

## Abstrakt

Kvasinky jsou jednobuněčné mikroorganismy, na pevném podkladu jsou však schopny vytvářet organizované struktury, kolonie, které mohou v jistých ohledech připomínat mnohobuněčné organismy. Při sledování vývoje kvasinkových kolonií v čase bylo zjištěno, že kolonie periodicky mění pH svého okolí z acidického na alkalické a naopak. Přepnutí z acidické do alkalické fáze je spojeno s produkcí amoniaku, který funguje jako signál mezi sousedními koloniemi. Data z analýz využívajících DNA čipy a další experimentální data nasvědčují, že za produkci amoniaku do okolí by mohly být zodpovědné tři homologní proteiny kódované geny *ATO1* (*YNR010c*, *ADY2*), *ATO2* (*YNR002c*, *FUN34*) a *ATO3* (*YDR384c*). Cílem této práce je prohloubení znalostí jak o amoniakové signalizaci mezi kvasinkovými buňkami, tak o možných exportérech amonného kationtu - Ato proteinech. Práce přináší poznatky o dalších těkavých látkách - methylaminu a propylaminu - které jsou (vedle amoniaku) schopny indukovat vstup kvasinkové kolonie do alkalické fáze vývoje. Z hlediska amoniakové signalizace dále popisuje významný vliv transportu karboxylových kyselin na průběh vývoje kvasinkové kolonie, kdy omezený transport těchto slabých organických kyselin do buněk vybraných delečních kmenů patrně znemožňuje správný průběh amoniakové signalizace a diferenciaci kvasinkových kolonií. Vedle již zavedeného modelu kvasinkových kolonií jsou testovány další dva modely kvasinkových populací - aerobně a staticky kultivované tekuté kultury *S.cerevisiae*. Výsledky ukazují, že změna okolního pH spojená s produkcí Ato proteinů a amoniaku je typická i pro aerobně a staticky kultivované tekuté kultury *S.cerevisiae*, amoniak tak zřejmě může sloužit jako obecný signál upozorňující na blížící se nedostatek živin v okolí, a tedy na nutnost změn v genové expresi. Nové poznatky o Ato proteinech svědčí o jejich nezbytnosti pro růst v prostředí s neutrálním až alkalickým pH. Některé z Ato proteinů (konkrétně Ato1p a Ato2p, Ato1p a Ato1p a Ato3p a Ato3p) jsou zároveň schopny fyzické interakce. Tohoto výsledku bylo dosaženo za využití nových přístupů k hledání interakcí mezi kvasinkovými membránovými proteiny, jež jsou založeny na měření změn poločasu dohasínání fluorescence v důsledku FRET (fluorescenčního rezonančního přenosu energie).

**Klíčová slova:** *Saccharomyces cerevisiae*, kvasinková kolonie, amoniak, amoniaková signalizace, diferenciaci, Ato1p, Ato2p, Ato3p, pH, Sok2p, Jen1p, karboxylové kyseliny, FLIM-FRET