

**Název:** Nákres rostlin *Arabidopsis thaliana*

**Metoda:** Pod světelným mikroskopem pozorujte rostlinný materiál (několikadenní rostlinky *Arabidopsis thaliana*, kultivované *in vitro*), který budete využívat během praktika.

**Materiál:**

**Provedení:** rostlinky z Petriho misky odeberte opatrně pinzetou a umístěte do kapky vody na podložním skle. Přikryjte krycím sklem. Při manipulaci dbejte, abyste nepoškodili rostlinky stisknutím v pinzetě. Pozorujte pod světelným mikroskopem.

**Úkol:** Pozorujte, naučte se rozlišovat a nakreslete:

- kořenovou špičku a čepičku
- elongační zónu kořene
- zónu kořenových vlásků
- hypokotyl
- pokožkové buňky děložních lístků
- pokud je rostlinka dobře vyvinutá, najděte a nakreslete první pravý list a trichomy.

**Nákresy** (včetně popisků nákrasů a zvětšení):

**Název:** Nákres buněk BY-2

**Metoda:** Pod světelným mikroskopem pozorujte rostlinný materiál (buňky BY-2 - tabákové kultivované buňky odrůdy *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2), který budete využívat během praktika.

**Materiál:**

**Provedení:** pipetou naneste malé množství buněk buněčné suspenze na podložní sklo a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pod světelným mikroskopem.

**Úkol: Pozorujte, naučte se rozlišovat a nakreslete:**

- buněčné kategorie exponenciální a stacionární kultury BY-2
- strukturu cytoplazmy exponenciální a stacionární kultury, jádro, vakuolu, cytoplazmatické provazce.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěr:** Uveďte rozdíly mezi stacionárními a exponenciálními buňkami.

**Název:** Vizualizace organel endomembránového systému v buňkách rostlin *Arabidopsis thaliana*

**Metoda:** Pozorujte rostlinky exprimující příslušný marker pod fluorescenčním mikroskopem.

**Materiál:** Rostliny *Arabidopsis thaliana* exprimující markery:

**SKL-mCherry** (varianta RFP s lokalizační sekvencí pro import proteinů do peroxisómů)

**HDEL-GFP** (GFP s lokalizačním peptidem pro import do ER na C-konci a retenčním peptidem HDEL na N-konci)

**GA-mCherry** (varianta RFP s lokalizačním peptidem z alfa-1,2-manosidázy, rezidentního enzymu GA)

**VAC-mCherry** (varianta RFP fúzovaná s  $\gamma$ -TIP, akvaporinem lokalizovaným na membránách tonoplastu).

**Provedení:** Pozorovanou rostlinku přeneste opatrně do kapky vody na podložním sklíčku a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pomocí fluorescenčního mikroskopu.

**Úkol:**

1. Najděte ve fluorescenčním mikroskopu buňku v hypokotylu nebo elongační části kořene, která exprimuje dostatečně fluorescenční marker, a pozorujte pod dostatečným zvětšením danou organelu. Zakreslete strukturu.
2. Provedte totéž pro pokožkovou buňku děložního lístku.
3. Provedte totéž pro meristematickou zónu kořene (vakuoly).
4. Popište, zda je struktura pohyblivá či ne.
5. Vymodelujte z plastelíny vybranou oblast buňky (kortikální cytoplazmu, jádro) pro prostorové znázornění různých struktur.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:**

1. Vysvětlete mechanismus značení jednotlivých organel.
2. Popište tvar, dynamiku a četnost dané organely v buňkách.
3. Uveďte, jak by bylo možné vizualizovat chloroplasty, aniž by bylo nutné je značit specifickými markery.

**Název:** Demonstrace role aktinu v udržení struktury endomembránového systému

**Metoda:** Pomocí světelného mikroskopu pozorujte buňky BY-2 kontrolní a ošetřené latrunkulinem B.

**Materiál:**

**Provedení:** Kultivujte buňky BY-2 v médiu s obsahem latrunkulinu B (finální koncentrace 500 nM, zásobní roztok 2,53 mM) a v kontrolním médiu po dobu alespoň jedné hodiny při stálém protřepávání. Posléze vytvořte preparát a pozorujte pomocí světelného mikroskopu. Pro pokus použijte maximálně 1 ml suspenzní kultury.

**Úkol:**

1. Pozorujte pod světelným mikroskopem strukturu cytoplazmy buněk BY-2 neošetřených a ošetřených inhibitorem latrunkulin B.
2. Popište změnu ve struktuře cytoplazmy po 30 minutách působení inhibitoru. Nakreslete pozorování a vysvětlete je.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete efekt latrunkulinu B na změnu struktury cytoplazmy buněk BY-2.

**Název:** Demontrace transportu v rámci sekretorické dráhy, auxinový přenašeč PIN1.

**Metoda:** Pomocí fluorescenčního mikroskopu pozorujte rostliny *A. thaliana*, exprimující PIN1 protein fúzovaný s GFP, ošetřené inhibitorem brefeldin A.

**Materiál:** Pro pozorování použijte 3-5denní rostlinky kultivované *in vitro*.

**Provedení:** Aplikujte inhibitor na rostlinky s PIN1-GFP markerem: přeneste opatrně rostlinku z agaru do mističky s médiem s obsahem 50 uM BFA a s kontrolním médiem. Inkubujte rostliny po dobu alespoň 45 minut. Poté rostlinku každé varianty přeneste opatrně do kapky vody na podložním sklíčku a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pomocí konfokálního mikroskopu oblast kořenové špičky.

Poznámka: zásobní roztok BFA je 100 mM

**Úkol: popište a nakreslete:**

1. Lokalizaci PIN1-GFP v kořenové špičce. Nakreslete přesnou lokalizaci proteinu v buňkách.
2. Pozorujte, popište a nakreslete lokalizaci PIN1-GFP v kořenové špičce v rostlinách inkubovaných s BFA po dobu alespoň 45 minut.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete, co je funkcí PIN1 proteinu, a jaký je mechanismus účinku brefeldinu A. Vysvětlete efekt brefeldinu A na lokalizaci PIN1 proteinu v kořenové špičce.

**Název:** Demontrace transportu v rámci sekretorické dráhy, Golgiho aparát.

**Metoda:** Pomocí fluorescenčního mikroskopu pozorujte buňky BY-2 exprimující GA-GFP marker před a po ošetření brefeldinem A.

**Materiál:** exponenciální kultura buněk BY-2 linie GA-GFP.

**Provedení:** Odpipetujte do eppendorfky 0,5 ml suspenze exponenciální kultury linie GA-GFP. Připipetujte BFA ze 100 mM zásobního roztoku tak, aby konečná koncentrace BFA byla 50  $\mu$ M. Nechte alespoň 30 min inkubovat v leže na třepačce. Posléze vytvořte preparát nanesením cca 40  $\mu$ l buněčné suspenze na podložní sklo, a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pomocí fluorescenčního mikroskopu.

**Úkol:** Popište a nakreslete lokalizaci markeru pro GA v buňkách kontrolních a buňkách ošetřených BFA.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete svá pozorování.

**Název:** kolokalizace organel v rostlinné buňce

**Metoda:** Za využití kombinace vitálního značení barvivy a markerů stabilně exprimovaných buňkami BY-2 kolokalizovat organely

**Materiál:** BY-2 exprimující GA, ER, MT nebo AF marker, značení pomocí FM4-64 (vakuoly) nebo MitoTracker (mitochondrie).

**Provedení:** Pozorujte ve více kanálech pomocí konfokálního mikroskopu.

Vizualizace **mitochondrií** pomocí barviva MitoTracker v buňkách BY-2: Odpipetujte do eppendorfky 0,5 ml suspenze exponenciální kultury. Připipetujte 0,5  $\mu$ l roztoku vitálního barviva MitoTracker red CMXRos (zásobní roztok: 0,1 mM v DMSO). Nechte 5 minut probarvovat vleže na třepačce. Po probarvení vytvořte preparát a pozorujte.

Vizualizace **vakuol** pomocí barviva FM4-64: Přidat 4 $\mu$ l zásobního roztoku do 2,5ml suspenze buněk BY-2 (výsledná koncentrace 32 $\mu$ M). Inkubovat 24 hodin ve tmě (25°C) při kontinuálním třepání. Zásobní roztok FM4-64 (20mM v DMSO) se uchovává ve tmě při 4°C.

**Úkol:** prostudujte spektrální vlastnosti jednotlivých barviv (detaily pro jednotlivá barvení viz stránka praktika [http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/schwarze/bunka\\_prakt/protok1.htm](http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/schwarze/bunka_prakt/protok1.htm)). Vyberte vhodnou kombinaci barviv a expresních linií. Proveďte barvení. Nasnímejte vícekanálový obraz tak, aby poskytoval dostatečnou představu o trojrozměrném postavení jednotlivých organel. Použijte vícekanálový obrázek jako předlohu pro modelování okrsku rostlinné cytoplazmy pomocí plastelíny.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Popište, proč jste použili danou kombinaci barviv/expresních markerů. Popište vzájemnou polohu organel.

**Název:** Struktura a dynamika mikrotubulárního a aktinového cytoskeletu v rostoucích buňkách

**Metoda:** Pozorování rostlin stabilně exprimujících markery pro vizualizaci mikrotubulárního a aktinového cytoskeletu pomocí konfokálního mikroskopu.

**Materiál:** rostliny exprimující vektor kódující GFP-alfa tubulin (**GFP-TUA**) a fragment fimbrinu vázajícího aktin fúzovaný s GFP (**FABD2-GFP**).

**Provedení:** pomocí konfokálního mikroskopu pozorujte rostliny exprimující dané vektory. Rostliny přeneste opatrně z Petriho misky do kapky vody na podložním skle, opatrně přikryjte krycím sklem a pozorujte v mikroskopu.

**Úkol:** Nalezněte v mikroskopu buňky **epidermis hypokotylu** nebo **elongační zóny kořene** a **děložních listů**. Nakreslete uspořádání mikrotubulů a aktinu v těchto dvou typech buněk.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:**

1. Odpovězte otázku, jak se liší uspořádání mikrotubulů a aktinu v daných typech buněk.
2. Odpovězte otázku, jak se liší uspořádání mikrotubulů v buňkách epidermis hypokotylu/elongační zóny a děložních listů. Vysvětlete, jaký je význam této organizace (tedy jakou funkci hrají složky cytoskeletu v pozorovaných buňkách).



**Název:** Struktura a dynamika mikrotubulárního cytoskeletu v dělících se buňkách

**Metoda:** Pozorování buněk BY-2 stabilně exprimujících marker pro vizualizaci mikrotubulárního cytoskeletu pomocí konfokálního mikroskopu.

**Materiál:** rostliny exprimující vektor kódující GFP-alfa tubulin (**GFP-TUA**) a fragment fimbrinu vázajícího aktin fúzovaný s GFP (**FABD2-GFP**).

**Provedení:** pomocí konfokálního mikroskopu pozorujte buňky BY-2 exprimující GFP-beta tubulin 6 (**GFP-TUB6**). Z mističky odpipetujte cca 40  $\mu$ l suspenze a kápněte na podložní sklo. Přikryjte krycím sklem a pozorujte v mikroskopu.

**Úkol:**

1. Vyhledejte buňky v následujících fázích buněčného cyklu a zakreslete uspořádání mikrotubulárního cytoskeletu:
  - interfáze (G1, S nebo raná G2 fáze)
  - metafáze
  - anafáze
  - telofáze (dělení buňky, fragmoplast)
  - pozdní G2 (předprofázový prstenec)

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:**

Zodpovězte otázku, jaké jsou **role jednotlivých formací mikrotubulů** ve výše uvedených fázích.

**Název:** Demonstrace funkce aktinu v rostlinných buňkách

**Metoda:** Pozorování buněk ošetřených inhibitorem aktinového cytoskeletu.

**Materiál:** Rostliny exprimující fluorescenční marker (GFP nebo RFP) pro peroxisomy. Rostliny exprimující GFP-alfa tubulin (**GFP-TUA**) a fragment fimbrinu vázajícího aktin fúzovaný s GFP (**FABD2-GFP**).

Inhibitory: Latrunkulin B (finální koncentrace 500 nM, zásobní roztok 2,53 mM), oryzalin (finální koncentrace 20  $\mu$ M, zásobní roztok 20 mM v DMSO).

**Provedení:** ve 2 ml růstového média rozpustíte inhibitory latrunkulin B (finální koncentrace 500 nM) a oryzalin (finální koncentrace 20  $\mu$ M), připravte též kontrolní médium bez inhibitorů. Do roztoků umístěte opatrně pinzetou rostliny a inkubujte alespoň 1 h. Posléze vytvořte preparáty a pozorujte.

**Úkol:**

1. Popište změny v organizaci mikrotubulárního a aktinového cytoskeletu v rostlinách inkubovaných v testovacích médiích.
2. Pozorujte pod konfokálním mikroskopem tvar a pohyb fluorescenčně značených organel - peroxisomů. Nakreslete tvar organely.
3. Pozorujte totéž v buňkách ošetřených inhibitorem latrunkulinem B a oryzalinem.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:**

Popište pozorování a vysvětlete je.

**Název:** Role mikrotubulů v morfogenezi buněk kořene *Arabidopsis thaliana*

**Metoda:** Kultivujte semenáčky rostlinek po dobu 24-48 hodin na médiu s obsahem inhibitorů a poté pozorujte změny ve stavbě kořene.

**Materiál:** Rostliny *Arabidopsis thaliana* Col-0 (wild type – wt) a mutantní linie *procuste1*

**Provedení:** každý člen skupiny pinzetou přenese opatrně jednu rostlinu *Arabidopsis* (wt) z agarového média na médium s obsahem inhibitorů:

- oryzalinu (20  $\mu$ M)
- latrunkulinu B (500 nM)
- isoxabenu (500 nM)
- kontrolní médium

Zaznamenejte délku kořene přenesených rostlin. Poté rostliny kultivujte v kultivační místnosti a po inkubační době opět zaznamenejte délku kořene. Poté pozorujte kořeny pod světelným mikroskopem.

Dále pinzetou přeneste opatrně jednu rostlinu *Arabidopsis* (*procuste1*) na miskou s kontrolním médiem a kultivujte po dobu 24-48 h. Poté pozorujte kořeny pod světelným mikroskopem.

**Úkol:**

1. Pozorujte pod světelným mikroskopem kořeny rostlin *Arabidopsis*, kultivovaných na médiu s obsahem inhibitorů. Porovnejte s rostlinami, které byly kultivovány na kontrolním médiu, a porovnejte též s rostlinami *procuste1*. Nakreslete kořeny.
2. Spočítejte přírůstek kořenů rostlin kultivovaných na kontrolním médiu a médiích s obsahem inhibitorů. Vyneste do grafu (použijte průměr hodnot pro všechny rostliny na jedné misce).

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete vliv inhibitorů na tvar kořenových buněk. Vysvětlete vliv mutace na tvar kořenových buněk. Vysvětlete mechanismus působení inhibitorů. Uveďte výsledek výpočtu délky kořenů a vysvětlete efekt.

**Název:** Vizualizace celulózy v buněčné stěně

**Metoda:** Vizualizace základní složky buněčné stěny – celulózy – pomocí specifického barviva.

**Materiál:** Buňky BY-2 stacionární linie, barvivo Calcofluor White/Fluorescence Brightener.

**Provedení:** Využijte buněčnou linii tabáku stáří cca 5-6 dní. V tomto stáří buněčná linie sestává z částečně elongovaných buněk. Obarvěte buněčnou stěnu těchto buněk Calcofluorem White (CW, Fluorescence Brightener) a pomocí konfokálního mikroskopu pozorujte strukturu celulóзовých mikrofibril.

Postup vizualizace: k 1 ml suspenze buněk v eppendorfci přidejte CW do finální koncentrace 10 ug/1 ml (zásobní roztok calcofluoru je 10 mg/10 ml v dest. vody). Po 10 minutách inkubace několikrát promyjte MS médiem (nechte buňky v eppendorfci klesnout ke dnu, posléze odpipetujte médium, a přidejte další, opakujte).

**Úkol:**

Výpočet koncentrace:

Najděte v mikroskopu **elongovanou** buňku a buňku **bez výrazné elongace** (kulatou či krychlovitou buňku). Nasnímejte uspořádání mikrofibril v buněčné stěně těchto dvou buněk. Nakreslete schematicky. Vysvětlete, proč je uspořádání mikrofibril důležité pro polární expanzi buňky.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete význam způsobu ukládání celulózy v buněčné stěně pro růst a získávání tvaru rostlinné buňky.

**Název:** Stanovení mitotického indexu

**Metoda:** Vizualizujte jádra v buňkách BY-2.

**Materiál:** Buňky BY-2 v různých fázích subkultivačního intervalu

**Provedení:** Pracujte v laboratorním plášti a rukavicích. Využijte neznačené (tzv. divoké, wild type – wt) buňky tabáku BY-2 v exponenciální fázi růstu. Zafixujte vzorek buněk ve fixáži Carnoy: přepipetujte 500  $\mu$ l buněčné suspenze do eppendorfky a nechte buňky klesnout ke dnu – centrifugujte při 1000 g po dobu 0,5 minuty. Posléze odpipetujte médium (supernatant) a k peletu usazených buněk připipetujte 1 ml fixáže Carnoy. Nechte fixovat 15 minut na třepačce. Pak buňky opět centrifugujte, odstraňte supernatant.

Zafixované buňky obarvíte aceto-orceinem: přidejte 300  $\mu$ l barviva, buňky resuspendujte a nechte barvit 15 minut na třepačce. Vytvořte preparát nanesením cca 40  $\mu$ l dobře resuspendovaného vzorku na podložní sklo, a přikryjte krycím sklem. Pozorujte v procházejícím světle.

**Úkol:**

1. V mikroskopu identifikujte všechny fáze mitózy (zkontroluje asistent).
2. Následně prohlédněte 250 buněk na několika zorných polích a vynesete do tabulky, kolik z pozorovaných buněk je v dané fázi mitózy.
3. Stanovte mitotický index kultury vyjádřením počtu dělících se buněk v procentech z celkové populace buněk.
4. Výsledek porovnejte s kolegy.

**Tabulka výsledků:**

Fáze mitózy – doplňte	Počty	Procentuální zastoupení
1 –		
2 –		
3 –		
4 –		
Celkem dělící se buňky		–
Celkem spočítané buňky		–
<b>Mitotický index</b>	–	

**Závěry:** Uvedte mitotický index v tabulce. Konzultujte výsledky s kolegy: porovnejte distribuci jednotlivých fází mitózy, zda se dělící se buňky častěji nacházejí v některé z fází a pokud ano, navrhněte hypotézy, proč tomu tak je.

**Název:** Značení jader pomocí různých metod

**Metoda:** Vizualizujte jádra v buňkách BY-2 značením pomocí barvy Hoescht 33258 a vitálními barvivy řady SYTO.

**Materiál:** Buňky BY-2.

**Provedení** Využijte neznačené (tzv. divoké, wt) buňky tabáku BY-2 v exponenciální fázi růstu. Pro vizualizace jader v buňkách BY-2 přeneste 500  $\mu$ l suspenze do eppendorfky, ve které provedete barvení. Po obarvení vytvořte preparát nanesením cca 40  $\mu$ l buněčné suspenze na podložní sklo a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pomocí fluorescenčního mikroskopu.

Použitá barviva: Hoechst 33258, SYTO 12.

#### **Protokol značení:**

*A) Barvivo Hoechst 33258:* Tato barva není permeabilní, tedy neproniká skrze plazmatickou membránu a barvené buňky je tedy třeba před barvením permeabilizovat. 1  $\mu$ l zásobního roztoku (1mg/1ml H<sub>2</sub>O) a 1 kapku (pomocí kapátka) 10% TRITONU X100 přidejte k 1 ml suspenze BY-2 buněk. Nechte probarvit 10 minut.

*B) Barviva řady SYTO (Molecular Probes):* Jde o permeabilní barviva, jejichž fluorescence se výrazně zvyšuje jejich vazbou na DNA nebo RNA. Jednotlivá barviva SYTO se od sebe liší v několika charakteristikách, jako je např. permeabilita, excitační a emisní spektrum, selektivita k DNA nebo RNA – viz Tabulka 1. Postup barvení: Použijte barviva SYTO 12. Přidejte 1  $\mu$ l zásobního roztoku barviva (5mM v DMSO) k 1ml buněčné suspenze BY2. Nechte probarvovat cca 5 minut.

#### **Úkol:**

1. Pod fluorescenčním mikroskopem pozorujte buňky obarvené Hoechst 33258. Nalezněte všechny fáze mitózy a nakreslete je.
2. Následně pozorujte buňky barvené pomocí SYTO 12.
3. Popište, jaké jsou rozdíly barvení těmito dvěma metodami – I. postup barvení, II. spektrální odlišnosti a III. rozdíly v pozorování buněčných struktur.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete mechanismus značení pomocí těchto barev a rozdíly mezi nimi.

**Název:** Vizualizace jader v rostlinách *A. thaliana*

**Metoda:** Pozorujte fluorescenčně značená jádra v různých buňkách rostlin *Arabidopsis thaliana* exprimující příslušný marker.

**Materiál:** *Arabidopsis thaliana* exprimující NLS-GUS-GFP marker.

**Provedení:** Použijte 3–5denní rostliny *A. thaliana*, exprimující specifický marker pro vizualizaci interfázových jader: GFP, translačně fúzovaný s proteinem GUS (beta-glukuronidáza) a opatřený též jadernou lokalizační sekvencí NLS (nuclear localization sequence). Pro pozorování jader v rostlinách *A. thaliana* rostlinku přeneste opatrně do kapky vody na podložním sklíčku a přikryjte krycím sklem. Pozorujte pomocí fluorescenčního mikroskopu.

Pro pozorování pohybu jádra v kořenovém vlásku přesadte den předem rostlinku mezi dvě krycí skla a kultivujte v hydroponii.

**Úkol:**

1. Pod fluorescenčním mikroskopem pozorujte rostlinky. Nakreslete tvar jader v **kořenové špičce, elongační části kořene, v hypokotylu** a v **pokožkových buňkách** děložních lístků.
2. Uveďte, zda se jádra liší velikostí.
3. Nalezněte kořenový vlásek a vytvořte cca 2-minutovou videosekvenci. Pohybuje se jádro, nebo zůstává nehybné? Popište do protokolu.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete, proč vektor značí jádra. Uveďte, zda tento způsob značení lze použít na vizualizaci jádra ve všech fázích buněčného cyklu. Vysvětlete mechanismus, jakým by jádra mohla získávat v jednom pletivu různé velikosti.

**Název:** Demonstrace nukleocytoplazmatického transportu

**Metoda:** Pozorujte lokalizaci GFP v buňkách exprimujících volné GFP a GFP opatřené jadernou exportní sekvencí.

**Materiál:** Buňky BY-2 exprimující GFP a GFP-NES (nuclear export sequence).

**Provedení:** Pomocí konfokálního fluorescenčního mikroskopu pozorujte buňky exprimující GFP a GFP-NES. Ošetřete buňky exprimující GFP-NES inhibitorem nukleocytoplazmatického transportu (leptomycin B, finální koncentrace 100 nM) po dobu alespoň 1 h a poté opět pozorujte.

**Úkol:**

1. Nasnímejte u každé varianty alespoň 5 buněk (centrální optický řez jádrem) a obrázky uložte.
2. Pomocí obrazové analýzy změřte množství signálu (ROI) v jádře a v cytoplazmě u každé nasnímané buňky. Pro každou buňku spočítejte poměr signálu jádro:cytoplazma.
3. Pro každou variantu uveďte průměrnou hodnotu poměru signálu jádro:cytoplazma a vynesete do grafu včetně chybových úseček.

**Nákresy** (včetně popisků nákresů a zvětšení):

**Závěry:** Vysvětlete mechanismus působení leptomycinu B. Podrobně vysvětlete výsledky svých pozorování.