

Oponentní posudek dizertační práce Mgr. Marka Piliarika High-throughput biosensor based on surface plasmon resonance imaging

Školitel: Jiří Homola, ÚŘE AV ČR, Praha
Oponent: Ivan Richter, FJFI ČVUT v Praze

Tématem předložené dizertační práce je dnes vysoce perspektivní problematika optických senzorů na bázi rezonančního jevu povrchových plazmonů (SPR), zejména za účelem aplikací těchto optických senzorů pro monitorování změn indexu lomu, pro biologickou a chemickou charakterizaci materiálů a látek. Nejčastěji jsou v tomto kontextu senzory s povrchovými plazmony realizovány jednou z následujících technik: pomocí hranolu, difrakční mřížky nebo systému mřížek, optického vlnovodu respektive optického vlákna; každý přístup má pochopitelně své výhody, nevýhody i specifickou oblast aplikačního použití. Senzory založené na povrchových plazmonech tak již dostatečně ukázaly v předchozích letech svůj obrovský aplikační potenciál a jsou dnes používány v mnoha oblastech výzkumu i praxe. Právě ve skupině školitele dizertanta je tato oblast již řadu let na plně srovnatelné mezinárodní úrovni úspěšně systematicky studována a realizována. Spolu se současným masivním rozšiřováním uplatnění těchto senzorů v oblastech biologie a biochemie (biosenzory) se dnes jako vysoce aktuální ukazuje zejména potřeba pokročilé instrumentace takovýchto senzorů, pro bezprostřední uplatnění v praktických problémech. To zahrnuje vytvoření vysoce kapacitního senzoru, velkého množství měřicích kanálů, možnost jejich současného měření a zpracování, s dostatečnou rychlostí při současném zachování vysoké citlivosti a nízké šumové hladiny, hovoří se pak o pokročilých technikách SPR zobrazování. Právě tuto aktuální otázku řeší, dle mého názoru, na vysoce kvalifikované a fundované úrovni, předložená dizertační práce. Práce je zároveň zdařilou ukázkou, jak je možné účinně interdisciplinárně (až do aplikačních dopadů) propojovat klasickou optickou a fyzikální problematiku s oblastmi biochemie a biofyziky. Důraz je přitom v práci kladen na nové původní přístupy v rámci technik SPR zobrazování, jmenovitě na nové uspořádání pomocí pokročilého řízení polarizace spolu se zobrazováním pomocí speciálních multivrstev v polarizačním kontrastu. Práce se věnuje jak převážně experimentálnímu studiu, tak i potřebnému teoretickému zázemí takovýchto senzorů založených na povrchových plazmonech, zejména s ohledem na mnohakanálové vysokokapacitní možnosti zařízení, vysokou rychlost měření a zachování dostatečné citlivosti.

Vzhledem ke značnému rozsahu práce, kdy by i pouhý výčet a přehled jednotlivých řešených problémů vyžadoval rozsáhlý text, se zde po stručném popisu soustředím zejména na vlastní posouzení, s omezením tradičního přehledu dizertační práce dle jednotlivých kapitol na minimum. Předložená práce, vypracovaná formou shrnutí, respektive komentáře, a souboru příložených autorových publikací ve formě separátů, má 40 stran vlastního komentáře, a obsahuje dále úctyhodných 11 publikací, několik z nich ve vysoce renomovaných impaktovaných zahraničních časopisech (*Sensors and Actuators B, Measurement Science and Technology, Biosensors and Bioelectronics, Methods, Analytical Chemistry*), včetně dvou kapitol v odborné monografii. Shrnutí je napsáno velmi čtivě, po stručném úvodu (zahrnujícím základy fyziky SPR a jejího užití pro senzorové aplikace, základy instrumentace senzorů a biosenzory), autor dále v 2. kapitole prezentuje cíle své dizertace. Kapitola 3 se věnuje shrnutí teoretických závěrů práce, zejména v relaci k jím realizovaným novým původním schémátům v rámci SPR zobrazovacích technik – uspořádání pomocí pokročilého řízení polarizace a spolu se zobrazováním pomocí speciálních multivrstev v polarizačním kontrastu; autor prezentuje schémata těchto uspořádání a vysvětluje principy fungování, zejména ve vztahu k teoretické citlivosti a rozlišení. Kapitola 4 rozebírá nejdůležitější experimentální výsledky pro tato realizovaná uspořádání, diskutuje přístup ke zpracování dat, zejména ve vztahu k aplikacím (přehled použitých materiálů, diskuze nové techniky prostorově rozlišené funkcionalizace, omezení detekce, problematika šumů a optimalizace, atd.). Shrnutí dizertace je zakončeno 5. kapitolou – přehledem výsledků. Následující dodatky prezentují 11 autorových publikací (2 knižní kapitoly, 8 článků v odborných impaktovaných časopisech, 1 článek v SPIE sborníku), které se bezprostředně obsahově dotýkají předložené dizertační práce (z toho v 6 případech je uveden jako první autor). Publikační aktivita dizertanta je nadprůměrná, navíc jsem namátkou našel několik dalších publikací a konferenčních příspěvků dizertanta (jako spoluautor) v rámci jeho dalších aktivit či z dřívějšího období. Podle příložených publikací mohu soudit, že autorův přínos byl dominantní zejména v oblasti pokročilé SPR instrumentace, při vývoji a testování nových experimentů v oblasti SPR zobrazování, jakož i v jejich aplikaci (detekce oligonukleotidů, virů, proteinů, DNA, atd.).

Formální stránka dizertační práce je na velmi dobré úrovni. Je třeba ocenit až na několik překlepů téměř dokonalou formální i stylistickou úroveň anglického jazyka, v němž je práce napsána, pokud ovšem mohu posoudit; text se velmi dobře čte. Formální chyby vůbec jsou velmi řídké, takže nestojí ani za zmínku, využití obrázků, grafů a tabulek je zcela adekvátní a efektivní. Vlastní shrnutí je psáno sympaticky stručně, ale velmi dobře čtivě, se snahou o přesné a srozumitelné vyjadřování. Struktura je též vhodně zvolena, text působí vyváženě, s jasnými dopady na konkrétní výsledky a přínosy. Z odborného hlediska považuji práci za jednoznačně přínosnou a velmi užitečnou pro další výzkum. Jako celek působí předložená dizertační práce neobvykle vyzrálým dojmem; dizertant tak zřejmě dokázal dobře zúročit poměrně dlouhou dobu v rámci svých aktivit v ÚŘE AV ČR i během zahraničních stáží, po kterou se problematice mohl věnovat. Na základě tohoto faktu je zřejmé, že dizertant zvládl danou problematiku v celé šíři a že je schopen další tvůrčí vědecké práce. Dizertant tak prokázal jak hluboké porozumění problematice, cit pro technické a experimentální problémy, i potřebný teoretický nadhled. Ačkoliv nejsem přímo odborníkem systematicky pracujícím v dané oblasti senzorů na bázi povrchových

plazmonů, je evidentní, že úroveň prezentované dizertační práce je velmi vysoká. Jsem přesvědčen, že výsledky mohou být velmi významné pro rozšíření praktických aplikací těchto nových typů SPR zobrazovacích senzorů.

Předložená dizertační práce tohoto rozsahu a širě záběru přináší pochopitelně celou řadu podnětů pro diskuzi, zde bych se omezil jen na následující dotazy a připomínky, k některým z nich by se mohl dizertant v rámci obhajoby práce vyjádřit:

1. Zajímá mne dizertantův názor na srovnání aplikovatelnosti povrchových plazmonů krátkého a dlouhého dosahu, bylo by možné oba tyto typy používat i technikách SPR zobrazování?
2. Bylo by možno specifikovat, kde jsou nejkritičtější místa v technologickém procesu přípravy speciálních multivrstev pro SPR zobrazování v polarizačním kontrastu (prostově separovaná matice Au spotů)?
3. Jakým způsobem jsou řešeny (pokud bylo nutné je řešit) přeslechy (*cross – talks*) mezi jednotlivými aktivními Au senzorovými spoty (pro SPR zobrazovací senzor)?
4. V rámci práce v Dodatku III je detailněji diskutována problematika zdrojů šumu v rámci SPR senzoru, jejich redukce a optimalizace ve vztahu k funkčnosti senzoru; v této souvislosti by mne zajímalo, jakým způsobem bylo možné šum detektorů (*detector shot noise*) měřit a kvantifikovat?
5. V rámci článku uvedeném v dodatku IX je diskutována metoda automatické samoreference vedoucí k řádovému zvýšení kontrastu (resp. redukci šumu); bylo by možno stručně komentovat, v čem spočívala ideová podstata tohoto zlepšení (projevy obou referenčních signálů ve vztahu ke zpracování matice obrazu senzorů)?
6. Jaký by byl dizertantův názor na další budoucí trendy v R&D vysoko kapacitních senzorů, zejména ve vztahu k potřebnosti a na druhé straně schůdné realizovatelnosti počtu senzujících kanálů (velikost aktivních spotů, též ve vztahu k možnostem prostorově rozlišené funkcionalizaci)?
7. Ačkoliv je z celé práce zřejmé aplikační zaměření SPR senzorů na biochemii a biologii (biosenzory), objevují se (resp. lze výhledově uvažovat) i jiné aplikační oblasti (např. v materiálovém výzkumu, přímé měření indexu lomu)?
8. Mohl by dizertant stručně komentovat své zahraniční pobyty (vyplývající zřejmě ze společných publikací v rámci spolupráce pracovišť – University of Washington, USA, případně University of Oulu, Finsko) a porovnat aktivity a zkušenosti domácího pracoviště s těmito zahraničními laboratořemi (teoretické zázemí, experimentální zkušenosti, provázanost s biochemií)?

Závěr: Předloženou dizertační práci je možno hodnotit jako vynikající a z odborného hlediska jako velmi kvalitní, uvedené dotazy a připomínky budou jistě také uspokojivě zodpovězeny. Všechny stanovené cíle práce tak byly splněny, v dostatečné míře a preciznosti. Práce přináší nové poznatky a je přínosná jak pro vlastní pochopení studovaných jevů, tak pro praktické aplikace, zejména v oblastech moderní SPR senzoriky. Získané výsledky tak, dle mého názoru, přispěly a přispějí významně k rozvoji daného oboru, na mezinárodní úrovni. Práce svědčí o jeho dostatečné schopnosti zvládnout tuto komplexní mezioborovou komplexní problematiku, pracovat v ní s plným pochopením fyzikální podstaty a zároveň kriticky hodnotit získané výsledky. **Závěrem mohu prohlásit, že předložená dizertační práce Marka Piliarika splňuje dle mého názoru požadavky na dizertační práce kladené příslušnými právními předpisy. Práci proto jednoznačně doporučuji k obhajobě pro získání akademicko-vědeckého titulu PhD.**

V Praze dne 26. května 2008

Doc. Ing. Ivan Richter, Dr.
České vysoké učení technické v Praze
Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská
Katedra fyzikální elektroniky
Břehová 7, 115 19 Praha 1
Tel: 2 2191 2826
Fax: 2283072844, 8468 4818
E-mail: richter@fjfi.cvut.cz