

Otevřená věda, aneb fascinující rok v laboratoři

Veronika Košťálová (7MB), 8. 11. 2024

Poprvé jsem se na stáže programu Otevřené vědy hlásila již v roce 2022/2023 a tím tak začala má cesta s Akademií věd ČR. Mou první stáž na ústavu Molekulární genetiky jsem "vyměnila" za mou nynější na Mikrobiologickém ústavu, která se ukázala jako jedna z nejlepších věcí, která mě v tomto roce mohla potkat, i když mé přijetí bylo trochu komplikované.

Každý zájemce musí vypracovat motivační dopis a životopis a vše odeslat do konce listopadu. Na konci prosince se pak uchazeč dozví, zdali byl, či nebyl přijat. Mě však žádný email s rozhodnutím nepřišel, místo toho mi ale přišla nabídka na vytvoření zcela samostatné stáže ze stejné laboratoře, ale pod jiným vedením. Myslím, že jsem neváhala "ani" minutu a samozřejmě jsem souhlasila.

Měla jsem možnost zúčastnit se stáže: „Vliv různých osmoticky aktivních látek na růst vláknitých hub“, kterou jsem plnila pod vedením pana doktora Františka Sklenáře.

V úvodu stáže jsem se seznámila s její náplní, tedy s houbami a prací v laboratoři. První setkání se konala na půdě Botanické fakulty univerzity Karlovy v Praze, kde jsme vybrali několik kmenů hub, - jednalo se zejména o významné zástupce mikroskopických vláknitých hub z řad *Aspergillů* a *Penicillíí*, ale soubor zahrnoval také další osmotolerantní a osmofilní druhy napříč celou říší hub. Kmeny jsme zde nechali kultivovat a pak si připravili důležité suspenze spor, od kterých se odvíjela většina další práce.

Připravené spory hub jsme v laboratořích Mikrobiologického ústavu AV ČR kultivovali za pomoci různých živných médií. Naše média se lišila koncentrací přidaných látek, což byly: glycerol, sacharóza a chlorid sodný. Všechny tyto látky jsou osmoticky aktivní a my jsme se v průběhu stáže snažili zjistit, v jakých podmínkách námi testované houby nejlépe rostou, jak se mezi sebou navzájem liší ve schopnosti tolerovat osmotický stres. Od každé látky jsme si určili pět koncentrací, které se odvíjely od vodní aktivity. Tento pojem souvisí s takzvanou volnou vodou která nám určuje, kolik nenavázaných molekul mohou mikroorganismy využít. Měření vodní aktivity kultivačních médií je problematické, proto jsme se rozhodli použít pro vytvoření osmotického gradientu (místo konkrétních hodnot vodní aktivity) hmotnostní koncentraci, což je při studiu osmotolerantních organismů běžná praxe. Vybrané hodnoty jsme zvolili na základě vztahu mezi vodní aktivitou a množstvím přidaných osmoticky aktivních látek, které jsme převzali z odborné literatury.

Houby jsme na Petriho miskách nechávali růst deset dní, během nichž jsme zaznamenávali velikost kolonií a tvořili ke každému kmenu také fotodokumentaci se speciální mikroskopickou lupou. Takto vzniklá data jsme následně použili na tvorbu grafů a vyvozování závěrů ohledně růstu vybraných kmenů hub.

Některé kmeny jsme se rozhodli využít i pro studium diferenciální genové exprese při nízké a vysoké vodní aktivitě. Naočkovali jsme je do tekutých medií a měsíc kultivovali ve formě třepaných kultur. Houbovou biomasu jsme následně přefiltrovali a za pomoci kapalného dusíku hloubkově zmrazili a rozdrtili. Vyzkoušet si práci s kapalným dusíkem byla jedna z nejfascinujících věcí, ke které jsem se mohla dostat. RNA jsme izolovali pomocí laboratorního kitu s nízkým výtěžkem i čistotou. Mnohem vyšší hodnotu koncentrace se nám podařilo získat fenolchloroformovou metodou izolace. Tento postup je poměrně časově náročný, ale i tak byla koncentrace a kvalita RNA mnohem vyšší. Dalším krokem je sekvenace metodou RNA-Seq (která bude řešena servisně).

Celý rok stáže jsme zakončili závěrečnou studentskou konferencí, která se tentokrát konala v hlavním sídle Akademie věd na Národní třídě. Ačkoli se řadím mezi velké stresáře, byl to pro mě hezký zážitek. Prezentační sál byl menší a působil příjemným, historickým dojmem.

Když se zpětně poohlédnu o rok zpátky a připomenu si tu holčinu, která se v sále na fyzikálním ústavu tiskla ke zdi a přála si, aby to už konečně skončilo, tentokrát tam stála sice stejná osoba, ale s daleko sebevědomějším vystupováním. Ačkoli jsem “nic nevyhrála” mám z toho a hlavně i ze sebe velkou radost, dovedla jsem totiž překonat svůj vlastní strach z přednášení a odnáším si skvělé zážitky a hlavně kontakty na Fandovy lidi z laborky. A to je přece ta největší výhra, ne?

Závěrem bych moc ráda poděkovala panu doktoru Františku Sklenářovi za jeho milý přístup a ochotu naučit mě práci v laboratoři. Už se moc těším na další spolupráci.