

Posudek na disertační práci k získání titulu "PhD" v oboru *Biomechanika*

Název práce: *Nanomechanika membránových inkluzí*

Autor práce: *ing. Jitka Řezníčková*

Fakulta strojní ČVUT v Praze

Široké využívání umělých nanomateriálů vede k obavám na vliv přirozených (evolucí vyvinutých) biologických systémů. Zásadní je vliv na životní prostředí a na člověka zvláště. Hlavním důvodem je jejich přítomnost jak v kosmetice a různých léčebných přípravcích tak i ve vzduchu. Díky jejich velikosti (1-10 nm) jsou ve srovnání s lidskou buňkou (pro nás jsou nejdůležitější eukaryotické buňky o velikosti 5-100 μm) velmi malé a proto mohou snadno proniknout jejich lipidovou membránou jejíž tloušťka je přibližně 10 nm a následně ovlivnit vlastnosti uvnitř buňky. Tyto vlastnosti mohou ovlivnit buď negativně (naruší proces jejího dalšího rozmnožování-dělení) a nebo pozitivně (přinášejí do buňky dodatečnou opravou "informaci" potřebnou k jejímu řádnému dělení). Uvedené skutečnosti jsou důvodem proč je třeba studovat přechod nanočástic z vnějšího prostředí do buňky.

Formulace cílů práce a způsoby jejich dosažení ukazují na aktuálnost a společenský význam předkládané práce. Hlavním cílem bylo vypracování metody pro stanovení podmínek inkluze nanočástice do buňky. Práce si vytknula tři následné na sebe navazující cíle:

1. Popis mechanických vlastností buněčné membrány v interakci s nanočásticí.
2. Stanovit kritickou velikost částice zabudované do buněčné membrány při uvažování interakce nanočástice v membráně (lipidové dvojvrstvě), tzv NP-lipozomový komplex (NP-L) a nanočástice obklopené lipidovou vrstvou, tzv. NP-micelární komplex (NP-M)
3. Vytvořit matematický model pomocí kterého bude možno stanovit potřebnou energii k zabudování nanočástice do biologické membrány.

Hodnocení.

Použitý teoretický model vychází z práce H.S.Wi a kol. Interfacial energy consideration in the organization of a quantum dot–lipid mixed system, uvedenou pod citací [93]. V této práci je uveden model pro interakci lipidové membrány s kvantovou tečkou (nanočásticí- NP), založený na jednoduchém geometrickém předpokladu pomocí něhož je formulována ohybová a deformační (stretching) energie pro jednovrstvou lipidovou membránu. V tomto pojetí je možné popsat dva stavy: stav komplexu kvantové tečky (nanočástice NP) a lipozomu, kde NP je inkorporována do lipidové dvojvrstvy lipozomu (NP-lipozomový komplex) a druhý případ kdy je jednotlivá NP pokryta lipidovou monovrstvou- tvoří micelu s vnější orientací hydrofilních hlavic. Je ukázáno, že existuje určitá kritická velikost NP~3.25 nm, pro kterou je stav NP-L stabilnější (menší deformační energie) než pro stav NP-M. Tento model je velmi názorný a i dostatečně přesně koresponduje s experimentem. Byl to první teoretický model, který předpovídal závislost stability velikosti NP na lipidové dvojvrstvě.

Výše uvedená práce byla použita jako východisko k vypracování předložené doktorské práce. Metodika i formulace byla autorkou tvůrčím způsobem rozvinuta a to jak v oblasti teorie tak i v následné numerické simulaci. Jde o velmi složitý problém, který vyžaduje znalost současného

stavu molekulární (buněčné) biologie a mechaniky, včetně moderních výpočetních metod. Moje hodnocení z hlediska bodů relevantních pro disertační práci k udělení titulu PhD je následující:

- *Rozbor z hlediska současného stavu řešené problematiky.* V práci je využito nejnovějších poznatků z oblasti struktury a mechanických vlastností buněčných membrán a jejich matematických modelů. Je popsána metoda inkluze nanočástice do buněčné membrány. Z rozboru je zřejmé, že autorka použitým metodám porozuměla a analyzovala jejich přednosti i nedostatky.
- *Teoretický přínos k řešení dané problematiky.* Autorka samostatně zpracovala metodu postupných fluktuací tvaru membrány, kterou ověřila existujícím analytickým řešením. Metodu rozšířila na inkluzi dvou částic kulového a válcového tvaru a ukázala, že díky jejich vzájemné interakci je jejich vazebná energie v membráně nejnižší v tom případě, kdy jsou částice těsně u sebe
- *Praktickým přínosem je odladěný program umožňující operativní stanovení velikosti vazebné energie nanočástic v membráně.* Na konkrétních příkladech byla prokázána praktická použitelnost metody včetně provedené citlivostní analýzy a to jak na materiálové parametry tak i na velikost výpočtové sítě.
- *V práci použité metody považuji za vhodné a i způsob jejich aplikace za zdařilý.* Jak teoretická formulace problému tak i návaznost na její použití, odpovídá současným trendům vědecké práce. Uvedeny jsou i meze použitelnosti metody (aplikace na různé velikosti a tvary membrány) a její výhody (touto metodou lze dokázat empiricky potvrzený fakt, že cylindrické nanočástice mají nižší vazebnou energii a mohou tudíž snáze proniknout do buňky).
- *Doktorandka prokázala patričné znalosti v oboru biomechaniky a to jak v oblasti teorie tak i v oblasti návrhu a realizace konkrétního numerického algoritmu.* Vědeckou metodou prokázala použitelnost navrženého postupu ke stanovení vlastností nanočástic a buněčných membrán. Práce tak přispívá k přesnějšímu vyhodnocení experimentů inkluze nanočástic do buňky. Je spoluautorkou 10 publikací, 4 jsou v zahraničních sbornících.
- *Formální úroveň práce je dobrá.* Metody a výsledky jsou stručně a dostatečně jasně vysvětleny v hlavní části práce. Doplňující informace jsou odsunuty do dodatků. V práci jsem nenašel žádné zásadní věcné chyby a jen zanedbatelné tiskové chyby. Ve vztahu (2.2) má zřejmě být κ_c místo μ a ve vztahu (2.3) má být κ_c místo γ .
- *Cíle stanovené v disertaci byly splněny.*

K práci mám tři následující dotazy:

- 1 Podle vztahu (2.2) je pro proniknutí nanočástice do buňky potřeba určitá velikost adhézní energie γ , která je větší než je energie napjatosti membrány $\kappa_c = 23k_B T / \text{nm}^2$. Tento vztah je odvozen z podmínky rovnosti deformační energie s energií adhezní. Jestliže neexistuje adhezní energie, pak částice nemá důvod do buňky (membrány) pronikat. Bez dodatečné vnější energie nemá funkcionál volné energie lokální minimum vzhledem k velikosti částice. Podle Vašich výpočtů je vazebná energie pro nanočástici o poloměru $r = 2 \text{ nm}$ kulového tvaru (NP-M), viz. Obr. 5.1 rovna $\Delta G = \Delta G_{bend} + \Delta G_{stret} = 100 k_B T$. Pro velikost kritického poloměru $r_{crit} = 2 \text{ nm}$ (nejmenší částice která ještě může proniknout do buňky)

vychází podle vztahu (2.2) $\gamma=27.5k_B T/nm^2$. Potom celková adhezní energie je $\Delta G_{adh} = -4\pi\gamma r^2 = -1381k_B T$. Tudíž $\Delta G + \Delta G_{adh} = -1281k_B T < 0$ a volná energie systému nanočástice v buňce je mnohem menší než systému s nanočásticí vně buňky. Je reálná tak velká adhezní energie? Jaký důvod má částice zůstat uvnitř membrány?

- 2 Na Obr. 5.10 je ukázán vliv parametrů modelu na kritický poloměr nanočástice r_{crit} . Jak je tento poloměr stanoven, podle vztahů (2.1) nebo (2.2)? Je uvažována adhezní energie částice?
- 3 O míře vlivu ohybu a laterálního napětí (stretchingu) vypovídá poměr $\lambda = \sqrt{2\kappa_b / \kappa_c} = \sqrt{2 \cdot 9 / 23} = 0.88 nm$. Pro $\lambda < r_{crit}$ je třeba respektovat i vliv stretchingu. Tuto podmínku vypracovaný program splňuje. Otázkou je, proč není na Obr. 5.10 zobrazující citlivostní analýzu uveden kompresní modul $\kappa_c = 23k_B T/nm^2$, uvedený v Tab. 4.2?

Uvedené dotazy mají za cíl upozornit autora na některé otázky, které se zdají oponentovi zajímavé a měly by být zodpovězeny, zvláště v případě, bude-li se metoda dále používat, popř. rozvíjet.

Závěr

Práce má dobrou odbornou i výbornou grafickou úroveň a tvoří kompaktní celek, počínaje formulací cílů, přes definici metod jak těchto cílů dosáhnout, až ke konkrétním výsledkům. *Autorka navrhla a odladila numerický program na bázi optimálního řízení (metody postupných fluktuací). Metodu ověřila na řadě praktických případů, které lze ověřit publikovanými experimenty.* Mohu konstatovat, že předložená práce splňuje ustanovení § 72, odst. 3 Zákona č. 111/1998 o vysokých školách a doporučuji ji k obhajobě. Navrhuji aby byl **Ing. Jitce Řezníčkové** po úspěšné obhajobě, udělen titul PhD na Fakultě strojní ČVUT v Praze.

V Praze dne 8.července 2021

Prof. Ing. František Maršík, DrSc
Ústav termomechaniky AVČR