

## Výměnný pobyt 2

V období od 2.11 do 4.11.2022 se Tomáš Grivalský z Mikrobiologického ústavu AV ČR, Centra Algatech (MBÚ) zúčastnil výměnného pobytu v partnerské organizaci Univerzity aplikovaných věd ve Welsu (FH OO). V rámci krátké stáže měl možnost pracovat na detekci stupně segregace u transformantů kmene *Synechocystis* Mt\_a24 a také na optimalizaci protokolu pro stanovení  $\beta$ -galaktosidázové aktivity u vylepšeného kmene schopného zpracovat laktózu.

*Synechocystis* je jednobuněčný organismus, který má několik kopií genomu na buňku. Po transformaci je proto potřeba, aby se cizorodá DNA v procesu homologické rekombinace integrovala na všechny kopie, čímž se zajistí stabilita integrované cizorodé DNA. V určitých případech však buňka není schopna segregace na všechny kopie. Stupeň segregace, a tedy přítomnost cizorodé DNA se detekuje pomocí PCR. V rámci tohoto pobytu si zaměstnanec osvojil PCR metodu detekce přítomnosti genů pro nadprodukcí PHB, a bude schopen tuto metodu aplikovat i na českém pracovišti (MBÚ). Metodu bude třeba použít při pilotní kultivaci, aby v krajním případě nedošlo ke ztrátě vylepšených vlastností transformovaného kmene. Kromě toho společně se zaměstnancem projektového partnera 2 – Kevinem Trenzingerem, pracovali na optimalizaci protokolu pro měření beta-galaktosidázové aktivity u transformantů schopných využít laktózu jako svůj substrát. Tento protokol je důležitým nástrojem pro selekci nejvhodnějšího kmene pro růst v odpadní vodě z mléčné produkce. Na základě tohoto protokolu byl proveden screening kmenů schopných produkce beta-galaktosidázy (Tabulka 1) a vybrané kmeny byly převezeny na české pracoviště pro další testování.

Kevin Trenzinger převedl zaměstnance MBÚ celým pracovištěm FH OO, které disponuje množstvím moderního laboratorního vybavení se zaběhnutými operačními postupy. To může mít pozitivní vliv při budování další spolupráce.

Cílem i výsledkem této stáže bylo prohloubení vzájemné spolupráce a přenos know-how detekce přítomnosti genů pro nadprodukcí PHB a zpracování laktózy pomocí PCR.

**Tab. 1:** Měření fluorescence pro stanovení beta-galaktosidázové aktivity u vybraných transformantů *Synechocystis* Mt\_a24. Měřila se fluorescence z peletu i ze supernatantu. UV mutant bez  $\beta$ -galaktosidázového genu slouží jako kontrola (blank).

| Kmen /<br>Hodnoty fluorescence | #56   | #67   | #75    | #86   | #79   | #39  | Mt_a24<br>(blank) |
|--------------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|------|-------------------|
| Pelet                          | 13911 | 17559 | 109753 | 16221 | 72194 | 9984 | 261               |
| Supernatant                    | 303   | 434   | 697    | 418   | 560   | 392  | 338               |

