

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



DISERTAČNÍ PRÁCE

NANOMECHANIKA BIOMEMBRÁNOVÝCH INKLUZÍ

Jitka Řezníčková

Studijní program

Strojní inženýrství

Studijní obor

Biomechanika

Školitel

prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych na tomto místě velice poděkovat vedoucímu mé disertační práce panu prof. RNDr. Mateji Danielovi, Ph.D. za trpělivost, kterou se mnou měl, za jeho cenné rady a pomoc, bez kterých by tato práce nemohla vzniknout. Dále bych chtěla poděkovat všem, na něž jsem se mohla během celého svého studia spolehnout.

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem disertační práci s názvem „*Nanomechanika biomembránových inkluzí*“ vypracovala na Ústavu mechaniky, biomechaniky a mechatroniky samostatně pod vedením pana prof. RNDr. Mateje Daniela, Ph.D. s použitím literatury, uvedené na konci mé disertační práce v seznamu použité literatury. Nemám žádný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

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 mechanickém 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.

KLÍČOVÁ SLOVA

nanočástice; fosfolipid; biologická membrána; biomechanika; deformační energie;

ANNOTATION

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.

KEYWORDS

nanoparticle; phospholipid; biological membrane; biomechanics; deformation energy;

OBSAH

1. ÚVOD	6
2. STAV PROBLEMATIKY INTERAKCE BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY S NANOČÁSTICÍ ...	8
3. CÍLE PRÁCE	17
4. METODY	18
4.1 Základní předpoklady interakce nanočástice a membrány	18
4.2 Vliv velikosti nanočástice a mechanických vlastností membrány	24
4.3 Vliv tvaru nanočástice	28
4.4 Vliv interakce nanočástic v biologické membráně	30
4.5 Výpočet tvaru membrány odpovídající minimální energii	33
4.6 Parametry modelu	43
5. VÝSLEDKY	45
5.1 Srovnání řešení analytického a numerického modelu	45
5.2 Vliv mechanických parametrů membrány na kritickou velikost nanočástic	52
5.3 Vliv vzdálenosti dvou nanočástic	56
5.4 Vliv tvaru nanočástic	59
6. DISKUZE	61
7. ZÁVĚR	67
8. LITERATURA	68
9. PŘÍLOHY	86

SEZNAM POUŽITÉ SYMBOLIKY

γ	[Jm ⁻²]	adhezní energie na jednotku plochy
ξ	[nm]	tloušťka lipidové monovrstvy
μ	[Jm ⁻²]	povrchové napětí biologické membrány
Ω	[-]	počet konfigurací
ϑ	[1]	úhel
κ_b	[k _B T]	ohybový modul membrány
κ_c	[k _B T]	kompresní modul
Δu	[kT/nm]	energie na molekulu
A	[nm ²]	plocha membrány
a_o	[m ²]	plocha jednoho lipidu (resp. nm ²)
b	[nm]	délka segmentu
C	[nm ⁻¹]	křivost membrány
C_0	[nm ⁻¹]	vlastní křivost
d	[nm]	vzdálenost nanočástic
e	[1]	deformace
E	[Nm]	energie
$f_{stretch}$	[pN]	síla potřebná pro natažení řetězce
G	[k _B T]	energie
G_{ADE}	[k _B T]	energie nelokální natažení membrány
$G_{adhesion}$	[k _B T]	energie v důsledku van der Walsových sil
G_{bend}	[k _B T]	ohybová energie membrány
$G_{stretch}$	[k _B T]	deformační energie uhlovodíkových řetězců
H	[nm ⁻¹]	střední křivost
H_0	[nm ⁻¹]	střední vlastní křivost
k_G	[k _B T]	Gaussův modul
l	[nm]	délka válce
N	[-]	počet elementů
r	[nm]	poloměr nanočástice
R	[nm]	poloměr křivosti
r_c	[nm]	kritický poloměr nanočástice
r_{ee}	[nm]	délka řetězce
R_{NP}	[nm]	poloměr nanočástice
S	[JK ⁻¹]	entropie
u	[nm]	natažení uhlovodíkového řetězce
Θ	[1]	úhel
λ	[nm]	charakteristická délka
ψ	[1]	úhel natočení

SEZNAM ZKRATEK

ADE	– area difference elasticity
AFM	– mikroskopie atomárních sil
CNP	– cylindrická nanočástice
CNP-L	– lipozomový komplex cylindrické nanočástice
CNP-M	– micelární komplex cylindrické nanočástice
DMPC	– fosfolipid dipalmitoylphosphatidylcholin $C_{40}H_{80}NO_8P$
DOPC	– fosfolipid dipalmitoylphosphatidylcholin $C_{40}H_{80}NO_8P$
DPPC	– fosfolipid dipalmitoylphosphatidylcholin $C_{40}H_{80}NO_8P$
GUV	– velký unilamelární lipozom, průměr 1-200 μm
Kryo-TEM	– kryoelektronová mikroskopie
LUV	– velké lipidové vezikuly, průměr větší než 200 nm
NP	– nanočástice
NP-L	– lipozomový komplex s nanočásticí
NP-M	– micelární komplex s nanočásticí
SEM	– skenovací elektronový mikroskop
SLB	– lipidová dvojvrstva vázaná na povrchu
SLSQP	– sekvenční kvadratické programování nejmenších čtverců
SNP	– křemíkové nanočástice
SQP	– sekvenční kvadratické programování
SUV	– malé lipidové vezikuly
TEM	– transmisní elektronový mikroskop

SEZNAM OBRÁZKŮ

- 2.1 Lipozom s nanočásticemi na povrchu a uvnitř lipidové dvojvrstvy
- 2.2 Tři možné výskyty nanočástic v kontaktu s buněčnou membránou
- 2.3 Schématické znázornění zabudovaných hydrofobních zlatých nanočástic
- 2.4 Kryo-TEM obrazy SNP internalizované uvnitř vezikuly
- 2.5 3D znázornění AFM měření
- 2.6 Schématické znázornění interakce nanočástic
- 2.7 Obrázky fluorescenční mikroskopie
- 4.1 Geometrie NP-L a NP-M uspořádání
- 4.2 Poloha lipidické molekuly v membráně
- 4.3 Znázornění axisymetrického problému
- 4.4 NP-M model
- 4.5 Geometrie válcové nanočástice obklopené lipidovou membránou
- 4.6 Micelární fáze a lamelární fáze válcové nanočástice a fosfolipidů
- 4.7 Vezikuly s oddělenými a kondenzovanými nanočásticemi
- 4.8 Geometrický model lipidové dvojvrstvy se dvěma vloženými nanočásticemi
- 4.9 Geometrie membrány
- 4.10 Geometrie zakřivení membrány
- 4.11 Určení souřadnic a sklonu křivky
- 4.12 Schéma řešení s okrajovými podmínkami
- 4.13 Schéma postupu výpočtu metody SQP
- 4.14 Schematické znázornění změny tvaru membrány při využití algoritmu postupných fluktuací
- 4.15 Vývojový diagram algoritmu postupných fluktuací
- 5.1 Srovnání energie membrány při použití analytického a numerického modelu se stejnou geometrií
- 5.2 Srovnání tvarů membrány při použití analytického a numerického modelu
- 5.3 Energie na jednu molekulu v závislosti na vzdálenosti nanočástic, vliv počtu elementů
- 5.4 Konvergence řešení se zvyšujícím se počtem elementů
- 5.5 Energie na jednotku délky v závislosti na celkové délce membrány
- 5.6 Konvergence sledovaných parametrů v závislosti na délce membrány
- 5.7 Energie v závislosti na vzdálenosti nanočástic
- 5.8 Energie dvou nanočástic v membráně ve vzdálenosti l
- 5.9 Energie komplexu membrána-nanočástice v závislosti na poloměru nanočástice
- 5.10 Vliv parametrů membrány na kritický poloměr
- 5.11 Kritický poloměr jako funkce vlastní křivosti membrány a ohybové tuhosti membrány, resp. Kompresního modulu membrány
- 5.12 Fázový diagram nanočástice v membráně
- 5.13 Energie membrány na molekulu lipidu v přítomnosti nanočástic s ohledem na referenční energii rovinné lipidové dvojvrstvy v závislosti na vzdálenosti mezi nanočásticemi pro různé velikosti nanočástic
- 5.14 Graf příspěvku protažení a energie ohybu vztažené k relativní elastické energii na molekulu lipidu v přítomnosti nanočástic
- 5.15 Vliv změny vnitřní křivosti, kompresně expanzivního modulu a ohybového modulu na energii na molekulu lipidu v přítomnosti nanočástic
- 5.16 Výška energetické bariéry s ohledem na seskupenou a separovanou fázi nanočástic vypočtenou pro různé hodnoty membránových parametrů
- 5.17 Závislost deformační energie lipidové vrstvy na poloměru válcové nanočástice s různou délkou
- 5.18 Závislost deformační energie lipidové vrstvy a délce válcové nanočástice s různým poloměrem

SEZNAM TABULEK

- 4.1 Základní parametry modelu podle Wi a kol. [93]
- 4.2 Parametry použité pro citlivostní analýzu
- 4.3 Rozsah geometrických a mechanických parametrů monovrstvy membrány NP a fosfatidylcholinu
- 5.1 Citlivostní analýza pro celkovou délku membrány 30 nm
- 5.2 Citlivostní analýza při stálé délce elementu 0,2 nm
- 5.3 Srovnávání výsledků metody SLSQP a algoritmu Monte Carlo
- 5.4 Odhadované hodnoty kritických poloměrů a délek

1. ÚVOD

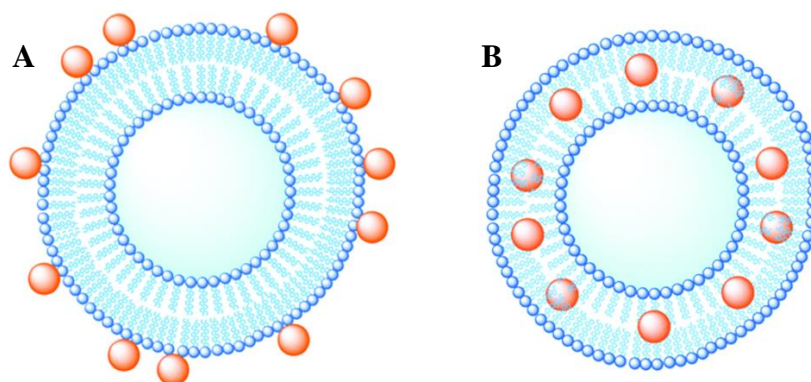
Velký rozvoj nanomateriálů vedl ke zvýšení počtu a rozmanitosti umělých nanočástic v životním prostředí [1 - 4]. Každý den jsme vystaveni produktům obsahujícím umělé nanomateriály, jedná se například o baterie, katalyzátory, chemické povlaky, obaly, elektronická zařízení a kosmetiku [5]. Rozšíření výroby umělých nanomateriálů vedlo k vážným obavám v důsledku jejich dopadu na lidské zdraví a životní prostředí obecně. Nanočástice se snadno rozptýlí ve vzduchu a jsou vdechovány vzhledem k jejich malé velikosti [6 - 7]. Roste jejich použití v opalovacích krémech, kosmetice a jiných výrobcích pro osobní hygienu. Mohou tedy vstoupit do krevního oběhu permeací přes kůži [1]. Nanočástice se také nacházejí v pesticidech, potravinářských výrobcích a obalech a mohou se do organismu dostat přes trávicí trakt [8 - 9]. Dalším zdrojem nanočástic v lidském těle jsou zdravotnické implantáty, ze kterých se uvolňují nanočástice v důsledku jejich opotřebení. Nanočástice můžeme do těla vpravit i přímo jako nanomedicínské preparáty nebo jako kontrastní látky pro zobrazovací vyšetření magnetickou rezonancí [10 - 13]. I s ohledem na množství nanočástic nejsou zatím známe důsledky na životní prostředí a lidské zdraví [14 - 16]. Rozpoznání umělých nanomateriálů ohrožujících živé organismy je obtížné, vzhledem k velkému množství různých nanočástic, jejich různorodým vlastnostem (např. materiál, velikost, tvar, povrch, náboj) a složitosti biologických entit (např. složení membrán a médií, typ buňky, buněčný cyklus) [17]. Interakce nanočástic s biologickými systémy může vést k závažným cytotoxickým účinkům [16, 18 - 23]. Tato cytotoxicita umělých nanomateriálů je popsána v celé řadě studií, které zdůrazňují biologický dopad nanočástic [5, 24 - 27]. Ale cytotoxicita nanočástic může být také použita ke zvýšení antibakteriální účinnosti antimikrobiálních povrchů aktivovaných ve světle [28]. Sice existuje velké množství literatury o interakcích nanočástic a buněk [29 - 31], ale neexistuje podrobný fyzikálně-chemický popis relevantních nepříznivých výsledků týkajících se chování in vivo. Většina dosud publikovaných studií nenabízí žádné přesvědčivé nanotoxikologické údaje pro modely in vitro, které by mohly umožnit předpovědět chování in vivo. Hlavní z problémů experimentů in vitro je náročnost znovu vytvořit přesně stejné podmínky prostředí, které jsou přítomny in vivo. Mnoho z koncových bodů, které byly stanoveny během in vitro testu, nemají žádný nebo jen malý význam pro fyziologické a patologické změny u člověka nebo zvířat. Pro možnost rozlišit neškodné a škodlivé nanomateriály, musíme více porozumět relevantním interakcím nebo iniciačním událostem na bio-nano rozhraních a určení vlastností nanomateriálů relevantních pro tyto interakce.

Jedním ze způsobů, jak předpovídat nano-toxikologické reakce, je přístup *in silico*, který na základě podrobného pochopení drah toxicity a struktury a dynamiky nano-bio molekul koreluje popis materiálů (fyzikální vlastnosti, jako je velikost, tvar, elektronická hladina energie, energie adsorpce lipidů) s toxikologickými následky. Takový model je možný pouze tehdy, existují-li spolehlivá data o fyzikálních vlastnostech buď z experimentu nebo ze simulace na nanoúrovni [32 - 37]. Vzhledem k tomu, že jedním z prvních kroků toxikologické odpovědi bude nanočástice, která se setkává s buněčnou membránou nebo plicním surfaktantem, je zřejmé, že mezi charakterizace materiálů by měla patřit interakce nanomateriálů a lipidické dvojvrstvy.

2. STAV PROBLEMATIKY INTERAKCE BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY S NANOČÁSTICÍ

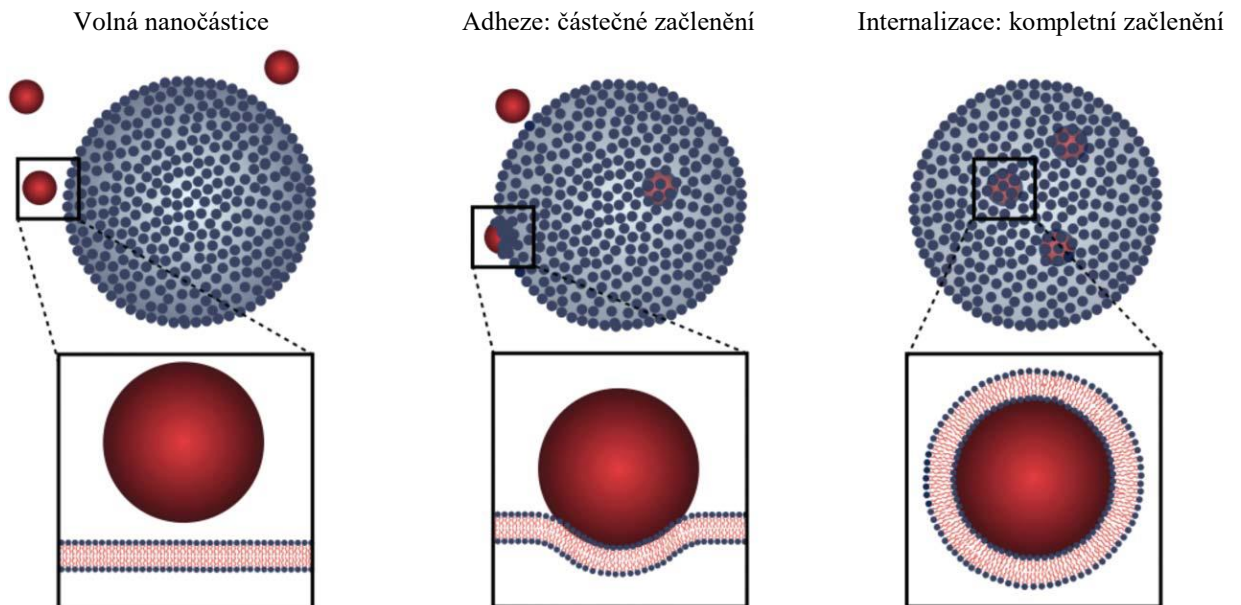
Buňka je oddělena od okolního vodného prostředí fosfolipidovou dvojrstvou bariérou - biologickou membránou. Funkcí buněčné membrány je ochrana vnitřku buněk před vnějším prostředím a udržení kontrolovaných podmínek v buněčném cytosolu. Fosfolipidová dvojrstva obsahuje proteiny, cholesterol a lipopolysacharidy, umístěné uvnitř biologické membrány nebo na jejím povrchu [39 - 41]. 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 [42 - 43]. Tyto mechanismy jsou ve většině případů řízeny buněčnou membránou prostřednictvím specifických receptorů zprostředkávajících interakci (např. klatrin, kaveolin, endocytóza zprostředkovaná flotolinem) [42, 44 - 45]. Ukázalo se, že nanočástice mohou také procházet buněčnou membránou prostřednictvím endocytózy (nebo exocytózy), aniž by se účastnily jakékoliv specifické receptory zprostředkávající interakci [46 - 49]. Lipidové membrány jsou flexibilní a dvojrstvy 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 [38].



Obr. 2.1 – (A) lipozom s nanočásticemi navázanými na povrchu, (B) lipozom s nanočásticemi uvnitř lipidové dvojrstvy. Vargas a Shon (2019) [50].

Pro účely naší práce jsou stavy lipozomů a nanočástic kategorizovány do dvou typů na základě lokalizace nanočástic v lipidové struktuře. Na obrázku 2.1 A je znázorněn lipozom s nanočásticemi, které ulpěly na povrchu a na obrázku 2.1 B je vidět stav lipozomu, kde jsou nanočástice začleněny uvnitř lipidové dvojvrstvy.



Obr. 2.2 – Tři možné výskyty nanočástic v kontaktu s buněčnou membránou. Pokud není adhezní energie dostatečně silná, nanočástice se podrobí Brownovským srážkám s biologickou membránou, ale nebudou ulpívat. Alternativně se může nanočástice zachytit na membránovém rozhraní částečně obalená lipidovou dvojvrstvou. Za správných podmínek může být nanočástice zcela obalena (pohlčena) biologickou membránou a následně se odděluje od vnitřního povrchu biologické membrány a zanechává přechodný membránový pór. Podle Campelo a Malhotra (2012) [51].

Při použití modelu navrženého Helfrichem [52 - 53] pasivní proces pohlcení nanočástice tvoří tři energetické příspěvky: adhezní energie v oblasti kontaktu mezi biologickou membránou a nanočásticí (E_{adh}), modul ohybu biologické membrány (κ_b) a povrchové napětí biologické membrány (μ). 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. Pro tento případ, definují kritický poloměr (r_c), představující minimální velikost částice, při které dojde k pohlcení nanočástice dva parametry - adhezní energie na jednotku plochy (γ) a ohybový modul biologické membrány (κ_b), [47 - 48, 54 - 55]:

$$r_c^2 = \frac{2\kappa_b}{\gamma}. \quad (2.1)$$

Nanočástice s poloměrem stejným nebo větším než je kritický poloměr, bude zcela pohlcena, jakmile dojde ke kontaktu. Buňky však vykazují nenulové zbytkové napětí v biologické membráně, které se pohybuje v rozmezí od 0,003 do 0,4 mN·m⁻¹ v závislosti na stavu a typu buněk [56 - 58]. Při výskytu membránového napětí je s procesem pohlcení spojena dodatečná potřeba energie a je zapotřebí více práce k deformaci biologické membrány tahem proti laterálnímu napětí biologické membrány (μ). V tomto případě budou nanočástice s větším poloměrem než je kritický poloměr jen částečně obaleny. Tyto nanočástice zůstávají v biologické membráně, kde hloubka průniku závisí na hodnotě napětí povrchu. Budeme-li i nadále zvětšovat velikost nanočástice nad druhý kritický poloměr ($r_{c,\sigma}$), budou procházet fázovým přechodem prvního řádu z částečně obaleného do plně obaleného stavu při $r = r_{c,\sigma}$

$$r_{c,\sigma}^2 = \frac{2\kappa_b}{\gamma - \mu}. \quad (2.2)$$

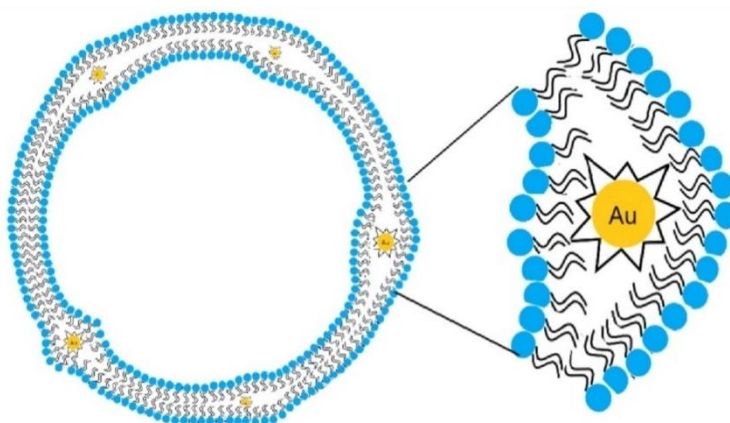
Charakteristická délka (λ), může být určena pouze na základě vlastností biologické membrány [59]:

$$\lambda = \sqrt{\frac{2\kappa_b}{\gamma}}. \quad (2.3)$$

Deformace biologické membrány v měřítku menším než λ jsou určeny primárně ohybovou energií. Ty větší než λ jsou převážně určeny energií napětí biologické membrány [38]. Například pro napětí buněčné membrány v řádu 0,05 mN·m⁻¹ a hodnoty ohybového modulu 15 k_BT je charakteristická délka přibližně 50 nm [48]. Simulace [60] a experiment [61] naznačují ohybový modul $\kappa_b \sim 23k_B T$. Proces se dále komplikuje, je-li přítomno více nanočástic. Postupné pohlcování může zapříčinit zvýšení napětí tím, jak je biologická membrána deformována [62 - 63]. Napětí se také zvýší, je-li velikost nanočástice srovnatelná s velikostí buňky nebo vezikuly. V těchto případech nárůst adheze zvýší poměr povrchu k objemu buněk a tím i membránové napětí [59].

Klíčové prvky řídící pasivní (nespecifické) pohlcování nanočástic jsou: velikost nanočástice a buňky, adhezní energie nanočástice – biologická membrána, elastický modul biologické membrány a napětí. Zásadním požadavkem je tedy přesně určená velikost částic [64 - 66]. Kromě velikosti existují také další důležité charakteristiky nanočástic, které lze experimentálně určit a které mohou ovlivnit adhezi nanočástice – biologická membrána. Například kladně nabitě nanočástice jsou často cytotoxické v důsledku jejich interakcí s negativně nabitými biologickými membránami, což vede k jejich rychlému začlenění [67 - 68]. Naopak záporně nabitě nanočástice jsou obecně méně cytotoxické, ale mohou být snadno vystaveny znečištění proteinem, jsou-li vystaveny biologickým médiím. Rychlá tvorba proteinového povlaku kolem

nanočástice mění povrchový náboj a velikost nanočástice (také vzniká tendence hromadění částic), které mohou ovlivnit buněčnou absorpci [63, 69 - 71]. Dalším zásadním faktorem ovlivňujícím rychlost absorpce a pohlcení je tvar nanočástic. To souvisí se zvýšením poměru plochy povrchu k objemu nanočástice u válcových nebo vláknových tvarů s návazností na zvětšení povrchu pro absorpci biologickou membránou [23, 72]. Nedávno bylo zjištěno, že detaily topologie povrchu nanočástice mají značný vliv na buněčné pohlcování [20]. Studium virů ukazuje, že přítomnost povlaku nebo domén na povrchu nanočástice usnadňuje buněčnou endocytózu přizpůsobením se specifickým požadavkům povrchu buňky [73 - 74].



Obr. 2.3 – Schématickém znázornění zabudovaných hydrofobních zlatých nanočástic v lipidové membráně. Slavkova a kol. (2020) [75].

Na rozdíl od nanočástic, které ulpívají na povrchu a jsou relativně velké a nabitě, jsou nanočástice vložené ve dvojvrstvě malé a hydrofobní. Bylo zjištěno, že velikost a koncentrace vložených nanočástic ovlivňuje ohyb, tekutost, teplotu fázového přechodu gel-tekutina a tloušťku fosfolipidových dvojvrstev. Tekutost lipozomových dvojvrstev jako funkce koncentrace obsažených nanočástic byla zkoumána Parkem a kol. (2005) pomocí 3 - 4 nm stearylaminem zakončených stříbrných nanočástic zabudovaných do dvojvrstev lipidů DPPC [76]. Nad přechodovou teplotou DPPC, při které by systém existoval v kapalně fázi, vede zvýšení koncentrace nanočástic ke zvýšení tekutosti dvojvrstvy. Zvýšení tekutosti však není pozorováno pod teplotou přechodu. Stejně výsledky jsou pozorovány také pro ekvivalentní zlaté nanočástice, což potvrzuje nevýznamný vliv zlatých nanočástic na tekutost dvojvrstev DPPC pod přechodovou teplotou [77]. Stříbrné nanočástice s dodekanthiolem ($5,7 \pm 1,8$ nm) zabudované do dvojvrstev lipidů DPPC, však zvyšují tekutost jak nad, tak pod teplotou fázového přechodu [78]. Tato nesrovnalost objasňuje, že větší částice narušují stav gelové fáze dvojvrstvy ve větší míře než menší částice. Také se ukázalo, že dodekanthiolem potažené stříbrné

nanočástice snižují přechodovou teplotu DPPC se zvyšujícími se koncentracemi nanočástic. Schopnost zapouzdřit částice větší než je tloušťka dvojvrstvy se také projevila v případě dodekanethiolem limitovaných stříbrných nanočástic. Naopak nárůst lipidového řádu dvojvrstvy DPPC je pozorován u lipidových magmatitů SPION s obalem kyseliny olejové, což je příkladem stabilizačního účinku se zabudováním nanočástic [79].

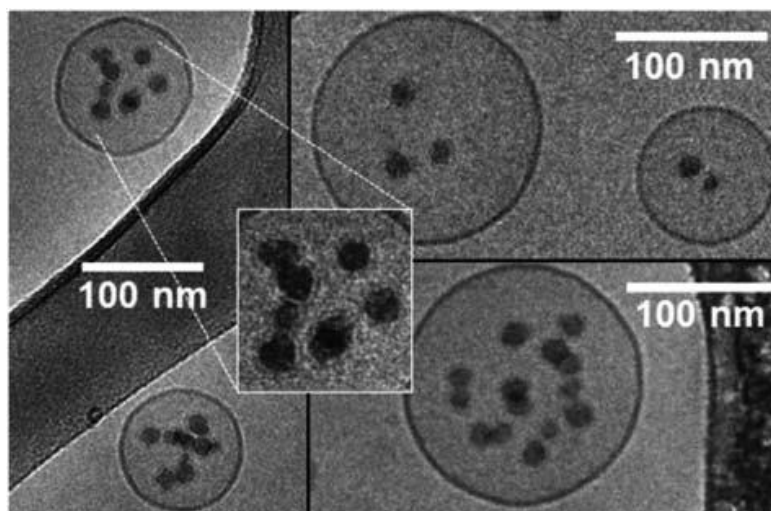
Preiss a kol. (2017) zkoumali účinky velikosti nanočástic na propustnost lipozomů DPPC za použití 2 a 4 nm zlatých nanočástic s dodekanthiolovým povrchem, přičemž 2 nm nanočástice byly menší než tloušťka dvojvrstvy a 4 nm nanočástice byly blízké tloušťce dvojvrstev [80]. Výsledky ukázaly, že menší nanočástice snižují tepelně indukovanou permeabilitu dvojvrstvy ve větší míře než větší nanočástice. Taktéž bylo zkoumáno oddalování nebo kondenzování nanočástic uvnitř dvojvrstvy. Prostřednictvím koextruze fosfolipidů EPC a dodekanthiolem obalených zlatých nanočástic menších než 2 nm nebo metodou dialýzy zahrnující smíchání předem vytvořených lipozomů s nanočásticemi dispergovanými v detergentu je pozorována hustá monovrstva zlatých nanočástic nebo Janusův klastr ve dvojvrstvě [81]. V tomto případě lze předpokládat, že kondenzování je pravděpodobně způsobeno kombinací malých velikostí nanočástic, kapalně dvojvrstvy a vysokých koncentrací nanočástic. U stearylaminem obalených zlatých nanočástic zabudovaných do DPPC dvojvrstev bylo pozorováno, že jsou nanočástice rozptýleny v gelové fázi, ale kondenzovány ve fázi kapalně [82]. To je dáno větším hydrofobním nesouladem v kapalně fázi, což je vlastnost, která řídí agregaci transmembránových proteinů.

POZOROVÁNÍ INTERAKCE NANOČÁSTICE - LIPIDOVÉ DVOJVRSVY

Během posledních několika desetiletí byly vyvinuty a zdokonaleny zobrazovací metody a techniky, které umožňují přímou vizualizaci interakce nanočástice – buněčná membrána na mikroskopické i nanoskopické úrovni a jejího účinku na integritu biologických membrán. Zejména jsou užívány transmisní, snímací a kryogenní přenosové elektronové mikroskopy (TEM, SEM a Kryo-TEM), mikroskopy atomárních sil (AFM) a fluorescenční mikroskopy [83 - 86]. V závislosti na materiálu, velikosti a náboji nanočástice, nám tyto techniky umožňují přímo zkoumat různé mechanismy interakce (např. absorpce nebo permeace) vzhledem k umístění polohy nanočástice k biologické membráně a také sledovat vlivy na biologickou membránu, jako jsou změny permeability nebo její úplné narušení [87]. Kryogenní přenosové elektronové mikroskopy umožňují pozorování interakce nanočástic se suspendovanými sférickými lipidovými vezikuly.

Le Bihan a kol. (2009) zachytili kryogenním mikroskopem snímky LUV (velkých lipidových vezikul, tj. více než 200 nm v průměru) složené z lipidů DOPC po inkubaci se SNP (křemíkové nanočástice) [88]. SNP byly vytvořeny s užitím magnetických nanokrystalů o průměru 7 nm jako zárodků pro růstový proces za účelem zlepšení kontrastu nanočástice v obrazech TEM (transmisní elektronové mikroskopie). LUV byly připraveny extruzí. Jejich práce dokazuje, že částice skutečně procházejí biologickou membránou pomocí mechanismu pohlcování. Autoři prezentují zobrazení vnitřních SNP, které vykazují monovrstvu fosfolipidů na svém povrchu. Dále ukazují, že vnitřní SNP jsou obaleny výhradně vnější monovrstvou dvojrstevných vezikul, protože fosfolipidický obal nanočástice průběhu adheze na povrch buňky zabraňuje kontaktu mezi částicí a vnitřní dvojrstvou, což ve skutečnosti snižuje adhezní energii. Ze všech SNP vystavených vezikulám, s průměry v rozmezí 15 – 190 nm, byly zcela pohlceny pouze částice větší než 20 nm, zatímco částice o velikostech 15 – 20 nm ulpěly na povrchu. Z toho jednoznačně vyplývá, že kritický poloměr pro jejich konkrétní SNP je menší než 15 nm, což s pomocí výpočtu rovnice (2.1) a $\kappa_b = 10^{-19}$ J, stanoví dolní mez adhezní energie na jednotku plochy přibližně $0,8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$.

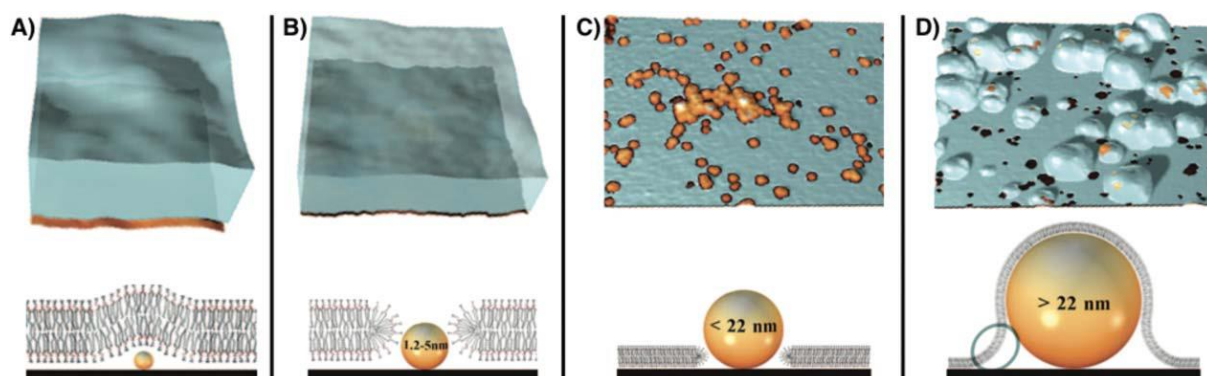
Michel a kol. (2014) studovali podobná řešení obsahující unilamelární DOPC vezikuly a SNP, kde vezikuly měly hydrodynamický poloměr 58 nm a SNP měly 16 nm v průměru [89]. Použitím SNP blízkých velikosti kritického poloměru se pokusili o zpomalení rychlosti procesu pohlcování a díky tomu studovat dynamiku procesu. Monitorovali systém pomocí dynamického rozptylu světla a kryo-TEM (Obr. 2.2).



Obr. 2.4 – Kryo-TEM obrazy SNP internalizované uvnitř vezikuly. Obrazy Kryo-TEM a zvětšené detaily ukazují přítomnost úplného pokrytí lipidovou dvojrstvou na povrchu nanočástic SNP v důsledku procesu pohlcení. Michel a kol. (2014) [89].

Zprvu bylo několik SNP zcela pohlceno, což zvýšilo napětí vezikul, protože biologická membrána byla spotřebována při tvorbě SLB. Zbývající SNP ulpívaly na vezikulách, ale pohlceny nebyly z důvodu následného zvýšení napětí. Fúze SUV, která se vyskytuje při mnohem delších časových úsecích, způsobila tvorbu větších vezikul s nižším napětím, což umožnilo, aby byly zcela pohlceny i zbývající SNP. Zvýšení koncentrace SNP dále zpomalilo proces fúze z důvodu vzájemného odpuzování adsorbovaných SNP.

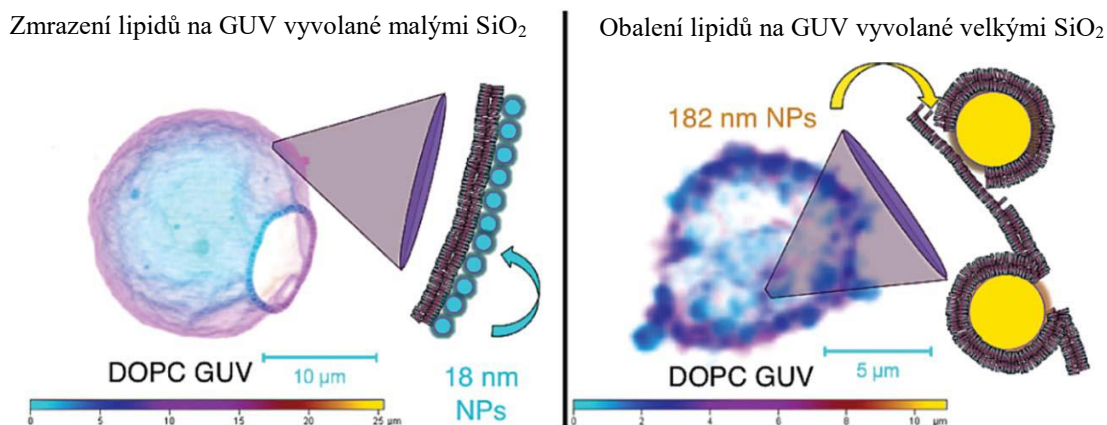
V další studii zahrnující SNP použili Roiter a kol. (2008) geometrii, která izolovala rovnováhu mezi adhezní a ohybovou energií bez komplikujícího faktoru napětí biologické membrány [90]. SNP s průměry v rozmezí od 1 do 140 nm byly umístěny na slídovou destičku a potom byla pomocí adsorpce nanosená dvojvrstva DMPC z roztoku. 3D zobrazení na obrázku 2.3 byla vytvořena z měření AFM prováděných ve stejných oblastech před a po uložení dvojvrstvy.



Obr. 2.5 – 3D znázornění AFM měření. Schémata tvorby lipidové dvojvrstvy s křemičitou nanočásticí s průměrem A - menším než 1,2 nm; B – mezi 1,2 a 5 nm; C – až 22 nm a D – větším než 22 nm. Roiter a kol. (2008) [90].

Pouze nanočástice s průměrem menším než 1,2 nm a větším než 22 nm byly plně pokryty adsorbovanou lipidovou dvojvrstvou podle tvaru povrchu. Naopak dvojvrstva vytvořila póry kolem SNP s průměry od 1,2 do 22 nm. Formace pórů v okolí nanočástic velikosti 1,2 a 5 nm byla sotva detekovatelná pomocí AFM, z důvodu podobnosti mezi tloušťkou dvojvrstvy (~5 nm) a průměrem nanočástice (3,4 nm). Pro potvrzení přítomnosti pórů byl přidán inzulin, který se absorbuje na exponovaném povrchu nanočástice, kde je snadno detekovatelný pomocí AFM. Kritický poloměr 11 nm uvedený v této studii naznačuje, že adhezní energie na jednotku plochy je přibližně $1,5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$.

Zhang a kol. (2012) studovali účinek koncentrovaných ($500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) roztoků SNP na DOPC GUV (průměr 4-20 μm) připravených elektroformací [91]. Konfokální mikroskopické snímky vezikul po vystavení SNP o průměru 18 nm zobrazují přítomnost mikroskopických pórů, jak je znázorněno na levé části obrázku 2.6.



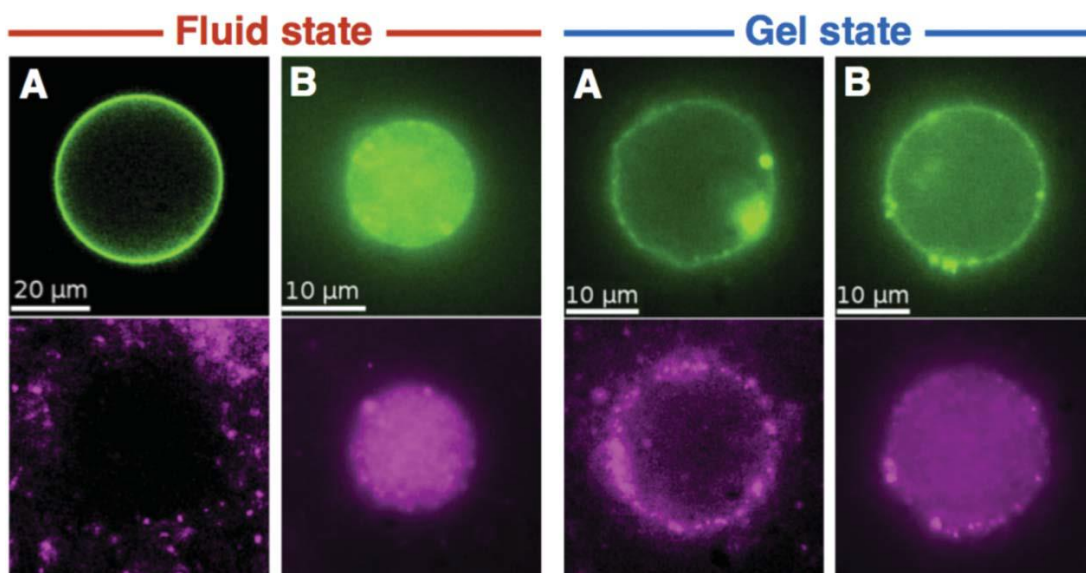
Obr. 2.6 – Schématické znázornění interakce 18 nm resp. 182 nm velkých nanočástic. Zhang a kol. (2012) [91].

Přítomnost těchto pórů svědčí o velkém napětí biologické membrány, přičemž vysoká hustota ulpívajících SNP na povrchu stabilizuje vezikuly. Velké SNP o průměru 182 nm nejsou schopny zabránit případnému prasknutí vezikuly. Obrázky jsou doplněny výpočty koeficientů difúze lipidů na základě mobility fluorescenčních sond uvnitř membrán vezikul. Při expozici 18 nm SNP se difúzní koeficient snížil z $3,1 \pm 0,34$ na $0,25 \pm 0,14 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$, zatímco částice 182 nm zvýšily difúzní koeficient na $7,14 \pm 2,4 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Původ těchto různých účinků zůstává prozatím nejasný. Autoři předpokládají, že menší SNP stabilizují póry tím, že snižují energii hrany póru.

Strobl a kol. (2014) zkoumali vliv termodynamického stavu biologické membrány na absorpci vystavením SNP o rozměrech 123 nm a 42 nm DMPC GUV při teplotách nad a pod teplotou fázového přechodu lipidů [92]. Na obrázku 2.5 jsou obrazy zachycené fluorescenční mikroskopií zobrazující vezikuly v tekutém a gelovém stavu po inkubaci se dvěma populacemi SNP.

Na obrázku 2.7 jsou lipidy zelené (horní část), kdežto částice jsou fialové (spodní část). Když byly vezikuly v jejich tekutém stavu, byly pohlceny pouze 42 nm SNP, zatímco 123 nm SNP zůstaly rozptýleny v okolí, nevykazovaly žádné známky adheze. Naopak, když byly GUV v gelovém stavu, byla silná adheze a pohlcení pozorována u obou skupin velikosti SNP, i když počet menších pohlcených SNP se zdá být výrazně nižší, než když byly vezikuly v tekutém stavu. Poslední pozorování lze chápat ve smyslu zvýšení tuhosti biologické membrány spojené

s gelovou fází (zhruba o řád větší než v kapalně fázi), u kterého lze očekávat zvýšení kritického poloměru z 1 nm na přibližně 35 nm, čímž se zabrání SNP. Autoři připisují relativně nízký výskyt pohltivosti větších částic při nárůstu membránového napětí spojeného se spotřebou biologické membrány pro tvorbu SLB. Podle teorie pružnosti by mělo být až 9 krát tolik menších částic pohlceno, než napětí zablokuje další internalizační události. To však nevysvětluje, proč velké částice nepřilnuly na vezikuly tekuté fáze.



Obr. 2.7 – Obrázky fluorescenční mikroskopie. Horní řada (zelená) tekutý a gelový stav, spodní řada (fialová) interakce s nanočásticemi. Tekutý stav (vlevo): A – po 30 minutách inkubace s částicemi o průměru 123nm, B – po 10 minutách vystavení částicím o průměru 42 nm. Gelový stav (vpravo): A – po 15 minutách vystavení částicím o průměru 123 nm, B – po 10 minutách vystavení nanočásticím o průměru 42 nm. Strobl a kol. (2014) [92].

3. CÍLE 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 adsorbovaných nanočástic. Definici 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.

4. METODY

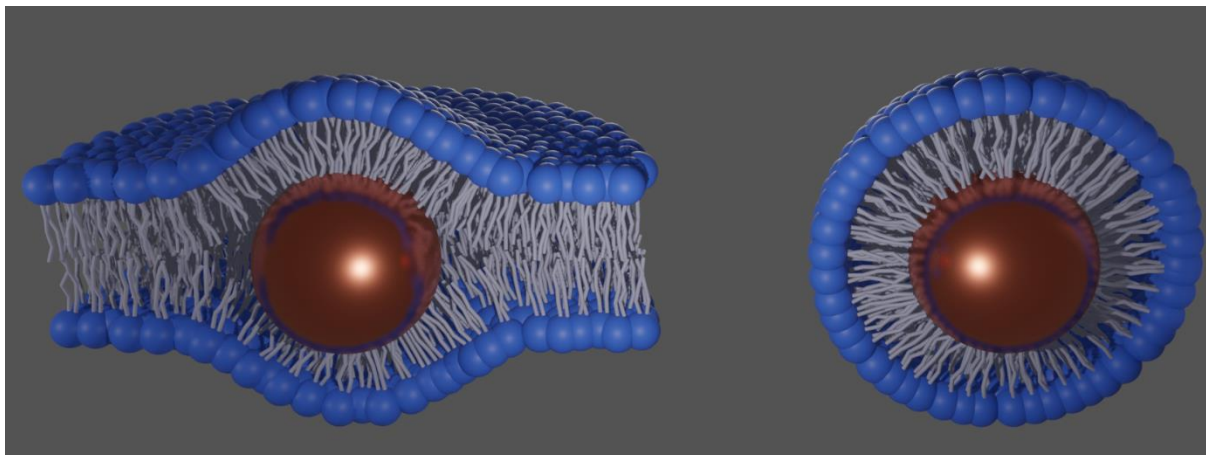
4.1 ZÁKLADNÍ PŘEDPOKLADY INTERAKCE NANOČÁSTICE A MEMBRÁNY

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 [93]:

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

ENERGIE INTERAKCE BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY A NANOČÁSTICE

Analýza interakce mezi nanočásticí a biologickou membránou je založena na popisu membrány jako tekutého dvojrozměrného krystalu [IX]. Nanočástice je brána jako inkluze, která svým začleněním mění geometrii membrány a tím také její volnou energii. 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:

$$G = G_{bend} + G_{stretch} + G_{adhesion} + G_{ADE}. \quad (4.1)$$

OHYBOVÁ ENERGIE BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY

V rámci naší práce jsme biologickou membránu považovali za složenou ze dvou monovrstev, které se deformují samostatně [IV, VIII]. Energie deformace vychází ze změny optimálního energetického stavu amfifilní molekuly. Při ohybu membrány dochází ke změně plochy rozhraní hydrofobního jádra a okolního vodního prostředí. Změna velikosti daného rozhraní může být popsána na základě lokální změny křivosti membrány, která tak definuje lokální deformaci membrány. Celková deformační energie je pro membránu vyjádřena podle Canham (1970) jako součet deformačních energií jednotlivých křivostí [94].

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \int_A \kappa_{b1} C_1^2 + \kappa_{b2} C_2^2 dA, \quad (4.2)$$

kde κ_{b1} a κ_{b2} jsou ohybové moduly membrány související s deformací membrány v prvním a druhém hlavním směru křivosti a C_1 a C_2 jsou křivosti membrány v hlavních směrech jako dvourozměrné struktury ve třírozměrném prostoru, viz Příloha A. Pro izotropní membránu, kdy se moduly membrány rovnají ($\kappa_{b1} = \kappa_{b2} = \kappa_b$) je možné napsat deformační energii ve tvaru:

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \kappa_b \int_A C_1^2 + C_2^2 dA, \quad (4.3)$$

kde κ_b je ohybový modul membrány. Dané vyjádření je možné přepsat do tvaru

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \kappa_b \int_A (C_1 + C_2)^2 dA - k_G \int_A (C_1 C_2) dA, \quad (4.4)$$

kde součin hlavních křivostí $C_1 C_2$ je tzv. Gaussova křivost K a k_G je Gaussův modul membrány. Obdobně $C_1 + C_2$ je mírou střední křivosti membrány $H = (C_1 + C_2)/2$ a může být označeno jako $2H$. Z uvedeného získáme vztah pro vyjádření ohybové deformační energie membrány jako

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \kappa_b \int_A (2H)^2 dA - k_G \int_A (C_1 C_2) dA. \quad (4.5)$$

Výhodou daného zápisu je, že pro člen Gaussovy křivosti je možné aplikovat Gauss-Bonnetovu větu, podle které je integrál Gaussovy křivosti tělesa s danou topologií po uzavřené ploše konstantní. Pro náš případ to znamená, že nemění-li se topologie membrány, je možné zanedbat člen Gaussovy křivosti při výpočtu minima deformační energie.

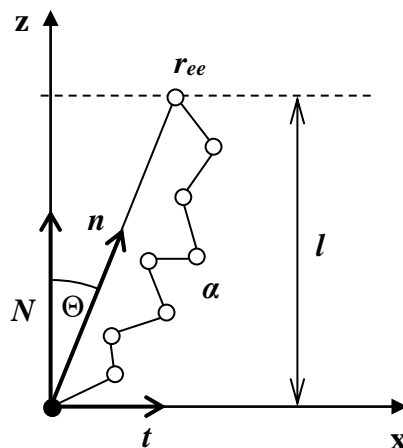
Uvedený vztah pro energii membrány je platný pouze pro rovinnou membránu, která dosahuje minimum energie za předpokladu $C_1 = C_2 = 0$. Je známo, že určité lipidy mohou generovat spontánní zakřivení membrány svým tvarem nebo asymetrickým vložením do lipidové dvojvrstvy. Lipidy s velkým plošným poměrem funkční skupiny hlavičky k uhlovodíkovým řetězcům vytvářejí pozitivní zakřivení, zatímco lipidy s opačným poměrem, vytvářejí negativní zakřivení. Negativní zakřivení může vyvolat také vložení molekuly s velkou hydrofobní částí jako je např. cholesterol [95]. Podle Helfricha, 1973 [51] je možné tento vztah modifikovat zahrnutím tzv. vlastní křivosti membrány C_0 .

$$G_{bend} = \frac{1}{2} \kappa_b \int_A (2H - C_0)^2 dA - k_G \int_A (C_1 C_2) dA. \quad (4.6)$$

Vlastní křivost membrány je rovna dvojnásobku střední vlastní křivosti $2H_0$ monovrstvy membrány, tj. je křivosti, při které je energie membrány v ohybu nulová [96].

DEFORMAČNÍ ENERGIE UHLOVODÍKOVÝCH ŘETĚZCŮ

Fosfolipidová molekula se skládá z hydrofilní polární hlavové skupiny a hydrofobního konce, který obsahuje obvykle dva uhlovodíkové řetězce. Uhlovodíkové řetězce se mohou vyskytovat v tekuté nebo krystalické fázi. V krystalické fázi („all-trans“ konformace) se uhlovodíkové řetězce chovají jako tuhé tyčovité částice v tekutém krystalu. V rámci naší práce naopak uvažujeme, že lipidy jsou nad teplotou teplotního přechodu a tudíž v plně tekuté fázi [III, IV]. Tekutá fáze biologické membrány je klíčovou pro její funkci jako elastické polopropustné bariéry. V tomto stavu jsou lipidové molekuly mobilní v membránové rovině a povrchová plocha na lipid je významně větší než v krystalické fázi. V důsledku toho jsou uhlovodíkové lipidové řetězce flexibilní a neuspořádané. Celkovou orientaci řetězce v membráně je možné určit jako průměrnou orientaci koncového vektoru (end-to-end vektoru). V rámci naší práce předpokládáme, že průměrný směr daného vektoru se shoduje s normálou n na povrch membrány.



Obr. 4.2 – Poloha lipidické molekuly v membráně. r_{ee} určuje délku řetězce, n je normálou na povrchu membrány a l je transversální tloušťka monovrstvy. Podle May a kol. (2004) [97].

V první aproximaci můžeme dostatečně dlouhý uhlovodíkový řetězec modelovat jako ideální řetězec s navzájem nekorelovanými segmenty o délce b . V případě řetězce je možné vyjádřit pravděpodobnost délky řetězce r_{ee} jako [98]

$$P(N, r_{ee}) = \left(\frac{3}{2\pi N b^2}\right)^{3/2} e^{-\frac{3r_{ee}^2}{2N b^2}}, \quad (4.7)$$

kde N je počet segmentů a b je délka jednoho segmentu. energii deformace řetězce je možné vyjádřit na základě znalosti pravděpodobnostního rozložení z konformační entropie. Pro vyjádření entropie využijeme Boltzmannovu definici entropie

$$S = k_B \ln(\Omega), \quad (4.8)$$

kde Ω je počet konfigurací, jimiž je možné získat daný stav. Pravděpodobnost je pak počet stavů Ω k celkovému počtu stavů Ω_0 . Entropii tak můžeme vyjádřit jako

$$S(N, r_{ee}) = \frac{-3}{2} k_B \frac{r_{ee}^2}{Nb^2} + S_0. \quad (4.9)$$

Energie spojená s deformací řetězce je pak vyjádřena jako

$$G_{stretch}(N, r_{ee}) = \frac{-3}{2} k_B T \frac{r_{ee}^2}{Nb^2} + F_0. \quad (4.10)$$

Dané vyjádření můžeme chápat jako změnu energie při natažení, které nám změní střední hodnotu velikosti koncového vektoru nad $|r_{ee}|$. Síla, kterou musíme působit pro natažení řetězce je

$$f_{stretch} = \frac{\partial G_{stretch}}{\partial r_{ee}} = \frac{3k_B T}{Nb^2} r_{ee}. \quad (4.11)$$

Z vyjádření pro sílu vidíme, že síla je přímo úměrná deformaci a tuhost řetězce roste s rostoucí teplotou. Pro složitější řetězce, které lze modelovat jako pružné vlákno, můžeme využít aproximaci podle Marko a Siggia (1995) [99].

$$f = \frac{k_B T}{b} \left[\frac{2r_{ee}}{r_{max}} + \frac{1}{2} \left(\frac{r_{max}}{r_{max} - r_{ee}} \right)^2 - \frac{1}{2} \right], \quad (4.12)$$

kde r_{max} je maximální deformace. Dané odvození je platné pro ideální volný řetězec. Na fosfolipidy v membráně působí také laterální interakce, které vedou k tomu, že střední koncový vektor uhlovodíkových řetězců má nenulovou délku ξ_0 . Nicméně můžeme předpokládat, že pro malé deformace $r_{ee} \ll r_{max}$ se s uvážením principů entropické elasticity řetězec chová lineárně. Proto můžeme vyjádřit deformační energii natažení nebo stlačení řetězců jako [100]

$$G_{stretch} = \frac{1}{2} \kappa_c \int_A \left(\frac{\xi - \xi_0}{\xi_0} \right)^2 dA, \quad (4.13)$$

kde ξ je deformovaná délka řetězce, ξ_0 je délka lipidových řetězců nerušené monovrstvy, κ_c je kompresní modul lipidové monovrstvy, která je úměrná energii nutné pro deformaci jednotkové plochy.

ENERGIE HYDROFOBNÍ INTERAKCE

Při inkorporaci nanočástice do hydrofobní části membrány dochází ke styku mezi uhlovodíkovými řetězci a povrchem nanočástice. V důsledku jejich přiblížení může vzniknout slabá disperzní adheze v důsledku van der Waalsových sil. Tyto síly jsou nekovalentní přitažlivé síly, které jsou důsledkem vzniku okamžitého elektrického dipólu, a jejich vznik ovlivní celkovou energii systému. Protože počet těchto vazeb je funkcí adhezivní plochy nanočástice, můžeme je vyjádřit jako

$$G_{adhesion} = \gamma 4\pi R_{NP}^2, \quad (4.14)$$

kde γ odpovídá energii jednotky plochy a $4\pi R_{NP}^2$ je plocha povrchu nanočástice o poloměru R_{NP} . Hodnotu povrchové energie na jednotku plochy bychom teoreticky mohli určit z Duprého rovnice, kdybychom dokázali určit povrchovou energii volné nanočástice a volné hydrofobní části lipidické dvojvrstvy. [101] Daná energie je ale těžce měřitelná. Obdobně není možné použít pro zjištění hodnoty povrchové energie ani Youngovu rovnici, která předpokládá adhezi kapky na rovný povrch. Rovného povrchu u nanočástice není možné dosáhnout a obdobný povrch stejného materiálu může mít jiné vlastnosti z důvodu jiné nanotopografie.

Proto v naší práci předpokládáme, že počet molekul fosfolipidů potřebných k pokrytí hydrofobního povrchu nanočástice daného poloměru R_{NP} v NP-L a NP-M stavu je téměř stejný [VIII, X]. S uvažováním tohoto předpokladu, můžeme považovat míru hydrofobní interakční energie mezi nanočásticí a lipidy za konstantní v obou stavech. Při určování relativního minima můžeme tuto energii zanedbat.

NELOKÁLNÍ ENERGIE DEFORMACE MEMBRÁNY

Nanočástice jako inkluze představuje narušení původní konfigurace membrány a změnu jejího tvaru. Tím může změnit laterální napětí membrány a ovlivnit tak celou membránu buňky nebo lipozom. Dané působení se označuje nelokální a je možné ho zohlednit na základě změny plochy membrány. Popis nelokální změny plochy membrány se označuje jako ADE model (area difference elasticity) [102]. Deformační energie daného modelu je určena jako

$$G_{ADE} = \frac{\alpha \kappa_b \pi}{2A(2\xi)^2} (\Delta A - \Delta A_0)^2, \quad (4.15)$$

kde ΔA je rozdíl plochy vnitřní a vnější membrány po inkorporaci nanočástice a ΔA_0 je rozdíl plochy mezi vnitřní a vnější membránou v původním stavu, 2ξ je tloušťka membrány [103]. Bezrozměrná konstanta α závisí na vlastnostech membrány a její hodnota se udává kolem jedné [96].

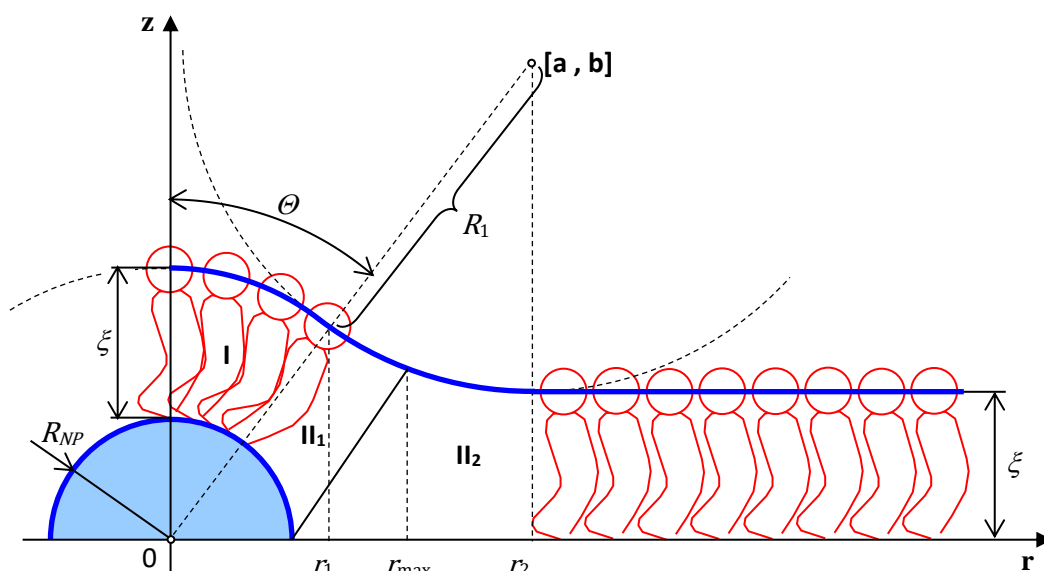
Pro nelokální efekt je nutno uvážit celkovou geometrii membrány, což přidává další variabilitu do modelu. V rámci našeho modelu předpokládáme, že celková plocha membrány je mnohem větší než je plocha ovlivněná inkluzí nanočástice. Dále předpokládáme symetrické vložení nanočástice do membrány a tudíž stejné ovlivnění vnější a vnitřní monovrstvy. Vložení nanočástice do membrány tak nedochází ke změně, ($\Delta A = \Delta A_0$). Proto můžeme předpokládat, že nelokální deformační energie je zanedbatelná.

4.2 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.

ANALYTICKÝ MODEL ZJEDNODUŠENÉ GEOMETRIE

Tento model vychází z práce Wi a kol. (2008) [93]. V následujícím textu uvedeme základní předpoklady modelu. Je nutno podotknout, že rovnice původního modelu uveřejněné v předmětném článku obsahovaly velké množství nepřesností a překlepů. Proto je tady uvádíme v jejich správné formě. Správnost uvedených vztahů byla také ověřena přepočítáním původních uveřejněných výsledků, které souhlasí s námi odvozenými vztahy [I, VII].



Obr. 4.3 – Znáznornění axisymetrického problému - průřez vnější monovrstvy obklopující nanočástici. Daniel a Řezníčková (2014) [VII].

Pro popis geometrie membrány zavedeme souřadnicový systém se středem ve středu nanočástice. Souřadnicový systém zároveň definuje rotační osu symetrie z kolmo na rovinu membrány. Tvar membrány je možné získat rotací profilu membrány kolem osy symetrie. Vzdálenost od osy symetrie se v daném sférickém souřadnicovém systému označuje jako r .

NP-L – NANOČÁSTICE V LIPIDICKÉ DVOJVRSTVĚ

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. 4.3) [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 θ (Obr. 4.3). Deformační energie se skládá z příspěvku ohybové energie membrány G_{bend} a energie natažení uhlovodíkových řetězců $G_{stretch}$.

Ohybová deformace membrány je určena na základě lokální změny křivosti membrány (4.6). Vzhledem ke křivosti membrány můžeme rozlišit dvě části deformované monovrstvy (označeny jako I, II (Obr. 4.3)). V části I povrch membrány kopíruje povrch nanočástice a oba hlavní poloměry křivosti mají hodnotu $R_{NP} + \xi$, kde ξ je tloušťka lipidické monovrstvy. Část II znázorňuje přechod mezi kulovým vrchlíkem (část I) a rovinnou membránou. Poloměr křivosti v části II je možné vyjádřit prvním poloměrem křivosti jako

$$R_1 = \frac{(R_{NP} + \xi) \cos \theta - \xi}{1 - \cos \theta}. \quad (4.16)$$

Protože problém je axisymetrický, druhý poloměr křivosti je funkcí vzdálenosti od středu nanočástice a je možné jej vyjádřit jako

$$C_2(r) = \frac{1}{R_2(r)} = \frac{a-r}{R_1 r}. \quad (4.17)$$

Celková ohybová energie může být učena jako

$$\Delta E_{bend} = \frac{\kappa}{2} \int_I \left(\frac{2}{R_{NP} + \xi} - C_0 \right)^2 dA + \frac{\kappa}{2} \int_{II} \left(-\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} - C_0 \right)^2 dA. \quad (4.18)$$

Pro daný poloměr R_{NP} a tloušťku monovrstvy ξ , můžeme deformační energii vyjádřit jako funkci jednoho parametru – úhlu θ , který může nabývat hodnot od 0 do $\arcsin[\xi / (R_{NP} + \xi)]$.

První část vzorce ohybové energie odpovídající režimu I může být upravena:

$$\begin{aligned} \Delta E_{bend I} &= \frac{\kappa_b}{2} \int_I \left(\frac{2}{R_{NP} + \xi} - C_0 \right)^2 dA = \\ &= 2\pi\kappa(\xi + R_{NP})^2 \left(C_0 - \frac{1}{\xi + R_{NP}} \right)^2 + (-2\pi\kappa) \left(C_0 - \frac{1}{\xi + R_{NP}} \right)^2 (\xi + R_{NP})^2 \cos \theta. \end{aligned} \quad (4.19)$$

Po integraci získáme pro první segment ohybovou energii

$$\Delta E_{bend I} = 2\pi\kappa \left(\frac{2}{R_{NP} + \xi} - C_0 \right)^2 (\xi + R_{NP})^2 - 2\pi\kappa \left(\frac{2}{R_{NP} + \xi} - C_0 \right)^2 (\xi + R_{NP})^2 \cos \theta. \quad (4.20)$$

Druhou část integrujeme v mezích souřadnice r od r_1 do r_2 a tím ji vyjádříme pouze jako funkci úhlu θ .

K celkové deformační energii přispívá také deformace uhlovodíkových řetězců fosfolipidů. Z modelu ideálního řetězce plyne, že deformační energii těchto řetězců můžeme popsat jako

$$\Delta E_{stretch} = \frac{\kappa_c}{2} \int_{II} \left(\frac{u}{\xi_0} \right)^2 dA, \quad (4.21)$$

kde u je natažení uhlovodíkového řetězce z tloušťky monovrstvy lipidů ξ_0 . Výpočet deformační energie uhlovodíkových řetězců v části II je rozdělen do dvou oblastí: kontaktu s nanočásticí II₁ a kontaktu s druhou monovrstvou II₂, jak je vyznačeno na obrázku 4.3:

$$\Delta E_{stretch} = \frac{\kappa}{2\xi^2} \left(\int_{II_1} (u_1(r))^2 dA + \int_{II_2} (u_2(r))^2 dA \right). \quad (4.22)$$

Hranice mezi první a druhou částí určuje přímka procházející body $[0, R_{NP}]$ a bodem $[a, b]$ na obrázku 4.3. V daném bodě je maximální deformace řetězců u . Tento bod označíme jako r_{max} a je možné ho určit jako

$$r = r_{max} = a - \frac{R_1(a - R_{NP})}{\sqrt{(a - R_{NP})^2 + b^2}}. \quad (4.23)$$

Deformaci uhlovodíkových řetězců v části II₁ je možné učit z geometrie problému jako

$$u_1(r) = \frac{1}{R_1} \left\{ a\lambda + b\sqrt{R_1^2 - \lambda^2} - \left[R_1^2 + \left((a^2 - b^2)\lambda^2 + 2ab\lambda\sqrt{R_1^2 - \lambda^2} + R_1^2(R_{NP}^2 - a^2) \right)^{\frac{1}{2}} \right]^{\frac{1}{2}} \right\} - \xi, \quad (4.24)$$

kde $\lambda = a - r$. Deformaci řetězců části II₂ můžeme určit jako

$$u_2(r) = \sqrt{\frac{R_1^2 b^2}{R_1^2 - \lambda^2}} - \xi - R_1. \quad (4.25)$$

Při výpočtech integrálů přes deformovanou plochu můžeme element plochy dA vyjádřit jako

$$dA = 2\pi r \frac{R_1}{\sqrt{R_1^2 - \lambda^2}} dr. \quad (4.26)$$

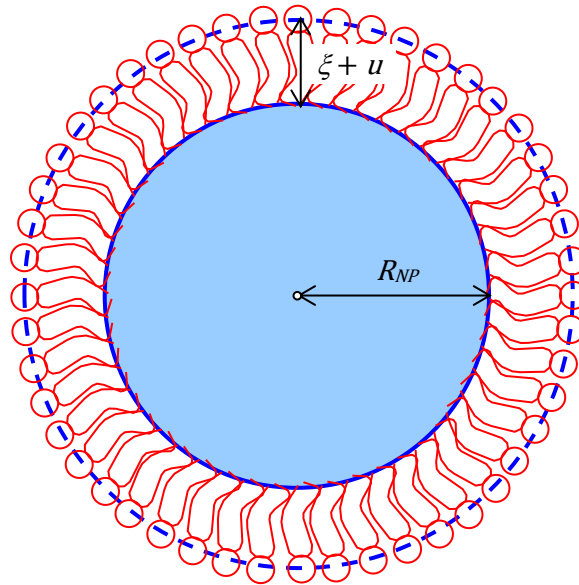
Tento vztah odpovídá rotační symetrii problému. Deformovanou plochu v případě systému NP-L můžeme vyjádřit jako součet deformovaných ploch v režimu I a II. Výsledný vztah je tedy:

$$\Delta A_{NP-L} = 4\pi \left[(\xi + R_{NP})^2 - R_1^2 + \frac{bR_1^2 - b(\xi + R_{NP})^2}{\sqrt{a^2 + b^2}} + aR_1 \arctg \left(\frac{a}{b} \right) \right]. \quad (4.27)$$

Nyní můžeme určit úhel θ_{min} , který odpovídá minimální pružné deformační energii, jako podmínku minima funkce energie.

$$\left. \frac{d\Delta E_{NP-L}}{d\theta} \right|_{\theta=\theta_{min}} = 0. \quad (4.28)$$

NP-M – NANOČÁSTICE V LIPIDICKÉ MONOVRSTVĚ



Obr. 4.4 – NP-M model. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

V tomto modelu se předpokládá, že pružná deformační energie NP-M je definována jako součet ohybové energie monovrstvy potřebné k obklopení hydrofobního povrchu nanočástice a energie potřebné ke konformačním změnám natažení nebo stlačení uhlovodíkových řetězců [V].

$$\Delta E_{NP-M} = \frac{\kappa}{2} \int (C_1 + C_2 - C_0)^2 dA = \frac{\kappa}{2} (C_1 + C_2 - C_0)^2 4\pi(R_{NP} + \xi)^2. \quad (4.29)$$

Energii natažení řetězců je možné vyjádřit jako

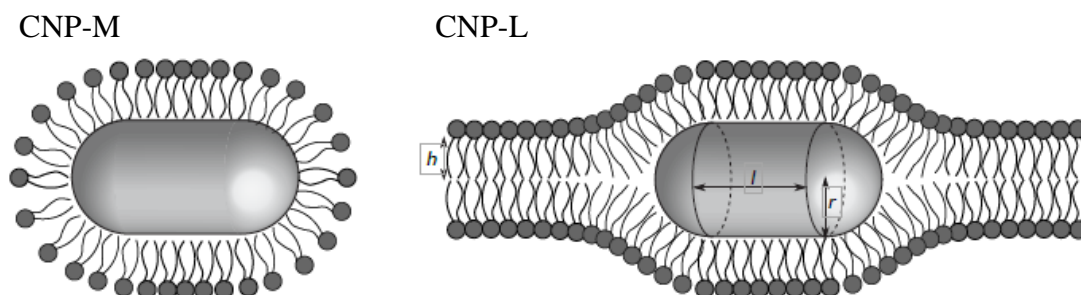
$$\Delta G_{NP-M,stretch} = \frac{\kappa_c}{2} \int_A \left(\frac{u}{d}\right)^2 dA = \frac{\kappa_c}{2} \left(\frac{u}{d}\right)^2 4\pi(R_{NP} + \xi + u)^2. \quad (4.30)$$

Deformace řetězce, která vede k minimální energii, se určí jako

$$\left. \frac{d\Delta G_{NP-M}}{du} \right|_{u=u_{min}} = 0. \quad (4.31)$$

4.3 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 [104]. Do dnešní doby byly studovány zejména interakce mezi sférickou nanočásticí a membránou [93, 38]. V naší práci jsme dosavadní studie rozšířili o studium cylindrických nanočástic.



Obr. 4.5 – Geometrie válcové nanočástice obklopené lipidovou membránou. CNP-M a CNP-L označuje micelární a lamelární komplex fosfolipidů a nanočástic. Otáhal a kol. (2019) [II].

Analýza interakce mezi válcovou nanočásticí a biologickou membránou je založena na modelu Wi a kol. (2008) [93]. Obdobně jako v případě kulové nanočástice předpokládáme pro válcovou nanočástici (CNP) existenci dvou stavů [II]:

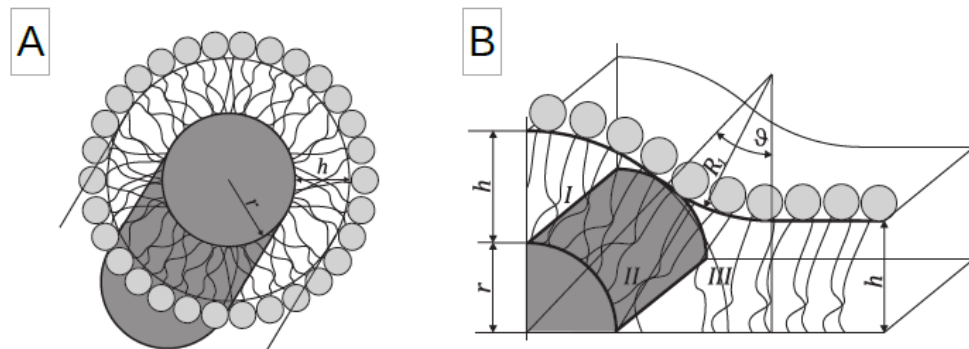
1. **CNP-lipozomový komplex (CNP-L)**, kdy je nanočástice součástí lipidové dvojvrstvy,
2. **CNP-micelární komplex (CNP-M)**, kdy je nanočástice obklopena lipidovou monovrstvou.

Předpokládá se, že válcová nanočástice má geometrii tyčinky sestávající z válce se dvěma polokulovými uzávěry. Geometrie válcové nanočástice je definována dvěma parametry: délkou válce l a poloměrem r (Obr. 4.5). Předpokládáme, že energie protažení hydroxykarbonového řetězce je pro fázi CNP-M zanedbatelná [93] a volná energie lipidové dvojvrstvy je vyjádřena na základě deformační energie membrány:

$$\Delta E = \kappa_b \left[2\pi r^2 \left(\frac{2}{r} - C_0 \right)^2 + \pi r l \left(\frac{1}{r} - C_0 \right)^2 - \pi r (2r + l) C_0^2 \right]. \quad (4.32)$$

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. 4.6 – (A) Micelární 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].

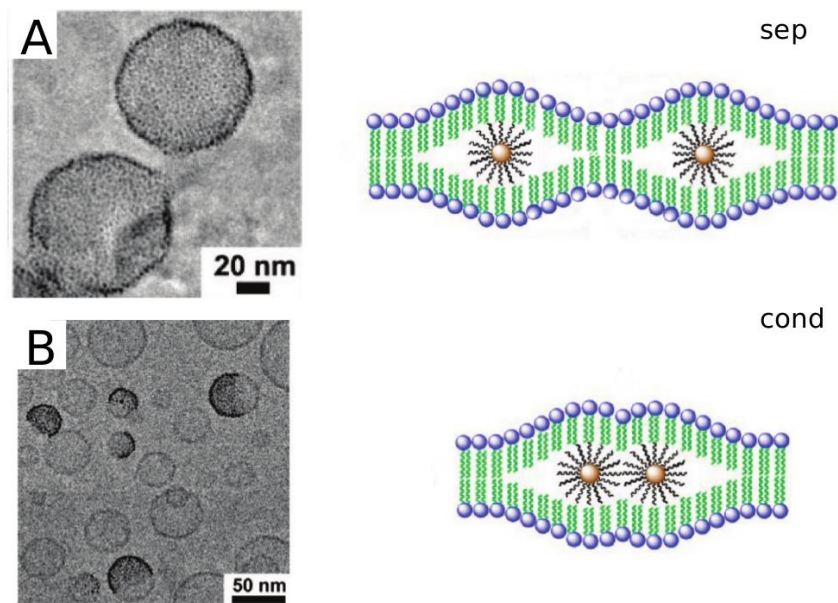
Wi a kol. (2008) [93] navrhli analytický model popisující deformaci lipidové dvojvrstvy v přítomnosti hydrofobní nanočástice za předpokladu jednoduché parametrické geometrie. Pro centrální část cylindrické nanočástice můžeme tento vztah upravit, když dáme druhou hlavní křivost rovnou nule.

$$E_{bend} = \frac{\kappa}{2} \int_I \left(\frac{1}{R_{NP+\xi}} - C_0 \right)^2 dA + \frac{\kappa}{2} \int_{II} \left(-\frac{1}{R_1} - C_0 \right)^2 dA \quad (4.33)$$

Optimální tvar θ , který minimalizuje celkovou energii, se odhaduje minimalizací celkové energie. Aby se zabránilo diskontinuitě tvaru, předpokládá se stejný úhel θ v celém válcovém a kulovém řezu válcové nanočástice CNP.

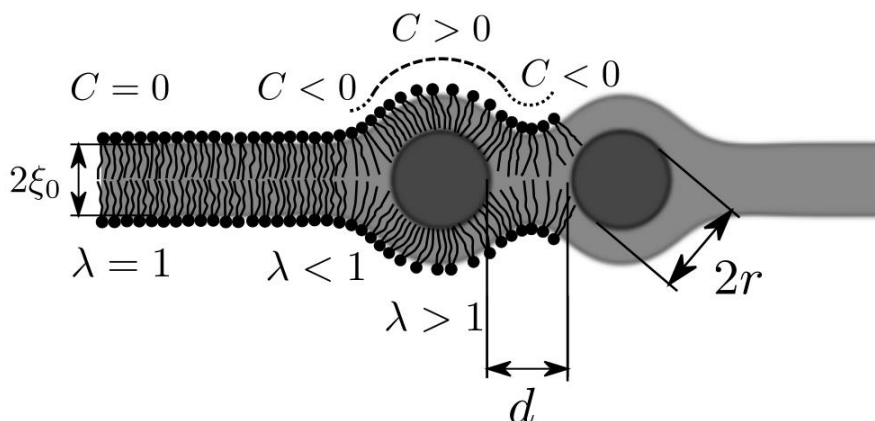
4.4 VLIV INTERAKCE NANOČÁSTIC V BIOLOGICKÉ MEMBRÁNĚ

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. 4.7A). Vezikuly připravené dialýzou obsahují membránovou oblast s nanočásticemi a membránovou oblast bez nanočástic (Obr. 4.7B). 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 [81]. Cílem naší studie je ověřit tuto hypotézu na základě odhadu energie biomembrány vyvolané redistribucí nanočástic [I, III].



Obr. 4.7 – (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) [81].

V minulosti bylo zjištěno, že uvažováním membrány jako elastického média kontinua může být dobře vysvětlena interakce mezi membránovými inkluzemi, jako jsou transmembránové proteiny [97, 105 - 106]. 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. 4.7).



Obr. 4.8 – 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 ξ_0 . Nanočástice vyvolávají změny lokálních zakřiveních dvojvrstvy C a změnu tloušťky membrány v důsledku deformace hydroxykarbonových řetězců $\lambda = \frac{\xi}{\xi_0}$. [I, III].

Lokální deformace membrány z důvodů inkluzí je pak analyzována změnou elastické energie membrány, která je zvýšena vložením nanočástice do hydrofobní části membrány [107]. Lokální rovnovážný tvar membrány je určen jako tvar s minimální elastickou energií membrány v deformovaném stavu. Zabýváme se účinkem částice vnořené do membrány na lokální rovnovážný tvar membrány a její pružnou energii [IV, VIII].

Nanočástice zabudovaná do hydrofobní oblasti lipidové dvojvrstvy indukuje poruchu v tloušťce dvojvrstvy a ohýbá obě části dvojvrstvy (Obr. 4.8). Lokální tvar lipidového dvojvrstvého obklopení kolem nanočástice je řízen současným účinkem mezi energií natažení lipidových řetězců G_c a ohybovou energií obou monovrstev G_b . Podobně jako v případě izolované nanočástice může být lokální ohybová energie vyjádřena jako odchylka lokálního zakřivení C membrány od zakřivení membrány C_0 [52], zatímco energie příčné deformace je považována za deformaci hydrofobního jádra [106, 108]. V rámci této studie [III] je problém interakce nanočástic redukován na dvojrozměrný, jak je znázorněno na obrázku 4.8. Jsou uvažovány dvě rigidní nanočástice o poloměru r oddělené vzdáleností d . Průměrná energie na molekulu lipidu může být vyjádřena jako

$$g = \frac{1}{2} \frac{a_0}{l} \int_A \kappa_b (C - C_0)^2 + \kappa_c \left(\frac{\xi - \xi_0}{\xi_0} \right)^2 dl, \quad (4.34)$$

kde κ_b a κ_c jsou ohybové a kompresně-expanzní konstanty lipidových vrstev, ξ je tloušťka deformované monovrstvy v blízkosti nanočástice, ξ_0 je délka lipidových řetězců nerušené monovrstvy a a_0 je plocha na molekulu lipidu [VIII, X].

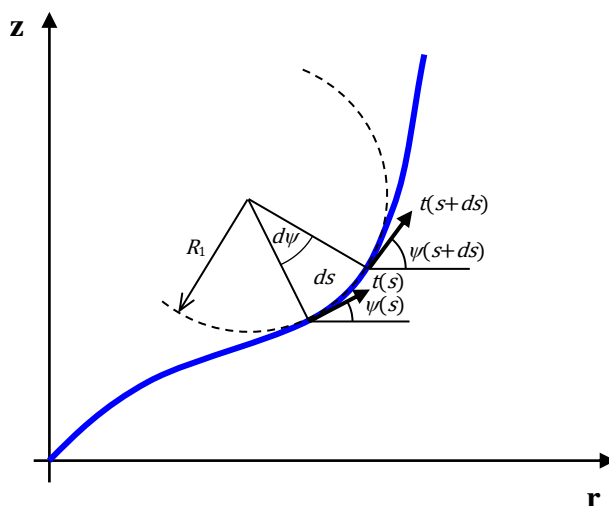
Integrace se provádí přes délku monovrstev na hydrofobně-vodném rozhraní. Optimální tvar je určen minimem průměrné elastické energie na lipid v přítomnosti nanočástic g vzhledem k energii rovinné lipidové dvojvrstvy g_{planar} ($\Delta g = g - g_{planar}$). Energií na molekulu lipidu v rovinné dvojvrstvě lze vyjádřit pomocí $C = 0$ a $\zeta = \zeta_0$ v rovnici (4.34) [IV, VIII].

4.5 VÝPOČET TVARU MEMBRÁNY ODPOVÍDAJÍCÍ MINIMÁLNÍ ENERGIÍ

Pro analýzu interakce sférické nanočástice a rovinné membrány je možné problém považovat za axisymetrický.

KŘIVOST MEMBRÁNY V AXISYMETRICKÝCH SOUŘADNICÍCH

Osa symetrie probíhá středem nanočástice kolmo na rovinu membrány. Zároveň se vnější a vnitřní vrstva membrány deformují stejně, tj. biologická membrána je symetrická vzhledem k rovině procházející středem membrány. Z hlediska odvození je vhodné zvolit souřadnicový systém tak, že střed membrány se nachází v průsečíku osy a roviny symetrie. Osu symetrie označíme jako osu z a osu, která leží v rovině symetrie jako osu r .



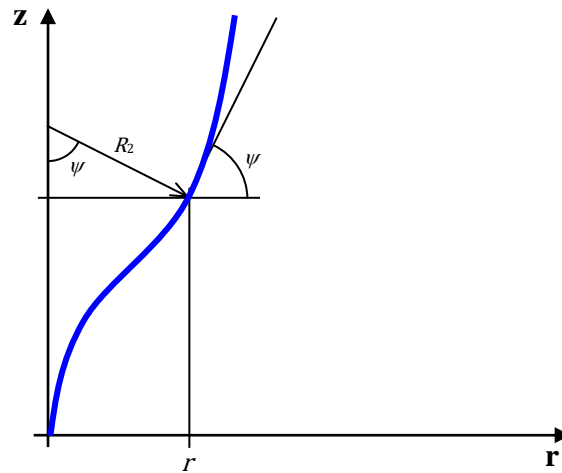
Obr. 4.9 – Geometrie membrány.

Povrch jedné vrstvy membrány je možné získat rotací křivky popisující tvar membrány kolem osy symetrie a povrch druhé vrstvy zrcadlením vzhledem k rovině membrány. V každém bodě křivky můžeme definovat dvojici vektorů: vektor t tečný ke křivce a na něho kolmý vektor n . Úhel mezi vektorem t a rovinou membrány označíme ψ . Uvažujme nyní element křivky o délce ds , který má křivost R . V každém bodě křivky můžeme přiložit oskulační kružnici, přičemž platí, že poloměr oskulační kružnice je zároveň křivostí křivky v daném bodě. Za předpokladu, že element ds má stálou křivost, můžeme pro změnu úhlu $d\psi$ napsat [109]

$$\frac{ds}{R_1} = d\psi \quad (4.35)$$

a první křivost C_1 vyjádřit

$$C_1 = \frac{1}{R_1} = \frac{d\psi}{ds}. \quad (4.36)$$



Obr. 4.10 – Geometrie zakřivení membrány.

Pro druhou hlavní křivost platí, že rovina oskulační kružnice je kolmá na rovinu určenou křivkou a osou z . Vzhledem k osové symetrii můžeme druhou křivost C_2 vyjádřit

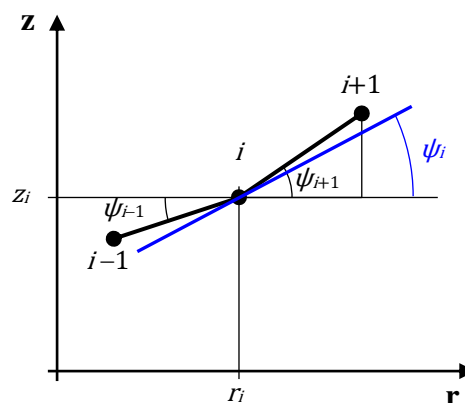
$$\sin \psi = \frac{r}{R_2} \quad (4.37)$$

$$C_2 = \frac{1}{R_2} = \frac{\sin \psi}{r}. \quad (4.38)$$

DISKRETIZACE MEMBRÁNY

V rámci naší práce jsme zvolili numerickou metodu optimalizace tvaru na rozdíl od dosavadních prací, které počítaly s analytickou křivkou. Pro popis tvaru membrány jsme tvar membrány popsali pomocí N diskrétních bodů, které dělí křivku na $N-1$ segmentů. Každý z bodů je určen prostřednictvím souřadnic $[r_i, z_i]$ kde $i = 1, \dots, N$.

Obr. 4.11 – Určení souřadnic a sklonu křivky.



Pro určení diskrétní křivosti je nutno určit sklon křivky v daném bodě a změnu sklonu křivky v jeho okolí. Sklon křivky v bodě i je určen jako aritmetický průměr sklonu elementu $i-1$ až i a i až $i+1$.

$$\psi_i = \frac{1}{2} \left(\arctg \frac{z_{i+1} - z_i}{r_{i-1} - r_i} + \arctg \frac{z_i - z_{i-1}}{r_i - r_{i-1}} \right) \quad (4.39)$$

Změnu sklonu křivky v daném bodě $\Delta\psi_i$ určíme jako rozdíl sklonu přilehlých elementů křivky.

$$\Delta\psi_i = \frac{1}{2} \left(\arctg \frac{z_{i+1} - z_i}{r_{i-1} - r_i} - \arctg \frac{z_i - z_{i-1}}{r_i - r_{i-1}} \right) \quad (4.40)$$

Křivost křivky C_1 v bodě i je možné aproximovat jako

$$C_{1i} = \frac{\Delta\psi_i}{\Delta s_i}, \quad (4.41)$$

kde Δs_i je délka elementu přináležící bodu i

$$\Delta s_i = \frac{1}{2} \left(\sqrt{(z_i - z_{i+1})^2 + (r_i - r_{i+1})^2} + \sqrt{(z_i - z_{i-1})^2 + (r_i - r_{i-1})^2} \right). \quad (4.42)$$

Křivost křivky C_2 v bodě i aproximujeme podle vztahu

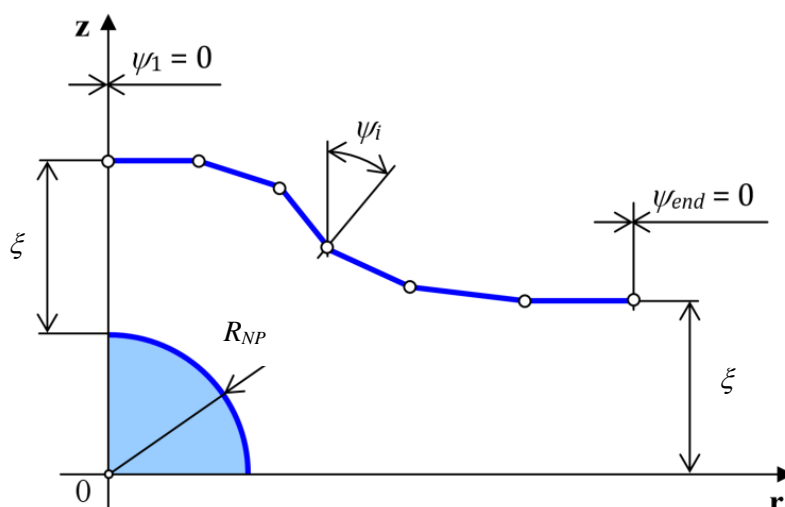
$$C_{2i} = \frac{r_i}{\sin \psi_i}. \quad (4.43)$$

Plochu membrány odpovídající danému elementu v osové symetrii určíme

$$A_i = 2\pi r_i \Delta s_i. \quad (4.44)$$

Následně je možné vyjádřit celkovou deformační energii (4.1) pomocí numerické integrace přes délku křivky. V rámci naší práce jsme pro numerickou integraci využili lichoběžníkovou metodu [110]. Při této metodě nahradíme každou část plochy integrovaného intervalu lichoběžníkem. Aproximace lichoběžníkem nevyžaduje tak velký počet dělení integračního intervalu jako obdélníková metoda integrace. Při aproximaci více lichoběžníky se funkční hodnoty vnitřních uzlových bodů objevují vždy dvakrát. Jednou figurují jako pravá mez jednoho lichoběžníku, podruhé jako levá mez sousedního lichoběžníku.

MINIMALIZACE CELKOVÉ DEFORMAČNÍ ENERGIE



Obr. 4.12 – Schéma řešení s okrajovými podmínkami. Daniel a Řezníčková (2014) [VII].

Okrajové podmínky dle obrázku 4.12 jsou [VII]:

1. úhel natočení prvního elementu $\psi_1 = 0$,
2. úhel natočení posledního elementu $\psi_{end} = 0$

Dále jsme předpokládali, že délka jednotlivých elementů je konstantní, tj. vzdálenost mezi bodem i a $i+1$ je vždy konstantní. Jednotlivé elementy se liší úhlem natočení ψ_i , $i = 1, \dots, N-1$. Celková deformační energie je tak vyjádřena pomocí souboru hodnot ψ_i a fixní délky jednotlivých elementů. Zároveň jsme předpokládali, že všechny elementy směřují v kladném směru osy r , tj. $r_{i+1} - r_i > 0$. Pro zabezpečení kontinuity membrány musí být souřadnice z posledního bodu shodná s tloušťkou membrány.

Problém nalezení minima deformační energie můžeme formálně zapsat:

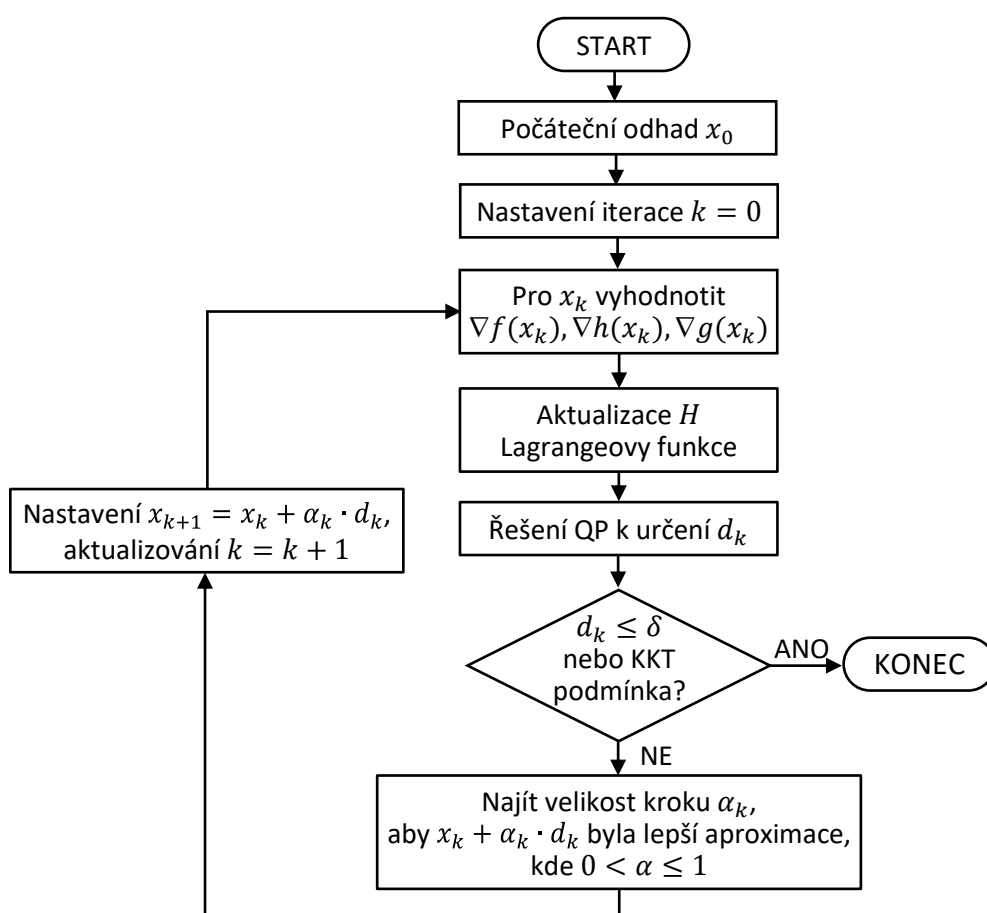
$$\left. \begin{array}{l}
 \text{minimalizuj } G(\psi) \\
 \text{za podmínek} \\
 \psi_1 = 0 \text{ a } \psi_N = 0 \\
 z_N = d \\
 \psi_i < \pi/2, \psi_i > -\pi/2,
 \end{array} \right\} \quad (4.45)$$

kde G je objektivní funkce, v našem případě energie.

METODA SEKVENČNÍHO KVADRATICKÉHO PROGRAMOVÁNÍ

Pro řešení problému uvedeného v předcházející části jsme využili metodu sekvenčního kvadratického programování, která je implementována v numerické knihovně jazyka Python `scipy.optimize`.

Metoda SQP [111] je uznávána jako jedna z nejúčinnějších optimalizačních metod pro řešení nelineárních optimalizačních problémů [112]. Jak je znázorněno na obrázku 4.13, SQP řeší nelineární problémy lineární aproximací. Použitím Newtonovy metody je generován kvadratický dílčí problém, který se snáze řeší.



Obr. 4.13 – Postup výpočtu metody sekvenčního kvadratického programování (SQP) [113 - 115].

Problémy nelineární optimalizace jsou obvykle vyjádřeny rovnicemi (4.46 až 4.48), určující hodnotu matice \mathbf{X} , která minimalizuje funkci objektu $f(\mathbf{X})$, s podmínkou omezení rovnosti a nerovnosti.

$$\text{Najděte } X, \text{ které minimalizuje } f(\mathbf{X}), \quad (4.46)$$

za následujících podmínek:

$$h_i(X) = 0, i = 1, 2, 3, \dots, m, \quad (4.47)$$

$$g_j(X) \leq 0, j = 1, 2, 3, \dots, n. \quad (4.48)$$

Lagrangeovou funkci tohoto problému, $L(X, \lambda, \mu)$ lze vyjádřit jako

$$L(X, \lambda, \mu) = f(X) + \lambda h(X)^T + \mu g(X)^T, \quad (4.49)$$

kde λ a μ jsou vektory multiplikátorů pro omezení rovnosti a nerovnosti.

Kvadratický dílčí problém je řešen linearizací a lze jej zapsat jako

$$\text{Min} \nabla f(X_k)^T d + \frac{1}{2} d^T H f(X_k) d, \quad (4.50)$$

za následujících podmínek:

$$h_i(X_k) + \nabla h_i(X_k)^T d = 0, \quad i = 1, 2, 3, \dots, m, \quad (4.51)$$

$$g_j(X_k) + \nabla g_j(X_k)^T d \leq 0, \quad j = 1, 2, 3, \dots, n. \quad (4.52)$$

Výsledkem řešení rovnic (4.50 až 4.52) je vektor řešení d s multiplikačními vektory λ a μ definovanými jako $d = X - X_k$, $\Delta\lambda = \lambda - \lambda_k$ a $\Delta\mu = \mu - \mu_k$. Tento kvadratický výsledek vytvoří směr hledání pro X a vypočítá přijatelné odhady pro multiplikátory Karush-Kuhn-Tucker (KKT) a H . Veličina H v rovnici (4.50) je pozitivně definovaná Hessiánská matice Lagrangeovy funkce, kterou aktualizuje metoda Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno, jenž počítá druhé derivace objektivní funkce a omezující funkce. Řešení konverguje, když je vektor d menší než relativní tolerance (δ) 0,0001 a za předpokladu jsou-li splněny podmínky KKT [114 - 116]. Velikost kroku α je zvolena tak, aby se zajistilo snížení objektivní funkce [117]. Výše popsany postup se opakuje, dokud se nezíská řešení X^* .

V rámci naší práce jsme zjistili, že metoda kvadratického programování není pro nalezení minima funkce dostatečná. Výsledné minimum energie a tvar odpovídající minimu ve velké míře závisel na volbě počátečního odhadu tvaru membrány. Problém jsme původně řešili automatickým generováním vstupných tvarů a následnou volbou nejlepšího řešení. Tento přístup se ukázal jako výpočtově náročný.

METODA POSTUPNÝCH FLUKTUACÍ

Pro řešení problému jsme vytvořili původní metodu optimalizace, která vychází z principů metody Monte Carlo simulované žíhání [118] a algoritmu Basin Hopping [119] 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 - vztah (4.1). 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 -tová souřadnice prvního a posledního bodu (okrajové podmínky) zůstala stejná. Algoritmus byl původně vyvinut pro uzavřenou membránu, kde kromě zachování spojitosti a plochy membrány bylo nutno zahrnout také objem buňky jako globální okrajovou podmínku. Kvůli názornosti ukážeme příklad algoritmu na nejjednodušším případě uzavřené rotačně symetrické membrány s deformací jednoho segmentu.

Vstupem do výpočtu je tvar, který splňuje okrajové podmínky. V případě uzavřené membrány to může být rotační elipsoid s určeným poměrem mezi plochou a objemem. Pro axisymetrickou úlohu tak optimalizujeme jenom tvar křivky v prvním kvadrantu.

Následně do daného systému zavedeme fluktuaci, v našem případě se jedná o změnu úhlu segmentu i o hodnotu $\Delta\psi_i$. Tato fluktuace ale zároveň změní tvar křivky, která nekončí na ose x a tím nesplňuje podmínku pro rotačně symetrickou úlohu.

Následně zavedeme korekci, natočení segmentu j o odpovídající úhel tak, aby byla dodržena okrajová podmínka. Zároveň ale dojde k fluktuaci, která změní celkový objem membrány.

V dalším kroku musíme korigovat změnu objemu membrány tak, že zavedeme fluktuaci dalších segmentů k a l . Celkový objem tak zůstane zachován.

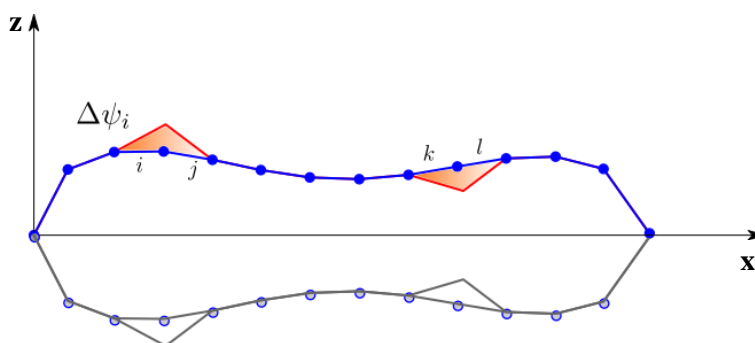
Tímto postupem získáme variaci původního tvaru, který vždy splňuje globální okrajové podmínky. Následně určíme energii nové geometrie a srovnáme s původní energií. Pro nalezení globálního minima využíváme Metropolisovo kritérium. To uvádí, že nový tvar membrány je přijat s určitou pravděpodobností, která závisí na rozdílu energie původního tvaru a změněného tvaru a parametru popisujícího teplotu. Je nutno zdůraznit, že v daném kritériu je teplota řídicí parametr optimalizačního algoritmu a neodpovídá reálné teplotě biologického systému. Metropolisovo kritérium můžeme vyjádřit jako

$$p = e^{\left(\frac{E_{old} - E_{new}}{T}\right)}, \quad (4.53)$$

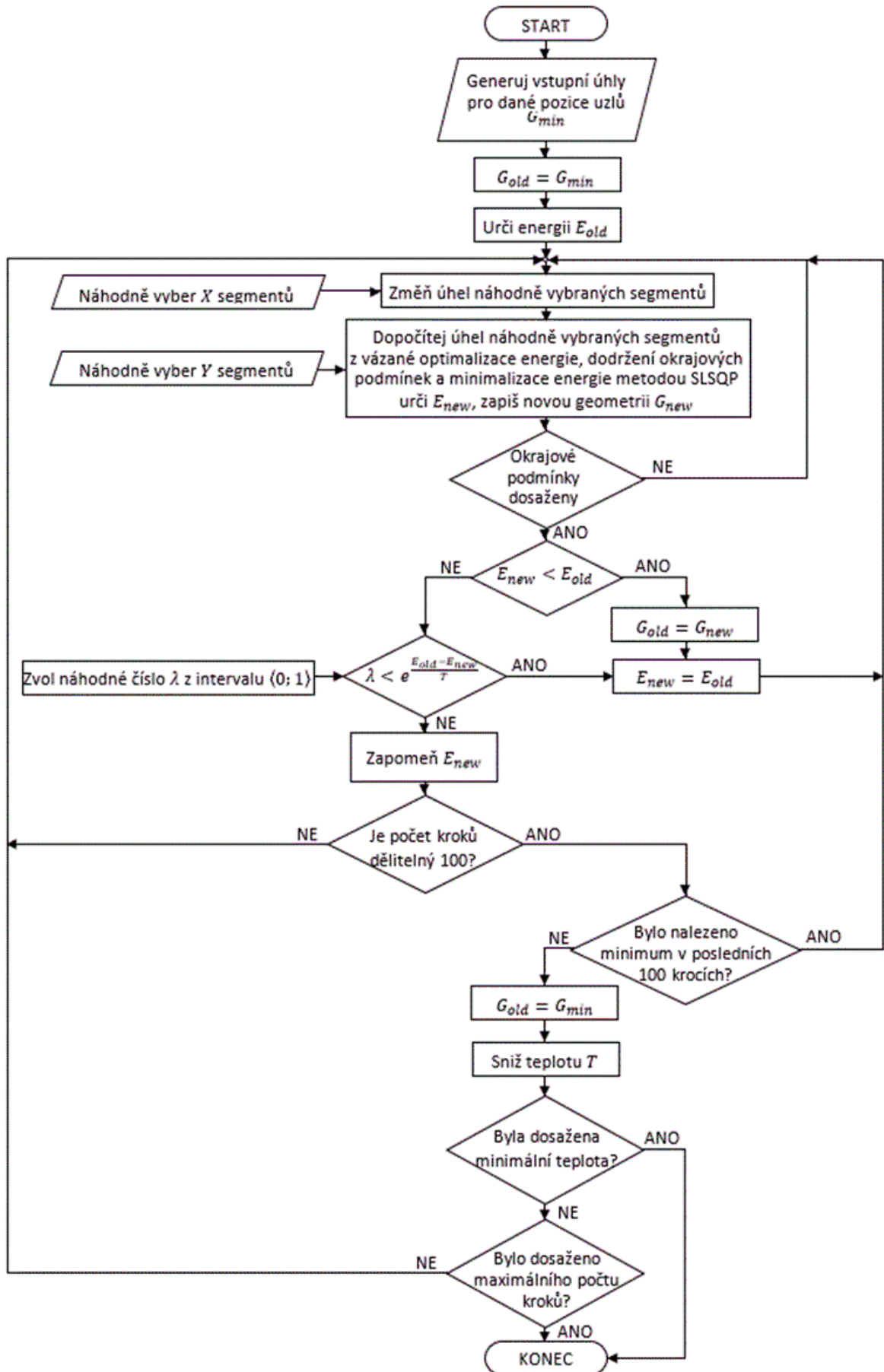
kde E_{old} je energie původního tvaru a E_{new} je energie nového tvaru, T je parametr teploty. Uvedená hodnota p se srovná s náhodně generovaným přirozeným číslem λ z intervalu $\langle 0, 1 \rangle$. Je-li p větší než λ , přijmeme dané řešení. V případě, že není nalezeno řešení v průběhu určeného počtu iterací, dochází ke snížení jak úhlu $\Delta\psi$, tak parametru teploty.

V první verzi algoritmu jsme pro změnu úhlu volili vždy vedlejší segment, jak je znázorněno na obrázku 4.14 a dopočítali tvar tak, aby analyticky splnil okrajové podmínky. V průběhu vývoje a implementaci algoritmu jsme zjistili, že algoritmus konverguje rychleji, je-li bod i a j volen nezávisle na sobě.

V současné verzi algoritmu zároveň volíme X segmentů, kde dochází k náhodné změně a Y segmentů, u kterých se změna dopočítá pro splnění okrajových podmínek. Jak je patrné z obrázku 4.14, musí být Y větší než X , např. $X = 5$ a $Y = 10$. Zároveň hodnoty natočení segmentů Y určujeme také optimalizací pomocí metody SLSQP, kde minimalizujeme celkovou energii jako funkci natočení segmentů - vztah (4.45), a podmínka rotační symetrie je zohledněna ve vztahu (4.47). Vývojový diagram nového algoritmu je znázorněn na obrázku 4.15 [V].



Obr. 4.14 - Schematické znázornění změny tvaru membrány při využití algoritmu postupných fluktuací.



Obr. 4.15 - Vývojový diagram algoritmu postupných fluktuací.

CITLIVOSTNÍ ANALÝZA METODY OPTIMALIZACE

Pro citlivostní analýzu nového numerického modelu jsme zvolili problematiku separace dvou nanočástic v biologické membráně [VI]. Tento problém je tvarově variabilnější než popis izolované nanočástice.

Proměnné modelu lze rozdělit do dvou skupin:

- Fyzikální proměnné jsou proměnné, které souvisejí se samotným matematickým modelem a můžeme je označit jako řídicí proměnné. Jedná se o modul ohybu a protažení membrány, poloměr vložené nanočástice a vnitřní zakřivení membrány. Jakákoli změna v těchto proměnných musí změnit samotný model podmíněný rovnicemi modelu, např. navýšení tuhosti v ohybu musí zvýšit energii ohybu podle Helfrichova vzorce.
- Implementované proměnné souvisí s implementací modelu do počítačového kódu. Tyto proměnné souvisejí s kvalitou sítě a jejich změna by neměla být v modelu významná. Vyhodnotili jsme účinky změn vlastností sítě na výsledky. Lze očekávat, že jemná síť poskytne lepší výsledky s ohledem na energii, tj. nižší energii. Simulace ukázala, že rostoucí hustota sítě vede k optimálnímu řešení.

Uvažované parametry sítě:

1. Velikost elementu
2. Délka membrány
3. Pásmo oddělení

4.6 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. 4.1 – Základní parametry modelu podle Wi a kol. (2008) [93]

Parametr	Označení	Hodnota
Ohybový modul	κ_b [k _B T]	9
Tloušťka monovrstvy	d [nm]	1,3
Kompresní modul	κ_c [k _B Tnm ⁻²]	23
Spontánní křivost monovrstvy	C_0 [nm ⁻¹]	-1/16

Tab. 4.2 – Parametry použité pro citlivostní analýzu, Řezníčková a Daniel (2015) [IV]

Parametr	Označení	Hodnota
Poloměr nanočástice	r [nm]	2
Vnitřní křivost	C_0 [1/nm]	0
Kompresní modul	κ_c [k _B T/nm ²]	23
Ohybový modul	κ_b [k _B T]	9
Plocha lipidu	a_0 [nm ²]	0,724
Tloušťka monovrstvy	ξ_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

Tab. 4.3 – Rozsah geometrických a mechanických parametrů monovrstvy membrány NP a fosfatidylcholinu,
 Řezníčková a Daniel (2017) [III]

Parametr	Označení	Hodnota
Velikost nanočástice	r [nm]	1; 2; 3; 4
Vnitřní křivost	C_0 [1/nm]	-0,1; -0,2; -0,3
Ohybový modul	κ_b [k _B T]	5, 10, 15
Kompresní modul	κ_c [k _B T/nm ²]	30; 45; 60
Tloušťka monovrstvy	ξ_0 [nm]	1,47
Plocha lipidu	a_0 [nm ²]	0,724

5. VÝSLEDKY

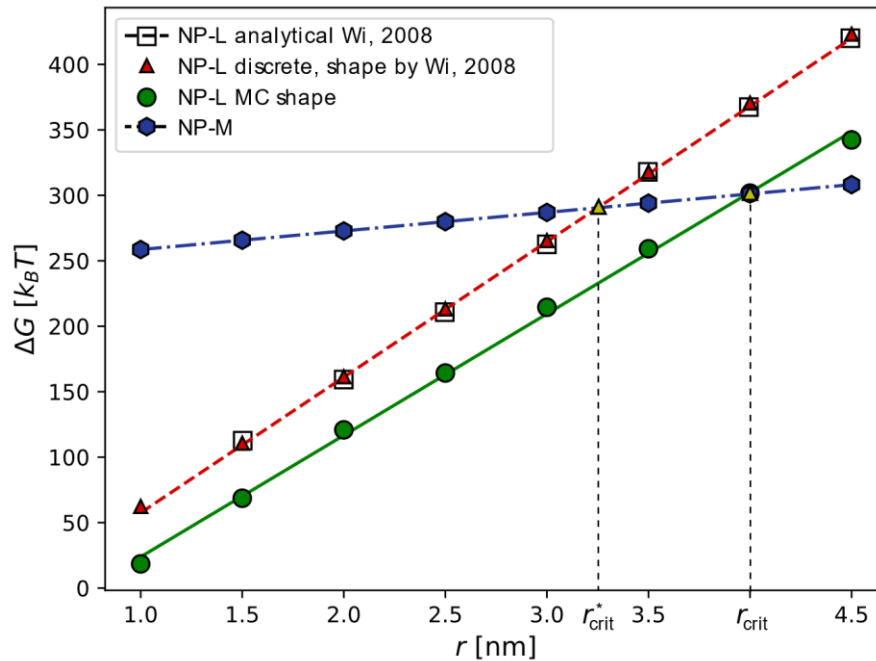
5.1 SROVNÁNÍ ŘEŠENÍ ANALYTICKÉHO A NUMERICKÉHO MODELU

Pro ověření metody výpočtu pomocí diskretního modelu jsme využili popis geometrie podle Wi a kol. (2008) v konfiguraci NP-L [93]. 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 4.3 jsme využili pro výpočet energie v našem diskretním modelu. Jak je patrné z obrázku 5.1, numerický model predikuje stejné hodnoty energie jako v případě analytického popisu.

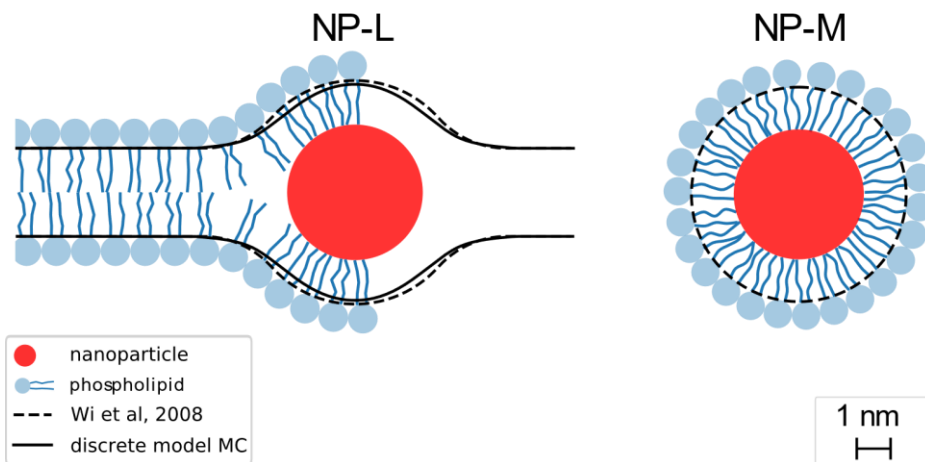
Následně jsme využili naši původní metodu optimalizace odvozenou z metody Monte Carlo, metodu postupných fluktuací, pro určení tvaru membrány s minimální energií. Je vidět, že v daném případě náš přístup dává výrazně nižší hodnoty energie a tím lépe popisuje tvar membrány (Obr. 5.1). Relativní rozdíl v predikované energii systému je větší pro nanočástice menšího poloměru.

Rozdíl je jasný při uvážení vlivu velikosti nanočástice na umístění v membráně. Je-li energie lamelárního komplexu membrána-nanočástice nižší než energie micelárního komplexu, nanočástice zůstává v membráně. V opačném případě je nanočástice volná ve formě micely. Z obrázku 5.1, vidíme, že ke změně mezi lamelární a micelární fází nanočástice dochází při dosažení kritického poloměru r_{crit} . Pro analytický model je hodnota kritického poloměru přibližně 3,2 nm, zatímco náš model ukazuje, že pro stejné parametry membrány je hodnota kritického poloměru až 4 nm.

Obrázek 5.2 znázorňuje předpovědi tvaru membrány podle analytického modelu Wi a kol. (2008) a našeho numerického modelu [93]. Hlavní rozdíl můžeme pozorovat v centrální části nanočástice, kde numerický model umožňuje deformaci fosfolipidů, která na jedné straně zvyšuje deformační energii, ale na straně druhé snižuje křivost v části II podle Wi a kol. (2008) [93] (Obr. 4.3).



Obr. 5.1 – Srovnání energie membrány při použití analytického a numerického modelu se stejnou geometrií. Rezníčková a Daniel (2015) [V].



Obr. 5.2 – Srovnání tvarů membrány při použití analytického a numerického modelu. Rezníčková a Daniel (2015) [V].

CITLIVOSTNÍ ANALÝZA METODY OPTIMALIZACE

Pro ověření diskretního 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 uvažováním časové náročnosti a přesnosti jsme pro další výpočty zvolili následující parametry: délka membrány 30 nm a počet prvků 100.

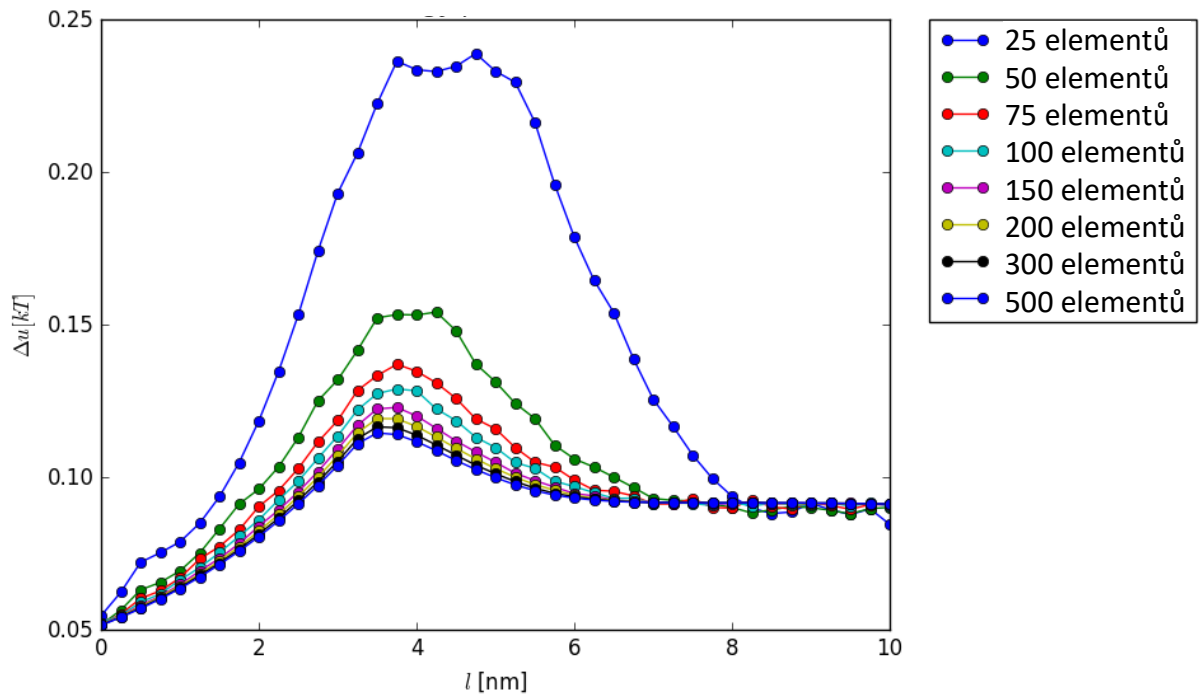
Tab. 5.1 – Citlivostní analýza pro celkovou délku membrány 30 nm

Počet elementů	10	25	50	75	100	150	200	300	500
Velikost elementu [nm]	3	1,2	0,6	0,404	0,3	0,2	0,15	0,1	0,06
Čas výpočtu	44s	52s	1min 13s	1min 46s	2min 38s	5min 21s	9min 43s	24min 55s	3h 50min 29s
Místo vrcholu [nm]	9,25	4,75	3,75	3,75	3,75	3,75	3,5	3,5	3,5
Hodnota energie vrcholu [kT na molekulu]	0,850	0,239	0,154	0,137	0,129	0,123	0,119	0,116	0,114
Energie kondenzované fáze [kT na molekulu]	0,676	0,062	0,056	0,055	0,054	0,054	0,054	0,054	0,054
Energie oddělení [kT na molekulu]	0,820	0,089	0,089	0,090	0,091	0,091	0,091	0,091	0,091

Tab. 5.2 – Citlivostní analýza při stálé délce elementu 0,2 nm

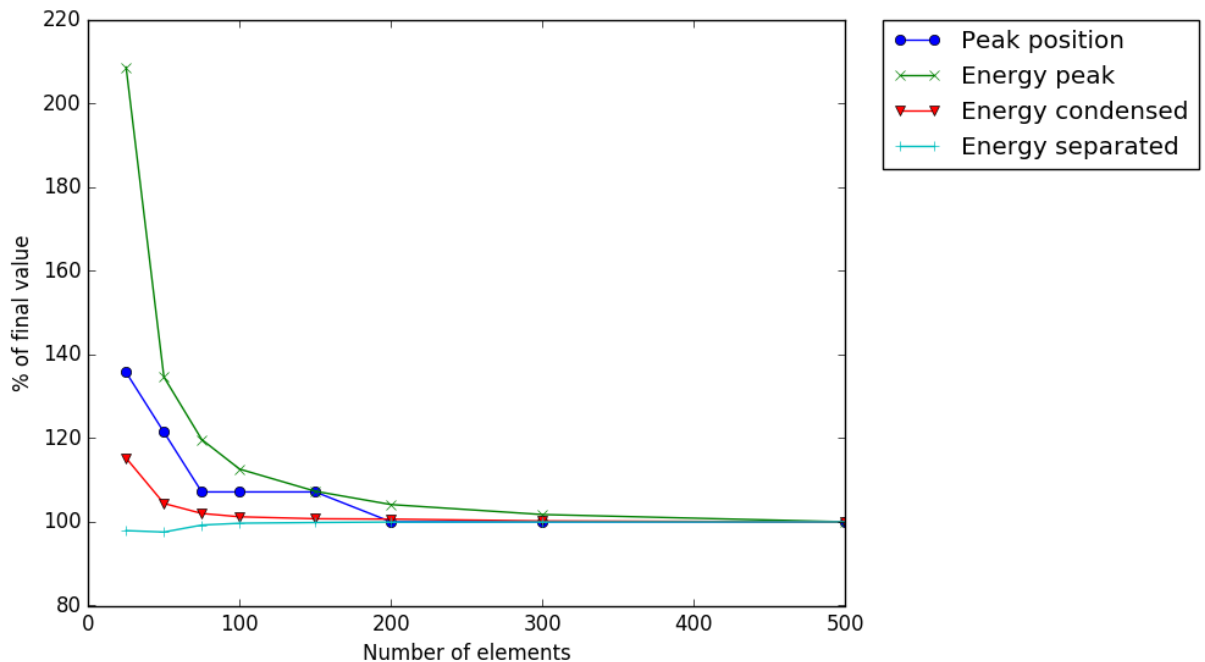
Délka membrány [nm]	10	20	30	40	50
Čas výpočtu	1min 14s	2min 43s	5min 21s	8min 20s	12min 51s
Místo vrcholu [nm]	6,75	3,75	3,75	3,75	3,75
Energie vrcholu [kT/nm]	5,145	5,089	5,089	5,089	5,089
Energie zhuštění [kT/nm]	2,257	2,256	2,256	2,256	2,256
Energie oddělení [kT/nm]	3,213	3,781	3,781	3,781	3,781

Na obrázku 5.3 je znázorněna závislost energie na jednu molekulu na vzdálenosti nanočástic. Je vidět, že s větším počtem elementů získáváme nižší hodnoty energie. Větší počet elementů, než je 150, však již nepřináší zásadní změnu výsledných hodnot.



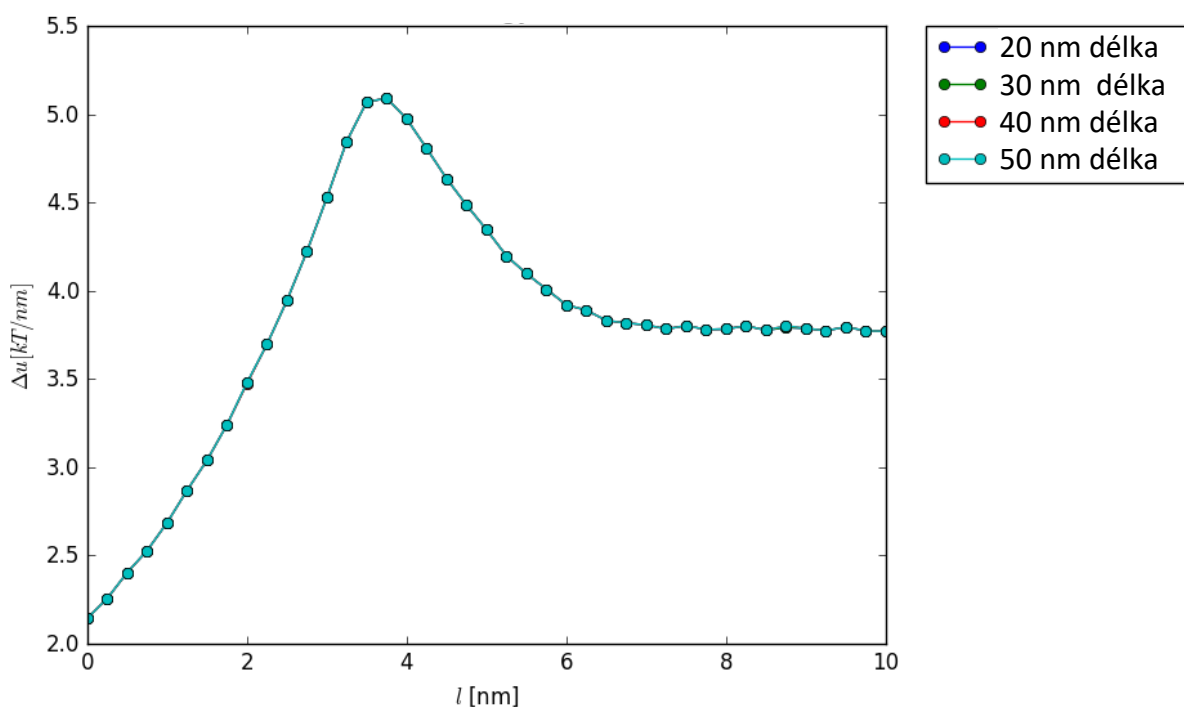
Obr. 5.3 – Energie na jednu molekulu v závislosti na vzdálenosti nanočástic, vliv počtu elementů. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Obrázek 5.4 ukazuje konvergenci řešení s rostoucím počtem uvažovaných elementů. U více jak 300 elementů jsou výsledky prakticky totožné.



Obr. 5.4 – Konvergence řešení se zvyšujícím se počtem elementů. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Z obrázku 5.5 je patrné, že závislost energie na jednotku délky vzhledem k celkové délce membrány vychází stejně pro všechny uvažované délky elementů.



Obr. 5.5 – Energie na jednotku délky v závislosti na celkové délce membrány. Jednotlivé křivky se navzájem překrývají. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

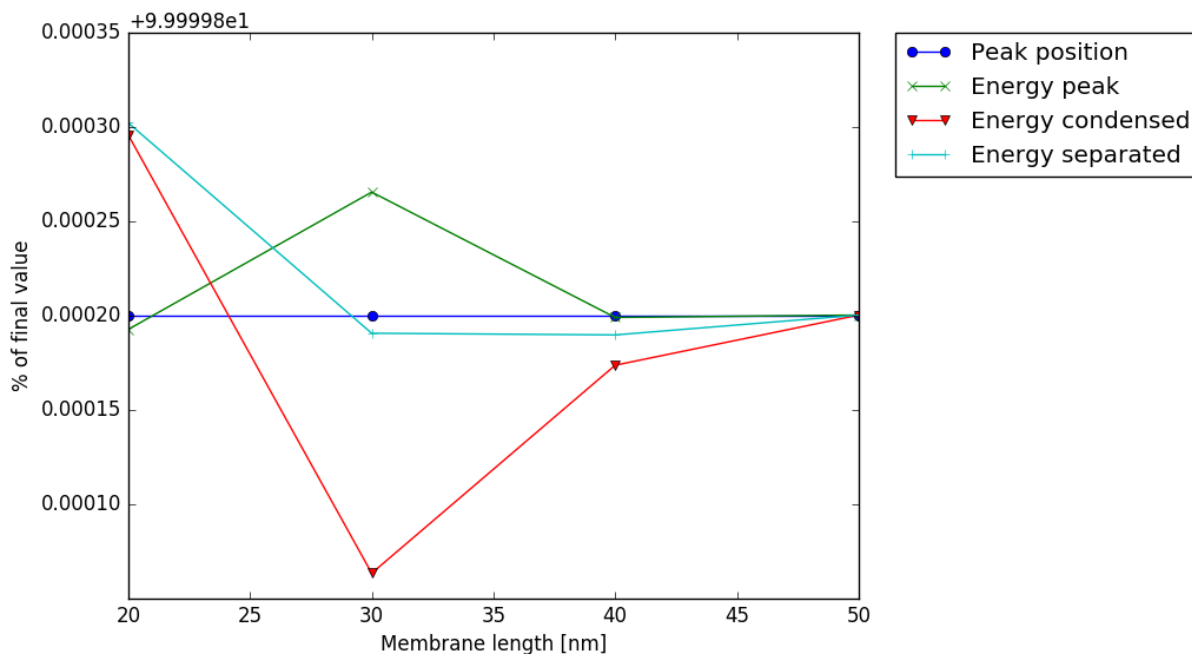
POROVNÁNÍ SLSQP S VLASTNÍM ALGORITMEM POUSTUPNÝCH FLUKTUACÍ

Standardní metoda SLSQP implementována v jazyku Python byla porovnána s vlastním algoritmem metody postupných fluktuací. Vlastní algoritmus se ukázal být přesnější v minimalizaci energie než metoda SLSQP. Nevýhodou naší metody postupných fluktuací jsou velké nároky na výpočetní čas.

Tab. 5.3 – Srovnání výsledků metody SLSQP a algoritmu Monte Carlo

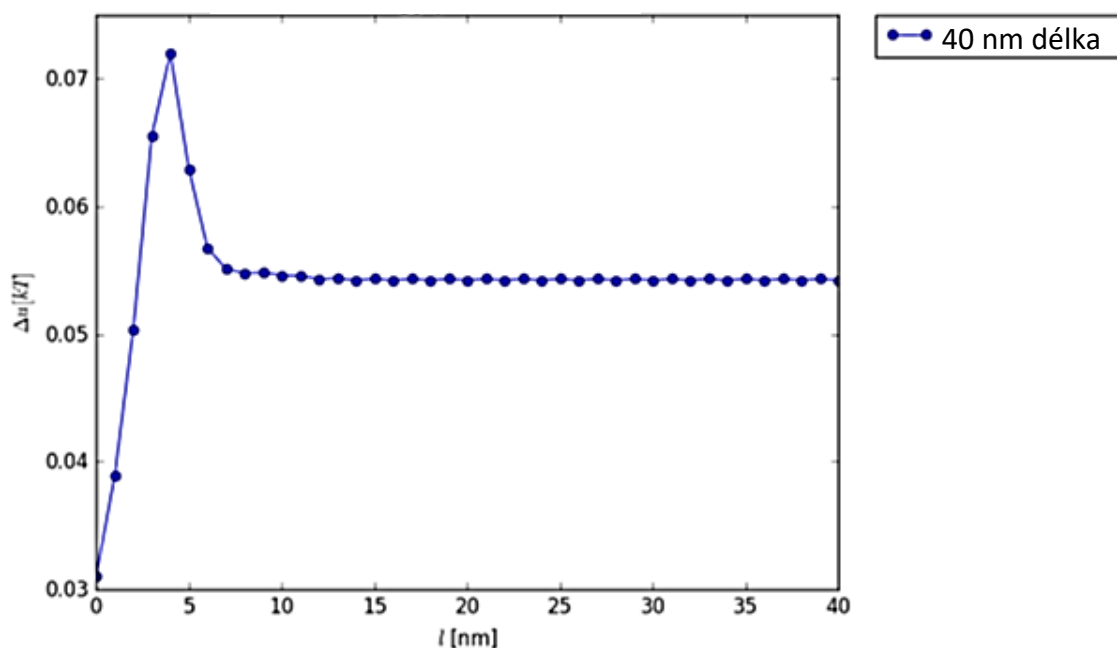
Velikost nanočástice	1 nm		2 nm		3 nm		4 nm	
	SLSQP	MC	SLSQP	MC	SLSQP	MC	SLSQP	MC
Místo vrcholu [nm]	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Energie vrcholu [kJ/nm]	0,0590	0,052	0,128	0,104	0,167	0,132	0,194	0,157
Energie zhuštění [kJ/nm]	0,0233	0,0233	0,066	0,063	0,095	0,087	0,116	0,103
Energie oddělení [kJ/nm]	0,047	0,047	0,090	0,090	0,110	0,110	0,123	0,123

Sledovali jsme konvergenci uvažovaných parametrů v závislosti na délce membrány, což je znázorněno na obrázku 5.6.



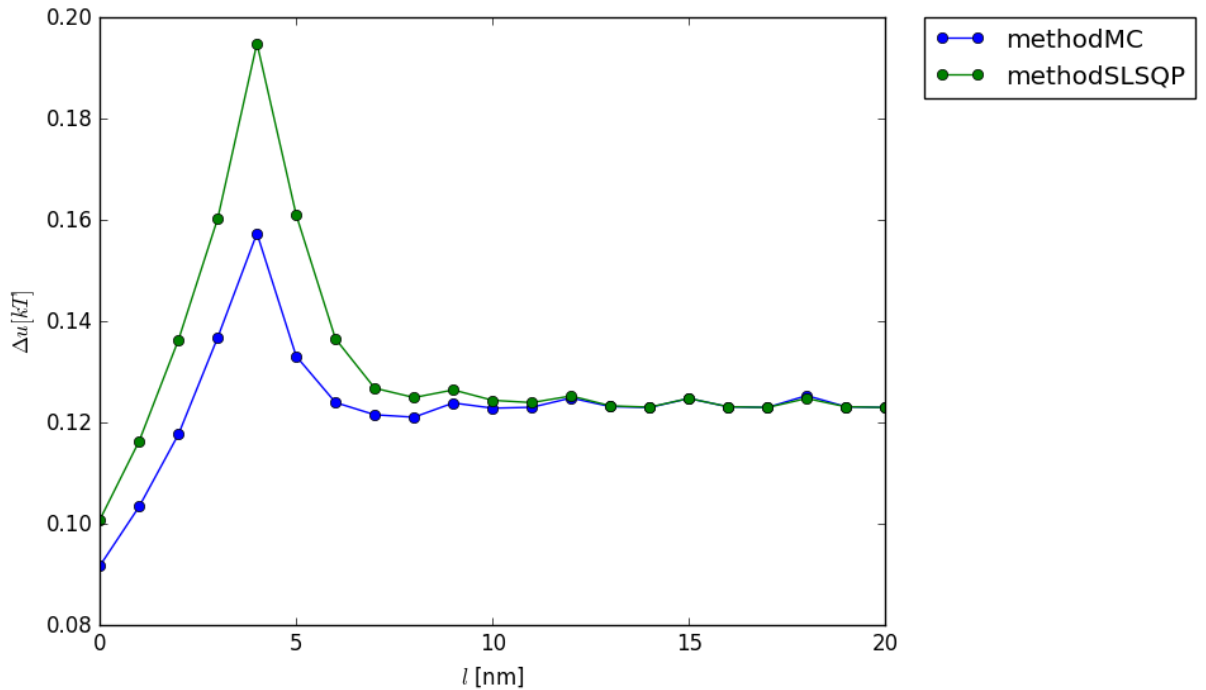
Obr. 5.6 – Konvergence sledovaných parametrů v závislosti na délce membrány. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Graf na obrázku 5.7 znázorňuje závislost energie na molekulu na vzdálenosti nanočástic při délce parametru 40 nm. Nanočástice vzdálené více jak 7 nm se již energeticky neovlivňují.



Obr. 5.7 – Energie na molekulu v závislosti na vzdálenosti nanočástic. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

Porovnali jsme metody výpočtu postupných fluktuací založené na metodě Monte Carlo a SLSQP, jak je vidět na obrázku 5.8, kde je uvažována energie dvou nanočástic ve vzdálenosti l od sebe. Metodou postupných fluktuací jsme získali nižší hodnoty energie.

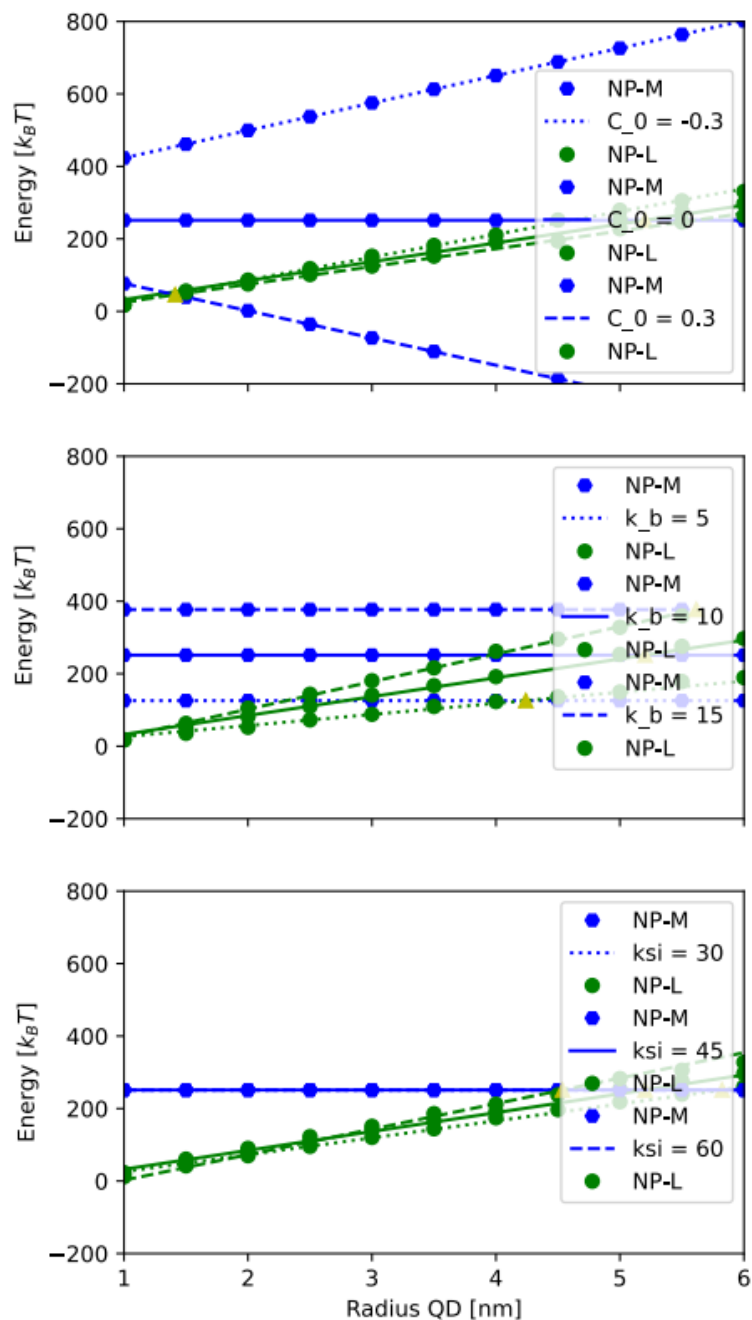


Obr. 5.8 – Energie na molekulu dvou nanočástic v membráně ve vzdálenosti l . Porovnání metody SLSQP a metody postupných fluktuací založené na metodě Monte Carlo. Řezníčková a Daniel (2015) [V].

5.2 VLIV MECHANICKÝCH PARAMETRŮ MEMBRÁNY NA KRITICKOU VELIKOST NANOČÁSTIC

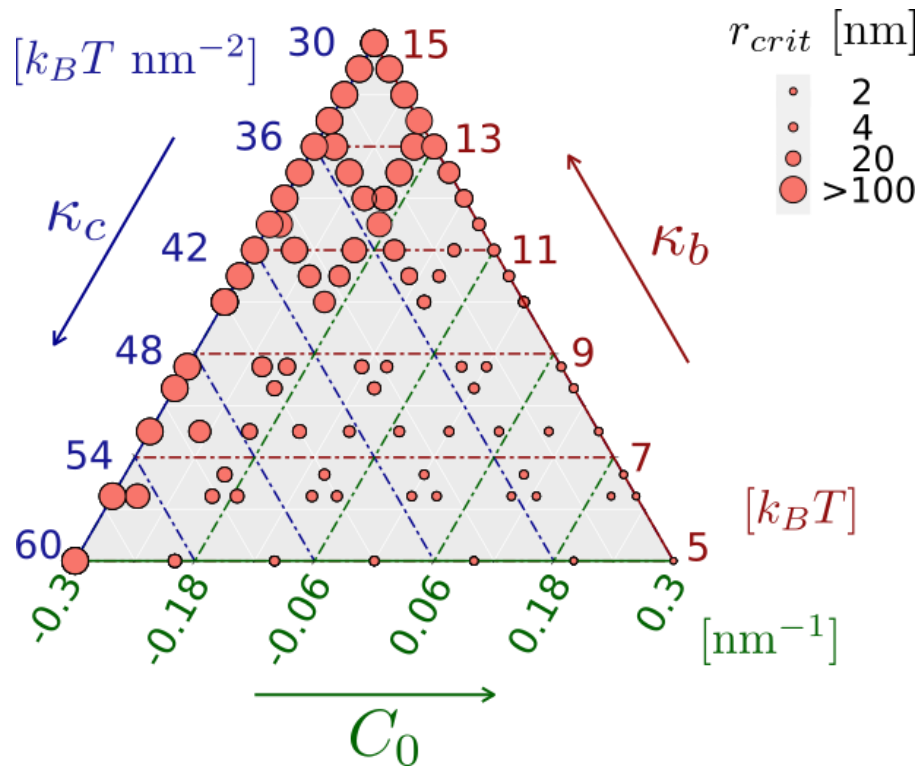
Dosavadní studie se zaměřují zejména na popis interakce různě velké nanočástice s membránou. Jak ukázal Wi a kol. (2008) je možné na základě matematického modelu vysvětlit a predikovat velikost kritického poloměru nanočástice, který umožní udržení nanočástice v lamelární membráně [93]. Vlastnosti membrány 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 5.9 znázorňuje energii lamelárního a micelárního komplexu v závislosti na poloměru nanočástice (Obr. 5.9A). Výrazný vliv na energii NP-M komplexu má především vnitřní křivost membrány. Velká kladná vnitřní křivost výrazně preferuje micelární fázi. Na rozdíl od toho, je-li vlastní křivost membrány záporná, je směrnice křivky energie v NP-M vyšší než NP-L. Prakticky to značí, že při hodnotě vnitřní křivosti $-0,3 \text{ nm}^{-1}$ nedochází ke vzniku micelární fáze bez ohledu na velikost nanočástice. Je zajímavé, že vlastní křivost výrazně neovlivňuje energii NP-L fáze (Obr. 5.9A). S rostoucí ohybovou tuhostí membrány roste také energie potřebná pro vložení nanočástice (Obr. 5.9B). Tato energie roste výrazněji při micelární fázi, což se projevuje nárůstem kritického poloměru nanočástice s růstem ohybové tuhosti membrány. Kompresní modul membrány má nejnižší vliv na velikost kritického poloměru (Obr. 5.9C). Zároveň tento parametr minimálně ovlivňuje energii micelární fáze nanočástice.



Obr. 5.9 – Energie komplexu membrána nanočástice v závislosti na poloměru nanočástice pro (A) různé vnitřní křivosti membrány, (B) hodnoty modulu tuhosti membrány v ohybu (C) rozsah kompresních modulů membrány. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].

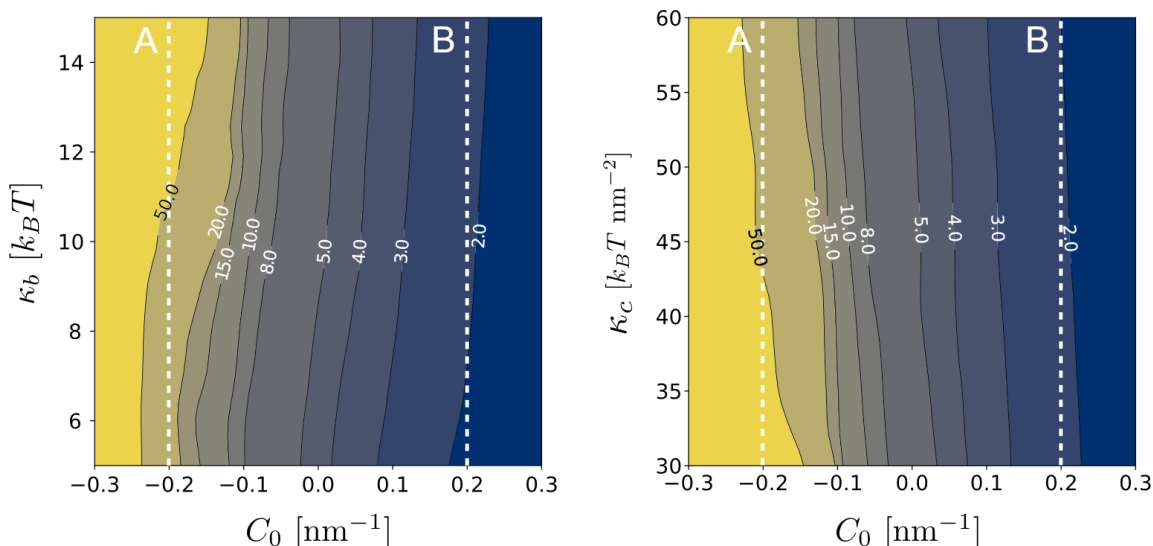
Obrázek 5.10 shrnuje výsledky simulací. Primárním parametrem, který určuje velikost kritického poloměru je vlastní křivost membrány. Zároveň vidíme, že s rostoucí ohybovou tuhostí membrány a zároveň klesajícím kompresním modulem roste kritický poloměr membrány.



Obr. 5.10 – Vliv parametrů membrány na kritický poloměr. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].

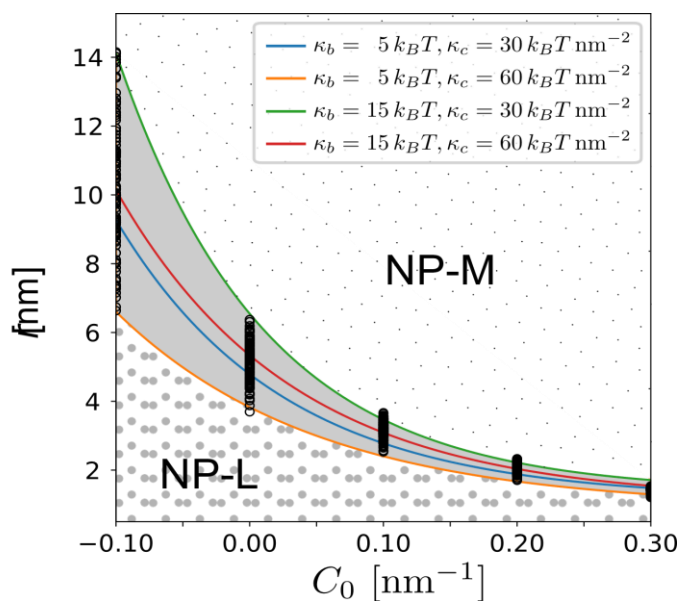
Membrána s kladnou vlastní křivostí ($C_0 > 0$) je schopna v lamelární fázi zabudovat nanočástice s poloměrem menším než 5 nm (Obr. 5.10). S klesající vlastní křivostí do záporných hodnot prudce roste kritický poloměr nanočástice. V oblasti se zápornou křivostí je také patrnější vliv dalších parametrů,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

Velikost kritického poloměru jako funkce vlastní křivosti a ohybového modulu membrány je znázorněna na obrázku 5.11 vlevo. Pro kladnou vlastní křivost $0,2 \text{ nm}^{-1}$ je kritický poloměr přibližně 2 nm (Obr. 5.11B), ale v případě záporné křivosti $-0,2 \text{ nm}^{-1}$ je kritický poloměr až 50 nm (Obr. 5.11A). Podobné výsledky získáváme při uvažování funkce vlastní křivosti a kompresního modulu (Obr. 5.11 vpravo). Je tedy vidět zásadní vliv vlastní křivosti membrány na velikost kritického poloměru.



Obr. 5.11 – Kritický poloměr jako funkce vlastní křivosti membrány a (vlevo) ohybové tuhosti membrány, (vpravo) kompresního modulu membrány. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].

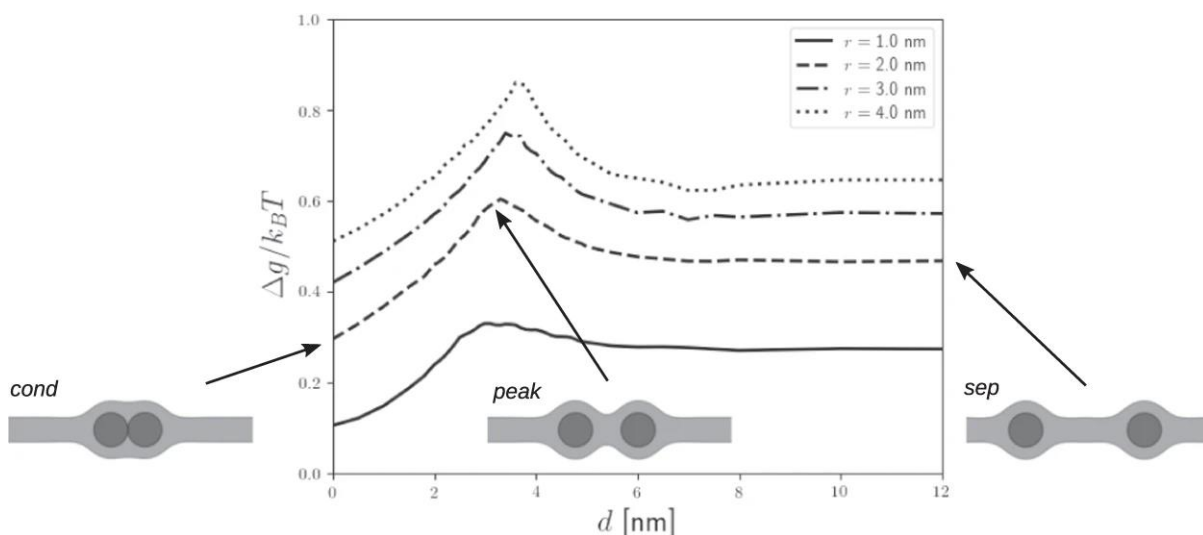
Z našich výsledků plyne, že na základě znalosti vlastní křivosti a poloměru nanočástice můžeme předpovědět, jakým způsobem bude nanočástice interagovat s membránou. Obrázek 5.12 znázorňuje fázový diagram, kde oblast NP-L značí oblast, ve které nanočástice zůstává zabudována v lamelární membráně, zatímco 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. Fázový diagram na obrázku 5.12 je znázorněn pro membránu s kladnou křivostí. V případě záporné křivosti kritický poloměr výrazně roste (Obr. 5.10).



Obr. 5.12 – Fázový diagram nanočástice v membráně. Znázorněné křivky jsou určeny aproximací exponenciální funkcí pro uvedenou kombinaci parametrů. Řezníčková a Daniel (2015) [VI].

5.3 VLIV VZDÁLENOSTI DVOU NANOČÁSTIC

Obrázek 5.13 ukazuje závislost vypočtené membránové elastické energie na vzdálenost mezi dvěma nanočásticemi a odpovídající membránové deformační energie pro různé hodnoty průměru nanočástic.

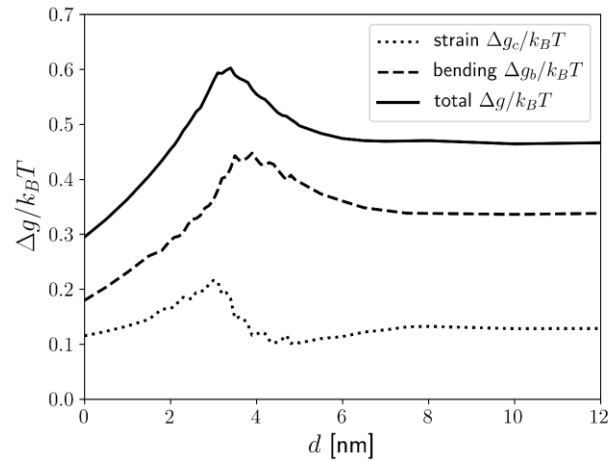


Obr. 5.13 – Energie membrány na molekulu lipidu g v přítomnosti nanočástic s ohledem na referenční energii rovinné lipidové dvojvrstvy g_{planar} ($\Delta g = g - g_{planar}$) v závislosti na vzdálenosti d mezi nanočásticemi pro různé velikosti nanočástic [VIII, X].

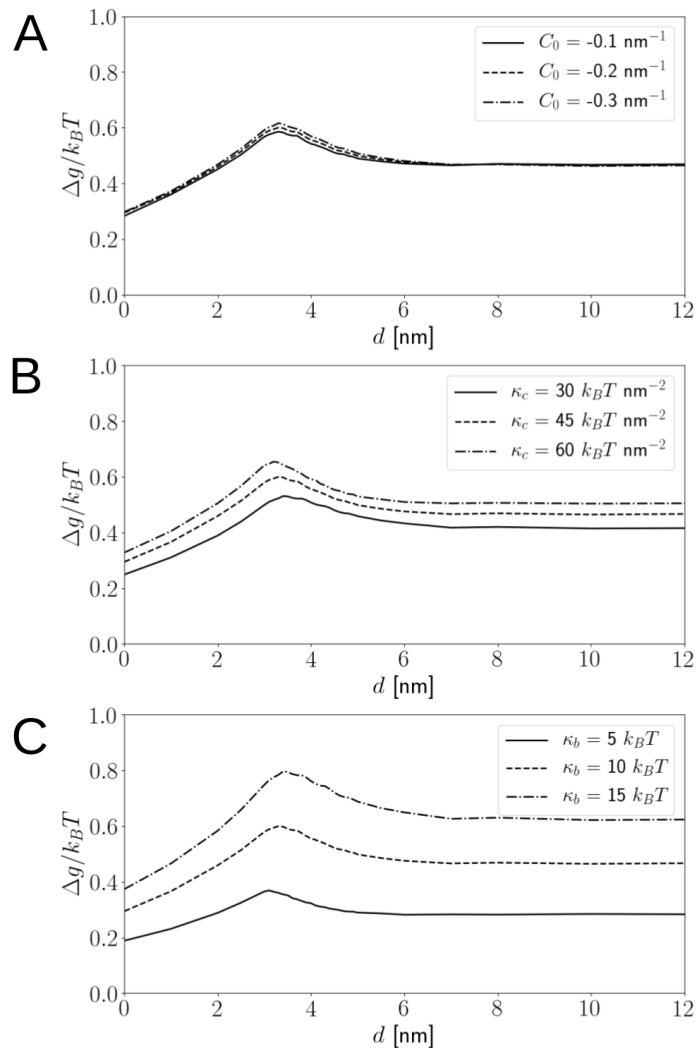
Na obrázku 5.13 je vidět, že kondenzovaný stav dvou nanočástic je energeticky příznivější než, když jsou nanočástice odděleny. Malé nanočástice vyžadují méně energie pro začlenění do lipidové membrány, ve shodě s Wi a kol. (2008) [93].

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. 5.13) [81].

Příspěvek ohybové energie na lipidovou molekulu je vyšší než podíl natažení hydroxykarbonových řetězců [III, VIII] (Obr. 5.14).



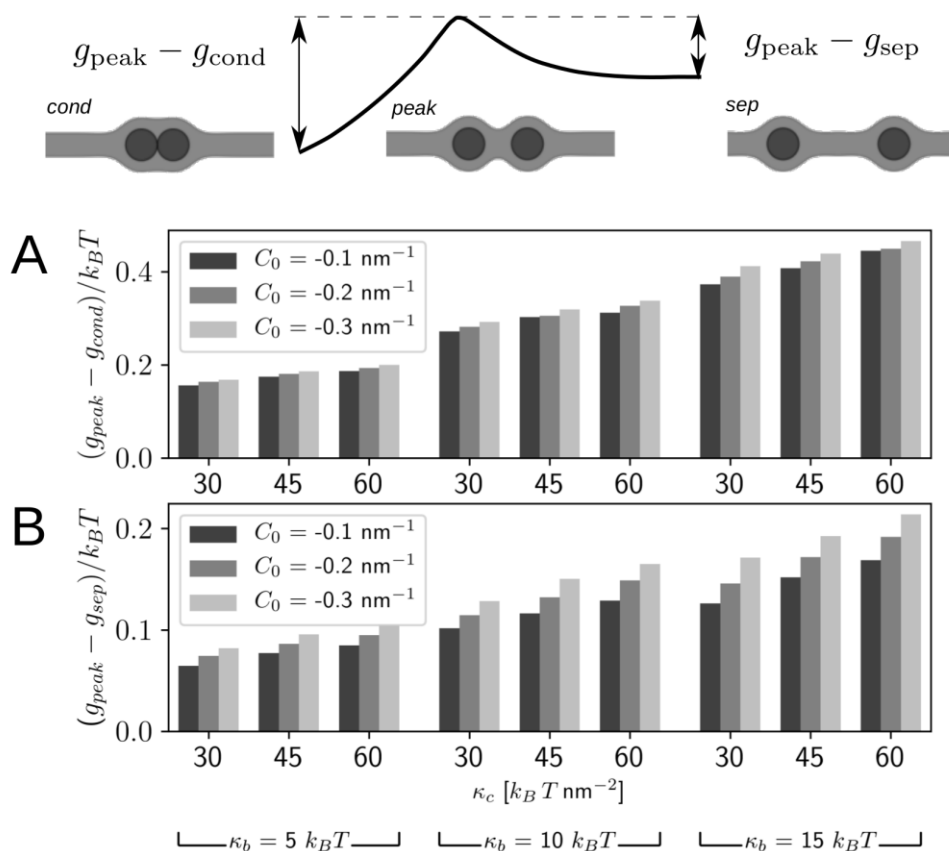
Obr. 5.14 – Graf příspěvku protažení (Δg_e) a energie ohybu (Δg_b) vztažené k relativní elastické energii na molekulu lipidu (g) v přítomnosti nanočástic ($r = 2$ nm) jako funkce vzdálenosti mezi nanočásticemi. Energie se vyjadřují tak, že se jako referenční vezme energie rovinné lipidové dvojvrstvy [VIII, X].



Obr. 5.15 – Vliv změny (A) vnitřní křivosti C_0 , (B) kompresního modulu κ_c a (C) modulu ohybu κ_b na energii na molekulu lipidu v přítomnosti nanočástic o poloměru 2 nm, d značíme vzdálenost mezi nanočásticemi [III, IV].

Je patrné, že vnitřní křivost C_0 membrány významně neovlivňuje deformační energii membrány (Obr. 5.15A). Vložení nanočástice do rovinné membránové dvojvrstvy indukuje oblasti pozitivního zakřivení a oblasti negativního zakřivení. Pro $C_0 < 0$ je lokální pokles ohybové energie vztahující se k oblasti se záporným zakřivením většinou vyrušen lokálním nárůstem ohybové energie vztahující se k oblasti s kladným zakřivením. Zvýšení kompresního modulu způsobuje zvýšení elastické energie membrány potřebné pro vložení nanočástice do membrány (Obr. 5.15B), ale ne tolik jako zvýšení modulu ohybu (Obr. 5.15C) [I, VIII].

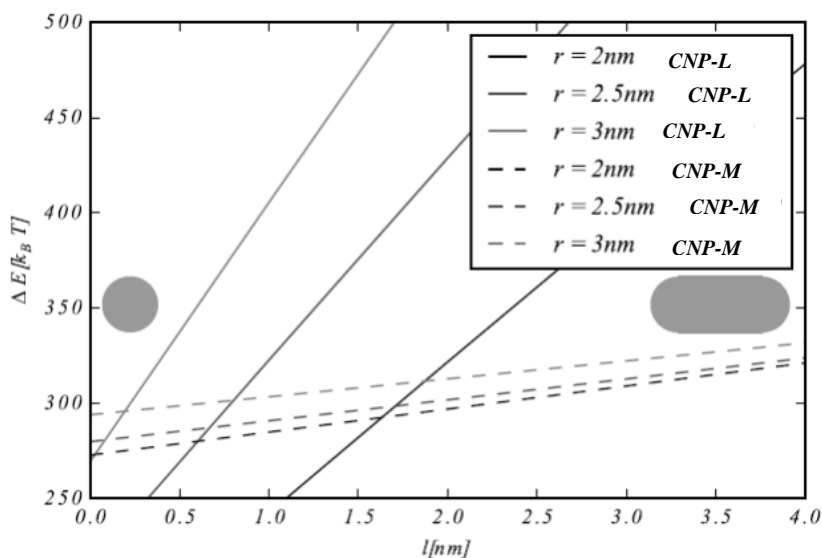
Obrázek 5.16 ukazuje výšku energetické bariéry ve stavu kondenzovaných (Obr. 5.16A) a oddělených (Obr. 5.16B) nanočástic, vypočtené pro různé hodnoty membránových parametrů C_0 , κ_b a κ_c . Je vidět, že ohybová tuhost membrány κ_b má největší vliv na velikost energetické bariéry. Čím vyšší jsou hodnoty vnitřní křivosti C_0 , ohybu membrány κ_b a kompresního modulu κ_c , tím vyšší je energetická bariéra, kterou musí nanočástice překonat, aby se samy oddělily (Obr. 5.16A) nebo aby se samy seskupily (Obr. 5.16B). 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. 5.16 – Výška energetické bariéry s ohledem na (A) seskupenou fázi a (B) separovanou fázi nanočástic vypočtenou pro různé hodnoty membránových parametrů C_0 , κ_b a κ_c [VIII, X].

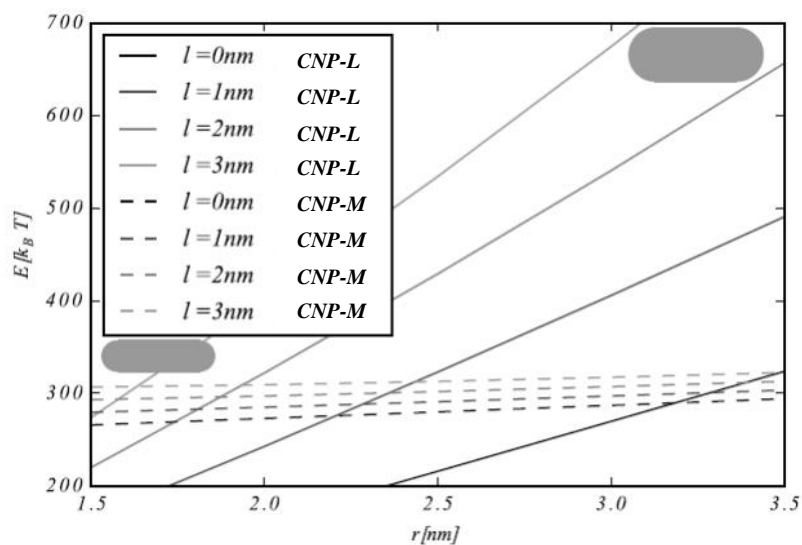
5.4 VLIV TVARU NANOČÁSTIC

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



Obr. 5.17 – 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].

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. 5.17). Nižší citlivost energie komplexu CNP-M na změnu poloměru může být vysvětlena rovnicí (4.19). 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 v rovnici (4.19) 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. 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. 5.4). Pokud je velikost částice vyšší než kritická, částice se oddělí od membrány a může proniknout membránou do buňky.



Obr. 5.18 – 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].

Tab. 5.4 – Odhadované hodnoty kritických poloměrů a délek

délka	kritický poloměr	poloměr	kritická délka
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

6. DISKUZE

V současné době pozorujeme zvyšující se trend používání nanočástic a nanostrukturovaných povrchů v různých průmyslových, kosmetických a medicínských aplikacích. S tím souvisí zvyšující se podíl uměle vytvořených nanočástic v životním prostředí. Pro pochopení jejich potencionálního zdravotního rizika je nutno porozumět základním mechanismům interakce nanočástic s živým organismem. V naší práci se věnujeme popisu interakce nanočástice s biologickou membránou jako základní bariérou živočišné a rostlinné buňky. Pro pochopení mechanismů interakce jsme si v naší práci zvolili metodu matematického modelování. Předpokládáme, že soustava nanočástice a membrána bude mít takovou konfiguraci, která minimalizuje celkovou energii daného systému. Z matematického hlediska se tak jedná o problém minimalizace potenciální energie, kterou popisujeme především ve formě deformační energie membrány. V naší práci jsme proto odvodili vztahy pro popis deformační energie a vyvinuli vlastní algoritmus její minimalizace za podmínek udržení kontinuity biologické membrány. Po ověření funkčnosti námi navrženého a implementovaného algoritmu výpočtu jsme tento výpočet využili pro zkoumání vlivu velikosti nanočástice, tvaru nanočástice a vlivu vzájemné existence dvou nanočástic v biologické membráně.

OVĚŘENÍ NOVÉHO ALGORITMU OPTIMALIZACE

Námi navržený algoritmus optimalizace celkové deformační energie vychází z modelu tepelných fluktuací membrány. Termální fluktuace membrány se v mechanice membrán standardně využívají pro měření ohybové tuhosti membrány [120]. V rámci našeho přístupu se předpokládá, že fluktuace membrány jsou zásadním mechanismem, který umožňuje membráně prozkoumat fázový prostor a zaujmout konfiguraci s minimální energií. Naše metoda je inspirována principem simulovaného žihání Monte Carlo. Původně jsme v rámci našeho modelu implementovali právě tuto metodu, kdy se během každého cyklu konstantní teploty simulovaného žihání Monte Carlo prováděly náhodné změny v aktuální poloze jednotlivých uzlů sítě membrány. Nový stav byl poté porovnán s předcházejícím. Pokud je jeho nová energie nižší než předchozí, je tento nový stav okamžitě přijat. Pokud je však energie nového stavu vyšší než ta předchozí, je to pravděpodobnostně přijato s využitím Metropolisova kritéria [121]. Tato implementace ale vedla ke vzniku lokálně velkých křivostí, které následně zvyšovaly celkovou deformační energii. Pro překonání těchto lokálních extrémů bylo potřeba vykonat velký počet simulací a metoda byla celkově výpočetně náročná, např. výpočet minima energie pro jednu nanočástici trval na běžném počítači několik týdnů. Alternativou bylo využití metody kvadratického programování. V rámci simulací jsme zjistili, že daná metoda je závislá na

počáteční volbě tvaru membrány a je spíše vhodná pro nalezení lokálního maxima (Tab. 5.3 a Obr. 5.8). Proto jsme navrhli samostatný algoritmus, který překonává limity obou uvedených metod. Podstatou je změna křivosti v lokálně ohraničené oblasti membrány (fluktuační), která ale nemění tvar zbytku membrány. Vliv dané fluktuační se podobně jako v metodě simulovaného žíhání hodnotí na základě energie a přijme se na základě pravděpodobnostního kritéria. Při nalezení extrému se následně pro daný tvar využije metoda kvadratického programování pro nalezení lokálního minima. Naše metoda je tím podobná metodě basin-hopping popsané Walesem a Doyem (1997) [119].

V naší práci jsme pro ověření algoritmu a jeho implementace vykonali sérii testů. Nejprve jsme zkoušeli vliv diskretizace problému na odhad energie. Analytický model zjednodušené geometrie jsme přebrali z práce Wi, a kol. (2008) [93]. Jak je vidět z obrázku 5.3, velká délka elementu nadhodnocuje celkovou energii, což může být způsobeno nepřesností v numerickém odhadu křivosti - rovnice (4.40). 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. 5.1). Základním nedostatkem původního modelu Wi a kol. (2008) je předpoklad jednoduché geometrie [93]. 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 (Obr. 5.2) [93].

KRITICKÁ VELIKOST NANOČÁSTIC

Kritická velikost nanočástice byla nejprve odhadnuta na základě práce Wi a kol. (2008) na přibližně 3,25 nm [93]. Tento předpoklad byl v souladu s prací Gopalakrishnan a kol. (2006), který ukázal úspěšnou inkorporaci kvantových teček do membrány lipozomů v případě, že tyto nanočástice mají velikost $\sim 2,5$ nm [122]. Zároveň nebyla experimentálně pozorována fluorescenční emise z lipidové dvojvrstvy při použití nanočástic o velikosti 4 nm (větší než kritický poloměr). Bothun (2008) [78] pozoroval zabudování hydrofobních nanočástic do DPPC v případě nanočástic o poloměru 2,3 nm. Park a kol. (2005 a 2006) [76 - 77] pozorovali, že zlaté nanočástice s povlakem sterylaminu o velikosti 1,5 – 2 nm byly schopné integrace do DPPC membrány. Chen a kol. (2010) připravili kompozitní DPPC lipozomy s 2,5 nm maghemitovými (Fe_2O_3) nanočásticemi s povlakem olejové kyseliny v membráně lipozomů [79]. Von White II a kol. (2012) pozorovali zlaté nanočástice o poloměru 2 nm v hydrofobní části membrány [82]. Jang a kol. (2003) získali obdobné výsledky pro

křemíkové nanočástice [123]. Na rozdíl od těchto studií Lee a kol. (2013) pozorovali, že nanočástice mohou být součástí membrány [124], i když několikanásobně převyšují její rozměr [125].

Původně odhadovaný kritický poloměr v původní studii je ale ovlivněn volbou parametrů membrány a samotnou konstrukcí modelu. Jak je patrné z obrázku 5.1, jenom změnou modelu při zachování parametrů membrány se kritický poloměr posouvá nad hodnotu stanovenou experimentálně. I když Wi a kol. (2008) uvádí zdroje pro hodnoty ohybového modulu, kompresního modulu, tloušťky membrány a vlastní křivosti (Tab. 4.1 pro DOPC ve Wi a kol. (2008) [93]), v uvedených článcích nejsou tyto informace dostupné [93]. Proto se můžeme domnívat, že autoři zvolili hodnoty parametrů membrány tak, aby výsledek byl v ideální shodě s experimentem. V naší práci jsme použili jiný princip zahrnutí mechanických parametrů. Protože mechanické parametry membrány se liší mezi jednotlivými buňkami a zároveň jsou ovlivněny metodou jejich stanovení, určili jsme na základě studia literatury rozsah těchto parametrů (Tab. 4.3). V naší studii jsme zjistili, že malé nanočástice jsou schopny se zabudovat do jádra membrány bez ohledu na vlastnosti membrány (Obr. 5.10). Tento závěr je v souladu s dalšími numerickými studiemi [126 - 127] a také s experimentálním měřením (Rasch a kol. (2010) [81] a Contini a kol. (2020) [38]). Zásadním parametrem určujícím zabudování do membrány je vlastní křivost fosfolipidů. Převážná většina studií uváděných výše využívá pro tvorbu lipidů DPPC. Experimentálně bylo stanoveno, že křivost DPPC je přibližně $0,068 \text{ nm}^{-1}$ [128]. Z obrázku 5.11 vychází kritický poloměr kolem 4 nm, což je více než experimentálně pozorovaná velikost nanočástic v membráně, která je kolem 2 nm. V experimentální studii s využitím surfaktantů bylo pozorováno, že rozměr nanočástice může být mnohem větší než tloušťka membrány. Náš model předpovídá tyto interakce, je-li vlastní křivost monovrstvy záporná. Zápornou křivost monovrstvy je možné indukovat například zvýšením teploty nebo přidáním cholesterolu.

Implicitní Monte Carlo simulace podle Lehn a kol. (2013) ukazuje, že pro komplex nanočástice-membrána existuje minimum energie, přibližně pro poloměr nanočástice 2 nm [129]. Naše simulace na druhé straně ukazují, že zabudování nanočástice do membrány je vždy spojeno s navýšením energie. Tento rozdíl je způsoben rozdílnými předpoklady nanočástice ve volném roztoku. Zatímco naše studie předpokládá existenci micelární fáze, model Lehna a kol. (2013) uvažuje vznik hydrofobních interakcí mezi molekulami vody a nanočásticí [130]. Uvážíme-li hodnotu povrchového napětí pro rozhraní volné nanočástice a vody $42 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ [33], dostaneme pro interakci 2 nm nanočástice a vody energii $521 \text{ k}_B\text{T}$. Zároveň naše analýza ukazuje, že 2 nm

nanočástice v membráně má energii přibližně $100 k_B T$ (Obr. 5.9). Tedy zabudováním volné nanočástice do membrány dojde ke snížení energie o přibližně $400 k_B T$, což je v souladu s numerickým modelem Lehn a kol. (2013) [129].

MEMBRÁNOU ZPOSTŘEDKOVANÉ INTERAKCE MEZI NANOČÁSTICEMI

V důsledku interakcí zprostředkovaných membránou mohou být síly mezi nanočásticemi zabudovanými v biologické membráně buď přitažlivé, nebo odpudivé. V současné studii je ukázáno, že oba případy jsou možné, a to pro malé hydrofobní nanočástice začleněné do hydrofobního jádra membrány v závislosti na vzájemné vzdálenosti mezi nimi. Tyto výsledky by mohly vysvětlit kondenzování nanočástic v lipidové dvojvrstvě připravené dialýzou pozorované Bonnaud a kol. (2014) [130] a Rasch a kol. (2010) [81]. Vložení první nanočástice, lokálně naruší membránu. Je pak energeticky výhodnější pro další vkládané částice být v kondenzovaném stavu s dalšími částicemi vloženými do membrány (Obr. 5.16A), než aby byly rozptýleny samostatně. Pokud je však membrána samostatně sestavena společně s nanočásticemi, jsou nanočástice vloženy do membrány ve větší vzdálenosti, než je vzdálenost odpovídající vrcholu deformační energie membrány (Obr. 5.15). V tomto případě interakce zprostředkované membránou způsobují odpudivé síly mezi nanočásticemi (Obr. 5.13) a nanočástice zůstávají oddělené.

V souladu s naším modelem předpověděla nedávno publikovaná studie molekulární dynamiky membrány [131] také existenci energetické bariéry mezi nanočásticemi potaženými dvěma aniontovými ligandy zabudovanými do lipidové membrány neobsahující cholesterol. Špička energetické bariéry byla pozorována při vzdálenosti nanočástic zhruba 8 nm od sebe, nanočástice měly průměr 3 nm. (Odpovídá vzdálenosti $d = 5$ nm, jak je definováno na obrázku 5.13). Naše simulace předpovídají vrchol energetické bariéry ve vzdálenosti $d = 4$ nm. Studie [131] se však zaměřila na nanočástice potažené amfifilními ligandy, a proto nejsou plně začleněny do hydrofobního jádra lipidové dvojvrstvy. Částice v této studii [131] byly proto záporně nabitě (amonné), elektrostaticky se odpuzovaly.

Rasch a kol. (2010) předpokládali, že energetická bariéra se objevuje hlavně v důsledku deformace protahování fosfolipidového řetězce [81]. Naše simulace ukazují, že namísto deformace membránového hydrofobního jádra je ohyb monovrstvy rozhodujícím faktorem při ovlivňování membránové elastické energetické bariéry mezi dvěma sousedními membránovými částicemi (Obr. 5.14). Zvýšení ohybové tuhosti fosfolipidových monovrstev

výrazně zvyšuje energii spojených dvojvrstev s vloženými nanočásticemi do membrány (Obr. 5.15C) a výšku energetické bariéry mezi stavy kondenzovaných nanočástic (Obr. 5.15A) a s rozptýlenými nanočásticemi (Obr. 5.15B).

VLIV TVARU NANOČÁSTICE

Podobně jako pro jednotlivou sférickou nanočástici můžeme určit také kritický poloměr pro nanočástici cylindrického tvaru. Pro cylindrickou nanočástici představuje koule limitní tvar, kdy délka centrální části je nulová (Obr. 4.5). Sférická hydrofobní částice ($l = 0$ nm) má kritický poloměr kolem 3,2 nm, jak také uvádí model Wi a kol. (2008) [93]. Válcové nanočástice mají výrazně nižší kritický poloměr než kulové. Například malá válcová nanočástice o délce 1 nm má kritický poloměr pod 2,3 nm. Stejným způsobem lze pro válcové nanočástice daného poloměru odhadnout kritickou délku. Kritická délka poskytuje podobné informace jako kritický poloměr. Nanočástice kratší než l_{crit} budou stabilní uvnitř lipidové dvojvrstvy, zatímco delší nanočástice budou tvořit micelární struktury.

Kritická velikost válcových nanočástic by mohla vysvětlit odlišné biologické chování válcových a sférických nanočástic [132]. 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) [133]. 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 [134]. Biologická aktivita nanočástic závisí na tvaru jejich povrchu. Je ukázáno, že pokud vezmeme kulovitou nanočástici o poloměru 3 nm, nepronikne do membrány a zůstane uvězněná uvnitř. Válcová nanočástice o délce $l = 1$ nm a stejné ploše jako sférická nanočástice má poloměr 2,76 nm. Je nad kritickým poloměrem a náš model ukazuje, že válcové nanočástice proniká do buněčné membrány častěji než sférické nanočástice což je v souladu s experimenty popsány výše.

LIMITY MODELU

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 [135] 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 [97, 105, 136 - 137]. May a kol. (2004) ukázal, že modul naklonění lipidů má dva energetické příspěvky [97]. 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 exhibilních hydroxykarbonových řetězců v blízkosti rigidní transmembránové inkluze [105].

Náš model také explicitně nezohledňuje nárůst poruchy lipidů v blízkosti nanočástice [138]. Tento efekt může být důležitý v lipidové dvojvrstvě obsahující cholesterol, kde se ukázalo, že obsah cholesterolu se snižuje v blízkosti nanočástice [138]. Bylo navrženo, že čistě hydrofobní nanočástice se akumulují na rozhraní mezi cholesterolovými doménami a cholesterol-slabými, tekutými doménami, aby se snížila celková energie mezifázového rozhraní [131]. Minimalizace mezifázové energie byla také navržena pro proteinové komplexy zprostředkované poruchami domén kolem proteinových inkluzí v uspořádaných lipidových dvojvrstvách [139]. Přítomnost cholesterolu může také přispívat k deplečním silám [105] mezi nanočásticemi. Tyto další přitažlivé síly mohou být zodpovědné za kondenzování nanočástic pozorované v přítomnosti cholesterolu v membráně [131]. Naše simulace interakce částic byly provedeny primárně pro lipidy fosfatidylcholinu se zápornou vnitřní křivostí C_0 (Tab. 4.3). Vliv variace vnitřní křivosti na membránovou energii je malý (Obr. 5.9 a 5.15), protože zapojení částice do membrány obsahuje jak oblasti kladné, tak záporné křivosti. Proto můžeme očekávat existenci energetické bariéry mezi kondenzovaným stavem a disperzním stavem nanočástic také pro membrány složené z lipidů s kladnou vnitřní křivostí. V rámci této studie byla uvažována membrána složená z jednoho druhu lipidů. Lipidová směs s různými vnitřními křivostmi [140] mohla ovlivnit interakci nanočástice-biomembrána. Lze očekávat také třídění lipidů na vysoce zakřiveném povrchu NP [141]. V tomto případě by měl být Gaussův energetický stav zahrnut do rovnice (4.35) a měl by se zvážit entropický příspěvek [142 - 144] 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.

7. 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 vstupních 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 odpuzivá, 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].

8. LITERATURA

- [1] GOTTSCHALK, Fadri, NOWACK, Bernd. The release of engineered nanomaterials to the environment. *Journal of environmental monitoring*. 2011, 13(5), 1145-1155. ISSN 1464-0333.
- [2] GARNER, Kendra L., KELLER, Arturo A. Emerging patterns for engineered nanomaterials in the environment: A review of fate and toxicity studies. *Journal of Nanoparticle Research*. 2014, 16(8):2503, ISSN 1572896X.
- [3] COLVIN, Vicki. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature biotechnology*. 2003, 21(10), 1166–1170.
- [4] MALYSHEVA, Anzhela, LOMBI, Enzo, VOELCKER, Nicolas. H. Bridging the divide between human and environmental nanotoxicology. *Nature Nanotechnology*. 2015, 10(10), 835-844. ISSN 1748-3395.
- [5] NEL, Andre, XIA, Tian, MÄDLER, Lutz, LI, Ning. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*. 2006, 311(5761), 622-627. ISSN 00368075.
- [6] SHAFFER, Roland E., RENGASAMY, Samy. Respiratory protection against airborne nanoparticles: A review. *Journal of Nanoparticle Research*. 2009, 11(7), 1661-1672. ISSN 13880764.
- [7] BAKAND, Shahnaz, HAYEW, Amanda, DECHSAKULTHORN, Finance. Nanoparticles: A review of particle toxicology following inhalation exposure. *Inhalation Toxicology*. 2012, 24(2), 125-135. ISSN 08958378.
- [8] SOUZA, Victor G.L., FERNANDO, Ana L. Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food – A review. *Food Packag Shelf Life*. 2016, 8, 63-70. ISSN 22142894.
- [9] HE, Xiaojia, HWANG, Huey M. Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2016, 24(4), 671-681. ISSN 10219498.
- [10] BUZEA, Cristina, PACHECO, Ivan I., ROBBIE, Kevin. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007, 2(4), MR17–MR71.

- [11] KENDALL, Michaela, LYNCH, Iseult. Long-term monitoring for nanomedicine implants and drugs. *Nature Nanotechnology*. 2016, 11(3), 206–210. ISSN 1748-3395.
- [12] SCHARF, Brian, CLEMENT, Cristina C., Zolla, Valerio et al. Molecular analysis of chromium and cobalt-related toxicity. *Scientific Reports*. 2014, 4(5729).
- [13] DE JONG, Wim H., BORM, Paul J. A. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nonmedicine*. 200, 3(2), 133-149. ISSN 11769114.
- [14] LOHSE, Sam. Nano Contaminants: How Nanoparticles Get Into the Environment. *Sustainable Nano*. 2014, May 13. Dostupné z: <https://sustainable-nano.com/2014/05/13/nano-contaminants-how-nanoparticles-get-into-the-environment/>
- [15] NOWACK, Bernd, BUCHELI, Thomas D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*. 2007, 150(1), 5-22. ISSN 02697491.
- [16] SAJID, Muhammad, ILYAS, Muhammad, BASHEER, Chanbasha et al. Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015, 22(6), 4122–4143. ISSN 16147499.
- [17] NEL, Andre E., MÄDLER, Lutz, VELEGOL, Darell et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*. 2009, 8(7), 543–557. ISSN 1476-4660.
- [18] JORIS, Freya, MANSHIAN, Bella B., PEYNSHAERT, Karen et al. Assessing nanoparticle toxicity in cell-based assays: influence of cell culture parameters and optimized models for bridging the in vitro–in vivo gap. *Chemical Society Reviews*. 2013, 42(21), 8339–8359.
- [19] LEWINSKI, Nastassja, COLVIN, Vicky, DREZEK, Rebekah. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008, 4(1), 26–49. ISSN 16136810.
- [20] VERMA, Ayush, STELLACCI, Francesca. Effect of surface properties on nanoparticle–cell interactions. *Small*. 2010, 6(1), 12–21. ISSN 16136810.
- [21] YILDIRIMER, Lara, THANH, Nguyen T. K., LOIZIDOU, Marilena et al. Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today*. 2011, 6(6), 585–607. ISSN 17480132.

- [22] YAMASHITA, Kohei, YOSHIOKA, Yasuo, HIGASHISAKA, Kazuma et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnology*. 2011, 6(5), 321–328. ISSN 1748-3395.
- [23] MU, Qingxin, JIANG, Guibin, CHEN, Lingxin et al. Chemical basis of interactions between engineered nanoparticles and biological systems. *Chemical Review*. 2014, 114(15), 7740–7781. ISSN 1520-6890.
- [24] DONALDSON, K., STONE, V., TRAN, C. et al. Nanotoxicology. *Occupational and Environmental Medicine*. 2004, 61(9), 727–728. ISSN 13510711.
- [25] OBERDÖRSTER, Günter, OBERDÖRSTER, Eva, OBERDÖRSTER, Jan. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*. 2005, 113(7), 823–839. ISSN 00916765.
- [26] SHVEDOVA, Anna A., KISIN, Elena R., MERCER, Robert et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2005, 289(5), 698–708. ISSN 10400605.
- [27] PIETROIUSTI, Antonio. Health implications of engineered nanomaterials. *Nanoscale*. 2012, 4(4), 1231–1247.
- [28] MACDONALD, Thomas J., WU, Ke, SEHMI, Sandeep K. et al. Thiol-Capped Gold Nanoparticles Swell-Encapsulated into Polyurethane as Powerful Antibacterial Surfaces under Dark and Light Conditions. *Scientific Reports*. 2016, 6, 1-11. ISSN 20452322.
- [29] SHANG, Li, NIENHAUS, Karin, NIENHAUS, Gerd U. Engineered nanoparticles interacting with cells: size matters. *Journal of Nanobiotechnology*. 2014, 12, 5. ISSN 1477-3155.
- [30] CHENG, Liang-Chien, JIANG, Xiumei, WANG, Jing et al. Nano–bio effects: interaction of nanomaterials with cells. *Nanoscale*. 2013, 5(9), 3547–3569.
- [31] MAILÄNDER, Volker, LANDFESTER, Katharina Interaction of nanoparticles with cells. *Biomacromolecules*. 2009, 10(9), 2379–2400. ISSN 1525-7797.

- [32] LAI, Kan, WANG, Biao, ZHANG, Yong et al. Computer simulation study of nanoparticle interaction with a lipid membrane under mechanical stress. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2012, 15(1), 270–278.
- [33] SCHNEEMILCH, M., QUIRKE, N. Free energy of adsorption of supported lipid bilayers from molecular dynamics simulation. *Chemical Physics Letters*. 2016, 664, 199–204. ISSN 00092614.
- [34] DING, Hong-Ming, MA, Yu-qiang. Interactions between Janus particles and membranes. *Nanoscale*. 2012, 4(4), 1116–1122.
- [35] LOPEZ, Hender, BRANDT, Erik G., MIRZOEV, Alexander et al. Multiscale Modelling of Bionano Interface. *Modelling the Toxicity of Nanoparticles*. 2017, 947, 173–206. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer, Cham. ISBN 978-3-319-47754-1. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47754-1_7
- [36] MEUNIER, Marc. *Industrial applications of molecular simulations*. Boca Raton, USA: CRC Press, 2011. ISBN 1439861013.
- [37] QUIRKE, N., GUBBINS, K. Molecular simulation and industrial applications: methods, examples, and prospects. Amsterdam, The Netherlands: Gordon and Breach Science Publishers. (Current topics in molecular simulation, v. 1.), 1996. ISBN 9056990055.
- [38] CONTINI, Claudia, SCHNEEMILCH, Matthew, GAISFORD, Simon et al. Nanoparticle–membrane interactions. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2018, 13(1), 62–81. ISSN 17458099.
- [39] 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/>
- [40] CHAPMAN, D. Phospholipid bilayers physical principles and models. *Cell Biochemistry and Function*. 1988, 6(2), 147–148.
- [41] 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.

- [42] KUMARI, Sudha, MG, Swetha, MAYOR, Satyajit. Endocytosis unplugged: multiple ways to enter the cell. *Cell Research*. 2010, 20(3), 256–275.
- [43] CONNER, Sean D., SCHMID, Sandra L. Regulated portals of entry into the cell. *Nature*. 2003, 422(6927), 37–44. ISSN 00280836.
- [44] MCMAHON, Harvey T., BOUCROT, Emmanuel. Molecular mechanism and physiological functions of clathrinmediated endocytosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2011, 12(8), 517–533. ISSN 1471-0080.
- [45] DOHERTY, Gary J., MCMAHON, Harvey T. Mechanisms of endocytosis. *Annual Review of Biochemistry*. 2009, 78, 857– 902.
- [46] 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.
- [47] LIPOWSKY, R., DÖBEREINER, H. G. Vesicles in contact with nanoparticles and colloids. *Europhysics Letters*. 1998, 43(2), 219–225. ISSN 02955075.
- [48] ZHANG, Sulin, GAO, Huajian, BAO, Gang. Physical Principles of Nanoparticle Cellular Endocytosis. *ACS Nano*. 2015, 9(9), 8655–8671. ISSN 1936-086X (Electronic).
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] CAMPELO, Felix, MALHOTRA, Vivek. Membrane Fission: the Biogenesis of Transport Carriers. *Annual Review of Biochemistry*. 2012, 81(1), 407–427. ISSN 0066-4154.
- [52] HELFRICH, W. Elastic Properties of Lipid Bilayers: Theory and Possible Experiments. *Z Nat.forsch. Teil C Biochem Biophys Biol Virol*. 1973, 28(11), 693–703.
- [53] 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.

- [54] ZHANG, Sulin, LI, Ju, LYKOTRAFITIS, George et al. Size-dependent endocytosis of nanoparticles. *Advanced Materials*. 2009, 21(4), 419–424. ISSN 09359648.
- [55] AGUDO-CANALEJO, Jaime, LIPOWSKY, Reinhard. Uniform and Janus-like nanoparticles in contact with vesicles: energy landscapes and curvature-induced forces. *Soft Matter*. 2017, 13(11), 2155–2173. ISSN 17446848.
- [56] MORRIS, C. E., HOMANN, U. Cell surface area regulation and membrane tension. *Journal of Membrane Biology*. 2001, 179(2), 79–102.
- [57] SCHWEITZER, Yonatan, LIEBER, Arnon D., KEREN, Kinneret et al. Theoretical analysis of membrane tension in moving cells. *Biophysical Journal*. 2014, 106(1), 84–92. ISSN 00063495.
- [58] RAUCHER, Drazen, SHEETZ, Michael P. Membrane expansion increases endocytosis rate during mitosis. *The Journal of Cell Biology*. 1999, 144(3), 497–506.
- [59] DESERNO, Markus, GELBART, William M. Adhesion and Wrapping in Colloid - Vesicle Complexes. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2002, 106(21), 5543–5552. ISSN 1520-6106.
- [60] TARAZONA, Pedro, CHACÓN, Enrique, BRESME, Fernando. Thermal fluctuations and bending rigidity of bilayer membranes. *The Journal of Chemical Physics*. 2013, 139(9), 94902. ISSN 0021-9606.
- [61] NAGLE, John F. Introductory lecture: basic quantities in model biomembranes. *Faraday Discuss*. 2013, 161, 11–29.
- [62] MESSERSCHMIDT, Claudia, HOFMANN, Daniel, KROEGER, Anja et al. On the pathway of cellular uptake: new insight into the interaction between the cell membrane and very small nanoparticles. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2016, 7, 1296–1311.
- [63] LESNIAK, Anna, SALVATI, Anna, SANTOS-MARTINEZ, Maria J. et al. Nanoparticle adhesion to the cell membrane and its effect on nanoparticle uptake efficiency. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, 135(4), 1438–1444. ISSN 0002-7863.
- [64] ROBERTSON, James D., RIZZELLO Loris, AVILA-OLIAS Milagros et al. Purification of nanoparticles by size and shape. *Scientific Reports*. 2016, 6, 1-9.

- [65] CHO, Eun J., HOLBACK, Hillary, LIU, Karen C. et al. Nanoparticle characterization: state of the art, challenges, and emerging technologies. *Molecular pharmaceuticals*. 2013, 10(6), 2093–2110. ISSN 1543-8392.
- [66] MONTES-BURGOS, Iker, WALCZYK, Dorota, HOLE, Patrick et al. Characterisation of nanoparticle size and state prior to nanotoxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research*. 2010, 12(1), 47–53. ISSN 13880764.
- [67] FRÖHLICH, Eleonore. The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 2012, 7, 5577–5591.
- [68] LEROUEIL, Pascale R., BERRY, Stephanie A., DUTHIE, Kristen et al. Wide Varieties of Cationic Nanoparticles Induce Defects in Supported Lipid Bilayers. *Nano Letters*. 2008, 8(2), 420–424. ISSN 1530-6984.
- [69] MAHMOUDI, Morteza, LYNCH, Iseult, EJTEHADI, Mohammad R. et al. Protein-Nanoparticle Interactions: Opportunities and Challenges. *Chemical Reviews*. 2011, 111(9), 5610–5637. ISSN 0009-2665.
- [70] MONOPOLI, Marco P., WALCZYK, Dorota, CAMPBELL, Abigail et al. Physical-Chemical Aspects of Protein Corona: Relevance to in Vitro and in Vivo Biological Impacts of Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(8), 2525–2534. ISSN 0002-7863.
- [71] WEISSLEDER, Ralph, KELLY, Kimberly, SUN, Eric Y. et al. Cell-specific targeting of nanoparticles by multivalent attachment of small molecules. *Nature Biotechnology*. 2005, 23(11), 1418–1423. ISSN 1546-1696.
- [72] SALATIN, Sara, MALEKI DIZAJ, Solmaz, YARI KHOSROUSHAHI, Ahman. Effect of the surface modification, size, and shape on cellular uptake of nanoparticles. *Cell Biology International*. 2015, 39(8), 881–890. ISSN 1065-6995.
- [73] FERNANDEZ-TRILLO, Francisco, GROVER, Liam M., STEPHENSON-BROWN, Alex et al. Vesicles in Nature and the Laboratory: Elucidation of their Biological Properties and Synthesis of Increasingly Complex Synthetic Vesicles. *Angewandte Chemie International Edition*. 2017, 56(12), 3142–3160. ISSN 1433-7851.

- [74] JOSEPH, Adrian, CONTINI, Claudia, CECCHIN, Denis et al. Chemotactic synthetic vesicles: design and applications in blood-brain barrier crossing. *Science Advances*. 2017, 3(8), e1700362.
- [75] SLAVKOVA, Z., GENOVA, J., CHAMATI, H. et al. Influence of hydrophobic Au nanoparticles on SOPC lipid model systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2020, 603, 125090. ISSN 1873 4359.
- [76] PARK, Sung-Hee, OH, Seong-Geun, MUN, Ji-Young et al. Effects of silver nanoparticles on the fluidity of bilayer in phospholipid liposome. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*. 2005, 44(2-3), 117-22. ISSN 0927-7765.
- [77] PARK, Sung-Hee, OH, Seong-Geun, MUN, Ji-Young et al. Loading of gold nanoparticles inside the DPPC bilayers of liposome and their effects on membrane fluidities. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*. 2006, 48(2), 112-118. ISSN 0927-7765.
- [78] BOTHUN, G. D. Hydrophobic silver nanoparticles trapped in lipid bilayers: Size distribution, bilayer phase behavior, and optical properties. *Journal of Nanobiotechnology*. 2008, 6(1), 13. ISSN 1477-3155.
- [79] CHEN, Yanjing, BOSE, Arijit, BOTHUN, Geoffrey D. Controlled Release from Bilayer-Decorated Magnetoliposomes via Electromagnetic Heating. *ACS Nano*. 2010, 4(6), 3215-3221. ISSN 1936-0851.
- [80] PREISS, Matthew R., HART, Ashley, KITCHENS, Christopher, BOTHUN, Geoffrey D. Hydrophobic Nanoparticles Modify the Thermal Release Behavior of Liposomes. *The journal of physical chemistry. B*. 2017, 121(19), 5040-5047. ISSN 1520-5207 (Electronic).
- [81] 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).
- [82] VON WHITE, Gregory, CHEN, Yanjing, RODER-HANNA, Julia et al. Structural and Thermal Analysis of Lipid Vesicles Encapsulating Hydrophobic Gold Nanoparticles. *ACS Nano*. 2012, 6(6), 4678-4685. ISSN 1936-0851.

- [83] SCHULZ, Matthias, OLUBUMMO, Adekunle, BINDER, Wolfgang H. Beyond the lipid-bilayer: interaction of polymers and nanoparticles with membranes. *Soft Matter*. 2012, 8(18), 4849–4864.
- [84] MOGHADAM, Babak Y., HOU, Wen-Che, CORREDOR, Charlie et al. Role of nanoparticle surface functionality in the disruption of model cell membranes. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*. 2012, 28(47), 16318–16326. ISSN 1520-5827.
- [85] RICHTER, Ralf, MUKHOPADHYAY, Anneke, BRISSON, Alain. Pathways of lipid vesicle deposition on solid surfaces: a combined QCM-D and AFM study. *Biophysical Journal*. 2003, 85(5), 3035–3047. ISSN 0006-3495.
- [86] SHAPERO, Kayle, FENAROLI, Federico, LYNCH, Iseult et al. Time and space resolved uptake study of silica nanoparticles by human cells. *Molecular BioSystems*. 2011, 7(2), 371–378.
- [87] NEL, Andre, XIA, Tian, MENG, Huan et al. Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. *Accounts of chemical research*. 2013, 46 (3), 607–621. ISSN 1520-4898 (Electronic).
- [88] LE BIHAN, Oliver, BONNAFOUS, Pierre, MARAK, Laszlo et al. Cryo-electron tomography of nanoparticle transmigration into liposome. *Journal of Structural Biology*. 2009, 168(3), 419–425.
- [89] MICHEL, Raphael, KESSELMAN, Ellina, PLOSTICA, Tobias et al. Internalization of silica nanoparticles into fluid liposomes: formation of interesting hybrid colloids. *Angewandte Chemie*. 2014, 126, 12649-12653.
- [90] ROITER, Yuri, ORNATSKA, Maryna, RAMMOHAN, Aravind R. et al. Interaction of nanoparticles with lipid membrane. *Nano Letters*. 2008, 8(3), 941–944. ISSN 1530-6984.
- [91] ZHANG, Shengwen, NELSON, Andrew, BEALES, Paul A. Freezing or Wrapping: the role of particle size in the mechanism of nanoparticle–biomembrane interaction. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*. 2012, 28(35), 12831–12837. ISSN 1520-5827 (Elect.).
- [92] STROBL, Florian G., SEITZ, Florian, WESTERHAUSEN, Christoph et al. Intake of silica nanoparticles by giant lipid vesicles: influence of particle size and thermodynamic membrane state. *Beilstein journal of nanotechnology*. 2014, 5, 2468–2478. ISSN 2190-4286.

- [93] 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.
- [94] CANHAM, P. B. The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell. *Journal of Theoretical Biology*. 1970, 26(1), 61-81. ISSN 0022-5193.
- [95] KIRCHHAUSEN, Tom. Bending membranes. *Nature Cell Biology*. 2012, 14(9), 906-908. ISSN 1476-4679 (Electronic).
- [96] BIAN, Xin, LITVINOV, Sergey, KOUMOUTSAKOS, Petros. Bending models of lipid bilayer membranes: Spontaneous curvature and area-difference elasticity. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*. 2020, 359, 112758. ISSN 0045-7825.
- [97] MAY, S., KOZLOVSKY, Y., BEN-SHAUL, A., KOZLOV, M. M. Tilt modulus of a lipid monolayer. *European Physical Journal E*. 2004, 14, 299-308.
- [98] RUBINSTEIN, Michael, COLBY, Ralph H. *Polymer physics*. Vol. 23. New York: Oxford university press, 2003.
- [99] MARKO, John F., SIGGIA, Eric D. Stretching DNA. *Macromolecules*. 1995, 28(26), 8759–8770. ISSN 0024-9297.
- [100] PEROUTKOVÁ, Šárka, DANIEL, Matej, DOLINAR, Gregor, et al. Stability of the Inverted Hexagonal Phase. *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*. Burlington: Academic Press. 2009, 9, 237-278. ISBN: 978-0-12-374822-5.
- [101] RAMSDEN, Jeremy J. *Nanotechnology*, Second Edition. Micro and Nano Technologies. 2016. ISBN 978-0-323-39311-9. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-03912-3>
- [102] MIAO, Ling, SEIFERT, Udo, WORTIS, Michael et al. Budding transition of fluid-bilayer vesicles: The effect of area-difference elasticity. *Physical Review E*. 1994, 49(6), 5389-5407.
- [103] ALIMOHAMADI, Haleh, RANGAMANI, Padmini. Modeling Membrane Curvature Generation due to Membrane-Protein Interactions. *Biomolecules*. 2018, 8(4), 35-38.

- [104] 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.
- [105] BOHINC, Klemen, KRALJ-IGLIČ, Veronika, MAY, Sylvio. Interaction between two cylindrical inclusions in a symmetric lipid bilayer. *The Journal of Chemical Physics*. 2003, 119(14), 7435-7444. ISSN 0021-9606.
- [106] NIELSEN, Claus, ANDERSEN, Olaf S. Inclusion-induced bilayer deformations: effects of monolayer equilibrium curvature. *Biophysical journal*. 2000, 79, 2583-2604. ISSN 0006-3495.
- [107] PHILLIPS, Rob, URSELL, Tristan, WIGGINS, Paul et al. Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function. *Nature*. 2009, 459(7245), 379-385. ISSN 1476-4687 (Elect.).
- [108] PERUTKOVÁ, Šárka, DANIEL, Matej, RAPPOLT, Michael et al. Elastic deformations in hexagonal phases studied by small-angle X-ray diffraction and simulations. *Physical chemistry chemical physics: PCCP*. 2011, 13(8), 3100-3107. ISSN 1463-9084 (Elect.).
- [109] BOAL, David. *Mechanics of the Cell* (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press. 2012. ISBN 9781139022217.
- [110] KŘÍŽ, Zdeněk, ŠVANDOVÁ, Veronika. *Numerická integrace*. [online] Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/sci/jaro2018/C2140/um/ch07.pdf>
- [111] AJI, Satriya S., KIM, Young S., AHN, Kook Y. et al. Life-Cycle Cost Minimization of Gas Turbine Power Cycles for Distributed Power Generation Using Sequential Quadratic Programming Method, *Energies*. 2018, 11(12). ISBN 1996-1073.
- [112] BOGGS, Paul T., TOLLE, Jon W. Sequential Quadratic Programming. *Acta Numerica*. 1995, 4, 1-51.
- [113] CONRADIE, A. E., BUYS, J. D., KROGER, G. G. Performance optimization of dry-cooling systems for power plants through SQP methods. *Applied Thermal Engineering*. 1998, 18(1-2), 25-45. ISSN 13594311.
- [114] BIEGLER, Lorenz T., GROSSMANN, Ignacio E., WESTERBERG, Arthur W. *Systematic Methods of Chemical Process Design*. Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ, USA, 1997. ISBN 978-0-13-492422-9.

- [115] EDGAR, T. F., HIMMELBAU, D. M., LASDON, L. S. *Optimization of Chemical Process*. McGraw Hill Companies Inc.: New York, NY, USA, 2001.
- [116] Aspen Technolgy. *Aspen Plus 8.6 User Guide*. Aspen Technology Inc.: Cambridge, MA, USA. 2014.
- [117] PETERS, M. S., TIMMERHAUS, K. D., WEST, R. E. *Plant Design and Economics for Chemical Engineers*, 5th ed.; Mc Graw Hill: New York, NY, USA, 2002.
- [118] KIRKPATRICK, S., GELATT, C. D. a VECCHI, M. P. Optimalization by Simulated Annealing. *Science*. 1983, 220(4598), 671-680.
- [119] 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.
- [120] FÖSTER, D. On the scale dependence, due to thermal fluctuations, of the elastic properties of membranes. *Physics Letters A*. 1986, 114(3), 115-120. ISSN 0375-9601.
- [121] METROPOLIS, Nicholas, ROSENBLUTH, Arianna W., ROSENBLUTH, Marshall N. et al. Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. *The Journal of Chemical Physics*. 1953, 21(6), 1087-1092. ISSN 0021-9606.
- [122] GOPALAKRISHNAN, Gopakumar, DANELON, Christophe, IZEWSKA, Paulina et al. Multifunctional lipid/quantum dot hybrid nanocontainers for controlled targeting of live cells. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*. 2006, 45 (33), 5478–5483. ISSN 1433-7851.
- [123] JANG, Heeun, PELL, Lindsay E., KORGEL, Brian A. et al., Photoluminescence quenching of silicon nanoparticles in phospholipid vesicle bilayers. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2003, 158(2-3), 111-117. ISSN 10106030.
- [124] LEE, Hee-Young, SHIN, Sun Hae Ra, ABEZGAUZ, Ludmila L. et al. Integration of Gold Nanoparticles into Bilayer Structures via Adaptive Surface Chemistry. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, 135 (16), 5950-5953. ISSN 0002-7863.

- [125] MICHEL, Raphael, GRADZIELSKI, Michael. Experimental Aspects of Colloidal Interactions in Mixed Systems of Liposome and Inorganic Nanoparticle and Their Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012, 13(9), 11610-11642. ISSN 1422-0067.
- [126] CURTIS, Emily M., BAHRAMI, Amir H., WEIKL, Thomas R., HALL, Carol K. Modeling nanoparticle wrapping or translocation in bilayer membranes. *Nanoscale*. 2015, 7(34), 14505-14514.
- [127] ROSSI, Giulia, MONTICELLI, Luca. Gold nanoparticles in model biological membranes: A computational perspective. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*. 2016, 1858(10), 2380-2389. ISSN 0005-2736.
- [128] KOLLMITZER, Benjamin, HEFTBERGER, Peter, RAPPOLT, Michael et al. Monolayer spontaneous curvature of raft-forming membrane lipids. *Soft Matter*. 2013, 9(45), 10877-10884.
- [129] VAN LEHN, Reid C., ATUKORALE, Prabhini U., Carney, Randy P. et al. Effect of particle diameter and surface composition on the spontaneous fusion of monolayer-protected gold nanoparticles with lipid bilayers. *Nano Letters*. 2013, 13(9), 4060-4067. ISSN 1530-6992 (Elect.).
- [130] BONNAUD, Cécile, MONNIER, Christophe A., DEMURTAS, Davide et al. Insertion of nanoparticle clusters into vesicle bilayers. *ACS Nano*. 2014, 8(4), 3451–3460.
- [131] ANGELIKOPOULOS, Panagiotis, SARKISOV, Lev, COURNIA, Zoe, GKEKA, Paraskevi. Self-assembly of anionic, ligand-coated nanoparticles in lipid membranes. *Nanoscale*. 2017, 9(3), 1040–1048.
- [132] YOO, Jejoong, CUI, Qiang. Three-Dimensional Stress Field around a Membrane Protein: Atomistic and Coarse-Grained Simulation Analysis of Gramicidin A. *Biophysical Journal*. 2013, 104(1), 117-127. ISSN 0006-3495.
- [133] 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).

- [134] 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).
- [135] 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.
- [136] FOŠNARIČ, Miha, BOHINC, Klemen, GAUGER, Dorit R. et al. The Influence of Anisotropic Membrane Inclusions on Curvature Elastic Properties of Lipid Membranes. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2005, 45(6), 1652-1661. ISSN 1549-9596.
- [137] FOŠNARIČ, Miha, IGLIČ, Aleš, MAY, Sylvio. Influence of rigid inclusions on the bending elasticity of a lipid membrane. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*. 2006, 74(5 Pt 1), 51503. ISSN 1539-3755.
- [138] GKEKA, Paraskevi, ANGELIKOPOULOS, Panagiotis, SARKISOV, Lev, COURNIA, Zoe. Membrane Partitioning of Anionic, Ligand-Coated Nanoparticles Is Accompanied by Ligand Snorkeling, Local Disordering, and Cholesterol Depletion. *PLoS Computational Biology*. 2014, 10(12), e1003917. ISSN 1553-7358.
- [139] KATIRA, Shachi, MANDADAPU, Khanthi. K., VAIKUNTANATHAN, Suriyanarayanan et al. Pre-transition effects mediate forces of assembly between transmembrane proteins. *eLife*. 2016, 5, e13150. ISSN 2050-084X.
- [140] HAMAI, Chiho, YANG, Tinglu, KATAOKA, Sho et al. Effect of average phospholipid curvature on supported bilayer formation on glass by vesicle fusion. *Biophysical journal*. 2006, 90(4), 1241-1248. ISSN 0006-3495.
- [141] BLACK, Joshua C., CHENEY, Philip P., CAMPBELL, Travis, KNOWLES, Michelle K. Membrane curvature based lipid sorting using a nanoparticle patterned substrate. *Soft Matter*. 2014, 10(12), 2016-2023.
- [142] HÄGERSTRAND, Henry, MRÓWCZYŃSKA, Lucyna, SALZER, Ulrich, et al. Curvature-dependent lateral distribution of raft markers in the human erythrocyte membrane. *Molecular Membrane Biology*. 2006, 23(3), 277-288. ISSN 0968-7688.

- [143] KRALJ-IGLIČ, V., HEINRICH, V., SVETINA, S. et al. Free energy of closed membrane with anisotropic inclusions. *The European Physical Journal B - Condensed Matter and Complex Systems*. 1999, 10, 5–8. ISSN 1434-6036.
- [144] 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.

- [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. Dostupné z: <https://esbiomech.org/conference/archive/2016lyon/papers/974-1993-1-PB.pdf>
- [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.

Dostupné z: http://www.zcu.cz/pracoviste/vyd/online/Humanic_web.pdf.

[IX] LUKEŠ, Jaroslav, GRZNÁROVÁ, Petra, FŮZIK, 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.

Dostupné z: http://www.zcu.cz/pracoviste/vyd/online/Humanic_web.pdf.

[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.

ŽIVOTOPIS

Jitka Řezníčková

4. února 1989

Počernická 21/24, 100 00 Praha 10

jitka.reznickova@fs.cvut.cz

Vzdělání:

- 2014 – 2017 České vysoké učení technické v Praze, Masarykův ústav vyšších studií, obor Učitelství odborných předmětů – specializace v pedagogice: Bc.
- 2011 – 2013 České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, obor Biomechanika a lékařské přístroje: Ing.
- 2008 – 2011 České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, program Teoretický základ strojího inženýrství: Bc.
- 2000 – 2008 Gymnázium Jiřího-Gutha Jarkovského, Truhlářská 22, Praha 1

Praxe:

- říjen 2017 – dosud Fakulta strojní ČVUT v Praze: odborní administrativní pracovník vzdělávací organizace – projektu ESF CZ.02.2.69/0.0/0.0/16_015/0002382 - Fakultní koordinátor; Odborník na akreditace - klíčový řešitel; Koordinátor výjezdy/příjezdy; Specialista podpůrných aktivit; Analytik, metodik, specialista hodnocení a ověřování způsobilosti;
- říjen 2013 – dosud Fakulta strojní ČVUT v Praze: doktorské studium
- říjen 2016 – duben 2017 Orcaín spol. s r. o. – Oční ordinace MUDr. Moravčíkové: asistentka lékaře
- 2007 – duben 2009 IVECO Czech Republic a.s.: asistentka oddělení reklamací – koordinace svolávacích akcí

Jazykové znalosti:

český jazyk – rodilý mluvčí
anglický jazyk – střední
německý jazyk – základní

Počítačové dovednosti:

Word, Excel, Power Point

Další:

psaní všemi deseti
řidičský průkaz skupiny B

Zájmy:

cestování, květiny, rodina, kultura

9. PŘÍLOHY

PŘÍLOHA A – KŘIVOST MEMBRÁNY V PROSTORU

**PŘÍLOHA B – PROGRAM PRO VÝPOČET MINIMA ENERGIE
MEMBRÁNY**

**PŘÍLOHA C – UKÁZKY ENERGIE NANOČÁSTICE V MEMBRÁNĚ
PRO RŮZNOU VELIKOST A MECHANICKÉ
PARAMETRY MEMBRÁNY**

PŘÍLOHA A – KŘIVOST MEMBRÁNY V PROSTORU

ZAKŘIVENÍ MEMBRÁNY V PROSTORU

Analytický popis povrchu zahrnuje výběr souřadnic. Konvence souřadnic používá množinu základních vektorů vložených do samotného povrchu, podobně jako délka podél křivky, jak je naznačeno dvojicí u, v . Poloha libovolného bodu na membráně může být určena jako

$$\mathbf{r} = \mathbf{r}(u, v), \quad (9.1)$$

kde (u, v) jsou dva nezávislé parametry, které definují polohu v kartézských souřadnicích

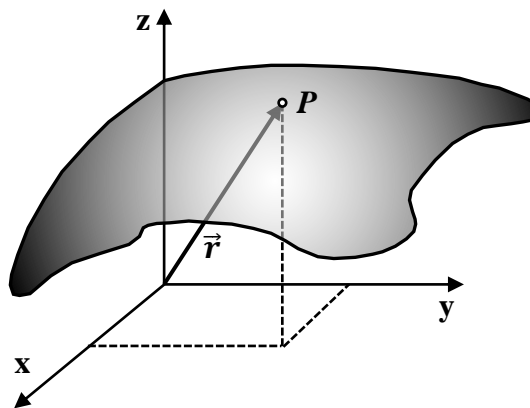
$$\mathbf{r} = (x(u, v), y(u, v), z(u, v)). \quad (9.2)$$

Vektorové funkce \mathbf{r}_u a \mathbf{r}_v lze definovat jako

$$\mathbf{r}_u = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial u} = \left(\frac{\partial x}{\partial u}, \frac{\partial y}{\partial u}, \frac{\partial z}{\partial u} \right) \quad (9.3)$$

$$\mathbf{r}_v = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial v} = \left(\frac{\partial x}{\partial v}, \frac{\partial y}{\partial v}, \frac{\partial z}{\partial v} \right). \quad (9.4)$$

Obecně platí, že vektory \mathbf{r}_u a \mathbf{r}_v nejsou ani jednotkovými vektory, ani ortogonálními vektory. Vektory \mathbf{r}_u a \mathbf{r}_v definují tečnou rovinu v bodě P , tj. rovinu, která je tangenciální k povrchu v bodě P na povrchu.

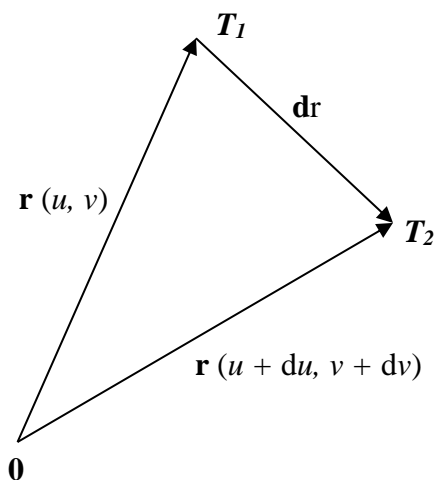


Obr. 9.1 - Příklad parametrického znázornění povrchu. Vektor poloměru k bodu P na povrchu je dán polohou bodu v rovině x - y a výškou nad rovinou.

ELEMENT OBLOKU NA POVRCHU

$$d\mathbf{r} = \mathbf{r}(u + du, v + dv) - \mathbf{r}(u, v) = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial u} du + \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial v} dv \quad (9.5)$$

$$d\mathbf{r} = \mathbf{r}_u du + \mathbf{r}_v dv \quad (9.6)$$



Obr. 9.2 - Vzdálenost dr mezi dvěma body na povrchu T_1 a T_2 .

$$(ds)^2 = d\mathbf{r} \cdot d\mathbf{r} = (\mathbf{r}_u du + \mathbf{r}_v dv) \cdot (\mathbf{r}_u du + \mathbf{r}_v dv) \quad (9.7)$$

$$(ds)^2 = (\mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_u)(du)^2 + 2\mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_v dudv + (\mathbf{r}_v \cdot \mathbf{r}_v)(dv)^2 \quad (9.8)$$

$$(ds)^2 = E(du)^2 + 2Fdudv + G(dv)^2, \quad (9.9)$$

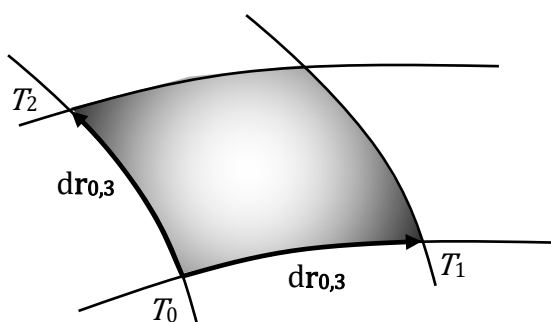
kde E, F, G jsou definovány vztahy (9.10 – 9.12)

$$E = \mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_u \quad (9.10)$$

$$F = \mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_v \quad (9.11)$$

$$G = \mathbf{r}_v \cdot \mathbf{r}_v \quad (9.12)$$

Infinitesimální oblast plochy definované pomocí $\mathbf{r}(u, v)$



Obr. 9.3 - Nekonečně malá plocha na povrchu.

Poloměrové vektory bodů na povrchu $\mathbf{r}(u, v)$:

$$T_0: \mathbf{r}(u, v), \quad (9.13)$$

$$T_1: \mathbf{r}(u + du, v), \quad (9.14)$$

$$T_2: \mathbf{r}(u, v + dv). \quad (9.15)$$

Infinitesimální vektory spojující body T_0 a T_1 a body T_0 a T_3 :

$$d\mathbf{r}_{0,1} = \mathbf{r}(u + du, v) - \mathbf{r}(u, v) = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial u} du = \mathbf{r}_u du, \quad (9.16)$$

$$d\mathbf{r}_{0,3} = \mathbf{r}(u, v + dv) - \mathbf{r}(u, v) = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial v} dv = \mathbf{r}_v dv. \quad (9.17)$$

Infinitesimální plocha (šrafovaná plocha na obr.)

$$d\mathbf{A} = d\mathbf{r}_{0,1} \times d\mathbf{r}_{0,3} = (\mathbf{r}_u du) \times (\mathbf{r}_v dv) = (\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v) dudv, \quad (9.18)$$

$$dA = |d\mathbf{A}| = |\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v| dudv. \quad (9.19)$$

Dále použijeme Lagrangeův vztah

$$(\mathbf{a} \times \mathbf{b}) \cdot (\mathbf{c} \times \mathbf{d}) = (\mathbf{a} \cdot \mathbf{c})(\mathbf{b} \cdot \mathbf{d}) - (\mathbf{b} \cdot \mathbf{c})(\mathbf{a} \cdot \mathbf{d}), \quad (9.20)$$

proto

$$(\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v) \cdot (\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v) = (\mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_u)(\mathbf{r}_v \cdot \mathbf{r}_v) - (\mathbf{r}_u \cdot \mathbf{r}_v)^2 = EG - F^2 \quad (9.21)$$

odkud

$$|\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v| = \sqrt{(\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v) \cdot (\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v)} = \sqrt{EG - F^2} \quad (9.22)$$

a na konec

$$dA = \sqrt{EG - F^2} dudv \quad (9.23)$$

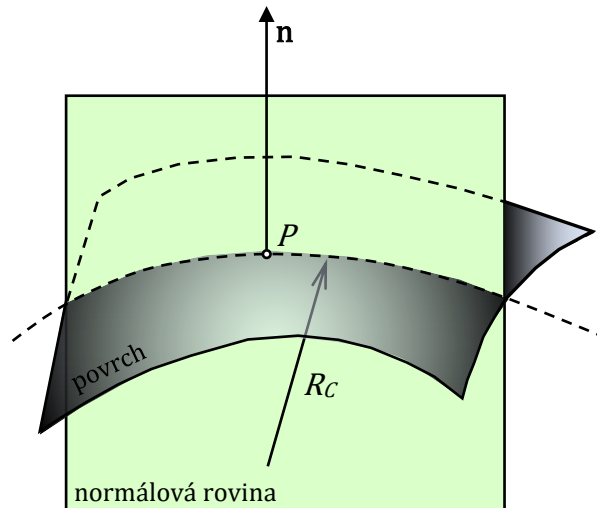
velikost/hodnota $EG - F^2$ se nazývá determinant metriky g povrchu.

NORMÁLA K POVRCHU

Vektorový součin vektorů \mathbf{r}_u a \mathbf{r}_v : $(\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v)$ je kolmý k rovině tečny. Jednotkový normálový vektor \mathbf{n} v bodě P může být definován jako

$$\mathbf{n} = \frac{\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v}{|\mathbf{r}_u \times \mathbf{r}_v|}. \quad (9.24)$$

Vezmeme-li v úvahu rovinu, která prochází bodem P na povrchu, obsahuje normálový vektor \mathbf{n} , lze vytvořit nekonečný počet takových rovin. Tyto roviny nazýváme normálové roviny.



Obr. 9.4 - Normálová rovina

ZAKŘIVENÍ POVRCHU

Průřez normálové roviny a povrchu definuje speciální křivku na povrchu. Křivost $1/R$, kde R je poloměr křivosti této křivky, se nazývá normálový průřez křivosti.

$$C = \mathbf{n} \cdot \frac{d^2\mathbf{r}}{ds^2}. \quad (9.25)$$

S ohledem na vztah (9.6), $d^2\mathbf{r}$ může být vyjádřen podobným způsobem jako

$$d^2\mathbf{r} = \mathbf{r}_{uu}du^2 + \mathbf{r}_{uv}dudv + \mathbf{r}_{vv}dv^2 + \mathbf{r}_ud^2u + \mathbf{r}_vd^2v, \quad (9.26)$$

kde $\mathbf{r}_{\alpha\beta} = \partial^2\mathbf{r}/\partial\alpha\partial\beta$ a (α, β) jsou (u, u) , (v, v) a (u, v) . Naším cílem je vyhodnotit $\mathbf{n}d^2\mathbf{r}$ (vztah 9.25), ke kterému poslední dva termíny nepřispívají vzhledem k ortogonalitě \mathbf{r}_x a \mathbf{r}_y . Tím pádem

$$\mathbf{n}d^2\mathbf{r} = Ldu^2 + 2Mdudv + Ndv^2, \quad (9.26)$$

kde

$$L = \mathbf{n} \cdot \mathbf{r}_{uu}, \quad (9.27)$$

$$M = \mathbf{n} \cdot \mathbf{r}_{uv}, \quad (9.28)$$

$$N = \mathbf{n} \cdot \mathbf{r}_{vv}. \quad (9.29)$$

Zápis L, M, N byl představen Gaussem. Nahrazením vztahů (9.26) a (9.9), lze křivost povrchu určit jako

$$C = \frac{Ldu^2 + 2Mdudv + Ndv^2}{Edu^2 + 2Fdudv + Gdv^2}. \quad (9.30)$$

HLAVNÍ KŘIVOSTI

Obecně lze nalézt dvě normálové roviny, jejichž křivosti (C_1 a C_2) jsou extrémny. Tyto dvě normálové roviny jsou ortogonální. Křivosti dvou normálových rovin s extrémním zakřivením se nazývají hlavní křivosti ($C_1 = 1/R_1$, $C_2 = 1/R_2$). Níže je analyticky ukázáno pomocí metody Lagrangeových multiplikátorů, že dvě hlavní křivosti jsou extrémny všech základních křivosti. Při odvozování budou použity následující rovnosti:

$$\frac{(ds)^2}{(ds)^2} = E \left(\frac{du}{dv}\right)^2 + 2F \left(\frac{du}{ds}\right) \left(\frac{dv}{ds}\right) + G \left(\frac{dv}{ds}\right)^2, \quad (9.31)$$

$$1 = E\alpha^2 + 2F\alpha\beta + G\beta^2, \quad (9.32)$$

kde

$$\alpha = \frac{du}{ds}, \quad (9.33)$$

$$\beta = \frac{dv}{ds}. \quad (9.34)$$

Pomocí definice α a β lze výraz 9.30 přepsat jako:

$$C = L\alpha^2 + 2M\alpha\beta + N\beta^2, \quad (9.35)$$

kde byla použita rovnost ze vztahu (9.31).

S ohledem na omezení Mongeova zobrazení bychom chtěli najít hodnoty α a β , které odpovídají extrémním hodnotám C , použijeme metodu Lagrangeových multiplikátorů. Tato metoda slouží k nalezení extrémů funkce několika proměnných, které podléhají jednomu nebo více omezením. Lagrangián Λ je konstruován:

$$\Lambda = C - \lambda(E\alpha^2 + 2F\alpha\beta + G\beta^2 - 1), \quad (9.36)$$

kde λ je Lagrangeův multiplikátor. Substitucí vztahu (9.35) do (9.36) dostaneme

$$\Lambda = L\alpha^2 + 2M\alpha\beta + N\beta^2 - \lambda(E\alpha^2 + 2F\alpha\beta + G\beta^2 - 1). \quad (9.37)$$

Variace se provádí řešením dvou rovnic:

$$\frac{\partial \Lambda}{\partial \alpha} = 0, \quad (9.38)$$

$$\frac{\partial \Lambda}{\partial \beta} = 0. \quad (9.39)$$

Ze vztahů (9.37), (9.38) a (9.39) získáme:

$$\frac{\partial \Lambda}{\partial \alpha} = 2L\alpha + 2M\beta - 2\lambda F\beta - 2\lambda E\alpha = 0, \quad (9.40)$$

$$\frac{\partial \Lambda}{\partial \beta} = 2M\alpha + 2N\beta - 2\lambda G\beta - 2\lambda F\alpha = 0. \quad (9.41)$$

Systém dvou homogenních lineárních rovnic (9.40) a (9.41) má netriviální řešení, pouze pokud je determinant systému roven nule. Tato podmínka pro systém rovnic (9.40) a (9.41) udává hodnoty λ jako

$$\lambda_1 + \lambda_2 = \frac{LN - M^2}{EG - F^2}, \quad (9.42)$$

$$\lambda_1 \lambda_2 = \frac{LN - M^2}{EG - F^2}. \quad (9.43)$$

Vynásobíme 9.40 pomocí α a 9.41 pomocí β a součtem obou rovnic získáme

$$L\alpha^2 + 2M\alpha\beta + N\beta^2 - \lambda(E\alpha^2 + 2F\alpha\beta + G\beta^2) = 0 \quad (9.44)$$

První člen vztahu (9.44) se rovná C (viz. rovnice 9.35), zatímco druhý člen se rovná 1. Proto

$$C - \lambda = 0, \quad (9.45)$$

$$C = \lambda. \quad (9.46)$$

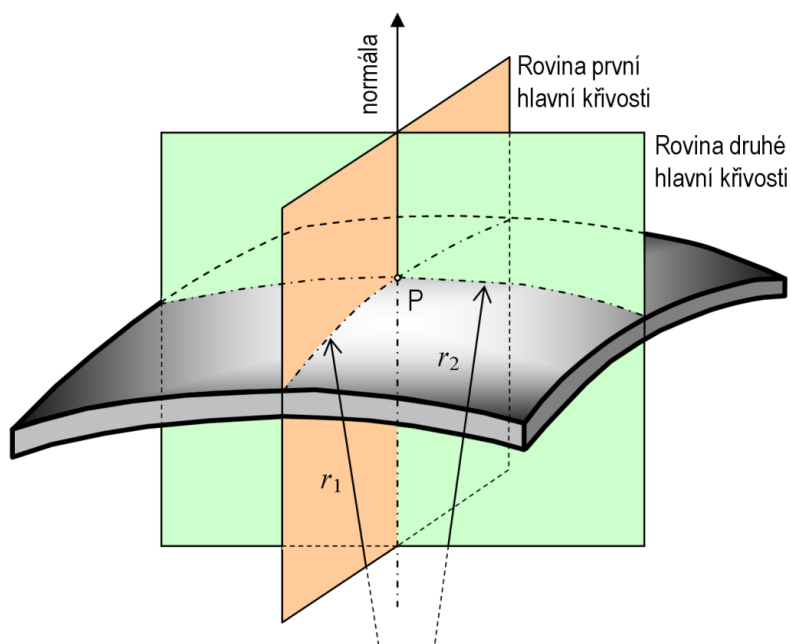
Parametr λ má fyzikální definici křivosti. Hodnoty λ_1 a λ_2 se rovnají extrémním hodnotám křivosti normálové roviny C , která se také nazývá hlavní křivost.

V každém bodě P na tomto povrchu se dá najít vektor kolmý k povrchu a odpovídající normálové rovině. Existuje nekonečný počet takových běžných ploch, ale pouze dvě ortogonální normálové roviny zahrnují křivky průsečíků s maximálním a minimálním zakřivením. Tato dvě zakřivení se nazývají hlavní křivosti povrchu C_1 a C_2 v daném bodě P a jsou definována jako

$$C_1 = \frac{1}{r_1} \quad \text{a} \quad C_2 = \frac{1}{r_2} \quad (9.47)$$

Pro další výpočty, jsou hlavní křivosti zapsány v tensorovém zápisu jako diagonální tenzor křivosti \underline{C} :

$$\underline{C} = \begin{bmatrix} C_1 & 0 \\ 0 & C_2 \end{bmatrix}$$



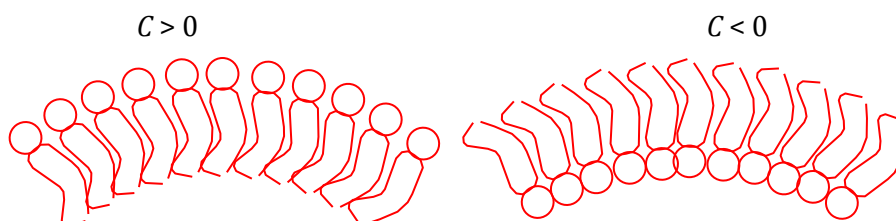
Obr. 9.5 – Schéma hlavních křivosti membrány

V rámci teorie pružnosti, je membránové zakřivení v daném okamžiku obvykle popsáno střední a Gaussovou křivostí, které jsou invarianty tenzoru křivosti \underline{C} . Střední křivost H se vztahuje ke stopě tenzoru křivosti \underline{C} a Gaussovo zakřivení K je determinant \underline{C} .

$$H = \frac{C_1 + C_2}{2} \quad \text{a} \quad K = C_1 \cdot C_2 \quad (9.48)$$

Pro lipidovou monovrstvu konečné tloušťky, byla přijata následující konvence:

- 1) Hlavní rovina se ohýbá směrem k oblasti řetězců, definujeme kladnou křivost ($C > 0$).
- 2) Hlavní rovina se ohýbá směrem k vodní oblasti, definujeme zápornou křivost ($C < 0$).



Obr. 9.6 – Orientace kladné a záporné křivosti v rovině

Podle této úmluvy střední křivost H může být kladná nebo záporná. To znamená, že monovrstva může být regulární nebo invertovaná. Pro kladné hodnoty K jsou plochy přirozeně konvexní nebo konkávní, ohýbají se a tvoří uzavřené struktury (micely nebo obrácené micely). Na druhou stranu, pokud je K záporné – hlavní křivosti mají opačná znaménka – znamená to, že rovina má tvar sedlové plochy.

PŘÍLOHA B – PROGRAM PRO VÝPOČET MINIMA ENERGIE MEMBRÁNY

Main.py – hlavní soubor výpočtu

```
import numpy as np
import scipy as sp
import scipy.constants as const
import ipdb
import copy
import multiprocessing
import pickle
```

```
import membrane
import energy
import parameters
```

```
import monteCarlo3
import variables
```

```
var = variables.Variables()
var.bend_mod = 9 # kbT
var.lipid_area = 60 * 1e-2 # angstrom2
var.stretch_mod = 23 # kbTnm-2
var.c0 = -1 / 16 # nm-1
var.hc0 = 1.3
nano_r = 2
var.r1 = nano_r
var.r2 = nano_r
nano_dist = 0
var.x1 = nano_dist / 2 + var.r1
var.x2 = -nano_dist / 2 - var.r1

startZ = var.hc0 + var.r1
endZ = 0
elementNum = int(100) # numbers of elements
membraneLength = 10.0 # membrane length
elementPsi = np.zeros(elementNum)
elementPsi[0] = 0
elementPsi[-1] = 0

i = 0

num_rnd = 2
num_rnd1 = 3
i = 0
tempSA = 1
piChange = 3 * const.pi / 180
numProcessors = 3

noChange = 1

eTotal = np.zeros(50)
eMin = np.zeros(50)
step = 0
noChange = 0
steps = np.zeros(50)

stopIteration = False

for nano_r in np.arange(12, 20, 2):
    for var.c0 in [-0.1]: #np.linspace(-0.3, 0.3, num=7): # ([-0.1, -0.2, -0.3]):
        for var.stretch_mod in [30]: #np.linspace(30, 60, num=7): # ([30.0, 45.0, 60.0]):
```

```

for var.bend_mod in [10]: #np.arange(5,15,1): # ([5.0, 10.0, 15.0]):

    membraneLength = np.max([nano_r* np.pi,4*var.hc0])
    elementLength = membraneLength / elementNum

    elementNum = int(np.round(membraneLength / elementLength))

    var.r = nano_r

    elementPsi = np.zeros(elementNum)
    elementPsi[0] = 0
    elementPsi[-1] = 0 # const.pi / 2
    var.x = 0

    wuTheta = np.radians(45)
    R1 = ((nano_r + var.hc0) * np.cos(wuTheta) -
          var.hc0) / (1 - np.cos(wuTheta))

    startZ = (var.hc0 + nano_r)
    endZ = var.hc0
    elementPsi = np.zeros(elementNum)
    elementPsi[0] = 0
    elementPsi[-1] = 0 # const.pi / 2
    j = 0
    dCirclePsi = elementLength / startZ # definition of radian

    th1 = np.arange(0, wuTheta, np.pi / 1000000)
    th2 = np.arange(0, wuTheta, np.pi / 1000000)
    th2 = np.delete(th2, 0) # remove redundant numbers

    xWu = np.append(startZ * np.sin(th1), startZ *
                    np.sin(wuTheta) + R1 * np.sin(wuTheta) - R1 * np.sin(wuTheta - th2))
    zWu = np.append(startZ * np.cos(th1), R1 + var.hc0 - R1 *
                    np.cos(wuTheta - th2))

    xWu = np.append(xWu, xWu[-1] + np.linspace(0, 20, 1000000))
    zWu = np.append(zWu, var.hc0 + 0 * np.linspace(0, 20, 1000000))

    xWuDiff = xWu[1:] - xWu[:-1]
    zWuDiff = zWu[1:] - zWu[:-1]

    dstWu = np.append([0], np.cumsum(
        np.sqrt(np.power(xWuDiff, 2),
                    np.power(zWuDiff, 2))))
    distanceMembrane = np.append([0], np.cumsum(
        np.ones(elementNum) * elementLength))

    xM = np.interp(distanceMembrane, dstWu, xWu)
    zM = np.interp(distanceMembrane, dstWu, zWu)

    diffxM = xM[1:] - xM[:-1]
    diffzM = zM[1:] - zM[:-1]

    elementPsi = np.arctan2(-diffzM, diffxM)
    elementLength = np.sqrt(
        np.power(diffxM, 2) + np.power(diffzM, 2))

    m = membrane.Membrane(elementPsi, elementLength, startZ, endZ)
    
```

```

res = []
resE = []
nano_dist = 0
stopIteration = False
step = 0
noChange = 0
steps = np.zeros(50)
e0 = energy.energy(m, var)
m1 = copy.deepcopy(m)
e1 = e0
eTotal = np.zeros(50)
eMinField = np.zeros(50)
eMin = e0

while (not stopIteration):
    step = step + 1

    energyMC = []
    membraneMC = []
    tasksMC = []

    pool = multiprocessing.Pool(numProcessors)

    for i in range(numProcessors):
        membraneMC.append(copy.deepcopy(m1))
        energyMC.append(e0)
        tasksMC.append((membraneMC[i], num_rnd, num_rnd1,
                        tempSA, piChange, energyMC[i], var, i))

    resultsMC = [pool.apply_async(
        monteCarlo3.iterMonteCarlo, t) for t in tasksMC]

    pool.close()
    pool.join()

    processNum = 0
    for result in resultsMC:
        energyMC[processNum] = result.get()[0]
        membraneMC[processNum] = result.get()[1]
        processNum = processNum + 1

    emin = min(energyMC)
    idxMin = energyMC.index(min(energyMC))

    if emin < e0:
        m = copy.deepcopy(membraneMC[idxMin])
        m1 = copy.deepcopy(membraneMC[idxMin])
        e0 = emin
        noChange = 0
    else:
        noChange = noChange + 1
        paramSA = np.exp((e0 - emin) / tempSA)
        # print(e0, e1, e2)
        if paramSA > np.random.random():
            m1 = copy.deepcopy(membraneMC[idxMin])
            e1 = emin

    if noChange > 3:

```

```

tempSA = tempSA * 0.9
piChange = piChange * 0.9
m1 = copy.deepcopy(m)
noChange = 0

print(step, idxMin, noChange,
      tempSA, piChange, e0, energyMC)
eTotal = np.append(
    np.delete(eTotal, 0), min(energyMC))
eMinField = np.append(np.delete(eMinField, 0), e0)
steps = np.append(np.delete(steps, 0), step)

if (step % 100) == 0:
    filenamePlot = "R_bend_{0}_stretch_{1}_c0_{2}_nano_r_{3}_dist_{4:05.2f}.png".format(
        var.bend_mod, var.stretch_mod, var.c0, nano_r, nano_dist)

    if (np.sum(np.abs(eTotal - eTotal.mean())) / e0 < 1e-3) or (steps[-1] > 5000):
        stopIteration = True

energyDiff = energy.energyPerMolecule(
    m, var, energy.energy(m, var) - energy.energyPlanar(m, var))

result = np.append(
    [var.bend_mod, var.stretch_mod, var.c0, nano_r, nano_dist, steps[-
1], tempSA, m.startZ], m.psi)

resultE = np.array([var.bend_mod, var.stretch_mod,
var.c0, nano_r, nano_dist, energyDiff, energy.energy(
    m, var), energy.energyBending(m, var), energy.energyContact(m,
var), energy.energyPlanar(m, var)])

filenamePickle = "ResPickle/R_bend_{0}_stretch_{1}_c0_{2}_nano_r_{3}_dist_r_{4:05.2f}.pk
l".format(
    var.bend_mod, var.stretch_mod, var.c0, nano_r, nano_dist)

pickle.dump(m, open(filenamePickle, 'wb'))
pickle.dump(var, open(filenamePickle, 'wb'))

if np.size(res) == 0:
    res = result
    resE = resultE
else:
    res = np.vstack((res, result))
    resE = np.vstack((resE, resultE))

filenamePlot = "R_bend_{0}_stretch_{1}_c0_{2}_nano_r_{3}_dist_{4:05.2f}.png".format(
    var.bend_mod, var.stretch_mod, var.c0, nano_r, nano_dist)
print(filenamePlot)

filename = "R_bend_{0}_stretch_{1}_c0_{2}_nano_r_{3}.gz".format(
    var.bend_mod, var.stretch_mod, var.c0, nano_r)
np.savetxt(".join(('Res/', filename)), res, delimiter=',')
np.savetxt(".join(('ResE/', filename)), resE, delimiter=',')

del res
del resE

```

Membrane.py – definice objektu membrány

```

import numpy as np
import scipy.optimize as optim

class Membrane:
    'generic membrane object containing membrane geometry'

    def __init__(self, psi=np.zeros(10),
                 elementLength=np.ones(10), startZ=0, endZ=0):
        self.psi = psi
        self.elementLength = elementLength * np.ones(self.psi.size)
        self.length = np.append(0, self.elementLength.cumsum())
        self.startZ = startZ
        self.endZ = endZ
        self.xcoor = self.get_X()
        self.zcoor = self.get_Z()

    def print_geom(self):
        print("ElementLength ", self.elementLength)
        print("ElementPsi ", self.psi)
        print("startZ ", self.startZ)
        print("endZ ", self.endZ)
        print("xCoor", self.get_X())
        print("zCoor", self.get_Z())
        print("zEnd", self.get_Zend())
        print("end of out")

    def get_X(self):
        dX = self.elementLength * np.cos(self.psi)
        dX = np.append([0], dX)
        return dX.cumsum()

    def get_Z(self):
        dZ = - self.elementLength * np.sin(self.psi)
        dZ = np.append([0], dZ)
        return self.startZ + dZ.cumsum()

    def get_Zend(self):
        return self.get_Z()[-1]

    def get_diffZ(self):
        return self.endZ - self.get_Zend()

    def funZ_zero(self, psiAngles):
        psi2 = np.append(np.append(self.psi[0], psiAngles[:]), self.psi[-1])
        dZ2 = - self.elementLength * np.sin(psi2)
        dZ = np.append(0, dZ2)
        Z2 = self.startZ + dZ2.cumsum()
        return (self.endZ - Z2[-1])**2

    def set_starting_shape(self):
        x0 = optim.fmin_bfgs(self.funZ_zero, np.zeros(self.psi.size - 2))
        self.psi = np.append(np.append(self.psi[0], x0[:]), self.psi[-1])

    def get_dPsi(self):
        return np.append(np.diff(self.psi), 0)

    def get_c1(self):
        return self.get_dPsi() / self.elementLength
    
```



```
def get_c2(self):  
    x = self.get_X()  
    xMean = (x[1:] + x[:-1]) / 2  
    return np.sin(self.psi) / xMean  
  
def getLength(self):  
    return self.length[-1]  
  
def get_areaCum(self):  
    x = self.get_X()  
    xMean = (x[1:] + x[:-1]) / 2  
    return np.cumsum(2 * np.pi * xMean * self.elementLength)  
  
def get_area(self):  
    return self.get_areaCum()[-1]
```

Energy.py – výpočet energie

```
import scipy as sp
import scipy.integrate
import numpy as np
import membrane
import parameters
import ipdb
import copy
```

```
def energyContactDensity(m, var):
```

```
    dst_plane = distance_from_plane(m)
    dst_sphere = distance_from_sphere(m, var.r)
```

```
    dst = np.min(np.array([dst_plane, dst_sphere]), axis=0)
    noAccept = dst < var.hc0 / 4
    dst[noAccept] = 10 + 1000 * np.power(dst[noAccept], 4)
    rci2 = m.get_X()2 + m.get_Z()2
    noAccept2 = rci2 < var.r2
    dst[noAccept2] = 1e5
    dst = (dst[1:] + dst[:-1]) / 2
```

```
    return 0.5 * var.stretch_mod / np.power(var.hc0, 2) * np.power(dst - var.hc0, 2)
```

```
def distance_from_plane(m):
```

```
    return np.abs(m.get_Z() / np.cos(np.append(m.psi, 0)))
```

```
def distance_from_sphere(m, rS):
```

```
    psiext = np.append(m.psi, 0)
    rci2 = m.get_X()2 + m.get_Z()2
    determinant = 4 * ((m.get_X() * np.sin(psiext) + m.get_Z()
        * np.cos(psiext))2 - (rci2 - rS2))
    det = determinant
    det[determinant < 0] = 0
    dist = (2 * (m.get_X() * np.sin(psiext) + m.get_Z() * np.cos(psiext)
        ) - np.sqrt(det)) / 2
    dist[determinant < 0] = 1000000
    return dist # np.sqrt(m.get_X()2 + m.get_Z()2) - rS
```

```
def energyBendingDensity(m, var):
```

```
    k_B = var.bend_mod
    c1 = m.get_c1()
    c2 = m.get_c2()
    return 0.5 * k_B * np.power(c1 + c2 - var.c0, 2)
```

```
def energyPlanarDensity(m, var):
```

```
    k_B = var.bend_mod
    c1 = np.zeros_like(m.get_c1())
    return 0.5 * k_B * np.power(c1 - var.c0, 2)
```

```
def energyBending(m, var):
```

```
    return sp.integrate.trapz(energyBendingDensity(m, var),
        m.get_areaCum())
```

```

def energyContact(m, var):
    return sp.integrate.trapz(energyContactDensity(m, var),
                              m.get_areaCum())

def energy(m, var):
    return sp.integrate.trapz(energyBendingDensity(m, var) +
                              energyContactDensity(m, var),
                              m.get_areaCum())

def energyPlanar(m, var):
    return sp.integrate.trapz(energyPlanarDensity(m, var), m.get_areaCum())

def energyPerMolecule(m, var, energyT):
    return energyT / m.get_area() * var.lipid_area

def energyPsi(psiT, m, var):
    m1 = copy.deepcopy(m)
    m1.psi = np.append(np.append([0, 0], psiT), [0])
    return sp.integrate.trapz(energyBendingDensity(m1, var) +
                              energyContactDensity(m1, var), m1.get_areaCum())

def energyLocal(psiR, m, idxR, var):
    m1 = copy.deepcopy(m)
    m1.startZ = psiR[0]
    m1.psi[idxR] = psiR[1:]
    return energy(m1, var)

def funZ_zero(psiR, m, idxR):
    psi = m.psi
    psi[idxR] = psiR
    dZ2 = - m.elementLength * np.sin(psi)
    dZ2 = np.append(0, dZ2)
    Z2 = m.startZ + dZ2.cumsum()
    return (m.endZ - Z2[-1])**2

def findLocalMin(m, rndIdx2, var):
    guess = np.append(m.startZ, m.psi[rndIdx2])
    x0 = sp.optimize.minimize(energyLocal, guess, args=(
        m, rndIdx2, var), method='SLSQP')
    m1 = copy.deepcopy(m)
    m1.startZ = x0.x[0]
    m1.psi[rndIdx2] = x0.x[1:]

    debug = 0
    if debug == 1:
        print(guess)
        print("DiffEnergy = ", energy(m, var) - energy(m1, var))
        print("estart = ", energy(m, var), " ",
              energyLocal(guess, m, rndIdx2, var))
        print("eend = ", energy(m1, var), " ",
              energyLocal(x0.x, m, rndIdx2, var))

    return x0.x
    
```

MonteCarlo3.py – metoda postupných fluktuací

```
import numpy as np
import scipy as sp
import scipy.constants as const
import ipdb
import copy
```

```
import membrane
import energy
```

```
def iterMonteCarlo(m, num_rnd, num_rnd1, tempSA, piChange, e0, var, jobNo=00):

    totalNumIter = 23
    numIter = 0
    m1 = copy.deepcopy(m)
    e1 = e0

    while numIter < totalNumIter:
        numIter = numIter + 1
        result = monteCarlo(m1, num_rnd, num_rnd1, tempSA, piChange, e1, var, jobNo=00)
        energyMC = result[0]
        m2 = result[1]

        if energyMC < e0 and not np.isnan(energyMC):
            m = copy.deepcopy(m2)
            m1 = copy.deepcopy(m2)
            e0 = energyMC
            e1 = e0
        else:
            paramSA = np.exp((e0 - energyMC) / tempSA)

            if paramSA > np.random.random() and not np.isnan(energyMC):
                m1 = copy.deepcopy(m2)
                e1 = energyMC

    return (e1, m1)
```

```
def monteCarlo(m, num_rnd, num_rnd1, tempSA, piChange, e0, var, jobNo=00):

    np.random.seed() # initialize by random

    m2 = copy.deepcopy(m)

    rndAll = np.arange(1, m.psi.size - 1)
    np.random.shuffle(rndAll)
    rndIdx = rndAll[:num_rnd]
    rndIdx2 = rndAll[num_rnd:num_rnd + num_rnd1]
    rndIdx = np.int8(rndIdx)
    rndIdx.sort()
    rndIdx2 = np.int8(rndIdx2)
    rndIdx2.sort()
    m2.psi[rndIdx] = m2.psi[rndIdx] + piChange * \
        (2 * (np.random.random(num_rnd) - 0.5))

    localVal = energy.findLocalMin(m2, rndIdx2, var)
```

```
m2.psi[rndIdx2] = localVal[1:]  
m2.startZ = localVal[0]
```

```
e2 = energy.energy(m2, var)
```

```
return (e2, m2)
```

variables.py – parametry systému

class Variables:

'object containing variables'

```
def __init__(self, bend_mod=11, hc0=1.47, stretch_mod=0.095,  
             c0=0.0, x1=0.0, x2=0.0, r1=1.0, r2=1.0):  
    self.bend_mod = bend_mod  
    self.hc0 = hc0  
    self.stretch_mod = stretch_mod  
    self.c0 = c0  
    self.x1 = x1  
    self.x2 = x2  
    self.r1 = r1  
    self.r2 = r2
```

PŘÍLOHA C – UKÁZKY ENERGIE NANOČÁSTICE V MEMBRÁNĚ PRO RŮZNOU VELIKOST A MECHANICKÉ PARAMETRY MEMBRÁNY

