

POSUDEK VEDOUCÍHO NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Diplomová práce studentky Radky Mužíkové „**Mikroskopická měření vnitrobuněčného pH kvasinek**“ navazuje na projekty studia kvasinkových buněk dlouhodobě řešených na našem pracovišti. Práce se zabývá problematikou neinvazivního mapování pH v cytozolu a v organelách živých kvasinek pomocí fluorescenční mikroskopie. Cílem práce bylo zavést metodiku poměrového fluorescenčního měření buněčného pH. K dosažení těchto cílů diplomátka musela zvládnout řadu experimentálních metodik od pěstování buněk a jejich fluorescenčního barvení po kvantitativní metody fluorescenční videomikroskopie a zpracování obrazu.

V průběhu práce na diplomovém úkolu autorka pracovala pečlivě a iniciativně. Zvládla pěstování kvasinek a jejich barvení fluorescenční sondou pyraninem. To byl nelehký úkol, protože buněčná stěna a přítomnost tří ionizovaných skupin na molekule pyraninu bránilo efektivnímu průniku barviva do buňky. Autorka optimalizovala metodu elektroporativního barvení buněk pomocí sekvence krátkých elektrických pulzů z hlediska co nejvyššího stupně obarvení cytozolu kvasinek a co nejnižší letality použité metody. Optimalizací se podařilo dosáhnout většinového obarvení buněk s více než 90% schopností jejich dlouhodobého přežití. Byla vypracována metodika fluorescenčního poměrového měření a bylo naměřeno pH cytozolu a vakuol dvou kvasinkových kmenů. Jedním z významných výsledků práce je i mikroskopické ověření unikátní elektroporativní kalibrační metody, kdy definovaná hodnota pH uvnitř buňky je elektroporativně nastavena v procesu barvení. Na velkém souboru buněk byla otestována validita této metody a výsledky byly publikovány v Journal of Fluorescence.

Předložená práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Studentka prokázala schopnost vědecky pracovat a prezentovat dosažené výsledky. Uvedený výčet hlavních výsledků ukazuje, že Radka Mužíková splnila úkoly vytyčené v zadání diplomové práce a dosáhla množství nových poznatků. Proto navrhuji tuto práci uznat a jako práci diplomovou a klasifikovat stupněm *...výborně*.....

V Praze dne 27.4.2006

Doc. RNDr. Petr Heřman, CSc.
Vedoucí DP