

dr hab. inż. Ewelina Lipiec, prof. UJ
Instytut Fizyki
Zakład Fizyki Nanostruktur i Nanotechnologii
ul. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków
Ewelina.Lipiec@uj.edu.pl
+48 12 664 45 85



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

Kraków, 7 Stycznia 2025

Recenzja Pracy Doktorskiej

On Discovering New Facets of Cholesterol in Model Cell Membranes: the Molecular Interplay with Biological Water

wykonanej przez mgr inż. Hannę Orlikowską-Rzeźnik
pod kierunkiem dr hab. inż. Łukasza Piątkowskiego prof. PUT

Instytut Fizyki, Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej,
Politechnika Poznańska

Unikalne właściwości błon lipidowych determinują ich złożone funkcje: oddzielanie środowisk biologicznych, uczestniczenie w procesach regulacyjnych, absorpcja składników odżywczych, komunikacja międzykomórkowa, endocytoza i wiele innych. Szczególnie ważnym zagadnieniem jest oddziaływanie pomiędzy lipidami a wodą biologiczną, której obecność jest konieczna dla procesu samoorganizacji błon lipidowych oraz znacząco wpływa na ich dynamikę i bioaktywność, a także pośredniczy w interakcjach między różnymi biocząsteczkami i błonami biologicznymi.

Mimo fundamentalnej roli błon lipidowych w procesach biologicznych oraz licznych badań naukowych nasza wiedza dotycząca błon lipidowych, ich oddziaływania z wodą oraz roli cholesterolu wciąż jest niekompletna. Błony biologiczne i ich modele są heterogenicznymi (w nanoskali) i dynamicznymi układami złożonymi, o grubości rzędu zaledwie kilku nm i dlatego badanie ich struktury chemicznej i właściwości jest bardzo trudne i wymaga odpowiedniego podejścia analitycznego oraz zaawansowanych metod eksperymentalnych i teoretycznych.

Rozprawa doktorska Pani mgr Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik wpisuje się w ten bardzo ważny kierunek badawczy, wnikliwie analizując wzajemnie oddziaływanie cholesterolu, lipidów błonowych i wody, w kształtowaniu modelowych błon biologicznych. W niniejszej pracy doktorskiej Pani mgr inż. Hanna Orlikowska-Rzeźnik podejmuje się wykonania prac eksperymentalnych i obliczeń teoretycznych, których wyniki pozwoliły na pełniejsze zrozumienie powstawania lokalnych heterogeniczności w rozkładzie i uporządkowaniu cząsteczek w błonach biologicznych oraz

ul. prof. Stanisława

Łojasiewicza 11

PL 30-348 Kraków

tel. +48(12) 664-48-90

fax +48(12) 664-49-05

e-mail:

wydzial.fais@uj.edu.pl

wpływie tych niejednorodności na ich właściwości i funkcje. Przedmiot badań stanowiły procesy molekularne w biomateriałach o złożonej i skomplikowanej budowie oraz nanometrycznych rozmiarach (jedno- i dwuwarstwowe molekularne).

OGÓLNA OCENA ROZPRAWY

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik została podzielona na 10 rozdziałów, które stanowią spójną całość: i) wstęp, ii-v) podstawy teoretyczne, vi-vii) artykuły stanowiące podstawę do ubiegania się o tytuł doktora wraz z materiałami uzupełniającymi ix) podsumowanie oraz x) opis osiągnięć naukowych Autorki.

Rozprawę rozpoczyna streszczenie, w którym nakreślono problem naukowy, przedstawiona została metodologia badawcza, najważniejsze otrzymane wyniki oraz ich znaczenia. Nie doszukałam się jednak, ani w streszczeniu ani w pozostałych częściach rozprawy, postawionej głównej hipotezy badawczej, która była testowana w ramach tej pracy doktorskiej. Sformułowanie głównej hipotezy badawczej i napisanie jej przez Autorkę stanowiłoby wartość dodaną w tej pracy. Natomiast, biorąc pod uwagę fakt, iż każdy z opublikowanych artykułów, stanowiących podstawę ubiegania się o tytuł doktora zawiera doprecyzowaną hipotezę badawczą (lub kilka hipotez), to w mojej opinii, pewna uogólniona hipoteza nie jest konieczna.

We wstępie Pani mgr. Hanna Orlikowska-Rzeźnik przedstawia w pełni uzasadnioną motywację, która towarzyszyła pracy badawczej. Kolejne części rozprawy stanowi kompleksowy, szczegółowy i systematyczny, a mimo to zwięzły opis podstaw teoretycznych i dotychczasowych osiągnięć w zakresie badanych układów złożonych i metod eksperymentalnych, które zostały zastosowane w niniejszej pracy doktorskiej. Autorka omawia typy, funkcje, komponenty, właściwości strukturalne modelowych i naturalnych błon biologicznych. W Rozdziale 3 Doktorantka koncentruje się na płynności błon lipidowych i wzajemnym oddziaływaniu pomiędzy cząsteczkami cholesterolu i fosfolipidów. Rozdział 4 obejmuje opis właściwości wody i jej interakcji z błonami lipidowymi. W Rozdziale 5 przedstawione zostały metody eksperymentalne stosowane w badaniach — spektroskopia i konfokalna mikroskopia fluorescencyjna oraz spektroskopia generowania sumy częstotliwości z detekcją heterodynową (ang. heterodyne-detected vibrational sum-frequency generation (HD-VSFG) spectroscopy). W mojej opinii jest to bardzo wartościowa część pracy, stanowiąca kompendium wiedzy, która z powodzeniem mogłaby stanowić część podręcznika lub skrypt akademicki. Dość zwięzłe ale bardzo staranne i dokładne opisy świadczą o tym, iż Autorka posiada szeroką wiedzę i doświadczenie badawcze oraz o dogłębnym zrozumieniu podjętej tematyki badawczej. Rozdziały wprowadzające zawierają prawie wszystkie informacje niezbędne do zrozumienia artykułów

stanowiących główną część pracy doktorskiej. Brakuje jedynie wprowadzenia do dynamiki molekularnej, która stanowi ważną część jednego z artykułów przedstawionego w rozdziale 7 (J. Phys. Chem. Lett. 2024, 15, 4515–4522). Z załączonych oświadczeń współautorów oraz opisu udziału współautorów zamieszczonego w publikacji nie do końca wiadomo czy Autorka osobiście wykonywała obliczenia, jeśli nie, to brak umieszczenia tego opisu we wstępie uważam za zasadny.

Rozdział 6 przedstawia artykuł zatytułowany „Laurdan Discerns Lipid Membrane Hydration and Cholesterol Content” autorstwa Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik, Emilii Krok, Madhurimy Chattopadhyay, Agnieszki Lester, oraz Lukasa Piatkowskiego, opublikowany w *The Journal of Physical Chemistry B* (2023, 127, 3382–3391) wraz z materiałami uzupełniającymi.

W pracy przedstawiono wyniki nowatorskich, bezpośrednich pomiarów wpływu poziomu uwodnienia oraz ilości cholesterolu w różnych dwuwarstwach lipidowych na widma fluorescencji Laurdanu. Pokazano, iż zmiany spektralne wywołane dehydratacją oraz zwiększeniem ilości cholesterolu są podobne. Wnikliwa interpretacja otrzymanych wyników dowiodła, iż zmiany wywołane odwodnieniem w widmie emisyjnym Laurdanu związane są z utrudnioną relaksacją dipolową wokół cząsteczek Laurdanu wynikającą z konformacyjnego uporządkowania lipidów i spowolnienia ruchów lipidów w dwuwarstwie z powodu zmian dynamiki sieci wiązań wodorowych. Autorzy zinterpretowali także zmiany w widmach emisyjnych Laurdanu związane ze zwiększeniem ilości cholesterolu w dwuwarstwach lipidowych. W związku z tym, iż przy wzroście ilości cholesterolu nie obserwuje się ani spowolnienia relaksacji sieci wiązań wodorowych, ani wzrostu uporządkowania konformacyjnego dwuwarstwy lipidowej, zapostulowano, iż obserwowane zmiany spektralne związane są z tym iż cząsteczki cholesterolu ograniczają dynamikę szkieletu glicerolowego oraz grup karbonylowych.

Analizowano zmiany widm emisyjnych Laurdanu w jedno- i wieloskładnikowych błonach modelowych. Wykazano, że cholesterol w pewnym stopniu kompensuje efekt obniżenia relaksacji dipolowej lokalnego środowiska Laurdanu wywołany odwodnieniem. Postulowano również, iż odwodnienie błony w której występują różne fazy, indukuje redystrybucję cholesterolu w domenach i ich otoczeniu. W pracy podkreślono, iż dynamika zmian dystrybucji cholesterolu stanowi mechanizm stabilizujący płynność błon komórkowych. Opisano rolę cholesterolu w mechanochemicznych procesach utrzymujących homeostazę błon lipidowych.

W mojej opinii ta interdyscyplinarna praca wnosi istotny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria materiałowa poprzez zaawansowaną analizę danych spektralnych oraz ich wnikliwą interpretację, obejmującą opis dynamiki tworzenia się wiązań wodorowych pomiędzy tlenem grup karbonylowych a cząsteczkami wody i oddziaływania pomiędzy cząsteczkami cholesterolu a ogonami lipidowymi, a także wpływie tych wiązań i oddziaływań

na translacyjną i rotacyjną ruchliwość lipidów w domenach i ich otoczeniu. Akwizycja widm fluorescencyjnych Laurdanu przy bezpośrednich pomiarach uwodnienia modelowych błon została wykonana po raz pierwszy. Interpretacja wyników tych pionierskich pomiarów pozwoliła na opisanie mechanizmów molekularnych towarzyszących zmianom stopnia uwodnienia oraz zmianom zawartości cholesterolu w jedno- i wieloskładnikowych błonach modelowych (dwuwarstwach lipidowych).

W rozdziale 7 przedstawiony jest artykuł pt.: „Dehydration of Lipid Membranes Drives Redistribution of Cholesterol Between Lateral Domains” autorstwa Hanny Orlikowskiej-Rzeznik, Emilii Krok, Marii Domanskiej, Piotra Setny, Anny Łągowskiej, Madhurima Chattopadhyay, oraz Lukasz Piatkowskiego wraz z materiałami uzupełniającymi. Artykuł został opublikowany w wyśmienitym czasopiśmie *Journal of Physical Chemistry Letters*. W tej pracy badano rolę oraz zachowanie cholesterolu i mechanizmy molekularne w modelowych dwuwarstwach lipidowych ulegającym dehydratacji, która jest procesem towarzyszącym fuzji błonowej. Badano wieloskładnikowe dwuwarstwy składające się z domen uporządkowanych zawierających duży udział sfingomieliny (SM) oraz otaczającej fazy nieuporządkowanej zawierającej fosfatydylocholinę (PC). Połączono podejście eksperymentalne i teoretyczne stosując obrazowanie znaczonych lipidów za pomocą konfokalnej mikroskopii fluorescencyjnej i obliczenia dynamiki molekularnej w badaniach przedstawionych w pracy. Pokazano, że dehydratacja badanej dwuwarstwy lipidowej powoduje uwalnianie cholesterolu z uporządkowanych domen (fazy Lo) do otaczającej fazy o mniejszym uporządkowaniu (Ld). Wynik ten jest potwierdził, iż woda pełni rolę w kształtowaniu błony komórkowej regulując jej funkcje i właściwości. Wyniki obliczeń dynamiki molekularnej pozwoliły wyjaśnić redystrybucję cholesterolu spowodowaną odwodnieniem. Dehydratacja powoduje zmiany w strukturze chemicznej nienasyconych łańcuchów acylowych PC, obejmujące prostowanie się łańcuchów i wzrost grubości dwuwarstwy. W rezultacie właściwości biofizyczne obu faz: uporządkowanej i nieuporządkowanej stają się bardziej podobne, ułatwiając interakcję cholesterolu z PC. Drugim ważnym czynnikiem wpływającym na migrację cholesterolu jest zmniejszenie ilości wiązań wodorowych pomiędzy nienasyconymi lipidami i wodą. W wyniku tego procesu cholesterol przesuwa się w kierunku powierzchni fazy nieuporządkowanej i tworzy wiązania wodorowe między swoją grupą hydroksylową a resztami fosforanowymi PC.

Uwalnianie cholesterolu z traw lipidowych wywołane odwodnieniem jest bardzo ważnym procesem, który umożliwia fuzję błon komórkowych poprzez redukcję niedopasowania hydrofobowego między domenami w błonach. Dodatkowo uporządkowane domeny pełnią rolę zbiorników cholesterolu, który może być z nich uwalniany w celu regulowania płynności błony dla zapewnienia integralności i odpowiednich właściwości błon biologicznych w różnych warunkach fizjologicznych.

Wyżej opisany artykuł stanowi ważny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria materiałowa, dostarczając nowych informacji o dystrybucji i mobilności lipidów podczas odwodnienia oraz wzajemnego oddziaływania lipidów (dokładnie ich grup funkcyjnych) i dynamiki tworzenia wiązań wodorowych lipidów z wodą. Ważnym aspektem w tym kontekście jest także zaproponowanie modelu pozwalającego na wyznaczenie swobodnej energii, która jest uwalniana podczas redystrybucji cholesterolu wywołanej odwodnieniem.

W rozdziale 8 znajdujemy artykuł pt.: „Cholesterol Changes Interfacial Water Alignment in Model Cell Membranes” autorstwa Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik, Jana Versluis, Huiba J. Bakker, oraz Łukasza Piatkowskiego” wraz z informacjami uzupełniającymi. Praca została opublikowana w Journal of American Chemical Society - jednym z najważniejszych czasopism zawierających artykuły dotyczące przełomowych badań z każdej dziedziny chemii i dziedzin pokrewnych. W badaniach przedstawionych w artykule zastosowano spektroskopię generowania sumy częstotliwości z detekcją heterodynową (HD-VSFG), w celu zbadania wpływu cholesterolu na strukturę monowarstw dipalmitylofosfatydylocholina (DPPC), dioleilofosfatydylocholina (DOPC) i sfingomieliny (SM) znajdujących się na powierzchni wody (lub wody ciężkiej). Analizowano zachowanie drgań pochodzących od grup karbonylowych w fosfolipidach, drgań grup CH w fosfolipidach i cholesterolu oraz drgań OH cząsteczek wody hydratujących lipidy. Wykryto, że wpływ cholesterolu silnie zależy od dipolarnych fosfolipidów tworzących warstwę.

Nie wykryto silnych specyficznych oddziaływań między cholesterolem a nienasyconymi ogonami acylowymi dioleilofosfatydylocholiny DOPC. Zapostulowano, iż cholesterol wnika w warstwę, powodując zwiększenie odległości między sąsiednimi cząsteczkami lipidów. Zaobserwowano również spadek ilości cząsteczek wody związanych z głównymi grupami fosfolipidowymi.

Wyniki pokazały również, że wzrost ilości cholesterolu w warstwie nasyconej fosfatydylocholiny DPPC powoduje zwiększenie uporządkowania ogonów acylowych co w widmach HD-VSFG przejawia się wzrostem sygnału od grup CH. Dodatkowo zarejestrowano relatywny wzrost intensywności pasma od grup karbonylowych nie związanych z wodą (za pomocą wiązań wodorowych) w stosunku do związanych grup karbonylowych, co wskazuje na to, iż większemu upakowaniu towarzyszy częściowa eliminacja cząsteczek wody zlokalizowanych na poziomie grup karbonylowych. Zaobserwowano również, mniejszy niż oczekiwano spadek intensywności pasm pochodzących od wody po dodaniu cholesterolu do warstwy. Autorzy tłumaczą że może być to spowodowane przez jednakową orientację cząsteczek wody w powłoce hydratacyjnej hydrofilowych głów fosfolipidów. Zasugerowano, że indukowane przez cholesterol uporządkowanie łańcuchów acylowych

wymusza większe upakowanie w monowarstwie, co skutkuje bardziej pionową i jednorodną orientacją grup metylowych oraz hydrofilowych głów lipidów.

Dla sfingomieliny zaobserwowano, że zwiększony udział cholesterolu powoduje wzrost upakowania i stopnia uporządkowania hydrofobowych łańcuchów acylowych (większy niż w przypadku DOPC). Autorzy artykułu, postulując, że relatywnie gęsta sieć międzycząsteczkowych wiązań wodorowych w warstwie sfingomieliny kotwiczy cholesterol głębiej w niepolarnym wnętrzu błony, ograniczając jego wpływ na orientację cząsteczek wody, która je hydratuje.

Artykuł opisany w rozdziale 8 niniejszej rozprawy doktorskiej bez wątplenia wnosi bardzo istotny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria materiałowa dostarczając ważnych i bardzo szczegółowych informacji o wzajemnych oddziaływaniach grup funkcyjnych cząsteczek lipidów (DPPC, DOPC, SM, cholesterolu) i wody w warstwach. Stwierdzono, że wzrost ilości cholesterolu w monowarstwie DOPC nie powoduje znaczącej zmiany orientacji i upakowania łańcuchów acylowych oraz nie wpływa na orientację cząsteczek wody. Inaczej jest w przypadku monowarstw nasyconych lipidów DPPC i SM, gdzie dodanie cholesterolu prowadzi do wzrostu upakowania cząsteczek i uporządkowania hydrofobowych łańcuchów acylowych oraz zmiany orientacji cząsteczek wody hydratujucej grupy czołowe lipidów, co wpływa na potencjał dipolowy modelowej błony. Należy podkreślić, iż autorzy badali bardzo cienkie układy, których grubość (~ 2 nm) jest znacznie mniejsza niż zdolność rozdzielcza konwencjonalnych metod analitycznych/spektroskopowych, a mimo to odpowiedni dobór metod badawczych i właściwa interpretacja otrzymanych danych spektralnych pozwoliła na zrozumienie i opisanie procesów zachodzących w różnych częściach jednowarstwy: hydrofobowych łańcuchach acylowych, hydrofilowych głowach i obszarze pomiędzy nimi gdzie znajdują się grupy kabonylowe i amidowe. Wyniki opisanych badań mają duże znaczenie dla właściwego zrozumienia procesów zachodzących w heterogenicznych rzeczywistych błonach lipidowych, gdzie domeny, w których udział sfingomieliny jest relatywnie duży są otoczone o fosfolipidami zawierającymi nienasycone łańcuchy zwykle o mniejszym upakowaniu.

Rozprawa doktorska mgr Pani mgr inż. Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik została napisana w języku angielskim, co wg mnie jest bardzo pozytywne, gdyż dzięki temu istotnie zwiększa się zasięg odbiorców tej bardzo wartościowej pracy. Zarówno rozdziały opisujące badane układy, podstawy teoretyczne metod eksperymentalnych jak i cykl artykułów zawartych w tej rozprawie są w mojej opinii wyjątkowo dobrze napisane. Autorka w zrozumiały sposób przedstawia skomplikowane zagadnienia i opisuje złożone procesy. Wszystkie rysunki są przepiękne: przejrzyste, czytelne, bardzo starannie przygotowane i wzbogacają lekturę pracy. Czytanie tego doktoratu to prawdziwa przyjemność, POLECAM!

Wyniki prac badawczych opisanych w rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik zostały zaprezentowane w trzech artykułach opublikowanych w prestiżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Pani mgr inż. Hanna Orlikowska-Rzeźnik jest pierwszą i korespondencyjną autorką wszystkich trzech prac. Z załączonych szczegółowych oświadczeń współautorów oraz z opisów udziału współautorów zamieszczonych w publikacjach jasno wynika, iż Pani mgr inż. Hanna Orlikowska-Rzeźnik miała wiodący udział w powstaniu tych trzech prac, uczestnicząc we wszystkich najważniejszych etapach powstawania artykułów. Zapewne udziału Autorki rozprawy omawiane prace te nie ukazałyby się w obecnej formie. Poza artykułami zawartymi w Jej Pracy Doktorskiej Pani mgr inż. Hanna Orlikowska-Rzeźnik jest autorką jeszcze 15 artykułów naukowych recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, 10 artykułów w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych. Dodatkowo Pani mgr inż. Hanna Orlikowska-Rzeźnik jest współautorką aż 4 patentów a Jej osiągnięcia były wielokrotnie prezentowane podczas międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych. W mojej opinii jest to wybitny dorobek naukowy osoby ubiegającej się o tytuł doktora.

SZCZEGÓŁOWE UWAGI DO ROZPRAWY

Podczas czytania rozprawy nasuwają się pewne bardziej szczegółowe pytania oraz zagadnienia:

- Czy opisana w rozdziale 6 i 7 metoda preparatyki próbek polegająca na depozycji pęcherzyków lipidowych na podłożach prowadziła do otrzymania ciągłych dwuwarstw lipidowych? Czy lokalna ciągłość warstw była weryfikowana eksperymentalnie np. za pomocą mikroskopii sił atomowych?
- Dynamika molekularna dostarczyła wielu szczegółowych informacji o badanych układach między innymi: o lokalnej dystrybucji cząsteczek PC, SM oraz cholesterolu dla różnych poziomów uwodnienia, liczbie wiązań wodorowych pomiędzy wodą i SM/PC/cholesterolem oraz cholesterolem a PC/SM, uporządkowaniu łańcuchów lipidowych, ich konformacji i orientacji w dwuwarstwie. Jestem ciekawa zdania Autorki, które z tych wyników mogłyby zostać zweryfikowane eksperymentalnie i jakie metody można byłoby w tym celu zastosować?
- Czy znakowanie lipidów sondami fluorescencyjnymi może mieć wpływ na właściwości błon biologicznych między innymi mobilność lipidów czy formowanie się domen? Czy mobilność lipidów była badana dla różnych stężeń barwników?

- Porównując widma HD-VSFG (przedstawione w artykule opisanym w rozdziale 8) zebrane z badanych fosfolipidów, cholesterolu i ich mieszanin widzimy bardzo intensywne drgania pochodzące od grup metylowych i metylenowych cholesterolu: zginające (rys. 3) i rozciągające (rys. 6). Autorzy wyjaśniają, iż może być to spowodowane większym upakowaniem cząsteczek cholesterolu, oraz większą ilością grup metylowych w cholesterolu w porównaniu do badanych fosfolipidów. Czy jeśli upakowanie cholesterolu było większe to czy orientacja (nachylenie) cząsteczek w monowarstwie cholesterolu była taka sama jak w monowarstwach mieszanin? Czy dodatkowa analiza danych HD-VSFG zebranych w zakresie drgań rozciągających grup metylowych i metylenowych (oparta o wyznaczenie odpowiednich stosunków pasm CH_2 , CH_3) mogłaby dostarczyć informacji i nachyleniu cząsteczek w monowarstwach (które w zastosowanej metodzie spektroskopowej ma duży wpływ na otrzymane wyniki)?
- Analizując izotermę dla jednowarstw cholesterolu (np. Makiyła-Juzak *et al.*, *The Journal of Membrane Biology* (2018) 251:641–651, J.L. Fidalgo Rodriguez *et al.*, *Chemistry and Physics of Lipids*, 225, 2019, 104819) widzimy, że ciśnienie powierzchniowe 40 mN/m jest relatywnie blisko granicy załamania warstwy tzw „kolapsu”. Czy autorzy weryfikowali stabilność warstw cholesterolu otrzymywanych w takich warunkach? Czy sprawdzano np. czy lokalnie nie tworzyły się wielowarstwy związane z procesem „kolapsu” warstwy cholesterolu?
- Czy rozważano/zastosowano normalizację danych spektralnych przed porównaniem widm mieszanin otrzymanych eksperymentalnie i danych obliczonych na podstawie widm czystych składników i ich udziału molowego w mieszaninach? Biorąc pod uwagę, iż upakowanie cholesterolu i monowarstw cholesterolu z badanymi fosfolipidami może być inne, odpowiednia normalizacja pozwoliłaby na uniezależnienie intensywności sygnału spektralnego od ilości próbkowanych cząsteczek.
- Jestem ciekawa opinii Autorki odnośnie tego, czy badanie deuterowanych cząsteczek wybranych lipidów umożliwiłoby rozróżnienie sygnałów spektralnych (w zakresie rozciągających drgań grup CH_2 , CH_3) od różnych komponentów mieszanin, a tym samym równoległe monitorowanie łańcuchów acylowych fosfolipidach oraz cząsteczek cholesterolu.

Powyższe uwagi/komentarze nie zmieniają mojej wysokiej oceny rozprawy, raczej są sugestią do dyskusji, która może zostać podjęta podczas obrony pracy.

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę duże znaczenie podjętej tematyki badawczej, kompleksowe, dogłębne i systematyczne podejście do wykonywanych prac badawczych i analizy danych oraz otrzymane nowatorskie wyniki pracę doktorską Pani mgr inż. Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik oceniam bardzo wysoko. W mojej opinii niniejsza rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Zrealizowane prace eksperymentalne i wykonane obliczenia teoretyczne pozwoliły osiągnąć ambitne cele pracy i znacznie poszerzyć wiedzę dotyczącą roli hydratacji i cholesterolu w złożonych biomateriałach jakimi są jedno- i dwuwarstwy lipidowe .

Podsumowując uważam, że złożona rozprawa doktorska spełnia w pełni wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). Niniejszym wnioskuję do Rady Dyscypliny Inżynieria Materiałowa Politechniki Poznańskiej o dopuszczenie Pani inż. Hanny Orlikowskiej-Rzeźnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Otrzymane rezultaty znacząco poszerzyły dotychczasową wiedzę pozwalając na pełniejsze zrozumienie roli hydratacji/dehydratacji oraz cholesterolu i ich wpływie na właściwości oraz funkcje skomplikowanych układów złożonych - błon biologicznych. Biorąc pod uwagę przede wszystkim duże znaczenie otrzymanych wyników oraz podjętej tematyki badawczej, bardzo wysoki poziom naukowy prezentowanych badań, kompleksowe, dogłębne podejście do analizy danych i interpretacji wyników, oraz ich przepiękną prezentację graficzną, a także wiodący udział autorki (jako pierwsza i korespondencyjna autorka) we wszystkich trzech artykułach stanowiących podstawę do ubiegania się o tytuł doktora wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej.