

Autor: Radka Mužíková

Název práce: Mikroskopické měření vnitrobuněčného pH pomocí fluorescenčních sond

Abstrakt:

Tato práce se zabývá mikroskopickým měřením vnitrobuněčného pH kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* pomocí fluorescenčních sond. Jako předmět studia byly zvoleny kmeny IL 125 – 2B a komerčně dostupné pekařské droždí (PD). Měření bylo prováděno pomocí pH citlivé fluorescenční sondy pyraninu, obarvení buněk bylo provedeno pomocí pulzní elektroporace. Původním přínosem práce je optimalizace podmínek elektroporace pro oba používané kmeny, dále byl zkoumán vliv efektu vybělování na výsledky měření. Byla testována metoda mikroskopické kalibrace sondy přímo uvnitř buněk pomocí nastavení vnitřního pH pomocí elektroporace na buňkách energizovaných i vyhladovělých. Pro kmen PD bylo provedeno několik sérií měření vnitrobuněčného pH. Zjistili jsme, že pH cytozolu buněk napěstovaných v tekutém YEPG mediu je 6,8 a je velmi homogenní. Tato hodnota je shodná pro buňky dospělé i pučící. V buňkách energizovaných byl pyranin transportován do vakuol. Změřené pH vakuol buněk kmene PD se lišilo u jednotlivých buněk a jeho hodnota se pohybovala v rozmezí 5,0-6,1 pH jednotky.