

Diplomová práce se zabývá měřením vnitrobuněčné koncentrace iontů v bakteriích *Escherichia coli* a kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae* pomocí geneticky kódovaných fluorescenčních sond obsahujících zelený fluorescenční protein (GFP). V úvodu práce shrnuji známé poznatky o tomto proteinu a jeho spektrálních charakteristikách. Pro experimentální část práce byl vybrán senzor reagující na změny pH ve svém okolí změnou poměru intenzity fluorescence dvou pásů v excitačním spektru – poměrový pHluorin. Tato sonda byla otestována jak v bakteriálních, tak v kvasinkových buňkách. Byla sledována schopnost mikrobiálních buněk udržovat si stálou hodnotu cytosolického pH při odlišných vnějších podmínkách, jako je různé pH suspenze, přidání glukózy či KCl do suspenze. V práci je dále řešen problém odstranění příspěvku autofluorescence buněk ze signálu GFP při kalibraci a následném měření vnitrobuněčného pH. Úspěšně byla použita metoda synchronně skenované fluorescence pro potlačení nechtěných příspěvků. Při použití této metody navíc dochází k vylepšení poměru signálu k šumu a tím k zpřesnění odečítaných hodnot cytosolického pH.