

Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w
Warszawie
Ul. Nowoursynowska 159,
02-776 Warszawa
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Agnieszka Sałamaszyńska-Guz

Zakład Mikrobiologii
Katedra Nauk Przedklinicznych
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wniosek

z dnia 30.05.2023

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie **nauk weterynaryjnych** w dyscyplinie¹ **weterynaria**.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Określenie wpływu metylacji rybosomalnego RNA na wirulencję *Campylobacter jejuni*.

Wnioskuje – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym***²

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art.

232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

.....
(podpis wnioskodawcy)

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

Załączniki:

Załącznik 1 – Dane wnioskodawcy

Załącznik 2 – Kopia dyplomu

Załącznik 3 – Autoreferat

Załącznik 4 – Wykaz osiągnięć naukowych

Załącznik 5 – Kopie artykułów jednotematycznego cyklu

Załącznik 6 – Kopie oświadczeń współautorów

Załącznik 7 – Kopie dodatkowych zaświadczeń

Dokument elektroniczny

Miejsce i data sporządzenia dokumentu

2023-06-01

Dane nadawcy

AGNIESZKA SAŁAMASZYŃSKA-GUZ

PESEL: [REDACTED]

Telefon: [REDACTED]

Email: [REDACTED]

Dane adresata

RADA DOSKONAŁOŚCI NAUKOWEJ (00-901 WARSZAWA,
WOJ. MAZOWIECKIE)

WNIOSEK

Wniosek o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

Dzień dobry,
przesyłam wniosek o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego oraz wymagane dokumenty w języku polskim i angielskim.

Z poważaniem

Agnieszka Sałamaszyńska-Guz

Załączniki:

1. [dokumentyASG_j_polski.zip](#) - Wniosek i dokumenty w języku polskim
2. [DokumentyASG_j_angielski.zip](#) - Wniosek i dokumenty w języku angielskim

Dokument został podpisany, aby go zweryfikować należy użyć oprogramowania do weryfikacji podpisu. Data złożenia podpisu:

2023-06-01T13:50:57.451+02:00

Podpis elektroniczny

Autoreferat

Dr Agnieszka Sałaszyńska-Guz

Zakład Mikrobiologii
Katedra Nauk Przedklinicznych
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2023

1. Imię i nazwisko.

Agnieszka Sałamaszyńska-Guz

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2006 – doktor nauk weterynaryjnych; Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie; tytuł rozprawy doktorskiej: „Analiza funkcjonalna produktów dwóch genów *Campylobacter jejuni* posiadających ortologi w genomie *Helicobacter pylori* i *Brachyspira* sp.” Promotorem w przewodzie doktorskim była dr hab. Danuta Klimuszko (Zakład Bakteriologii i Biologii Molekularnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie), a recenzentami: prof. dr hab. Halina Wędrychowicz (Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie) oraz prof. dr hab. Elżbieta K. Jagusztyn-Krynicka (Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski).

2001 – magister biologii, specjalizacja biotechnologia; Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski; tytuł pracy magisterskiej: „Identyfikacja genów *Helicobacter pylori* kodujących immunodominujące białka.” Opiekunem pracy była prof. dr hab. Elżbieta K. Jagusztyn-Krynicka

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

Od 2013 do dnia dzisiejszego: Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, adiunkt.

Od 27.12.2007 do 2012: Zakład Bakteriologii i Biologii Molekularnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, adiunkt.

w tym:

2017 urlop macierzyński;

2009 - 2010 urlop macierzyński;

2006 - 2007 urlop macierzyński.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Tytuł osiągnięcia naukowego:

***Określenie wpływu metylacji rybosomalnego RNA na wirulencję
Campylobacter jejuni.***

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, ze szczegółowym omówieniem wkładu wnioskodawcy:

- 1) **Salamaszyńska-Guz A**, Taciak B, Kwiatek A, Klimuszko D. The Cj0588 protein is a *Campylobacter jejuni* RNA methyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun.* (2014) 6;448(3):298-302. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.104.

(IF₂₀₁₄ = 2.559; IF_{5-letni} = 2.750; MEiN = 20)

Wkład habilitanta: 80 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (oczyszczenie metylotransferazy Cj0588, wykazanie jej aktywności *in vitro*, określenie parametrów kinetycznych reakcji katalizowanych przez Cj0588, konstrukcja mutanta w genie kodującym metylotransferazę Cj0588 i oznaczenie fenotypu mutana – oporność na kapreomycynę, zdolność ruchu);
- przygotowanie manuskryptu, rycin i tabel;
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

- 2) **Salamaszyńska-Guz A**, Rose S, Lykkebo C, Taciak B, Bącal P, Uśpieński T, Douthwaite S. Biofilm Formation and Motility Are Promoted by Cj0588-Directed Methylation of rRNA in *Campylobacter jejuni*. *Front Cell Infect Microbiol.* (2018) 18;7:533. doi: 10.3389/fcimb.2017.00533.

(IF₂₀₁₈ = 3.518; IF_{5-letni} = 4.855; MEiN = 40)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (konstrukcja szczepów *C. jejuni* z różnymi wersjami białka Cj0588, wykazanie aktywności utworzonych wersji białka Cj0588 *in vivo* metodą primer extension, oczyszczenie metylotransferaz i wykazanie ich aktywności *in vitro*, określenie parametrów kinetycznych reakcji katalizowanych przez wersje białka Cj0588 i oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność ruchu, zdolność tworzenia biofilmu);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu, rycin i tabel.

3) **Sałaszyńska-Guz A**, Serafińska I, Bącal P, Douthwaite S. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* are enhanced by displaying a mycobacterial TlyA methylation pattern in its rRNA. *Cell Microbiol.* (2020) 22(7):e13199. doi: 10.1111/cmi.13199.

(IF₂₀₂₀ = 3.715; IF_{5-letni} = 3.483 MEiN = 140)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (konstrukcja szczepu *C. jejuni* produkującego białko TlyA z *Mycobacterium* spp., wykazanie aktywności obcego białka w komórkach *C. jejuni* metodą primer extension, oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność ruchu, zdolność tworzenia biofilmu, adhezji oraz inwazji do linii komórkowej nabłonka jelita Caco-2, indukcji IL-8, zdolność przeżywania w makrofagach);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu;
- przygotowanie rycin i tabel;
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

4) **Sałaszyńska-Guz A**, Kronholm Rasmussen P, Murawska M, Douthwaite S. *Campylobacter jejuni* Virulence Factors Identified by Modulating Their Synthesis on Ribosomes With Altered rRNA Methylation. *Front Cell Infect Microbiol.* (2022) 13;11:803730. doi: 10.3389/fcimb.2021.803730.

(IF₂₀₂₂ = 6.073; IF_{5-letni} = 5.369; MEiN = 100)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (analiza proteomów szczepów *C. jejuni*, konstrukcja mutantów w genach *cdtC* i *mlaEFD*, izolacja OMV, oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność tworzenia biofilmu, adhezji oraz inwazji do linii komórkowej nabłonka jelita Caco-2, indukcji IL-8);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu;
- przygotowanie rycin i tabel
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów

Sumaryczny współczynnik oddziaływania czasopism, w których ukazały się publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, zgodnie z rokiem opublikowania	15.865
Sumaryczna liczba punktów MEiN za publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	300

Praca poz. (2) została uhonorowana Nagrodą III stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za pracę oryginalną opublikowaną w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR (Warszawa 2019 rok).

Praca poz. (3) została uhonorowana Nagrodą I stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za pracę oryginalną opublikowaną w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR (Warszawa 2021 rok).

Wyniki badań przedstawione w artykułach, stanowiących osiągnięcie naukowe, zostały uzyskane w ramach realizowanych projektów badawczych, finansowanych przez:

- Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, nr N N308 237736 (2009-2013) - **kierownik projektu** Agnieszka Sałamaszyńska-Guz;
- Konsorcjum Naukowe KNOW „Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność” (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego decyzja nr 05-1/KNOW2/2015) UMO-KNOW2015/SGGW/LAB1/02/6 (2015-2016) - **kierownik projektu** Agnieszka Sałamaszyńska-Guz;
- Narodowe Centrum Nauki w Krakowie HARMONIA nr UMO-2018/30/M/NZ6/00429 (2019-2024) - **kierownik projektu** Agnieszka Sałamaszyńska-Guz.

Omówienie celu naukowego wymienionych prac i osiągniętych wyników

Wprowadzenie

Chorobotwórczość *Campylobacter jejuni*

Zakażenia *Campylobacter* spp. są obecnie główną przyczyną bakteryjnego zapalenia jelit u ludzi w wielu krajach rozwiniętych. Po dostaniu się bakterii do organizmu gospodarza, *Campylobacter* przylega i wnika do komórek nabłonka wyścielejających przewód pokarmowy, wywołując silną odpowiedź zapalną. Powoduje to umiarkowaną lub ciężką biegunkę, może również prowadzić do posocznicy, poinfekcyjnego zapalenia stawów, zespołu Guillaina-Barrégo lub zespołu Millera-Fishera. Dodatkowo *Campylobacter* spp. został ostatnio powiązany z chorobami zapalnymi jelit, takimi jak choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego (Johnson i wsp., 2017). Drób jest najczęstszym źródłem zakażeń, w szczególności przez *Campylobacter jejuni*. Przenoszenie na ludzi najczęściej następuje w czasie obróbki oraz konsumpcji drobiowych produktów mięsnych zanieczyszczonych tym patogenem podczas uboju i przetwarzania tusz (Hermans i wsp., 2011).

Komórki *C. jejuni* są zaopatrzone w rzęski umożliwiające penetrację warstwy śluzu pokrywającej komórki nabłonka jelit. Wpływają nie tylko na ruchliwość, ale również na chemotaksję, adhezję do komórki gospodarza, wydzielanie czynników wirulencji, autoaglutynację, tworzenie biofilmu i unikanie układu odpornościowego (Guerry 2007). Unikatową cechą rzęsek *C. jejuni* jest silna glikozylacja białek oraz brak miejsc TLR5 rozpoznawanych przez układ odpornościowy gospodarza (Andersen-Nissen et al. 2005). Z rzęskami powiązany jest również system sekrecji typu III (fT3SS), który wydziela oprócz białek budujących rzęski, również białka Cia (*Campylobacter* invasion antigen) i FlaC, które zaangażowane są w inwazję komórek nabłonka (Barrero-Tobon i Hendrixson 2014). U niektórych szczepów *C. jejuni* obecny jest również system sekrecji typu VI (T6SS) zdolny do dostarczania białek efektorowych nie tylko bezpośrednio do komórek gospodarza, ale także do innych komórek bakteryjnych. System ten bierze udział w kolonizacji gospodarza (Liaw i wsp., 2019). Oprócz ruchliwości kluczowe dla patogenności *C. jejuni* są adhezja i inwazja do komórek nabłonka oraz tworzenie toksyn. Najlepiej poznaną adhezyną jest białko CadF (*Campylobacter* adhesion protein to fibronectin). Na powierzchni komórek *Campylobacter* znajdują się lipooligosacharydy (LOS), które otoczone są otoczką polisacharydową. Reszty cukrowe glikolipidów i glikoprotein na zewnętrznej błonie komórkowej biorą udział w adhezji, ale przede wszystkim stymulują odpowiedź immunologiczną gospodarza (Kreling i wsp., 2020). Kontakt z komórkami nabłonka powoduje wydzielanie przez *C. jejuni* białek Cia (Larson i wsp., 2008). Jedno z nich CiaC jest wymagane do maksymalnej inwazji komórek gospodarza przez *C. jejuni* (Neal-McKinney i Konkel 2012). Następnie bakterie wnikają do komórki, głównie poprzez endocytozę, w procesie, który wymaga wywołanej przez białka bakteryjne reorganizacji cytoszkieletu (Biswas wsp., 2003). Po wnikięciu do enterocytów bakterie przeżywają w wyspecjalizowanych wakuolach zwanych CCV (*Campylobacter*-containing vacuole) (Konkel i wsp., 1992). *Campylobacter* produkuje toksynę CDT (cytolethal distending toxin), która niszczy komórki kosmków jelitowych. Jest to toksyna typu AB₂. Dwie podjednostki: CdtA i CdtC pośredniczą w wiązaniu i internalizacji do komórki gospodarza, natomiast CdtB jest aktywnym/toksycznym składnikiem toksyny. CdtB dociera do jądra komórki i dzięki aktywności deoksyrybonukleazy powoduje pęknięcia cząsteczki DNA. Uszkodzenie DNA przez CdtB uniemożliwia podział komórek i inicjuje apoptozę (Abuoun i wsp., 2005). Uszkodzenie nabłonka jelitowego prowadzi do utraty jego funkcji, indukcji stanu zapalnego, uwolnienia elektrolitów do światła jelita, a w końcu do silnej i

krwawej biegunki. Ponadto adhezji bakterii do komórek nabłonka towarzyszy silna prozapalna odpowiedź immunologiczna (Aguilar i wsp., 2014).

Głębsze zrozumienie mechanizmu kolonizacji i tworzenia biofilmu pomogłoby zmniejszyć częstość występowania kolonizacji *Campylobacter* spp. u drobiu oraz liczbę przypadków kampylobakteriozy u ludzi. Ma to zasadnicze znaczenie w świetle rosnącej oporności na antybiotyki u *Campylobacter* spp. oraz możliwości powikłań poinfekcyjnych.

Modyfikacje rybosomalnego rRNA

Rybosom jest miejscem syntezy białek. Jest to jedna z najbardziej konserwatywnych i wyrafinowanych maszyn molekularnych komórki. Rybosom składa się z dwóch podjednostek, małej (SSU, 30S u bakterii) i dużej (LSU, 50S u bakterii), które łączą się, tworząc kompletny rybosom (70S u bakterii). Chociaż każda podjednostka rybosomu zawiera liczne białka rybosomalne, to rRNA odgrywa najważniejszą rolę funkcjonalną. We wszystkich badanych organizmach rRNA zawiera zmodyfikowane reszty nukleotydowe, którymi w większości przypadków są metylacje. Metylacja rRNA jest katalizowana przez specyficzne enzymy metylotransferazy, z których każdy jest zwykle odpowiedzialny za modyfikację tylko jednego, a rzadko dwóch, specyficznych nukleotydów (Purta i wsp., 2009; Sergiev i wsp., 2018).

Najlepiej poznany został wzór modyfikacji rRNA u *Escherichia coli*. Rybosomalny RNA *E. coli* zawiera 36 modyfikacji nukleotydów, są to 23 metylacje, 10 pseudourydyn, i po jednej metylowanej pseudourydynie, dihydrourydynie i hydroksycytydynie. Większość zmodyfikowanych nukleotydów znajduje się w funkcjonalnych centrach rybosomu, a wiele z nich jest konserwatywnych pośród gatunków bakterii. Modyfikacje te mogą wywierać więc wpływ na funkcjonowanie rybosomu oraz aparatu translacyjnego. Mimo wielu badań nie istnieje jednoznacznie określona rola procesu metylacji (Sergiev i wsp., 2011). Modyfikacje wpływają na strukturę i właściwości chemiczne nukleotydów. Różne modyfikacje działają w różny sposób, stabilizują konformację, w niektórych przypadkach ułatwiają zmiany konformacyjne rRNA. Pewne modyfikacje mogą również działać jako punkty kontrolne w powstawaniu podjednostek rybosomalnych, gdzie enzymy modyfikujące rozpoznają specyficzne produkty pośrednie i blokują dalsze etapy składania, dopóki te poprzedzające nie zostaną poprawnie zakończone. Wreszcie niektóre modyfikacje rRNA wpływają na oporność na antybiotyki. Inną ważną funkcją może być wpływ obecności modyfikowanych

nukleotydów w rRNA na oddziaływania rybosomu z innymi cząsteczkami (Poehlsgaard i Douthwaite 2005; Sergeeva i wsp., 2015).

Pełna rola modyfikacji rRNA u bakterii pozostaje do wyjaśnienia. Indywidualnie żadna z modyfikacji rRNA nie jest konieczna do przeżycia komórek (Sergeeva i wsp., 2015), chociaż większość z nich jest wymagana do optymalnego wzrostu. Wcześniej zauważono, że utrata niektórych modyfikacji rRNA powoduje szereg efektów plejotropowych i powoduje utratę zjadliwości bakterii chorobotwórczych (Sergiev et al., 2011).

Białko TlyA

Liczne bakterie produkują białko TlyA, w tym bakterie patogenne z rodzaju *Mycobacterium*, a także *C. jejuni* i *Brachyspira hyodysenteriae*, chociaż enzym ten jest nieobecny u *E. coli*. TlyA zostało powiązane z różnymi rolami w wirulencji, w tym ze zdolnością do hemolizy (Wren i wsp., 1998) i opornością na antybiotyki (Maus i wsp., 2005). Rola TlyA w oporności na klinicznie ważne antybiotyki, takie jak tuberaktynomycyna, kapreomycyna i wiomycyna, jest związana z jego funkcją jako metylotransferazy rRNA (Johansen i wsp., 2006). Wyróżnia się dwa typy metylotransferaz TlyA: typ I (TlyA^I), który 2'-O-metyluje wyłącznie nukleotyd C1920 w 23S rRNA i typ II, dłuższa wersja TlyA, który modyfikuje nie tylko nukleotyd C1920, ale także nukleotyd C1409 w 16S rRNA (Johansen i wsp., 2006; Monshupanee i wsp., 2012). Nukleotydy C1409 i C1920 są odpowiednio zlokalizowane na granicy podjednostek rybosomalnych 30S oraz 50S i znajdują się w miejscu wiązania kapreomycyny/wiomycyny po połączeniu podjednostek (Johansen i wsp., 2006; Stanley i wsp., 2010, Maus i wsp., 2005; Monshupanee i wsp., 2012). Mniej jasne jest jednak, w jaki sposób TlyA może angażować się w inne aspekty zjadliwości, takie jak hemoliza, które zostały przypisane temu białku (Wren i wsp. 1998, Monshupanee 2013).

Podjęte przeze mnie badania miały na celu wyjaśnienie znaczenia (albo udziału) białka TlyA w wirulencji bakterii poprzez opracowanie systemu eksperymentalnego, w którym dobrze ugruntowana aktywność 2'-O-metylacji białka jest oddzielona od innych jego przypuszczalnych aktywności.

Szczegółowe cele badawcze, prowadzonych przeze mnie doświadczeń, dotyczyły:

- 1. Oznaczenie aktywności metylotransferazy rRNA białka Cj0588.**
- 2. Analiza wpływu metylacji C1920 23S rRNA na wirulencję *C. jejuni*.**
- 3. Oznaczenia sposobu w jaki utrata metylacji rybosomalnego RNA wpływa na wirulencję *C. jejuni*.**

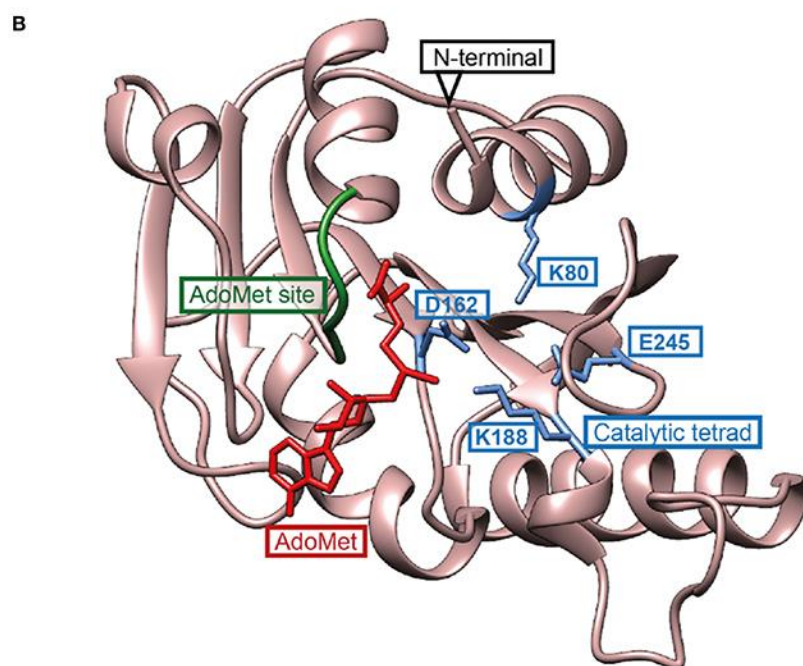
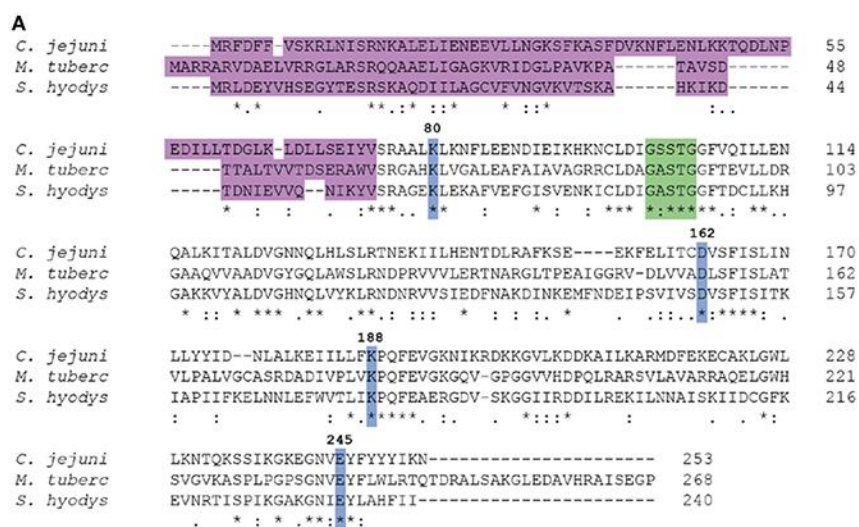
Cel 1: Oznaczenie aktywności metylotransferazy rRNA białka Cj0588.

Analiza sekwencji aminokwasowej białka Cj0588 *C. jejuni* wykazała, że jest to metylotransferaza rRNA. Białko składa się z dwóch domen S4 oraz FtsJ, która zawiera aminokwasy tworzące centrum katalityczne enzymu K80- D162- K188. Taka budowa białka sugeruje, że należy do rodziny białek TlyA. Enzym nie zawiera czterech N-końcowych aminokwasów (A2-R3-R4-A5) i ma krótszy o około 20 aminokwasów C-koniec. Te cechy pozwalają na zaliczenie go do grupy TlyA¹ (Rys.1A). Ta grupa przyłącza grupę metylową tylko do nukleotydu C1920 cząsteczki 23S rRNA dużej podjednostki rybosomu. Wykonany model 3D białka potwierdził przynależność białka Cj0588 do rodziny metylotransferaz rRNA (Rys.1B).

Wykonana analiza *in silico* została również potwierdzona eksperymentalnie. Aktywność białka Cj0588 jako metylotransferazy rRNA sprawdzono *in vitro* i *in vivo*. Gen kodujący białko Cj0588 wklonowano do wektora pET28, indukowano nadprodukcję białka w komórkach *E. coli*, a następnie oczyszczano białko. Aktywność otrzymanego białka badano w obecności substratu S-adenozyl-L-metioniny (SAM) oraz kolejno nieoczyszczonej frakcji rybosomów, oczyszczonych podjednostek rybosomalnych 30S i 50S wyizolowanych z *E. coli*. Białko wykazywało aktywność w obecności frakcji nieoczyszczonych rybosomów i oczyszczonych podjednostek 50S. W doświadczeniu udało się również udowodnić, że białko metyluje 23S rRNA z podjednostki 50S rybosomu.

Kolejne doświadczenia miały na celu oznaczenie pozycji metylowanego nukleotydu w cząsteczce 23S rRNA. Skonstruowano mutantą *C. jejuni*, w którym nie powstawało białko Cj0588 i szczep z komplementacją wprowadzonej mutacji. Przeprowadzono analizę rybosomalnego RNA utworzonych szczepów wykorzystując metodę primer extension i spektrometrię mas MALDI-ToF. Szczepy dziki i z wprowadzoną komplementacją miały zmodyfikowany nukleotyd C1920 23S rRNA, natomiast cząsteczka 23S rRNA mutantą nie miała modyfikacji wspomnianego nukleotydu. Wyniki doświadczeń wykazały, że białko

Cj0588 modyfikuje nukleotyd C1920 cząsteczki 23S rRNA dużej podjednostki rybosomu, nie modyfikuje cząsteczki 16S rRNA małej podjednostki rybosomu, jest więc metylazą TlyA z grupy I.



Rysunek 1. Struktura metylotransferazy TlyA *C. jejuni* (Sałamaszyńska-Guz i wsp., 2018).

(A) Porównanie sekwencji aminokwasowej homologue TlyA białka *C. jejuni* Cj0588 (A0A0M4TPK5) z białkiem *M. tuberculosis* typ II TlyA (P9WJ63) i białkiem *S. hyodysenteriae* typ I TlyA (Q06803). Cztery dodatkowe reszty na N-końcu i wydłużony C-koniec są cechami charakterystycznymi enzymów TlyA typu II, które oprócz 23S rRNA C1920, modyfikują nukleotyd 16S rRNA C1409 (Monshupanee et al., 2012). Domena S4 wiążąca RNA białek jest pokazana w kolorze fioletowym. Kluczowe reszty aminokwasowe w centrum katalicznym są zaznaczone na niebiesko (numeracja reszt Cj0588), a miejsce wiązania kofaktora AdoMet pokazano na zielono. Wysoce konserwowane reszty są oznaczone gwiazdkami. Sekwencje zostały dopasowane w Clustal Omega (Sievers i wsp., 2011).

(B) Model domeny katalicznej białka Cj0588 na podstawie struktury krystalicznej o rozdzielczości 1,7 Å białka TlyA *M. tuberculosis* (PDB: 5EOV) (Witek i in., 2017). W strukturze brakuje N-końcowej domeny S4 wiążącej RNA (Witek i wsp., 2017). Kataliczna tetrada (niebieska), kofaktor AdoMet (SAM) (czerwony) został umieszczony obok reszt w wysoce konserwatywnym miejscu wiązania AdoMet (zielony).

Scharakteryzowano również dokładniej enzymatyczną aktywność białka Cj0588. Aby sprawdzić znaczenie centrum katalitycznego białka Cj0588, utworzono mutanty *C. jejuni* w genie *cj0588* kodujące białko TlyA. Kolejne aminokwasy centrum katalitycznego zostały zamienione na alaninę (K80A, D162A, D188A). Sprawdzono metodami primer extension i spektrometrią mas MALDI-ToF czy szczepy *C. jejuni* ze zmodyfikowanymi w ten sposób białkami mają zmetylowany nukleotyd C1920 w 23S rRNA. Okazało się, że tak zmienione białko Cj0588 traci zdolność do modyfikacji cząsteczki 23S rRNA.

Oznaczono parametry kinetyczne reakcji katalizowanych przez wersje białka Cj0588. Do wklonowanego w plazmidzie pET28 genu *cj0588* wprowadzono mutacje powodujące substytucje wspomnianych wcześniej aminokwasów centrum katalitycznego (K80A, D162A, D188A). Indukowano ekspresję białek w komórkach *E.coli* i oczyszczano. Uzyskano wersje białka, w którym zamieniono po jednym aminokwasie z centrum katalitycznego. Przeprowadzono reakcje metylacji *in vitro* w obecności enzymu, substratu oczyszczonych podjednostek 50S i kofaktora S-adenozyl-L-metioniny. Na wiązanie kofaktora nie miały wpływu utworzone substytucje, natomiast wiązanie substratu przez zmodyfikowane enzymy zmieniło się nieznacznie. Wartość K_m wzrosła dwukrotnie dla wersji białka z substytucjami D162A, D188A i trzykrotnie dla białka z substytucją K80A.

Sprawdzono również efekt braku modyfikacji C1920 23S rRNA na fenotyp *C. jejuni*. Wiadomo, że obecność modyfikacji wprowadzanych przez białka TlyA wpływa na interakcję antybiotyku kapreomycyny z rybosomem (Maus et al., 2005; Johansen et al., 2006). Brak modyfikacji wprowadzanej przez Cj0588 zwiększa wartość MIC *C. jejuni* dla kapreomycyny dwukrotnie i zmniejsza zdolność podjednostek rybosomu do tworzenia funkcjonalnego rybosomu 70S. Obserwacje fenotypów szczepu nieprodukującego białka Cj0588 i szczepów produkujących białka nie mające zdolności do wprowadzania modyfikacji C1920 w 23S rRNA, potwierdzają, że to wprowadzana modyfikacja ma wpływ na łączenie podjednostek rybosomu.

Została udowodniona aktywność metylotransferazy rRNA białka Cj0588.

Przedstawione wyniki zostały opublikowane w pracy oryginalnej:

Sałamaszyńska-Guz A, Taciak B, Kwiatek A, Klimuszko D. The Cj0588 protein is a *Campylobacter jejuni* RNA methyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun.* (2014) 6;448(3):298-302. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.104.

Sałamaszyńska-Guz A, Rose S, Lykkebo C, Taciak B, Bącal P, Uśpieński T, Douthwaite S. Biofilm Formation and Motility Are Promoted by Cj0588-Directed Methylation of rRNA in *Campylobacter jejuni*. *Front Cell Infect Microbiol.* (2018) 18;7:533. doi: 10.3389/fcimb.2017.00533.

Cel 2: Analiza wpływu metylacji C1920 23S rRNA na wirulencję C.jejuni.

Aby określić wpływ utraty białka Cj0588 na wirulencję *C. jejuni* wykorzystano utworzone wcześniej szczepy:

- szczep dziki (wyjściowy) *C. jejuni* 81-176;
- szczep *C. jejuni* nieprodukujący białka Cj0588 i nie mający modyfikacji C1920 cząsteczki 23S rRNA;
- szczep *C. jejuni* produkujący białko Cj0588, ale bez zdolności do metylacji C1920 cząsteczki 23S rRNA (produkowane przez szczep białko TlyA miało substytucję aminokwasu D188A w centrum katalitycznym).

Następnie zostały zbadane zdolności wirulencji badanych szczepów. Sprawdzone zdolność do ruchu, adhezji i wnikania do komórek nabłonka linii Caco-2, zdolność indukcji IL-8 w komórkach nabłonka T84, przeżywalność w makrofagach mysich RAW 264.7 oraz zdolność do tworzenia biofilmu.

Usunięcie z komórki genu *cj0588* powodowało zmniejszenie zdolności poruszania badanego szczepu. Komplementacja wprowadzonej mutacji dziką wersją genu przywracała zdolność ruchu, ale nie w stopniu porównywalnym do szczepu dzikiego. Natomiast komplementacja mutacji genem kodującym białko z substytucją aminokwasu z centrum katalitycznego (białko było obecne w komórce, ale nie wykazywało aktywności metylotransferazy) nie przywracała zdolności ruchu. Utrata genu kodującego białko Cj0588/TlyA powodowała również obniżenie zdolności adhezji do linii komórek nabłonka jelita Caco-2, indukcji IL-8 przez linie komórek nabłonka jelita Caco-2 i T84, zdolność przeżycia w makrofagach mysich linii RAW 264.7 oraz zdolność tworzenia biofilmu na powierzchni szklanej i polistyrenowej. Podobnie jak w przypadku zdolności ruchu, obniżone

z powodu braku w komórce białka Cj0588 cechy zostały przywrócone dzięki komplementacji mutacji dziką wersją genu *cj0588*, która jednak nie przywracała badanych cech do poziomu obserwowanego u szczepu dzikiego. Komplementacja wprowadzonej mutacji wersją genu kodującego białko z substytucją aminokwasu centrum katalitycznego nie zmieniała fenotypu i szczep wykazywał fenotyp podobny do szczepu mutanta.

Ciekawe wyniki zaobserwowano, gdy wprowadzona mutacja została komplementowana przez wersję genu *TlyA* z *Mycobacterium smegmatis*. *TlyA* z *Mycobacterium* spp. należy do grupy metylotransferaz rRNA *TlyA^{II}* i modyfikuje nie tylko nukleotydy C1920 23S rRNA, ale także nukleotydy C1409 cząsteczki 16S rRNA. Skonstruowany szczep *C. jejuni* nie zawierał czynnego własnego genu *TlyA^I*, ponieważ został on wyłączony, wprowadzono natomiast do jego genomu gen *TlyA^{II}*. Metylacja nukleotydów w C1409 cząsteczce 16S rRNA i C1920 w 23S rRNA potwierdzono metodą primer extension. W tym przypadku również sprawdzono wirulencję szczepu. Wykazywał on podwyższoną w porównaniu do szczepu dzikiego zdolność adhezji do linii komórek Caco-2, indukcji IL-8 przez komórki Caco-2 i T84, a także miał podwyższoną zdolność produkcji biofilmu. Ruch i przeżywalność w makrofagach były na poziomie zbliżonym do szczepu dzikiego.

Przedstawione badania wykazały, że obecność genu kodującego białko TlyA wpływa na wirulencję C. jejuni. Dodatkowo wykazano, że to obecność modyfikacji rRNA wprowadzana przez TlyA, a nie samo białko, ma wpływ na badane cechy fenotypowe C. jejuni.

Przedstawione wyniki zostały opublikowane w pracach oryginalnych:

Salamaszyńska-Guz A, Rose S, Lykkebo C, Taciak B, Bączal P, Uśpieński T, Douthwaite S. Biofilm Formation and Motility Are Promoted by Cj0588-Directed Methylation of rRNA in *Campylobacter jejuni*. *Front Cell Infect Microbiol.* (2018) 18;7:533. doi: 10.3389/fcimb.2017.00533.

Salamaszyńska-Guz A, Serafińska I, Bączal P, Douthwaite S. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* are enhanced by displaying a mycobacterial *TlyA* methylation pattern in its rRNA. *Cell Microbiol.* (2020) 22(7):e13199. doi: 10.1111/cmi.13199.

Cel 3: Oznaczenie sposobu w jaki utrata metylacji rybosomalnego RNA wpływa na wirulencję C. jejuni.

Dotychczasowe wyniki pokazały, że utrata wprowadzanej przez białko TlyA metylacji nukleotydu C1920 w 23S rRNA osłabia kilka cech wirulencji *C. jejuni*. Aby sprawdzić jakie białka są powiązane z obserwowanymi zmianami w wirulencji szczepów przeprowadzono analizę proteomów czterech szczepów. Metodą spektrometrii mas LC MS/MS sprawdzono skład białek w poszczególnych szczepach i porównano ze sobą.

Genom *C. jejuni* 81-176 koduje 1813 otwartych ramek odczytu (ORF), analizując proteom metodą spektrometrii mas wykryliśmy 1482 produkty białkowe, co stanowi 82% proteomu. Mutacja w genie kodującym białko TlyA spowodowała zmiany ilościowe 50 białek, z czego poziom ekspresji 27 białek wzrósł w porównaniu do szczepu dzikiego, a poziom ekspresji 23 białek zmalał. Następnie analizę proteomu powtórzono, uwzględniając dwa dodatkowe szczepy, z których pierwszy to mutant w genie *tlyA* z komplementacją genem *tlyA* kodującym aktywne białko (który przywraca fenotyp wirulencji), a drugi to mutant z komplementacją genem *tlyA* kodującym nieaktywne białko (wariant K188A, który nie przywraca zjadliwości). Porównanie proteomów tych dwóch szczepów, które są genetycznie identyczne, z wyjątkiem zmiany w allelu *tlyA*-188, wykazało, że liczba istotnych zmian została ograniczona do czterech białek.

Jedno z tych białek, CdtC, oddziałuje z podjednostkami CdtA i CdtB, tworząc toksynę CDT (cytolethal distending toxin). U szczepów *C. jejuni* bez modyfikacji rRNA wprowadzanej przez TlyA, ilość białka CdtC została zmniejszona do 39 % poziomu szczepu dzikiego. Komplementacja aktywną kopią *tlyA* przywróciło poziom białka do 77 % poziomu szczepu dzikiego. W przypadku wersji K188A TlyA z defektem metylotransferazy nie doszło do przywrócenia poziomu ze szczepu dzikiego.

Pozostałe trzy białka, których ilość zmniejszyła się w komórkach szczepów bez metylacji to MlaE, MlaF i MlaD. W szczepie mutantu $\Delta tlyA$ poziom MlaE, MlaF i MlaD został zmniejszony odpowiednio do 29, 36 i 41 % poziomu obserwowanego u szczepu dzikiego. Te ilości zostały częściowo przywrócone do około 67% poziomu typu dzikiego po komplementacji aktywną kopią *tlyA* ponownie. W przypadku wersji genu kodującego białko TlyAK188A pozbawionej aktywności metylotransferazy poziom białka pozostał taki jak u szczepie mutantu.

Geny kodujące cztery białka (CdtC, MlaE, MlaF i MlaD), których poziom był obniżony we wszystkich przeprowadzonych powtórzeniach szczepów, zostały same inaktywowane. Inaktywacja tych genów obniżyła wirulencję *C. jejuni*.

CdtC związane jest głównie z OMV, co sugeruje że pęcherzyki OMV są wykorzystywane jako sposób dostarczania toksyny CDT do komórki gospodarza. Natomiast białka MlaEFD są powiązane z biogenezą pęcherzyków OMV. Pęcherzyki błony zewnętrznej (OMV – outer membrane vesicle) odgrywają ważną rolę w zdolności *C. jejuni* do adhezji i inwazji do komórek nabłonka. Te właściwości patogenne *C. jejuni* są wzmacniane przez koinkubację z dodatkową ilością izolowanych OMV. Dodanie OMV z mutantów $\Delta tlyA$, $\Delta cdtC$ i $\Delta mlaEFD$ również poprawiło adhezję szczepu *C. jejuni* typu dzikiego do komórek nabłonka Caco-2. OMV izolowane z mutantu $\Delta mlaEFD$ poprawiły internalizację bakterii w takim samym stopniu jak OMV typu dzikiego. Jednakże na internalizację *C. jejuni* nie miało wpływu dodanie OMV z mutantów $\Delta tlyA$ lub $\Delta cdtC$. OMV ze wszystkich szczepów wywoływały uwalnianie IL-8, chociaż efekt ten był zmniejszony w przypadku OMV ze szczepu $\Delta cdtC$ i był szczególnie niski w przypadku OMV z mutantu $\Delta mlaEFD$.

Analizy spektrometrii masowej białek szczepów C. jejuni z mutacją w genie tlyA ujawniły szereg subtelnych zmian w składzie proteomu. Zmiany te dotyczyły obniżenia ilości podjednostki toksyny CDT (CdtC) i białek związanych z produkcją pęcherzyków błony zewnętrznej (OMV) MlaEFD. Inaktywacja genów cdtC i mlaEFD potwierdziły znaczenie kodowanych przez nie białek w wirulencji.

Przedstawione wyniki zostały opublikowane w pracy oryginalnej:

Salamaszyńska-Guz A, Kronholm Rasmussen P, Murawska M, Douthwaite S. *Campylobacter jejuni* Virulence Factors Identified by Modulating Their Synthesis on Ribosomes With Altered rRNA Methylation. *Front Cell Infect Microbiol.* (2022) 13;11:803730. doi: 10.3389/fcimb.2021.803730.

Podsumowanie i wnioski

Przedstawione badania umożliwiły zidentyfikowanie specyficznego miejsca modyfikacji w rybosomie *C. jejuni*, które jest powiązane z wirulencją i zdolnością patogenu do tworzenia biofilmu. Celowanie w to i inne miejsca modyfikacji rRNA ma ogromny potencjał w opracowywaniu strategii bezpośredniego zwalczania zakażeń *Campylobacter*.

Plany naukowe

W najbliższych latach planuję kontynuować badania dotyczące modyfikacji rRNA u *C. jejuni*. Będą miały na celu określenie w jaki sposób inne modyfikacje rRNA modulują syntezę białek i wpływają na wirulencję *C. jejuni*.

Literatura

- Abuoun M, Manning G, Cawthraw SA, Ridley A, Ahmed IH, Wassenaar TM, Newell DG. Cytotoxic distending toxin (CDT)-negative *Campylobacter jejuni* strains and anti-CDT neutralizing antibodies are induced during human infection but not during colonization in chickens. *Infect Immun*. 2005;73:3053–3062.
- Aguilar C, Jiménez-Marín Á, Martins RP, Garrido JJ. Interaction between *Campylobacter* and intestinal epithelial cells leads to a different proinflammatory response in human and porcine host. *Vet Immunol Immunopathol*. 2014;162:14–23.
- Andersen-Nissen E, Smith KD, Strobe KL, Rassouljian Barrett SL, Cookson BT, Logan SM, Aderem A. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. *PNAS*. 2005;102:9247–9252.
- Barrero-Tobon AM, Hendrixson DR. Identification and analysis of flagellar coexpressed determinants (Feds) of *Campylobacter jejuni* involved in colonization. *Mol Microbiol*. 2012;84:352–369.
- Biswas D, Itoh K, Sasakawa C. Role of microfilaments and microtubules in the invasion of INT-407 cells by *Campylobacter jejuni*. *Microbiol Immunol*. 2003;47:469–473.
- Guerry P. *Campylobacter* flagella: not just for motility. *Trends Microbiol*. 2007;15:456–461.
- Hermans D, Van Deun K, Martel A, Van Immerseel F, Messens W, Heyndrickx M, Haesebrouck F, Pasmans F. Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut. *Vet Research* 2011;42: 82.
- Johansen SK, Maus CE, Plikaytis BB, Douthwaite S. Capreomycin binds across the ribosomal subunit interface using *tlyA*-encoded 2'-O-methylations in 16S and 23S rRNAs. *Molecular Cell* 2006;23, 173-182.
- Johnson TJ, Shank JM, Johnson JG. Current and Potential Treatments for Reducing *Campylobacter* Colonization in Animal Hosts and Disease in Humans. *Front Microbiol*. 2017;8: 487.
- Konkel ME, Hayes SF, Joens LA, Witold C. Characteristics of the internalization and intracellular survival of *Campylobacter jejuni* in human epithelial cell cultures. *Microb Pathog*. 1992;13:357–370.
- Kreling V, Falcone FH, Kehrenberg C, Hensel A. *Campylobacter* sp.: Pathogenicity factors and prevention methods-new molecular targets for innovative antivirulence drugs? *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(24):10409-10436.
- Larson CL, Christensen JE, Pacheco SA, Minnich S, Konkel ME *Campylobacter jejuni* secretes proteins via the flagellar type III secretion system that contribute to host cell invasion and gastroenteritis. In: Nachamkin, I; Szymanski, C; Blaser, M. *Campylobacter*, 3rd edn. ASM Press, Washington. 2008; pp. 315–332
- Liauw J, Hong G, Davies C, Elmi A, Sima F, Stratakos A, Stef L, Pet I, Hachani A, Corcionivoschi N, Wren BW, Gundogdu O, Dorrell N. The *Campylobacter jejuni* type VI secretion system enhances the oxidative stress response and host colonization. *Front Microbiol*. 2019;10:2864.
- Maus CE, Plikaytis, BB, Shinnick TM Mutation of *tlyA* confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005; 49(2), 571-577.
- Monshupanee T, Johansen SK, Dahlberg AE, Douthwaite S. Capreomycin susceptibility is increased by TlyA-directed 2'-O-methylation on both ribosomal subunits. *Mol. Microbiol*. 2012;85, 1194–1203.

- Neal-McKinney JM, Konkel ME. The *Campylobacter jejuni* CiaC virulence protein is secreted from the flagellum and delivered to the cytosol of host cells. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2:31
- Poehlsgaard J, Douthwaite S. Antibiotic targets on the bacterial ribosome. *Nature Reviews Microbiology.* 2005; 3: 870-881.
- Purta E, O'Connor M, Bujnicki JM, Douthwaite S. YgdE is the 2'-O-methyltransferase RlmM specific for nucleotide C2498 in 23S rRNA.. *Mol. Microbiol.* 2009; 72: 1147-1158.
- Sergeeva OV, Bogdanov AA, Sergiev PV. What do we know about ribosomal RNA methylation in *Escherichia coli*? *Biochimie.* 2015;117: 110-8.
- Sergiev PV, Golovina AY, Prokhorova IV, Sergeeva OV, Osterman IA, Nesterchuk MV, *et al.*, Modifications of ribosomal RNA: from enzymes to function in *Ribosomes: Structure, Function, and Dynamics*; 2011; Springer.
- Sergiev PV, Aleksashin NA, Chugunova AA, Polikanov YS, Dontsova OA Structural and evolutionary insights into ribosomal RNA methylation. *Nat Chem Biol.* 2018;14: 226-235.
- Stanley RE, Blaha G, Grodzicki RL, Strickler MD, Steitz TA. The structures of the anti-tuberculosis antibiotics viomycin and capreomycin bound to the 70S ribosome. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2010; 17(3), 289-293.
- Wren BW, Stabler R A, Das SS, Butcher PD, Mangan JA, Clarke JD, Casali N, Parish T, Stoker NG Characterization of a haemolysin from *Mycobacterium tuberculosis* with homology to a virulence factor of *Serpulina hydysenteriae*. *Microbiology*, 1998; 144(Pt5), 1205-1211.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1 Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora.

Studia magisterskie na kierunku Biotechnologia ukończyłam w 2001 roku, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Pracę magisterską pt. „Identyfikacja genów *Helicobacter pylori* kodujących immunodominujące białka” wykonałam pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety K. Jagusztyn-Krynickiej w Zakładzie Genetyki Bakterii, Instytutu Mikrobiologii, Wydziału Biologii UW. W 2001 roku zostałam uczestniczką dziennego studium doktoranckiego „Ksenobiotyki oraz biologia czynników zakaźnych i inwazyjnych” w Katedrze Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Kierownikiem studium był prof. dr hab. Marek Niemiałowski, a opiekunem naukowym mojej pracy doktorskiej dr hab. Danuta Klimuszko.

W ramach pracy doktorskiej badałam funkcje dwóch genów *cj0183* i *cj0588* *C. jejuni* będących homologami genów występujących u innych bakterii patogennych, których produkty zaangażowane są w aktywność hemolityczną. Badania obejmowały utworzenie mutantów w tych genach i wstępną charakterystykę powstałych szczepów. Scharakteryzowany został również promotor genu *cj0183*.

Badania do pracy doktorskiej realizowałam w ramach grantu:

2005-2006 grant promotorski KBN nr 2 P06K 013 28 (główny wykonawca) „Charakterystyka funkcjonalna dwóch genów *Campylobacter jejuni* posiadających ortologii w genomie *Helicobacter pylorii* i *Brachyspira* sp”.

Prace przeglądowe:

- Grodzik M., **Salamaszyńska A.**, Klimuszko D. „Mechanizmy chorobotwórczości *Campylobacter jejuni*.” Medycyna Weterynaryjna 61, (10) 2005 s. 1124
- Klimuszko D., **Salamaszyńska A.** „Kampylobakterioza –źródła zakażenia.” Życie Weterynaryjne Rocznik 80, Nr 6, 2005 s. 331

5.2 Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie pracy doktorskiej moim głównym zainteresowaniem badawczym pozostały bakterie z gatunku *Campylobacter jejuni*. Moje badania obejmowały i nadal obejmują identyfikację czynników wirulencji tych patogenów oraz charakterystykę izolatów zwierzęcych *Campylobacter jejuni*.

Wirulencja *Campylobacter jejuni*

Po obronie doktoratu zajęłam się dalszą charakterystyką genów *cj0183* i *cj0588* *Campylobacter jejuni*. Pierwotnie białka kodowane przez te geny zaklasyfikowano do hemolizyn. Zbadana została więc dokładnie aktywność hemolityczna mutantów w obu genach, jak również oczyszczonych białek. Określono również rolę Cj0183 w przyleganiu i wnikaniu *C. jejuni* do linii komórkowej Caco-2. Uzyskane wyniki pokazały, że nie ma różnicy w aktywności hemolitycznej między oboma mutantami w genie *cj0183* i *cj0588* a dzikimi szczepami. Jak również, że białko Cj0183 nie jest zaangażowane w przyleganie do komórek Caco-2. Podjęłam się również określenia mechanizmów regulacji genów poprzez klonowanie fragmentów DNA leżących przed genem *cj0183* i *cj0588*. Aktywność genu reporterowego β -galaktozydazy określona dla szczepu niosącego plazmid z fragmentem powyżej *cj0183* i *cj0588* wykazała obecność promotora w regionie przed sekwencją genu *cj0183*. Zidentyfikowano regiony charakterystyczne dla promotorów *C. jejuni*. W obrębie sekwencji promotora oznaczonych jako -10, -16 i -35 wprowadzono mutacje, które spowodowały zmiany w transkrypcji genu reporterowego. Oznaczone zostały regiony niezbędne do przeprowadzenia wydajnego procesu transkrypcji. Jeden z utworzonych rekombinowanych plazmidów jest wykorzystywany do komplementacji wprowadzonych do *C. jejuni* mutacji w charakteryzowanych genach.

Obecnie w ramach grantu HARMONIA „Utrata metylacji rybosomalnego RNA obniża kolonizację *Campylobacter jejuni* u ludzi i zwierząt.”, którego jestem kierownikiem zajmuję się charakterystyką metylotransferaz rRNA u *C. jejuni*.

Prace oryginalne:

- **Salamaszyńska-Guz A**, Klimuszko D. Functional analysis of the *Campylobacter jejuni* *cj0183* and *cj0588* genes. *Curr Microbiol.* 2008 Jun;56(6):592-6. doi: 10.1007/s00284-008-9130-z.
- **Salamasznska-Guz A**, Grodzik M, Klimuszko D. Mutational analysis of *cj0183* *Campylobacter jejuni* promoter. *Curr Microbiol.* 2013 Dec;67(6):696-702. doi: 10.1007/s00284-013-0420-8.

- **Salamaszyńska-Guz A**, Godlewski MM, Klimuszko D. Influence of mutation in cj0183 and cj0588 genes for colonization abilities of *Campylobacter jejuni* in Caco-2 cells using confocal laser scanning microscope. *Pol J Vet Sci.* 2013;16(2):387-9. doi: 10.2478/pjvs-2013-0053.

Charakterystyka szczepów *C. jejuni* izolowanych od zwierząt

Moje badania dotyczą również występowania *Campylobacter* spp. u zwierząt hodowlanych (drób, bydło, świnie) i domowych (psy i koty) w Polsce. Szczepy izolowane były z próbek kału. Po identyfikacji gatunkowej izolaty były charakteryzowane. Oznaczona została ich oporność na chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe oraz mechanizmy oporności. Dla szczepów opornych na tetracyklinę oznaczono obecność jak również lokalizację genu *tetO*, natomiast dla szczepów opornych na fluorochinolony oznaczono obecność mutacji w genie *gyrA*. Oznaczono też obecność genów wirulencji szczepów oraz scharakteryzowano izolaty pod kątem: zdolności do tworzenia biofilmu, ruchliwości, adhezji i inwazji komórek Caco-2 oraz aktywności zewnątrzkomórkowej DNazy. Przeprowadzane badania wykazały, że oporność *Campylobacter* różni się w zależności od gatunku bakterii i pochodzenia szczepu oraz, że izolaty *Campylobacter* z różnych źródeł zwierzęcych były źródłem genów oporności, a także były zdolne do tworzenia biofilmu i inwazji ludzkich komórek Caco-2 *in vitro*.

Prace oryginalne:

- Krutkiewicz A, **Salamaszyńska-Guz A**, Rzewuska M, Klimuszko D, Binek M. Resistance to antimicrobial agents of *Campylobacter* spp. strains isolated from animals in Poland. *Pol J Vet Sci.* 2009;12(4):465-72
- **Salamaszyńska-Guz A**, Stefańska I, Bącal P, Binek M. Evaluation of selected phenotypic features among *Campylobacter* sp. strains of animal origin. *Vet Microbiol.* 2018 Mar;216:25-30. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.01.010.
- Murawska M, Sypecka M, Bartosik J, Kwiecień E, Rzewuska M, **Salamaszyńska-Guz A**. Should We Consider Them as a Threat? Antimicrobial Resistance, Virulence Potential and Genetic Diversity of *Campylobacter* spp. Isolated from Varsovian Dogs. *Antibiotics (Basel).* 2022 Jul 18;11(7):964. doi: 10.3390/antibiotics11070964.

Epidemiologia chorób zakaźnych zwierząt

Brałam także czynny udział w badaniach nad występowaniem wybranych bakteryjnych, pasożytniczych i wirusowych czynników etiologicznych chorób zwierząt.

Występowanie Helicobacter spp. u wolnożyjących dzików w Polsce

W badaniu sprawdzano próbki błony śluzowej żołądka dzików (*Sus scrofa*) na obecność *Helicobacter*. Wykorzystano badania histopatologiczne, swoisty dla rodzaju *Helicobacter* PCR z 16S rRNA oraz analizę sekwencji uzyskanych fragmentów DNA. Przesiewowe badanie PCR i analiza sekwencji uzyskanego fragmentu DNA ujawniła obecność DNA *Helicobacter heilmannii* typu 2 w jednym żołądku. W badaniu histopatologicznym próbki PCR-dodatniej wykryto obecność ciasno zwiniętych bakterii spiralnych na powierzchni błony śluzowej antralnej, w jamach żołądkowych i świetle górnych części gruczołów antralnych. Potencjalna chorobotwórczość *Helicobacter* dla wolno żyjących dzików pozostaje niewyjaśniona z powodu równoczesnego zapalenia żołądka wywołanego inwazją pasożytniczą.

Prace oryginalne:

- Fabisiak M, Sapieryński R, **Salamaszyńska-Guz A**, Kizerwetter-Swida M. The first description of gastric *Helicobacter* in free-ranging wild boar (*Sus scrofa*) from Poland. Pol J Vet Sci. 2010;13(1):171-4

Występowanie Dirofilaria repens u psów w Polsce

Badanie dotyczyło kilku przypadków mikrofilaremii zdiagnozowanych u psów z Polski. Badanie przeprowadzono na próbkach tkanek ze zmianami patologicznymi oraz rozmazach krwi obwodowej pobranych w celach diagnostycznych od psów wykazujących różne objawy kliniczne. Obecność pasożytów w próbkach tkanek zaobserwowano u 8 psów, dodatkowo u 2 z tych psów analiza PCR próbek krwi wykazała obecność DNA *Dirofilaria repens*.

Prace oryginalne:

- Sapieryński R, Fabisiak M, **Salamaszyńska A**. Several cases of dirofilariosis accidentally diagnosed in dogs from Poland, including two PCR positive *Dirofilaria repens* cases. Pol J Vet Sci. 2010;13(3):545-7

Występowanie wybranych wirusowych czynników etiologicznych u wolnożyjących jeleniowatych w Polsce

Badania przeprowadzono na próbkach surowicy jeleni, saren i danieli, pochodzących z dwóch odrębnych geograficznie obszarów Polski. Próbki badano testami ELISA. Przeprowadzone badania serologiczne wykazały występowanie przeciwciał przeciwko BoHV-1 i BVDV. Wszystkie pozytywne próbki pochodziły wyłącznie od jelenia szlachetnego.

Prace oryginalne:

- Fabisiak M, Sałamaszyńska A, Stadejek T. Detection of seroconversion to bovine herpesvirus 1 related alphaherpesvirus and bovine viral diarrhoea virus in Polish free-living deer. Pol J Vet Sci. 2018 Sep;21(3):437-440. doi: 10.24425/122615.

*Charakterystyka szczepów *Trueperella pyogenes* wyizolowanych od zwierząt*

Wraz z zespołem dr hab. Magdaleny Rzewuskiej zajmowałam się patogenem zwierzęcym *Trueperella pyogenes*. Badania dotyczyły oceny wrażliwości i wykrywania determinant oporności na aminoglikozydy u szczepów *T. pyogenes* wyizolowanych od zwierząt. Wrażliwość szczepów oznaczano metodą mikrorozcieńczeń, a genetyczne elementy związane z opornością były wykrywane metodą PCR, otrzymane fragmenty DNA sekwencjonowano. Znalezione geny związane z opornością na aminoglikozydy połączone z ruchomymi elementami genetycznymi (kasety genów integronu klasy 1 niosące geny oporności na aminoglikozydy), ale również nie powiązane z kasetami integronów.

Opracowano również metodę typowania genetycznego *Trueperella pyogenes* RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction). RAPD-PCR został oceniony pod kątem typowania, odtwarzalności i mocy dyskryminacyjnej. Otrzymane dla 37 szczepów profile RAPD były stosunkowo złożone, ale jednocześnie łatwe do interpretacji dzięki szerokiej gamie rozmiarów ampliconów. Wskaźnik dyskryminacyjny zaprojektowanej metody był wystarczająco wysoki; w związku z tym tylko szczepy powiązane epidemiologicznie wykazywały identyczne profile RAPD.

Prace oryginalne:

- Kwiecień E, Stefańska I, Chrobak-Chmiel D, **Sałamaszyńska-Guz A**, Rzewuska M. New Determinants of Aminoglycoside Resistance and Their Association with the Class 1 Integron Gene Cassettes in *Trueperella pyogenes*. Int J Mol Sci. 2020 Jun 13;21(12):4230. doi: 10.3390/ijms21124230.
- Stefańska I, Kwiecień E, Górczyńska M, **Sałamaszyńska-Guz A**, Rzewuska M. RAPD-PCR-Based Fingerprinting Method as a Tool for Epidemiological Analysis of *Trueperella pyogenes* Infections. Pathogens. 2022 May 10;11(5):562. doi: 10.3390/pathogens11050562. - **Editor's Choice article**

Artykuły przeglądowe

Po obronie doktoratu również byłam współautorem artykułów na temat wykorzystania metod biologii molekularnej w leczeniu i profilaktyce chorób zakaźnych zwierząt.

- **Sałamaszyńska-Guz A**, Klimuszko D. „Szczepionki jadalne.”, Życie Weterynaryjne Rocznik 82, Nr 2, 2007 s. 120
- Klimuszko D., **Sałamaszyńska-Guz A**. „Co to jest terapia genowa.” Życie Weterynaryjne Rocznik 82, Nr 3, 2007 s. 189
- **Sałamaszyńska-Guz A**, Klimuszko D. Strategies of constructing recombinant vaccines. Pol J Vet Sci. 2009; 12(1):133-9
- Klimuszko, D., **Sałamaszyńska-Guz, A.**, Krutkiewicz, A.: Phage therapy, Życie Weterynaryjne, 2009; 84(8):634-637.
- Anna Marszałik , Dorota Chrobak-Chmiel , Anna Golke , **Agnieszka Sałamaszyńska-Guz** , Kourou Dembele *Staphylococcus pseudintermedius* – czy wiemy o nim wszystko? Życie Weterynaryjne 2018, 4 238-240
- Binek Marian, Kizerwetter-Świda Magdalena, Rzewuska Magdalena, **Sałamaszyńska-Guz Agnieszka**: Antibiotic resistance of bacteria a growing threat for animals and public health, w: Postępy Mikrobiologii, vol. 58, nr 3, 2019, ss. 259-270, DOI:10.21307/PM-2019.58.3.259

5.3. Doniesienia konferencyjne krajowe i zagraniczne

Jestem współautorem 21 doniesień konferencyjnych krajowych w tym 5 doniesień ustnych oraz 10 doniesień zagranicznych w tym 4 doniesień ustnych.

5.4. Współpraca naukowa

5.4.1. Współpraca z jednostkami zagranicznymi:

Od 2015 roku współpracuje z laboratorium prowadzonym przez prof. Stephena Douthwaite na Wydziale Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Południowej Danii (Syddansk Universitets), w Odense, Dania. W ramach współpracy analizujemy modyfikacje rybosomalnego RNA oraz proteomy szczepów *Campylobacter jejuni*. Efektem tej współpracy są publikacje oryginalne wymienione w zał. 4, pkt.I.2; pkt.I.3; pkt.I.4 oraz realizowany wspólnie grant Narodowego Centrum Nauki HARMONIA wymieniony w zał. 4, pkt.II.9.1.

5.4.2. Współpraca z jednostkami krajowymi:

Oprócz współpracy z Uniwersytetem Południowej Danii (Odense, Dania) współpracuję również z Zakładem Wirusologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa (analiza modyfikacji rybosomalnego RNA); oraz Instytutem Paleobiologii PAN, Warszawa (analiza morfologii komórek bakteryjnych i wytwarzanego biofilmu przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego). Efektem tej współpracy są publikacje oryginalne wymienione w zał. 4, pkt.I.1; pkt.I.2; pkt.I.3; i pkt.II.4.b.13.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Działalność dydaktyczna

W ramach zajęć dydaktycznych, które prowadzę/prowadziłam od momentu zatrudnienia na stanowisku adiunkta w Katedrze Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, znajdują się następujące przedmioty:

- Mikrobiologia weterynaryjna - dla studentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, Kierunek Weterynaria, studia polskojęzyczne (wykłady i ćwiczenia)
- Mikrobiologia weterynaryjna - dla studentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, Kierunek Weterynaria, studia anglojęzyczne (ćwiczenia)
- Mikrobiologia – dla studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Zootechnika (ćwiczenia)

- Mikrobiologia – dla studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW, Kierunek biologia (ćwiczenia);
- Biologia mikroorganizmów – dla studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Bioinżynieria zwierząt (wykłady i ćwiczenia);
- Mikrobiologia kliniczna – dla studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Bioinżynieria zwierząt (ćwiczenia);
- Mikrobiologia weterynaryjna - dla studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW, Kierunek Biotechnologia (wykłady i ćwiczenia, od 2015 jestem koordynatorem zajęć);
- Biologia molekularna – dla studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW, Kierunek Biotechnologia (wykłady i ćwiczenia);
- Zastosowanie biotechnologii w profilaktyce chorób zwierząt - dla studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW, Kierunek Biotechnologia (wykłady);
- Zastosowanie biotechnologii w diagnostyce chorób zwierząt - dla studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW, Kierunek Biotechnologia, (wykłady i ćwiczenia);
- Bioinżynieryjne techniki w produkcji szczepionek - dla studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Bioinżynieria zwierząt, (wykłady i ćwiczenia);

6.2. Promotorstwo i recenzje prac dyplomowych

Do tej pory byłam promotorem 7 prac magisterskich i 30 prac inżynierskich/licencjackich, w tym:

5 prac magisterskich studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW; Kierunek Biotechnologia i Kierunek Biologia;

2 prac magisterskich studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Bioinżynieria;

25 prac inżynierskich/licencjackich studentów Wydziału Biologii i Biotechnologii SGGW; Kierunek Biotechnologia i Kierunek Biologia;

5 prac inżynierskich studentów Wydziału Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt SGGW, Kierunek Bioinżynieria, SGGW.

Przygotowałam także recenzje 22 prac dyplomowych.

6.3. Działalność organizacyjna na Instytucie Medycyny Weterynaryjnej SGGW:

Członek Rady Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w kadencji 2008-2012

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

2021 Medal Brązowy za Długoletnią Służbę przyznany przez Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej.

2021 Nagroda I stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za pracę oryginalną opublikowaną w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR za rok 2020.

Nagroda III stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za oryginalną pracę badawczą ogłoszoną w krajowym lub zagranicznym czasopiśmie z listy JCR za rok 2020, w języku polskim lub obcym.

2019 Nagroda III stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za pracę oryginalną opublikowaną w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR za rok 2018.

.....

(podpis wnioskodawcy)

Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

I. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy;

- 1) **Sałamaszyńska-Guz A**, Taciak B, Kwiatek A, Klimuszko D. The Cj0588 protein is a *Campylobacter jejuni* RNA methyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun.* (2014) 6;448(3):298-302. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.104.
(IF₂₀₁₄ = 2.559; IF_{5-letni} = 2.750; MEiN = 20)

Wkład habilitanta: 80 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (oczyszczenie metylotransferazy Cj0588, wykazanie jej aktywności *in vitro*, określenie parametrów kinetycznych reakcji katalizowanych przez Cj0588, konstrukcja mutanta w genie kodującym metylotransferazę Cj0588 i oznaczenie fenotypu mutana – oporność na kapreomycynę, zdolność ruchu);
- przygotowanie manuskryptu, rycin i tabel;
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

- 2) **Sałamaszyńska-Guz A**, Rose S, Lykkebo C, Taciak B, Bącal P, Uśpieński T, Douthwaite S. Biofilm Formation and Motility Are Promoted by Cj0588-Directed Methylation of rRNA in *Campylobacter jejuni*. *Front Cell Infect Microbiol.* (2018) 18;7:533. doi: 10.3389/fcimb.2017.00533.
(IF₂₀₁₈ = 3.518; IF_{5-letni} = 4.855; MEiN = 40)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (konstrukcja szczepów *C. jejuni* z różnymi wersjami białka Cj0588, wykazanie aktywności utworzonych wersji białka Cj0588 *in vivo* metodą primer extension, oczyszczenie metylotransferaz i wykazanie ich aktywności *in vitro*, określenie parametrów kinetycznych reakcji katalizowanych przez wersje białka Cj0588 i oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność ruchu, zdolność tworzenia biofilmu);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu, rycin i tabel.

- 3) **Sałamaszyńska-Guz A**, Serafińska I, Bącał P, Douthwaite S. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* are enhanced by displaying a mycobacterial TlyA methylation pattern in its rRNA. *Cell Microbiol.* (2020) 22(7):e13199. doi: 10.1111/cmi.13199.

(IF₂₀₂₀ = 3.715; IF_{5-letni} = 3.483 MEiN = 140)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (konstrukcja szczepu *C. jejuni* produkującego białko TlyA z *Mycobacterium* spp., wykazanie aktywności obcego białka w komórkach *C. jejuni* metodą primer extension, oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność ruchu, zdolność tworzenia biofilmu, adhezji oraz inwazji do linii komórkowej nabłonka jelita Caco-2, indukcji IL-8, zdolność przeżywania w makrofagach);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu;
- przygotowanie rycin i tabel;
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

- 4) **Sałamaszyńska-Guz A**, Kronholm Rasmussen P, Murawska M, Douthwaite S. *Campylobacter jejuni* Virulence Factors Identified by Modulating Their Synthesis on Ribosomes With Altered rRNA Methylation. *Front Cell Infect Microbiol.* (2022) 13;11:803730. doi: 10.3389/fcimb.2021.803730.

(IF₂₀₂₂ = 6.073; IF_{5-letni} = 5.369; MEiN = 100)

Wkład habilitanta: 70 %. Autor korespondencyjny.

- autorstwo koncepcji badań;
- zaplanowanie i wykonanie doświadczeń (analiza proteomów szczepów *C. jejuni*, konstrukcja mutantów w genach *cdtC* i *mlaEFD*, izolacja OMV, oznaczenie fenotypów skonstruowanych szczepów *C. jejuni* - zdolność tworzenia biofilmu, adhezji oraz inwazji do linii komórkowej nabłonka jelita Caco-2, indukcji IL-8);
- współudział w przygotowaniu manuskryptu;
- przygotowanie rycin i tabel
- przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

II. WYKAZ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

Nie dotyczy

2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

Nie dotyczy

3. Wykaz członkostwa w redakcjach naukowych monografii.

Nie dotyczy

- 4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).**

a. Przed uzyskaniem stopnia doktora:

L.p.	Publikacja	IF	Punktacja MEiN
1.	Grodzik M., Sałamaszyńska A. , Klimuszko D. Mechanizmy chorobotwórczości <i>Campylobacter jejuni</i> . Medycyna Weterynaryjna 61, (10) 2005 s. 1124	-	15
2.	Klimuszko D., Sałamaszyńska A. Kamylobakterioza –źródła zakażenia. Życie Weterynaryjne, 80, Nr 6, 2005 s. 331	-	-
	Razem:	-	15

b. Po uzyskaniu stopnia doktora:

L.p.	Publikacja	IF	Punktacja MEiN
1.	Sałamaszyńska-Guz A. , Klimuszko D. Szczepionki jadalne. Życie Weterynaryjne, 82, Nr 2, 2007 s. 120	-	6
2.	Klimuszko D., Sałamaszyńska-Guz A. Co to jest terapia genowa. Życie Weterynaryjne, 82, Nr 3, 2007 s. 189	-	6
3.	Sałamaszyńska-Guz A. , Klimuszko D. Functional analysis of the <i>Campylobacter jejuni</i> cj0183 and cj0588 genes. Curr Microbiol. 2008 Jun;56(6):592-6. doi: 10.1007/s00284-008-9130-z.	1.442	10
4.	Krutkiewicz A, Sałamaszyńska-Guz A. , Rzewuska M, Klimuszko D, Binek M. Resistance to antimicrobial agents of <i>Campylobacter</i> spp. strains isolated from animals in Poland. Pol J Vet Sci. 2009;12(4):465-72	0.435	15
5.	Sałamaszyńska-Guz A. , Klimuszko D. Strategies of constructing recombinant vaccines. Pol J Vet Sci. 2009; 12(1):133-9.	0.435	15

6.	Klimuszko, D., Sałaszyńska-Guz, A. , Krutkiewicz, A.: Phage therapy, <i>Życie Weterynaryjne</i> , 2009; 84(8):634-637.	-	6
7.	Fabisiak M, Sapieryński R, Sałaszyńska-Guz A , Kizerwetter-Swida M. The first description of gastric <i>Helicobacter</i> in free-ranging wild boar (<i>Sus scrofa</i>) from Poland. <i>Pol J Vet Sci</i> . 2010;13(1):171-4	0.507	20
8.	Sapieryński R, Fabisiak M , Sałaszyńska A . Several cases of dirofilariosis accidentally diagnosed in dogs from Poland, including two PCR positive <i>Dirofilaria repens</i> cases. <i>Pol J Vet Sci</i> . 2010;13(3):545-7	0.507	20
9.	Sałaszyńska-Guz A , Grodzik M, Klimuszko D. Mutational analysis of <i>cj0183</i> <i>Campylobacter jejuni</i> promoter. <i>Curr Microbiol</i> . 2013 Dec;67(6):696-702. doi: 10.1007/s00284-013-0420-8.	1.699	20
10.	Sałaszyńska-Guz A , Godlewski MM, Klimuszko D. Influence of mutation in <i>cj0183</i> and <i>cj0588</i> genes for colonization abilities of <i>Campylobacter jejuni</i> in Caco-2 cells using confocal laser scanning microscope. <i>Pol J Vet Sci</i> . 2013;16(2):387-9.	0.712	20
11.*	Sałaszyńska-Guz A , Taciak B, Kwiatek A, Klimuszko D. The Cj0588 protein is a <i>Campylobacter jejuni</i> RNA methyltransferase. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> . (2014) 6;448(3):298-302. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.104.	2.559	20
12.*	Sałaszyńska-Guz A , Rose S, Lykkebo C, Taciak B, Bączal P, Uśpieński T, Douthwaite S. Biofilm Formation and Motility Are Promoted by Cj0588-Directed Methylation of rRNA in <i>Campylobacter jejuni</i> . <i>Front Cell Infect Microbiol</i> . (2018) 18;7:533. doi: 10.3389/fcimb.2017.00533.	3.518	40
13.	Sałaszyńska-Guz A , Stefańska I, Bączal P, Binek M. Evaluation of selected phenotypic features among <i>Campylobacter</i> sp. strains of animal origin. <i>Vet Microbiol</i> . 2018 Mar;216:25-30. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.01.010.	2.791	100
14.	Fabisiak M, Sałaszyńska A , Stadejek T. Detection of seroconversion to bovine herpesvirus 1 related alphaherpesvirus and bovine viral diarrhoea virus in Polish free-living deer. <i>Pol J Vet Sci</i> . 2018 Sep;21(3):437-440. doi: 10.24425/122615.	0.802	40
15.	Marszałik A, Chrobak-Chmiel D, Golke A, Sałaszyńska-Guz A , Dembele K. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> – czy wiemy o nim wszystko? <i>Życie Weterynaryjne</i> 2018, 4 238-240	-	4
16.	Binek M, Kizerwetter-Swida M, Rzewuska M, Sałaszyńska-Guz A . Antibiotic resistance of bacteria a	-	20

	growing threat for animals and public health, <i>Postępy Mikrobiologii</i> , vol. 58, nr 3, 2019, ss. 259-270, DOI:10.21307/PM-2019.58.3.259		
17.*	Sałamaszyńska-Guz A , Serafińska I, Bącal P, Douthwaite S. Virulence properties of <i>Campylobacter jejuni</i> are enhanced by displaying a mycobacterial TlyA methylation pattern in its rRNA. <i>Cell Microbiol.</i> (2020) 22(7):e13199. doi: 10.1111/cmi.13199.	3.715	140
18.	Kwiecień E, Stefańska I, Chrobak-Chmiel D, Sałamaszyńska-Guz A , Rzewuska M. New Determinants of Aminoglycoside Resistance and Their Association with the Class 1 Integron Gene Cassettes in <i>Trueperella pyogenes</i> . <i>Int J Mol Sci.</i> 2020 Jun 13;21(12):4230. doi: 10.3390/ijms21124230.	5.924	140
19.*	Sałamaszyńska-Guz A , Kronholm Rasmussen P, Murawska M, Douthwaite S. <i>Campylobacter jejuni</i> Virulence Factors Identified by Modulating Their Synthesis on Ribosomes With Altered rRNA Methylation. <i>Front Cell Infect Microbiol.</i> (2022) 13;11:803730. doi: 10.3389/fcimb.2021.803730.	6.073	100
20.	Murawska M, Sypecka M, Bartosik J, Kwiecień E, Rzewuska M, Sałamaszyńska-Guz A . Should We Consider Them as a Threat? Antimicrobial Resistance, Virulence Potential and Genetic Diversity of <i>Campylobacter</i> spp. Isolated from Varsovian Dogs. <i>Antibiotics (Basel)</i> . 2022 Jul 18;11(7):964. doi: 10.3390/antibiotics11070964	5.222	70
21.	Stefańska I, Kwiecień E, Górczyńska M, Sałamaszyńska-Guz A , Rzewuska M. RAPD-PCR-Based Fingerprinting Method as a Tool for Epidemiological Analysis of <i>Trueperella pyogenes</i> Infections. <i>Pathogens</i> . 2022 May 10;11(5):562. doi: 10.3390/pathogens11050562.	4.531	100
	Razem:	40.872	912

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Nie dotyczy

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Nie dotyczy

7. Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

a. Przed uzyskaniem stopnia doktora:

Konferencje, w których brałam aktywny udział:

1. **Salamaszyńska A.**, Klimuszko D. Aktywność hemolityczna produktów genów *cj0183* i *cj0588* *Campylobacter jejuni* homologicznych do czynników wirulencji *Brachyspira hyodysenteriae*. Materiały XII Kongresu PTNW, 15-17.09.2004, Warszawa s.156 – **sesja plakatowa**
2. **Salamaszyńska A.**, Klimuszko D. Charakterystyka funkcjonalna dwóch genów *Campylobacter jejuni* *cj0183* i *cj0588*. Materiały I Konferencji Naukowej Mikrobiologii PAN, Warszawa 22.10.2005, s.73 – **sesja plakatowa**
3. **Salamaszyńska A.**, Klimuszko D. Analiza funkcjonalna genu *Cj0588* *Campylobacter jejuni*.” Materiały Sympozjum Naukowego Zoonozy aktualne zagrożenia” Warszawa 24-25.03.2006, s. 84 – **sesja plakatowa**

b. Po uzyskaniu stopnia doktora:

Konferencje, w których brałam aktywny udział:

Doniesienia konferencyjne zagraniczne:

1. **Salamaszyńska-Guz A.**, Taciak B. , Kwiatek A., Uspieński T. , Czekalska M. , Klimuszko D. *Cj0588* protein *Campylobacter jejuni* is the 23S rRNA methyltransferase. CHRO 2013, 17th International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms, Aberdeen, Wielka Brytania – **sesja plakatowa**
2. **Salamaszyńska-Guz A.**, Rose S, Bacal P, Douthwaite S. The *Campylobacter jejuni* protein *Cj0588* as a model system for investigating the role of TlyA methyltransferases in bacterial cell. CHRO 2017, 19th International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms, Nantes, Francja - **sesja plakatowa**
3. **Salamaszyńska-Guz A.**, Kronholm Rasmussen P, Douthwaite S. Proteins linked with *Campylobacter jejuni* pathogenicity identified by mass spectrometric proteome analyses. CHRO 2019, 20 International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms, Belfast, Wielka Brytania – **wystąpienie ustne**
4. Murawska M, **Salamaszyńska-Guz A.**, Rose S, Douthwaite S. *Campylobacter jejuni* colonization of human hosts is attenuated by loss of single ribosomal RNA methylations. CHRO 2019, 20 International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms, Belfast, Wielka Brytania - **sesja plakatowa**
5. **Salamaszyńska-Guz A.**, Murawska M, Milewska M, Wieczorek M, Jędrasik J, Douthwaite S. The Mla phospholipid transport system alter the *Campylobacter jejuni* outer membrane properties. CHRO 2022, 21 International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms, Yangzhou, Chiny - **sesja plakatowa**

Doniesienia konferencyjne krajowe:

1. **Salamaszyńska A.**, Grodzik M., Klimuszko D. Regulation of *Campylobacter jejuni* *cj0183* gene expresion. IX Conference DIAGMOL 2009 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2008 Warszawa - **sesja plakatowa**
2. **Salamaszyńska-Guz A.**, Klimuszko D. Charakterystyka regionu promotorowego genu *cj0183* *Campylobacter jejuni*. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2012 Lublin - **sesja plakatowa**
3. **Salamaszyńska-Guz A.**, Taciak B., Kwiatek A., Klimuszko D. Białko *Cj0588* *Campylobacter jejuni* posiada aktywność metylotransferazy RNA. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2012 Lublin - **sesja plakatowa**

4. **Salamaszyńska-Guz A.**, Klimuszko D. Does Cj0588 *Campylobacter jejuni* protein interact with annexin2? XIII Conference DIAGMOL 2012 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2012 Warszawa - **sesja plakatowa**
5. **Salamaszyńska-Guz A.**, Tomasiak M, Taciak B, Kwiatek A, Klimuszko D, Role of S4 domain in the activity of *Campylobacter jejuni* Cj0588 protein a rRNA methyltransferase. XV Conference DIAGMOL 2014 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2014 Warszawa - **sesja plakatowa**
6. **Salamaszyńska-Guz A.**, Rose S, Douthwaite S, Klimuszko D. Cj0588 (TlyA) protein from *Campylobacter jejuni* methylates C1920 in 23 rRNA. XVI Conference DIAGMOL 2015 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2015 Warszawa **prezentacja ustna**
7. **Salamaszyńska-Guz A.**, Bacal P, Kwiatek A., Klimuszko D. Mutation of the *cj0588* gene alters biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. XVI Conference DIAGMOL 2015 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2015 Warszawa, **prezentacja ustna**
8. Poichtera K, **Salamaszyńska-Guz A.** Comparison of biofilm formation and its association with motility and nuclease activity among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from different sources. XVII Conference DIAGMOL 2016 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2016 Warszawa, **prezentacja ustna**
9. **Salamaszyńska-Guz A.**, Rose S, Douthwaite S. Wpływ białka TlyA na ruch i zdolność tworzenia biofilmu przez *Campylobacter jejuni*. XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2016 Bydgoszcz - **sesja plakatowa**
10. Nowacki Ł, Jakielaszek A, Golke A, **Salamaszyńska-Guz A.** Changes in expression of cytokine-encoding genes in Caco-2 cells in the presence of *Campylobacter jejuni* *tlyA* mutant. XVIII Conference DIAGMOL 2017 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2017 Warszawa - **sesja plakatowa**
11. Murawska M, **Salamaszyńska-Guz A.** Functional analysis of *Campylobacter jejuni* ATP-dependent Lon protease. XVIII Conference DIAGMOL 2017 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2017 Warszawa - **sesja plakatowa**
12. Murawska M, **Salamaszyńska-Guz A.** Construction and characteristic of *rlmH* gene mutant *Campylobacter jejuni*. XIX Conference DIAGMOL 2018 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2018 Warszawa - **sesja plakatowa**
13. Kwiecień E, **Salamaszyńska-Guz A.**, Baçal P, Biegańska M, Rzewuska M. The structure of *Malassezia pachydermatis* biofilm. XIX Conference DIAGMOL 2018 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2018 Warszawa - **sesja plakatowa**
14. Murawska M, SybeckMa, Rzewuska M, Bartosik J, **Salamaszyńska-Guz A.** Prevalence and characteristic of *Campylobacter jejuni* isolated from pets from Warsaw and the surrounding area. DIAGMOL 2019 „Molecular biology In diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, 2019 Warszawa - **sesja plakatowa**
15. Murawska M, Milewska M, Jędrasik J, Wieczorek M, **Salamaszyńska-Guz A.** System transportu fosfolipidów zmienia właściwości błony zewnętrznej *Campylobacter jejuni*. XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2022 Warszawa, **prezentacja ustna**
16. Murawska M, Milewska M, **Salamaszyńska-Guz A.** Douthwaite S. Utrata metylacji rybosomalnego RNA osłabia wirulencję *Campylobacter jejuni*. XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2022 Warszawa, **prezentacja ustna**

Pozostałe doniesienia konferencyjne:

Doniesienia konferencyjne zagraniczne:

1. Fabisiak M., **Salamaszyńska-Guz A.**, Orłowska M., Kluciński W., Stadejek T. Antibodies to BHV-1 and BVDV in polish free-ranging deer. 61st WDA/ 10th Biennid EWDA CONFERENCE „CONVERGENCE IN WILDLIFE HEALTH” Lyon, Francja - **sesja plakatowa**
2. Fabisiak M., Dams L., **Salamaszyńska-Guz A.**, Stadejek T., Thiry E. Free-ranging red and roe deer In Poland are infected with CVHV-1 not BHV-1 as evidenced by seroneutralisation assai. IX International Congress of Veterinary Virology. 2012, Madrid, Hiszpania - **sesja plakatowa**

3. Fabisiak M., Dams L., **Salamaszyńska-Guz A.**, Stadejek T., Thiry E. Isolation of Cervid herpesvirus 1 (CVHV-1) from polish free ranging red deer. IX International Congress of Veterinary Virology. 2012, Madrid, Hiszpania – **prezentacja ustna**
4. Kwiecień E., Rzewuska M., Stefańska I., **Salamaszyńska-Guz A.** Aminoglycoside resistance in *Trueperella pyogenes*. 3rd International Caparica Conference in Antibiotic Resistance, 2019 Caparica, Portugalia – **prezentacja ustna**
5. Murawska M, Sypecka M, Bartosik J, Rzewuska M, **Salamaszyńska-Guz A** Occurrence, virulence potential, antimicrobial susceptibility and genetic diversity of *Campylobacter* spp. isolated from dogs and cats from Warsaw, Poland and the surrounding area. CampyUK konferencja online 8 – 10.09.2021 **prezentacja ustna**

Doniesienia konferencyjne krajowe:

1. Krutkiewicz A., **Salamaszyńska-Guz A.**, Rzewuska M., Klimuszko D., Binek M. Oporność szczepów *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* izolowanych w latach 2006-2007 od zwierząt na wybrane antybiotyki i chemoterapeutyki. Materiały XIII Kongresu PTNW 2008 – **sesja plakatowa**
 2. Murawska M, Sypecka M, Rzewuska M, Bartosik J, **Salamaszyńska-Guz A** Lekowrażliwość *Campylobacter* spp. wyizolowanych z kału psów i kotów. MAKRO-KIERUNKI W MIKRO-BIOLOGII, 2019 Warszawa– **sesja plakatowa**
8. Wykaz udziału w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

Nie dotyczy

- 9. Wykaz uczestnictwa w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.**

L.p.	Projekty naukowe
1.	Utrata metylacji rybosomalnego RNA obniża kolonizację <i>Campylobacter jejuni</i> u ludzi i zwierząt. NCN HARMONIA, kierownik projektu , planowany termin zakończenia 05.2024, 2018/30/M/NZ6/00429
2.	Wpływ metylacji rybosomalnego RNA <i>Campylobacter jejuni</i> na zdolności kolonizacji komórek nabłonka. KNOW Konsorcjum Naukowe „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, kierownik projektu , zakończony 08.2016, 500 07 023100-D00100-02
3.	Analiza funkcjonalna białka Cj0588 <i>Campylobacter jejuni</i> . – Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, kierownik projektu , zakończony 11.2013, N N308 237736,
4.	Charakterystyka zakażeń herpeswirusami i pestiwirusami u wolnożyjących jeleniowatych w Polsce na podstawie badań metodami serologicznymi i biologii molekularnej.- Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wykonawca , zakończony 06.2013, N N308 263137
5.	Funkcjonalna analiza dwóch genów <i>cj0588</i> i <i>cj0183</i> <i>Campylobacter jejuni</i> ortologów genów <i>Helicobacter pylori</i> and <i>Brachyspira</i> sp. – Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, główny wykonawca , grant promotorski, zakończony

	09.2006, 2 P06K 013 28,
6.	Kierownik projektów badawczych realizowanych w ramach wewnętrznego trybu konkursowego dla młodego pracownika nauki finansowanych przez Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie: 2009 Czy białko Cj0183 odgrywa rolę regulatorową w komórkach <i>Campylobacter jejuni</i> ? 2012 Oczyszczanie białka Cj0183 <i>Campylobacter jejuni</i> . 2013 Poszukiwanie białek komórki eukariotycznej oddziaływujących z białkiem Cj0183.

10. Wykaz członkostwa w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

Nie dotyczy

11. Wykaz staży w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

Od 2015 roku współpracuje z laboratorium prowadzonym przez prof. Stephena Douthwaite na Wydziale Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Południowej Danii (Syddansk Universitets), w Odense, Dania. W czasie odbytych staży zapoznałam się z metodami analizy modyfikacji rybosomalnego RNA metodą spektrometrii mas i primer extension oraz analizy proteomu metodą spektrometrii mas.

Odbyte wyjazdy do Uniwersytetu Południowej Danii (Syddansk Universitets), w Odense, Dania:

2015 - łącznie 6 tygodni; wyjazd w ramach stypendium "Erasmus +" oraz Własnego Funduszu Stypendialnego SGGW

2016 – 4 tygodnie; wyjazd w ramach Własnego Funduszu Stypendialnego SGGW

2018 – 4 tygodnie; wyjazd w ramach projektu KNOW (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego)

2019 - łącznie 4 tygodnie; wyjazd w ramach KNOW (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego) i HARMONIA (Narodowe Centrum Nauki)

2020 – 3 tygodnie; wyjazd w ramach HARMONIA (Narodowe Centrum Nauki)

2021 – 2 tygodnie; wyjazd w ramach HARMONIA (Narodowe Centrum Nauki)

2022 – łącznie 6 tygodni; wyjazd w ramach HARMONIA (Narodowe Centrum Nauki)

2023 - 3 tygodnie; wyjazd w ramach HARMONIA (Narodowe Centrum Nauki).

12. Wykaz członkostwa w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).

Nie dotyczy

13. Wykaz recenzowanych prac naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Nie dotyczy

14. Wykaz uczestnictwa w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

Nie dotyczy

15. Wykaz udziału w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

Nie dotyczy

16. Wykaz uczestnictwa w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

Nie dotyczy

III. WSPÓLPRA Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

Nie dotyczy

2. Współpraca z sektorem gospodarczym.

Nie dotyczy

3. Wykaz uzyskanych praw własności przemysłowej, w tym uzyskanych patentów krajowych lub międzynarodowych.

Nie dotyczy

4. Wykaz wdrożonych technologii.

Nie dotyczy

5. Wykaz wykonanych ekspertyz lub innych opracowań wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.

Nie dotyczy

6. Wykaz udziału w zespołach eksperckich lub konkursowych.

Nie dotyczy

7. Wykaz projektów artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

Nie dotyczy

IV. DANE NAUKOMETRYCZNE

1. Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).

Punktacja Impact Factor według bazy Journal Citation Reports:	
	Punkty IF
Przed uzyskaniem stopnia doktora	0
Po uzyskaniu stopnia doktora	40.872
Razem:	40.872

2. Liczba cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.

Całkowita liczba cytowań według bazy danych Web of Science:	87
bez autocytowań:	76

3. Indeks Hirscha.

Indeks Hirscha według bazy Web of Science Core Collection (z 04.2023):	6
--	---

4. Informacja o liczbie punktów MNiSW.

Punkty MEiN [MNiSW]	
Przed uzyskaniem stopnia doktora	15
Po uzyskaniu stopnia doktora	912
Razem	927

.....

(podpis wnioskodawcy)

UPP - Urzędowe Poświadczenie Przedłożenia

Identyfikator Poświadczenia: ePUAP-UPP107533045

Adresat dokumentu, którego dotyczy poświadczenie

Nazwa adresata dokumentu: Rada Doskonałości Naukowej

Identyfikator adresata: RDN

Rodzaj identyfikatora adresata: ePUAP-ID

Nadawca dokumentu, którego dotyczy poświadczenie

Nazwa nadawcy: AGNIESZKA SAŁAMASZYŃSKA-GUZ

Identyfikator nadawcy: asalam

Rodzaj identyfikatora nadawcy: ePUAP-ID

Dane poświadczenia

Data doręczenia: 2023-06-01T13:51:02.731

Data wytworzenia poświadczenia: 2023-06-01T13:51:02.731

Identyfikator dokumentu, którego dotyczy poświadczenie: DOK154394288

Dane uzupełniające (opcjonalne)

Rodzaj informacji uzupełniającej: Źródło

Wartość informacji uzupełniającej: Poświadczenie wystawione przez platformę ePUAP

Rodzaj informacji uzupełniającej: Identyfikator ePUAP dokumentu

Wartość informacji uzupełniającej: 154394288

Rodzaj informacji uzupełniającej: Informacja

Wartość informacji uzupełniającej: Zgodnie z art 39¹ par. 1 k.p.a. pisma powiązane z przedłożonym dokumentem będą przesyłane za pomocą środków komunikacji elektronicznej.

Rodzaj informacji uzupełniającej: Pouczenie

Wartość informacji uzupełniającej: Zgodnie z art 39¹ par. 1d k.p.a. istnieje możliwość rezygnacji z doręczania pism za pomocą środków komunikacji elektronicznej.

Dane dotyczące podpisu

Poświadczenie zostało podpisane - aby je zweryfikować należy użyć oprogramowania do weryfikacji podpisu

Lista podpisanych elementów (referencji):

referencja ID-c9fbc827da3598fe679d6a0fb327ec10 :

referencja ID-e6a56f7ac725b0d1af44cd5a4b071722 : Wniosek%20o%20wszcz%C4%99cie%20post%C4%99powania%20w%20sprawie%20nadania%20stopnia%20doktora%20habilitowanego.xml

referencja : #xades-id-255e37b6f4a2968a8d62aff35d8831c1