



### Oponentský posudek disertační práce

Ing. Kateřina Žambochová: *Interaction of fluorescent nanodiamonds with cells investigated by interferometric scattering microscopy techniques*

Disertační práce Ing. Žambochové popisuje vývoj a aplikaci metody interferometrické rozptylové mikroskopie (ISCAT) kombinované s běžnou fluorescenční mikroskopíí. Velmi zajímavá je nová metodika určení velikosti a index lomu částice pomocí fitování axiálního profilu signálu nanočástice – menší než difrakční limit – a to zcela optickou metodou. Po teoretickém rozboru a popisu praktických aspektů a implementace metody jsou podrobně popsány testovací aplikace – pozorování difuze 10 a 100 nm častic diamantu v buněčném prostředí. Je demonstrována 3D lokalizace častic v buněčném prostředí s přesností až jednotek nm. Nakonec je ukázáno, že pohyb malých častic (10 nm) je velmi podobný jako pohyb přirozených vesikul.

Dále se zaměřím na jednotlivá hodnotící kritéria (požadovaná fakultou)

#### 1. Aktuálnost tématu disertační práce

Téma velmi dobře spadá do současného výzkumu optických mikroskopických technik s tzv. „super-resolution“, tedy s rozlišením jdoucím výrazně za difrakční limit.

#### 2. Splnění cílů disertační práce

Jako oponentovi mi není známo přesné první zadání (v disertaci je zmíněno „vývoj technik pro sledování fluorescenčních nanodiamondů v biologickém prostředí“). Domnívám se však, že případné odchýlení od prvního zadání (zřejmě nezásadní) není v případě doktorské práce problém, pokud výsledky jsou dostatečně kvalitní – což zde jsou.

#### 3. Metody a postupy řešení

Vyvinout inovativní metodu (nebo se to na tom alespoň významně podílet) pro bio-imaging a následně ji připravit pro demonstrační aplikace a ty analyzovat je dobrý postup. Chyb v metodice jsem si nepovšiml. Dostatečně je řešeno i stanovení nepřesnosti metodiky a nejistot získaných parametrů.

#### **4. Výsledky disertační práce a konkrétní přínosy disertanta**

Pokud jde o publikační výstupy, jsou uvedeny dva články ve velmi renomovaných časopisech (Optics Express a Optics Letters), kde je ing. Žambochová jednou první autorkou a jednou spoluautorkou (na 4. místě ze 6 autorů). Dále je zmíněno několik konferenčních příspěvků. Předpokládám, že některé další zajímavé části disertace jsou připravovány k publikaci, či v mezičase publikovány byly.

Konkrétní přínos disertantky nejsem schopen na základě předložené práce určit. Lze předpokládat, že u publikace, kde je první autorkou, je její přínos zásadní. Rád bych tedy požádal o její vyjádření k této otázce během obhajoby.

#### **5. Význam pro praxi a rozvoj studijního oboru Biomedicínská a klinická technika**

Vyvinutá metoda iSCAT má perspektivu využití pro různé bio-zobrazovací aplikace a, pokud bude k dispozici i na ČVUT, pak může být zahrnuta do speciálních praktických cvičení. (Nicméně musím poznamenat, že o struktuře a kurikulu tohoto oboru nemám podrobnější informace).

#### **6. Formální úprava disertační práce a její jazyková úroveň**

Práce je velmi dobře členěna a má velmi vysokou úroveň jazykovou (psána je anglicky) i grafickou. Našel jsem opravdu jen jednotky chyb.

#### **7. Připomínky a závěrečné zhodnocení disertační práce**

Předloženou disertační práci, která vznikla především na zahraničním pracovišti během pobytu autorky v Koreji, pokládám za velmi kvalitní. Je v ní představena inovativní metoda optického zobrazování nanoobjektů v buněčném prostředí (iSCAT) a její testovací aplikace, které naznačují velké aplikační možnosti metody.

Pro diskusi během obhajoby si dovolím přednést několik otázek:

- Předně zopakuji požadavek na vyjasnění podílu disertantky na prezentovaných výsledcích (jak jsem již zmínil výše).
- Obr. 5 je zřejmě schematicky zjednodušený. Z textu vyplývá, že achromatické dublety – čočky L1, L2 a TL1, TL2 všechny mají ohniskovou vzdálenost 500 mm, tedy např. vzdálenost L1 a L2 ve 4f konfiguraci je 2 metry. Můžete komentovat detaily aparatury? Je skutečně schéma zkreslené (což by bývalo mělo být zmíněno)? Škoda, že nebyla zahrnuta fotografie reálné aparatury.
- Nakonec (pokud to již nebylo diskutováno během obhajoby), bych se zeptal na další pokrok následující po odevzdání práce, pokud tedy nastal.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená disertační práce splňuje požadavky kladené na tento typ práce. Také dokazuje schopnosti disertantky vést samostatnou vědeckou práci. Mohu tedy doporučit, po úspěšném průběhu obhajoby, přijetí disertační práce jako podklad k udělení doktorského titulu.

V Praze, 1. července 2024

 prof. RNDr. Jan Valenta, Ph.D.