



V Praze, 24. srpna 2020

**Věc:** Posudek oponenta disertační práce Kseniye Popovich

Disertační práce Ing. Kseniye Popovich „Biofunctionalization of luminescent nanocomposites“ se zabývá syntézou a charakterizací multimodálních nanokompozitních materiálů na bázi scintilačních nanokrystalů.

Předložená práce je napsána v anglickém jazyce. Začíná teoretickým úvodem popisujícím vlastnosti a možnosti použití luminiscenčních nanokompozitních materiálů především ve rentgenovém záření buzené fotodynamické terapii (PDTX) a katodoluminiscenčním zobrazování biologických objektů. Konkrétně se úvod věnuje popisu scintilačního jádra nanočástice na bázi luteciohlinitého granátu (LuAG) nebo yttrium- a lutecium-silikátů (YSO/LSO) dopovaných trojmocnými kationty kovů vzácných zemin a možnostem modifikace jejich povrchu pro zvýšení stability, biokompatibility a reaktivity povrchu pro další konjugaci biomolekul. Pozornost je věnována především sol-gel a dense-liquid metodám pokrytí jádra částice vrstvou  $\text{SiO}_2$ . Dále jsou popisovány možnosti biofunkcionalizace pomocí fotosensibilizátorů pro fotodynamickou terapii, konkrétně protoporfyrinu IX, nebo protilátek pro specifickou interakci s antigeny. Zmíněno je zvyšování biokompatibility pomocí funkcionalizace povrchu polyethylenglykolem (PEG).

V experimentální části jsou popsána jednotlivá zařízení použitá pro přípravu a charakterizaci struktury a luminiscenčních vlastností syntetizovaných nanočástic. Dále je zde popsán způsob přípravy scintilačních jader nanočástic, různé způsoby jejich povrchové modifikace vrstvou  $\text{SiO}_2$  a konečně konjugace s biologicky aktivními molekulami. Konečně je popsán i protokol detekce produkce singletního kyslíku pomocí chemické sondy APF a příprava buněčných vzorků pro fluorescenční mikroskopii.

Druhou částí práce je popis vlastních výsledků a jejich diskuse. Zde je věnována pozornost nejprve strukturním a luminiscenčním vlastnostem připravených  $\text{YSO:Ce}^{3+}$  a  $\text{LSO:Ce}^{3+}$  prášků. Mikrometrové rozměry získaných částic ale nebyly vhodné pro biologické aplikace. V další části tedy byla věnována pozornost  $\text{LuAG:Pr}^{3+}$  nanočásticím. Nejprve jsou srovnány tři způsoby pokrytí jádra nanočástic vrstvou  $\text{SiO}_2$  na základě měření specifického povrchu, TEM a radioluminiscenčních měření. Třetí část popisuje tři kroky přípravy nanokompozitních částic: syntéza  $\text{LuAG:Pr}^{3+}$  jádra, pokrytí amorfni vrstvou  $\text{SiO}_2$  sol-gelovou technikou a navázání molekul fotosensibilizátoru

protoporfyrinu IX. Vedle strukturních technik je zde popsáno i zkoumání luminiscenčních vlastností, přenosu excitační energie z jádra na protoporfyrin IX a detekci produkce singletního kyslíku při ozáření nanočástic rentgenovým zářením pomocí chemické sondy. Stejně nanočástice, jen místo protoporfyrinu IX konjugované s ligandem anti-Fas, který je protilátkou Fas ligandu na povrchu T-lymfocytů. Byly zkoumány jejich strukturní a luminiscenční vlastnosti a byly využity ke katodoluminiscenčnímu zobrazování ve skenovacím elektronovém mikroskopu. Nakonec je zmíněna modifikace povrchu LuAG:Ce<sup>3+</sup> částic s mezoporézní SiO<sub>2</sub> slupkou pomocí PEG.

K předkládané práci mám následující dotazy:

1. obrázek 23: Jak interagují hydrofobní tetrapyrrolové kruhy protoporfyrinu IX navázané na nanočástici ve vodném prostředí? Dá se čekat, že budou agregovat s vedlejšími nanočásticemi?
2. strana 63 a obrázek 28: Intenzita radioluminiscence vykazuje u frakce malých částic relativní pokles v modré části pásu. Je to způsobeno větším rozptylem světla nebo to má nějaký jiný důvod?
3. obrázky 30 a 31: Jaká je interpretace přítomnosti dvou exponenciálních komponentů v dohasínání luminiscence? Byl zkoušen i model natažené exponenciály odpovídající normální distribuci dob života jednotlivých částic? Proč je u proložených křivek v obrázcích 30 a 31 tak velký rozdíl v úrovni pozadí (15 oproti 9), když interval 0–20 ns ukazuje, že pozadí obou křivek je zhruba stejné?
4. strana 64: Jaká je nejistota určení amplitud a dob života u křivek dohasínání luminiscence vzhledem k jejich korelaci? Je rozdíl u podílu první složky 17 % oproti 23 % opravdu statisticky významný?
5. obrázek 34: Vzhledem k podstatnému rozdílu v pokrytí SiO<sub>2</sub> připravenému sol-gel a dense-liquid technikou v obrázcích z TEM je překvapující téměř stejný specifický povrch dle tabulky 4. Prosím okomentujte.
6. strana 69 a obrázek 35: Pokud je při dvoustupňovém pokrytí částice SiO<sub>2</sub> prvním krokem sol-gel technika (dle sekce 3.5.3), neměla by být tvorba povrchových poruch stejná jako u jednostupňové sol-gel techniky?
7. strana 72: Kolik vychází průměrně molekul protoporfyrinu IX na jednu nanočástici?
8. strana 74 a obrázek 40: Jaká je absorbance protoporfyrinu IX na 250 nm? Můžete vyloučit přímou excitaci molekul protoporfyrinu IX touto vlnovou délkou?
9. obrázek 40: Proč jsou emisní pásy protoporfyrinu IX výrazně užší při excitaci 250 nm? Čemu přísluší emisní pás na cca 560 nm ve spektru excitovaném na 250 nm?
10. obrázek 43: Proč při delší expozici roste i pás protoporfyrinu IX na 635 nm?
11. obrázek 44: Proč tak dramaticky narostl pás protoporfyrinu IX na 635 nm po přidání NaN<sub>3</sub>?
12. obrázek 47B: Co způsobuje tak velký rozdíl u modré křivky?
13. strana 83 a 84: Byl proveden kontrolní pokus na kvasinkách, zda stejné promytí buněk jako u T-lymfocytů odstraní nespecificky navázané nanočástice?

Předkládaná disertační práce Ing. Kseniye Popovich má velmi dobrou odbornou úroveň, věnuje se velmi aktuální vědecké problematice multimodálních nanočástic. Práce přináší veliké množství původních výsledků, které dle přiloženého seznamu publikací autorky byly zveřejněny v šesti odborných člancích v mezinárodních impaktovaných časopisech. Podle tohoto seznamu je autorka první autorkou čtyř z nich. Vedle toho je autorka spoluautorkou aplikovaných výsledků, čtyř funkčních vzorků a jednoho užitého vzoru. Práci proto hodnotím jako velmi přínosnou. Metody práce byly adekvátní a cíl práce byl splněn. Proto předloženou práci doporučuji k obhajobě.

doc. RNDr. Roman Dědic, Ph.D.