

Posudek školitele na diplomovou práci Lud'ka Štěpánka

Luděk Štěpánek začal pracovat v naší laboratoři ve třetím ročníku, kdy se zapojil do řešení projektu studia buněčné biologie a fyziologie kvasinkových společenstev, konkrétně jeho části zabývající se amoniakovým signálním systémem a funkcí amoniaku při dlouhodobém vývoji a přežívání kolonií. Zaměření Lud'kovy práce se týká relativně nově započatého směru experimentů, ve kterých jsme se začali podrobněji zabývat studiem změn, které se odehrávají v jednotlivých částech kolonie, tj. diferenciací kolonie v různých stádiích jejího vývoje. Narozdíl od experimentů, kdy jsme odebírali a analyzovali buňky z různých částí kolonie mimo kontext kolonie, hlavním úkolem Lud'ka bylo vyzkoušet a zavést v laboratoři metody umožňující studium buněk v koloniích *in situ*, tj. aniž by bylo nutné buňky z kolonie odebrat. Luděk se zaměřil na dva různé metodické přístupy. Jednak na analýzu řezů kolonií tvořených kmeny nesoucími GFP pomocí fluorescenčního mikroskopu, jednak na přípravu řezů kolonií pro transmisní elektronovou mikroskopii. Pro fluorescenční mikroskopii Luděk připravil dva kmeny, jeden nesoucí zeleně značené peroxisomy (o nichž víme, že se jejich množství v průběhu stárnutí kolonie mění) a druhý umožňující monitorovat počátek procesu autofagie. Tyto dva kmeny Luděk použil pro vypracování metodického postupu přípravy řezů a orientační analýzy změn lokalizace peroxisomů a indukce autofagie v kolonii. Pro elektronovou mikroskopii Luděk vyzkoušel několik různých postupů fixace a zalévání kolonií a přípravy preparátů a provedl orientační analýzu morfologie buněk vyskytujících se v různých vrstvách kolonie rodičovského kmene BY4742. Přitom vypracování fixačního a barvicího postupu pro elektron mikroskopickou vizualizaci buněk kolonií není vůbec jednoduché, protože zvláště starší kolonie obsahují různé typy různě starých buněk, které mohou mít různé povrchové vlastnosti, které ovlivňují jejich kontrastování.

Na práci Lud'ka bych chtěla především velmi ocenit invenci (a také trpělivost) se kterou přistupoval k zavádění nových metod a která rozhodně není běžná u pregraduálních (a někdy ani u posgraduálních) studentů. Metody, které Luděk vypracoval jsou pro celou naši laboratoř velkým přínosem. Jsem velmi ráda, že se Luděk rozhodl v rámci doktorského studia ve studiu morfologie a diferenciaci kvasinkových kolonií pokračovat.

Diplomová práce Lud'ka Štěpánka splňuje požadavky kladené na práci diplomovou a může být přijata k obhajobě.

Doc. RNDr. Zdena Palková, CSc.

Praha 26.5. 2006