

Oponentský posudek disertační práce

Název: Studium DNA a magnetických nosičů metodou mikroskopie atomárních sil

Autorka: Mgr. Hana Zapletalová

Školící pracoviště: Ústav lékařské biofyziky, LF UP

Oponent: doc.RNDr. Roman Kubínek, CSc.

Význam disertační práce pro příslušný obor

Společným jmenovatelem všech cílů disertační práce je využití mikroskopie atomárních sil pro zobrazení biologických vzorků na modifikovaných površích. Jedná se především o zobrazování DNA samotné, případně jsou s ohledem na reverzibilní adsorpci nukleových kyselin testovány povrchy magnetických nosičů. Disertační práce také rozvíjí experimenty, které byly v oblasti fotodynamické terapie prováděny na pracovišti v předchozích letech, a jejich význam je významný pro léčbu nádorových onemocnění. Význam disertační práce pro oblast biomedicíny je tedy nezanedbatelný.

Vyjádření k postupu řešení problémů, použitým metodám a splnění stanoveného cíle

Cíle disertační práce jsou jednoznačně formulovány v úvodu disertační práce. Trochu postrádám klasický úvod, ve kterém by se objevila zcela na začátku motivace disertantky ke zpracování této disertační práce, zejména s ohledem na provázanost jednotlivých cílů. Cíle jsou zaměřeny na nosné téma celé práce, a to AFM a jeho možnosti při zobrazování DNA a povrchů magnetických nosičů. Deklarované cíle v úvodu práce jsou však postupně prezentovány a kriticky diskutovány. Považuji cíle disertační práce za splněné.

Stanovisko k výsledkům disertační práce a k původnímu přínosu disertanta

Přibližně třetina disertační práce je věnována teoretickému popisu použitých metod a materiálů. V kapitole první jsou to přednosti mikroskopie atomárních sil pro v biologické aplikaci, včetně popisu modifikace substrátu pro AFM měření a aplikací AFM pro oblast nukleových kyselin. Druhá kapitola se věnuje poškození DNA, zejména oxidativním stresem a fotodynamickým působením. Jsou zde rovněž uvedeny metody detekce poškození DNA na elektroforetické bázi a s využitím AFM. Třetí kapitola je potom zaměřena na magnetické nosiče. Všechny kapitoly jsou podloženy velmi kvalitní rešerší, která je přehledně zpracována s dostatečným počtem odkazů na aktuální zdroje literatury.

Experimentální část, kde je zřejmý původní přínos autorky, je rozdělena na tři části, přičemž první je zaměřena na zavedení a optimalizaci imobilizačních technik ke zobrazení DNA, kde Mgr. Hana Zapletalová vycházela z výsledků, zpracovaných v diplomové práci. Tyto metody dále široce rozpracovala a zvládla jejich rutinní přípravu. Druhá část je spojena se studiem toxicity vybraných fotosyntetizérů vlivem PDT od popisu použitého materiálu, metodik, po výsledky studia cytotoxicity získané gelovou elektroforézou, kometovou analýzou a metodou mikroskopie atomárních sil. V souladu s čtvrtým cílem disertační práce je experimentálně ověřena možnost vazby nukleových kyselin na povrchy komerčních a syntetizovaných magnetických nosičů ve vztahu k hodnocení drsnosti povrchu. Všechny tři části experimentální kapitoly jsou detailně diskutovány.

Formální úprava disertační práce, vyjádření k publikacím autorky

Formální úprava disertační práce je uspokojivá, má minimum překlepů, někde jsou špatně zkratky (str. 8 SPM, ne SEM. Zde je to špatně uvedeno 2krát, na str. 9 je to v pořádku), slovo „měřící“ je ve skutečnosti „měřicí“. Str. 11 – je uvedeno z křemene, má být z křemíku Si. Na str. 14 a 15 jsou jednotky u hodnot jednou bez mezery, podruhé s mezerou. Na str. 78₃

kHZ (kHz) V citaci Kubínek, Mašláš, Vůjtek, zůstaly po Vůjtkovy iniciály, takže to vypadá, že mám 3 křestní jména.

Další připomínky a komentáře, případně otázky do diskuze:

- Na str. 7 v odstavci věnovaném elektronovému mikroskopu nesouhlasím s tím, že zvětšení EM je až 30 000 násobné. Mělo by být vyšší např. u TEM nebo HRTEM.
- V souvislosti s obr. 2 mě napadá dotaz, jak se útvary magnetických nosičů o velikosti desítky mikrometrů chovají v lidském těle oproti magnetickým nanočásticím, které mají velikost desítky nanometrů.
- Na str. 17 je uváděno sub-atomární rozlišení při zobrazení biomolekuly DNA při rozlišení žlábků. Jde skutečně o rozlišení pod 10^{-10} m?
- U obr. 6 na pravé straně sice tuším „o co jde“, ale asi v textu na to není odkaz.
- Str. 45₁ jedná se diamagnetickou složku na povrchu magnetické částice nebo o dielektrickou, tedy elektricky nevodivou?
- Je správně zkratka „root mean square“ R_{ms} jak je v textu uváděno?
- V obr. 37 částice ve snímku z AFM nevykazují žádné zaoblení?
- Dotaz do diskuze, jakým způsobem se prováděly BET analýzy magnetických nanočástic. Byly prováděny u všech předložených vzorků?

Publikace disertantky splňují podmínku předložení disertační práce k obhajobě, podle požadavků LF UP.

Závěrečné vyjádření

Disertační práce neobsahuje závažné nedostatky, které by ji bránily v předložení k obhajobě. Jako oponent ji jednoznačně **doporučuji k obhajobě** a po jejím úspěšném průběhu doporučuji udělení vědeckopedagogické hodnosti Ph.D. dle §47 Zákona o VŠ č.111/98 Sb.

V Olomouci 29.7. 2016

Roman Kubínek

Mgr. Zdenka Fohlerová, Ph.D.
Středoevropský technologický institut
Vysoké učení technické v Brně
Technická 10
616 00 Brno

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Hany Zapletalové

Název práce: **Studium DNA a magnetických nosičů metodou mikroskopie atomárních sil**

Mgr. Hana Zapletalová předložila k oponentuře disertační práci, která se zabývá využitím mikroskopie atomárních sil v oblasti výzkumu DNA a využití magnetických nosičů. Mikroskopie atomárních sil v biomedicínských oborech je významně se rozvíjející metodou, která může přispívat k porozumění základních mechanických a strukturních vlastností buněk či (bio)molekul, jejich interakce, a to na atomární úrovni. Velký význam této metody také směřuje na možnost studia za podmínek blízkých podmínkám fyziologickým, takže tato metoda a zkoumání možností jejího využití v biomedicíně určitě nachází své místo.

Studentka splnila stanovené cíle práce, které následně byly rozepsány v samotné práci čítající 164 stran. Smysl práce, systematickosti jejího řešení, použité metodiky a interpretace výsledků studentka vyjádřila v její teoretické a experimentální části. Předložená práce je členěna na kapitoly zahrnující popis současného stavu a problematiky v dané oblasti; tato část je napsána poměrně jasně a přehledně. Kapitoly experimentálních částí obsahují vlastní výsledky práce studentky, poměrně jasně prodiskutované s využitím dostupné literatury. Nicméně tato výsledková část se jeví trochu nepřehledná a obrázkově předimenzovaná. Součástí práce je také seznam literatury čítající přes 250 publikací, čímž studentka prokázala dobrou schopnost práce s literaturou.

Výsledky disertační práce jsou odpovídající náročnosti práce a splňují podmínky samostatné tvůrčí vědecké práce. Je zde řada závěrů potvrzujících již známá fakta, tak také závěry objasňující nové souvislosti. Výsledky studentka publikovala ve dvou impaktovaných a čtyřech recenzovaných časopisech.

Formální úroveň práce je odpovídající, pokud se týče členění práce, nicméně bych vytkla jeho styl formátování, kde by bylo vhodné uvádět víceúrovňové číslování, což i v samotném textu působí na čtenáře lepším a přehlednějším dojmem. Pokud je práce psaná v češtině, měl by se autor vyvarovat používání anglickanismů v textu. V textu je také řada gramatických a stylistických chyb. Obrázková dokumentace a grafika jsou vesměs dobré, nicméně kvalita

prezentovaných obrázků z literatury mohla být vylepšena. Taktéž nedostatečný (např. str. 19) nebo příliš rozsáhlý popis u obrázků (str. 80, 81) nepůsobí dobře.

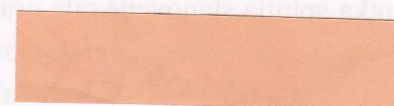
Otázky k disertační práci:

1. Lze, popřípadě máte nějaké kvantitativní zhodnocení množství DNA adsorbované na zkoumané povrchy?
2. V práci, na str. 58, zmiňujete, že lze sledovat detailní strukturu vlákna (stupeň kondenzace, nadšroubovicové vinutí). Můžete tyto jevy, v závislosti na typu povrchu, více objasnit a ukázat na vašich konkrétních vzorcích?

Na základě rozboru disertační práce, posouzení její vědecké úrovně a přístupu řešení konstatuji, že práce splňuje obecné požadavky kladené na disertační práci v daném oboru.

Disertační práci Mgr. Hany Zapletalové proto **doporučuji k obhajobě** a na základě úspěšné obhajoby souhlasím s udělením akademického titulu doktor (ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.).

V Brně dne 5. srpna 2016



Mgr. Zdenka Fohlerová, Ph.D.