

Návrh studentského projektu na školní rok 2024/2025

Název: Ramanova mikroskopie diazotrofních sinic

Pracoviště: Oddělení fyziky biomolekul, Fyzikální ústav, MFF UK, Ke Karlovu 5, Praha 2

Vedoucí: doc. RNDr. Peter Mojzeš, CSc.

Spojení: tel. +420 951 551 471, e-mail: peter.mojzes@matfyz.cuni.cz

Anotace:

Diazotrofie je schopnost některých prokaryotických mikroorganismů redukovat atmosférický dusík N_2 a fixovat ho do formy amoniaku NH_3 , který je využitelný dalšími organizmy, osobitě rostlinami. Diazotrofní organizmy, mezi které patří i vláknitá sinice *Anabaena*, jsou proto velice důležité pro koloběh dusíku v přírodě a představují zajímavou alternativu k syntetickým dusíkatým hnojivům. Proces fixace dusíku probíhá u *Anabaeny* ve specializovaných buňkách označovaných jako heterocysty. V současnosti roste zájem o plné pochopení, kontrolu a využití diazotrofie *Anabaeny* pro energeticky udržitelnou a ekologicky šetrnou produkci dusíkatých hnojiv. Za tímto účelem jsou vytvářené různé genetické mutace *Anabaeny*, které se z hlediska zvýšení diazotrofie studují různými metodami. Ramanova mikroskopie se k tomuto účelu prozatím využívá spíše sporadicky. Důvodem jsou pravděpodobně komplikace způsobené vlastní fluorescencí fotosyntetického aparátu sinice. Existující publikace uvádějí rozporná zjištění týkající se přínosu Ramanovy mikroskopie pro charakterizaci procesů probíhajících v heterocystech. Úkolem tohoto projektu bude zjistit, jaký je skutečný informační potenciál Ramanovy mikroskopie při studiu chemického složení heterocyst a vegetativních buněk *Anabaeny*.

Základní literatura:

1. *The Physiology of Microalgae*. 1 ed.; Borowitzka, M.A.; Beardall, J.; Raven, J.A., Eds.; Springer: 2016; 10.1007/978-3-319-24945-2p 681.
2. Shipp, D.W.; Sinjab, F.; Notinger, I. Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences. *Adv. Opt. Photonics* **2017**, *9*, 315-428, doi:10.1364/aop.9.000315.
3. Tamamizu, K.; Kumazaki, S. Spectral microscopic imaging of heterocysts and vegetative cells in two filamentous cyanobacteria based on spontaneous Raman scattering and photoluminescence by 976 nm excitation. *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.* **2019**, *1860*, 78-88, doi:10.1016/j.bbabi.2018.11.012.
4. Flores, E.; Arevalo, S.; Burnat, M. Cyanophycin and arginine metabolism in cyanobacteria. *Algal Res.* **2019**, *42*, 10, doi:10.1016/j.algal.2019.101577.
5. Finzi-Hart, J.A.; Pett-Ridge, J.; Weber, P.K.; Popa, R.; Fallon, S.J.; Gunderson, T.; Hutcheon, I.D.; Nealson, K.H.; Capone, D.G. Fixation and fate of C and N in the cyanobacterium *Trichodesmium* using nanometer-scale secondary ion mass spectrometry. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A* **2009**, *106*, 6345-6350, doi:10.1073/pnas.0810547106.
6. Ishihara, J.; Takahashi, H. Raman spectral analysis of microbial pigment compositions in vegetative cells and heterocysts of multicellular cyanobacterium. *Biochem. Biophys. Rep.* **2023**, *34*, 7, doi:10.1016/j.bbrep.2023.101469.

Zásady pro vypracování

1. Prostudovat doporučenou literaturu, seznámit se problematikou biologické fixace dusíku a s využitím Ramanovy mikroskopie pro studium chemického složení fotosyntetických mikroorganismů
2. Zvládnout přípravu médií a kultivaci diazotrofní sinice *Anabaena* pro potřeby měření
3. Zvládnout samostatnou práci na Ramanově mikroskopu WITec RSA a zpracování naměřených výsledků pomocí programu WITec Project Plus
4. Změřit chemické mapy heterocyst *Anabaeny* v různých fázích vývoje a porovnat jejich složení s vegetativními buňkami
5. Výsledky přehledně zpracovat a kriticky vyhodnotit informační přínos Ramanovy mikroskopie pro studium diazotrofie sinice *Anabaeny*