

Prof. dr hab. inż. Marzena Tykarska  
Wojskowa Akademia Techniczna  
Wydział Nowych Technologii i Chemii  
Instytut Chemii  
ul. gen. Sylwestra Kaliskiego 2  
00-908 Warszawa

Warszawa, 14.02.2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej**  
**mgr Aleksandry Radko pt.:**  
**„Właściwości fizyczne i samoorganizacja kompleksów DNA-surfaktant**  
**kationowy: wpływ rodzaju DNA oraz struktury surfaktantu”**

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Radko została wykonana na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Moniki Marzec i promotora pomocniczego dr Roberta Ekierta.

Badania DNA interesują nie tylko genetyków, którzy chcą poznać naturę materii ożywionej, ale również innych naukowców, pragnących wykorzystać ten materiał w różnorodnych zastosowaniach, nie tylko w medycynie, ale również w technice, np. elektronice czy fotonice. Wykorzystuje się na przykład jego zdolność do samoorganizacji w celu tworzenia trójwymiarowych struktur krystalicznych, na bazie których można tworzyć nowe nanomateriały. Temat podjęty przez Doktorantkę, jest więc tematem bardzo aktualnym.

Celem przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej jest otrzymanie kompleksów DNA-surfaktant, zbadanie ich właściwości oraz określenie wpływu rozkładu długości i konformacji DNA oraz struktury surfaktantu kationowego na te właściwości. Doktorantka otrzymała osiem kompleksów DNA-surfaktant. Wykorzystała do tego cztery rodzaje DNA (trzy liniowe i jedno plazmidowe) i trzy surfaktanty kationowe (chlorek cetylotrimetyloamoniowy (CTMA), chlorek benzylodimetylocetyloamoniowy (BAC) oraz chlorek heksadecylopirydyniowy (chlorek cetylopirydyniowy) (HDP)). Wybrane surfaktanty charakteryzują się tą samą długością niepolarnego łańcucha alkilowego (16 atomów węgla), a różnią się polarną głową. Badania były prowadzone zarówno dla cienkich warstw, jak i dla próbek objętościowych.

Praca podzielona jest na typowe rozdziały: wstęp i cel pracy (2 strony), część literaturowa (12 stron), część eksperymentalna zawierająca wyniki i ich interpretację (91 stron), podsumowanie i wnioski (4 strony), spis cytowanej literatury (108 pozycji bibliograficznych), a także załączniki: spis tabel (32) i rysunków (77). Doktorantka zamieściła również na początku pracy spis zawierający listę używanych skrótów, a na końcu dodatek zawierający historię badań DNA z odrębnym spisem literatury zawierającym 92 pozycje bibliograficzne. W sumie praca liczy 146 stron.

Część literaturowa zawiera charakterystykę trzech grup materiałów: DNA, surfaktantów i kompleksów DNA-surfaktant. W części eksperymentalnej zostały opisane stosowane metody badawcze oraz metody wynoszenia cienkich warstw na podłoża stałe, a także został scharakteryzowany materiał badawczy i sposób jego pozyskania. Opisane zostały wyniki badań potwierdzających otrzymanie tych materiałów i ich właściwości.

Doktorantka wykorzystała w pracy dwa zakupione DNA, jedno o krótkich cząsteczkach, którego rozkład długości był z zakresu 5 - 240 pz, a drugie o długich cząsteczkach o rozkładzie długości z zakresu 25 – 10000 pz. Otrzymała ona również DNA plazmidowe z własnej hodowli bakterii. Doktorantka podjęła próbę wydzielenia cząsteczek DNA o węższym rozkładzie długości. Z trzech metod trawienia enzymatycznego, elektroforezy i chromatografii jonowymiennej, tylko ta trzecia okazała się skuteczna. Pozwoliła na uzyskanie cząsteczek DNA o rozkładzie długości z zakresu 6-190 pz.

Do scharakteryzowania kompleksów DNA-surfaktant w formie próbek objętościowych Doktorantka wykorzystała trzy metody pomiarowe: spektroskopię w podczerwieni, spektroskopię dielektryczną i dyfrakcję rentgenowską. Sprawdziła zachowanie monowarstw na granicy ciecz-gaz i zoptymalizowała metodę wynoszenia warstw na podłoże stałe. Z czterech wykorzystanych metod najskuteczniejsza okazała się metoda Langmuira-Blodgett. Topografia tak otrzymanych warstw była określana za pomocą mikroskopu sił atomowych. Pomiar kąta zwilżania umożliwił określenie swobodnej energii powierzchniowej cienkich warstw.

Do najważniejszych osiągnięć pracy należy zaliczyć otrzymanie kompleksów DNA-surfaktant kationowy, określenie parametrów ich komórek elementarnych, wykazanie, że metoda dyfrakcji rentgenowskiej może być wykorzystana do określania czystości otrzymanych kompleksów. Wykazanie w jaki sposób od długości DNA i rodzaju surfaktantu zależy przewodnictwo elektryczne kompleksów.

Interesujące okazało się wykazanie w jaki sposób od warunków wynoszenia, rodzaju DNA, surfaktantu i podłoża, w metodzie Langmuira-Blodgett, zależy struktura otrzymanych cienkich warstw, np. warstwa otrzymana na mice ma 3,5 nm grubości i tworzy wydłużone struktury równoległe do kierunku wynoszenia warstw, natomiast warstwa powstała na krzemie ma 2 nm grubości, bez struktur kierunkowych.

Słabą stroną pracy doktorskiej jest tłumaczenie słownictwa technicznego na język polski. Należy pochwalić Doktorantkę, za dużą liczbę publikacji anglojęzycznych, jednak w przypadku opisu metod pomiarowych korzystniejsza byłaby literatura polskojęzyczna. Doktorantka uniknęłaby wówczas błędów w terminologii fachowej. Przykładowo do opisu spektroskopii IR wykorzystane zostały publikacje [83 i 84]. Na skutek błędnego tłumaczenia pojawiły się w pracy takie sformułowania jak: „wibracje” (powinno być „oscylacje”), „przesunięcie charakterystycznych drgań” (powinno być „przesunięcie charakterystycznych pasm”), czy „absorpcja ... pozwala stworzyć <odcisk palca>”. Słowo „molekuła”, które wielokrotnie powtarza się w części literaturowej, powinno być zastąpione słowem „cząsteczka”. Do opisu spektroskopii dielektrycznej ponownie wykorzystana została

literatura anglojęzyczna (pozycja [85]); pojęcie „przenikalność dielektryczna próżni”, powinno brzmieć „przenikalność elektryczna próżni”. Błędnie zostały przetłumaczone angielskie nazwy surfaktantów; powinno być jak w trzecim akapicie tej recenzji. Natomiast nazwa związku o akronimie DOTAP (str. 23) została podana tylko po angielsku (w dodatku z błędem dioeleoyltrimethylammonium propane), a powinna być przetłumaczona na język polski (str 23). Doktorantka nie mogła się zdecydować na tłumaczenie angielskiej nazwy „spin-casting”. Kilka razy użyła nazwy „odwirowanie”, innym razem „odwirowanie poprzez odparowanie”, a kilka razy „nanoszenie wirowe” (np. str. 42 i 83). W całej pracy powinna być jedna nazwa, ze wskazaniem ostatej, jako najbardziej odpowiadającej istocie metody. Kolejny drastyczny przykład niewłaściwego tłumaczenia z języka angielskiego to sformułowanie „Grupy fosforanowe ... są naładowane negatywnie” (str. 18). W sformułowaniu „w micelach „eksponowane” do cieczy są hydrofilowe fragmenty cząsteczki” (str. 22) wyraz „eksponowane” można byłoby zamienić na „zwrócone” czy „skierowane”. Natomiast „separacja” w chromatografii to „rozdział”. Nie widzę uzasadnienia, żeby w metodzie wynoszenia cienkich warstw, oprócz pojęć „podłoże” i „podkład”, wprowadzać pojęcie „substrat” zaczerpnięte z języka angielskiego, szczególnie że w chemii organicznej oznacza ono substancję wyjściową w reakcjach.

Inne uwagi dotyczące sformułowań pojawiających się w pracy:

- Doktorantka zrównuje pojęcie „substancji powierzchniowo czynnej” i „surfaktantu”, podczas gdy nie wszystkie substancje powierzchniowo czynne są surfaktantami. Choć jest to powszechnie spotykany błąd,
- Doktorantka w wielu miejscach używa pojęcia „widma FTIR”, podczas gdy powinno się używać pojęcia „widma IR”. To technika ich otrzymania wymaga zastosowania transformaty Fouriera (FT),
- w przypadku ugrupowań atomów czy jonów metali nie powinno się używać pojęcia „cząsteczka”. Tymczasem Doktorantka na stronie 15 zamieściła sformułowania „formowanie cząsteczek metalu lub półprzewodnika”; „matryce dla różnych cząsteczek (np. półprzewodników)”, „połączenie DNA z cząsteczkami metali”,
- Doktorantka nadużywa pojęć „niskie” i „wysokie” w stosunku do wartości liczbowych, przykładowo „wysokie stężenia” (str. 16) – powinno być „duże stężenia”; „niskie” straty po płukaniu (tabela 9, str. 55) – powinno być „małe” straty po płukaniu.

Praca pod względem edytorskim jest napisana przejrzysto, opis jest uzupełniony czytelnymi rysunkami i tabelami. Jak zwykle bywa przy redakcji obszernych opracowań trudno uniknąć błędów. Pomijając drobne literówki i niewłaściwą odmianę rzeczowników można podać następujące przykłady uchybień czy nieścisłości występujące w pracy:

- brak konsekwencji w nazewnictwie kompleksów, mianowicie po słowie kompleks powinny występować jego oba składniki, tzn. DNA i surfaktant kationowy, natomiast w pracy w wielu miejscach występują pojęcia albo „kompleks DNA” (np. str. 10 linia 11), albo „kompleks-surfaktant” (np. str. 10 linia 17);

- „wzory chemiczne, np. C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>P<sub>2</sub>O<sub>16</sub> lub C<sub>29</sub>H<sub>49</sub>N<sub>9</sub>P<sub>3</sub>O<sub>22</sub>” (str. 13) – lepiej byłoby „wzory sumaryczne”
- „przyłączanie dodatnio naładowanego koloidu” (str. 15) - „przyłączanie dodatnio naładowanych cząstek koloidu”
- „właściwości optyczne i optoelektroniczne” (str. 16) – wystarczy „właściwości optyczne”
- „stosuje się do konstrukcji urządzeń elektroniki molekularnej” (str. 16) – „stosuje się do wytwarzania urządzeń elektroniki molekularnej
- jeśli cząsteczki tworzą agregaty, np. dwuwarstwy czy micelle, to nie tworzą roztworów, jak stwierdzono na str. 22
- „właściwości samoorganizacyjne” (str. 22) – „zdolność do samoorganizacji”
- „reakcje kompleksacji” (str. 23) – „reakcje kompleksowania”
- „siła jonowa” (str. 26) – powinno być „siła jonowa roztworu”
- przedstawiono „dyskusję badań” (str. 56) – „dyskusję wyników badań”
- nieprecyzyjne sformułowanie na str. 56 i 59 „pasma odpowiadające drganiom rozciągającym grup CH<sub>2</sub> w łańcuchu węglowym w zakresie powyżej 2800 cm<sup>-1</sup>” – powinno być w zakresie 2800-2950 cm<sup>-1</sup>, ponieważ dla wyższych częstości występują pasma absorpcji dla wody.
- „drgania zginające i kołyszące” (str. 59) – drgania kołyszące są drganiami zginającymi
- „grup metylowych” (str. 59) – powinno być „grup metylenowych”
- metoda „Elektroforeza DNA” (str. 25) – powinno być bez DNA tylko „Elektroforeza”
- „zapisywane w postaci tzw. obrazów BAM komputera” (str. 29) – brakuje „na dysku” komputera
- „z odpowiednio nakładowymi grupami” (str. 33) – chodzi o grupy „naładowane”
- „kął rozbłysku” (str. 37) – „kął odbłysku”
- „kąły były średniowane” (str. 40) – „uśredniane”
- odwołanie do tabeli 7 (str. 93 i 95) – powinno być „Tabela 8”
- został pominięty odnośnik literaturowy na str. 14 dotyczący wyników badań rentgenowskich Rosalind Franklin i Raymonda Goslinga
- w podpisie pod rys. 13 (str. 31), zacytowana niewłaściwa pozycja literaturowa [77]
- w podpisie pod rys. 19 (str. 40) niewłaściwie podano, że został wykonany na podstawie poz. [93]
- pozycja literaturowa [72] została zacytowana z błędnym tytułem; zamiast „Aktualne zagadnienia inżynierii” powinno być „Aktualne zagadnienia inżynierii chemicznej i materiałowej”
- w pracy doktorskiej raczej powinno się powoływać na literaturę naukową, a nie na instrukcje laboratoryjne [94] czy instrukcje obsługi aparatury pomiarowej (AFM [77], FT-IR [84]).
- na niektórych wykresach (np. na rys. 39) można było wstawić oznaczenia a), b) ..., łatwiejsza byłaby dyskusja wyników (zamiast wypisywać „rysunek środkowy” czy „prawy dolny obraz”)

- w przypadku używania w pracy takich samych symboli, wskazane byłoby dodanie indeksów dla odróżnienia tych parametrów (symbol  $\theta$  to kąt odbłyску, kąt pochylenia cząsteczek w warstwach smektycznych i kąt zwilżania)

Oprócz tych drobnych uwag, chciałam zwrócić uwagę na zagadnienia, które wymagają komentarza:

1. Uwaga dotycząca analizy wyników otrzymanych metodą spektroskopii w podczerwieni. Na rys. 34, 36 i 37 zamienione zostały struktury i akronimy oraz widma i podpisy pod rysunkami. Również przypisanie niektórych pasm absorpcji w tabelach 11, 12 i 13 nie jest właściwe. Przykładowo w każdym badanym związku zamieszczonym w tych tabelach występuje łańcuch alkilowy, przy czym drgania nożycowe dla grup  $-\text{CH}_2-$  występują w zakresie  $1460-1470\text{ cm}^{-1}$ , natomiast w tabelach drgania te nie zostały wskazane, a pasma o częstości ok.  $1470\text{ cm}^{-1}$  przypisane zostały drganiom pierścienia, pomimo że w niektórych związkach pierścień aromatyczny nie występował. W jaki sposób te nieścisłości wpływają na analizę otrzymanych wyników?

2. W tabeli 4 str. 39 kąt zwilżania jest większy niż  $180^\circ$ . Proszę wyjaśnić w jakim przypadku wystąpi taka sytuacja.

3. Na str. 34 jest tekst „widmo dielektryczne, zależność od częstości dyspersji  $\varepsilon'(f)$  i absorpcji  $\varepsilon''(f)$  dielektrycznej” – proszę o wyjaśnienie co od czego zależy?

4. Jakie bufory były stosowane w pracy doświadczalnej?

Dobrym pomysłem było wydzielenia z próbki, zawierającej DNA o długich cząsteczkach, frakcji o ograniczonym rozkładzie wielkości cząsteczek. Szkoda, że wyniki badań kompleksów otrzymanych na bazie tego DNA są tak odmienne od pozostałych. Jak sugeruje Doktorantka może to wynikać z zanieczyszczenia tego materiału jonami z użytego buforu. Doktorantka napotkała w swojej pracy badawczej również inne ograniczenia, np. długi czas eksperymentu mającego na celu skrócenie łańcuchów DNA metodą trawienia enzymatycznego, który uniemożliwił powtórzenie badań. Takie wyniki niewątpliwie podniosłyby wartość merytoryczną pracy.

Doktorantka wykazała się pracowitością. Realizując badania wykorzystwała wiele metod pomiarowych typowych dla różnych dyscyplin naukowych: chemii, biochemii i fizyki. Obroniła tezę, że właściwości kompleksu DNA-surfaktant kationowy zależą zarówno od rodzaju DNA, jak i struktury surfaktantu. Doktorantka jest współautorką 3 prac zamieszczonych w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Wyniki swoich badań prezentowała na 4 krajowych konferencjach naukowych. Praca zawiera więc wyniki badań o cechach nowości naukowej.

Pracę doktorską mgr Aleksandry Radko oceniam pozytywnie, pomimo wskazanych wcześniej uwag. Zawartość rozprawy doktorskiej wskazuje na znajomość tematu, chociaż liczba niefortunnych sformułowań powinna być zdecydowanie mniejsza.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Aleksandry Radko „Właściwości fizyczne i samoorganizacja kompleksów DNA-surfaktant kationowy: wpływ rodzaju DNA oraz struktury surfaktantu” spełnia kryteria stawiane kandydatom w Ustawie - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Wnoszę o dopuszczenie rozprawy do dalszego postępowania kwalifikacyjnego przewidzianego w procedurze do uzyskania stopnia doktora w dyscyplinie nauki fizyczne.



*Prof. dr hab. inż. Marzena Tykarska*