

**Oddělení pro vědeckou činnost****1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy****Kateřinská 32, 121 08 Praha 2**RNDr. Zdeněk Lánský, Ph.D.
Laboratoř strukturních proteinů
BTÚ AV ČR, BIOCEV
Průmyslová 595, 25250 Vestec325-873-772
zdenek.lansky@ibt.cas.cz

Praha, 17. prosince 2020

Posudek na dizertační práci**Autor práce:** Mgr. Tomáš Chum**Název práce:** Studium trojrozměrné organizace signálních molekul na T buňkách pomocí kvantitativních metod fluorescenční mikroskopie

Práce je zaměřena na vývoj pokročilých mikroskopických metod a jejich využití ke sledování organizace receptorů na povrchu buněk. Práce je klasicky členěna, v úvodní části je představen studovaný biologický systém a přehledně shrnuty principy a použití nejnovějších super-rezolučních mikroskopických metod, dále následují metody použité během prezentovaného projektu a samotné výsledky. K práci je připojena jedna publikace a dva preprinty, kde jsou výsledky práce prezentovány. Práce je napsána přehledně a kvalita prezentace výsledků pomocí grafů a obrázků je na velmi dobré úrovni.

Výsledky práce se dají rozdělit do dvou oblastí. V první autor prokázal vliv palmitoylace proteinu LAT na cílení tohoto proteinu do cytoplasmatické membrány. V druhé autor vyvinul nový postup zpracování vzorku pro super-rezoluční mikroskopii, vylepšil trojrozměrnou kvantitativní analýzu dat a za využití těchto metod popsal organizaci proteinů CD4 a CD45 na membráně. Tyto výsledky i vyvinutá metodika jsou vysoce aktuální a budou jistě hojně využívány vědeckou komunitou. Část těchto výsledků již byla publikována v respektovaném časopisu, a soudě dle kvality zbylých dvou rukopisů, i tyto budou jistě brzy opublikovány v kvalitních časopisech.

K práci mám následující otázky:

1) Metodika, kapitola 3.4.2 & 3.4.1: Jaký je kvantitativní rozdíl v čistotě skel čištěných piraňou a hellmanexem? Jsou tyto povrchy opravdu srovnatelné co se týče nečistot?

Na to navazující otázka: Str. 69 - "All glassware was cleaned by the treatment with piranha solution..." Proč jste i zde nepoužívali hellmanex?



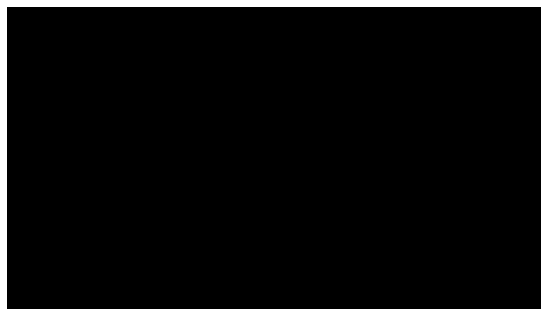
2) Microscopy methods: Jaké jsou výhody/nevýhody axiální detekce pomocí metody (d)TRABI ve srovnání s jinými metodami 3D detekce, jako např. parallax microscopy (Sun et al. Parallax: High Accuracy Three-Dimensional Single Molecule Tracking Using Split Images, Nano Lett, 9(7): 2676–2682.)

3) JCS paper: Proč je symetrie TMD důležitá pro sorting do plasmatické membrány?

4) Preprint "Unraveling nanotopography of cell surface receptors": Proč si myslíte, že axiální distribuce receptoru by měla být bi-Gaussovská? Znamená to, že v axiálním směru jsou dvě preferované hladiny, kam se receptor lokalizuje? Které to jsou?

5) Preprint "Unraveling nanotopography of cell surface receptors": Jak vypadá axiální distribuce receptoru (ukázána pro glycine-přichycení např. na obrázku 4b,c) u buněk, které jsou přichycené na PLL sklíčkách? Podobná otázka, jak vypadá jejich distribuce v ploše x,y (ukazaná pro glycine-přichycení např. na obrázku 7a,b)?

Podle přiložené práce je zřejmé, že autor zvládl celou řadu experimentálních technik, interpretaci výsledků a psaní vědeckých publikací a je schopen samostatné tvořivé vědecké práce. Autor tedy, dle mého názoru, splňuje předpoklady k udělení titulu Ph.D.



Zdeněk Lánský