



Zakład Chemii Fizycznej Układów
Biologicznych

Kasprzaka 44/52, PL-01 224 Warsaw, Poland

Prof. dr hab. Maciej Wojtkowski
Physical Optics and Biophotonics Group
Email: mwojtkowski@ichf.edu.pl

Tel. +(48 22) 343 3283
+(48 22) 343 20 00
Fax +(48 22) 343 33 33
+(48 22) 632 52 76
E-mail: ichf@ichf.edu.pl

November 19, 2017

Opinia o pracy doktorskiej pana magistra inżyniera Arkadiusza Kusia

Opiniowana praca doktorska pana magistra inżyniera Arkadiusza Kusia zatytułowana „Aktywny tomograf holograficzny do pomiaru mikroobiektów biologicznych” została wykonana pod promotorską opieką pani Profesor Małgorzaty Kujawińskiej na Wydziale Mechatroniki Politechniki Warszawskiej. Rozprawa doktorska składa się z dziesięciu spójnych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w pismach o zasięgu międzynarodowym. Osiem prac ukazało się w czasopiśmie recenzowanych o tytułach bardzo dobrze rozpoznawalnych globalnie przez ekspertów w dziedzinie, dwie prace opublikowane zostały w zeszytach konferencyjnych Proceedings SPIE, które mają status pełnoprawnych publikacji z częściowym recenzowaniem artykułów naukowych. W jednej z przedstawionych prac (opublikowanej w recenzowanym czasopiśmie) pan Kuś jest jedynym autorem w przypadku pozostałych dziewięciu jest współautorem, przy czym w czterech z nich jest pierwszym autorem. Prace oryginalne opatrzone są „przewodnikiem” oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Przedstawione prace powstały w okresie ostatnich czterech lat i mają łączną liczbę cytowań równą 74. W odrębnej tabeli przedstawiono szczegółowo wkład autora do wieloautorskich publikacji poprzez określenie realizowanych przez niego zadań.

Rozprawa doktorska Pana magistra inżyniera Arkadiusza Kusia ma charakter eksperymentalny i konstrukcyjny z głównym skupieniem uwagi na rozwiązywaniu problemów technicznych. Jest to przykład pracy z zakresu zastosowań optyki. W pracy tej autor umiejętnie łączy aspekt rozszerzenia wiedzy z dziedziny optyki fizycznej z pracami technicznymi, konstrukcyjnymi oraz rozwojem algorytmiki.

Przedmiot rozprawy doktorskiej związany jest z rozwojem technik trójwymiarowej mikroskopii holograficznej (tak zwanego tomografu holograficznego). Jedną z kluczowych zalet układów holograficznych wykorzystywanych do pomiarów żywych komórek lub tkanek jest możliwość tworzenia ilościowych map i reprezentacji trójwymiarowego rozkładu współczynnika załamania. Cecha ta jest źródłem unikatowości metod holograficznych. Jednocześnie stosunkowo duża prostota układów optycznych jak i zastosowanie światła spójnego wykorzystywanych w tomografii holograficznej umożliwia pełną kontrolę błędów odwzorowania optycznego wprowadzanych przez sam instrument. Dzięki temu możliwe jest minimalizowanie błędów aparaturowych i otrzymywanie prawdziwie obiektywnych ilościowych danych o strukturze badanego obiektu. W takim przypadku krytyczne staje odpowiednie zaprojektowanie i optymalizacja samych urządzeń a także rozwój algorytmiki umożliwiającej wiarygodną rekonstrukcję rozkładu współczynnika załamania i eliminację błędów systematycznych (osiągniętą między innymi poprzez wcześniejszą, dokładną kalibrację

urządzeń pomiarowych). Autor przedłożonej pracy doktorskiej skupia swoje wysiłki szczególnie na tych dwóch aspektach.

Pan magister inżynier Kuś w swojej pracy wykorzystuje dwie podstawowe konfiguracje holograficznych urządzeń tomograficznych – układ z obrotem próbki zbierający dane w pełnym kącie projekcji oraz układ ze zmianą kierunku oświetlenia i statyczną próbką pozwalający na analizę danych z niepełnego kąta projekcji.

Analizę źródeł przedstawioną w publikacjach dokonano baz zarzutu. Autor tak przewodniku jak i w załączanych prezentacjach wskazuje aktualny stan wiedzy na bazie literatury światowej. Tematyka tej rozprawy doktorskiej jest cały czas aktualna – w tematyce tej dokonuje się nieustanny postęp skutkujący w pojawieniu się na rynku nowych urządzeń wykorzystujących technikę tomografii holograficznej (przykładem tutaj może być mikroskop *Nanolife* – urządzenie stworzone przez absolwentów Politechniki w Lozannie).

W każdej z przedstawionych prac autor bardzo dobrze zdefiniował problemy badawcze jakie rozwiązywał. Niestety w samym przewodniku nie wskazał bezpośrednio na jednolitą hipotezę badawczą. Jednak na podstawie tekstów przewodnika i publikacji łatwo się domyśleć celu prowadzonych badań. W szczególności z wytluszczonego fragmentu tekstu we wstępie czytelnik może wywnioskować, że autor chciałby opisać zakres fundamentalnych ograniczeń fizycznych metody tomografii holograficznej, które wpływają na dokładność wyznaczania obiektywnych i ilościowych parametrów opisujących własności badanych obiektów. Wszystko te działania prowadzone są w odniesieniu do istniejącego stanu techniki. W każdej z prac pan Kuś rozwiązywał nieco inny aspekt głównego zagadnienia badawczego.

W pracy A1 zajmował się on rozwiązywaniem problemu precyzyjnego obrotu mikroobiekту – w tym przypadku komórki, tak aby potencjalnie można było je obserwować przyżyciowo. Wraz ze współautorami zaproponował wykorzystanie układu z obrotową kapilarą. Ze względu na zachowaną cylindryczną symetrię kapilary oraz możliwość przeżycia w niej komórek układ taki wydaje się być bardzo dobrą opcją. Jednak w praktyce okazuje się, że wprowadza on silne ograniczenie związane z naturalnym trendem komórek do adhezji do wewnętrznej powierzchni kapilary. Interesującym i nie dyskutowanym w pracy rozwiązaniem tego problemu byłoby znaczne przyspieszenie działania detektora (szybka kamera) i wprowadzenie kontrolowanego przepływu w kapilarze zsynchronizowanego z obrotem kapilary. Innym interesującym sposobem rozwiązania tego problemu była modyfikacja wewnętrznej powierzchni kapilary polimerem PVA, która umożliwiała zredukowanie adhezji komórek i możliwość ich obserwacji. W celu polepszenia stabilności fazowej w układzie interferometrycznym autor zaproponował optymalizację układu wynikającą z konkretnej konfiguracji pomiarowej wprowadzając interferometr wspólnej drogi. Wyniki zaproponowanych prac były na tyle interesujące, że mogły być kontynuowane przez współpracowników w kolejnych przedstawionych pracach A2 oraz A3. W tych publikacjach opisano wnikliwie dodatkowe efekty wpływające na dokładność rekonstrukcji rozkładu współczynnika załamania obrazowanych mikroobektów biologicznych w konfiguracji z obrotową kapilarą. Uwzględniono tutaj szczegółowo aberracje optyczne wprowadzane przez krzywiznę powierzchni kapilary, oraz warstwę oleju immersyjnego. Uwzględniono również błędy systematyczne związane z obrotem kapilary i pozaosiowym położeniem badanego obiektu.

W kolejnych pracach autor podjął się tematu badania ograniczeń fizycznych układów tomografii holograficznej z ograniczonym zakresem kątowym. Skonstruował on pięć urządzeń laboratoryjnych (prace A4, A5, A6, A9, A10), które w sposób ewolucyjny eliminowały kolejne ograniczenia metody. Na uwagę zasługuje szczególnie autorski układ (opisany w pracy A9) pracujący w konfiguracji wspólnego skanowania wiązki obiektowej i referencyjnej. Układ ten gwarantuje zachowanie stałej częstotliwości nośnej sygnałów interferometrycznych umożliwiających rekonstrukcję zespolonej reprezentacji sygnału przy jednokrotnym odczycie z kamery. Jednocześnie ta konfiguracja umożliwia dużą elastyczność w wyborze protokołu skanowania wiązką obiektową i tym samym umożliwia badanie optymalnego wypełnienia przestrzeni odwrotnej składowymi częstościami przestrzennymi. Takie analizy zostały przeprowadzone przez autora i ich wyniki zostały opisane w pracy A9.

Kolejnym wkładem autorskim pana Arkadiusza Kusia, opisanym głównie w pracy A10, było wprowadzenie dynamicznego ogniskowania do poprzednio rozwiniętego układu ze wspólnym skanowaniem. Dzięki temu, że częstotliwość nośna prążków jest stała możliwa jest redukcja błędów rekonstrukcji fazy przy obrazowaniu grubszych próbek poprzez uwzględnienie wpływu kontrolowanego rozogniskowania na zmianę frontu falowego przy rozwiązywaniu odwrotnego problemu optycznego (przybliżenie Borna lub Rytova). Dodatkowym walorem tych prac jest zastosowanie technologicznie zaawansowanych i szybkich układów soczewek zmiennoogniskowych, które są dostępne od niespełna kilku lat.

Kolejną próbą poprawy jakości odwzorowania przestrzennego rozkładu współczynnika załamania było wprowadzenie elementu aktywnego w postaci przestrzennego modulatora fazy (cieklotwórczego układu SLM) do jednoczesnego skanowania wiązką i potencjalnej korekcji zmian fazowych wprowadzanych przez próbkę lub optykę urządzenia pomiarowego. Dzięki pełniejszej kontroli nad skanowaniem układ ten wykorzystany został do prac związanych z rozwojem nowych algorytmów dla metody ze skończonym kątem projekcji, wyniki których opublikowane zostały przez współpracowników aplikanta w pracy A7.

Na szczególną uwagę i uznanie zasługuje fakt opublikowania jednoautorskiej pracy A8 w dobrym czasopiśmie o powszechnym zasięgu i wysokiej renomie w środowisku zajmującym się zastosowaniami optyki – praca jest przyjęta do druku w czasopiśmie Applied Optics. Wskazuje to na dojrzałość samego doktoranta i przygotowanie do tworzenia własnych monografii. Praca ta dotyczy analizy numerycznej błędów wprowadzanych przez układy pomiarowe i wskazanie na te, które można korygować za pomocą rozwiązań sprzętowych oraz błędy systematyczne, które mogą być minimalizowane za pomocą metod numerycznych w procesie analizy danych pomiarowych. Z danych zasymulowanych wynika jasno w jaki sposób optymalizować układy pomiarowe i jak dużą rolę mogą mieć aktywne techniki kompensacji aberracji układu.

We wszystkich przedstawionych pracach przyjęta metodyka badań nie budzi zastrzeżeń a założenia w pełni korespondują do właściwego kierunku rozwoju metody. Jakość publikacji jest wysoka i porównywalna do prac publikowanych przez grupy badawcze z najlepszych ośrodków badawczych w tej dziedzinie.

Zaproponowana tematyka i sposób rozwiązania problemu celuje w samo sedno rozwoju metod tomografii holograficznej i ich zastosowań do obrazowania przyżyciowego komórek i układów tkankowych. Prace te są więc w pierwszym szeregu badań w tej dziedzinie. W przedstawionych pracach zaproponowano szereg oryginalnych rozwiązań realizacji układów pomiarowych, z których na szczególną uwagę zasługuje metoda wspólnego skanowania umożliwiająca jednocześnie pomiar danych niezbędnych do obliczenia zespolonej amplitudy sygnału z jednego obrazu zbieranego przez kamerę i zachowanie stałej częstości nośnej prążków interferometrycznych. Metoda ta daje możliwości dalszego rozwoju i ewentualnie również praktycznego urządzenia do powszechnego użycia w biotechnologii czy biologii.

Zaprezentowane publikacje napisane są przejrzysto, językiem angielskim na bardzo dobrym poziomie. Prace te czyta się bez trudności. Nie mam zastrzeżeń do strony edytorskiej i zawartości merytorycznej wszystkich publikacji. Autor wykazał umiejętność przedstawiania celu pracy i uzyskanych wyników. Przewodnik jest również napisany czytelnie i syntetycznie, co wskazuje na naturalne umiejętności retoryki, wskazując na osiągnięcie dojrzałości w warsztacie naukowym.

Podstawową słabością przedstawionej rozprawy jest brak jednolitej hipotezy badawczej obejmującej wszystkie omawiane zagadnienia. Choć, tak jak było to wspomniane powyżej, z tekstu można domyślać się co kierowało adeptem w podejmowaniu konkretnych problemów badawczych to wskazane byłoby przedstawienie spójnej hipotezy podczas obrony doktoratu.

Autor argumentuje, że słabą stroną układów z obrotem próbki jest stosunkowo długi czas niezbędny do zebrania danych pomiarowych i jako rozwiązanie podaje wykorzystanie układu z ograniczonym zakresem kątowym. Jest to oczywiście pewna alternatywa, jednak nie w pełni tożsama z układem zupełnie tomograficznym. Ciekawe byłoby dodatkowe rozważenie przyspieszenia rejestracji w układzie z obrotem próbki i wprowadzenie nowych rozwiązań w tym kierunku. Na przykład można

rozważać synchronizację szybkiej kamery CMOS (obecnie dostępne są kamery oferujące szybkość większą niż 1000 ramek na sekundę) ze stosunkowo wolnym przepływem komórek w kapilarze i jednoczesnym obrotem tejsze kapilary.

W przewodniku zabrakło również dyskusji na temat stosowalności aktywnych technik kompensacji aberracji/skanowania w kontekście ograniczonego zakresu modulacji frontu falowego przez urządzenia typu SLM.

Innym ciekawym aspektem godnym poruszenia byłoby wykorzystanie algorytmów do aktywnych technik kompensacji aberracji w przypadku zastosowania soczewki z przestrajalnym ogniskiem. Soczewki takie wprowadzają dodatkowe modulacje fazy, które również powinny być korygowane w procesie obróbki danych.

Szczegółowe komentarze dotyczące przewodnika:

- Tekst pod wzorem 1.6 nie wyjaśnia wprost, że chodzi o problem uwikłania pola u_s występującego po obu stronach równania całkowego. Ponadto przybliżenie Rytova/Borna nie czyni zależności u_s od $o(r)$ liniową. To szereg innych przybliżeń (jak choćby przybliżenie pola dalekiego i założenie oświetlenia falą płaską) sprowadzają zagadnienie do przedstawienia u_s jako kombinacji liniowej w bazie Fourierowskiej.
- Interpretacja przedstawiona na rysunku 1.1 jest pewnym uproszczeniem, gdyż sfera Ewalda tworzona jest w przestrzeni różnicy wektorów falowych dla fali oświetlającej i rozproszonej.

Ponadto zasadne wydaje się zastąpienie rozdziału 1.1 przedśłowiem. Czytelnik oczekuje, że wstęp dotyczyć będzie bezpośrednio przedmiotu rozprawy. Dodatkowo w pracy pojawiają się drobne błędy stylistyczne.

Wszystkie wymienione powyżej słabości nie wpływają zasadniczo na całościową ocenę złożonej pracy.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pana mgr inż. Arkadiusza Kusia w pełni spełnia warunki stawiane pracom doktorskim przez ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych i stawiam wniosek o dopuszczenie jej do publicznej obrony. Dodatkowo wnioskuję o wyróżnienie tej pracy za wysoki poziom prowadzonych eksperymentów.

Z poważaniem,

