

OR Imunologie

Vypsané doktorské práce pro akademický rok 2020/2021

Genetic and epigenetic changes in hematopoietic stem cells during chronic inflammation

223846

Meritxell Alberich Jorda, M.Sc., Ph.D.

This project will determine the molecular changes in enhancers and promoters that chronic inflammation induces in hematopoietic stem cells. Next, we will investigate how these changes contribute to the development of leukemia, an hematological disorder characterized by the accumulation of malignant cells in bone marrow and blood. Together, the results of this project will uncover the mechanisms regulating hematopoietic stem cell maintenance and fate in the context of chronic inflammation, and lay the path to identify new therapeutic strategies in leukemia.

The laboratory of hemato-oncology is searching for a highly motivated, enthusiastic and hard-working Ph.D student. The candidate should hold a master degree in genetics, molecular biology, cell biology, or in a related field. The candidate should be willing to work with murine models. Excellent English is required. The candidate should be a team-player and willing to work with other lab members and international collaborators.

We offer a friendly and supporting environment in a state-of-the-art institution.

Receptor interactions at the nanotopography of immune cells monitored by advanced microscopy

Mgr. Marek Cebecauer, Ph.D.

ID 223862

CD4+ T cells co-ordinate immune responses against infections and cell transformations. The antigen receptors (TCRs) trigger signals to activate T cells, but a handful of surface receptors (e.g. CD2, CD4/8, CD6 and PD-1) can regulate the output of these processes. Molecular mechanisms co-ordinating the action of these receptors remain incompletely understood, especially, at the spatio-temporal level. In our laboratory, we have recently discovered that CD4 co-receptor accumulates at the tips of T cell microvilli, whereas its regulatory phosphatase, CD45, segregates to the remaining parts of the plasma membrane. This discovery indicates the importance of nanoscopic topographical organisation of receptors on T cells before and during recognition of antigens.

The project will investigate changes in the organisation of receptors with respect to each other upon stimulation of cells with diverse factors: e.g., antigen, adhesion, mechanical stress. Receptors such as TCR, CD2, CD4 and CD45 will be nanoscopically characterised in time and space to understand the impact of geometry on their function. The project will include the use of the state-of-the-art microscopy techniques (co-developed in our laboratory), functional imaging of living T cells and recombinant DNA technologies.

Study of the materno-fetal and feto-maternal microchimerism of the APCs using advanced microscopic techniques

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.

ID 223951

Concept of microchimerism (MC) is generally accepted phenomenon. Development in visualization techniques, effective data mining and analysis of histological data offer an great tools to search for and characterize the rare cellular populations which migrate during prenatal development between individuals. Project is focused on the inter-generational transfer of antigen presenting cells (APC) using mouse C57BL/6 model. For describing transfer of APCs we'll use in our laboratory well established MHC class II EGFP knock-in mouse model. Transfer of MHCII+ cell populations will be correlated with complete cell transmission. Red fluorescence mouse model Gt(ROSA)26Sortm4(ACTB-tdTomato,-EGFP)Luo/J, also known as ROSAmT/mG will be applied. This combination of models enables a "two-color" detection of MC population in particular cross between the models mentioned above. We'll focus on potential mother-newborn cellular transfer via breast milk. To test this hypothesis we plan to use also

immunodeficient recipients (Nu/nu mouse, RAG/NOD knockout mouse, in which we can anticipate higher percentage of survivors^{1,2}). Main reason is to address the potential role of the cell MC in the compensation of pathological phenotype/immunodeficiency and possible role in the microbiota transfer. At this stage we are planning to test hypothesis of active role that APCs could play in the intergenerational transfer of endocytosed microbiota with use of germfree/gnotobiological models.

Cytokine signaling in cellular communication

Mgr. Peter Dráber, Ph.D.

ID 223859

Immune cells constantly communicate with each other in order activate, propagate and terminate immune responses. One major mechanism of cellular communication is the production of small soluble proteins, termed cytokines. Upon their binding to specific receptors expressed on target cells, they trigger formation of complicated signaling complexes which then induce cellular responses.

The focus of the present PhD project will be the study how selected cytokines activate signaling pathways. The applicant will employ mass-spectrometry approach to study the composition of different receptor signaling complexes, followed by analysis of the role of individual components using CRIPR/Cas9 prepared knockouts in cell lines. The proteins deemed crucial for particular signaling receptor will be validated in in vivo animal models using knockout animals. Altogether, the applicant will gain substantial knowledge of immune system and learn a number of methods ranging from biochemistry using cell cultures to analysis of mouse phenotype.

Molecular mechanisms guiding activation of immune responses

Mgr. Peter Dráber, Ph.D.

ID 223851

The activation of immune responses requires immune cells to respond quickly to the clues obtained from the environment. Among such clues are proinflammatory cytokines, that are released upon infection or tissue damage. The precise understanding how these proinflammatory cytokines modulate signaling responses is crucial, as it would provide new molecular targets for modulation of inflammation, especially in autoimmune settings.

In this project, the applicant will study signaling pathways triggered upon activation of selected pro-inflammatory receptors. In particular, the applicant will learn how to perform detailed biochemical analysis of signaling pathways, analyze samples via mass-spectrometry, prepare cellular knockouts via CRISPR/Cas9 approach and perform analysis knockout mice. Furthermore, student will gain detailed knowledge about the function of immune system.

Role of adaptive immune system in regulation of autoimmune diseases

Mgr. Peter Dráber, Ph.D.

ID 223849

The PhD candidate will focus on the role of T cell mediated immune responses in propagation of autoimmune diseases. Main focus will be on the role of T cells in TNF-driven mouse models of autoinflammation.

Search for therapeutic targets to modulate autoimmune disorders

Mgr. Peter Dráber, Ph.D.

ID 223853

The present project aims to identify crucial signaling molecules, that are necessary for propagation of certain model autoimmune diseases. The main focus of the project will be the analysis of signaling triggered upon stimulation of receptors for TNF, IL-1 and several members of toll-like receptor family.

Single-cell analysis in systems immunology – an application of novel unsupervised tools in infectious diseases and cancer

RNDr. Karel Drbal, Ph.D.

ID 212586

The objective of this project is an application of novel analytical tools for the large transcriptomic and proteomic datasets in clinics. This is in principle unsupervised topological data analysis (TDA) based on clustering, which allows for immediate statistical data evaluation and visualization using dimensionality reduction down to 2D. We are going to optimize parameters, achieve minimal data distortion and maximal reproducibility as well. Galaxy platform is a central cloud environment,

however, a deep knowledge of R/Python is essential (C++ programming is a bonus). In turn, this brings a completely new understanding of existing scientific data in general and allows for the reinterpretation and discovery of new relationships.

We will focus on clinical datasets in patients suffering from infectious or tumor diseases. An inherent part of the workflow is data collection and database maintenance. A prediction of directional causal relationships will be finally validated in available zebrafish and/or medaka models in our laboratory at the level of transcriptome and proteome.

Recently, an excessive boost in the development of analytical bioinformatic algorithms allows biologists to mine the available datasets originating from single cells in a completely unsupervised manner for the first time. The human body is composed of around 30 trillion cells and the objective of this application is the use of novel dimensionality reduction, trajectory inference, and clustering algorithms in order to decode their directional relationship in the field of systems immunology.

Our research focuses on dynamic systems of immune response monitoring in patients suffering from infectious diseases – tuberculosis or borreliosis – as well as various solid tumors – mainly bladder cancer. Under these pathological conditions, activation of immune cell subsets of both innate and adaptive systems regulate the outcome of the disease. A single-cell oriented statistical data evaluation and visualization finally stratify each patient. We are going to optimize the parameters of the non-linear computational methods in order to preserve data distribution and maximize reproducibility.

An inherent part of the workflow is the collection of genomic/transcriptomic/proteomic data and patient database maintenance. The predictions of directional causal relationships will be validated in available zebrafish and/or medaka models after multiparametric flow cytometry and cell sorting in our laboratory at the level of gene and cellular networks. A collaboration with local clinical partners (TH, HNB, Prague) and computation centers (IDA FEE CTU [1], IOCB CAS [2], Prague) are backed by recent publications. International collaboration within LifeTime consortia will be an inherent part of the project.

As stated above, deep knowledge of R and Python (C++ is a bonus) and immunology is an essential profile of a successful candidate. Optionally, the experience with cytometry and/or microscopy and the knowledge of one of the experimental models is a plus. Two major goals of this Ph.D. position are 1/ the integration of existing tools into a Galaxy pipeline or development of a standalone application and 2/ the identification of cellular biomarkers of either latent TB infection, late-stage Lyme disease or bladder cancer stem cells.

1. Dvorakova, E. et al. Bioinforma. Res. Appl. ICBRA 2019 (2019). at <http://ida.felk.cvut.cz/zelezny/pubs/icbra2019.pdf>

2. Kratochvíl, M. et al. bioRxiv 496869 (2019).doi:10.1101/496869

Cytokine induced killer cells targeting acute myeloid leukemia

Mgr. Jan Frič, Ph.D.

ID 223875

Immunotherapy using cytokine-induced killer cells is one of the promising approaches developed to treat hemato-oncological disorders. The Ph.D. project will address molecular mechanisms controlling

the expansion and final cytotoxicity of in vitro produced cytokine-induced killer cells (CIK). Furthermore, it is well known that therapy-induced chronic low-grade inflammation occurs in hemato-oncologically treated subjects. We hypothesize that this microenvironment is one of the obstacles preventing the cytotoxic potential and overall survival of CIK after the administration.

Aims: The first aim is to analyze the heterogeneity of phenotypes of donor cells responsive to the cytokines used for their expansion. This will be followed by the analysis of the variability in cytotoxic killing among different subsets obtained after the expansion. For this, we plan to combine the advanced cell fate mapping strategies combined with deep phenotyping of cells in different stages of expansion. The second aim of the project is to understand the fitness of the expanded subsets upon encounter of an inflammatory environment. A panel of compounds mimicking the chronic low-grade inflammation will be tested in vitro to identify the major signaling pathways and molecular processes involved in the diminishing of the cytotoxic capacity of CIK. These findings aim to fill the important gaps in CIK biology and propose new directions to improved CIK based immunotherapies.

Molecular control of fitness and cytotoxicity of NK cells used in immunotherapies.

Mgr. Jan Frič, Ph.D.

223896

NK cells recognize and kill the leukemia cells through the unique mechanism, this ability makes NK cells a promising tool to target hemato-oncological disorders. The capacity of donor cells to expand and increase the cytotoxic potential is the ultimate goal of cellular immunotherapy. Currently, we do not have suitable markers to predict a successful expansion of NK cells from different donors.

Aims: The project aims to develop in-depth phenotyping of donor pool of NK cells, especially their activatory status and their ability to respond to growth factors or cytokines. Furthermore, we plan to address the intrinsic properties of NK cells of different donors in order to improve the selection of donors in order to achieve higher proliferation and cytotoxic potential, here we will address the presence of major markers associated with cellular senescence such as expression of beta-galactosidase or telomere length. The immunosenescent phenotype is not always linked to chronological age and can be used for donor selection. Immune senescence has reported impact to immune cells functions including NK cells expansion. This project aims to define the new immunophenotypic signature of NK cells in order to improve the selection of NK cells donors suitable for immunotherapy of hemato-oncological patients.

Buněčné terapie (tolerogenní dendritické buňky, myeloidní supresorové buňky) jako samostatná, či součást kombinačního přístupu, prevence a terapie diabetu 1 typu

MUDr. David Funda, Ph.D.

ID 223892

Náplní práce je teoretické a praktické studium využití tolerogenních dendritických buněk (tolDCs), myeloidních supresorových buněk (MDSCs), popřípadě dalších populací buněk (Tregs) jako nové strategie prevence či léčby diabetu 1. typu na myších modelech (NOD, NOD-SCID). Práce bude zahrnovat studium relevantní literatury, metody přípravy, izolace a charakterizace tolDCs, DCs, MDSCs, a Tregs, studium jejich migrace in vivo a in vitro, ověření jejich terapeutického efektu, a to

samostatně či v kombinaci s jinými slibnými přístupy (např. IL-2, IL-2 imunokomplexy, dieta, probiotika) a obdobné studium jejich mechanismů. .

Použité metodiky experimentů zahrnují především izolace buněk z tkání, kultivace toIDCs in vitro, flowcytometrie, tkáňové kultury, in vitro T buněčné metodiky, MACS a FACS sortování buněk, mikroskopické metody, ELISA metody, práce se zvířaty (myší modely), měření glykémie, testování potenciálu zabránit onemocnění na spontánním myším modelu (NOD) a modelu adoptivního ko-transferu diabetu (NOD-SCID), a další. Projekt zahrnuje mezinárodní spolupráce.

Baktérie spojené se změnami mikrobiomů u diabetu 1. typu, probiotika a jejich mechanismy v pathogenezi a prevenci onemocnění

MUDr. David Funda, Ph.D.

ID 223900

Náplní projektu je s pomocí bezmikrobních a monoasociovaných, ex-germ-free NOD myší studovat efekt vybraných lidských bakterií, jejichž změny byly detekovány v mikrobiomech diabetiků nebo v období sérokonverze, na incidenci diabetu. V druhé části budeme testovat vliv vybraných lidských probiotických bakterií na rozvoj diabetu u monoasociovaných NOD myší, jakož i v kontextu mikrobiomu SPF NOD myší. Tyto bakterie (často už schválené k užití u lidí) mohou představovat cestu pro rychlý přechod ke klinickým testům. Mechanistické studie se zaměří na studium změn složení metabolomů, změny v populacích Tregs a dalších buněk, jejich cytokinových profilů, a T buněčných odpovědí. Kapacita Tregs zabránit T1D bude testována na modelu adoptivního kotransferu NOD-SCID myší. Projekt je tak zaměřen na nové možnosti prevence T1D a stanovení možné etiopatogenetické role vybraných testovaných bakterií.

Projekt bude zahrnovat studium relevantní literatury, gnotobiotické metodiky, měření glykémie, izolaci buněk z tkání, flowcytometrii, tkáňové kultury, in vitro T buněčné metodiky, mikroskopické metody, ELISA metody, charakterizaci metabolomů (ve spolupráci s Lab. charakterizace molekulární struktury), metodiku adoptivního kotransferu diabetu, apod. Projekt zahrnuje mezinárodní spolupráce.

Modifikace diety a střevního mikrobiomu u diabetu 2. typu: gnotobiotické myší modely

MUDr. David Funda, Ph.D.

ID 223901

Diabetes 2. typu (T2D) je metabolické onemocnění, na jehož vzniku či prevenci se kromě diety může podílet také složení střevního mikrobiomu, jeho metabolická aktivita a změny slizniční imunity. Cílem tohoto projektu je objasnění mechanismů interakce diety a mikrobiomu, specificky pak potenciálně protektivního mikrobiomu veganů u diabetu 2. typu. Na SPF a gnotobiotickém, germ-free myším modelu budeme studovat, zda efekt diabetogenní western-type diety je závislý na přítomnosti střevního mikrobiomu, nakolik je ovlivněn typem/složením mikrobiomu - porovnáním vlivu transplantovaného veganského mikrobiomu a konvenčního mikrobiomu, a nakolik typ diety (standardní versus western-type) ovlivní složení transplantovaného veganského mikrobiomu u kolonizovaných ex-germ-free myší. Western-type dieta bude též modifikována prebiotikem (vlákninou) za účelem potlačení jejího negativního efektu. Mechanistické studie zahrnují analýzu

změn metabolomů, změn střevní permeability a imunitních parametrů se zaměřením na NK/NKT a ILC buňky, T regulační buňky a jejich cytokinové profily.

Použité metodiky zahrnují gnotobiotické metody, měření glykémie, OGTT test u myší, izolaci buněk z tkání, flowcytometrii, tkáňové kultury, charakterizaci metabolomů (ve spolupráci s Lab. charakterizace molekulární struktury), metodiku měření střevní permeability apod. Projekt zahrnuje mezinárodní spolupráci.

Mechanismy diabetes-protektivních, bezlepkových diet u diabetu 1. typu: vzájemné působení mikrobiomu, metabolomu a imunity

MUDr. David Funda, Ph.D.

ID 223899

Cílem tohoto projektu je studovat mechanismy vliv lepku, respektive několika diabetes protektivních bezlepkových, gluten-free diet v prevenci diabetu 1. typu. Důležitost tohoto projektu je v tom, že gluten-free dieta je jedním z nejsilnějších diabetes protektivních faktorů vnějšího prostředí u NOD myší a reprezentuje jeden z mála faktorů, který měl i měřitelný efekt u nově diagnostikovaných dětí s diabetem 1. typu (na souboru 46 nově diagnostikovaných dětí s diabetem 1. typu byla nutnost nižší dávky insulínu během prvního roku onemocnění a nižší hodnoty HbA1c u skupiny na bezlepkové dietě). Prvním cílem tohoto projektu je porovnat rozdílné bezlepkové diety (např. gluten-free Atromin, Pregestimil) na jejich účinnost prevence diabetu u NOD myší a s využitím gnotobiotického chovu germ-free NOD myší stanovit, nakolik je jejich diabetes protektivní efekt závislý na přítomnosti SPF střevní mikroflory. V projektu budeme sledovat změny v populaci regulačních nebo potenciálně regulačních buněk po podání gluten-free diet v SPF a germ-free podmínkách a změříme se také na interakce s metabolomem, respektive s bakteriálními metabolity jako např. SCFA, nebo prozánětlivými metabolity v germ-free podmínkách. Tyto cíle a využití germ-free NOD myší by měly umožnit identifikovat prevenční mechanismy gluten-free diet v komplexní interakci faktorů jako jsou dieta, mikrobiom, metabolom a navazující imunitní mechanismy.

Práce bude zahrnovat studium odborné literatury, izolaci buněk z tkání, flowcytometrii, tkáňové kultury, in vitro T buněčné metodiky, MACS sortování buněk, mikroskopické metody, ELISA metody, charakterizace metabolomů (ve spolupráci s Lab. Charakterizace molekulární struktury), měření glykémie, testování potenciálu zabránit onemocnění na myších modelech, a další. Projekt zahrnuje dlouhodobé mezinárodní spolupráce.

Možnosti terapeutického potenciálu kmenových buněk pro léčbu závažných poškození oka

prof. RNDr. Vladimír Holář, DrSc.

ID 223812

Kmenové buňky jsou v současné době studovány pro možnost využití v léčbě mnohých typů onemocnění. Jejich terapeutický potenciál spočívá především ve schopnosti diferenciaci v rozdílné buněčné typy, produkci neuroprotektivních a růstových faktorů, a také možnosti imunoregulačního působení.

Tyto schopnosti by mohly být využity ke zlepšení stavu poškozených nervových buněk, který je spojen s různými typy degenerativních nebo zánětlivých onemocnění. Mezi tento typ onemocnění, kdy

dochází k nevratné degeneraci nervových buněk a také k nežádoucí reakci imunitního systému, patří mimo jiné i degenerativní onemocnění sítnice, které jsou hlavní příčinou snížené kvality vidění nebo až ztráty zraku u dospělých pacientů.

Hlavním cílem projektu bude proto studovat vliv mesenchymálních kmenových buněk (MSC) izolovaných z kostní dřeni nebo tukové tkáně na regulaci zánětu v prostředí nervových buněk oka, eliminaci poškození a případný diferenciační potenciál v buněčné typy, které byly degenerovány. Dále také bude sledována schopnost migrace kmenových buněk do místa poškození při intraperitoneálním a lokálním podání, a možnosti zlepšení jejich terapeutického potenciálu.

Ke studiu budou použity definované a charakterizované populace MSC, tkáňové kultury explantátů sítnice a in vivo experimentální zvířecí modely poškozené sítnice, průtoková cytometrie a měření relativní genové exprese.

Vliv nanomateriálů na mezenchymální kmenové buňky a na regeneraci tkání

prof. RNDr. Vladimír Holář, DrSc.

ID 223813

Mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) sú vhodným prostriedkom k využitiu v regeneratívnej medicíne a bunecnej terapii. Majú schopnosť diferencovať na potrebný bunecný typ v mieste poškodenia, kde preferenčne migrujú. Taktiež dokážu pôsobiť imunoregulačne a protizápalovo na bunky imunitného systému. Na regenerácii sa podieľajú buď priamym medzibunecným kontaktom alebo produkciou cytokínov a rastových faktorov.

Nanomateriály ako súčasť medicínskych produktov sú stále častejšie používané v klinickej liečbe, ale ich vplyv na ľudský organizmus stále není plne preskúmaný. Nanočastice môžu negatívne ovplyvňovať všetky vlastnosti buniek. Negatívny vplyv na kmeňové bunky by mohol spôsobiť spomalenú regeneráciu a hojenie tkanív.

Cieľom doktorského projektu bude štúdium vplyvu panelu definovaných nanočastíc na rast, metabolickú aktivitu, fenotyp, apoptózu, expresiu génov, sekréciu cytokínov, diferenciačný potenciál a na funkčné vlastnosti myších a ľudských MSC. Migrácia MSC bude sledovaná v myších experimentálnych modeloch akútneho a chronického podávania nanočastíc. V týchto modeloch bude sledované hojenie kožných poranení a regenerácia chemicky poškodenej rohovky. Projekt ukáže riziká spojené s používaním liečiv a prístrojov obsahujúcich nanočastice v období hojenia a regenerácie tkanív.

Oddelenie nanotoxikológie a molekulárnej epidemiológie Ústavu experimentálnej medicíny AV ČR, v. v. i. je dostatočne technicky vybavené pre realizáciu požadovaných experimentov a pre prácu s tkanivovými kultúrami. Na pracovíšti je zavedený protokol kultivácie MSC a model poškodenia kože i rohovky.

Leukocyte motility and migratory behaviour

Mgr. Miroslav Hons, Ph.D

ID 223911

An efficient immune response requires cells of the immune system to be at the right place at the right time and depends on their migration and correct positioning in tissues. Our research team examines mechanisms which enable immune cells to establish motile behavior and we explore how defects in leukocyte motility impact immunity on the system level.

Locomotion of leukocytes is driven by molecules distributed in the environment such as chemokines or molecules from damaged cells or bacteria. Those chemical signals are recognized by specific receptors on the surface of leukocytes and trigger signaling cascades resulting in rapid reorganization of cytoskeleton, morphological changes and motility. Nevertheless, leukocytes migrate in tissues with diverse physical properties. Some tissues might be porous but others can be dense and difficult to crawl through. Tissues are also often inhomogeneous and migrating leukocytes have to be able to avoid physical obstacles to find their way. Thus, leukocytes must be able to read two kinds of signals: chemical - coming out of biologically active molecules, and mechanical - from surrounding tissues. We focus on how leukocytes recognize mechanical inputs and what mechano-receptors they use. We also want to understand how leukocytes integrate mechanical and chemical signals and how mechanical stress influences leukocytes behavior.

We use live cell imaging to record and analyze leukocytes behavior and their morphological and cytoskeletal dynamics. To expose cells to mechanical stress under experimental conditions we manufacture custom-made devices that can be used to expose cells to mechanical confinement or they can be imprinted with microchannels that can form various constrictive geometries. To complement this reductionistic approach, we study migratory behavior of leukocytes in lymphoid organs and peripheral tissues with intravital imaging.

We are looking for motivated candidates interested in cell biology, cytoskeleton, immunology and microscopy. We seek for candidates with various backgrounds and applicants without previous experience with related topics are encouraged to apply.

We offer:

- Opportunity to work in a newly-established team within a multidisciplinary institution.
- State-of-the-art infrastructure.
- Part-time position.

For more insight please see:

<https://www.biocev.eu/en/research-program/cellular-biology-and-virology.4/leukocyte-motility.66>

<https://www.biocev.eu/en/career/scientific-and-study-positions/phd-student-position-leukocyte-motility-lab.102>

https://www.researchgate.net/profile/Miroslav_Hons

<https://orcid.org/0000-0002-6625-3348>

Effect of early postnatal probiotic supplementation on developing immune systém

RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

1.LF

Mutual interaction between microbiota and the host influences immune responses and maintains the homeostasis. Early postnatal colonisation of newborn by microbes contributes to neonatal immune system maturation. Changes in microbiota composition or function (dysbiosis) could support development of immunopathologies (inflammatory bowel disease, allergy, autoimmunity). Recently, it has been demonstrated that microbiota modification play a key role in cancer therapy. Topic of PhD thesis focuses on elucidation of the beneficial effect of early postnatal probiotic administration in prevention of allergy and nonspecific bowel diseases. The other aim of the thesis targets on the characterisation of the impact of early postnatal antibiotic administration on changes of host's homeostatic immune responses with microbiota as possible trigger of immunopathologic reactions contributing to disease development later in the life. Special attention will be paid to experimental mouse models (murine model of allergy, models of colitis and tumors) facilitating detailed analysis of mechanisms how early postnatal probiotic administration affect developing microbiota and interactions between microbiota and host immune system. For successful solving of the PhD thesis, PhD candidate has to become familiar with flow cytometry, quantitative real-time PCR, isolation of cell subpopulation either by FACS sorter or antibody labelled magnetic beads (e.g. EasySep, Miltenyi Biotec), immunoenzymatic methods (e.g. ELISA). Substantial part of the PhD project will involve manipulation with the experimental murine models of human diseases.

Komplexní studie - dlouhodobé důsledky patologické gravidity na zdraví matek a jejich dětí

ID 223375

prof. RNDr. Ilona Hromadníková, PhD.

V poslední době se hromadí důkazy o tom, že léčba neplodnosti a nejrůznější těhotenské komplikace matky (gestační hypertenze, preeklampsie, růstová restrikce plodu, předčasný porod, gestační diabetes mellitus, antifosfolipidový syndrom, atd.) mají negativní dopad na budoucí zdraví nejen matky, ale i dítěte, přičemž dochází ke zvýšenému výskytu zejména kardiovaskulárních onemocnění později v průběhu jejich života.

Pomocí komplexního vyšetření, zahrnující anamnézu, fyzikální vyšetření pacientů, vyšetření laboratorních parametrů včetně imunologických a molekulárních biomarkerů určujeme riziko pozdějšího rozvoje různých onemocnění, včetně kardiovaskulárních chorob, u matek a jejich dětí. Cílem studie je vypracování doporučení preventivní péče a nastavení optimálních screeningových programů pro matky po komplikované graviditě a pro děti narozené z takto komplikované gravidity, která by měla přispět k dispenzarizaci komplikovaných případů, jejich sledování a zahájení včasné intervence (prevence a případně léčby).

Úloha střevní mikroflóry v patogenezi střevních zánětů gnotobiotických myší

Ing. Tomáš Hudcovic, Ph.D.

ID 223845

Vliv střevní mikroflóry na vývoj experimentálně indukovaných střevních zánětů je v Laboratoři gnotobiologie MBÚ AV ČR studován již po řadu let.

Ulcerózní kolitida (UC) patří mezi chronické idiopatické střevní záněty, která často přechází ve zhoubný kolorektální karcinom. Jedná se o multifaktoriální onemocnění, v jehož etiologii hraje dosud neobjasněnou roli střevní mikroflóra.

Vzhledem k tomu, že pacienti se zánětlivým onemocněním střeva (IBD) mají pozměněný mikrobiom, ve kterém dominují druhy neprodukující krátko řetězcové nasycené mastné kyseliny (SCFA, butyrát, propionát, acetat). SCFA mohou zásadně ovlivňovat fyziologické a imunitní funkce střeva, respektive průběh střevních zánětlivých onemocnění.

Doktorand bude studovat mechanismy působení butyrátů při zánětu hostitele a stanoví, zda dysbiózu střevní mikroflóry ve zvířecím modelu ulcerózní kolitidy, je možné modulovat působením probiotik a butyrátů. Původně bezmikrobní myši budou osazovány jednotlivými nepatogenními a také SCFA-produkujícími bakteriálními kmeny. V dextranulfátovém modelu (DSS) bude vyvolán akutní a chronický experimentální zánět a bude prověřena jejich biologická aktivita. Ke studiu mechanismu vzniku UC využijeme také IL-10 deficitní myši.

Doktorand bude studovat in vitro imunomodulační vlastnosti bakterií na buněčných liniích např.: myší RAW linie a myších BM-DC a dalších.

Doktorand bude zjišťovat vliv bakterií na vrozenou a adaptivní imunitu a vyhodnotí histologicky a imunohistochemicky změny na sliznici střeva. Stanoví prozánětlivé a protizánětlivé hladiny cytokinů a jejich mRNA, stejně tak mRNA pro stanovení produkce mucinu (MUC2) a výskytu těsných spojů (TJ). Expres Toll-like receptorů 2 a 4 bude sledovat na úrovni mRNA pomocí RT-PCR a na úrovni proteinového produktu Western blottem.

Změny ve složení mikrobiomu při vzniku atopické dermatitidy a potravinové alergie u kojenců a batolat

RNDr. Zuzana Jirásková Zákostelská, Ph.D.

1.LF

Atopická dermatitida (AD) je nejčastější chronické zánětlivé onemocnění kůže, postihující až 20% dětí v průmyslových zemích během prvního roku jejich života. Na jejím vzniku se podílí genetická predispozice a faktory životního prostředí, avšak její patogenese není doposud plně objasněna. Předpokládáme, že nejen kožní, ale také střevní mikrobiální dysbióza hraje významnou roli v imunopatogenezi AD u pacientů s nebo bez potravinové alergie (PA).

Hledáme motivovaného postgraduálního studenta, který by se v rámci své doktorské práce zabýval hledáním vhodných biomarkerů asociovaných se změnami ve složení střevní a kožní mikrobioty u dětských pacientů s AD s nebo bez PA. Hledané biomarkery by mohly být využity v prevenci rozvoje atopické dermatitidy nebo potravinové alergie, či v predikci dalšího průběhu atopické dermatitidy, resp. přirozeného průběhu potravinové alergie. V rámci projektu budeme sledovat imunitní odpověď

na mikrobiální a potravinové antigeny stanovené v séru, stolici a buňkách periferní krve izolovaných z jednotlivých pacientů v různých fázích onemocnění a dáme ji do souvislosti se změnami kožní a střevní mikrobioty.

Postgraduální student bude v průběhu studia v naší laboratoři pracovat se vzorky získanými od dětských pacientů a naučí se používat široké spektrum imunologických metod (např. ELISA, průtoková cytometrie a imunofluorescence) a molekulárně-biologických metod (např. RT-PCR). V rámci svého doktorského projektu se bude také zabývat studiem složení kožní a střevní mikrobioty u pacientů s AD a PA, k čemuž bude využívat nejmodernější současné techniky – masivně paralelní sekvenování na přístrojích Illumina.

Novel clinically relevant IL-2 immunotherapeutics for cancer treatment

OD 223563

RNDr. Marek Kovář, Ph.D.

Mouse IL-2/S4B6 mAb complexes with potent stimulatory activity for memory CD8⁺ T and NK cells possess significant antitumor activity and are superior to free IL-2. Potential clinical use of these complexes is limited due to the mouse origin of IL-2 and dissociation of the complexes at low concentrations. We plan to design, produce and characterize recombinant immunocytokine (IC) consisting of human IL-2 (hIL-2) covalently linked to light chain of anti-hIL-2 mAb, functionally similar to S4B6 mAb, which circumvent disadvantages of IL-2/S4B6 mAb complexes and exerts sufficient biological activity. Further, we will evaluate its biophysical characteristics, mechanism of action, potential to stimulate various subsets of immune cells and antitumor activity. Next, we will try to improve biological activity of our IC by modifying the binding interaction of hIL-2 and anti-hIL-2 mAb. Finally, we will investigate the possible synergism in antitumor activity of our IC and treatment with immune checkpoint inhibitors (α CTLA-4 mAb and/or α PD-1 mAb) and chemotherapy in selected mouse tumor models.

We want to design, produce and characterize antitumor activity of a recombinant immunocytokine consisting of human IL-2 (hIL-2) covalently linked to light chain of anti-hIL-2 mAb and investigate its potential in combination with immune checkpoint inhibitors (α CTLA-4 mAb and/or α PD-1 mAb).

Targeting cancer chemoresistance by polymeric conjugates for selective delivery of cytostatic drug and inhibitors of Pg-p and STAT3 into solid tumors

ID 223564

RNDr. Marek Kovář, Ph.D.

Chemotherapy is an important modality in treatment of malignant diseases, however, it is seriously limited by chemoresistance of many tumors. Chemoresistance is very often caused by either intrinsic or acquired multidrug resistance mediated by overexpression of some ABC transporter and P-glycoprotein being the most frequent one. Tumor chemoresistance can be also mediated by constitutive activation of some crucial signaling pathway involved in cell proliferation and survival like that based on STAT3. Here we suggest to employ drug delivery system based on HPMA copolymer conjugates bearing covalently bound cytostatic drug, inhibitor of P-glycoprotein and STAT3 inhibitor. Such conjugates should be capable to overcome chemoresistance of cancer cells by

simultaneous delivery of cytostatic drug and inhibitors of molecular targets responsible for insensitivity to these drugs. Moreover, high-molecular-weight polymeric conjugates possess long elimination half-life and passively accumulate within solid tumors via EPR effect thus further improving therapeutic activity of bound drugs in vivo.

We plan to design, synthesize and test in vitro and in vivo biological activity of HPMA copolymer conjugates bearing a combination of cytostatic drug, P-glycoprotein inhibitor and STAT3 inhibitor in order to overcome chemorefractory nature of tumors with intrinsic and acquired multidrug resistance.

Cellular interactions in tumour stroma and their effects on tumour expansion

Mgr. Helena Kupcová Skalníková, Ph.D.

ID 223199

Tumours are formed not only by malignant cells, but also stromal cells (fibroblasts, vascular endothelial cells and others), immune cells and extracellular matrix. Interplay among such members of tumour microenvironment predicts the tumour growth as well as response to therapy. Current therapies are mostly targeted against the malignant cells. Nonetheless, therapeutic targeting of side components of the tumour microenvironment may have far-reaching effects also on the intrinsic malignant cells.

The cells in the tumour stroma communicate by direct contact, variety of autocrine and paracrine molecules or extracellular vesicles released to tissue as well as blood and lymph. The aim of this project is to characterize secreted factors, including extracellular vesicles, in microenvironment of melanoma and their effects on tumour growth and prognosis using human cells and porcine melanoma model MeLiM.

Methods: cell culture, blood and tissue collection from animals, isolation and characterization of extracellular vesicles, flow cytometry, biochemical techniques, immunological methods (Luminex, ELISA), proteomics (mass spectrometry, bioinformatics).

Lineage plasticity in acute leukemias

MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

LF

Transdifferentiation to myeloid lineage in B cell precursor acute leukemia occurs more frequently than previously expected. In 2016 was described recurrent translocation of DUX4 gene which leads to increased expression of this gene and we observed frequently transdifferentiation to monocytic lineage in this subset. DUX4 gene is expressed early during the embryogenesis and aberrant expression is causal for fascial scapular muscular dystrophy. Another genetic subgroup tightly connected to transdifferentiation into monocytic lineage represents cases with mutation in PAX5 gene PAX5P80R. Exact processes leading to transdifferentiation are poorly understood. Following methods will be used: polychromatic flow cytometry, mass cytometry, whole genome techniques (RNA seq, exome, methylome).

Prognostická role imunitního infiltrátu a jeho vliv na imunoterapeutickou léčbu metastatického karcinomu ovaria

PharmDr Jitka Palich Fučíková, Ph.D.

ID 223894

Vědecká orientace Ústavu imunologie je dlouhodobě věnována imunologii nádorových onemocnění a imunogenní buněčné smrti nádorových buněk (Fucikova et al, Blood, 2016; Fucikova et al, Cancer Res 2016; Fucikova et al, CCR, 2019). Společným jmenovatelem projektů je porozumění mechanismům protinádorové imunitní odpovědi a jejich využití pro přípravu protokolů specifické protinádorové imunoterapie (Fucikova et al, Front Immunol, 2019; Fucikova, CII, 2018).

Nádorové mikroprostředí představuje komplexní heterogenní strukturu, která hraje esenciální roli v podpoře růstu, proliferaci a schopnosti maligních buněk tvořit metastatická ložiska. Nádorové mikroprostředí je tvořeno maligními, stromálními, epiteliálními a endoteliálními buňkami a složkami imunity. Z výsledků preklinického testování na našem pracovišti vyplývá, že složení a funkční orientace imunitního systému v nádorovém mikroprostředí pacientek s primárním karcinomem ovaria (HGSC) má zásadní vliv na výslednou prognózu tohoto závažného onemocnění (Truxova et al, JITC, 2018; Fucikova et al, CCR, 2019; Kasikova et al, JITC, 20219). Nicméně, složení a funkční orientace nádorového mikroprostředí metastatické tkáně a jeho případný vliv na prognózu pacientek s high-grade serózním karcinomem ovaria (HGSC) není dosud jednoznačně objasněn.

Ve spolupráci s Ústavem patologie a molekulární medicíny ve FN Motol a Fingerlandovým patologickým ústavem v HK máme přístup k vzorkům primární a metastatické nádorové tkáně pacientek s HGSC. V laboratoři jsou zavedeny protokoly pro práci s primární nádorovou tkání a následné metodické postupy: imunohistochemická a imunofluorescenční analýza FFPE vzorků nádorových tkání, průtoková cytometrie, western blot, bioinformatická analýza celogenomového sekvenování, RT-PCR (Truxova et al, JITC, 2018; Fucikova et al, CCR, 2019; Kasikova et al, JITC, 20219). Dalším významným aspektem práce s klinickými vzorky je dostupnost dat o klinickém průběhu onemocnění u zařazených pacientů díky dlouhodobé spolupráci s Gynekologicko-porodnickou klinikou ve FN Motol, FN Hradec Králové a FN Královské Vinohrady.

Cílem postgraduálního studia bude:

- 1) Charakterizovat přítomnost imunitního infiltrátu v nádorovém mikroprostředí primární a metastatické tkáně karcinomu ovaria na genové i proteinové úrovni u retrospektivní a prospektivní kohorty pacientek pomocí celogenomového sekvenování, metody RT-PCR, imunohistochemie, imunofluorescence a průtokové cytometrie a korelovat získaná data s dříve publikovanými výsledky a klinickým průběhem onemocnění léčených pacientek.
- 2) Pomocí průtokové cytometrie charakterizovat expresi a produkci markerů imunogenních molekul a blíže specifikovat funkční orientaci subpopulací imunitního systému v nádorovém mikroprostředí u pacientek s HGSC léčených/neléčených chemoterapií.
- 3) Charakterizovat vliv aplikované neo-adjuvantní chemoterapie na mutační nálož nádorové tkáně (TMB, z angl. Tumor mutational burden) a současně charakterizovat vliv TMB na výslednou aktivaci protinádorové imunitní reakce.

Gut microbiome and autoimmune mechanisms in patients with central hypersomnia

RNDr. Petra Procházková, Ph.D.

ID 224012

Narcolepsy type 1 (NT1), narcolepsy type 2 (NT2) and idiopathic hypersomnia (IH) differ in their etiopathophysiology. The etiopathophysiology of NT1 is related to the hypocretin deficiency of autoimmune origin. The etiopathophysiology of NT2 and IH is unknown.

The gut microbiota has an impact on brain functions and behavior either directly by mediators' production or indirectly via autoantibodies against selected neurons. This evokes the hypothesis that microbiota has a role in the etiopathophysiology of diseases with central hypersomnia and may modify actual intensity of hypersomnia itself. The so-called gut-brain axis presumes the existence of a bidirectional communication network between the gut microbiota, enteric autonomous and central nervous system.

The project aims to define and analyze the causal relationships between the gut microbiome of patients with narcolepsy and their disease concerning the autoimmunity.

The PhD student will learn several molecular and immunological methods. He/she will have an opportunity to present obtained results at international conferences. The involvement in other projects related to the microbiome studies in disease pathogenesis is possible.

Work description:

- Analysis of gut microbiome composition in patients with central hypersomnia and to compare it to healthy individuals
- The detection of the potential changes in intestinal barrier functions
- The determination of the autoantibodies levels against hypocretin and the detection of other possible autoantibodies against neuronal antigens
- The correlation of the gut microbiome composition changes, gut barrier function and autoantibody levels with clinical parameters
- Presentation of results at international conferences and their publication in impact-journals

keywords: microbiome, autoantibodies, narcolepsy, gut, brain, neurology, imunology, intestinal barrier function

Prevention/therapy of allergic sensitization and allergy development in gnotobiotic mouse models

Mgr. Martin Schwarzer, Ph.D.

ID 221821

Allergies are widespread pathological immune reactions which are initiated by generally harmless food/airborne antigens. Their global prevalence have been increasing since the 1960s, especially in industrialized countries, suggesting environmental factors play a key role in the susceptibility and etiology of this disorder. The development of allergy is a two-step process: i) allergic sensitization and ii) the effector phase. The humoral and cellular immune responses are clearly biased toward a

type 2-related phenotype, characterized by the production of specific IgE antibodies and cytokines, such as IL-4, IL-5, IL-13, or IL-10. In the effector phase, allergen-induced crosslinking of IgE bound to mast cells or basophils leads to release of allergic mediators resulting in the rapid appearance of symptoms, such as sneezing, itching, swelling or diarrhea in case of food allergies. The hygiene hypothesis postulates that behind the increased susceptibility to allergic diseases is the lack of exposure to microbial stimuli or altered microbial stimulation, which leads to aberrant immune system maturation. Along these lines, dysbiotic microbiota leading to allergy development or associated with allergic diseases has been reported to have decreased or lack of certain groups of commensal bacteria including lactobacilli and bifidobacteria.

Within the framework of the Ph.D. you will master the handling with germ-free and conventional mice and work with mouse models of food and airway allergies. Specifically, you will investigate the impact of selected probiotic and commensal bacteria (such as lactobacilli, bifidobacteria or non-pathogenic *E. coli*) and defined isolated bacterial components on the development of naive immune system and allergic sensitization/inflammation in mouse model.

During your PhD. study you will use classical and molecular-biological methods for bacterial detection and cultivation. You will master different methods such as ELISA, Western-blot, PCR and real-time PCR, flow cytometry, in vitro cell and cell line cultivation, histology and immunohistochemistry.

Location:

Integrative Physiology of Gnotobionts group

Laboratory of Gnotobiology (<http://gnotobio.mbu.cas.cz/>),

Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences,

Doly 183,

Nový Hrádek, 54922

Interested applicants feel free to contact schwarzer@biomed.cas.cz

Integrative Physiology of Gnotobionts research group is funded by grants from Czech Grant Agency and EMBO Installation grant.

Bacteria mediated juvenile host growth promotion during chronic undernutrition and standard diet regime

Mgr. Martin Schwarzer, Ph.D.

ID 222232

Previously, we have shown that microbiota is necessary to sustain optimal weight gain and linear growth of infant mice when fed a standard diet or a nutritionally depleted isocaloric diet (Schwarzer et al., Science 2016). Using monocolonized mouse model we showed that lactobacilli previously selected in *Drosophila* model of chronic undernutrition for their growth promoting capabilities were sufficient to increase linear growth of mice in a strain-dependent manner and recapitulated the whole microbiota's effect on growth. On the molecular level, we found that intestinal microbiota and *Lactobacillus plantarum* interact with the hormonal somatotrophic axis (GH/IGF-1) activity to drive systemic growth. This exciting finding implies that there might be evolutionary conserved effects of *Lactobacillus plantarum* strains to promote juvenile growth. We are further dissecting the molecular

mechanism behind the bacteria driven host growth promotion with the ultimate goal to improve the current treatment of undernutrition in human population. Further reading (Schwarzer et al., 2018; Schwarzer 2018; Poinso et al., 2018).

Within the framework of the Ph.D. you will master the handling of germ-free and conventional mice and work with mouse model of chronic malnutrition. Specifically, you will investigate the impact of selected probiotic, specific bacterial community, and defined isolated bacterial components on the development on the juvenile growth of weaned mice.

During your PhD. study you will use classical and molecular-biological methods for bacterial detection and cultivation. You will master different methods such as ELISA, Western-blot, PCR and real-time PCR, in vitro cell and cell line cultivation, histology and immunohistochemistry.

Location:

Integrative Physiology of Gnotobionts group

Laboratory of Gnotobiology (<http://gnotobio.mbu.cas.cz/>),

Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences,

Doly 183,

Nový Hrádek, 54922

Interested applicants feel free to contact schwarzer@biomed.cas.cz

Integrative Physiology of Gnotobionts research group is funded by grants from Czech Grant Agency and EMBO Installation grant.

Molekulární a buněčná podstata katarální fáze a transmise pertusové infekce

prof. doc. Ing. Peter Šebo, CSc

ID 223428

Černý, či dávivý kašel, nebo-li pertuse, je významné a mimořádně infekční respirační onemocnění, které před zavedením očkování patřilo k hlavním příčinám kojenecké úmrtnosti. Díky zavedení méně reaktogenních a méně účinných očkovacích látek, se nyní pertuse masivně vrací do nejvyspělejších zemí. Infekce začíná tzv. katarální fází, kdy se bakterie po potlačení imunity hostitele pomnoží v nosohltanu do vysokých počtů a vyvolá rinoreu, tedy nekontrolovatelný výtok z nosu infikovaného jedince, který jej přinutí kašlat a kýchat a tím šířit infekci v aerosolových kapénkách. Molekulární a buněčná podstata tohoto procesu zůstává zcela neprostudovaná a nepoznaná, neb donedávna nebyly k dispozici vhodné zvířecí a buněčné modely k jejímu studiu. Nám se jako prvním povedlo zavést model MyD88 KO myši ve které dochází k šíření infekce B. pertussis z myši na myš. Můžeme proto pomocí mutagenese patogena B. pertussis a pomocí genetické manipulace myši teď začít hledat faktory virulence patogena a identifikovat buněčné a molekulární mechanismy, které vedou k otevření těsných spojů mezi buňkami respiračního epitelu, k otevření chloridových kanálů (CFTR) a k nadprodukcí mukusu a úniku kapaliny přes epitelální bariéru, jež vedou k výtoku z nosu infikované myši a transmissi infekce. Zároveň jsme zavedli model polarizovaných epitelálních vrstev pěstovaných na rozhraní vzduchu a kapaliny, ve kterých lze tyto procesy studovat na buněčné a molekulární úrovni. Cílem projektu bude testovat hypotézu, že součinnost působení pertusového toxinu s adenylátcyklázovým toxinem bakterie B. pertussis a signalizace bakterií-produkovaných TLR ligandů,

vede k zvýšení hladiny cAMP v epitelálních buňkách, zvýšení produkce mucinů pohárkovými buňkami, otevření chloridových kanálů (CFTR), zablokování Rab11-závislého dokování exocystového komplexu do epitelální membrány tvořící těsné mezibuněčné spoje a k narušení integrity epitelální bariéry. Ke studiu komplexu těchto dějů budou využity jak zvířecí modely, tak techniky molekulární biologie a genetiky buněčné biologie a fluorescenční mikroskopie ve vysokém rozlišení pro analýzu buněčných pochodů v infikovaných epitelálních vrstvách. Cílem bude objasnit, proč nám teče z nosu, když se nám v něm usadí původce černého kašle.

Targeted modulation of anti-tumor immune response and tumor microenvironment using polymer drug delivery systems

RNDr. Milada Šírová, Ph.D.

ID 223912

Project focused on the study of impacts of the treatment of experimental tumors using targeted polymer therapeutics. These are therapies designed as chemotherapy of a new generation intended for tumor therapy, capable of targeted modulation of the tumor cells or tumors and devoid of the systemic toxicity burden. The project focuses on characterization of the changes in the anti-tumor immune responses, which are decisive for the treatment success. The modulation of the immune response of the host was already proven; however, a more detailed characterization of the mechanisms which play a key role is still missing. The project also should propose and study new biologically active agents, suitable for creating polymer conjugates targeted to inhibition of mechanisms, that are critical for the generation and maintaining of the immunosuppressive character of the tumor microenvironment, e.g., the immunosuppressive CD39/CD73-adenosine pathway. This may represent an innovative approach to the development of immune checkpoint inhibitors. Predominantly, exploration of polymer conjugates based on N-(2-(hydroxypropyl)methacrylamide (HPMA) is supposed. The conjugates are designed and studied in joint projects with the Laboratory of biomedical polymers at the Institute of Macromolecular Chemistry, CAS, in Prague. The PhD student's task will be the study of biological and immunological effects of polymer conjugates binding various drugs, in particular at the cellular level and in vivo using transplantable or induced experimental tumors in mice.

Biomarkery fibrotizujících a zánětlivých intersticiálních plicních procesů

prof. MUDr. Martina Vašáková, Ph.D.

LF

Interstitial lung diseases (ILDs) are heterogeneous group of diseases based on different response of lung tissue to external or internal factors. The nature of the process and prognosis of the patients is sometimes not easy to predict. The project will be aiming to identify clinical, radiologic and molecular biomarkers predicting course of the ILDs and need for either antiinflammatory or antifibrotic treatment. The materials from the patients with ILDs will be collected (clinical characteristics and functional parameters, radiology- high resolution computed tomography- HRCT, blood, bronchoalveolar lavage and lung biopsy). The genetic profile of the patients will be investigated as well. As a result we aim to create predictive combined biomarker score or combination of biomarkers, which can predict prognosis of the patients and allocate appropriate treatment. Thus some parameters will be evaluated also during 5 years follow -up (HRCT, blood, functional parameters).

The work will consist of clinical part with collection of the clinical data or consecutively investigated patient with interstitial lung diseases (clinical parameters, lung function, radiology- high resolution computed tomography, bronchoalveolar lavage, lung biopsy). The genetic investigation and molecular analysis of biologic samples will be performed at the workplace of the consultant- prof. Matěj. We count with at least 5- years project- it will be longitudinal follow-up study.