

Ocena dorobku naukowego oraz rozprawy habilitacyjnej

dr Dariusza Latowskiego

Dr Dariusz Latowski od 2009 roku jest zatrudniony na stanowisku adiunkta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Od 2003 roku pracuje też jako wykładowca w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Tarnowie. Dr Latowski jest głównym autorem lub współautorem 39 publikacji, w tym 29 prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Sześć z nich wykorzystanych zostało w rozprawie habilitacyjnej zatytułowanej: „Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego”.

1. Ocena aktywności naukowej i dorobku naukowego

Dr Dariusz Latowski ukończył studia magisterskie na kierunku biologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ. Po obronie pracy magisterskiej wykonanej pod kierunkiem prof. Stanisława Więckowskiego w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin Instytutu Biologii Molekularnej UJ (obecnie Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii) uzyskał dyplom z wyróżnieniem, a następnie rozpoczął Międzynarodowe Studia Doktoranckie Biochemia-Biofizyka przy tym Instytucie. W okresie studiów doktoranckich był też zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin oraz w Katedrze Chemii Akademii Pedagogicznej (obecnie Uniwersytetu Pedagogicznego) w Krakowie. Prace eksperymentalne wykonane w tym okresie przez Kandydata pod kierunkiem prof. Kazimierza Strzałki poświęcone były przede wszystkim badaniom mechanizmu cyklu ksantofilowego u roślin i zaowocowały przygotowaniem rozprawy doktorskiej pt. „Molekularne aspekty reakcji cyklu ksantofilowego w układach modelowych i naturalnych”. W tym czasie Habilitant opracował układ do badań kinetyki deepoksydacji wiolaksantyny i anteraksantyny oparty na liposomach zbudowanych z fosfatydylocholiny i monogalaktozydylacyloglicerolu (MGDG).

Szczególną uwagę poświęcił roli MGDG i własności błon zawierających ten lipid w powyższym procesie enzymatycznym. Pokazał, że MGDG, który tworzy odwróconą fazę heksagonalną (H_{II}), jest niezbędny dla procesu deepoksydacji wiolaksantyny (prace *Biochemical Society Transactions*, 2000; *European Journal of Biochemistry*, 2002; *Advanced Research on Plant Lipids*, 2003a,b; *Russian Journal of Plant Physiology*, 2003). Opracował też matematyczny model cyklu ksantofilowego, który zweryfikował w oparciu o dane eksperymentalne (*Journal of Theoretical Biology*, 2000). Już badania przeprowadzone przez Habilitanta w ramach pracy doktorskiej świadczyły o jego wyrażnie skryzalizowanych zainteresowaniach naukowych. Podjął się on bardzo ciekawego i ważnego tematu, z konsekwencją go realizował, a waga otrzymanych przez niego wyników odzwierciedlona została rezonansem w międzynarodowym środowisku naukowym, wyrażanym wysoką liczbą cytowań (kluczowa praca z tego okresu, opublikowana w *European Journal of Biochemistry* w 2002 r, której dr Latowski jest pierwszym Autorem, cytowana była do dnia dzisiejszego 51 razy). Wysoki poziom rozprawy doktorskiej potwierdzony został jej wyróżnieniem przez obu recenzentów, a jakoś opublikowanych prac umożliwiła dr Latowskiemu uzyskanie (dwukrotnie) prestiżowego stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców oraz stypendium Funduszu im. Stanisława Estreichera.

W okresie przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora Habilitant opublikował łącznie 9 prac oryginalnych i jedną przeglądową, o sumarycznym IF 10,607. Wyniki prezentował też na licznych konferencjach krajowych i zagranicznych, dwukrotnie otrzymując stypendia konferencyjne (FNP oraz Londyńskiego Towarzystwa Biochemicznego).

Doskonały warsztat badawczy, jaki posiadał Kandydat podczas pracy nad doktoratem, oraz żywe zainteresowanie podjętym tematem wyznaczyły zapewne kierunek jego dalszej aktywności naukowej. Po obronie pracy doktorskiej i uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii w 2003 roku dr Latowski kontynuował badania nad cyklem ksantofilowym. Rozszerzył je o występujący u okrzemek cykl diadinoksantynowy, który jest znacznie słabiej poznany od wiolaksantynowego. Pracując na opracowanych uprzednio modelach błon tylakoidów podjął się weryfikacji hipotezy, że deepoksydaza zarówno wiolaksantyny, jak i diadinoksantyny, do swej aktywności wymaga odwróconych struktur heksagonalnych, tworzonych przez MGDG. Zakwestionował tym samym hipotezę Yamamoto, który uważał, że MGDG tworzy micelle zamykające w sobie ksantofil czyniąc go przez to łatwiej dostępnym dla enzymu. Badania te opisane są w prezentowanej rozprawie habilitacyjnej, która oceniona będzie w dalszej części recenzji.

Prace niewchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej, opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej, również dotyczą w części różnych aspektów cyklu ksantofilowego. Habilitant pokazał na przykład, jak stres solny wpływa na aktywność cyklu ksantofilowego w liściach fasoli i kapusty (*Russian Journal of Plant Physiology*, 2006). Badał też proces deepoksydacji wiolaksantyny u prymitywnych glonów *Mantoniella squamata* i zaobserwował różnice w stosunku do tego procesu u roślin wyższych, wynikające najprawdopodobniej z różnic strukturalnych w budowie enzymu VDE (*Phycologia*, 2012). W innej pracy (*Biochimica et Biophysica Acta*, 2010) pokazał, że MGDG jest niezbędny do deepoksydacji wiolaksantyny związanej z fotosyntetycznym kompleksem LHCII. Eksperymenty, których wyniki opublikował w dwóch ostatnich artykułach wykonane były we współpracy z grupą prof. Gossa (Uniwersytet w Lipsku, Niemcy). Współpraca ta zapoczątkowana została już w 2004 roku, i jej efektem są 3 projekty badawcze, 9 publikacji (w tym dwie wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej) i ponad 20 komunikatów zjazdowych. Zainteresowanie lipidami tylakoidów zaowocowało też opublikowaniem pracy na temat znaczenia tych lipidów w regulacji agregacji kompleksu LHCII (*Biochimica et Biophysica Acta*, 2011), również we współpracy z grupą prof. Gossa. Pokazano w niej, że lipidy tylakoidów wywierają porządkujący wpływ na kompleks LHCII, co stanowi istotny element regulatorowy w strukturze i funkcji tylakoidów. Rozważania na temat mechanizmu i regulacji cyklu ksantofilowego zawarte zostały w artykule przeglądowym opublikowanym w prestiżowym *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics* (2009). Warto zaznaczyć, że artykuł ten spotkał się z dużym zainteresowaniem środowiska naukowego, o czym świadczy wysoka liczba jego cytowań (90 na dzień 6.11.2013). Jest to najczęściej cytowany artykuł w dorobku dr Latowskiego. Inny artykuł przeglądowy, którego współautorem jest Habilitant, poświęcony lipokalinom, której przedstawicielem jest m.in. VDE (*Journal of Plant Physiology*, 2006) również doczekał się dużej liczby cytowań (74). Zainteresowanie dr Latowskiego karotenoidami nie ograniczyło się jedynie do cyklu ksantofilowego. W pracy opublikowanej w *Biophysical Chemistry* (2009) przedstawił on wyniki badań nad wpływem zeaksantyny i β -karotenu oraz *cis*-izomerów tych karotenoidów na przejścia fazowe fosfatydylocholin w dwuwarstwie o różnej grubości.

Oprócz prac wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, w okresie po uzyskaniu stopnia doktora Habilitant opublikował w polskich i zagranicznych czasopismach naukowych 18 prac oryginalnych (w tym 13 z IF), 5 przeglądowych (w tym 3 z IF) oraz dwa rozdziały w książkach (w jęz. polskim w monografii wydanej przez Uniwersytet Przyrodniczy we

Wrocławiu, oraz w jęz. angielskim, w książce wydanej przez Springer). Łączny IF tych prac to 33,795. Imponująca jest liczba komunikatów zjazdowych z tego okresu (48).

Podsumowując, na dorobek naukowy dr Dariusza Latowskiego składa się ogółem 39 oryginalnych prac pełnotekstowych, z których sześć wykorzystanych zostało w rozprawie habilitacyjnej. Sumaryczna wartość IF tego dorobku wynosi 58,062 (w tym dla prac wykorzystanych w rozprawie habilitacyjnej 13,660). Liczba cytowań prac dr Latowskiego jest wysoka (527), co świadczy niewątpliwie o ważności wybranego przez niego tematu oraz jakości prowadzonych przez niego badań. Nie mam wątpliwości, że ten oryginalny dorobek naukowy stanowi znaczący wkład Habilitanta w rozwój wiedzy na temat mechanizmów chroniących aparat fotosyntetyczny roślin i glonów przed stresem świetlnym i oksydacyjnym. W moim przekonaniu, dorobek ten jest wystarczającą podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

2. Ocena rozprawy habilitacyjnej

Rozprawa habilitacyjna dr Dariusza Latowskiego pt. „Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego” jest monografią wydaną w ramach Serii Wydawniczej Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Trivium w 2013 roku. Rozprawa przedstawia wybrane wyniki zawarte w sześciu współautorskich publikacjach Habilitanta oraz dane nieopublikowane. Zgodnie z zaleceniami Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów Habilitant dostarczył oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, którzy posiadają co najmniej stopień doktora habilitowanego, o ich udziale w powstaniu wyników przedstawionych w monografii. Oświadczenia te jednoznacznie wskazują na dominującą rolę dr Dariusza Latowskiego w powstaniu wszystkich wykorzystanych w monografii prac.

Monografia jest obszernym opracowaniem, została zredagowana na 142 stronach maszynopisu, zawiera 61 rysunków i 19 tabel, a zestawienie piśmiennictwa liczy aż 315 pozycji. Zawartość merytoryczna rozprawy odpowiada jej tytułowi i dotyczy jednego z ważniejszych mechanizmów fotoprotekcyjnych występujących u fotoautotrofów czyli cyklu ksantofilowego. Pomimo wielu badań prowadzonych nad cyklem ksantofilowym, pełne poznanie jego mechanizmu molekularnego, jak i zrozumienie jego kompleksowego znaczenia ciągle stanowi wyzwanie. Dr Latowski podjął to wyzwanie i sprostął mu w zupełności.

W krótkim wprowadzeniu Habilitant w bardzo przejrzysty sposób przedstawia temat i układ rozprawy, który jest bardzo uporządkowany i logiczny. Pierwsze trzy rozdziały oparte

są na literaturze naukowej i stanowią podstawy teoretyczne badań własnych Habilitanta, które opisane są w kolejnych rozdziałach. Ostatni rozdział, w którym zawarta jest propozycja wyjaśnienia biochemicznego mechanizmu cyklu ksantofilowego, stanowi doskonale podsumowanie całości pracy.

Wyniki przedstawione w pracy są niewątpliwie interesujące i ważne. Wraz z pojawieniem się na Ziemi fotosyntezy powstały też zagrożenia wynikające z obecności tlenu, który w połączeniu ze światłem może generować reaktywne formy uszkadzające struktury komórkowe zarówno autotrofów, jak i heterotrofów. Poznanie mechanizmów chroniących organizmy przed stresem świetlnym i oksydacyjnym jest więc bardzo istotne.

Na uwagę zasługuje dokładność w wykonywaniu i opisywaniu eksperymentów oraz różnorodność zastosowanych przez dr Latowskiego metod. Świadczy to o wielkiej pracowitości, systematyczności i kompleksowym podejściu Kandydata do badanego problemu. Większość badań przeprowadzona była na opracowanym przez Habilitanta modelu liposomowym. Dzięki użyciu takiego modelu, można w kontrolowany sposób zmieniać skład lipidowy błony i badać wpływ poszczególnych jej składników na wybrane procesy, w tym przypadku na aktywność enzymu VDE (lub DDE). Badania nad aktywnością epoksydazy zeaksantynowej dr Latowski przeprowadzał *in vitro*, w wyizolowanych tylakoidach sałaty, natomiast wpływ jonów metali, oraz cukrów i ich aminowych pochodnych na przebieg cyklu ksantofilowego badał *in vivo*, w hodowli *Lemna trisulca*.

Spośród wyników przedstawionych w rozprawie za najcenniejsze uważam te, które dowodzą słuszności postawionej już wcześniej przez dr Latowskiego hipotezy, że rolą MGDG w procesie deepoksydacji wiolaksantyny/diadinoksantyny polega na wytwarzaniu przez ten lipid odwróconej fazy heksagonalnej H_{II}. Tym samym Habilitant odważnie zakwestionował przyjętą uprzednio w środowisku naukowym koncepcję Yamamoto, według której MGDG tworzy micelle zamykające w swoim wnętrzu wiolaksantynę/diadinoksantynę powodując dezagregację ksantofilu i ułatwiając jego dostępność dla enzymu. W wyniku dobrze zaplanowanych eksperymentów, w których porównał aktywność enzymu w układach lipidów nielamellarnych (oprócz MGDG wykorzystując też fosfatydyloetanolaminę PE) i układach lipidów zawierających reszty cukrowe (gdzie oprócz MGDG zastosował digalaktozyldiacyloglicerol DGDG) jednoznacznie stwierdził, że cechą MGDG niezbędną dla tej aktywności nie jest obecność reszt cukrowych w lipidzie, a zdolność tworzenia struktur odwróconych. Wyniki te mają cechy nowości naukowej, co zostało potwierdzone ich opublikowaniem w dziale „New Concepts” czasopisma Biochemistry.

Ciekawe wydają mi się też rozważania na temat wpływu grubości warstwy hydrofobowej struktur odwróconych na szybkość deepoksydacji wiolaksantyny. Wydaje się, że ma to związek z orientacją cząsteczek ksantofili (wiołaksantyny) w dwuwarstwie lipidowej, która zależna jest właśnie od długości łańcuchów węglowodorowych lipidu oraz obecności grup epoksydowych w ksantofilu. Pewnym uzupełnieniem mogłyby być tu pomiary orientacji cząsteczek wiołaksantyny (i ewentualnie diadinoksyantyny) w zastosowanych dwuwarstwach z PE o różnej grubości i porównanie ich z orientacją tych barwników w błonach z MDGD. Właściwa orientacja, jak i dynamika cząsteczek substratu względem enzymu (VDE/DDE) jest bardzo ważna dla efektywnego przebiegu procesu deepoksydacji.

Na uwagę zasługuje też pokazanie, że lipidy nielamelarne przyspieszają proces deepoksydacji również przez rozagregowywanie ksantofili. Obydwa badane epo-ksantofile rozpuszczają się lepiej w lipidach tworzących struktury odwrócone niż w lipidach lamelarnych. Lepsza rozpuszczalność ksantofili w lipidach określonego rodzaju sugerująca ich wybiórczą lokalizację w błonowych domenach wzbogaconych w ten lipid przypomina nieco wybiórczą lokalizację makularnych ksantofili zeaksantyny i luteiny w domenach wzbogaconych w lipidy nienasycone w błonach fotoreceptorów siatkówki oka. Nie do końca zgadzam się natomiast ze stwierdzeniem, że zeaksantyna ogranicza dynamikę molekularną błon w stanie ciekłokrystalicznym bardziej niż wiołaksantyna. Badania grupy prof. Subczyńskiego pokazały, że obydwie ksantofile w podobny sposób zmieniają wartość współczynnika uporządkowania błon, podobnie wpływają też na transport tlenu w błonach. Ich wpływ na błony zależał za to od rodzaju lipidu budującego dwuwarstwę, w szczególności od jej grubości. Znacznie słabszy wpływ na błony wywierają karotenoidy niepolarne, czyli nieposiadające grup hydroksylowych na końcach cząsteczki, jak np. β -karoten. Stąd wydaje się, że o wpływie karotenoidów na błony decyduje, oprócz rodzaju błony, obecność nie tyle grup epoksydowych, ile hydroksylowych kotwiczących cząsteczki ksantofili w obszarze głów polarnych błony i umożliwiających im odpowiednią orientację w dwuwarstwie lipidowej.

Według mnie, rozprawa habilitacyjna dr Dariusza Latowskiego zawiera wiele interesujących wyników. Badania w niej opisane były bardzo pracochłonne i starannie zaprojektowane. Zarówno poziom metodyczny, jak i zawartość merytoryczną rozprawy habilitacyjnej dr Dariusza Latowskiego oceniam bardzo wysoko. Ma ona cechy nowości naukowej i niewątpliwie spełnia wymogi stawiane rozprawom habilitacyjnym.

3. Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

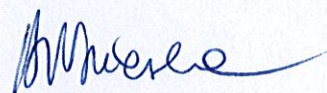
Dr Dariusz Latowski jest doświadczonym i cenionym dydaktykiem. Działalność dydaktyczną prowadzi w kilku uczelniach: UJ, AGH, UP w Krakowie i w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Tarnowie. Prowadzi zajęcia laboratoryjne, konwersatoria i wybrane wykłady z biochemii dla studentów biologii, biotechnologii i chemii, koordynuje i prowadzi kursy z biochemii i biologii dla studentów chemii stosowanej, oraz z biochemii, biotechnologii i mikrobiologii dla studentów ochrony środowiska. Opracował też materiały do części prowadzonych przez siebie zajęć. Na uwagę zasługuje bardzo duża liczba wypromowanych przez niego magistrantów oraz wykonanych pod jego kierunkiem prac licencjackich. Był bowiem opiekunem ponad 50-ciu prac licencjackich, promotorem 23-ech prac magisterskich, 6-ciu inżynierskich (AGH) oraz promotorem pomocniczym jednej rozprawy doktorskiej (AGH). Dr Dariusz Latowski może poszczycić się również działalnością popularyzującą naukę wśród młodzieży licealnej i gimnazjalnej, dla której przygotował cykl wykładów z zakresu biochemii i biotechnologii. Wygłosił też wykład na zaproszenie organizatorów Światowego Forum Mediów Polonijnych. Znacząca jest również i warta podkreślenia aktywność Kandydata na płaszczyźnie organizacyjnej. Był on sekretarzem Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin w latach 2007-2009, a także brał udział w organizacji dwóch konferencji: IV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin w Krakowie w 2009 r oraz 16th International Symposium on Carotenoids, w Krakowie w 2011.

Moim zdaniem, całokształt aktywności dr Dariusza Latowskiego, jego niezwykła pracowitość, a w szczególności zaangażowanie w badania naukowe, pozwala stwierdzić, że jest on w pełni samodzielnym, wysokiej klasy pracownikiem naukowym.

4. Wniosek końcowy

Oryginalny dorobek naukowy i rozprawa habilitacyjna dr Dariusza Latowskiego niewątpliwie spełniają warunki określone w art. 14 i 15 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r (Dz. U. Nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Prace Habilitanta wniosły do nauki nowe dane dotyczące molekularnego mechanizmu cyklu ksantofilowego u roślin wyższych i glonów i spotkały się z szerokim oddźwiękiem w międzynarodowym środowisku naukowym. Rozprawa habilitacyjna dr Latowskiego demonstrowa znakomity warsztat naukowy, doskonałą znajomość

zaawansowanych technik biochemicznych i biofizycznych oraz samodzielność naukową Kandydata. Bardzo wysoko oceniając dorobek naukowy i rozprawę habilitacyjną dr Dariusza Latowskiego oraz jego działalność dydaktyczną i organizacyjną wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie dr Dariusza Latowskiego do kolokwium habilitacyjnego.



Dr hab. Anna Wiśniewska-Becker