

Analýza struktury kvasinkové kolonie

Abstrakt

Tato práce je součástí projektu „Molekulární biologie a fyziologie kvasinkových společenství“. Kvasinkové kolonie rostoucí na pevném médiu komunikují periodickým uvolňováním plynného amoniaku, které je doprovázeno alkalizací kolonií a okolního média. Analýza RNA pomocí mikročipů ukázala, že přechod kolonií do fáze produkce amoniaku je provázen velkými změnami genové exprese. Byly pozorovány změny exprese mnoha metabolických genů, které naznačují aktivaci peroxizomální β -oxidace mastných kyselin, aktivaci glyoxylátového cyklu a inhibici mitochondriální oxidativní fosforylace. Tato data naznačují přepnutí buněčného metabolismu během rané alkalické fáze. Tuto změnu může usnadnit proces autofágie, během kterého získává buňka energii odstraněním přebytečných buněčných komponent. Pro ověření těchto hypotéz byly připraveny laboratorní kvasinkové kmeny s GFP značenými peroxizómy pro sledování peroxizomální proliferace a kmeny s GFP značeným proteinem Atg8 pro sledování autofágie. Dále byly zavedeny nové metody pro sledování řezů kvasinkových kolonií světelnou a elektronovou mikroskopií. Díky tomu byly popsány dvě hlavní vrstvy buněk v kvasinkové kolonii. Fluorescenční mikroskopie ukázala, že k indukci autofágie a proliferaci peroxizómů dochází pouze v horní vrstvě. Elektronová mikroskopie byla použita k charakterizaci obou vrstev ve vysokém rozlišení. Tato diplomová práce byla pilotní studií vnitřní struktury kvasinkové kolonie během jejího vývoje.

Klíčová slova: *Saccharomyces cerevisiae*, kvasinková kolonie, amoniaková signalizace, komunikace, autofágie, peroxizómy