

Konkurs na stanowisko postdoc/adiunkt w projekcie badawczym NCN OPUS-23

Zrozumienie wieloskalowych mechanizmów antybakteryjnej odporności wrodzonej na poziomie pojedynczych komórek

BSP-DSP.111.22.2024

INSTYTUCJA:	Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN
MIASTO:	Warszawa
STANOWISKO:	postdoc/adiunkt
DYSCYPLINA NAUKOWA:	Inżynieria biomedyczna, mikrobiologia, immunologia, biologia systemów
TERMIN SKŁADANIA OFERT:	21.08.2024

SŁOWA KLUCZOWE: odporność wrodzona, infekcje bakteryjne, makrofagi, *L. monocytogenes*, heterogeniczność odpowiedzi, analizy na poziomie pojedynczych komórek, NF- κ B, mikroskopia przyżyciowa, modelowanie matematyczne

Informacje o projekcie:

Kierownik projektu: Prof. dr hab. inż. Paweł Paszek

Okres trwania: 36 miesięcy

Instytucja: Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, Pracownia Modelowania w Biologii i Medycynie.

Przybliżona data rozpoczęcia: 1 październik 2024 (wcześniejszy start jest możliwy)

Oferujemy wynagrodzenie w wysokości 9300 PLN/miesiąc brutto (z dodatkiem za wysługę lat) przez 26 miesięcy (z możliwością przedłużenia do 36 miesięcy).

CELE PROJEKTU

Głównym celem projektu jest zrozumienie mechanizmów wrodzonych odpowiedzi immunologicznych na infekcje bakteryjne na poziomie pojedynczych komórek. Skupimy się na oddziaływaniach charakteryzowanych poprzez fizjologicznie niskie wielkości infekcji oraz efektu podwyższonej temperatury (gorączki), które powodują niejednorodne i stochastyczne efekty w zakażonej populacji gospodarza. Zbadamy oddziaływania pomiędzy makrofagami układu wrodzonej odporności z bakterią *Listeria monocytogenes*, która powoduje wysoką zachorowalność i śmiertelność u ludzi.

Naszymi głównymi celami są:

- Wyjaśnienie, w jaki sposób dynamiczne odpowiedzi ścieżek NF- κ B/STAT/IRF kodują informacje o zachowaniu bakterii i wyniku infekcji. Używając mikroskopii przyżyciowej, przeanalizujemy odpowiedzi gospodarza w zakażonych komórkach jako funkcję gęstości i temperatury, i zrozumiemy, w jaki sposób regulują one wyniki oddziaływań gospodarz-patogen.
- Zrozumienie populacyjnych strategii obronnych gospodarza. Zbadamy, w jaki sposób sygnalizacja parakrynną oraz adaptacja na zmiany temperatury koordynują reakcje zapalne na

poziomie całej populacji. W szczególności zbadamy rolę sygnalizacji $TNF\alpha$, $IL1\beta$, $IL6$ i $IFN\alpha/\beta$ w tym procesie.

- Ustalenie czy zmienność odpowiedzi gospodarza i patogenu jest współregulowana jako podstawowy mechanizm odpornościowy monitorując aktywację regulonu PrfA w *L. monocytogenes* z rozdzielczością pojedynczej bakterii.
- Opracowanie predykcyjnych modeli matematycznych odpowiedzi immunologicznej na *L. monocytogenes* z wykorzystaniem perturbacji genetycznych i chemicznych, w celu manipulacji wyników infekcji.

METODOLOGIA

Aby kompleksowo zrozumieć niejednorodny i dynamiczny charakter infekcji, zastosujemy podejście biologii systemów na poziomie pojedynczych komórek. Wykorzystamy przyżyciową mikroskopię konfokalną do monitorowania aktywacji NF- κ B/STAT/IRF w czasie rzeczywistym wraz z wirulencją regulonu PrfA i zachowania *L. monocytogenes*. smFISH i immunofluorescencja posłużą do pomiarów ekspresji genów zależnych w różnych subpopulacjach komórek gospodarza. Stochastyczne i deterministyczne modele matematyczne opiszą ilościowo strategię obronne gospodarza i dostarczenia nowych predykcji.

W projekcie użyte zostaną następujące metody badawcze – wybrany kandydat/kandydatka będzie miał/miała możliwość przeszkolenia we wszystkich poniższych obszarach:

- a) obrazowanie mikroskopowe żywych komórek gospodarza i patogenu przy użyciu markerów fluorescencyjnych, umożliwiających obserwację zachowania i genów wirulencji bakterii oraz aktywacji głównych białek układu odpornościowego gospodarza
- b) obrazowanie mikroskopowe utrwalonych komórek, które umożliwią obserwację większej liczby komponentów układu odpornościowego w określonych punktach czasowych (immunofluorescencja oraz smFISH).
- c) analizę białek oraz ekspresji genów i produkcji cytokin zaangażowanych w odpowiedź antywirusową przy pomocy RT-PCR, digital PCR, Western blot, ELISA i innych odpowiednich technik, np. metod CRISPR do tworzenia fluorescencyjnych linii komórkowych.
- d) system mikrofluidyki kropelkowej do przeprowadzania infekcji przy jednoczesnym zastosowaniu technik pomiarowych z punktów a) i b);
- e) modelowanie matematyczne wykorzystujące procesy Markowa do opisanie infekcji bakteryjnych, wewnątrz- i międzykomórkowego przekazywania sygnału, aktywacji komórek gospodarza, obserwacji losu bakterii w heterogennych populacjach komórek. Uwzględnione zostaną efekty przestrzenne dyfuzji cytokin i rozprzestrzeniania się bakterii.

LABORATORIUM

Poszukujemy entuzjastycznych i zmotywowanych naukowców do pracy w nowo powstałym laboratorium immunologii systemów kierowanego przez prof. Pawła Pászka (grant OPUS-23 w wysokości 1,9 mln zł z NCN oraz grant Polskie Powroty w wysokości 1,6 mln zł z NAWA <https://nawa.gov.pl/nawa/aktualnosci/nawa-polskie-powroty-nabor-rozstrzygniety>). Wybrani kandydaci stworzą zespół 5 naukowców stosujących interdyscyplinarne metody do badania odpowiedzi immunologicznej na infekcje bakteryjne.

Projekt jest prowadzony w Laboratorium Modelowania w Biologii i Medycynie (LMBM) IPPT PAN, które zapewnia w pełni wyposażone laboratorium BSL-2, swobodny dostęp do najnowocześniejszej

aparatury mikroskopowej (w tym urządzeń mikroprzepływowych) oraz wiedzy w zakresie modelowania matematycznego (https://pmbm.ippt.pan.pl/web/Main_Page).

Prof. Paszek jest z wykształcenia inżynierem (MSc teoria sterowania, Politechnika Śląska, 2001; PhD statystyka, Rice University, 2006; Postdoc w Centre for Cell Imaging, Liverpool, UK, 2006-11), ale od wielu lat stosuje eksperymentalne metody badania regulacji ścieżek sygnałowych układu odpornościowego (<https://research.manchester.ac.uk/en/persons/pawel.paszek/>). Do niedawna pracował na Wydziale Biologii, Medycyny i Zdrowia na Uniwersytecie w Manchesterze w Wielkiej Brytanii, gdzie kierował laboratorium immunologii systemów. Prof. Paszek opracował platformy do ilościowego obrazowania odpowiedzi komórkowych i ekspresji genów, włączając pomiary dynamiki odpowiedzi układu immunologicznego i transkrypcji. Jest współautorem manuskryptów w Science, Nature Communications, PNAS, eLife, Cell Systems i Science Signalling. Ostatnio opracował protokoły do ilościowej badania interakcji typu gospodarz-patogen *Listerii monocytogenes*, ważnego bakteryjnego patogenu człowieka. We wrześniu 2023 prof. Paszek przeniósł się do IPPT PAN.

Wymagania:

Proces rekrutacyjny zostanie przeprowadzony zgodnie z zasadami Narodowego Centrum Nauki udostępnionymi poniżej:

https://www.ncn.gov.pl/sites/default/files/pliki/uchwaly-rady/2022/uchwala27_2022-zal1_ang.pdf

Poszukujemy kandydatów z doświadczeniem (udokumentowanym publikacjami) w jednym z podanych obszarów:

1. Immunologia, mikrobiologia lub biologia molekularna. Pożądana biegłość w technikach hodowli komórkowych, obserwacji z użyciem mikroskopu konfokalnego, Real Time/digital PCR, Western blot, sortowania komórek oraz innych technik wymienionych w opisie projektu powyżej.
2. Matematyczna biologia systemów, zwyczajne i cząstkowe równania różniczkowe, programowanie, analiza danych mikroskopowych.

Doświadczenie w obu obszarach będzie traktowane jako dodatkowy atut.

Wymagane dokumenty:

1. Dokument potwierdzający uzyskanie stopnia doktora. Można także załączyć dyplomy studiów licencjackich i magisterskich.

2. CV zawierające informację na temat:

- publikacji naukowych
- prezentacji konferencyjnych
- nagród i stypendiów
- doświadczenia badawczego, osiągnięć, pozycji naukowej i innych kwestii, które mogą być pomocne przy ocenie kandydata
- dane kontaktowe do dwóch osób udzielających referencji kandydatowi.

3. List motywacyjny (jedna strona).

Prosimy o zawarcie w CV następującej klauzuli: „Wyrażam zgodę na przetwarzanie moich danych osobowych dla potrzeb przeprowadzenia procesu rekrutacyjnego przez Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, znajdujący się pod adresem Pawińskiego 5B w Warszawie, zgodnie z art. 13 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE

W zgłoszeniu prosimy podać numer konkursu: BSP-DSP.111.22.2024

Dokumenty powinny zostać dostarczone w terminie na adres mailowy konkursy@ippt.pan.pl, wraz z kopią do kierownika projektu, prof. Pawła Paszka (ppaszek@ippt.pan.pl) oraz sekretariatu Zakładu Biosystemów i Miękkiej Materii (aponar@ippt.pan.pl). W toku postępowania kandydaci mogą zostać proszeni o kontakt i zaproszeni na rozmowę rekrutacyjną.

Postdoc/Assistant Professor position in the research project NCN OPUS-23

Understanding multi-scale innate immune defences against bacterial pathogens at the single-cell level

BSP-DSP.111.22.2024

INSTITUTION:	Institute of Fundamental Technological Research (IPPT PAN)
CITY:	Warsaw
POSITION:	Postdoc/Assistant Professor
SCIENTIFIC DISCIPLINE:	Biomedical engineering, microbiology, immunology, systems biology
SUBMISSION DEADLINE:	21.08.2024

KEY WORDS: innate immunity, bacterial infections, macrophages, *L. monocytogenes*, response heterogeneity, single-cell analyses, live-cell microscopy, mathematical modelling

Information about the project and stipend

Principal Investigator: Prof. dr hab. inż. Paweł Paszek

Project duration: 36 months

Institution: Institute of Fundamental Technological Research, Polish Academy of Sciences.

We offer remuneration of 9300 PLN/month brutto (including the long-service bonus) for 26 months (with the possibility of extension to 36 months)

Approximate start date 1st of October, 2024 (earlier start possible).

PROJECT OBJECTIVES

The main aim of the project is to quantitatively understand mechanisms involved in the multi-scale coordination of innate immune responses against bacterial pathogens at the single cell level. We will focus on events occurring at low physiological multiplicities of infection and physiological febrile temperature range, which give rise to heterogeneous and stochastic effects in the infected population.

We will study direct interactions between innate immune macrophages and the important food-borne bacteria *Listeria monocytogenes* that causes significant levels of human morbidity and mortality.

Our main objectives are:

- Elucidate how pathogen threats are encoded in dynamical responses of NF- κ B/STAT/IRF systems upon *L. monocytogenes* infection. We will dissect the host signalling responses in infected cells, as a function of density and temperature and understand how they relate to different (and seemingly probabilistic) outcomes of single-cell host-pathogen interactions.
- Understand the population-level host strategies that underpin successful immune response to infection. We will investigate how paracrine signalling in the infected and bystander population and temperature adaptation coordinate the overall population level inflammatory responses. We will specifically investigate role of TNF α , IL1 β , IL6 and IFN α/β signalling in the process.
- Determine whether the host and pathogen variability are co-regulated as a fundamental immune mechanism by monitoring activation of the major PrfA regulon in *L. monocytogenes* at the single bacterium resolution.
- Develop predictive mathematical models of innate immune response to *L. monocytogenes* using genetic and chemical perturbations to validate modelling and manipulate infection outcomes.

TECHNIQUES

In this project, we will use systems biology approaches including live-cell imaging, smFISH and mathematical modelling to dissect host-pathogen interactions at the single cell level. Confocal microscopy will be used to monitor the activation of NF- κ B/STAT/IRF in individual host cells in real-time together with *L. monocytogenes* growth and PrfA virulence. These will be combined with multiplex single molecule fluorescent in situ hybridisation (smFISH) and immunostaining to understand target effector responses in different subpopulations of cells. Stochastic and deterministic single cell and agent-based population models of signalling responses to *Lm* will be used to mechanistically dissect host defence strategies and provide experimentally testable predictions.

Following methodologies will be used in the project- training will be provided in all areas:

- Live-cell confocal imaging using *L. monocytogenes* encoding fluorescent proteins and reporters of PrfA virulence, human and mouse cells (primary as well as immortalized macrophage lines) expressing fluorescently tagged transcription factors and cytokines.
- Immunostaining. Simultaneous measurement of regulatory proteins involved in regulation of immune responses in single cells. We will also use smFISH and the emerging techniques of sequential immunostaining.
- Gene expression, protein analysis and cytokine production in infected cell populations through the use of RT-PCR, digital PCR, Western Blotting, ELISA, generation of reporter lines using molecular cloning and CRISPR, and other relevant techniques.
- Microfluidic systems to culture adherent and suspended cells allowing for their confocal imaging and immunostaining.
- Mathematical modeling employing Markov processes to describe activation of the immune response in heterogeneous cell populations, cellular communication, density and temperature effect, different outcomes of infection (eradication, persistence, replication),

regulation of bacterial virulence. We will account for spatial aspects of the cytokine diffusion and bacterial spread.

ENVIRONMENT

We are seeking enthusiastic and highly motivated scientists to join a newly established system immunology lab of Prof. Pawel Paszek (founded via a PLN 2m OPUS-23 grant from NCN and PLN 1.6m Polskie Powroty grant from NAWA <https://nawa.gov.pl/nawa/aktualnosci/nawa-polskie-powroty-nabor-rozstrzygniety>). Successful candidate will work in a team of 5 interdisciplinary scientists using interdisciplinary approaches to study single cell immune responses to bacterial infections.

This project will be conducted in the Laboratory of Modelling in Biology and Medicine (PMBM), IPPT PAN, which provides a fully equipped BSL-2 laboratory, ready access to state-of-the-art microscopy equipment (including microfluidics) as well as mathematical modelling expertise (see https://pmbm.ippt.pan.pl/web/Main_Page).

Project's PI, Prof. Paszek is a theoretician by training (M.S in Control Theory, Silesian University of Technology, 2001, PhD in Statistics, Rice University, 2006, PDRA in Centre for Cell Imaging, Liverpool, UK, 2006-11), but for several years he has been using experimental approaches to investigate the regulation of inflammatory signalling networks (<https://research.manchester.ac.uk/en/persons/pawel.paszek/>). Until recently, prof. Paszek led a systems immunology lab at the University of Manchester, where developed quantitative live-cell imaging and gene expression platforms to study immune cell signalling, incorporating measurements of TF dynamics and transcription. He has co-authored manuscripts in Science, Nature Communications, PNAS, eLife, Cell Systems and Science Signalling, among others. Recently, he has developed protocols for quantitative single-cell approaches to study host-pathogen interactions of the *Listeria monocytogenes*, an important bacterial pathogen of man.

Requirements

The recruitment will follow the rules of the National Science Foundation (Poland) given in

https://www.ncn.gov.pl/sites/default/files/pliki/uchwaly-rady/2022/uchwala27_2022-zal1_ang.pdf

We seek candidates having experience and publication record in one of the following areas:

1. Immunology, microbiology or molecular cell biology, with proficiency in experimental techniques: cell culture, live and fixed-cell confocal microscopy, RT or digital PCR, Western blot, cell sorting, molecular cloning and CRISPR. Experience in other methods planned for the project and described above is desirable.
2. Mathematical and numerical system biology, ordinary and partial differential equations, stochastic processes, programming.

Background in both areas will be considered beneficial.

Required documents:

1. Copy of PhD diploma. MSc and Bachelor diplomas may be also included for evaluation.

2. CV containing information about:

- Publications,
- Conference presentations,
- Prizes and stipends,
- Other information that can help in evaluation, like experience, achievements, and scientific standing of the candidate,
- Contact details for two references.

3. Motivation letter (1 page).

Please include in your CV the following clause: "I agree to the processing of personal data contained in my job offer for the needs necessary to carry out the recruitment process conducted by IPPT PAN with headquarters in Warsaw, ul. A. Pawińskiego 5B, according to art. 13 para. 1 and 2 of Regulation (EU) 2016/679 of the Parliament and of the Council of 27 April 2016 on the protection of individuals with regard to the processing of personal data and the free movement of such data and the repeal of Directive 95/46 / EC (RODO)."

In your application, please indicate the competition number BSP-DSP.111.22.2024

The documents should be sent to konkursy@ippt.pan.pl, with a copy to Project PI, Pawel Paszek (pawel.paszek@ippt.pan.pl) and Department Secretary Ms. Agnieszka Ponarska (aponar@ippt.pan.pl). Suitable candidates will be contacted and invited for an interview.