

# Posudek vedoucího dizertační práce

11. června 2024

**Autorka:** Ing. Katarína Mendová  
**Název práce:** Cell mechanics  
**Školitel:** prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.  
**Studijní program:** Strojní inženýrství  
**Studijní obor:** Biomechanika (3901V010)

## Aktivity doktorandky a jejich vztah k tématu disertační práce

Doktorandka Ing. Katarína Mendová se v rámci své práce věnovala problematice biomechaniky celulárních a subcelulárních struktur. V této oblasti nemohla na rozdíl od jiných kolegů navázat na předcházející výzkum, protože oblast výzkumu buněk na Ústavu mechaniky, biomechaniky a mechatroniky FS ČVUT se její dizertační prací v podstatě zakládala. I když již proběhla pilotní měření na živých buňkách s využitím zařízení Bruker Triboindenter, chyběl jim podstatný teoretický základ a systematičnost výzkumu. Právě tento aspekt do výzkumu přinesla Ing. Mendová. V rámci řešení problematiky mechaniky buněk se musela vypořádat s velkým množstvím technických a materiálových problémů. Při výzkumu spolupracovala také se zahraničními pracovišti, musím vzpomenout alespoň Institut Josefa Stefana v Lublani nebo aktivně navázala spolupráci v oblasti aditivní výroby se svým domovským pracovištěm na TU Košice. Vysoce hodnotím především schopnost doktorandky aktivně propojit inženýrské znalosti s biologickou aplikací. V práci aktivně vyhledávala nové postupy, a i když výzkum často vedl do slepých uliček, povedlo se jí dosáhnout zajímavých výsledků, na kterých je možné do budoucna stavět. Na práci doktorandky musím vyzvednout především její systematičnost a vytrvalost v řešení problémů, bez kterých by nebylo možné dosáhnout cílů.

## Cíl aktuálnost tématu disertační práce

V rámci rešeršní činnosti v prvním roce řešení práce doktorandka zjistila, že dosavadní publikace uvádějí velký rozptyl mechanických vlastností buněk. Obecně se uvádí, že příčinou je variabilita mechanických vlastností mezi jednotlivými fenotypy, nebo změny v průběhu

života buňky. Nicméně, doktorandka poukázala na fakt, že na rozdíl od klasických inženýrských postupů neexistuje možnost nezávislé kalibrace jednotlivých měřících postupů. Proto si doktorandka zvolila za cíl práce tuto metodu vytvořit, ověřit a aplikovat. Vzhledem k tomu, že tento přístup nebyl aplikován, považuji ho z hlediska inženýrské nanobiomechaniky za mimořádně aktuální.

## Obsah práce a vlastní přínos

Práci je možné z obsahového hlediska rozdělit do dvou stejně důležitých celků: vývoj experimentální metody přípravy referenčních buněk a vývoj matematických modelů jejich popisu. V první části doktorandka samostatně navrhla, vyrobila a otestovala několik generací mikrofluidního zařízení. Na rozdíl od existujících zařízení, která byla připravována litografií, využila metodu aditivní výroby a to především metodu PolyJet a SLA. Ve spolupráci s kolegy z VŠCHT v Praze a Univerzitou v Lublani zvládla přípravu prekurzorů a následnou tvorbu lipozomů. Samostatným problémem, který se jí povedlo vyřešit je fixace lipozomů na podložné sklíčko využitím komplexů avidinu-biotinu. I když původní plán práce předpokládal s měřením s využitím nanoindentace, ukázalo se, že tuhost vytvořených lipozomů je natolik nízká, že samotná měření jsou zatížena šumem nad úroveň měřitelného signálu. Proto byly lipozomy měřeny s využitím metody AFM na FBMI Kladno. Dalším přínosem práce bylo také vytvoření hybridních lipozomů, kde doktorandka experimentálně simulovala viskoelastické vlastnosti cytoplasmy pomocí roztoku kyseliny hyaluronové. Pro přípravu kyseliny hyaluronové absolvovala výzkumnou stáž ve firmě Contipro. Srovnáním modelů buněk s a bez cytoplasmy doktorandka jako první experimentálně prokázala roli cytoplasmy při přenosu zatížení. Na rozdíl od hodnot z literatury ukázala, že cytoplasma přenáší až 4/5 zatížení.

Teoretická část práce synergicky doplňuje experimentální přípravu buněk. Doktorandka se neuspokojila se standardně využívanými metodami analýzy kontaktní úlohy pomocí Hertzových modelů, ale navrhla vlastní modely založené na inovativní aplikaci Laplacovy rovnice pro tekutou membránu a modelu s předdefinovanou geometrií tvaru. Práce také ukázala na vliv ohybové tuhosti membrány pro určení celkového tvaru buňky.

V zásadní části autorka propojila teoretickou a experimentální analýzu ve studii mechanických vlastností lipozomů. Ukázala, že prostřednictvím tvaru křivek zatížení je možné identifikovat adhezi a poukázala na nutnost zohlednění geometrie buněk při experimentálním hodnocení tuhosti.

## Originalita disertační práce

Práce přináší nový směr výzkum v buněčné biologii zavedením inženýrských postupů zkoušení mechanických vlastností. Z mého pohledu jsou ceněné především následující původní výsledky:

**Příprava mikrofluidního zařízení metodami aditivní výroby** výrazně zkrátila čas

přípravy zařízení a umožnila zkoušení různé geometrie kanálů a jejich propojení. Celkový čas přípravy lipozomů byl tak zkrácen ze dnů na hodiny a připravené lipozomy vykazují dostatečnou stálost.

**Vytvoření mechanického modelu buňky** s vizkózní cytoplasmou a plasmatickou membránou.

Tento model replikuje základní vlastnosti buňky a umožňuje jak srovnání zařízení tak řízené ovlivnění mechaniky buněk. Pomocí daného modelu doktorandka kvantifikovala příspěvek cytoplasmy a cytoplasmatické membrány k tuhosti buňky.

**Zhodnocením role velikosti buňky na její tuhost** doktorandka explicitně poukázala na nutnost zohlednit velikost buňky při hodnocení mechanických vlastností pomocí Hertzova modelu. Doktorandka poukázala na nedostatky daného modelu, který vychází z teorie elastického polokontinua.

**Původní formulací mechanických modelů** liposomů doktorandka ukázala na možnosti modelování liposomů jako membrán. Formulací modelu odstranila zásadní nedostatek nespojitosti křivostí v meridánu liposomu, kterým trpěli předcházející modely.

## Formální stránka zpracování

Doktorandka měla při psaní práce těžkou úlohu prezentovat velké množství poznatků a výsledků. K danému úkolu přistoupila kreativně a práce je dle mého názoru jasně strukturována. K formální části práce nemám výhrady. Kladně hodnotím vědecké vizualizace, které přispívají k lepšímu porozumění metodám a výsledkům.

## Závěr

Doktorandka v rámci své práce prokázala schopnost samostatně řešit důležité problémy biomechaniky buněk. K práci si sama navrhla experimentální zařízení, odladila metodiky přípravy mechanických analogů buněk a jejich zkoušení a získala relevantní výsledky. Své výsledky publikovala jak ve formě časopiseckých publikací, tak ve formě odborných příspěvků na konferencích. Chci zdůraznit, že práce obsahuje jenom vybranou část výsledků a některé z výsledků vycházející z vyvinutých metodik tak ještě budou brzy publikovány.

Na základě §47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách lze konstatovat, že doktorandka ve své práci prokázala schopnost a připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu a vývoje a že disertační práce obsahuje původní výsledky spadající do oboru biomechaniky.

Z uvedených důvodů práci doporučuji k obhajobě před příslušnou zkušební komisí pro obhajobu disertačních prací a po úspěšné obhajobě doporučuji Ing. Kataríně Mendové udělit titul Ph.D. v oboru „Biomechanika“.

prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.