

## Posudek doktorské disertační práce Mgr. Jany Humpolíčkové “Application of Modern Fluorescence Techniques for Studies of Nano-organized Systems (Polymeric Micelles and Lipid Membranes)”

V předkládané doktorské disertační práci se Mgr. Jana Humpolíčková zabývá studiem vybraných nanostruktur, micelárních systémů tvořených blokovými kopolymery a biologickými membránami, pomocí moderních fluorescenčních metod zahrnujících fluorescenční korelační spektroskopii (Fluorescence Correlation Spectroscopy - FCS) a tzv. metodu relaxace rozpouštědla (Solvent Relaxation - SR).

Disertace je tvořena čtyřmi publikacemi autorky uveřejněnými ve vědeckých časopisech v letech 2003 - 2006 (*Collect. Czech. Chem. Commun.*, *Langmuir*, *J. Phys. Chem.* a v tisku *Biophys. J.*) s doprovodným textem v anglickém jazyce. Doprovodný text má 57 stran a obsahuje 102 citací. Mgr. Jana Humpolíčková je dále spoluautorem na šesti publikacích, jejichž seznam je v práci uveden.

Výsledky práce je možno stručně shrnout do následujících bodů:

1) Užitím metody SR bylo demonstrováno, že při vhodném výběru fluorescenční sondy je možno z časových závislostí Stokesova posuvu a spektrální pološířky fluorescence sondy soudit na změnu v uspořádanosti polymerních řetězců micel, pozorovat vliv tzv. "volné" vody, sledovat pronikání molekul vody mezi polymerní řetězce, hydrataci micel nebo též jejich agregaci. Pomocí FCS je potom možno určit hmotnost micel a jejich hydrodynamický poloměr.

2) Metoda dvojdimenzionální FCS byla použita na studium buněk oligodendrocytů produkujících myelin v centrálním nervovém systému. Při obarvení membrány buněk OLN-93 sondou DiD byla metodou Z-skenu zjištěna omezená difúze sondy (hindered diffusion), která indikuje přítomnost tzv. raftů v membráně buněk.

Po formální stránce je práce přehledně sepsána a má velmi dobrou grafickou úpravu.

Za hlavní přínos autorky považuji aplikaci metody FCS na studium micelárních systémů a živých buněk, ke které mám následující otázky:

1) K získání informace z FCS dat je třeba fitovat naměřenou autokorelační funkci  $G(\tau)$  modelovou funkcí pro daný experiment. Jaký software byl k tomuto účelu použit?

2) Při studiu micel pomocí FCS docházelo k vybělování (photobleaching) barviva ORB intersystémovým přechodem na tripletní hladinu. Nedošlo též k vybělování barviva DiD při FCS měřeních na buňkách?

3) Jaká byla reprodukovatelnost FCS experimentů na živých buňkách?

Závěrem bych chtěl konstatovat, že předložená práce přináší řadu původních vědeckých poznatků, které byly publikovány v renomovaných vědeckých časopisech. Práce podle mého názoru splňuje kritéria kladená na doktorskou disertační práci, a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Praze 5.září 2006



Doc. RNDr. Jaroslav Večeř, CSc.