

Electronic effects at the interface between biomolecules, cells and diamond

autorka Mgr. Marie Krátká

Disertační práce M. Krátké se zabývá aktuálním tématem využití diamantových materiálů ve spojení s biomolekulami, konkrétně ve formátu FET. Ač prací o aplikacích FET v biosensorech lze v literatuře najít velmi mnoho, praktické aplikace dosud schází. Disertace tedy má hlavní přínos v aplikaci nanodiamantové vrstvy v oblasti sensorů. Práce byla vypracována na Fyzikálním ústavu ČAV pod vedením doc. Bohuslava Rezka a předložena na Fakultě matematiky a fyziky UK. Práce je psána anglicky, text je přehledně a srozumitelně prezentován a po formální stránce vhodně členěn. Má charakter úvodu do problematiky shrnujícího dosažené výsledky a je doplněn řadou publikovaných prací. Celkový rozsah je 115 stran (dle PDF verze).

Úvodní kapitola 1 otevírá problematiku, zmiňuje aplikace sensorů na bázi diamantových materiálů pro sledování buněk (impedanční změny) a principy FET sensorů. Cíl práce je formulován jako studium jevů na rozhraní diamantového povrchu a biomolekul či buněk, a případné využití získaných poznatků v praxi.

Krátká experimentální část 2 shrnuje základní postupy a principy použitých technologických a zobrazovacích metod.

Část 3 pak stručně a vcelku přehledně uvádí výsledky včetně jejich vysvětlení a diskutování v širších souvislostech. Postupuje se logicky od charakterizace SGFETů, jejich modifikace proteiny z FBS, následně růstem buněk, a poté degradace biologických objektů pomocí radioaktivního záření. Škoda, že se více neexperimentovalo také v oblasti funkčnosti bioobjektů, to by mělo blíže ke zmiňovanému využití pro biosensory. Nakonec je také zmíněno nově vyvinuté přenosné zařízení pro záznam FET charakteristik, výstupy odpovídají komerčním Keithley přístrojům. Schází ale bližší technický popis, schéma, způsob a formát přenosu dat.

Za pozornost stojí zmínka celkem 12 projektů, podporujících tuto disertaci.

Formální nedostatky:

V angl. abstraktu je málo konkrétní zmínka „We developed and tested portable battery-driven device“, český překlad je detailnější: „Vyvinuli a otestovali jsme přenosné zařízení pro měření tranzistorových charakteristik.“ Shoda by měla být přesná.

V odborných spisech se fyzikální symboly píší kurzivou, a jistě lze také správně používat indexy (např. str. 11).

Fig. 2.11 - Stoke nebo Stokes?

Fig. 2.16a, propojování pomocí několika BNC spojek asi kvalitě signálu moc nepomáhá.

Str. 29, přechod buněk z 37 °C do teploty místnosti (kolik stupňů?) byl asi dost stresující...

3.3 studovat adsorpci proteinů na jakémkoliv materiálu pomocí komplexní směsi FBS je málo smysluplné; vhodné by bylo začít takovou studii definovaným a čistým proteinem (albumin). Fig. 3.8, mělo by se napřed provést UV sterilizování povrchu, a poté nanést sterilní FBS medium. Fig. 3.11, ideální by bylo měřit charakteristiku SGFETu průběžně v čase po dobu experimentu s buňkami, obdobně jak funguje např. zmiňovaný xCELLigence system. Šlo by to nějak vhodně provést - navrhnete.

Celkově předložená práce patří ke kvalitním disertacím. M. Krátká je autorkou či spoluautorkou celkem 10 prací v recenzovaných (vesměs i impaktovaných) časopisech, přitom součástí disertace je 5 příložených publikovaných prací, za zmínku stojí články v Biosensors and Bioelectronics, Sensors and Actuators B Chemical, či Colloid Surf. B-Biointerfaces.

Několik otázek

1.2.1 zmiňujete, že vrstva zlata u impedančních sensorů blokuje optické pozorování; je tomu tak vždy, a lze případně použít jiný materiál, který tento problém řeší?

Obr. 1.2, schází pro srovnání povrchy bez adsorbovaného séra - můžete ukázat při obhajobě?

Str. 27 vrchní odstavec, co se asi stane s vrstvou proteinů při 200 °C?

2.7 první odstavec, jak se přídavek HEPES vztahuje k CO₂? Byl přítomen CO₂ ze vzduchu při měření?

3.6 popisuje úspěšné čištění povrchu SGFETu pomocí vodíkového plazmatu; jaké konkrétně byly podmínky při neúspěšné chemické regeneraci? Má vůbec význam regeneraci provádět, vzhledem k ceně SGFET při masovější produkci?

3.7 úvod, moc nechápu, jak může diamant odpovídat tkáni, když podstatnou součástí tkáně je voda. Prosím vysvětlit.

Dále v této části prezentovaný obrázek 3.19 ukazuje transferové charakteristiky dvou SGFETů, přitom černé křivky u (a) a (c) odpovídající výchozímu stavu (tj. nový SGFET) jsou zcela odlišné; jaká je tedy vlastně reprodukovatelnost přípravy SGFETů?

Obr. 3.21 (d) a částečně i (c), velké bílé spoty indikují, že tyto části jsou evidentně mnohem "vyšší" a mimo rozsah nastavených 10 nm; bylo toto vzato v úvahu při vyhodnocování změn hrubosti povrchů?

Závěrem lze konstatovat, že předložená disertační práce splňuje požadavky kladené na tyto práce v doktorském studijním programu Biofyzika, chemie a fyzika makromolekul na Univerzitě Karlově v Praze. Prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci, proto doporučuji disertaci přijmout k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování udělit Mgr. Marii Krátké titul Ph.D.

V Brně dne 10.9. 2018

Doc. RNDr. Petr Skládal, CSc.

Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta

Masarykova univerzita

Kamenice 5, 625 00 Brno

Tel. 549497010

Email skladal@chemi.muni.cz