

Posudek na diplomovou práci:

Radka Mužíková

obor Biofyzika a chemická fyzika, MFF UK v Praze

„Mikroskopická měření vnitrobuněčného pH kvasinek“.


Diplomová práce Radky Mužíkové se zabývá měřením vnitrobuněčného pH kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* pomocí fluorescenční sondy pyraninu citlivé na změny pH. Radka Mužíková nejdříve optimalizovala metodiku obarvení buněk elektroporací a studovala vliv efektu vybělování na výsledky měření. Dále otestovala metodu mikroskopické kalibrace sondy přímo uvnitř buněk pomocí nastavení vnitřního pH pomocí elektroporace. Autorka nepochybně velmi dobře zvládla metodiky měření intracelulárního pH včetně kultivace a barvení kvasinek, vytvoření kalibračních závislostí a vlastních měření vnitrobuněčného pH. Mezi hlavní výsledky práce Radky Mužíkové patří kromě již dříve zmíněné optimalizace metodiky barvení buněk zjištění, že pH cytozolu buněk pěstovaných v tekutém YEPG mediu je 6,8 a je velmi homogenní. Tuto hodnotu pH autorka naměřila u buněk dospělých i pučících. Radka Mužíková dále zjistila, že v energizovaných buňkách je pyranin transportován do vakuol jejichž pH také změřila.

K formální podobě práce nemám žádné připomínky, práce je napsána přehledně, pečlivě, s minimálním výskytem překlepů a výsledky jsou názorně prezentovány. Diskuze získaných výsledků a citace použité literatury je také adekvátní.

K předkládané diplomové práci mám několik drobných připomínek a otázek.

1. Jaký je mechanismus změn tloušťky buněčné stěny kvasinek v reakci na koncentraci glukózy v mediu (tento jev je zmíněn v úvodu na str. 7)?
2. Při jaké vlnové délce jste měřila optickou hustotu kultury? Tento údaj jsem v práci nikde nenašel uveden.
3. Jaká je přesnost vámi provedených měření vnitrobuněčného pH?
4. Proč dochází k průniku pyraninu do vakuol pouze u energizovaných buněk a ne u vyhladovělých buněk?

Závěrem konstatuji, že předložená práce Radky Mužíkové splňuje všechny požadavky kladené na diplomovou práci a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě a klasifikovat známkou výborně.



RNDr. Tomáš Obšil PhD.
Přírodovědecká fakulta UK
9. května 2006