



“Spectroscopic Study of Singlet Oxygen in Cells and Model Systems”

Disertační práce RNDr. Marka Scholze se zabývá vědecky aktuální a experimentálně obtížnou tématikou detekce reaktivního singletního molekulárního kyslíku v buňkách a biologických vzorcích přímými a nepřímými spektroskopickými metodami. Vysoký vědecký a společenský význam předložené disertační práce spočívá v aplikovatelnosti výsledků v klinické praxi, specificky při fotodynamické terapii nádorových onemocnění.

Disertační práce založena na 9 publikacích doprovázených úvodem do problematiky generace a detekce singletního kyslíku a stručným vysvětlujícím textem k jednotlivým publikacím. Práce je napsána v anglickém jazyce na velmi dobré jazykové úrovni. Z příložených publikací jsou 4 práce typu J_{imp} publikované v recenzovaných zahraničních časopisech (IF 1.6-2.9), 3 příspěvky ve sborníku, 1 kapitola v knize a 1 neimpaktovaný příspěvek typu „ostatní“. U všech prací je Marek Scholz prvním autorem. Jak je v disertační práci explicitně uvedeno, 2 příspěvky z r. 2011 vznikly již před počátkem doktorského studia a dokreslují studovanou problematiku. Na příložené práce bylo nalezeno 8 citací (bez autocitací) a 9 autocitací (wos) svědčících o ohlasu vědecké komunity. Po formální stránce je práce sepsána čtivě, přehledně a má dobrou grafickou úpravu. Obsahuje vysoký počet relevantních citací.

Za význačné dosažené výsledky lze považovat:

- Vyvinutí přímé metody detekce velmi slabé IR fosforescence 1O_2 v oblasti 1275nm a její implementace pro spektrálně a prostorově rozlišená měření z mikroskopických objemů. Bylo provedeno unikátní přímé mapování fosforescence 1O_2 v živých buňkách.
- Vyvinutí alternativní časově rozlišené nepřímé detekce 1O_2 založené na singletním kyslíkem indukované zpožděné fluorescenci (SOFDF) fotosenzitizéru (PS). Díky vyšším kvantovým výtěžkům a detegovatelnosti ve viditelné oblasti spektra je tato metoda snadněji uplatnitelná v praxi. Metoda byla testována na roztocích PS i v buňkách.

K odbornému obsahu práce mám následující připomínky a otázky:

- Při SOFDF experimentech bylo nutno používat relativně velmi vysoké excitační intenzity. Jelikož problematice vybělování bylo v práci a v příložených publikacích věnováno poměrně málo prostoru, diskutujte vliv vybělování fotosenzitizéru na SOFDF odezvu. Ta na koncentraci PS závisí. Měly používané světelné expozice vliv na životaschopnost buněk bez PS?
- Pro zhášení fosforescence singletního kyslíku byl při kontrolních měřeních rutinně používán azid sodný. To je vysoce cytotoxická biocidní látka blokující dýchací řetězec v mitochondriích i v koncentracích nižších než 10-30 mM používaných autorem. Buňky po aplikaci NaN_3 odumírají. Vzhledem k absenci spotřeby kyslíku v mitochondriích může být jeho vnitrobuněčná

koncentrace vyšší než u kontrolních živých buněk. Jak tyto skutečnosti ovlivní získané výsledky?

- V kapitole 2.8, str. 51 navrhuje pokračovat ve vývoji SOFDF zobrazování v širokém zorném poli při použití hradlované kamery. Vzhledem k mnoha známým nevýhodám zobrazování v širokém zorném poli tato volba není zřejmá. Jaké přináší funkční výhody ve srovnání s implementací SOFDF metody na skenovací konfokální mikroskop s hradlovaným PMT a časově rozlišenou detekcí?
- Pub. I, obr. 4: Jak je možné, že většina fitovaných bodů leží nad modelovou křivkou? Jakou výpovědní hodnotu mají výsledné parametry?
- Popiska k obr. 3.3, str. 56 není uspokojivá. K čemu slouží neoznačený modul v dolní části obrázku?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce přináší množství původních vědeckých poznatků širšího mezinárodního významu. Autor nepochybně prokázal schopnost samostatné tvořivé vědecké činnosti. Jelikož předložená práce splňuje kritéria kladená na doktorskou disertační práci, doporučuji ji k obhajobě a jako podklad pro udělení titulu PhD.

V Praze 18. 1. 2016

prof. RNDr. Petr Heřman, CSc.
MFF UK