

Oponentský posudek na disertační práci

pana Iurie Melnichuka

„Nano-structured multicomponent plasma polymers for controlled immobilization of biomolecules - Nanostrukturované plazmové polymery pro řízenou imobilizaci biomolekul“

Předkládaná disertační práce se zabývá velmi aktuálním tématem studia možnosti aplikace nanostruktur při funkcionalizaci povrchů polymerů pro interakci biomolekul. Experimenty dále zahrnují studium imobilizace proteinů prostřednictvím kovalentní vazby na nanostrukturované povrchy modifikované v plazmatu bariérového výboje. Výsledky uvedené v této disertační práci získal autor během svého působení na Katedře makromolekulární fyziky, Matematicko-fyzikální fakulty UK v Praze a dílčí výsledky v oblasti modifikace povrchů bariérovým výbojem byly získány i v externích laboratořích Univerzity v Bari, Itálie.

V úvodní rešeršní části práce autor uvádí stručný a dostatečně výstižný přehled o současném stavu problematiky se zaměřením se na techniky přípravy nanostruktur s potenciálem aplikací v biomedicině. Tato část je detailně věnována metodám a principu metod „bottom-up“ s důrazem růst tenkých vrstev v závislosti na energetické interakci mezi parami napařovaného materiálu a vrstvou, případně substrátem, a mezi substrátem a napařovanou vrstvou. Pozornost autor v této části práce věnuje také metodám přípravy organických mikro - a nanostruktur deponovaných metodami „Organic Molecular Beam Deposition (OMBD)“ a plazmovou polymerací. Kromě popisu depozičních technik se autor zabývá aplikací plazmové modifikace povrchů polymerů s cílem zlepšit biokompatibilitu těchto povrchů následným navázáním mezivrstvy bioaktivního proteinu prostřednictvím kovalentní vazby. V této souvislosti je podrobně diskutován bariérový výboj za podmínek atmosférického tlaku. Na tomto místě bych chtěl ocenit přístup autora práce k vypracování rešeršní části práce. Tato část práce, byť zahrnuje relativně širokou oblast dané problematiky, je napsána přehledně a výstižně. Následuje přesné vyspecifikování cílů práce.

Další část práce je věnována popisu experimentálního uspořádání pro depozice polyethylenových nanostruktur a tenkých vrstev metodou vakuového termálního napařování a popisu použitých výchozích materiálů. Dále je popsáno experimentální uspořádání pro aktivaci povrchu polyethylenových nanostruktur a vrstev nízkoteplotním plazmatem generovaným za atmosférického tlaku bariérovým výbojem. Pozornost je věnována použitým diagnostickým metodám studia povrchových vlastností a chemického složení deponovaných struktur a vrstev (XPS, NMR, FTIR, AFM, měření smáčivosti povrchu, eļeipsometrická měření tloušťky vrstev). Odpovídající pozornost je věnována popisu metod stanovení rozdělení a vlastností deponovaných ostrůvkových struktur na povrchu substrátu a metodám imobilizace proteinů na zkoumaném povrchu.

Těžiště disertační práce je v další části, která je věnována popisu a vyhodnocení provedených experimentů, včetně zhodnocení výsledků a jejich diskuzi.

V první části této kapitoly se autor práce zabývá analýzami chemického složení (XPS, FTIR a NMR) deponovaných polyethylenových vrstev. V další části této kapitoly se autor věnuje metodice studia počátečního stádia růstu tenkých polymerních nanostruktur, ostrůvků, včetně přechodu do formy tenkých vrstev pomocí měření AFM. Růst polyethylenových ostrůvků je diskutován jak z hlediska kinetických rovnic, tak z hlediska teorie dynamického škálování.

V další části této kapitoly se autor věnuje studiu kovalentní imobilizace proteinů na nanostrukturované povrchy aktivované bariérovým výbojem. Následující část práce se zabývá studiem vlivu morfologie povrchu a navázání tropoelastinu na povrch na proces proliferace buněk na takto modifikovaných površích. Navazující část práce se zabývá vlivem velmi tenkých (jednotky nm) hydrokarbonových vrstev připravených metodou plazmové polymerace na zlepšení schopnosti imobilizace proteinů.

Poslední kapitola je věnována stručnému a přehlednému shrnutí dosažených výsledků a závěrů práce.

Seznam použité literatury ve vlastní disertační práci obsahuje 185 odkazů, které jsou v práci bohatě citovány. Jako přílohu disertační práce obsahuje dva dodatky se softwarem pro analýzu AFM obrazu. I když práce obsahuje vyspecifikovaný příspěvek autora k jednotlivým měřením, neobsahuje bohužel přehled publikační činnosti autora práce. Přílohou této práce je i přehled použitých zkratk.

Práce, která je napsána v anglické jazyce, je po stránce formální a grafické úpravy na velmi dobré úrovni, v práci se vyskytuje minimum překlepů či drobných nepřesností, osobně bych uvítal používání zkratk v poněkud menší míře. Na dané práci velmi oceňuji stanovené kritického rozměru ostrůvků deponovaného polyethylenu a objasnění nukleace v počáteční fázi jejich růstu, zvládnutí vlastní technologie depozice a modifikace připravovaných nanostruktur, včetně komplexní analýzy vlastností připravených nanostruktur a dosažení jednoho z hlavních cílů práce – prokázání pozitivního vlivu modifikace povrchu nanostruktur polyethylenu bariérovým výbojem pro účinnou kovalentní imobilizaci proteinů na povrchu.

Celkově lze tedy hodnotit předloženou disertační práci následovně:

- a) Hlavní výsledky, kterých autor v této práci dosáhl, jsou vesměs původní a rozšiřují doposud známé poznatky v oblasti studia modifikace povrchu polymerů a jejich vlivu na buněčnou adhezi a proliferaci.
- b) Autor provedl rozsáhlou řadu systematických měření, diskutoval a analyzoval zvolené metody a dosažené experimentální výsledky.
- c) K věcnému vědeckému obsahu předkládané práce nemám připomínek a v dané práci jsem nenašel podstatné a závažné nedostatky.
- d) Byly zvoleny adekvátní metody a disertační práce zcela splnila stanovené cíle.

Z hlediska doplnění prováděných experimentů a dosažených výsledků mám k práci následující dotazy:

- 1) Jaké byly časové odstupy mezi přípravou nanostruktur polyethylenu na pracovišti autora v Paze a následnou modifikací povrchu bariérovým výbojem na univerzitě v Bari? S jakým časovým odstupem byla u takto modifikovaných povrchů prováděna následná měření AFM a studium vlivu modifikace povrchu nanostruktur polyethylenu bariérovým výbojem pro účinnou kovalentní imobilizaci proteinů na povrchu? Mohou se případně tyto časové odstupy nějak projevit na dosažených výsledcích měření?
- 2) Na str. 60, na obr. 25 (A) autor uvádí vliv doby modifikace povrchu polyethylenových tenkých vrstev bariérovým výbojem na jejich tloušťku. Může autor objasnit proč v případě argonového plazmatu s výrazně těžšími ionty než v případě plazmatu helia má leptací rychlost zřetelně nižší hodnotu ($7.5 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ u plazmatu argonu oproti $12 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ u plazmatu helia)?

Autor předloženou disertační práci prokázal schopnost samostatné vědecké práce. Řada jeho publikací, evidovaných v databázi Web of Science, dokazuje i jeho schopnost referovat o své práci a prezentovat dosažené výsledky.

Domnívám se proto, že předložená práce pana Iurie Melnichuka „*Nanostrukturované plazmové polymery pro řízenou imobilizaci biomolekul*“ splňuje požadavky, které jsou na disertační práci kladeny, doporučuji přijmout disertační práci k obhajobě a po úspěšné obhajobě udělení titulu Ph.D.

V Ústí nad Labem, dne 6. 3. 2017


Doc. RNDr. Jaroslav Pavlík, CSc.
Katedra fyziky PřF UJEP v Ústí nad Labem