

Oponentský posudek doktorské disertační práce Ing. Kateřiny Markové "Fluorescenční korelační spektroskopie ve studiu vlastností koloidních systémů"

Předložená disertace se zabývá experimentálním studiem, zejména pak aplikací reologie a pokročilých fluorescenčních technik ve výzkumu koloidních soustav. Hlavní pozornost je věnována hydrogelům založených na agaróze a hyaluronanu (široce používaném a stále velmi perspektivním polysacharidu).

Po teoretickém úvodu následuje přehled současného stavu problematiky. Teoretická část obsahuje nejen přehled fyzikálních principů fluorescenčních a reologických měřicích metod v této práci využívaných, ale i zdařilý úvod do chemie polymerů, nanočástic a značených polymerů, což jako recenzent se specializací na fotofyziku a přístrojovou techniku musím ocenit. Přehled stavu problematiky je rozsáhlý a dobře navazuje na předchozí úvod. Lze ho číst i jako pokročilý a podrobný popis konkrétních aplikací reologických a fluorescenčních metod, jejich vzájemného vztahu a jejich limitací, navazující na principy projednaných v předchozích kapitolách. Následují kapitoly prezentující rozsáhlý experimentální materiál včetně diskuzí a závěrů.

Disertantka zvládla teoretické základy pozorovaných molekulárních procesů jakož i experimentální techniky a časově rozlišené fluorescence, korelační spektroskopie, zobrazování dob dohasínání fluorescence, mikroreologie včetně zpracování a analýzy získaných výsledků. Konstatuji, že předložená práce splňuje cíle uvedené v zadání, t.j. podrobný výzkum transportních vlastností vybraných hydrogelů a biopolymerů metodou pokročilé fluorescenční korelační spektroskopie a prozkoumání jejich vztahu ke struktuře a reologii prostředí.

Vysoce cením:

a) prozkoumání limitů fluorescenčně korelačních metod, zejména v málo probádané oblasti, kdy difuzní koeficient je malý, translační pohyb částic je velmi pomalý a zejména když je difuze anomální. Tato problematika je velmi relevantní a aktuální i pro výzkum biologie buňek a biomembrán, kdy je metoda FCS (fluorescenční korelační spektroskopie) aplikována i v živých buňkách, kde klasickou mikroreologii nelze použít.

b) prozkoumání vztahu korelační křivky $G(t)$ a funkce MSD a identifikaci možných zdrojů chyb v přepočtu.

c) aplikaci metody FLIM (fluorescenční zobrazování a mapování rozdílných dob života ve vzorku) s následnou analýzou obrazu.

K práci mám následující připomínky:

Na straně 14 čteme: "*Citlivost [LSM, myšleno konfokální mikroskopie obecně] je zde dána použitím tzv. pinhole, která slouží k odfiltrování záření pocházejícího z jiné než ohniskové roviny a k přesnějšímu zaostření laseru.*" Toto tvrzení takto obecně neplatí, konfokální apertura, t.j. pinhole, je součástí detekční optiky, na zaostření laserového excitačního paprsku vliv nemá.

Tabulka č. 16 srovnává tabelované doby života fluorescence barviv AlexaFluor[®] v různých nanočásticích a v různě koncentrovaných hydrogelech. Vzhledem k rozdílným dobám života se nejspíš jedná o 3 různá barviva. Existuje celá řada komerčních barviv AlexaFluor[®]. Z popisu tabulky ani z následující diskuze není jasné, o která konkrétní barviva jde. Pokud by se jednalo o stejné barvivo, které vykazuje různé doby života v závislosti na velikosti nanočástice, byla by zajímavá alespoň krátká diskuze o možném mechanismu zkracování doby života dohasínání fluorescence v závislosti na velikosti nanočástic.

Přes některé výše uvedené malé výhrady soudím, že si disertantka osvojila metody vědecké práce a je způsobilá k tvůrčí vědecké činnosti. Protože předkládaný spis Ing. Kateřiny Markové splňuje požadavky kladené na disertační práce, doporučuji ji k obhajobě.

V Praze, dne 5.6.2024

Dr. Peter Kapusta

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR
Oddělení biofyzikální chemie