



Prof. dr hab. Tomasz Martyński
e-mail: tomasz.martynski@put.poznan.pl

Poznań, 08 lutego 2022 r.

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Aleksandry Radko
pod tytułem „Właściwości fizyczne i samoorganizacja kompleksów DNA-
surfaktant kationowy: wpływ rodzaju DNA oraz struktury surfaktantu” zrealizowanej w
Zakładzie Inżynierii Nowych Materiałów na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki
Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem
prof. dr hab. Moniki Marzec i promotora pomocniczego dr. Roberta Ekiera**

Kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) budzący od początku odkrycia ogromne zainteresowanie z powodu jego roli w przekazywaniu informacji genetycznej obecnie jest często rozważany jako biologiczny polimer mogący mieć duże znaczenie w elektronice molekularnej. Nadzieje na większą sprawność układów i urządzeń elektronicznych opartych na materiałach biologicznych naśladujących układy biologiczne wiąże się z tym, że technologie tworzone przez człowieka (zwykle oparte na materiałach nieorganicznych) nie są w stanie osiągać wydajności i sprawności układów biologicznych. Najbardziej zdumiewające jest to, że układy biologiczne powstają dzięki samoorganizacji molekuł a mimo to spełniają bardzo skomplikowane funkcje począwszy od przekazywania informacji, transportu masy, ładunku elektrycznego aż po zmiany konformacji makrocząsteczek i tworzenie drugorzędowych struktur (np. białka). Niedościęgnionym przykładem jest fotosynteza.

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Radko dotyczy tematyki skupionej wokół badań właściwości fizycznych kompleksów DNA z wybranymi surfaktantami w próbkach objętościowych i w ultra-cienkich warstwach wytwarzanych na granicy faz powietrze-woda i przenoszonych na podłoża stałe. Tematyka badań podjęta przez Doktorantkę jest

aktualna a dokonany wybór materiałów jest zasadny i dobrze umotywowany. Zastosowane szerokie spektrum metod i technik począwszy od wytwarzania próbek a skończywszy na technikach pomiarowych zapewnia uzyskanie wiarygodnych rezultatów i wysnućie ogólnych wniosków. O aktualności tematyki świadczy liczba publikacji ukazujących się w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku wpływu IF.

Celem rozprawy doktorskiej, jak pisze Doktorantka, było określenie wpływu rozkładu długości i konformacji DNA na właściwości utworzonego kompleksu z wybranymi surfaktantami o zróżnicowanej strukturze molekularnej. Doktorantka chciała zweryfikować tezę zakładającą iż właściwości kompleksu DNA-surfaktant zależą do rodzaju DNA i struktury surfaktantu. Tak sformułowana teza wydaje się trywialna, ponieważ zmiana cech każdego ze składników kompleksu będzie miała wpływ na jego właściwości fizykochemiczne. P cykl badań wskazuje na to, że chodzi o systematyczne badania z dobrze określonymi komponentami w celu ustalenia zasadniczych czynników wpływających na organizację molekularną kompleksu w układach ultra-cienkich warstw osadzanych na podłożach stałych.

Rozprawa doktorska opiera się na trzech wieloautorskich publikacjach, które ukazały się w czasopiśmie Polymer (2 publikacje) i Materials Science and Engineering B (1 publikacja) o sumarycznym IF = 12,911. W dwóch publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką co wskazuje na jej dominujący wkład w część eksperymentalną. Manuskrypty prac w tak renomowanych czasopismach przechodzą wnikliwą analizę przez recenzentów, a zatem skoro zostały zaakceptowane do druku to oznacza dużą nowość osiągniętych wyników oraz ich walor poznawczy. Publikacje Doktorantki są napisane bardzo przejrzysty i logiczny sposób z dobrze udokumentowanymi i zinterpretowanymi wynikami i zakończone ogólnymi konkluzjami, które dają głębszy wgląd w naturę badanych kompleksów.

Rozprawa doktorska zawarta na 144 numerowanych stronach ma klasyczny układ z głównym podziałem na część zagadnień wprowadzających, wyników eksperymentalnych z dyskusją, podsumowaniem z wnioskami i bibliografią oraz z załączonym dodatkiem opisującym historie badań DNA z odnośnikami. Ważniejsze wyniki ilościowe zebrane są w 32 tabelach i prezentowane na 77 rysunkach i zdjęciach.

Część wprowadzająca, nazwana przez Doktorantkę Część teoretyczna jest bardzo ogólnikowym wprowadzeniem w tematykę badawczą i nie stanowiąca podstaw

teoretycznych zagadnień poruszanych w rozprawie. Jest to raczej krótki opis badań nad DNA i jego struktury. Pojawiają się tam potoczne i niefachowe określenia jak „skręt helisy” czy „zmniejszanie fluorescencji”. Brak odnośnika do literatury w podpisie rysunku Rys.4 (schemat budowy DNA) oraz Rys.8, gdzie przedstawiono możliwy sposób podłączenia surfaktantu do DNA sugeruje, że Doktorantka sama sporządziła te schematy lub też je zaproponowała.

Część eksperymentalna rozpoczyna się od opisu metod badawczych stosowanych w niniejszej rozprawie. W tej części znajdują się szersze opisy podstaw danej techniki pomiarowej. Choć i tutaj pewien niedosyt budzi np. brak wzorów opisujących kąt zwilżania (równie Younga) czy też podstawowych formuł pozwalających na wyznaczenie energii powierzchniowej – wzory pojawiają się w części doświadczalnej. Metoda nanoszenia wirowego (spin-coating) opisana jest w sposób bardzo uproszczony, nie oddające istoty tego procesu. Dla dobrego uformowania ultra-cienkiej warstwy zazwyczaj ruch wirowy podłoża składa się z trzech faz o odpowiednio dobranych czasach narastania. Istotny też jest dobór podłoża. W opisie technik Langmuira-Blodgett Doktorantka nie wspomina o wpływie podłoża (hydrofilowe lub hydrofobowe) na sposób osadzania monowarstwy Langmuira oraz oceny przeniesienia, tzw. współczynnika przeniesienia (transfer ratio – TR). Brak wartości współczynników TR w eksperymentalnych częściach pracy nie pozwala na analizę ilościową warstw utworzonych z kompleksów DNA-surfaktant na podłożach stałych (warstwy LB).

Kolejny rozdział – Materiał badawczy – wnikliwie przedstawia stosowane w pracy typy DNA i surfaktanty oraz preparatykę i charakteryzację wytwarzanych kompleksów. Doktorantka w jasny sposób przedstawiła preparatykę co wzbudza zaufanie czytelnika co do poprawności przygotowania materiału doświadczalnego. Odnoszę wrażenie, że Doktorantka dobrze opanowała preparatykę DNA i tworzenia kompleksów.

Kolejne rozdziały rozprawy doktorskiej to prezentacja uzyskanych wyników, kolejno dla próbek objętościowych a następnie dla ultra-cienkich warstw z zastosowaniem komplementarnych metod adekwatnych do stawianego zadania. Analiza widm podczerwonych DNA, surfaktantów i kompleksów jest trudna z powodu drobnych zmian w widmach. Nie pojawiają się lub znikają ostre pasma, które umożliwiałyby jednoznaczne i ilościowe określenia powstającego kompleksu. Doktorantka stwierdza pasma charakterystyczne dla poszczególnych drgań nie są dobrze rozdzielone zatem można

jedynie wyciągać wnioski sugerujące powstawanie kompleksów. Prezentowane widma FTIR (Rys. 35 i Rys.36) pokazują złożoność widm co powoduje, że czytelnik nie jest w stanie śledzić opisywanych pasm i ich zmian i musi zawierzyć Doktorantce. Poza tym, w przedstawionej mi formie drukowanej praktycznie wszystkie widma i część wykresów jest słabo widoczna (zbyt cienkie linie i małe zróżnicowanie kolorów linii). W tabelach zestawiających położenia pasm IR brakuje dokładności wyznaczania maksimumów co przy sformułowaniu Doktorantki o nieznacznych przesunięciach pasm nie pozwala na ocenę czy jest to poza granicą błędu. Doktorantka nie odnosi się też do danych literaturowych. Nie jest jasne czy takich danych nie ma czy też uzyskane dane są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami. Na podstawie obserwowanych zmian widma IR dla wszystkich badanych kompleksów Doktorantka wyciąga wniosek, że podczas zastosowanej przez nią procedury dochodzi powstawania kompleksów DNA-surfaktant. Pomimo ułomności wymienianych uprzednio osiągnięte rezultaty nie budzą wątpliwości. Wszystkie opisywane pasma (ujęte w tabelach) mają przypisaną interpretację odnoszącą się do konkretnych drgań w cząsteczce. Tabele (np. Tab. 12, Tab.13) mają odnośniki do literatury ale nie wiadomo które dane są literaturowe a które własne.

Ważną częścią rozprawy są badania rentgenowskie kompleksów. Prezentowane rezultaty zostały uzyskane przez prof. D. Pocięchę z Wydziału Chemii UW, laboratorium o ugruntowanej pozycji w świecie naukowym. Dyfraktogramy pozwoliły na jednoznaczne stwierdzenie, że powstają kompleksy DNA-surfaktant a dodatkowo wykazują zmiany kompleksów tworzonych z trzech różnych surfaktantów. Doktorantka wyciąga również wniosek na temat średnicy kompleksów czyli helisy DNA z dołączonymi surfaktantami. Szkoda, że Doktorantka podając wartości odległości (Tab. 14) i opisując je w tekście nie pisze między jakimi punktami w DNA czy między DNA są one wyznaczone. Strukturalne dane rentgenowskie są uzupełnione modelowaniem komputerowym stosowanych surfaktantów oraz kompleksów. Na podstawie obliczonych parametrów sieciowych kompleksów Doktorantka określiła stopień zniekształcenia tworzonych przez kompleksy sieci heksagonalnych. Te dane dostarczają bardzo cennej informacji o wpływie surfaktantów na organizację kompleksów, pomimo dość radykalnych założeń koniecznych do sprawnego wykonania symulacji *in silico*.

Podobnie duże znaczenie w zrozumieniu funkcjonowania kompleksów dają przeprowadzone pomiary właściwości dielektrycznych. Analiza spektroskopowa

dielektryczna czystych składników oraz kompleksów sprawia przekonanie, że została wykonana bardzo rzetelnie. Doktorantka wyciąga istotne wnioski na temat procesów relaksacyjnych występujących w kompleksach oraz zmiany przewodności w funkcji składu i częstotliwości. Jak zauważa Doktorantka w tak złożonych układach oraz z uwagi na skomplikowaną procedurę wytwarzania kompleksów na właściwości dielektryczne ma wiele czynników, choćby tak prozaiczne jak obecność jonów soli używanych podczas preparatyki. Pomimo tych trudności można było się spodziewać, że Doktorantka przedstawi swoje sugestie na temat np. wzrostu przewodności wraz z częstotliwością przykładanego pola.

Ostatnia, najobszerniejsza część rozdziału eksperymentalnego dotyczy badań ultra-cienkich warstw wytwarzanych przez badane kompleksy. Doktorantka testowała kilka metod wytwarzania cienkich warstw i ostatecznie zdecydowała się na przeprowadzenie szczegółowej analizy warstw wytwarzanych techniką Langmuira-Blodgett. Dziwi, że nie udało się Doktorantce wytworzyć warstw metodą rozwirowania (spin-coating). Zazwyczaj poprzez uważny dobór roztworu, podłoża a zwłaszcza profilu czasowego wirowania udaje się wytworzyć cienkie warstwy o całkowitym pokryciu i jednorodnej grubości. Technika LB także wymaga dużego doświadczenia ale wykonywane warstwy mają tą przewagę nad innymi, że molekuly w warstwach wykazują największe uporządkowanie wywołane fizycznymi właściwościami granicy faz powietrze/woda (warstwy Langmuira) a następnie powietrze/ciało stałe (warstwy LB). Sprężanie izotermiczne warstw pozwala molekułom na tworzenie warstw w warunkach bliskich równowagi termodynamicznej. Praktycznie wszystkie warstwy Langmuira badanych kompleksów były w fazie cieczy rozprężonej co najczęściej wiąże się z małą lepkością. Na podstawie zamieszczonych izoterm π -A trudno powiedzieć czy rzeczywiście następuje załamanie warstwy czy jest to tylko przejaw przejścia fazowego do fazy cieczy skondensowanej. Po przeprowadzonej analizie izoterm sprężania Doktorantka wybrała parametry przenoszenia warstw Langmuira wytworzonych przez kompleksy na świeżo łupaną mikię i krzem. Badania warstw LB kompleksów zaplanowano bardzo poprawnie zachowując te same metody charakteryzacji co pozwoliło Doktorantce na rzetelne porównanie badanych kompleksów i wyciągnięcie ogólnych wniosków. Dla pełniejszej analizy warstw LB celowe jest analizowanie współczynnik transferu (TR) warstwy z powierzchni wody na podłoża miki i krzemu. Ten parametr pozwala ocenić na ile warstwa

Langmuira przenoszona jest na podłoże stałe. Można porównywać transfer masy a następnie wyciągać wnioski na temat adhezji warstwy do podłoża stałego i wpływu kohezji na kształtowanie się obserwowanych pod mikroskopem AFM tekstur. Obserwowane tekstury warstw LB kompleksów są wynikiem delikatnej równowagi pomiędzy siłami kohezji i adhezji. Bez znajomości TR nie wiadomo czy warstwy Langmuira przenoszone są w 100% a później, już na podłożu stałym następuje samoorganizacja w wydłużone i grubsze struktury. Analiza wysokości warstw LB oraz stopnia pokrycia z współczynnikiem transferu pomogła by w ocenie procesu samoorganizacji kompleksów i procesów zwilżania podłoża (wetting – dewetting). W ocenie ilościowej tworzonych tekstur i porównywania kompleksów bardzo przydatna jest zastosowana przez Doktorantkę analiza Fourierowska. Dzięki temu udało się wychwycić drobne różnice tekstur trudne do oceny gołym okiem.

Pomiary kąta zwilżania powierzchni ciała stałego zawsze są bardzo interesujące ponieważ pozwalają wyznaczyć energię powierzchniową. W przypadku wytworzonych warstw LB kompleksów należy ostrożnie podchodzić do wyników prezentowanych w tabeli Tab.23 ponieważ kropla cieczy ma pole przekroju około 1mm^2 zatem obejmuje obszary czystego podłoża oraz warstwy kompleksu DNA/surfaktant. Niektóre typy cieczy mogą modyfikować lub rozpuszczać warstwy kompleksów.

Przedstawiony materiał doświadczalny dotyczących wszystkich badanych typów kompleksów oraz jego analiza i dyskusja są wyczerpujące i pozwalające wychwycić wszystkie różnice właściwości poszczególnych kompleksów. Doktorantka pokazuje, że poprzez dobrze zaplanowane wielostronne badania i analizę można zgromadzić wiedzę na temat bardzo złożonych układów makromolekularnych.

W tej części rozprawy występują również sformułowania dwu- lub wieloznaczne. Część wykresów jest niewidoczna a część wniosków jest tylko spekulacją. Trudno zgodzić się, że podczas sprężania warstwy Langmuira będącej cały czas w fazie ciekłej rozprężonej rośnie uporządkowanie molekuł. Jedno jest pewne – nieznacznie rośnie jej gęstość. W trakcie eksperymentów z stabilnością warstwy Langmuira trudno zgodzić się z twierdzeniem Doktorantki, że warstw się rozplywa i to jest powodem spadku ciśnienia powierzchniowego. Pole powierzchni wody dostępne dla kompleksów jest stałe i stała jest liczba cząsteczek.

Rozprawę doktorską Pani mgr. Aleksandry Radko kończy rozdział Podsumowanie i wnioski. Właściwie jest to w znacznej mierze (4 strony) streszczenie pracy. Dopiero ostatnie dwa akapity są próbą zwięzłego posumowania osiągnięć Doktorantki. Doktorantka przyznaje, że – to co budziło mój niedosyt analizując dane spektroskopii dielektrycznej – właściwości elektryczne kompleksów wymagają kolejnych eksperymentów z zastosowaniem warstw molekularnych kompleksów o jednorodnym stopniu pokrycia powierzchni.

Przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską Pani mgr Aleksandry Radko oceniam bardzo pozytywnie z uwagi na rozległość przeprowadzonych badań, wielorakość wytwarzanych kompleksów, zastosowanie różnych technik wytwarzania ultra-cienkich warstw a przede wszystkim licznych komplementarnych technik charakteryzacji. Zrozumiałe jest to, że publikacje na których opiera się ta rozprawa są wieloautorskie i dokładne wyznaczenie udziału poszczególnych autorów jest niemożliwe. Liczni autorzy nie są dziwną rzeczą w publikacjach, które zawierają wyniki dla próbek wytwarzanych złożonymi metodami i charakteryzowanymi wieloma zaawansowanymi technikami pomiarowymi.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2016 r. poz.882) stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Aleksandry Radko spełnia wymagania ustawy i wnoszę o dalsze czynności w procedurze doktoryzowania.

Janusz Kostyński