

**ČESKÉ VYSOKÉ  
UČENÍ TECHNICKÉ  
V PRAZE**

**FAKULTA  
STROJNÍ**



**TEZE  
DISERTAČNÍ  
PRÁCE**



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE  
FAKULTA STROJNÍ  
ÚSTAV MECHANIKY, BIOMECHANIKY A MECHATRONIKY

TEZE DISERTAČNÍ PRÁCE

# NANOMECHANIKA BIOMEMBRÁNOVÝCH INKLUZÍ

Jitka Řezníčková

Doktorský studijní program: Strojní inženýrství

Studijní obor: Biomechanika

Školitel: prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.

Teze disertace k získání akademického titulu "doktor", ve zkratce "Ph.D."

# Název anglicky: NANOMECHANICS OF BIOMEMBRANE INCLUSIONS

Disertační práce byla vypracována v prezenční a následně v kombinované formě doktorského studia na Ústavu mechaniky, biomechaniky a mechatroniky Fakulty strojní ČVUT v Praze.

Disertant: Jitka Řezníčková

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky  
Fakulta strojní ČVUT v Praze  
Technická 4, 160 00 Praha 6

Školitel: prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky  
Fakulta strojní ČVUT v Praze  
Technická 4, 160 00 Praha 6

Oponenti:

Teze byly rozeslány dne: .....

Obhajoba disertace se koná dne ..... v ..... hod.

v zasedací místnosti č. 17 (v přízemí) Fakulty strojní ČVUT v Praze,  
Technická 4, Praha 6

před komisí pro obhajobu disertační práce ve studijním oboru Biomechanika.

S disertací je možno se seznámit na oddělení vědy a výzkumu Fakulty strojní  
ČVUT v Praze, Technická 4, Praha 6.

prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.

předseda oborové rady oboru Biomechanika

Fakulta strojní ČVUT v Praze

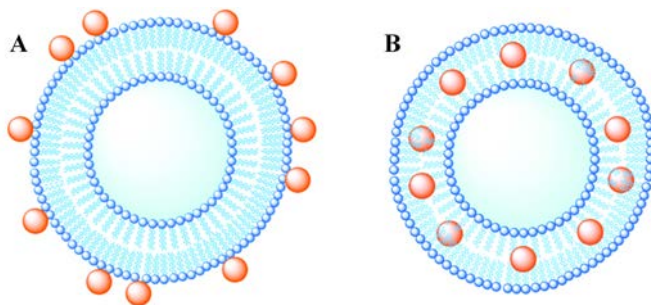
## **OBSAH**

1. Stav problematiky interakce biologické membrány s nanočásticí.....	1
2. Cíle disertační práce.....	3
3. Metody zpracování.....	5
4. Výsledky a diskuze .....	15
5. Závěr .....	26
6. Publikace související s tématem disertace.....	28
7. Seznam použité literatury v tezích .....	30
Anotace.....	32
Summary.....	33

## **1. STAV PROBLEMATIKY INTERAKCE BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY S NANOČÁSTICÍ**

Buňka je oddělena od okolního vodného prostředí fosfolipidovou dvojrivrstvou bariérou - biologickou membránou. Funkcí buněčné membrány je ochrana vnitřku buněk před vnějším prostředím a udržení kontrolovaných podmínek v buněčném cytosolu. Fosfolipidová dvojrivrstva obsahuje proteiny, cholesterol a lipopolysacharidy, umístěné uvnitř biologické membrány nebo na jejím povrchu [1 - 3]. Všechny tyto sloučeniny, které jsou součástí lipidové membrány, zajišťují, aby buňka reagovala na vnější prostředí a komunikovala s jinými buňkami. Na základě této komunikace mezi buňkami a buněčným prostředím jsou přes fosfolipidovou membránu transportovány živiny. Menší a nepolární molekuly, jako je kyslík, procházejí přes biologickou membránu prostou difuzí. Větší a polární molekuly (včetně iontů) potřebují pro transport přes biologickou membránu proteinový nosič.

Obecně se velké makromolekuly vyměňují mezi extracelulárním prostředím a buněčným cytosolem prostřednictvím endocytózy a exocytózy [4 - 5]. Tyto mechanismy jsou ve většině případů řízeny buněčnou membránou prostřednictvím specifických receptorů zprostředkovávajících interakci (např. klatrin, caveolin, endocytóza zprostředkovaná flotolinem) [4, 6 - 7]. Ukázalo se, že nanočástice mohou také procházet buněčnou membránou prostřednictvím endocytózy (nebo exocytózy), aniž by se účastnily jakékoliv specifické receptory zprostředkovávající interakci [8 - 11]. Lipidové membrány jsou flexibilní a dvojrivrstvy mohou být deformovány díky adhezi nanočástic na svém povrchu, což vede k úplnému pohlcení nanočástice a její konečné absorpci. Tento nespecifický příjem nanočástice byl také pozorován u vezikul, což vypovídá, že příjem nanočástice do biologické membrány může být dosažen pouze obecnými fyzikálně-chemickými interakcemi [12].



Obr. 1 – (A) lipozom s nanočásticemi navázanými na povrchu, (B) lipozom s nanočásticemi uvnitř lipidové dvojvrstvy. Vargas a Shon (2019) [13].

Pro účely naší práce jsou stavy lipozomů a nanočástic kategorizovány do dvou typů na základě lokalizace nanočástic v lipidové struktuře. Na obrázku 1A je znázorněn lipozom s nanočásticemi, které ulpěly na povrchu a na obrázku 1B je vidět stav lipozomu, kde jsou nanočástice začleněny uvnitř lipidové dvojvrstvy.

Při použití modelu navrženého Helfrichem [14 - 15] pasivní proces pohlcení nanočástice tvoří tři energetické příspěvky: adhezní energie v oblasti kontaktu mezi biologickou membránou a nanočásticí ( $E_{ADH}$ ), modul ohybu biologické membrány ( $\kappa_b$ ) a povrchové napětí biologické membrány ( $\mu$ ). Adhezní energie přispívá k integraci nanočástice s biologickou membránou, zatímco odolnost membrány buněk proti deformaci, charakterizovaná tuhostí biologické membrány v ohybu, brání procesu pohlcení. Za předpokladu, že biologická membrána je bez předpětí a zároveň tento proces pohání nespecifická adhezní interakce, dochází k pohlcení nanočástice, když je adhezní energie dostatečná k překonání energetických bariér spojených s ohýbáním biologické membrány kolem povrchu částice.

## 2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

V případě nanočástic adsorbovaných na membránu, které silně interagují s funkčními skupinami lipidů, byl vztah mezi vlastnostmi nanočástic, vlastnostmi membrány a agregací nanočástic rozsáhle zkoumán za použití experimentálních a simulačních metod. Ukázalo se, že interakce membrány s nanočásticí je možné dobře popsat na základě ohybové tuhosti membrány, jejího laterálního napětí a povrchové hustoty adhezní energie. V případě nanočástic zabudovaných do hydrofobního jádra membrány je situace zcela odlišná. Stav těchto membránově zapouzdřených nanočástic byl zatím řešen pomocí metod molekulární simulace a experimentů, které většinou zkoumají jenom jednu specifickou nanočástici nebo malý rozsah velikostí nanočástic. Tyto simulace často poskytují pouze kvalitativní data a vzhledem k náročnosti výpočtů jsou provedeny pro jedno specifické složení membrány. Ve srovnání s případy adsorbovaných nanočástic, pro zabudované nanočástice nejsou definovány konstitutivní parametry představující sílu interakce s membránou. Proto hlavním cílem práce je pochopit mechanismus interakce mezi zabudovanou nanočásticí a membránou s ohledem na mechanické vlastnosti membrány a geometrii nanočástice.

Specifické cíle práce jsou:

1. Popsat vliv mechanických parametrů membrány pro stanovení kritické velikosti nanočástice zabudované do hydrofobního jádra biomembrány.
2. Vysvětlit mechanismus interakcí zprostředkovaných membránou při vzájemném působení dvou nanočástic.
3. Vytvořit matematický model a na jeho základě popsat vliv tvaru nanočástic na jejich zabudování do biologické membrány.



Vzhledem k rozměrům biologické membrány (~ 10 nm) jsme pro porozumění těmto interakcím zvolili teoretický přístup založený na matematickém modelování. Na rozdíl od předcházejících studií nevyužíváme metod molekulárních simulací. Interakce nanočástice je popsána na základě deformační energie membrány podobně, jak je tomu v případě absorbovaných nanočástic. Definicí energie systému membrána-nanočástice jsme museli rozšířit o deformační energii uhlovodíkových řetězců, díky níž popíšeme narušení jádra membrány nanočásticí. Základním předpokladem naší práce je stabilita komplexu nanočástice a biologické membrány určená minimem celkové deformační energie.

### 3. METODY ZPRACOVÁNÍ

Základním předpokladem naší práce je hydrofobicita povrchu nanočástice. Je-li hydrofobní nanočástice uvedena do kontaktu s vodou, není schopna zesílit možnost vzniku vodíkových můstků. Při styku s vodou tak dochází k energetické penalizaci. V rámci experimentálních studií bylo pozorováno, že k zamezení vzniku rozhraní voda-nanočástice může dojít, když se daná nanočástice přímo integruje s hydrofobním jádrem lipidické membrány. V rámci naší práce jsme na základě studia literatury identifikovali dva základní možné stavy topologie nanočástice a biologické membrány. V souladu s prací Wi a kol. (2008) je označujeme následovně [16]:

- 1) NP-lipozomový komplex (NP-L), kdy je nanočástice součástí lipidové dvojvrstvy,
- 2) NP-micelární komplex (NP-M), kdy je nanočástice obklopena lipidovou monovrstvou.

Pro konstrukci výpočtového modelu popisujícího interakci biologické membrány a nanočástice je nutno znát jak přesnou geometrii nanočástice, tak vlastnosti a strukturu membrány [IX]. Přesné údaje o struktuře fosfolipidů a konformaci jejich uhlovodíkových řetězců v okolí nanočástice nejsou zatím známy z důvodů obtížné analýzy semifluidních struktur v nanometrovém rozlišení. Proto uvažovaný model používá základní zjednodušující předpoklady:

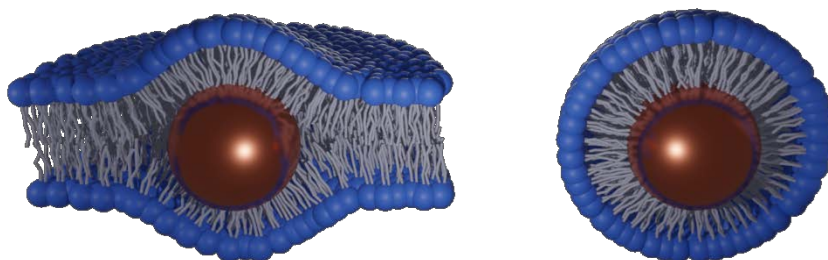
- 1) Nanočástice je aproximována jako hydrofobní tuhá sférická částice o poloměru  $R_{NP}$ .
- 2) Lipidová dvojvrstva je uvažována jako rovinná vzhledem k velkému rozdílu ve velikosti mezi nanočásticí a buňkou, případně lipozomem.

3) Laterální napětí membrány je zanedbatelné z důvodu velké plochy volné membrány vůči interagující nanočástici.

4) Z důvodu symetrie problému předpokládáme, že vnitřní a vnější lipidová monovrstva se deformují symetricky v blízkosti nanočástice začleněné do lipidové dvojvrstvy.

5) Zabudováním nanočástice do membrány nevzniknou poruchy (vodní kapsy) v olejovém jádru membrány.

6) Optimální stav a optimální geometrie je určena minimem volné energie. Na základě porovnání energií stavů NP-M a NP-L je možné rozhodnout o konfiguraci systému a popsat interakci nanočástice s biologickou membránou.



Obr. 2 – Geometrie NP-L a NP-M uspořádání. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Dva hlavní typy deformace membrány způsobené hydrofobní nanočásticí jsou hydrofobní nesoulad způsobující deformaci uhlovodíkových řetězců ( $G_{stretch}$ ) a ohyb membrány ( $G_{bend}$ ). Dále můžeme ještě uvažovat energii v důsledku přímé interakce rozhraní mezi nanočásticí a lipidy ve formě van der Walsových sil ( $G_{adhesion}$ ) a nelokální natažení membrány z důvodu změny v ploše vnitřní a vnější fosfolipidické monovrstvy ( $G_{ADE}$ ). Celková energie spojená s vložením nanočástice do membrány je určena jako prostý součet všech uvažovaných energií:

$$G = G_{bend} + G_{stretch} + G_{adhesion} + G_{ADE}$$

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \kappa_b \int_A (2H - C_0)^2 dA - k_G \int_A (C_1 C_2) dA$$

$$G_{stretch} = \frac{1}{2} \kappa_c \int_A \left( \frac{\xi - \xi_0}{\xi_0} \right)^2 dA$$

$$G_{adhesion} = \gamma 4\pi R_{NP}^2$$

$$G_{ADE} = \frac{\alpha \kappa_b \pi}{2A(2\xi)^2} (\Delta A - \Delta A_0)^2$$

## PARAMETRY MODELU

Všechny naše výpočty jsou založené na vhodné volbě jednotlivých parametrů použitelných v našich výpočtových modelech. Při výpočtech využíváme jak parametry zvolené autory předchozích publikací, ale také rozšířené parametry používané pro naše modely [III, IV].

Tab. 1 – Základní parametry modelu podle Wi a kol. (2008) [16]

Parametr	Označení	Hodnota
Ohybový modul	$\kappa_b$ [k <sub>B</sub> T]	9
Tloušťka monovrstvy	$d$ [nm]	1,3
Kompresní modul	$\kappa_c$ [k <sub>B</sub> Tnm <sup>-2</sup> ]	23
Spontánní křivost monovrstvy	$C_0$ [nm <sup>-1</sup> ]	-1/16

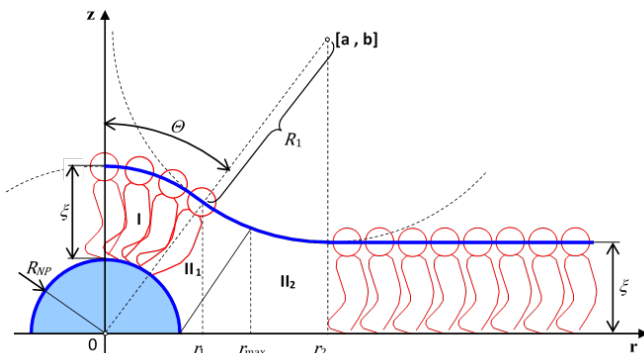
Tab. 2 – Parametry použité pro citlivostní analýzu, Řezníčková a Daniel (2015) [IV]

<b>Parametr</b>	<b>Označení</b>	<b>Hodnota</b>
Poloměr nanočástice	$r$ [nm]	2
Vnitřní křivost	$C_0$ [1/nm]	0
Kompresní modul	$\kappa_c$ [ $k_B T/nm^2$ ]	23
Ohybový modul	$\kappa_b$ [ $k_B T$ ]	9
Plocha lipidu	$a_0$ [ $nm^2$ ]	0,724
Tloušťka monovrstvy	$\zeta_0$ [nm]	1,45
Délka lipidové membrány	[nm]	30
Velikost elementu	[nm]	0,2
Rozsah	[nm]	0-10
Krok	[nm]	0,25
Počet elementů	[-]	150

## VLIV VELIKOSTI NANOČÁSTICE A MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ MEMBRÁNY

Nejprve jsme studovali vliv velikosti nanočástice a mechanických vlastností membrány na zabudování do membrány. Byl implementován analytický model interakce nanočástice a biologické membrány, který následně sloužil pro ověření vlastní metody optimalizace tvaru membrány.

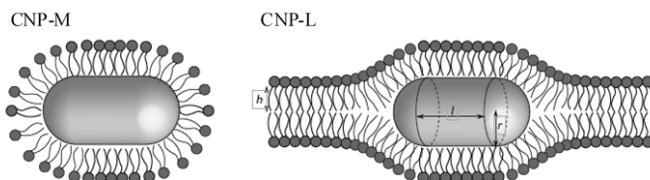
Základním předpokladem řešení analytického modelu NP-L je, že tvar profilu deformace lipidové monovrstvy obklopující nanočástici se skládá ze dvou kruhových oblouků s různými poloměry (Obr. 3) [I, VII]. První část kopíruje povrch nanočástice, zatímco v druhé části je střed křivosti určen souřadnicemi  $[a, b]$  vycházejícími z podmínky kontinuity a hladkosti profilu. Hranice oddělující tyto dva oblouky je určena úhlem  $\theta$  (Obr. 3). Deformační energie se skládá z příspěvku ohybové energie membrány  $G_{bend}$  a energie natažení uhlovodíkových řetězců  $G_{stretch}$ .



Obr. 3 - Znárodnění axisymetrického problému - průřez vnější monovrstvy obklopující nanočástici. Daniel a Řezničková (2014) [VII].

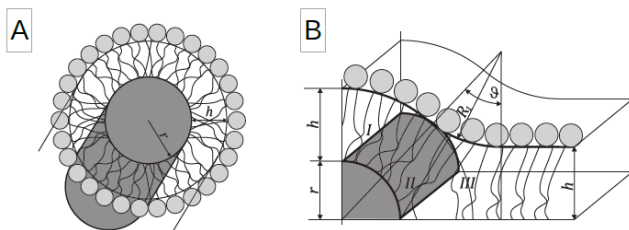
## VLIV TVARU NANOČÁSTICE

Původní model interakce nanočástice a membrány předpokládá sférický tvar nanočástice. Nanočástice ale mohou být připravovány v široké škále tvarů: od sférických tvarů až po komplexní struktury s výběžky [17]. Do dnešní doby byly studovány zejména interakce mezi sférickou nanočásticí a membránou [12, 16]. V naší práci jsme dosavadní studie rozšířili o studium cylindrických nanočástic.



Obr. 4 – Geometrie válcové nanočástice obklopené lipidovou membránou. CNP-M a CNP-L označuje micelární a lamelární komplex fosfolipidů a nanočástic. Otáhal a kol. (2019) [II].

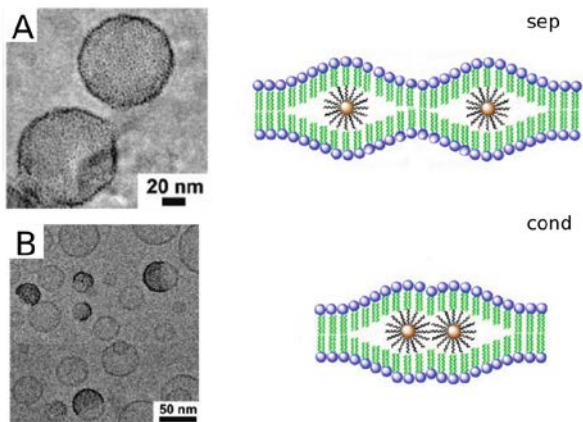
Kvůli jednoduchosti je energie CNP-L fáze vyjádřena samostatně pro kulové vrchlíky a válec. Vliv sférických vrchlíků se bere jako energie sférické nanočástice o poloměru  $r$  začleněné do lipidové dvojvrstvy, tj. uvažuje se sférická symetrie. Válcový segment má válcovou symetrii s nulovou druhou hlavní křivostí. Předpokládá se, že válcová nanočástice je umístěna uprostřed lipidové dvojvrstvy, tj. obě monovrstvy jsou symetricky deformovány.



Obr. 5 – (A) Mielární fáze a (B) lamelární fáze válcové nanočástice (CNP) a fosfolipidů. Průřez je kolmý k podélné ose v oblasti válce válcové nanočástice. Otáhal a kol. (2019) [II].

## VLIV INTERAKCE NANOČÁSTIC V BIOLOGICKÉ MEMBRÁNĚ

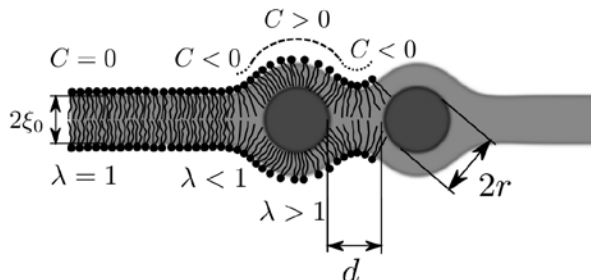
V rámci naší studie jsme se zaměřili na specifické jevy, které ukazují, že způsob přípravy lipidových vezikul v roztoku 2 nm velkých nanočástic zlata, ovlivňuje distribuci nanočástic v biologické membráně. Jsou-li fosfatidylcholinové lipidové vezikuly připraveny extruzí, tvoří nanočástice v hydrofobním jádru lipidové dvojvrstvy hustou monovrstvu (Obr. 6A). Vezikuly připravené dialýzou obsahují membránovou oblast s nanočásticemi a membránovou oblast bez nanočástic (Obr. 6B). V těchto vezikulech, tak zvaných Janusových vezikulech, se nanočástice přitahují a tvoří shluky v membránových oblastech, které jsou bohaté na nanočástice. Dva stabilní stavy nanočástic ve vezikulární membráně lze vysvětlit existencí energetické bariéry mezi kondenzovanými a oddělenými nanočásticemi zprostředkovanými biomembránou [18]. Cílem naší studie je ověřit tuto hypotézu na základě odhadu energie biomembrány vyvolané redistribucí nanočástic [I, III].



Obr. 6 - (A) Vezikuly připravené vytlačováním v přítomnosti nanočástic; nanočástice v membráně jsou oddělené (separované). (B) Janusův typ nanočásticových-vezikulárních hybridů připravený dialýzou suspenze vezikul a nanočástic-dispergovaných detergentem; nanočástice v membráně jsou kondenzované. Rasch a kol. (2010) [18].



Dva klíčové režimy membránové deformace způsobené hydrofobní inkluzí jsou hydrofobní nesoulad způsobující deformaci hydroxykarbonových řetězců (natahování / komprese) a ohyb membrány obou membránových lipidových monovrstev (Obr. 6).



Obr. 7 – Geometrický model lipidové dvojvrstvy se dvěma vloženými nanočásticemi o poloměru  $r$  ve vzdálenosti  $d$ . Tloušťka fosfolipidového hydroxykarbonového řetězce v nenarušené rovinné lipidové dvojvrstvě je označena  $\xi_0$ . Nanočástice vyvolávají změny lokálních zakřiveních dvojvrstvy  $C$  a změnu tloušťky membrány v důsledku deformace hydroxykarbonových řetězců

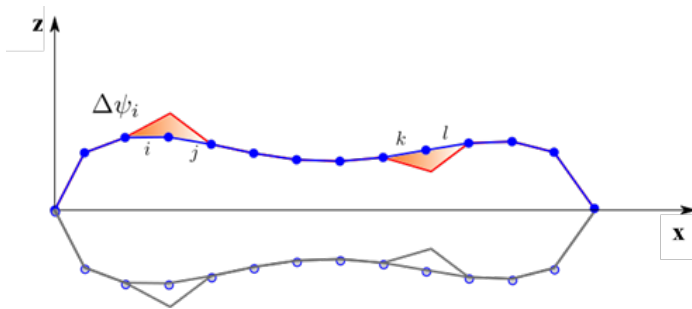
$$\lambda = \frac{\xi}{\xi_0}. \text{ [I, III].}$$

## METODA POSTUPNÝCH FLUKTUACÍ

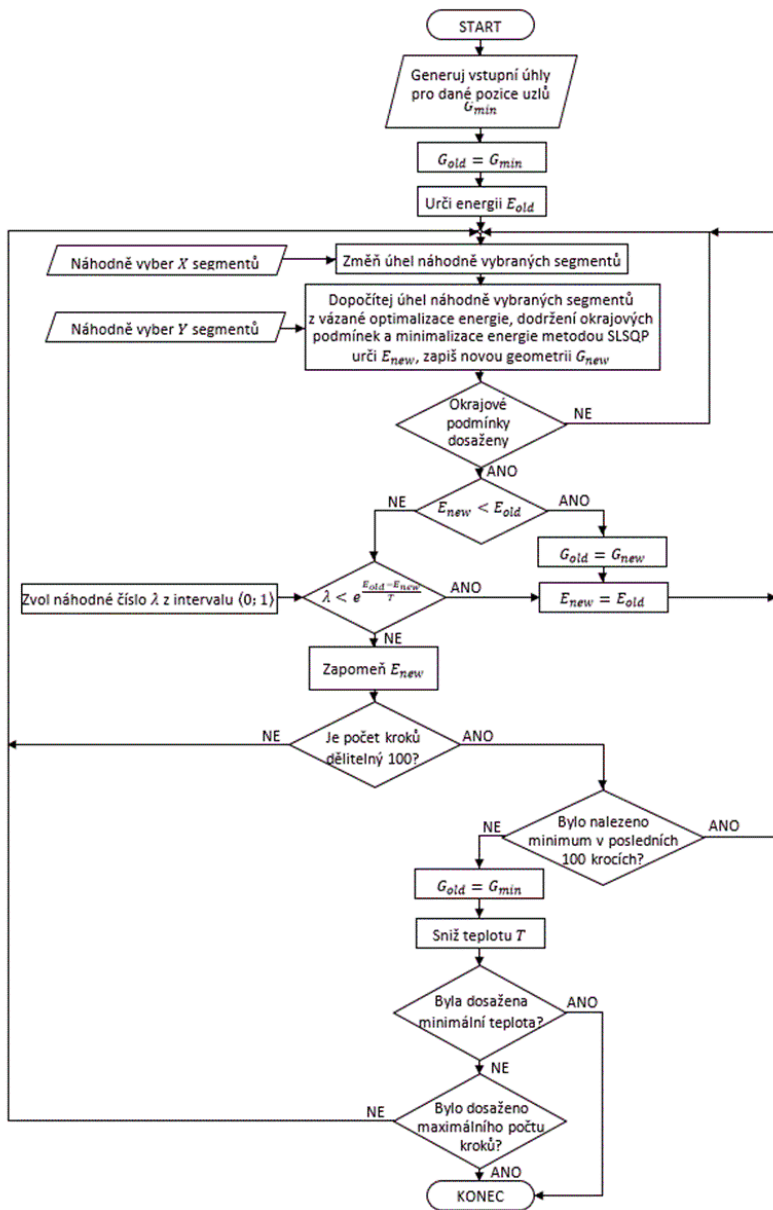
Pro řešení problému jsme vytvořili původní metodu optimalizace, která vychází z principů metody Monte Carlo simulované žíhání [19] a algoritmu Basin Hopping [20] pro určení lokálního minima. Tato metoda je inspirována principem tepelných fluktuací membrány, které zabezpečí, že tvar biologické membrány není konstantní, ale osciluje kolem rovnovážného stavu [V]. Zároveň fluktuace umožňují membráně zaujmout nejefektivnější polohu z pohledu energie. Naším základním předpokladem je, že při snižování celkové energie fluktuací dochází postupně k dosažení tvaru membrány s globálně minimální energií podobně, jak je tomu v případě metody simulovaného žíhání.

Objektivní funkcí je v našem případě celková energie membrány, která je v kontaktu s nanočásticí. Zásadní nevýhoda stávajících metod je, že při každé změně pozice jednotlivých úhlů segmentů nebo pozice jednotlivých uzlů dochází ke změně globálních charakteristik membrány, jako je její délka nebo v případě uzavřené buňky její objem.

Zásadním bodem našeho algoritmu je zavedení fluktuace membrány. Pod fluktuací membrány chápeme lokálně omezenou deformaci, která nemění celkovou charakteristiku membrány. Například v případě, že dojde v daném uzlu ke zvýšení úhlu segmentu, musí v jiném bodě membrány dojít k recipročnímu snížení úhlu tak, aby z-ová souřadnice prvního a posledního bodu (okrajové podmínky) zůstala stejná. Algoritmus byl původně vyvinut pro uzavřenou membránu, kde kromě zachování spojitosti a velikosti plochy membrány bylo nutno zahrnout také objem buňky jako globální okrajovou podmínku.



Obr. 8 - Schematické znázornění změny tvaru membrány při využití algoritmu postupných fluktuací.



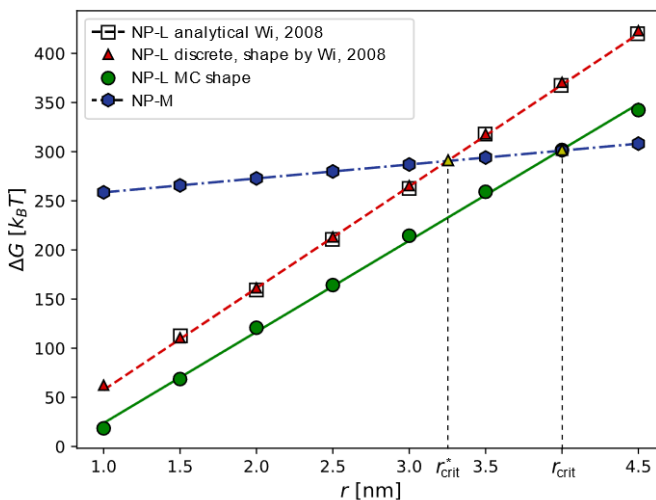
Obr. 9 – Vývojový diagram algoritmu postupných fluktuací.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

### SROVNÁNÍ ŘEŠENÍ ANALYTICKÉHO A NUMERICKÉHO MODELU

Pro ověření metody výpočtu pomocí diskretního modelu jsme využili popis geometrie podle Wi a kol. (2008) v konfiguraci NP-L [16]. Z publikovaného článku jsme získali hodnoty energie pro lamelární fázi s nanočásticí, a následně je ověřili pomocí námi odvozených vztahů. Tvar membrány definovaný pomocí jednoduché geometrie na obrázku 3 jsme využili pro výpočet energie v našem diskretním modelu. Jak je patrné z obrázku 3, numerický model predikuje stejné hodnoty energie jako v případě analytického popisu.

Následně jsme využili naši původní metodu optimalizace odvozenou z metody Monte Carlo, metodu postupných fluktuací, pro určení tvaru membrány s minimální energií. Je vidět, že v daném případě náš přístup dává výrazně nižší hodnoty energie a tím lépe popisuje tvar membrány (Obr. 9). Relativní rozdíl v predikované energii systému je větší pro nanočástice menšího poloměru.



Obr. 10 - Srovnání energie membrány při použití analytického a numerického modelu se stejnou geometrií. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Základním nedostatkem původního modelu Wi a kol. (2008) je předpoklad jednoduché geometrie. Model Wi a kol. (2008) tak neumožňuje zahrnutí deformace řetězců v centrální části nanočástice, což jak ukazují naše simulace je klíčové pro snížení celkové deformační energie [16].

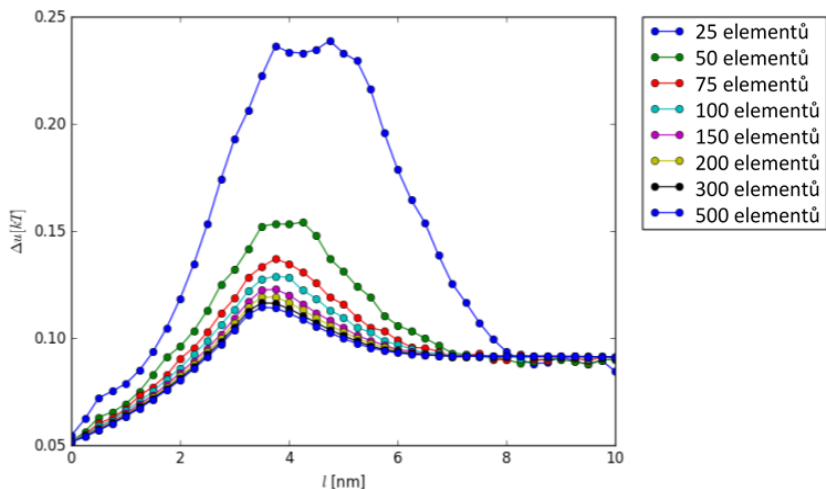
## CITLIVOSTNÍ ANALÝZA METODY OPTIMALIZACE

Pro ověření diskrétního modelu a nastavení parametrů sítě jsme uskutečnili analýzu vlivu změn vlastností sítě na výslednou energii. Těmito vlivy jsme studovali problém separace dvou nanočástic v membráně. Hodnotili jsme následující parametry:

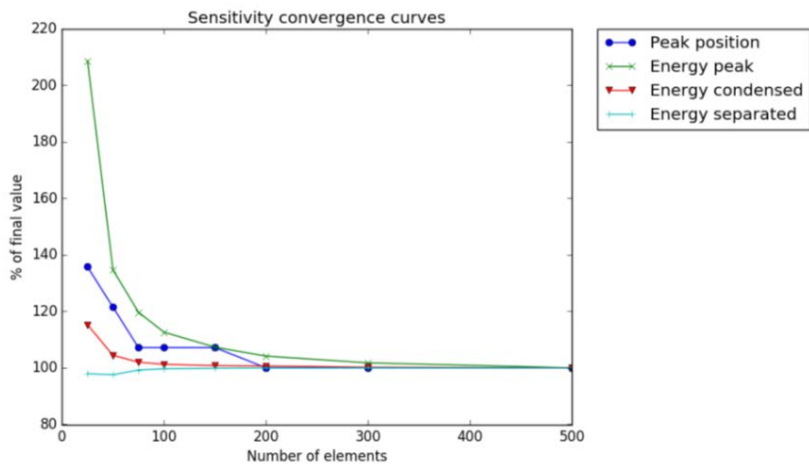
- energii kondenzované fáze, tj. fáze kdy se obě nanočástice dotýkají;
- energii separované fáze, tj. fáze kdy jsou nanočástice natolik vzdálené, že se navzájem neovlivňují;
- výši energetické bariéry mezi kondenzovanou a separovanou fází;
- vzdálenost nanočástic při dosažení energetické bariéry.

Podle očekávání jemná síť poskytla lepší výsledky s ohledem na energii, tj. nižší energii. Simulace ukázala, že rostoucí hustota sítě konverguje k optimálnímu řešení. Studie citlivosti dokazuje vynikající konvergenci ve všech sledovaných parametrech. S uvážením časové náročnosti a přesnosti jsme pro další výpočty zvolili následující parametry: délka membrány 30 nm a počet prvků 100.

Jak je vidět z obrázku 11, velká délka elementu nadhodnocuje celkovou energii, což může být způsobeno nepřesností v numerickém odhadu křivosti. Při zvýšení počtu elementů dochází ke konvergenci energie a zároveň můžeme konstatovat, že při dodržení identické geometrie předpovídá diskrétní model stejné hodnoty jako model analytický (Obr. 10).



Obr. 11 - Energie na jednu molekulu v závislosti na vzdálenosti nanočástic, vliv počtu elementů. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

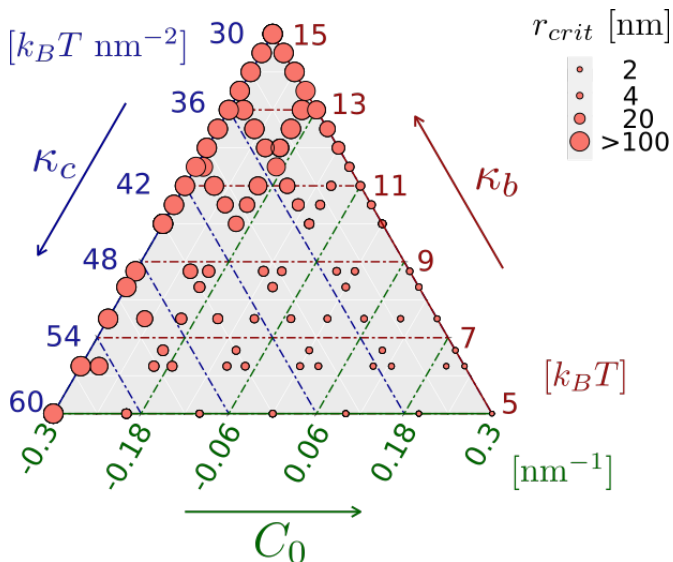


Obr. 12 - Konvergence řešení se zvyšujícím se počtem elementů. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

## VLIV MECHANICKÝCH PARAMETRŮ MEMBRÁNY NA KRITICKOU VELIKOST NANOČÁSTIC

Dosavadní studie se zaměřují zejména na popis interakce různě velké nanočástice s membránou. Jak ukázal Wi a kol. (2008) je možné na základě matematického modelu vysvětlit a predikovat velikost kritického poloměru nanočástice, který umožní udržení nanočástice v lamelární membráně [16]. Vlastnosti membrány jsou ale v tomto modelu považovány za konstanty. V naší práci jsme se věnovali systematickému studiu vlivu vlastností membrány na velikost kritického poloměru nanočástice.

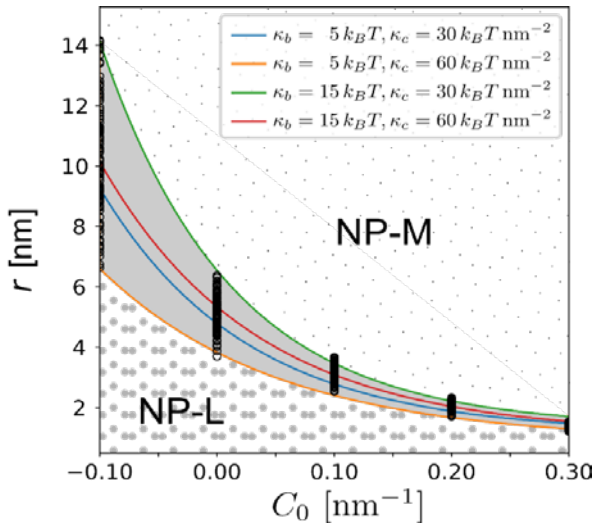
Obrázek 13 shrnuje výsledky simulací. Primárním parametrem, který určuje velikost kritického poloměru je vlastní křivost membrány. Zároveň vidíme, že s rostoucí ohybovou tuhostí membrány a zároveň klesajícím kompresním modulem roste kritický poloměr membrány.



Obr. 13 – Vliv parametrů membrány na kritický poloměr. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].

Membrána s kladnou vlastní křivostí ( $C_0 > 0$ ) je schopna v lamelární fázi zabudovat nanočástice s poloměrem menším než 5 nm (Obr. 5.10). S klesající vlastní křivostí do záporných hodnot prudce roste kritický poloměr nanočástice. V oblasti se zápornou křivostí je také patrnější vliv dalších parametrů, jako je ohybová tuhost membrány a kompresní modul.

Z našich výsledků plyne, že na základě znalosti vlastní křivosti a poloměru nanočástice můžeme předpovědět, jakým způsobem bude nanočástice interagovat s membránou. Obrázek 14 znázorňuje fázový diagram pro membránu s kladnou křivostí, kde oblast NP-L značí oblast, ve které nanočástice zůstává zabudována v lamelární membráně, zatímco oblast NP-M je rozsah parametrů, při kterých se nanočástice uvolní z biomembrány a nese lipidovou obálku ve formě micely. Šedá zóna značí oblast, ve které mohou koexistovat fáze NP-L a NP-M v závislosti na dalších parametrech membrány.

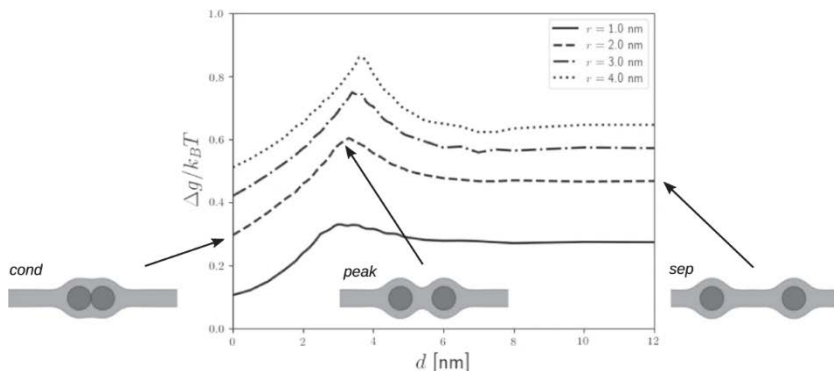


Obr. 14 – Fázový diagram nanočástice v membráně. Znárodněné křivky jsou určeny aproximací exponenciální funkcí pro uvedenou kombinaci parametrů. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].



## VLIV VZDÁLENOSTI DVOU NANOČÁSTIC

Obrázek 15 ukazuje závislost vypočtené membránové elastické energie na vzdálenost mezi dvěma nanočásticemi a odpovídající membránové deformační energie pro různé hodnoty průměru nanočástic.



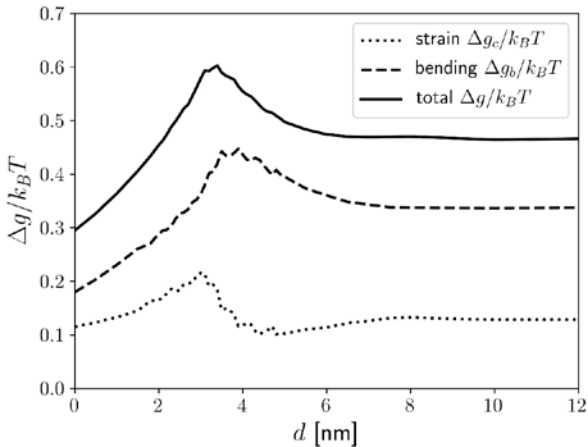
Obr. 15 - Energie membrány na molekulu lipidu  $g$  v přítomnosti nanočástic s ohledem na referenční energii rovinné lipidové dvojvrstvy  $g_{planar}$  ( $\Delta g = g - g_{planar}$ ) v závislosti na vzdálenosti  $d$  mezi nanočásticemi pro různé velikosti nanočástic [VIII, X].

Na obrázku 15 je vidět, že kondenzovaný stav dvou nanočástic je energeticky příznivější než, když jsou nanočástice odděleny. Malé nanočástice vyžadují méně energie pro začlenění do lipidové membrány, ve shodě s Wi a kol. (2008) [16].

Naše simulace [I, IV] dále potvrzují hypotézu Rasch a kol. (2010), že mezi disperzním a kondenzovaným stavem nanočástic zabudovaných v biologické membráně existuje energetická bariéra (Obr. 15) [18].

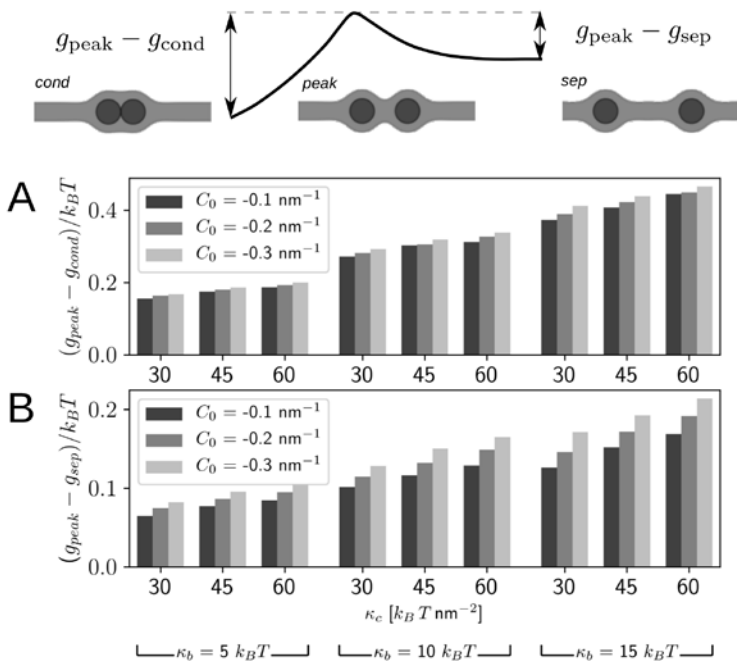
V souladu s naším modelem předpověděla nedávno publikovaná studie molekulární dynamiky membrány [21] také existenci energetické bariéry mezi nanočásticemi potaženými dvěma aniontovými ligandy zabudovanými do lipidové membrány neobsahující cholesterol.

Příspěvek ohybové energie na lipidovou molekulu je vyšší než podíl natažení hydroxykarbonových řetězců [III, VIII] (Obr. 16).



Obr. 16 - Graf příspěvku protažení ( $\Delta g_c$ ) a energie ohybu ( $\Delta g_b$ ) vztažené k relativní elastické energii na molekulu lipidů ( $g$ ) v přítomnosti nanočástic ( $r = 2$  nm) jako funkce vzdálenosti mezi nanočásticemi. Energie se vyjadřují tak, že se jako referenční vezme energie rovinné lipidové dvojvrstvy [VIII, X].

Obrázek 17 ukazuje výšku energetické bariéry ve stavu kondenzovaných (Obr. 17A) a oddělených (Obr. 17B) nanočástic, vypočtené pro různé hodnoty membránových parametrů  $C_0$ ,  $\kappa_b$  a  $\kappa_c$ . Je vidět, že ohybová tuhost membrány  $\kappa_b$  má největší vliv na velikost energetické bariéry. Čím vyšší jsou hodnoty vnitřní křivosti  $C_0$ , ohybu membrány  $\kappa_b$  a kompresního modulu  $\kappa_c$ , tím vyšší je energetická bariéra, kterou musí nanočástice překonat, aby se samy oddělily (Obr. 17A) nebo aby se samy seskupily (Obr. 17B). Výška elastické energetické bariéry je obecně nižší pro přechod ze separované na kondenzovanou fázi než v opačném směru – ze spojených nanočástic do odděleného stavu.



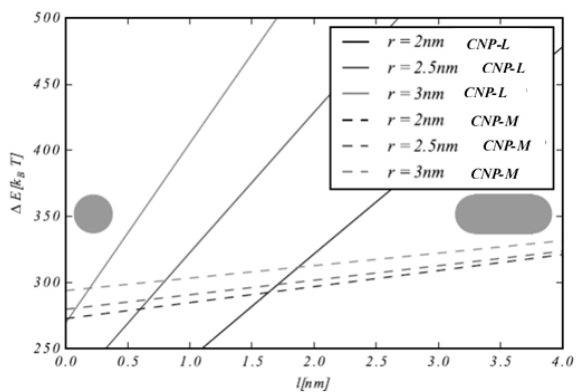
Obr. 17 – Výška energetické bariéry s ohledem na (A) seskupenou fázi a (B) separovanou fázi nanočástic vypočtenou pro různé hodnoty membránových parametrů  $C_0$ ,  $\kappa_b$ , a  $\kappa_c$  [VIII, X].

## VLIV TVARU NANOČÁSTIC

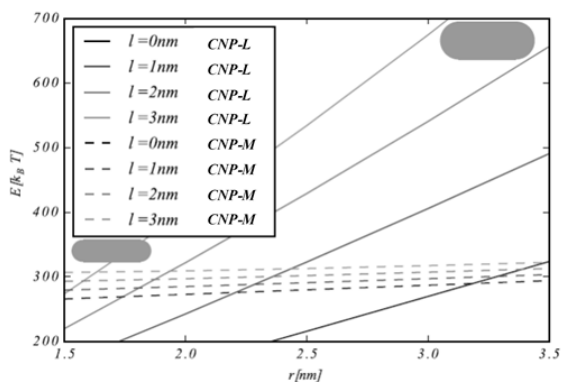
V naší práci jsme kromě klasické sférické nanočástice uvažovali i jiný tvar nanočástic, a to složenou nanočástici tvořenou válcovou částí s kulovými vrchlíky [II].

Energie začlenění válcové nanočástice do membránové dvojvrstvy CNP-L se zvyšuje s velikostí válcové nanočástice. Vliv velikosti válcové nanočástice na ohybovou energii je méně výrazný v micelární fázi CNP-M (Obr. 18). Nižší citlivost energie komplexu CNP-M na změnu poloměru může být vysvětlena pomocí ohybové energie  $\Delta E_{bend}$  v oblasti I v okolí nanočástice. Tento vztah

ukazuje, že energie je závislá na křivosti a ploše. Křivost se zmenšuje se zvyšujícím se poloměrem válcové nanočástice, zatímco plocha se zvětšuje ve fázi CNP-M a tyto dva účinky se navzájem ruší. Interakce mezi fosfolipidovou dvojvrstvou a válcovou nanočásticí je složitější, protože je třeba vzít v úvahu intersticiální energii deformace řetězce uhlovodíků.



Obr. 18 – Závislost deformační energie lipidové vrstvy na poloměru válcové nanočástice s různou délkou. Plná čára představuje situaci, kdy je nanočástice uvnitř lipidové dvojvrstvy, a přerušovaná čára představuje situaci, že nanočástice je zcela pokryta lipidovou monovrstvou (micelou). Otáhal a kol. (2019) [II].



Obr. 19 – Závislost deformační energie lipidové vrstvy na délce válcové nanočástice s různým poloměrem. Plná čára představuje situaci, kdy je nanočástice uvnitř lipidové dvojvrstvy, a přerušovaná čára představuje situaci, že nanočástice je zcela pokryta lipidovou monovrstvou (micelou). Otáhal a kol. (2019) [II].

Můžeme identifikovat kritickou velikost válcové nanočástice, která indukuje přechod z micelární na lamelární fázi. Pod kritickou velikostí je energie CNP-L nižší než energie CNP-M a nanočástice je pravděpodobně v lamelární fázi (Tab. 3). Pokud je velikost částice vyšší než kritická, částice se oddělí od membrány a může proniknout membránou do buňky.

Tab. 3 – Odhadované hodnoty kritických poloměrů a délek

<b>délka</b>	<b>kritický poloměr</b>	<b>poloměr</b>	<b>kritická délka</b>
$l$ [nm]	$r_{crit}$ [nm]	$r$ [nm]	$l_{crit}$ [nm]
0	3,2		
1	2,3	2	1,6
2	1,9	2,5	0,6
3	1,6	3	0,2

Kritická velikost válcových nanočástic by mohla vysvětlit odlišné biologické chování válcových a sférických nanočástic. Například Zhang a kol. (2017) zjistil, že počet internalizovaných zlatých cylindrických nanočástic ((průměr) 12 nm, (délka) 50 nm) byl téměř 1,5 krát vyšší než zlaté sférické nanočástice (22 nm) v buňkách HepG2 (lidská buněčná linie rakoviny jater) [22]. Podobně Meng a kol. (2011) prokázal, že pro tři druhy cylindrických nanočástic oxidu křemičitého ((průměr) 70 nm a (délka) 120 nm; (průměr) 75 nm a (délka) 175 nm; (průměr) 60 nm a (délka) 280 nm), bylo množství cylindrických nanočástic v buňce signifikantně vyšší než množství sférických nanočástic [23].

## LIMITY MODELU A DALŠÍ POSTUP

Naše studie využívá mnoho předpokladů k záměrnému udržení jednoduchosti modelu. Naším hlavním cílem bylo kvalitativně ilustrovat interakce mezi nanočásticemi a biomembránou, které jsou řízeny pružností membrány. Přijali jsme přístup kontinua, i když studované objekty jsou v molekulárních dimenzích. Popis biomembrány jako elastického kontinua je tak možné považovat za první aproximaci. Studie proteinových kanálů [24] však ukazují, že hydrofobní párování a interakce zprostředkované membránou lze dobře pochopit také v rámci jednoduché teorie pružnosti. Model by mohl být dále vylepšen uvažováním naklonění lipidů. May a kol. (2004) ukázal, že modul naklonění lipidů má dva energetické příspěvky [25]. První z nich je zahrnut v tomto modelu jako natažení uhlovodíkových řetězců a odráží ztrátu konformační svobody řetězce. Druhým příspěvkem, který nebyl v této práci zohledněn, je entropický příspěvek vyplývající z omezení vyvolaných deformací náklonu na fluktuace hydroxykarbonového řetězce. Můžeme předpokládat, že entropický příspěvek je méně výrazný v případě plně začleněné nanočástice než v případě konformačních omezení, která se vyskytují u exhibitních hydroxykarbonových řetězců v blízkosti rigidní transmembránové inkluze [17].

Lze očekávat také třídění lipidů na vysoce zakřiveném povrchu NP. V tomto případě by měl být Gaussův energetický stav zahrnut do rovnic a měl by se zvážit entropický příspěvek [26] kvůli nehomogenní laterální distribuci lipidů. Gaussova ohybová energie by také mohla být považována za konstantní, pokud je zkoumaná oblast membrány součástí uzavřené oblasti vezikuly a přítomnost nanočástic nebude mít vliv na tvar membrány mimo zkoumanou oblast.

## 5. ZÁVĚR

Cílem práce bylo pomocí matematického modelu zhodnotit vliv mechaniky membrány na zabudování hydrofobní nanočástice různého rozměru, tvaru a počtu. Pro určení vlivu mechanických parametrů jsme zvolili metodu optimalizace tvaru membrány, kde jako optimalizační funkce vystupuje deformační energie vnitřní a vnější monovrstvy [IV, VIII, IX].

Zásadním požadavkem pro naši studii bylo zvolení metody, která by v přiměřeném výpočetním čase dokázala minimalizovat celkovou energii. Dosud užívané metody se ukázaly jako nedostatečné, protože jsou schopny zachytit jenom lokální minima a závisí výrazně na volbě vstupných parametrů. Proto jsme v rámci naší práce vytvořili novou metodu vázané optimalizace, která je navržena unikátně pro studium membrán a vychází z principů tepelné fluktuační membrány. Principiálně naše metoda vychází z metody Monte Carlo a zohledňuje globální okrajové podmínky. Tato metoda se ukázala jako vhodná pro popis námi studovaného problému. Ukázali jsme, že daná metoda je schopna pro stejné parametry membrány předpovědět tvar s nižší energií v porovnání s analytickým modelem a metodou kvadratického programování [III, VII, VIII]. Parametry sítě jsme zvolili na základě studie citlivosti [V].

Ukázali jsme, že kritický poloměr nanočástice zabudované do membrány ve velké míře ovlivňuje mechanické vlastnosti membrány. Jako primární parametr, který určuje interakci nanočástice s membránou jsme identifikovali vlastní křivost monovrstvy. Zároveň jsme ukázali, že membrána je schopna pojmout nanočástice s velkým průměrem, je-li její vlastní křivost záporná [VI]. Uvedené výsledky jsou v souladu s experimentálními studiemi.

Na základě studia interakce sférické a cylindrické nanočástice a biologické membrány jsme ukázali, že kritický poloměr cylindrické nanočástice je větší než v případě sférické nanočástice stejného objemu. To vysvětluje vyšší

biologickou aktivitu cylindrických nanočástic, která byla pozorována v experimentech. [II]

Vysvětlili jsme princip, jakým biologická membrána zprostředkuje interakci více nanočástic. Můžeme konstatovat, že není možné považovat membránu za pasivní složku, ale její deformace vede ke vzniku síly působící na nanočástice. Ukázali jsme, že tato působící síla může být jak přitažlivá, tak odpudivá, v závislosti na vzájemné vzdálenosti a velikosti nanočástic. Vysvětlili jsme tak experimentální pozorování Janusových lipozomů s nanočásticemi na základě existence dvou energetických minim oddělených energetickou bariérou [I, VIII, X].



## 6. PUBLIKACE SOUVISEJÍCÍ S TÉMATEM DISERTACE

[I] DANIEL, Matej, ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka, HANDL, Milan, IGLIČ, Aleš, KRAJL-IGLIČ, Veronika. Clustering and separation of hydrophobic nanoparticles in lipid bilayer explained by membrane mechanics. *Scientific Reports*. 2018, 8, 1-7. ISSN 2045-2322. DOI [10.1038/s41598-018-28965-y](https://doi.org/10.1038/s41598-018-28965-y).

[II] OTÁHAL, Martin, ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka a DANIEL, Matej. Can be minimization of membrane bending energy used for simulation of the nanoparticle-cell interaction? In: *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018*. Prague, Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2019. s. 733-737. IFMBE Proceedings. sv. 68/2. ISSN 1680-0737. ISBN 978-981-10-9038-7. DOI [10.1007/978-981-10-9038-7\\_136](https://doi.org/10.1007/978-981-10-9038-7_136).

[III] ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka a DANIEL, Matej. Interaction of hydrophobic nanoparticles with a biological membrane. In: *Studentská tvůrčí činnost 2017*. Praha: České vysoké učení technické v Praze - Fakulta strojní, 2017. ISBN 978-80-01-06143-5.

[IV] DANIEL, Matej a ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka. Mechanism of Janus-like vesicles - biomechanics of hybrid nanoparticles phospholipid vesicles. In: *EUROPEAN SOCIETY OF BIOMECHANICS, ESB, ed. Proceedings of the Congress of the European Society of Biomechanics. 22nd Congress of the European Society of Biomechanics*. Marne-la-Vallée: IFSTTAR, 2016.

[V] ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka a DANIEL, Matej. Stability of Phospholipid Vesicles in Joint - Mathematical Model. In: *18th Workshop of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, 2015. ISBN 978-80-01-05746-9.

[VI] ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka a DANIEL, Matej. Preparation of Liposomes Using a 3D Flow Focusing Microfluidic Device. In: *19th Workshop of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, 2015. s. 43-45. ISBN 978-80-01-05918-0.

[VII] DANIEL, Matej a ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka. Energy of Quantum Dots Encapsulated in Biological Membrane. *Procedia Engineering*. 2014, C(79), 137-142. ISSN 1877-7058. DOI [10.1016/j.proeng.2014.06.322](https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.06.322).

[VIII] ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka a DANIEL, Matej. Biomechanics of nanoparticles self - assembly in lipid bilayer. In: *HB 2014 Book of abstracts. Human Biomechanics 2014*. Plzeň: Západočeská univerzita, 2014. ISBN 978-80-261-0421-6.

[IX] LUKEŠ, Jaroslav, GRZNÁROVÁ, Petra, FÜZIK, Tibor, ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka, ŠEPITKA, Josef. Single cells compression testing. In: *HB 2014 Book of abstracts. Human Biomechanics 2014*. Plzeň: Západočeská univerzita, 2014. ISBN 978-80-261-0421-6.

[X] ŘEZNÍČKOVÁ, Jitka, HANDL, Milan, IGLIČ, Aleš, KRAJL-IGLIČ, Veronika, DANIEL, Matej. Mechanics of hydrophobic nanoparticle biomembrane interaction. In: *COST Action CA 15214 „An Integrative Action for Multidisciplinary Studies on Cellular Structural Networks*. Praha, Institute of Molecular Genetics CAS, 2017.

## 7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY V TEZÍCH

- [1] COOPER, Geoffrey M. *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.* Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Cell Membranes. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9928/>
- [2] CHAPMAN, D. Phospholipid bilayers physical principles and models. *Cell Biochemistry and Function.* 1988, 6(2), 147–148.
- [3] VAN MEER, Gerrit, VOELKER, Dennis R., FEIGENSON, Gerald W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2008, 9(2), 112–124. ISSN 1471-0080.
- [4] KUMARI, Sudha, MG, Swetha, MAYOR, Satyajit. Endocytosis unplugged: multiple ways to enter the cell. *Cell Research.* 2010, 20(3), 256–275.
- [5] CONNER, Sean D., SCHMID, Sandra L. Regulated portals of entry into the cell. *Nature.* 2003, 422(6927), 37–44. ISSN 00280836.
- [6] MCMAHON, Harvey T., BOUCROT, Emmanuel. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2011, 12(8), 517–533. ISSN 1471-0080.
- [7] DOHERTY, Gary J., MCMAHON, Harvey T. Mechanisms of endocytosis. *Annual Review of Biochemistry.* 2009, 78, 857–902.
- [8] KETTLER, Katja, VELTMAN, Karin, VAN DE MEENT, Dik et al. Cellular uptake of nanoparticles as determined by particle properties, experimental conditions, and cell type. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2014, 33(3), 481–492. ISSN 07307268.
- [9] LIPOWSKY, R., DÖBEREINER, H. G. Vesicles in contact with nanoparticles and colloids. *Europhysics Letters.* 1998, 43(2), 219–225. ISSN 02955075.
- [10] ZHANG, Sulin, GAO, Huajian, BAO, Gang. Physical Principles of Nanoparticle Cellular Endocytosis. *ACS Nano.* 2015, 9(9), 8655–8671. ISSN 1936-086X (Electronic).
- [11] LIN, Jiaqi, ZHANG, Hongwu, CHEN, Zhen et al. Penetration of Lipid Membranes by Gold Nanoparticles: Insights into Cellular Uptake, Cytotoxicity, and Their Relationship. *ACS Nano.* 2010, 4(9), 5421–5429.
- [12] CONTINI, Claudia, SCHNEEMILCH, Matthew, GAISFORD, Simon et al. Nanoparticle–membrane interactions. *Journal of Experimental Nanoscience.* 2018, 13(1), 62–81. ISSN 17458099.
- [13] VARGAS, Kevin M., Shon, Young-Seok. Hybrid lipid-nanoparticle complexes for biomedical applications. *Journal of materials chemistry. B.* 2019, 7(5), 695–708. ISSN 2050-750X.
- [14] HELFRICH, W. Elastic Properties of Lipid Bilayers: Theory and Possible Experiments. *Z Nat.forsch. Teil C Biochem Biophys Biol Virol.* 1973, 28, 693–703.

- [15] DESERNO, Markus. Elastic deformation of a fluid membrane upon colloid binding. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*. 2004, 69(3), 1-14. ISSN 1063651X.
- [16] WI, Haeng S., LEE, Kyuyong, PAK, Hyuk K. Interfacial energy consideration in the organization of a quantum dotlipid mixed system. *Journal of Physics Condensed Matter*. 2008, 20(49), 494211.
- [17] ARNO, Maria C., INAM, Maria, WEEMS, Andrew C. et al. Exploiting the role of nanoparticle shape in enhancing hydrogel adhesive and mechanical properties. *Nature Communications*. 2020, 11(1), 1420. ISSN 2041-1723.
- [18] RASCH, Michael R., ROSSINYOL, Emma, HUESO, Jose L. et al. Hydrophobic gold nanoparticle self-assembly with phosphatidylcholine lipid: membrane-loaded and janus vesicles. *Nano Letters*. 2010, 10(9), 3733-3739. ISSN 1530-6992 (Electronic).
- [19] KIRKPATRICK, S., GELATT, C. D. a VECCHI, M. P. Optimization by Simulated Annealing. *Science*. 1983, 220(4598), 671-680.
- [20] WALES, David J., DOYE, Jonathan P. K. Global Optimization by Basin-Hopping and the Lowest Energy Structures of Lennard-Jones Clusters Containing up to 110 Atoms. *The Journal of Physical Chemistry A*. 1997, 101(28), 5111-5116. ISSN 1089-5639.
- [21] ANGELIKOPOULOS, Panagiotis, SARKISOV, Lev, COURNIA, Zoe, GKEKA, Paraskevi. Self-assembly of anionic, ligand-coated nanoparticles in lipid membranes. *Nanoscale*. 2017, 9(3), 1040-1048.
- [22] ZHANG, Peng, LI, Bangbang, DU, Jianwei, WANG, Youxiang. Regulation the morphology of cationized gold nanoparticles for effective gene delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017, 157, 18-25. ISSN 1873-4367 (Electronic).
- [23] MENG, Huan, YANG, Sui, LI, Zongxi et al. Aspect ratio determines the quantity of mesoporous silica nanoparticle uptake by a small GTPase-dependent macropinocytosis mechanism. *ACS Nano*. 2011, 5(6), 4434-4447. ISSN 1936-086X (Electronic).
- [24] HARROUN, Thad A., HELLER, William T., WEISS, Thomas M. et al. Theoretical analysis of hydrophobic matching and membrane-mediated interactions in lipid bilayers containing gramicidin. *Biophys Journal*. 1999, 76(6), 3176-3185. ISSN 0006-3495.
- [25] MAY, S., KOZLOVSKY, Y., BEN-SHAUL, A., KOZLOV, M. M. Tilt modulus of a lipid monolayer. *European Physical Journal E*. 2004, 14, 299-308.
- [26] KRALJ-IGLIČ, Veronika, HÄGERSTRAND, Henry, VERANIČ, Peter et al. Amphiphile-induced tubular budding of the bilayer membrane. *European Biophysics Journal*. 2005, 34, 1066-1070. ISSN 1432-1017.

## ANOTACE

Práce je věnována zhodnocení vlivu mechaniky membrány na zabudování hydrofobní nanočástice různého rozměru, tvaru a počtu. Kritický poloměr nanočástice zabudované do membrány ovlivňují zejména mechanické vlastnosti membrány a jako primární parametr se jeví vlastní křivost monovrstvy. Je-li vlastní křivost záporná, je membrána schopna pojmout i nanočástice s velkým průměrem. Práce ukazuje menší kritický rozměr cylindrické nanočástice v porovnání se sférickou nanočásticí stejného objemu, který může vysvětlit vyšší biologickou aktivitu cylindrických nanočástic pozorovanou v buněčných experimentech. Membrána v mechanické popisu není jen pasivní složkou, ale její deformace vede ke vzniku síly působící na nanočástice. Tato síla může být jak přitažlivá, tak odpudivá, v závislosti na vzájemné vzdálenosti a velikosti nanočástic. Na základě výsledků je v práci vysvětleno experimentální pozorování Janusových lipozomů s nanočásticemi na základě existence dvou stavů oddělených energetickou bariérou.

## **SUMMARY**

The work is devoted to the evaluation of the influence of membrane mechanics on the incorporation of hydrophobic nanoparticles of various sizes, shapes and numbers. The critical radius of the nanoparticle incorporated into the membrane is mainly influenced by the mechanical properties of the membrane, and the intrinsic curvature of the monolayer appears to be the primary driving parameter. If the intrinsic curvature is negative, the membrane is able to accommodate even nanoparticles of a large diameter. The work shows a smaller critical dimension of a cylindrical nanoparticle compared to a spherical nanoparticle of the same volume, which may explain the higher biological activity of cylindrical nanoparticles observed in cell experiments. The membrane in the mechanical description is not only a passive component, but its deformation leads to a force acting on the nanoparticles. This force can be either attractive or repulsive, depending on the distance and the size of the nanoparticles. Based on the results, the work explains the experimental observation of Janus liposomes with nanoparticles based on the existence of two states separated by an energy barrier.