapiński M, **Wiśniewski M.** 2009. Klonowanie, ekspresja cDNA i analiza bioinformatyczna nowo poznanej ligazy glutamininowo-cysteinowej *Ancylostoma ceylanicum*. Parazytozy zwierząt wolno żyjących: świadomość narastającego problemu. Instytut Parazytologii PAN, Warszawa, 21-22.09.09.

- 23) **Siwińska A, Wiśniewski M.** 2010. Wykorzystanie systemu dwuhybrydowego do analizy interakcji podjednostek ligazy glutaminianowocysteinowej. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 24) **Siwińska A, Wiśniewski M.** 2010. Wpływ jonów As (III) i As (V) na poziom wewnątrzkomórkowego stężenia glutationu u *Ancylostoma ceylanicum*. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 25) Zawistowska A, Baska P, Wasyl K, **Wisniewski M**, Wędrychowicz H. 2010. Komputerowa analiza i określenie profilu wydzielania nowo poznanych proteaz cysteinowych *Fasciola hepatica* stadium NEJ. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 26) Wasyl K, Zawistowska A, Baska P, **Wisniewski M**, Wędrychowicz H. 2010. Klonowanie i ekspresja cDNA wybranych proteaz serynowych *Hypoderma diana*. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 27) Wasyl K, Zawistowska A, Baska P, **Wisniewski M**, Wędrychowicz H. 2010. Klonowanie i ekspresja cDNA nowo poznanej proteazy asparaginianowej *Uncinaria stenocephala*. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 28) Baska P, Zawistowska A, Januskiewicz K, **Wisniewski M**, Wędrychowicz H. 2010. Komputerowa analiza immunogenności nowo poznanych antygenów *Fasciola hepatica* stadium NEJ. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 01-03.09.10.
- 29) **Wiśniewski M**, Siwińska A, Łapiński M, Baska P. 2010. Molecular analysis of *Ancylostoma ceylanicum* glutamate-cysteine ligase. XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, 15-20.08.10.
- 30) Baska P, Zawistowska A, **Wisniewski M**, Januskiewicz K, Wędrychowicz H. 2010. Identifying, cloning and expression of five potential *Fasciola hepatica* vaccine antigens. XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, 15-20.08.10.
- 31) Długosz E, Siwińska A, **Wiśniewski M.** 2012. Influence of *Toxocara canis* glycans on *in vitro* proliferation and cytokine production by mouse spleen cells. ESCCAP *Toxocara* 2012, Budapest, 03-05.10.12.
- 32) Wasyl K, Zawistowska-Deniziak A, Baska P, **Wiśniewski M**, Wędrychowicz H. 2012. Molecular cloning and immunomodulatory effect of serine proteases from *Hypoderma diana*. XI European Multicolloquium of Parasitology (EMOP 11), Cluj-Napoca, Romania, 25-29.07.12.

5.3 Nagrody i wyróżnienia

W trakcie mojej działalności naukowej prezentowane wyniki podejmowanych przeze mnie badań spotkały się z uznaniem ekspertów krajowych jak i zagranicznych o czym mogą świadczyć następujące wyróżnienia i/lub stypendia przyznane za dotychczasowe osiągnięcia:

- 1) 2002 - Stypendium Fundacji im. S. Batorego przyznane w konkursie dla młodych naukowców na prowadzenie badań na Uniwersytecie Yale w USA, w zespole prof. M. Cappello, prowadzącego badania nad biologią molekularną *Ancylostoma ceylanicum*
- 2) 2003 - Wyróżnienie prezentacji: „Klonowanie cDNA potencjalnych antygenów szczepionkowych *Ancylostoma ceylanicum* metodą RACE-PCR”. Forum Młodych Biotechnologów, Łódź 25.06.2003
- 3) 2004 - Stypendium dla młodych naukowców przyznane przez organizatorów IX European Multicolloquium of Parasitology, Walencja, Hiszpania 2004.
- 4) 2004 - III miejsce za najlepiej prezentowaną pracę („Klonowanie i analiza sekwencji nukleotydowych oraz aminokwasowych nieznanych dotąd białek enzymatycznych i sekrecyjnych pasożytniczego krwio pijnego nicienia *Ancylostoma ceylanicum*”) na dorocznej Sesji Sprawozdawczej z Badań Naukowych prowadzonych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, 2004.
- 5) 2005 - I miejsce za pracę : „Molecular cloning of cDNAs of excretory/secretory proteins from adult *Ancylostoma ceylanicum* using RACE-PCR method and expression of Ace-ASP-3 and Ace-ASP-4 in pET system”. International Biology Students' Conference, 2005, Riga, Latvia.
- 6) 2006 – Pierwsze miejsce podczas prezentacji posterowej: “Glutathione synthesis: a potential target for new medicine against ancylostomiasis”. Ogólnopolska konferencja naukowa upamiętniająca 60 lat działalności Zakładu Parazytologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (2006)
- 7) 2006 - wyróżnienie za najlepiej prezentowaną pracę („Ocena skuteczności szczepienia wybranych antygenów szczepionkowych *Ancylostoma ceylanicum* na modelu laboratoryjnym *Ancylostoma ceylanicum* – chomik”) na dorocznej Sesji Sprawozdawczej z Badań Naukowych prowadzonych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, 2006

- 8) 2012 – I miejsce za najlepiej prezentowaną pracą („Potencjalne wykorzystanie ligazy glutaminianowo - cysteinowej w zwalczaniu tęgoryjczycy”) na dorocznej Sesji Sprawozdawczej z Badań Naukowych prowadzonych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, 2012.

W okresie od dnia uzyskania stopnia doktora nauk weterynaryjnych do dnia dzisiejszego uczestniczyłem w poniższych projektach badawczych jako wykonawca i/lub **kierownik** danego projektu przyznawanych przez Komitet Badań Naukowych lub Naukowe Centrum Nauki:

- 1) Analiza potencjału rozrodczego w żywicielu pośrednim, profilu białkowego i właściwości immunomodulacyjnych produktów ekskrecyjno-sekrecyjnych szczepu motylicy wątrobowej (*Fasciola hepatica*) występującego u żubrów Białowieskiego Parku Narodowego. (2011 -2014). Własny: N N304 156340, wykonawca
- 2) Określenie właściwości immunomodulacyjnych larwalnych antygenów *Toxocara canis*. (2011-2014). Własny: NN308573540, wykonawca.
- 3) Określenie ekspresji *gclm* i *gclc* w stadiach rozwojowych *Ancylostoma ceylanicum* przy użyciu Real-Time PCR. (2011). W ramach wewnętrznego trybu konkursowego Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW dla młodego pracownika nauki, **kierownik**.
- 4) Ligaza glutaminianowocysteinowa - potencjalne wykorzystanie w zwalczaniu tęgoryjczycy. (2008-2010). Własny: N N308 076134 , **kierownik**
- 5) Określenie właściwości immunomodulacyjnych produktów ES oraz rekombinowanych antygenów różnych postaci rozwojowych motylicy wątrobowej (*Fasciola hepatica*) (2008-2012). Własny: N N302 067834, wykonawca.

Jednocześnie w 2012 dokonałem recenzji grantu NCN.

5.4 Staże naukowe

W swojej działalności naukowej miałem możliwość uczestniczenia w projektach badawczych w znanych ośrodkach naukowych w kraju i za granicą:

- 1) **lipiec – grudzień 2003:** staż badawczy na Uniwersytecie Yale w New Haven (USA) (Division of Infectious Diseases, School of Medicine, Yale University, USA)
- 2) **lipiec – grudzień 2002:** staż badawczy na Uniwersytecie Yale w New Haven (USA). (Division of Infectious Diseases, School of Medicine, Yale University, USA)

- 3) **2000** – praktyki studenckie w Instytucie Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN w Warszawie.
- 4) **1998 – 2001**: staż badawczy i praca magisterska w Zakładzie Parazytologii i Inwazjologii, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.

ZBIORCZE ZESTAWIENIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

	Przed uzyskanie stopnia doktora		Po uzyskaniu stopnia doktora	
	Liczba publikacji w czasopismach z kategorii A MNiSW	3		16
Liczba publikacji w czasopismach z kategorii B MNiSW	1		7	
Liczba zdeponowanych sekwencji w bazie GenBank	5		22	
Prezentacje wyników na konferencjach naukowych	W Polsce	Za granicą	W Polsce	Za granicą
	7	3	22	10
	W całym okresie pracy naukowej			
Liczba cytowań (bez autocytowań)	A*		B*	
	25		51	
Liczba cytowań (z autocytowaniami)	A*		B*	
	59		87	
Sumaryczny współczynnik IF	20,998			
Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW	382			
Indeks Hirscha	5			

A* - według Web of Science - Core Collection, B* - według Web of Science – All Databases

6. Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauk

6.1 Osiągnięcia dydaktyczne

W ramach pracy dydaktycznej w omawianym okresie prowadziłem zajęcia na wydziałach SGGW w Warszawie:

WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ:

- Podstawy biologii molekularnej – wykłady (lata: 2005-2008)
- Parazytologia – (wybrane ćwiczenia z zakresu metod biologii molekularnej wykorzystywanych w parazytologii)

WYDZIAŁ OGRODNICTWA, BIOTECHNOLOGII I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU, kierunek BIOTECHNOLOGIA:

- Podstawy biologii molekularnej - wykłady i ćwiczenia – do dziś koordynator przedmiotu
- Immunosupresja w chorobach pasożytniczych – wykłady, koordynator przedmiotu do roku 2014
- Molekularne mechanizmy interakcji pasożyt – żywiciel – wykłady do 2015, ćwiczenia, do dziś koordynator przedmiotu,
- Zastosowanie biotechnologii w diagnostyce chorób zakaźnych i pasożytniczych (obecnie ćwiczenia), koordynator przedmiotu do roku 2015.

WYDZIAŁ NAUK O ZWIERZĘTACH, kierunek BIOINŻYNIERIA

- Inżynieria genetyczna – wybrane wykłady i ćwiczenia.
- Parazytologii molekularna – wybrane wykłady, ćwiczenia, koordynator przedmiotu.

WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOLOGII, kierunek BIOLOGIA

- Biologia komórki zwierzęcej – wybrane wykłady i ćwiczenia, koordynator przedmiotu.

Dodatkowo w roku 2012, decyzją Dziekana Wydziału Medycyny Weterynaryjnej prof. dr hab. Marianna Binka zostałem koordynatorem ze strony WMW tworzącego się w tym czasie kierunku Bioinżynieria na Wydziale Nauk o Zwierzętach.

6.2 Promotorstwa i recenzje prac

W trakcie swojej działalności naukowo-dydaktycznej byłem promotorem 8 prac magisterskich, 9 inżynierskich (w tym 3 zagranicznych, jako kopromotor) i 2 licencjackich oraz recenzentem 17 prac magisterskich, 14 inżynierskich (w tym jednej zagranicznej) i 2 licencjackich. Prace te były wykonywane przez studentów z kierunków: Biotechnologia i Biologia.

6.3 Współpraca naukowa

Od samego początku swojej działalności projekty, których uczestniczyłem prowadzone były we współpracy z ośrodkami naukowymi z kraju i za granicą:

- 1) Instytut Parazytologii PAN w Warszawie (zespół prof. H. Wędrychowicz)
- 2) Child Health Research Center, Yale University w New Haven, USA (zespół prof. M. Cappello)

co potwierdzają afiliacje w publikacjach, których jesteśmy współautorami oraz przebyte staże badawcze w obu ośrodkach.

6.4 Popularyzacja nauki

Od 2005 roku, gdy zostałem opiekunem Koła Naukowego Biotechnologów KNBiotech przy Międzywydziałowym Studium Biotechnologii (pracę opiekuna zakończyłem w 2014 roku) kontynuowaliśmy już prowadzone i rozpoczęliśmy nowe projekty zmierzające do popularyzacji nauki. Wśród nich należy wymienić przede wszystkim:

- 1) prowadzenie zajęć dla gimnazjalistów i licealistów w ramach Szkoły Festiwalu Nauki/BioCentrum w trzech tematach: 1) zbadaj swój DNA, 2) zabawy z bakteriami, 3) poznajemy mutanty i transformatny (zajęcia metodycznie i praktycznie opracowane przez nasze Koło). Zajęcia odbywały się przynajmniej raz w tygodniu i trwały 4-5 godzin. W kilku przypadkach prowadziliśmy takie zajęcia zamiejscowo, zapraszani przez szkoły bądź ośrodki wychowawcze (min. XLI Liceum Ogólnokształcące im. J. Lelewela w Warszawie, Miejski Ogród Jordanowski w Żyrardowie). Pełniąc funkcję koordynatora ze strony SGGW, w latach mojej działalności (2005-2014) z zajęć skorzystało **4322 uczniów**.
- 2) organizowanie lub współorganizowanie konferencji naukowych lub innych wydarzeń promujących naukę:
 - a) ogólnopolskiej konferencji naukowej upamiętniającej 60 lat działalności Zakładu Parazytologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (2006).

- b) cyklu konferencji: „DNA – encyklopedia życia” (2007, 2009, 2010)
- c) Przeglądu Dorobku Działalności Kół Naukowych SGGW (2007).
- d) stoiska podczas Pikniku Naukowego Radia Bis (2006, 2007).
- e) stoiska podczas Pikniku Naukowego Polskiego Radia i Centrum Nauki Kopernik (2009, 2010, 2011, 2013).
- f) stoiska MSB/kierunku Biotechnologia podczas Dni SGGW (2005-2014).
- g) cyklicznego, corocznego prowadzenia lekcji festiwalowych „Genetyczny alfabet, czyli AGC DNA” w ramach Festiwalu Nauki skierowanego dla dzieci ze szkół podstawowych (2004-2013).
- h) International Life Sciences Students’ Conference, Warsaw 2008.
- i) Międzyuczelnianego Sympozjum Biotechnologiczne „Symbioza” (2012, 2013, 2014)
- j) wewnętrznych seminariów w ramach działania Koła Naukowego, często z zaproszonymi gośćmi przez cały okres funkcjonowania Koła.
- k) szkolenia z podstawowych technik biologii molekularnej przygotowującej studentów do prowadzenie zajęć w ramach Szkoły Festiwalu Nauki.

Niezależnie od Koła Naukowego KNBiotech przy MSB na polu popularyzacji nauki działałem również poprzez:

- opracowanie skryptu i współprowadzenie kursu z podstaw biologii molekularnej dla pracowników i doktorantów Wydziału Ogrodniczego w Warszawie (2002).
- sprawowanie opieki nad laureatem olimpiady biologicznej z roku 2006, który w nagrodę za osiągnięte wyniki odbywał w moim laboratorium staż badawczy.
- udział w wydarzeniu Noc Badaczy (Reserchers Night), w ramach którego poprowadziłem zajęcia praktyczne zatytułowane „Nowa generacja szczepionek – szczepionki DNA” (2006).

Marcin Wiśniewski!