

Abstrakt

Střevní mikrobiota je významným faktorem ve vývoji některých onemocnění, k nimž patří i idiopatické střevní záněty (IBD, n = 127), Ulcerózní kolitida, Crohnova choroba, a kolorektální karcinom (CRC, n = 64). Součástí této práce je připravit klinický materiál různého typu (stolice, biopsie) k sekvenaci na platformě Illumina Miseq. Tohoto je dosaženo přes izolaci DNA, amplifikaci 16S a vnitřního přepisovaného mezerníku (ITS), normalizaci a ligaci sekvenačních adaptorů. Cílem je pomocí sekvenačních dat popsat rozdíly v mikrobiomu zdravých a nemocných jedinců v případě IBD nebo zdravé a karcinomem zasažené tkáně u pacientů s CRC. Tuto práci tvoří i kultivační část, kdy jsou vzorky čerstvé stolice (n = 3) kultivovány při široké škále aplikovaných podmínek, jimiž je zjištěna ekofyziologická a druhová diverzita těchto vzorků klasickými a molekulárními metodami. Zároveň je spolehlivě taxonomicky určena diverzita kultivovatelných hub ve fekálních vzorcích amplifikací relevantních genů (ITS1, β tubulin, druhé největší podjednotky RNA polymerázy II., RPB2) a následnou oboustrannou sekvenací Sangerovou metodou. Vybrané druhy hub jsou zpracovány na lyzáty, kterými jsou stimulovány buněčné kultury myších makrofágů (RAW). Vliv hub na imunitní odpověď je tak studován *in vitro* a analyzován imunologickými metodami jako je průtoková cytometrie (FASC) a kolorimetrické analýzy, enzymatická imunoanalýza (ELISA) a Griessova reakce.

Práce se tak neomezuje na pouhý popis změn střevního mikrobiomu, ale variabilitou zapojených metod se snaží o komplexní uchopení tematiky střevního mikrobiomu a jeho souvislosti se střevním onemocněním.

Klíčová slova: mykobiom, mikrobiota, Illumina, ITS rDNA, diverzita, idiopatický střevní zánět, kolorektální karcinom, *in vitro* testy, imunoanalýzy