



Konstantin V. Tretiakov
**Instytut Fizyki Molekularnej
Polskiej Akademii Nauk**

Mariana Smoluchowskiego 17, 60-179 Poznań
tel. 61 8695 276, fax 61 8684-524
tretiakov@ifmpan.poznan.pl

Poznań, 11.04.2024

Ocena dorobku naukowego i cyklu prac naukowych pod tytułem
„Wpływ nanostruktur na dwuwarstwę fosfolipidową”
p. dra Przemysława Raczyńskiego

W roku 2000, p. dr Przemysław Raczyński (Habilitant) uzyskał licencjat z Fizyki na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, a dwa lata później na Wydziale Techniki tej samej uczelni ukończył studia magisterskie na kierunku Informatyka. W roku 2008 na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, dr Raczyński obronił rozprawę doktorską pod tytułem: *„Badanie dynamiki cholesterolu w otoczeniu fosfolipidów i białek – symulacje komputerowe”*, i uzyskał stopień naukowy doktora nauk fizycznych. Promotorem rozprawy doktorskiej był prof. dr hab. Zygmunt Gburski. W latach 2010 – 2015, Habilitant pracował na stanowisku fizyka na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii, a od roku 2015 po dzień dzisiejszy jest On zatrudniony na stanowisku adiunkta na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Ocena cyklu prac naukowych stanowiących podstawę do uzyskania stopnia doktora habilitowanego

Po uzyskaniu stopnia doktora, Habilitant opublikował 33 publikacje naukowe. Jako podstawę postępowania habilitacyjnego, dr Przemysław Raczyński przedstawił do oceny cykl prac naukowych pod tytułem *„Wpływ nanostruktur na dwuwarstwę fosfolipidową”* składający się z 13 publikacji, wśród których są publikacje w renomowanych czasopismach naukowych: trzy prace w *Archives of Biochemistry and Biophysics* (IF=3.9), dwie prace w *Journal of Physical Chemistry C* (IF=3.7) oraz po jednej w *Sensors* (IF=3.9), *Journal of Physical Chemistry B* (IF=3.3), *BBA-Biomembranes* (IF=3.4), *Computational Materials Science* (IF=3.3). Pozostałe cztery prace są opublikowane w materiałach konferencyjnych serii *Springer Proceedings in Physics*. Jedna z prac Habilitanta opublikowana w *Springer Proceedings in Physics* jest autorskim dziełem dra Przemysława Raczyńskiego. Pozostałe prace są to publikacje wieloautorskie. W załączonych do dokumentacji deklaracjach wkładu autorskiego, został podany wkład poszczególnych współautorów w powstanie każdej publikacji. Z tych oświadczeń wynika, że Habilitant był jednym z pomysłodawców badań, był odpowiedzialny za opracowanie modelu i przeprowadzenie symulacji komputerowych, a także brał udział w interpretacji i opracowaniu wyników, oraz przygotowaniu manuskryptów publikacji. We wszystkich pracach, z wyjątkiem jednej, Habilitant jest pierwszym autorem, a w 11 pracach z 13 jest autorem korespondencyjnym, co łącznie z oświadczeniami współautorów świadczy o jego wiodącej roli w tych badaniach oraz znaczącym indywidualnym wkładzie.

Cykl prac jest poświęcony badaniom złożonych układów molekularnych biologiczno-fizycznych za pomocą symulacji komputerowych. Ideą przewodnią tych badań jest możliwość zastosowania nanostruktur w biologii i medycynie. W szczególności, potencjalnego wykorzystania nanorurek i innych pokrewnych nanostruktur jako nanokontenerów umożliwiających dostarczanie rozmaitych substancji do wnętrza komórki. Jest to aktualne, ważne oraz złożone zagadnienie, a symulacje komputerowe stanowią odpowiednie narzędzie do poznania i zrozumienia różnorodnych procesów zachodzących w tego rodzaju układach. Pierwsze cztery publikacje cyklu [46,47,48,49] są poświęcone badaniom oddziaływań pomiędzy klastrami molekuł cholesterolu w obecności wody jak i bez niej z nanorurkami węglowymi, węgiowo-krzemowymi, azotku boru. Pozostałych 9 prac jest związanych z zagadnieniem indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej za pośrednictwem różnych nanostruktur takich, jak nanorurki węglowe [37,38,50,51] i węgiowo-krzemowe [26,39], grafen [34], nanostożek krzemowy [ABB]. Ostatnia praca cyklu, oznaczona jako „Springer” jest poświęcona zagadnieniu samoregeneracji dwuwarstwy fosfolipidowej po usunięciu z niej nanostruktury. Moim zdaniem oznaczenia prac cyklu habilitacyjnego są mało przejrzyste, odrębna numeracja tych prac jako H1, H2, itd. byłaby znacznie lepsza.

Wszystkie badania przeprowadzono przy użyciu symulacji komputerowych układów dużej skali, zawierających około 150 tysięcy atomów. Symulacje wykonano przy użyciu oprogramowania NAMD (ang. *Nanoscale Molecular Dynamics*) stworzonego przez zespół naukowców z Uniwersytetu Illinois Urbana–Champaign. Do opisu oddziaływania pomiędzy atomami użyto pola siłowego CHARMM (ang. *Chemistry at HARvard Molecular Mechanics*) zaproponowanego i rozwijanego przez zespół naukowców na Uniwersytecie Harvarda, pod kierownictwem profesora Martina Karplusa laureata Nagrody Nobla z chemii w roku 2013 „za rozwój wielkoskalowych modeli dla złożonych układów chemicznych”.

W pierwszej pracy cyklu [46], zbadano wpływ nanorurek węglowych i węgiowo-krzemowych na domenę cholesterolową zlokalizowaną na powierzchni białka śródbłonka metodą dynamiki molekularnej w zespołach NPT i NVT. Te badania wskazały na możliwość zmniejszenia domeny cholesterolu przy użyciu nanorurek. Moim zdaniem jest to ciekawy wynik. Między innymi zostało pokazane, że efektywność procesu ekstrakcji molekuł cholesterolu zależy od orientacji nanorurki i rodzaju nanorurki, przy czym węgiowo-krzemowe nanorurki są bardziej skuteczne niż ich węglowe odpowiedniki. Dodatkowo zaobserwowano, że oba rodzaje nanorurek znacząco zmniejszają ruchliwość cząsteczek cholesterolu w domenie zlokalizowanej na powierzchni białka śródbłonka.

Wiadomo, że woda jest wszechobecna we wszystkich środowiskach biologicznych, w których występuje cholesterol czy lipidy. Dlatego w następnej pracy cyklu [47], dr Przemysław Raczyński przeprowadził symulacje komputerowe dla układów składających się z cząsteczek cholesterolu i fosfolipidów pokrywających bardzo cienką warstwą nanorurki węglowe i węgiowo-krzemowe w obecności cząsteczek wody i bez niej. Badania te przeprowadzono dla pięciu temperatur, w tym dla temperatury fizjologicznej. Zbadano wpływ nanorurki na dynamikę cząsteczek cholesterolu lub fosfolipidów w warstwie. Habilitant ze współautorami wykazał, że rozmieszczenie cząsteczek cholesterolu w badanych układach zależy od obecności wody. Cząsteczki cholesterolu i fosfolipidów charakteryzują się większą mobilnością w układach bez wody, chociaż obecność wody nie zmienia charakteru ich ruchu na powierzchni nanorurki. Okazało się, że obecność nanorurki w układzie zmniejsza ruchliwość cholesterolu i fosfolipidów. Natomiast nanorurki węgiowo-krzemowe bardziej zmniejszają ruchliwość lipidów, niż nanorurki węglowe. Ten fakt Habilitant przypisuje temu, że cząsteczki cholesterolu

mocnej wiążą się z powierzchnią węglowo-krzemowych nanorurek, niż z powierzchnią nanorurek węglowych, co jest również zgodne z wynikami poprzedniej pracy [46].

Dwie kolejne prace cyklu [48,49] są pracami konferencyjnymi, w których opisane zostały wyniki badań cienkich warstw cholesterolu i fosfolipidów otaczających nanorurki azotku boru oraz samych klastrów cholesterolu. Moim zdaniem, stanowią one pewne uzupełnienie do powyżej omówionych prac [46,47] i nie wnoszą jakościowo nowych, istotnych wniosków. Może poza tym, że molekuly fosfolipidów otaczające nanorurkę azotku boru mają największą dynamikę translacyjną w porównaniu do nanorurek węglowych i węglowo-krzemowych. Przyczyny tak dużej mobilności molekuł na powierzchni tej nanorurki, Habilitant upatruje w tym, że nanorurka azotku boru jest najbardziej hydrofilowa wśród rozważanych.

Moim zdaniem najciekawszą i najbardziej wartościową część cyklu, stanowią prace opisujące indentację dwuwarstwy fosfolipidowej za pośrednictwem różnych nanostruktur [26, 34, 37, 38, 39, 50]. Otwiera tą część badań praca [37], w której zaprezentowano wyniki symulacji komputerowych dotyczące indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej nanorurką węglową. Przedstawiono tu wyniki penetracji dwuwarstwy zarówno przy użyciu nanorurki otwartej, jak i zamkniętej, a także zostały zbadane procesy wbijania i wyciągania nanorurki z dwuwarstwy fosfolipidowej. Wyniki tych badań wskazują, że nanorurka węglowa otwarta i zamknięta może przebić membranę bez znaczącego uszkodzenia dwuwarstwy fosfolipidowej. Z kolei, nanorurka zamknięta w mniejszym stopniu ingeruje w strukturę membrany, co między innymi powoduje mniejszą zmianę energii swobodnej związanej z penetracją dwuwarstwy fosfolipidowej. W kolejnej pracy [50] dr Raczyński podjął próbę zasymulowania nie tylko procesu przebicia dwuwarstwy fosfolipidowej, ale również dostarczenia molekuł tlenu azotu do jej wnętrza i poza nią, używając wypełnionej molekułami tlenu azotu nanorurki węglowej. Przeprowadzone symulacje wykazały, że nanorurka może przebić membranę, nie niszcząc jej struktury. Po zatrzymaniu nanorurki w błonie, cząsteczki tlenu azotu migrują z nanorurki do wnętrza membrany lub do środowiska wodnego, po całkowitym przebiciu. Natomiast po wyciągnięciu nanorurki następuje samo-uszczelnienie dwuwarstwy fosfolipidowej. Jest to ważny i ciekawy wynik pokazujący hipotetyczną możliwość dostarczenia substancji (w tym przypadku tlenu azotu) do komórek za pomocą węglowych nanorurek.

Wpływ średnicy nanorurki na strukturę błony podczas procesów indentacji jest opisany w pracach [38,51]. Praca [51] jest pracą konferencyjną i przedstawia wstępne wyniki symulacji komputerowych. Moim zdaniem umieszczenie jej w cyklu prac jest zbędne. Zasadnicze rezultaty badań zawiera praca [38]. Przedstawia ona wyniki symulacji komputerowych procesów przebicia dwuwarstwy fosfolipidowej za pomocą nanorurek węglowych o różnych średnicach i z różnymi prędkościami, a także ekstrakcji nanorurek z dwuwarstwy fosfolipidowej. Badaniom został poddany realistyczny model dwuwarstwy fosfolipidowej składający się z fosfolipidów i cząsteczek cholesterolu. Obszerne symulacje komputerowe przebicia nanorurką dwuwarstwy fosfolipidowej, a później ekstrakcji nanorurki nie wykazały znacznego, trwałego uszkodzenia membrany, ani zmiany jej struktury. Badania natomiast pokazały, że w większości przypadków indentacja błony przy użyciu nanorurki o większej średnicy wymaga większej siły. Zależność między średnicą nanorurki a siłą jest konsekwencją złożonej struktury dwuwarstwy. Użycie większej średnicy nanorurki prowadzi do wyrwania większej liczby fosfolipidów i cholesterolu. Natomiast w przypadku nanorurki o najmniejszej badanej średnicy, zazwyczaj lipidy okazują się zbyt duże, żeby zmieścić się w jej wnętrzu. Należy zauważyć, że liczba cząsteczek wyekstrahowanych z membrany nie jest znacząca, ponieważ część lipidów wyrwanych podczas procesu przebijania, zostaje z powrotem

wbudowanych w jej strukturę, w trakcie ekstrakcji nanorurki z dwuwarstwy. Inna, moim zadaniem, ciekawa obserwacja dotyczy prędkości indentacji i ekstrakcji nanorurki węglowej. W przypadku nanoindentacji uszkodzenie membrany przez nanorurkę jest mniej wyraźne w procesach z małymi prędkościami wbijania. Odwrotnie jest przy wyciąganiu nanorurki, ponieważ mniejsze uszkodzenia powstają przy dużych szybkościach jej ekstrakcji. W związku z tym, aby zminimalizować ilość molekuł wyrwanych z błony należy ją przebijać powoli, natomiast indenter powinien być z niej usuwany z dużą prędkością. Niewątpliwie są to ciekawe obserwacje, które mogą być użyteczne w przyszłości przy ewentualnym zastosowaniu nanorurek w biologii i medycynie. Wyniki bliźniaczych badań tylko, że dla nanorurki węglowo-krzemowej są przedstawione w pracy [26]. W tej pracy, Habilitant również porównał wyniki badań dla nanorurek węglowej [38] i węglowo-krzemowej. Żadnych jakościowo nowych wniosków te badania nie przyniosły.

Niewątpliwie w rzeczywistości trudno byłoby doprowadzić do sytuacji aby nanoindenter przesunął się dokładnie prostopadle w kierunku błony. W związku z tym, dalsze badania Habilitant przeprowadził dla procesów indentacji poprzez przebicie lub przecięcie dwuwarstwy fosfolipidowej pod różnymi kątami [39], odbiegającymi od prostopadłego. Symulacje komputerowe pozwoliły zaobserwować, że we wszystkich zbadanych przypadkach odchylenie kąta nanorurki od pionu oraz zwiększenie prędkości nanoindentera skutkuje przyłożeniem większej siły niezbędnej do penetracji membrany. Co więcej, porównanie przypadków przebicia i przecięcia nanorurką pokazało różnicę w mechanizmie penetracji. We wszystkich przypadkach, w których nanorurka poruszała się wzdłuż swej osi, liczba wyrwanych lipidów była mniejsza, niż w przypadku gdy nanorurka przecinała błonę wzdłuż osi prostopadłej, mając kontakt z większą ilością molekuł w błonie i tym samym powodując większą liczbę wyrwanych cząsteczek. W kontekście porównania nanorurek węglowej i węglowo-krzemowej, zdecydowanie mniej korzystnie wypada ta ostatnia, ponieważ powoduje ona większe negatywne zmiany w strukturze dwuwarstwy fosfolipidowej, które mogą wynikać z jej silniejszej interakcji z lipidami DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine). Habilitant zauważa również, że ten efekt nie został jeszcze w pełni zbadany.

Poza nanorurkami, zamodelowano również proces indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej przy użyciu grafenu o różnych rozmiarach oraz proces samoregeneracji membrany. Badania przeprowadzono dokładnie takimi samymi metodami symulacji komputerowych jak i w poprzednich pracach, obserwowano te same wielkości fizyczne, a analiza i dyskusja otrzymanych wyników również została utrzymana w tym samym nurcie. Wyniki tych badań są przedstawione w pracy [34]. Większość wniosków sprowadza się do ilościowego porównania obserwowanych wielkości fizycznych w badanych układach oraz ich porównania z wynikami wcześniejszych prac. Moim zdaniem, do ciekawszych wyników tej pracy można odnieść obserwację obrotu warstwy grafenu o 180° w trakcie indentacji oraz to, że nawet w przypadku mocnego uszkodzenia dwuwarstwy fosfolipidowej poprzez cięcie grafenem, jest ona w stanie regenerować się w dosyć krótkim czasie (około 50 ns).

Serie badań poświęconych indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej zamyka praca oznaczona w dokumentacji jako [ABB] opublikowana w czasopiśmie *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Przedstawia ona wpływ indentacji i wycofania nanostożka krzemowego na błonę fosfolipidową. Szczególny nacisk w tej pracy został położony na badania procesu wycofania nanostożka z membrany z osobnym uwzględnieniem jego początkowej głębokości tuż przed procesem wycofania. Wyniki tych badań pokazują, że średnia siła i praca są znacznie większe w przypadku wycofywania z większej głębokości, co nie jest zaskakujące. Habilitant ten wynik

przypisuje silniejszym oddziaływaniom hydrofobowym pomiędzy nanostożkiem a ogonami lipidowymi cząsteczek błony. Oprócz tego badania te wskazują na duże różnice w liczbie cząsteczek usuniętych z membrany. Podczas ekstrakcji z mniejszej głębokości początkowej liczba lipidów usuniętych z membrany jest kilkukrotnie mniejsza, w porównaniu do przypadku większej głębokości początkowej nanostożka. Poza tym, po wycofywaniu nanostożka z mniejszej głębokości, dwuwarstwa fosfolipidowa stosunkowo łatwo powraca do konfiguracji zbliżonej do początkowej, a wycofywanie nanostruktury z większej głębokości skutkuje większymi zmianami w ułożeniu lipidów w błonie, co wpływa na proces regeneracji. Praktyczne znaczenie może mieć obserwacja dotycząca szybkości wycofania nanostożka krzemowego, która ma być duża, tak aby liczba lipidów usuniętych z błony była jak najmniejsza.

Ostatnia praca cyklu jest pracą konferencyjną i dotyczy procesu samoregeneracji dwuwarstwy fosfolipidowej po usunięciu z niej nanostruktury. Włącznie tej pracy do cyklu, moim zdaniem jest zbyteczne, ponieważ nie wnosi ona jakościowo nowych wniosków poza tymi, które już są przedstawione w innych pracach cyklu [26,34,38,39,50,ABB] dotyczących indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej za pośrednictwem różnych nanostruktur.

Moim zdaniem, przedstawiony przez Habilitanta cykl prac naukowych jest spójnym i monotematycznym zbiorem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe. Podsumowując tę część opinii, stwierdzam, że w rezultacie przeprowadzonych badań dr Przemysław Raczyński uzyskał szereg wartościowych wyników, które rzucają nowe światło na procesy indentacji dwuwarstwy fosfolipidowej za pośrednictwem nanostruktur, i mogą mieć znaczenie praktyczne.

Ocena dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego

Dr Przemysław Raczyński jest autorem i współautorem 53 publikacji naukowych (wd. bazy *Scopus*), z czego 35 prac ukazało się po uzyskaniu stopnia doktora. Prawie połowę wszystkich publikacji stanowią prace konferencyjne 26 prac. Pozostałe prace, niewchodzące w cykl habilitacyjny, zostały opublikowane w dobrych czasopismach o obiegu międzynarodowym takich, jak *International Journal of Molecular Sciences*, *Physical Review E*, *Journal of Non-Crystalline Solids*, *Biomolecular Engineering*, *Journal of Molecular Structure*, *Reviews on Advanced Materials Science*, *Solid State Communications*, *Molecular Physics*. Tematyka badawcza tych publikacji jest, w głównej mierze, zbliżona do habilitacyjnej i dotyczy badania oddziaływań pomiędzy układami o znaczeniu biologicznym z różnymi nanostrukturami za pomocą symulacji komputerowych. Prace habilitanta, w momencie sporządzania tej recenzji, były cytowane 259 razy, przy czym 150 razy bez autocytowań (wd. bazy *Scopus*), a jego H-index wynosi 11 (wd. bazy *Scopus*) i 10 (wd. bazy *Web of Science*). Są to wartości nie odbiegające daleko od średnich, które występują w postępowaniach habilitacyjnych w dyscyplinie nauki fizyczne w Polsce. Warto podkreślić, że najbardziej cytowana praca Habilitanta ma 40 cytowań i jest to jedna z prac cyklu [37], który stanowi podstawę do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Po uzyskaniu stopnia doktora, dr Raczyński wygłosił pięć wykładów na konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym jeden wykład na zaproszenie, a także ośmiokrotnie prezentował wyniki swoich badań w postaci plakatów.

Działalność naukową Habilitant prowadził na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach, ściśle współpracując z prof. dr hab. Z. Gburskim i dr hab. Z. Dendzikem. Kilka publikacji cyklu habilitacyjnego powstało przy współpracy międzynarodowej: publikacje [26,46] z prof. J. Samios z Uniwersytetu w Atenach w Grecji; publikacja [ABB] z prof. T. Poschel z Uniwersytetu Frydryka Aleksandra w Erlangen i Norymberdze w Niemczech. Współpraca krajowa z dr. P.

Bełdowskim z Politechniki Bydgoskiej zaowocowała publikacjami [39,34,ABB]. Habilitant dwukrotnie wnioskował o finansowanie badań naukowych w konkursach krajowych, ale niestety bez powodzenia. W przedstawionej dokumentacji są informacje o aktywności Habilitanta w roli recenzenta. Dr Raczyński zrecenzował 6 prac dla znanych czasopism, między innymi dla takich, jak *Chemical Physics Letters* i *Journal of Physical Chemistry*.

Pan dr Przemysław Raczyński ma spore doświadczenie dydaktyczne. Prowadził On zajęcia z 9 przedmiotów ze studentami na kierunkach Informatyka Stosowana i Fizyka Medyczna, był recenzentem 6 prac inżynierskich i wielokrotnie występował w roli członka komisji do przeprowadzenia egzaminu i obrony prac dyplomowych inżynierskich. Na osobne pokreślenie zasługuje, to że Habilitant pełnił rolę promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Mateusza Pabiszczaka, który obronił rozprawę doktorską pt. „*Napełnianie bioagregatów fosfolipidowych substancjami polarnymi i niepolarnymi – symulacje komputerowe*” w 2023 roku.

Należy zaznaczyć aktywność organizacyjną Habilitanta. Pełnił On funkcję sekretarza komisji rekrutacyjnej na kierunku Informatyka Stosowana, dwukrotnie był przewodniczącym komisji rekrutacyjnej na kierunku Informatyka Stosowana oraz pełnił funkcję Administratora Systemów Informatycznych na wydziale/instytucie. Obecnie, jest On także opiekunem roku na kierunku Informatyka Stosowana. W latach 2010-2018 Habilitant był nauczycielem Fizyki w II Liceum Ogólnokształcącym im. Marii Konopnickiej w Katowicach, gdzie poza głównymi obowiązkami, brał również udział w popularyzacji fizyki organizując rozmaite wydarzenia zarówno na terenie szkoły jak i poza nią. Habilitant jest członkiem Polskiego Towarzystwa Fizycznego.

Wniosek końcowy

Podsumowując, oceniam aktywność naukową dra Raczyńskiego pozytywnie oraz uważam, że cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych przedstawiających badania wpływu nanostruktur na dwuwarstwę fosfolipidową, jak również inne jego prace, stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki fizyczne. W związku z powyższym, stwierdzam, że osiągnięcia naukowe Habilitanta spełniają wymogi ustawowe stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Wniosuję o dopuszczenie dra Przemysława Raczyńskiego do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Z poważaniem



Prof. dr hab. inż. Konstantin V. Tretiakov
Kierownik Zakładu Auksetyków, Materiałów
Funkcjonalnych i Symulacji Komputerowych