

Posudek na disertační práci

**Ing. Aneta Křížová: Vývoj biofyzikální interpretace dat kvantitativního
fázového zobrazování**

Ing. Křížová ve své disertační práci zpracovala téma kvantitativního fázového zobrazování (QPI) s důrazem na aplikace v biofyzice a analýzu dějů v živých buňkách. Cílem práce je navrhnout zpracování obrazu získaného pomocí holografického mikroskopu a využití těchto technik v biologických a lékařských experimentech. Postupy a techniky vyvinuté během postgraduálního studia mají velký význam v pokročilém biologickém výzkumu, protože umožňují studium buněčných dějů (zejména změn morfologie a přesunů hmoty buňky) v reálném čase bez nutnosti použití fluorescenčních barviv, z nichž některá mohou mít negativní dopad na živé buňky. Výhodou v porovnání fluorescenční mikroskopie je rovněž nízká fototoxicita a nepřítomnost efektu vybělování vzorku (*photobleaching*).

Práce je logickým způsobem členěna do sedmi kapitol. Po úvodu do QPI následuje kapitola 2 s přehledem zpracování obrazu a jeho biofyzikální interpretace spolu s navrženou metodou dynamických fázových diferencí sloužící ke sledování změn fázového obrazu objektu v čase. Ve třetí kapitole je proveden teoretický rozbor zobrazení vzorku v trojrozměrném prostředí. Kapitoly 4-6 obsahují experimenty zobrazující různé typy dynamických buněčných dějů – analýzu typů buněčných smrtí, osmotické jevy a pohyb buněk v kolagenovém gelu. V závěru jsou pak shrnuty výsledky práce.

Práce je stylisticky, typograficky i graficky na velmi vysoké úrovni, text je srozumitelný a bez pravopisných chyb, s minimem překlepů (např. obr. 18 a obr. 19 mají otočené osy z). Z formálního hlediska by práci prospěl odstavec s jednoznačně definovanými cíli práce a stavu jejich řešení, spolu se všemi odbornými pracemi autorky v separátním výčtu.

Disertační práce obsahuje všechny důležité prameny, ze kterých autorka čerpala, pouze snad zmínka od Zernikově fázovém kontrastu a DIC v úvodu by zasluhovala odkaz na zdroj. Práce obsahuje obrázky a grafy přejaté ze správně citovaných pramenů. Obrázky přejaté z publikací autorky však označné nejsou (např. obr. 11, 12 a 35 z *J Biomedical Optics*). Seznam literatury odpovídá normě ISO690 a pokynům pro tvorbu disertačních prací na VUT.

Z odborného hlediska je práce kvalitně zpracovaná a přináší důležitá vylepšení do oblasti studia dynamických dějů prostřednictvím QPI metodou dynamických fázových diferencí (DPD). Důležitou součástí práce je analýza zobrazení trojrozměrného vzorku, která ukázala možný budoucí směr vytváření obrazových řezů. Postupy odvozené v první části práce byly použité při analýze třech typů buněčné smrti a jejich morfologická identifikace (plocha buňky) byla porovnána s výsledky průtokové cytometrie (FC) s menší (čistá FC) či větší mírou shody (*backgating*). Analýza vývoje suché hmoty v závislosti na čase umožnila odlišit apoptózu od onkózy a zjistit charakteristiky jejich průběhu (např. náhlý pokles suché hmoty buňky u onkotické smrti) či přesuny suché hmoty během hypoosmotického šoku. Metoda DPD rovněž umožnila vizualizovat migraci améboidních a mezenchymálních nádorových buněk v kolagenovém gelu a názorně demonstrovat rozdíly mezi mechanismy jejich pohybu.

Autorka úspěšně prezentovala svoji práci v odborném tisku a je první autorkou nebo spoluautorkou 8 publikací v impaktovaných časopisech a 6 článků a abstraktů v konferenčních sbornících. O aplikačním potenciálu vyvinutých metod svědčí jejich začlenění do ovládacího software prototypu komerčního přístroje Q-PHASE firmy Tescan Brno, s. r. o.

Doplňující otázky na autorku:

1. Při morfologické analýze je důležitá jak rozlišovací schopnost mikroskopu, tak zvětšení celé zobrazovací soustavy. Můžete porovnat a okomentovat rozlišení mikroskopu a koeficient zvětšení nm/pixel?
2. Můžete navrhnout jak pomocí obrazové analýzy odlišit pohyb buňky od změny polohy těžiště způsobené rozpadem membrány (v modelovém experimentu se zdá, že buňka číslo 5 pohyb nevykonává).
3. V úvodu zmiňujete nemožnost kvantifikování fáze u metody Zernikova fázového kontrastu. Proč tomu tak je? A existují nějaké modifikace této metody, které umožňují informaci o fázi získat?

Doktorandka splnila všechny cíle disertační práce a
doporučuji udělení akademického titulu Ph.D.
v oboru Fyzikální a materiálové inženýrství.

Předložené teze (zkrácená verze disertační práce) obsahují všechny nezbytné části. Zkrácená verze je dělena stejně jako disertační práce na 7 kapitol. V kapitolách 1-3 je úvod a odvození metod, kapitoly 4-6 obsahují experimenty na živých objektech a v poslední kapitole jsou závěry práce. Po seznamu použité literatury následuje příloha – životopis autorky s přehledem publikací, na kterých se přímo podílela.

V Brně dne 11. března 2019

Ing. Petr Jákl, Ph.D.

