



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice
telefon: +420 387 771 111 (ústředna)
+420 387 775 051 (ředitelství)

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344
číslo účtu: 5527231/0710, ČNB České Budějovice
www.bc.cas.cz | e-mail: bc@bc.cas.cz

Posudek školitele k obhajobě doktorské práce Mgr. Tomáše Bílého: 3D elektronová tomografie a korelativní mikroskopie.

Studijní cesta Tomáše Bílého k dnešní obhajobě doktorské práce nebyla lehká a přímočará. Po absolvování učebního oboru s maturitou pracoval nějakou dobu v počítačové firmě. Po otevření bakalářského oboru Měření a výpočetní technika začal studovat na katedře fyziky Pedagogické fakulty JU. V Laboratoři elektronové mikroskopie objevil poprvé zhruba před 13 lety, kdy si vybral jako téma bakalářské práce vytvořit webovou prezentaci zaměřenou na vysvětlení fyzikálních principů a technických řešení využívaných v elektronové mikroskopii. Výsledkem byla povedená webová prezentace, kterou je možné dodnes najít na stránkách Laboratoře elektronové mikroskopie, v sekci vzdělávání/e-learning. V magisterském studiu pokračoval už jako zaměstnanec laboratoře na částečný úvazek a i téma jeho magisterská práce „Rozptyl primárních elektronů na atomech zalévacího média biologického materiálu u nízkonapětového transmisního elektronového mikroskopu LV EM 5“ bylo spojeno s elektronovou mikroskopií a výzkumnými projekty Laboratoře EM. Práci obhájil v roce 2011 a ve stejném roce složil přijímací zkoušky do doktorandského studia.

V této době jsme začali uvažovat o pořízení nového TEM do Laboratoře elektronové mikroskopie, který by umožňoval provádět elektronovou tomografii, jinými slovy trojrozměrnou analýzu vybraných detailů buněčné ultrastruktury. Protože se jedná o poměrně technicky náročnou metodu spojenou s komplikovaným počítačovým zpracováním a interpretací získaných obrazových dat, kdy je nejprve třeba srovnat jednotlivé projekce, potom vytvořit 3D rekonstrukci objemu vzorku, kterým prošli primární elektrony a v posledním kroku vizualizovat hledané detaily, bylo třeba pro zavedení této metody najít vhodnou osobu, která bude schopná zvládnout její technickou a softwarovou náročnost. Vzhledem k technickému vzdělání Tomáše byl tímto úkolem pověřen právě on a elektronová tomografie se stala hlavním tématem jeho doktorské práce.

Předložená doktorská práce je důkazem, že svůj úkol úspěšně splnil. Obsahuje 4 publikace z let 2014-2016, které vznikly ve spolupráci s uživateli LEM a obsahují 3D modely detailů různých buněčných systémů vytvořené Tomášem pomocí elektronové tomografie. Ve všech případech použití této metody umožnilo získat nové informace o pozorovaném vzorku. V posledním článku je Tomáš autorem korelativní studie krystalických inkluzí ze střevního epitelu perlooček obsahujících virovou infekci zahrnující zajímavou kombinaci mikroskopických technik: TEM, ET a AFM. Posledně jmenovanou Tomáš využil již v magisterské práci ke studiu nerovností povrchů různých zalévacích médií a jejich vlivu na tvorbu kontrastu v nízkonapětovém mikroskopu. V současné chvíli má Tomáš na svém kontě již 10 publikací, do kterých přispěl 3D rekonstrukcemi získanými pomocí elektronové tomografie a před sebou dlouhou řadu zájemců o spolupráci na získání modelů studované buněčné ultrastruktury. K nejzajímavějším výsledkům patří 3D model morfologicky atypické formy spirochéty *Borrelie burgdorferi*, která vytváří za nepříznivých podmínek tzv. round bodies. Vzhledem k velikosti tohoto objektu bylo potřeba nasnímat tomografická data stejné spirochéty na 11 sériových řezech, vytvořit 11 tomogramů a následně je spojit. Výsledný model ukázal, jak



jsou round bodies vytvářeny zatočením těla jediné spirochéty. Použití tohoto značně náročného postupu na přípravu preparátu i získání tomografických dat dokazuje vysokou znalost a zkušenost, kterou Tomáš v oblasti elektronové tomografie získal. Spojené tomogramy byly použity také v případě analýzy MICOS komplexu Trypanosomy brucei. Výsledky této studie byly publikovány v loňském roce v prestižním časopise Current Biology. Lze tedy konstatovat, že díky Tomášovi se Laboratoř elektronové mikroskopie zařadila mezi několik pracovišť v České republice, které jsou schopny rutinně používat tuto metodu.

Nicméně délka doktorandského studia naznačuje, že vše nebylo tak snadné, jak by se mohlo na první pohled zdát. Slabinou Tomáše jsou jeho prezentační a publikační schopnosti, které jsou ovlivněny i historií jeho vzdělání. Na jejich zlepšení bude muset dále intenzivně pracovat. Tomáš ke svým závěrům dochází po dlouhém váhání a přemýšlení a takto získaných pravd se občas nerad vzdává a to i v případech, kdy neobstojí v diskuzi s jinými členy týmu nebo odborníky.

Závěrem bych chtěla vyzdvihnout, že se Tomáš stal vyhledávaným specialistou na elektronovou tomografii a platným členem týmu Laboratoře elektronové mikroskopie. V současné době, po upgradu 200 kV TEM JEOL 2100F na kryo aplikace před ním stojí další úkol, a to zavést v LEM metodu kryo-elektronové tomografie s využitím metody fázového posunu ke zvýšení kontrastu. Nové možnosti při studiu biologických objektů slibuje i STEM tomografie využívaná v současnosti především v materiálovém výzkumu.

Tomáš Bílý splnil všechny požadavky a cíle svého doktorského studia, předloženou práci dokázal své schopnosti orientovat se v problematice elektronové tomografie a doporučuji komisi, by mu na základě její obhajoby byla přiznána vědecká hodnost PhD.

V Č. Budějovicích, 4.6.2019