

Prof. dr hab. inż. Piotr Jasiński
Wydział Elektroniki, Telekomunikacji
i Informatyki
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Pokrzywnickiej
pt. „Cytometr odkształceniowy typu MEMS do badania deformowalności oocytów
zwierzęcych”

Pismem RDN AEE/99/2021 Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika Politechniki Wrocławskiej z dnia 2 lipca 2021 r. otrzymałem do recenzji rozprawę doktorską mgr inż. Aleksandry Pokrzywnickiej pt. „Cytometr odkształceniowy typu MEMS do badania deformowalności oocytów zwierzęcych”. Promotorem rozprawy jest dr hab. inż. Rafał Walczak, prof. PWr, zaś promotorem pomocniczym dr inż. Wojciech Kubicki.

Rozprawa jest napisana po polsku i składa się z 6 rozdziałów. W rozdziale 1 i 2 znajdują się odpowiednio wstęp i wprowadzenie. Zasadnicza część pracy znajduje się w rozdziale 3, w którym przedstawiono projekt, opis wykonania i testy elementów składowych mikrocytometru. W rozdziale 4 opisano wyniki badań oocytów z wykorzystaniem zaprojektowanego przyrządu. Rozdział 5 i 6 to podsumowanie pracy oraz spis literatury. Ponadto, w rozprawie znajduje się spis akronimów oraz spis treści.

Problem naukowy rozprawy

W rozdziale drugim Autorka rozprawy na podstawie krytycznej analizy literatury przedstawiła cel pracy. Autorka pisze (strona 43), iż „celem badań jest opracowanie oryginalnej i autorskiej konstrukcji, technologii i metodologii badawczej mikrocytometru typu MEMS do badania właściwości mechanicznych ściskanych oocytów”. Ponadto, na tej samej stronie wypunktowuje dosyć szczegółowy zakres prac badawczych. Uważam, że cel

rozprawy jest jednoznacznie postawiony. Autorka rozprawy nie podjęła się przedstawienia hipotezy rozprawy, co jest obecnie częstą praktyką kandydatów do stopnia doktora.

Podjęcie Autora do osiągnięcia celów pracy

Autorkę rozprawy należy pochwalić za dogłębną i krytyczną analizę stanu literatury związanej z tematyką rozprawy i wynikające z tej analizy podejście do opracowania oryginalnej konstrukcji mikrocytometru odkształceniowego. Autorka rozprawy zaproponowała i wykonała 3 konstrukcje mikrocytometru, każda kolejna konstrukcja była bardziej zaawansowana. Pierwsza konstrukcja składała się z uformowanej struktury szklanej połączonej z krzemową membraną do pułapkowania i odkształcania oocytów przez przemieszczenie membrany za pomocą nadciśnienia ze źródła zewnętrznego. Układ umożliwiał „śledzenie” rozmiaru oocytu przed odkształceniem oraz podczas odkształcenia za pomocą mikroskopu optycznego pracującego w trybie mikroskopii odbiciowej zapewniającego wykonanie zdjęć dla dalszej analizy rozmiarów wybranych parametrów oocytu (algorytmy analizy obrazu nie zostały wykonane przez Autorkę i nie wchodzi w zakres oceny rozprawy doktorskiej). Membrana krzemowa została wyposażona w odpowiednio zaprojektowane wzmocnienie w celu zachowania płaskiego profilu podczas ugięcia. Struktura szklana była wyposażona w mikroprowadnice dla prawidłowego przemieszczania się oocytów. Druga konstrukcja rozszerzona była względem pierwszej o układ światłowodowy do pomiarów ugięcia się membrany. Trzecia konstrukcja zawierała nadto układ mikrosfer do sprzęgania światła laserowego do badań w trybie mikroskopii fluorescencyjnej. Należy podkreślić, że wszystkie wykonane struktury zostały metrologicznie scharakteryzowane, zaś działanie niektórych elementów struktur zostało przetestowane w programach symulacyjnych. Pierwsze dwie konfiguracje mikrocytometrów zostały użyte w pomiarach żywych oraz utrwalonych oocytów świń. Uważam, że Autorka adekwatnie podeszła do osiągnięcia celów pracy.

Aktualność tematyki rozprawy

Rozprawa dotyczy budowy i charakteryzacji bardzo popularnych platform typu lab-on-a-chip stosowanych do analizy właściwości chemicznych oraz pokrewnych. Podstawową zaletą takich układów jest ich zminiaturyzowana forma pozwalająca na ograniczenie zużycia odczynników, możliwość wykonania całego procesu pomiarowego w obrębie jednego układu oraz ich cena w wypadku seryjnej produkcji. Uważam, że tematyka rozprawy jest aktualna i

doskonale wpisuje się w rozwój przyrządów tego typu. Zagadnienia związane z projektowaniem i badaniem przyrządów lab-on-a-chip wchodzą w zakres tematyczny dyscypliny automatyka, elektronika i elektrotechnika dziedziny nauk inżyniersko-technicznych dla klasyfikacji obowiązującej od 1 października 2018.

Rozprawa na tle współczesnych doniesień literatury

W rozprawie Autorka cytuje prawie 150 pozycji literaturowych. Cytowania obejmują najnowsze doniesienia. Wspomniany wcześniej opis stanu wiedzy związanej z pomiarami mikrocytometrycznymi dotyczy głównie ostatnich 10 lat. Uważam, że cytowania są właściwie dobrane i świadczą o dobrej wiedzy Autorki z zakresu dyscypliny naukowej dotyczącej rozprawy.

Wady, słabe strony rozprawy oraz inne uwagi

Rozprawa napisana jest starannie i bez błędów językowych i interpunkcyjnych. Praca jest zaopatrzona w szereg zdjęć i schematów, co zapewnia pracy bardzo przejrzysty charakter. Badania są szczegółowo opisane. W rozprawie nie zauważyłem błędów merytorycznych. Czytając rozprawę doktorską nasunęło mi się kilka uwag:

- Generalnie każdy element struktury mikrocytometru został metrologicznie scharakteryzowany. Jednak pewien niedosyt budzi brak walidacji wartości parametrów oocytów: pola powierzchni komórki, średnic komórek oraz grubości osłonki przejrzystej. Zagadnienie to jest niebanalne, gdyż należałoby wskazać obiekty, które mogą służyć za wzorzec dla takich pomiarów. Czy Autorka rozprawy brała pod uwagę użycie wzorców, które nadawałyby się do tego celu?
- W rozdziale 4 przedstawiono badania z wykorzystaniem mikrocytometrów w konfiguracji 1 i 2 na oocytach żywych i utrwalonych. Oocyty podzielono na 4 kategorie, z czego pomiarom poddano 3 z nich. Prace te były przeprowadzone we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym w Poznaniu. Czytając rozdział 4 trudno wysunąć jakieś bardziej ogólne wnioski. Odnosi się wrażenie, że metoda pomiaru odkształceń oocytów jednoznacznie nie pozwala na wskazanie klasy-kategorii oocytu na podstawie przeprowadzonych badań. Czy można prosić o komentarz w tej kwestii?
- Parametry średnic oocytu W i H zależą od położenia oocytu względem kamery. Czy ten fakt był jakoś uwzględniany w analizie wyników, np. W jest zawsze mniejsze od H .

- Pomiarów parametrów oocytów na odkształcenie mechaniczne są wykonywane w trybie statycznym. Z metrologicznego punktu widzenia, pomiary dynamiczne często pozwalają na otrzymanie znacznie więcej informacji o badanym obiekcie. Czy w ocenie Autorki rozprawy pomiary dynamiczne mogą wnieść więcej informacji o jakości oocytu i jakie ograniczenia technologiczne obecnego systemu należy pokonać, aby takie pomiary można było prowadzić?

Zadane pytania nie umniejszają jakości naukowej recenzowanej pracy i mają charakter polemiczno-uściślający.

Oryginalny dorobek Autora

Do oryginalnego dorobku Autorki zaliczam:

- opracowanie i przebadanie trzech konstrukcji mikrocytometrów, które umożliwiają ściśnięcie oocytu o procentową wartość swojej wielkości z dokładnością do pojedynczego mikrometra.

Autorka rozprawy posiada dorobek publikacyjny związany z przedstawioną rozprawą doktorską spełniając wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora. Zgodnie z informacjami przedstawionymi w rozprawie doktorskiej, Autorka jest współautorem wiodącym artykułu w czasopiśmie JCR Journal of Micromechanics and Microengineering (IF=1,881), współautorem dwóch artykułów typu Proceedings (oba związane z prezentacjami na konferencji MicroTAS) oraz współautorem artykułu w czasopiśmie Elektronika.

Podsumowanie

Uważam, że rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim i wnoszę o jej dopuszczenie do publicznej obrony.



Gdańsk, 15.09.2021 r.

Piotr Jasiński