

Tři nejvýznamnější práce uchazeče
Mgr. Zbyněk Heger, Ph.D.

- 1) Tesarova B., Dostalova S., Smidova V., Goliasova Z., Skubalova Z., Michalkova H., Hynek D., Michalek P., Polanska H., Vaculovicova M., Hacek J., Eckschlager T., Stiborova M., Pires A. S., Neves A. R. M., Abrantes A. M., Rodrigues T., Matafome P., Botelho M. F., Teixeira P., Mendes F., Heger Z. (2020) Surface-PASylation of ferritin to form stealth nanovehicles enhances in vivo therapeutic performance of encapsulated ellipticine. *Applied Materials Today*. In press. IF 8,013

Cílem této práce byla příprava proteinových nosičů - ferritinů se zvýšenou dobou cirkulace v krevním oběhu pro účely transportu cytotoxického alkaloidu elipticinu. Pro účely zvýšení doby cirkulace a biokompatibilitu byly testovány dva různé typy povrchových funkcionalizací ferritinů, a to PEGylace (pokrytí methoxy-polyethylenglykol maleimidem) a PASylace (pokrytí neutrálně nabitými syntetickými peptidy bohatými na prolin, alanin a serin). Získané výsledky ukazují, že obě povrchové funkcionalizace jsou schopny inhibovat tvorbu proteinových korun na povrchu ferritinových nosičů. Povrchová PASylace navíc redukuje jejich nežádoucí akumulaci v makrofázích *in vitro*. V myším modelu ektopického xenograftu tripl-negativního karcinomu prsu byla po aplikaci volného elipticinu a elipticinu v nemodifikovaném ferritinu pozorována výrazná akumulace elipticinu v necílových orgánech (především v játrech, srdci a slezině) a také určitá míra aktivace komplementu. Oproti tomu byl PASylovaný ferritin schopen efektivně transportovat elipticin do nádorové tkáně bez nežádoucí akumulace v necílových orgánech a bez výrazné aktivace komplementu. Získané výsledky poskytují důležité informace o možnostech povrchových modifikací pasivně cílených bionanomateriálů nejen pro zvýšení jejich biokompatibilitu, ale i schopnosti cirkulovat v krevním řečišti pro zefektivnění jejich akumulace v nádorové tkáni.

- 2) Michalkova H., Skubalova Z., Sopha H., Strmiska V., Tesarova B., Dostalova S., Svec P., Hromadko L., Motola M., Macak J. M., Adam V., Heger Z. (2020) Complex cytotoxicity mechanism of bundles formed from self-organised 1-D anodic TiO₂ nanotubes layers. *Journal of Hazardous Materials*. 388, art. no. 122054. IF 7,650

Materiály na bázi TiO₂ jsou komerčně velmi úspěšnou skupinou anorganických nanomateriálů. I přes to, že jsou tyto nanomateriály obecně shledávány jako relativně biokompatibilní, čím dál častěji se objevují studie, ukazující různé typy nežádoucích biologických účinků. Z toho důvodu jsme se v této práci zaměřili na studium možných mechanismů cytotoxicity svazků vzniklých z vrstev TiO₂ nanotrubeček, lišících se délkou (~10 vs. ~35 μm s vnitřním průměrem ~110 nm). Publikované výsledky ukazují, že cytotoxicita TiO₂ nanotrubeček je značně závislá na buněčném typu a pravděpodobně souvisí s mírou fluidity a rigidity buněčných membrán. TiO₂ nanotrubečky jsou schopny penetrovat membránu s následnou reorganizací F-aktinového cytoskeletu, přičemž tento jev byl markantnější u buněk derivovaných z nádorové tkáně, obecně vykazujících vyšší membránovou fluiditu. Jako následek penetrace a přítomnosti TiO₂ nanotrubeček v intracelulárním prostoru dochází k dysregulaci redoxní homeostáze, lipidové peroxidaci, alkalizaci lysosomů a následně k fragmentaci DNA a programované buněčné smrti. Publikovaná práce je první, která popisuje komplexní mechanismus cytotoxicity vrstev nanotubulárních TiO₂ materiálů a poskytuje zajímavý vhled do jejich biologického chování. Získané výsledky by tak mohly být v budoucnosti také využity pro racionální návrh nanotubulárních systémů se selektivní biologickou aktivitou.

- 3) Buchtelová H., Strmiska V., Škubalová Z., Dostálová S., Michálek P., Křížková S., Hynek D., Kalina L., Richtera L., Moulick A., Adam V., Heger Z. (2018) Improving Cytocompatibility of CdTe Quantum Dots by Schiff-Base-Coordinated Lanthanides Surface Doping, *Journal of Nanobiotechnology*. 2018, 16, art. no. 43. IF 5,345.

Cílem této práce bylo připravit nový typ polovodičových nanokrystalů – kvantových teček se zvýšenou biokompatibilitou a využít tyto nové nanomateriály pro *in vitro* imuno-zobrazování lidského norepinefrinového transportéru (NET) v reálném čase. Pro tyto účely byly připraveny kvantové tečky na bázi CdTe s vysokým kvantovým výtěžkem, které byly následně povrchově modifikovány biokompatibilní Schiffovou bází komplexovanou s vybranými lanthanoidy (Gd, Tb, Yb). Výsledné kvantové tečky vykazovaly vysoký kvantový výtěžek (40,9 – 50,8 %), výraznou dlouhodobou stabilitu fluorescence a posun emisního maxima do oranžové oblasti viditelného elektromagnetického spektra. Kromě modifikace na bázi Gd byly připravené kvantové tečky efektivně internalizovány do intracelulárního prostoru testovaných tkáňových kultur a v porovnání s klasickými kvantovými tečkami na bázi CdTe vykazovaly výjimečnou biokompatibilitu. Proto byla v další části práce optimalizována vazba cystein-funkcionalizovaného heptapeptidu odvozeného od proteinu A (*S. aureus*) pro prostorově řízenou konjugaci protilátky proti NET. Selektivita výsledného nanosystému byla testována na tkáňových kulturách s rozdílnou bazální expresí NET, přičemž bylo zjištěno, že míra povrchové akumulace kvantových teček přímo koreluje s expresí NET a nejvyšší je na povrchu buněk neuroblastomu (SH-SY5Y). Pro další validaci získaných výsledků byla následně exprese NET v kultuře SH-SY5Y stimulována vorinostatem (kyselinou suberanilohydroxamovou). Získané výsledky jednoznačně potvrdily, že při stimulaci exprese NET dochází k markantnímu nárůstu akumulace kvantových teček na povrchu exponovaných buněk. Práce tak představuje nový typ aktivně cílených kvantových teček s vysokou mírou biokompatibility a výjimečnými optickými vlastnostmi, díky čemuž je lze využít jako sondy pro fluorescenční značení v biologických experimentech.