

Oponentský posudek na disertační práci

Jméno oponenta: Doc. RNDr. **Daniel Rösel**, PhD.

Autor práce: Mgr. **Markéta Šuráňová**

Název práce: **Biofyzikální interpretace kvantitativního fázového zobrazení s využitím koherencí řízené holografické mikroskopie**

Disertační práce Mgr. Markéty Šuráňové ve své nezkrácené verzi obsahuje teoretický úvod do problematiky holografické mikroskopie a migrace nádorových buněk, základní popis metodik, výsledkovou část, diskuzi a závěr. Text je napsán česky a bohužel se v něm objevuje množství slohových neobratností a v biologických částech občas i faktických chyb.

V rámci teoretického úvodu jsou krátce popsány cíle práce, je představena holografická mikroskopie a její přednosti při sledování a neinvazivní analýze živých buněk. Dále je představen koncept migrastatik a popsány mechanismy pohybu nádorových buněk. Právě tato část obsahuje největší porci slohových neobratností a občas i faktických chyb. Jedná se však o části popisující biologii nádorových buněk a vliv migrastatik na ně. Vzhledem k nebiologickému vzdělání autorky lze tyto prohřešky omluvit.

Metodická část neobsahuje podrobný návod používaných analýz, ale spíše obecný popis mechanismů používaných metodik. Největší pozornost je věnována popisu souborného vyhodnocení in vitro naměřených parametrů buněk, který je v práci označen akronymem PAMP, a jehož cílem je posoudit migrastatický potenciál testovaných látek.

Výsledková část shrnuje testování vlivu vybraných potenciálních migrastatik na růst, morfologii a migrační parametry dvou nádorových a jedné nenádorové buněčné linie. V závěrečné části výsledků jsou porovnávány holografické mikroskopy Q-Phase a Holomonitor a to jak v technické rovině holografického zobrazení a softwarového zpracování dat, tak v rovině reálně získaných obrazových dat. Výsledková část je popsána přehledně, výsledky jsou jasně dokumentovány v přehledných tabulkách a obrázcích. Drobná výtka k obrazové kvalitě se týká příležitostných výřezů mikroskopických obrázků, které mají dokumentovat nějaké popsání pozorování ve větším zvětšení, ale ve většině případů se jim to nedaří. Zvolené zvětšeniny výřezů totiž neposkytují dostatečné zvýraznění fenoménů, které mají ukazovat. To je však pravděpodobně dané i nízkým rozlišením primárních snímků. Celkově působí výsledková část velmi solidním dojmem. Z technického hlediska bych „vypíchnul“ zavedení metodického postup umožňující přenos souřadnic jednotlivých nasnímaných zorných polí z Q-Phase mikroskopu na konfokální mikroskop. To umožnilo nasnímat stejné oblasti vzorků na obou mikroskopech a porovnat výsledná holografická a konfokální zobrazení.

Diskuze se zaměřuje na jednotlivé testované látky a diskuzi jejich zjištěných efektů na vybrané buněčné linie. Krátká část je věnována doplňujícím výsledkům z pozorování na konfokálním mikroskopu a porovnání Q-Phase a Holomonitor holografických mikroskopů. Diskuze je věcně správně, ale i vzhledem k délce (5 stran se dvěma velkými obrázky) nejde úplně do hloubky.

Konkrétní připomínky k práci

Jako český překlad „Coherence-controlled holographic microscopy“ je v článku používán pojem „Koherencí řízená holografická mikroskopie“. Vhodnější a přesnější by podle mého soudu bylo „Holografická mikroskopie s řízenou koherencí“.

Použité obrázky často mají demonstrovat nějaké tvrzení popisující dynamické změny v buňkách v čase. To je na statických obrázcích těžko reprezentovatelné. Zde bych pro příště doporučil využít zobrazení pomocí „dynamic phase difference“ metodiky, které v sobě nese časovou informaci a dobře vizualizuje dynamické změny.

Otázky:

Schéma vyhodnocení PAMP metodiky na obrázku 20 obsahuje i pozitivní šipky ke kandidátním látkám s migrastatickým účinkem od nenádorových buněk. To nesouhlasí s deklarácí, že „Požadavkem je, **aby migrastatičtí kandidáti zachovali průměrnou rychlost nenádorových buněk** ... a nezpůsobili morfologické změny signalizující cytopatogenitu, zejména nenádorových buněk“. Souhlasil bych s mírnějším požadavkem, že „migrastatičtí kandidáti“ mohou inhibovat i migraci nenádorových buněk, ale méně než nádorových. Navrhněte změnu schématu, aby plně odpovídalo popisu požadavků na „migrastatické kandidáty“, jak jsou popsány v hlavním textu a dále pak, aby odpovídala mnou navrhnuté změně podmínek.

V práci se píše o „kontraktilitě Rho/ROCK“. Co je tímto pojmem míněno a jak souvisí Rho/ROCK s buněčnou kontraktilitou?

Analýzy na konfokálním mikroskopu ukázaly, že působením FAS na buňky vede na rozdíl od MID a NICL ke ztrátě FAK signálu a fokálních adhezí. Jak si to vysvětlujete?

Prosím vysvětlete pro biologa rozdíl mezi světelnými zdroji LED laser Holomonitoru a LED osvětlení Q-Phase mikroskopu.

Celkové hodnocení

Disertační práce a dva publikované články Mgr. Šuráňové dokladují, že je schopna samostatně získat a analyzovat vědecky hodnotná data. Doporučuji tedy přijetí předložené disertační práce jako podkladu k udělení titulu Ph.D.

V Praze, 13.12.2023

Podpis posuzovatele:

Doc. RNDr. Daniel Rösel, PhD.