

Zápis z obhajoby disertační práce

konané dne 13. 9. 2021

na ČVUT Fakultě biomedicínského inženýrství v Kladně od 14:00 hodin

disertant: **Ing. Jakub Zajíc**
na téma: **Development of Active Part of Optical Fiber Biosensor Using Genetically Modified Organisms**

Studijní obor: Biomedicínská a klinická technika

1. Vedením obhajoby disertační práce Ing. Jakuba Zajíce byl předsedou komise prof. Ing. Karlem Roubíkem, Ph.D. pověřen prof. MUDr. RNDr. Petr Maršálek, Ph.D.
2. Prof. Maršálek obhajobu zahájil a představil členy komise, školitele a oponenty disertační práce. Člen komise doc. Dr.-Ing. Jan Vrba, MSc. se z účasti na obhajobě řádně omluvil.
Ing. Jakub Ráfl, Ph.D., připraví v průběhu obhajoby stručné zhodnocení.
Kromě komise, oponentů a školitelky byli přítomní také hosté, viz prezenční listina hostů. Všichni byli seznámeni s průběhem obhajoby.
3. Školitelka doc. Ing. Marie Pospíšilová, CSc. představila disertanta Ing. Jakuba Zajíce, stručně shrnula jeho CV a svůj posudek na jeho disertační práci. Všem členům komise a oběma oponentům byl posudek zaslán předem elektronicky.
4. Ing. Jakub Zajíc prezentoval podstatný obsah své disertační práce, prezentace byla v anglickém jazyce, mluvené slovo česky.
5. Prof. Maršálek vyzval oponenta disertační práce dr. Ing. Kašíka, aby přednesl podstatný obsah svého posudku. Všem členům komise byl posudek zaslán předem elektronicky.
Následně stručně shrnul svůj posudek druhý oponent, prof. Ing. Michal Příbyl, Ph.D.. Všem členům komise byl posudek zaslán předem elektronicky.

Oponent *dr. Ing. Ivan Kašík* měl k práci následující připomínky:

- oponenta trochu zarazí teplotní nestabilita v průběhu prováděných experimentů, přičemž je obecně známo, že fluorescenční a luminiscenční vlastnosti jsou teplotně závislé. Lze to vysvětlit tím, že práce probíhaly v dlouhém časovém období, kdy v mimořádně teplých letních obdobích posledních let nebylo v praxi technicky možné dosáhnout lepší teplotní stability?
- oponent by ocenil, kdyby při obhajobě mohl disertant doplnit zhodnocení selektivity navrženého systému a kdyby mohl zhodnotit jeho parametry, přednosti a nevýhody ve srovnání s ostatními detekčními systémy uhlovodíků (refraktometrickými, absorpčními aj.)
- technický dotaz: na Fig.43 - OFE-0, první obrázek vlevo je v legendě uvedeno celkem 5 čar, ale v obrázku jsou zřetelné jen 4 čáry. Lze to vysvětlit splýváním první černé s X-osou grafu?

Oponent *prof. Ing. Michal Příbyl, Ph.D.* měl k práci následující připomínky a otázky:

- Page 20. Please explain, how the sensitivity of a cell to a substance is determined by its receptor-ligand binding constant in the case of toluene. Is there a special receptor for toluene?
- Please explain, why the shape of OFEs is approximated by a bi-exponential function in Tab. 4 and by a cubic function in Fig. 35. What is the R2 value of these approximations?
- Please explain in more detail, how did you calculate the free energy of interactions between cells and their carrier?
- Fig. 40, right. "Increasing T of OFE shapes from the most curved to nearly linear confirmed the assumption that the best shape of an OFE is a frustum cone." I do not see anything linear in this figure. Please, explain.
- Normally, an efficiency of anything is a quantity independent of amount or size of the system. OFE efficiency is directly proportional to the interfacial area.
- Page. 64. "An unfavorable (positive) total adhesion energy balance (Table 6-7),,". I do not see any balance or the Gibbs free energy in these tables.
- Page 66. How are the surface charge and zeta/potential related to the surface hydrophobicity?
- Figs. 43-46. Why the plotted dependencies are not discussed. What is

the reason for the bioluminescence fluctuations during the 18 hours periods? Do they correspond to the nutrient consumption or the fluctuations in the toluene concentrations?
- Why the position of the bioluminescence probe in the vessel was different in different measurements?
- I guess that Fig.2(A) and (B), respectively, refer to the opposite arrangements.

6. Následovala veřejná diskuse k předložené disertační práci:

Prof. MUDr. RNDr. Petr Maršálek, Ph.D.

- Jak byly geneticky upraveny bakterie (GMI) v senzoru?
- Čím byl způsoben průběh cirkadiánních hodnot fluorescence u měření?

Ing. Vlastimil Matějec, CSc.

- Průběh experimentu mezi dvěma dny
- Maximum B2 u ICP a USA
- Odezva z nárůstu signálu
- Tab. 4 rozptyly
- Tab. 5 jaká byla hodnota účinnosti?

Mgr. Romana Šířoká, Ph.D.

- Existují specifika pro měření skupiny aromatických sloučenin jako celku?

Ing. Zajíc odpověděl uspokojivě na všechny otázky oponentů i otázky v rámci plenární rozpravy.

Prof. Maršálek uvedl, že žádná další vyjádření či připomínky k disertační práci nedošly.

7. Po skončení diskuse byli disertant i hosté obhajoby požádáni, aby opustili zasedací místnost. Proběhla neveřejná diskuse.

8. Členům komise a oponentům, oprávněným hlasovat, byly rozdány hlasovací lístky a prof. Maršálek upozornil na způsob hlasování. Hlasovali všichni oprávnění přítomní členové komise a oponenti pro obhajobu disertační práce (7 hlasů), odevzdáno bylo 7 platných hlasů, všech 7 platných hlasů s výsledkem 7 hlasů pro udělení titulu „doktor“. O výsledku hlasování byl vystaven samostatný protokol.

Stručné zhodnocení průběhu obhajoby:

Na začátku obhajoby prezentoval Ing. Zajíc svoji disertační práci. Uvedl problematiku potřebnosti nových biosenzorů pro monitorování znečištění pitné vody organickými polutanty. Hlavním cílem práce byl návrh a ověření aktivního biosenzoru pro monitorování znečištění vody organickými polutanty, např. toluenem. Byl připraven optovláknový biosenzor s geneticky modifikovaným organismem *Pseudomonas putida* TVA8. Hlavní částí senzoru byl optovláknový element. Na čele vlákna byly imobilizovány bioreportérové organismy. Problémem při vývoji byl negativní náboj křemičitého povrchu, který komplikoval adhezi buněk a vyžadoval chemickou modifikaci.

Experimentálně byla ověřována opakovatelnost postupu přípravy senzoru a stabilita měřených signálů. Citlivost senzoru a dlouhodobost měření byla úspěšně laboratorně ověřena roztokem toluenu.

Prof. Maršálek požádal školitelku a oponenty o zhodnocení. Školitelka doc. Pospíšilová potvrdila, že doktorand splnil všechny podmínky kladené na doktorské studium. Vyzdvihla jeho aktivní spolupráci s kolegy v USA a úspěšnou zahraniční stáž na University of Tennessee. Oponent dr. Kašík doporučil práci k obhájení. Dotaz měl na teplotní nestabilitu v průběhu experimentů a na výhody BTEX (benzen, toluen, ethylbenzen a xylen) bioluminiscenčních sond v porovnání s jinými systémy, např. chemickými. Z diskuse vyplynulo, že systém nebyl termostatován už od počátku a drobné výkyvy teplot v laboratoři mohly mít vliv na měření. Oponent prof. Příbyl potvrdil aktuálnost tématu a korektnost laboratorních postupů. Kritické připomínky měl k formální kvalitě textu. Výsledky práce považuje za zajímavé a doporučuje práci k obhajobě. Dotaz měl zejména na citlivost použitých buněk na toluen. Ing. Zajíc v odpovědi citoval dva odborné články k tématu. Konkrétní receptory identifikovány nebyly, jde spíše o vstřebávání látky přes fosfolipidovou membránu. Další dotazy oponenta byly na použité aproximační funkce v práci, na výpočet energie u interakce mezi

buňkami a nosičem, na vztah mezi povrchovým napětím a povrchovou hydrofobicitou a další. Doktorand zodpověděl dotazy obou oponentů a členů komise a reagoval na jejich připomínky. Ve všeobecné diskusi se otázky týkaly např. detailů přípravy vzorku a genetické úpravy bakterií, rozdílů mezi výsledky v ČR a v USA, času odezvy, průběhu cirkadiánních hodnot fluorescence u měření, přesnosti odhadu koeficientů aproximační funkce, specifity buněk TVA8 a skupinu látek, kterou lze s jejich pomocí detekovat. Oceňovány byly dlouhotrvající experimenty.

Vědecké přínosy v souvislosti s oborem BMKT:

Práce přispívá k řešení problematiky biosenzorů pro monitorování znečištění životního prostředí organickými cytotoxickými polutanty. Technologie přípravy aktivní části bioluminiscenčního biosenzoru ve formě biofilmu bez použití speciálních matic, která byla prací ověřena, může být použita v případě vývoje řady dalších biosenzorů.

Samostatná teoretická a tvůrčí činnost uchazeče:

Doktorand prokázal teoretický přehled o řešeném tématu i dostatečnou experimentální a publikační činnost. Má dvě impaktované publikace k tématu práce, v obou je prvním autorem, tři příspěvky ve sbornících z mezinárodních konferencí a řadu dalších konferenčních příspěvků. Výsledky jsou původní.

Závěr:

Předložená práce řeší aktuální téma a má přínos pro rozvoj biomedicínského inženýrství v oblasti biosenzorů s ohledem na monitorování látek nebezpečných lidskému zdraví. Doktorand prokázal přehled v řešené oblasti, prokázal schopnost samostatně řešit vědecké problémy a obhájit výsledky své práce, a tedy splnil požadavky na disertační práce v oboru Biomedicínská a klinická technika na FBMI ČVUT v Praze.

Obhajoba skončila v 15:15 hodin.

prof. MUDr. RNDr. Petr Maršálek, Ph.D., v.z.
zastupující předsedu komise

Za správnost: Kamila Veselá