



Prof. dr hab. Grzegorz Jackowski
Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Zakład Fizjologii Roślin
Ul. Umultowska 89
61-614 Poznań

Poznań, 26 listopada 2013r.

**Ocena dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej dr Dariusza Latowskiego,
adiunkta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie**

Przebieg studiów i kariery zawodowej

Pan dr Dariusz Latowski studiował w latach 1992-1997 na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierunek: biologia, specjalność: biochemia). Studia zakończył uzyskując w 1997r. tytułu zawodowy magistra biologii w oparciu o pracę magisterską wykonaną w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisława Więckowskiego. Bezpośrednio po zakończeniu studiów magisterskich został słuchaczem Międzynarodowych Studiów Doktoranckich Biochemia-Biofizyka przy Instytucie Biologii Molekularnej UJ jako podopieczny prof. dr hab. Kazimierza Strzałki. Pod jego kierunkiem ukończył (2003) studia doktoranckie obroniwszy pracę doktorską dotyczącą molekularnych aspektów cyklu ksantofilowego. Już w trakcie studiów doktoranckich rozpoczął pracę zawodową wykonując przez kilka miesięcy (1998-1999) obowiązki asystenta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ. Wkrótce potem (2001), wciąż pozostając uczestnikiem studiów doktoranckich został asystentem w Katedrze Chemii Akademii Pedagogicznej w Krakowie, aby - po uzyskaniu stopnia naukowego doktora - awansować na stanowisko adiunkta w tej samej Katedrze. Pozostawał związany z nią do 2007r., od pewnego momentu dodatkowo wykonując obowiązki wykładowcy (2003-2007) w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Tarnowie. Po krótkim okresie pracy w charakterze adiunkta w Katedrze Biochemii Akademii Pedagogicznej (2007-2009) w Krakowie został zatrudniony (2009) jako adiunkt w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ i w tej jednostce pozostaje zatrudniony do dziś.

Dane ogólne dotyczące dorobku naukowego zgromadzonego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

W okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (2003) Pan dr Dariusz Latowski został współautorem 23 oryginalnych prac badawczych w zdecydowanej większości wydrukowane w czasopiśmie znajdujących się na liście A Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, 6 prac przeglądowych a także dwóch rozdziałów w książkach. Łączna wartość współczynnika IF wszystkich

publikacji wydrukowanych w okresie podoktorskim wynosi 47,455 co przekłada się na 344 punkty „ministerialne”. Indeks Hirscha na dzień 23.04.2013 wynosił 12.

Habilitant ma na swoim koncie także 49 komunikatów zjazdowych zaprezentowanych w okresie podoktorskim w formie ustnej lub plakatowej w trakcie krajowych i zagranicznych zjazdów naukowych.

Rozprawa habilitacyjna, która ma formę monografii zatytułowanej „Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego” zawiera niektóre wyniki zawarte w pięciu opublikowanych wcześniej oryginalnych pracach badawczych oraz dane wchodzące w skład jednej pracy przeglądowej a ponadto obejmuje pewną liczbę danych eksperymentalnych wcześniej nie publikowanych. Zatem ta część dorobku naukowego dr Latowskiego która nie została włączona do rozprawy habilitacyjnej obejmuje 18 oryginalnych prac badawczych, 5 prac przeglądowych oraz dwa rozdziały w książkach.

Ocena dorobku naukowego dr Dariusza Latowskiego

Zainteresowania naukowe dr Latowskiego są dość rozległe; problematykę wokół której skupiły się jego publikacje należy określić jako heterogenną, choć wśród prac opublikowanych w okresie po uzyskaniu stopnia doktorskiego, nie włączonych do rozprawy habilitacyjnej (przypomnijmy że dr Latowski ma na swoim koncie 25 takich publikacji, w tym 18 oryginalnych prac badawczych, 5 prac przeglądowych i dwa rozdziały w książkach) dość wyraźnie dominują takie, których problematyka pozostaje w kręgu zagadnień związanych z funkcjonowaniem cyklu ksantofilowego ze szczególnym uwzględnieniem roli lipidów oraz funkcjonowaniem cyklu ksantofilowego w zmiennych warunkach środowiskowych. Spośród publikacji należących do tego kręgu na szczególne zainteresowanie w mojej opinii zasługują trzy pozycje.

1) Schaller S. i wsp., Regulation of LHCII aggregation by different thylakoid lipids, Biochim. Biophys. Acta 1807: 326-335 (2011).

Publikacja ta zawiera interesujące i mające charakter nowości naukowej dane odnoszące się do wpływu otoczenia lipidowego na makroorganizację strukturalną LHCII. W badaniach używano preparatu LHCII całkowicie pozbawionego komponenty lipidowej, wyizolowanego przez kationo-zależną agregację upłynnionych tylakoidów szpinaku. Preparaty LHCII inkubowano *in vitro* w obecności różnych lipidów (w formie metanolowych roztworów) i określano wpływ obecności lipidów na makroorganizację LHCII poprzez kombinację kilku podejść metodycznych a mianowicie analiz niskotemperaturowej emisji fluorescencji chlorofilu *a*, spektroskopii skorelowanych fotonów oraz ultrawiórowania w gradiencie sacharozowym. Wyniki przeprowadzonych analiz dowodzą, iż inkubacja odtłuszczonego preparatu LHCII w obecności galaktolipidów (MGDG, DGDG) prowadzi do niewielkich zmian w makroorganizacji LHCII polegających na stabilizacji agregatów a nawet podwyższeniu stopnia agregacji trimerów LHCII. Z kolei lipidy anionowe (PG i SQDG) modyfikowały makroorganizację LHCII w znaczącym stopniu poprzez efektywną dezagregację trimerów LHCII czego produktem były cząstki LHCII o znacząco zmniejszonym rozmiarach. Wyniki dotyczące wpływu MGDG a zwłaszcza DGDG na organizację strukturalną mają bardzo istotne znaczenie w świetle wcześniejszych doniesień (pochodzących z innych pracowni) wskazujących na istotną rolę DGDG jako czynnika promującego agregację LHCII *in vivo*. Według akceptowanych przez znaczną część (choć nie wszystkich) badaczy zajmujących się wyjaśnianiem mechanizmu wytwarzania qE i NPQ w antenach energetycznych PSII agregacja LHCII jest *in vivo* kluczową zmianą konformacyjną uruchamiającą scenariusz wydarzeń prowadzących do wytworzenia NPQ w odpowiedzi np. na ekspozycję roślin na światło o

podwyższonym natężeniu. Wyniki zawarte w opiniowanej publikacji przybliżają nas do momentu pełnego rozumienia molekularnych podstaw agregacji LHCII i generowania NPQ *in vivo* i roli indywidualnych lipidów w tych zjawiskach.

- 2) Schaller S. i wsp., **The main thylakoid membrane lipid MGDG promotes the de-epoxidation of violaxanthin associated with the light-harvesting complex of photosystem II**, *Biochim. Biophys. Acta* 1797: 414-424 (2010)

W tej publikacji zawarte zostały wyniki doświadczeń zmierzających do wyjaśnienia wpływu lipidów na deepoksydację wiolaksantyny wbudowanej w LHCII a nie obecnej w wolnej chemicznie formie w roztworze inkubacyjnym (tak jak to wcześniej robiło wielu autorów, w tym także Dr Latowski i jego współpracownicy w eksperymentach opisanych w rozprawie habilitacyjnej). Autorzy omawianej publikacji izolowali i oczyszczali preparaty LHCII różniące się składem lipidowym i analizowali kinetykę deepoksydacji wiolaksantyny zawartej w tych preparatach w obecności egzogennej deepoksydazy wiolaksantynowej. Ustalono, że zawartość wiolaksantyny w preparatach LHCII pozostaje w ścisłej korelacji z poziomem MGDG obecnego w tych preparatach co wskazuje na to, że wiolaksantyna jest częściowo wbudowana w fazę MGDG otaczającą cząstki LHCII a częściowo pozostaje związana z apobiałkami LHCII. Deepoksydacja wiolaksantyny okazała się najefektywniejsza w preparatach LHCII zawierającą znaczną ilość MGDG lub w preparatach o niskiej zawartości MGDG o ile przed testem enzymatycznym preparat LHCII uzupełniono egzogennym MGDG. Uzyskane wyniki wskazują zatem na istotną rolę jaką odgrywa *in vivo* MGDG w procesie deepoksydacji wiolaksantyny, także poprzez upłynnianie tego epoksyksantofilu w domenach wzbogaconych w MGDG reprezentującym odwrócone struktury heksagonalne. System eksperymentalny zastosowany w omawianej publikacji może, drogą modyfikacji zostać zastosowany do badania mechanizmów deepoksydacji puli wiolaksantyny wbudowanej w cząstki innych niż LHCII peryferycznych anten energetycznych PSII co byłoby znaczącym wkładem w wielką debatę tyżącą pochodzenia cząsteczek wiolaksantyny deepoksydowanych w warunkach ekspozycji na światło o podwyższonym natężeniu.

- 3) Misra AN i wsp., **The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress**, *Russ. J. Plant Physiol.* 53: 102-109 (2006)

Publikacja zawiera wyniki badań zmierzających do wyjaśnienia w jakim stopniu efektywność deepoksydacji wiolaksantyny w różnych warunkach oświetleniowych może być modulowana w odpowiedzi na ekspozycję na zasolenie podłoża u dwóch gatunków roślin różniących się wrażliwością na zasolenie. Uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku gatunku wrażliwego na zasolenie (fasolą) światło o niskim natężeniu może być uznane za sygnał uruchamiający reakcję fotoprotekcyjną na zasolenie podłoża (kilkakrotny wzrost poziomu deepoksydacji wiolaksantyny), której kontynuacją jest dalsza deepoksydacja obserwowana w warunkach ekspozycji na światło o podwyższonym natężeniu. Tego rodzaju reakcji nie obserwowano w przypadku odpornej na zasolenie kapusty.

Poza publikacjami których tematyka pozostaje w kręgu zagadnień związanych z cyklem ksantofilowym (trzy wyżej omówione publikacje należą do tej grupy) dorobek naukowy dr Latowskiego obejmuje także prace odnoszące się do szeregu innych obszarów badawczych, takich jak wpływ abiotycznych czynników stresowych na aktywność reduktazy ferredoksyna:NADP, mechanizmy kumulacji jonów Zn^{2+} w śluzowcu *Fuligo spetica* czy wpływ karotenoidów na zachowanie się podwójnych warstw fosfatydylocholinowych.

Nie miałem możliwości szczegółowego zapoznania się z całym dorobkiem naukowym Habilitanta bo dokumentacja jaką otrzymałem obejmowała – z nieznanego mi powodu – wydruki tylko części prac składających się na ten dorobek; treść pozostałych prac udało mi się poznać poprzez lekturę streszczeń, dostępnych w internecie.

Podsumowując stwierdzam, że rozpoznanie dorobku naukowego dr Latowskiego pozwala na wystawienie mu wysokiej oceny.

Podstawą do takiej opinii jest fakt, że dorobek ma znaczny ciężar gatunkowy co jest odzwierciedleniem okoliczności, że prace zawierają w większości duży ładunek nowości naukowej i wnoszą istotny wkład w rozwój biologii i biochemii i że zostały opublikowane w znaczącej części w bardzo dobrych czasopismach, po zaakceptowaniu do druku przez wymagających recenzentów. Na podkreślenie zasługuje też umiejętność dr Latowskiego wchodzenia w długoterminową współpracę z innymi ośrodkami badawczymi skutkującą wspólnymi publikacjami w renomowanych czasopismach oraz jego aktywność jako wykonawcy projektów naukowych (natomiast szkoda, że dr Latowski jeszcze nigdy nie występował w roli kierownika projektu badawczego). Pozytywnie oceniam także fakt że w okresie po uzyskaniu stopnia doktorskiego dr Latowski prezentował wiele komunikatów na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych traktując to bowiem jako wyraz gotowości do dyskusji wyników swoich prac w szerokich gronach uczestników konferencji.

Ocena rozprawy habilitacyjnej dr Dariusza Latowskiego „Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego”

Opiniowana rozprawa ma formę monografii obejmującej 142 strony tekstu, włączając spis piśmiennictwa (313 pozycji) oraz 56 rycin. Według informacji załączonej na odwrocie strony tytułowej rozprawa zawiera wybrane wyniki z sześciu prac opublikowanych w latach 2004-2011 a także dane eksperymentalne wcześniej nie publikowane.

Rozprawę otwiera krótki rozdział zatytułowany „Tematyka i układ pracy” w którym znajdujemy wyjaśnienia odnoszące się do tematu rozprawy i jej struktury wewnętrznej.

Trzy kolejne rozdziały (numery 2-4) zapoznają czytelnika w dość skrótowy sposób (razem obejmują tylko 21 stron druku) ze stanem zaawansowania badań nad cyklem ksantofilowym i funkcjonującymi w literaturze światowej poglądami na temat jego przebiegu (rozdział 2), funkcji (rozdział 3) oraz enzymatyki (rozdział 4). O ile rozdział 2 („Cykl ksantofilowy i jego charakterystyka”) oceniam jako bardzo przejrzyste i przekonująco (choć lakonicznie) przedstawiony zestaw podstawowych informacji o poszczególnych rodzajach cyklu ksantofilowego (cykl wiolaksantynowy, cykl epoksyluteinowy oraz cykl diadinoksantynowy) i ich rozpowszechnieniu wśród taksonów roślin wyższych i glonów o tyle lektura dwóch dalszych rozdziałów („Postulowane funkcje cyklu ksantofilowego” – rozdział 3 oraz „Enzymy cyklu ksantofilowego” – rozdział 4) budzi znacznie bardziej krytyczne refleksje. Jedną z poważniejszych wad tych rozdziałów jest to, że omawiane w nich wyniki prac eksperymentalnych oraz ich interpretacje oparte są na publikacjach pochodzących często z dość odległej przeszłości podczas gdy publikacje najnowsze są cytowane bardzo rzadko. Zdecydowana większość cytowań odnosi się do publikacji z lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych ubiegłego stulecia a np. przedział czasowy 2009 – 2012 (rozumiem, że rozprawa była pisana w latach 2012-2013) jest reprezentowany przez słownie jedną (!) publikację. Oczywiście stwierdzenie tego faktu nie stanowiłoby samo w sobie zarzutu jeśli ostatnie lata nie przyniosłyby nowych danych

5

literaturowych, istotnych dla stanu wiedzy w obszarach omawianych w rozdziałach 2-4 albo jeśli cytowania prac pochodzących z lat bardzo odległych od współczesności odnosiłyby się tylko do publikacji klasycznych, od których rozpoczęła się historia badań nad cyklem ksantofilowym. A zatem cytowania klasycznych prac Sapożnikowa z lat sześćdziesiątych ubiegłego stulecia (odkrycie światłozależnej konwersji wiolaksantyna-zeaksantyna) które znajdujemy w omawianych rozdziałach są oczywiście w pełni uzasadnione. Problem tkwi jednak w tym, że w odniesieniu do pewnych obszarów badawczych - posiadających mniej lub bardziej bezpośrednie odniesienia do cyklu ksantofilowego - w obrębie których ostatnie lata przyniosły zupełnie nowe wyniki, co doprowadziło się do pojawienia się nowych poglądów i interpretacji, Habilitant jakby nie zauważa tego faktu i wspiera omawianie także tych obszarów starszymi publikacjami. Zapewne najbardziej spektakularnym przykładem (oczywiście w sensie negatywnym) tego typu postępowania jest podrozdział 3.3 w ramach którego Habilitant omawia poglądy badaczy według których jedną z możliwych funkcji cyklu ksantofilowego jest jego udział w recepcji światła niebieskiego polegający na wykorzystaniu zeaksantyny jako receptora światła niebieskiego który uruchomiłby szlaki sygnałne prowadzące do takich efektów fizjologicznych jak otwieranie aparatów szparkowych, ruchy chloroplastów czy reakcja fototropijna. Otóż omawiając te poglądy Habilitant sięga do prac pochodzących niemal wyłącznie z lat dziewięćdziesiątych i nie wspomina ani jednym słowem, że według aktualnej wiedzy funkcję receptora światła niebieskiego w wyżej wymienionych procesach pełni nie zeaksantyna ale fototropina, białko związane z mononukleotydem flawinowym (FMN) będącym właściwym receptorem, które w odpowiedzi na recepcję przez FMN kwantów światła niebieskiego ulega autofosforylacji co prowadzi do uruchomienia kaskady sygnałnej kończącej się efektem fizjologicznym. Ten pogląd, od dawna przez nikogo nie podważany ukształtował się już w latach 2001-2002, po opublikowaniu serii przełomowych prac w których wykorzystywano różne organizmy modelowe, wśród nich *Arabidopsis* i *Chlamydomonas*. Kiepskiego obrazu podrozdziału 3.3 dopełnia fakt, iż jest on w niewielkim tylko stopniu zmienioną, polskojęzyczną wersją jednego z podrozdziałów anglojęzycznej pracy Latowski i wsp., 2004, wymienionej przez Habilitanta jako jednej z sześciu prac z których zaczerpnięto dane do rozprawy habilitacyjnej (ale żeby było zupełnie dziwnie Habilitant w podrozdziale 3.3 nie cytuje publikacji Latowski i wsp., 2004). Z kolei w podrozdziale 3.2 Habilitant pisze o innej roli jaką przypisuje się cyklowi ksantofilowemu a mianowicie o udziale zeaksantyny w wygaszaniu tlenu singletowego generowanego w obrębie peryferycznych anten energetycznych PSII i odwołuje się do bardzo starej pracy przeglądowej: Krinsky (1979!) w której opisano raczej pośrednie dane eksperymentalne podczas gdy w ostatnich kilku latach bardzo elegancko i w sposób bezpośredni, stosując współczesne podejścia eksperymentalne potwierdzono istotną rolę zeaksantyny w wygaszaniu tlenu singletowego w antenach energetycznych PSII (np. Dall'Osto i wsp, 2007, Alboresi i wsp., 2012). Omawiając (podrozdział 3.1) podstawową funkcję cyklu ksantofilowego jaką jest bez wątpienia działanie fotoprotekcyjne poprzez generowanie qE w formie niefotochemicznego wygaszania fluorescencji (NPQ) w warunkach ekspozycji na światło o wysokim natężeniu Habilitant pomija niezwykle istotną w historii nauki publikację Li i wsp. 2005 w której opisano strukturę krystaliczną LHCII szpinaku i zaproponowano bardzo przekonujący model mechanizmu generowania NPQ w LHCII należący do grupy tzw. modeli konformacyjnych, uwzględniający zależność NPQ od cyklu ksantofilowego. Niedocenianie przez Habilitanta konieczności odwoływania się do nowszych danych literaturowych doprowadziła także do tego, że opisując (podrozdział 3.1) potencjalną rolę białka PsbS w wytwarzaniu NPQ dr Latowski zarysował stan wiedzy

w tym obszarze odpowiadający okresowi 2000-2001 podczas gdy w przedziale 2005-2009 opublikowano kilka ważnych prac wskazujących na kluczowe znaczenie białka PSbS dla wytwarzania NPQ i ścisłe współdziałanie w zakresie wytwarzania NPQ między PsbS i zeaksantyną jako produktem cyklu ksantofilowego (np. Holt i wsp., 2005, Barros i wsp., 2009).

Jeśli do powyższych uwag krytycznych dodam, że rozdziały 2-4 opracowano w sposób zdradzający pewną niestaranność redakcyjną wyrażającą się np. odwoływaniem się przez Habilitanta do prac które nie zostały umieszczone w spisie literatury (np. Grzyb i wsp., 2006 – cytowana na str. 29 i 30 ale nieobecna w bibliografii względnie inne publikacje nieobecne w bibliografii: Gruszecki 2010 – cytowana na str. 20, Arvidsson i wsp., 1997 – cytowana na str. 30, Yamamoto i Kamite – cytowana na str. 12) to wyłania się z tego obraz zmuszający recenzenta do dość krytycznej oceny tej części rozprawy dr Łatowskiego.

Kolejny rozdział rozprawy (numer 5) stanowi zestawienie materiałów i metod zastosowanych przy wykonywaniu eksperymentów których wyniki relacjonuje rozprawa. Ten rozdział oceniam pozytywnie – jest napisany jasno i kompetentnie a zastosowane metody nie budzą większych zastrzeżeń co do nowoczesności i adekwatności do celów badawczych.

Dwa kolejne rozdziały rozprawy (numer 6 i 7) opisują wyniki najważniejszych eksperymentów z elementami dyskusji na tle literatury światowej. Na wstępie wypada zauważyć, że tekst omawianych rozdziałów pozostaje w dość zagadkowej relacji do sześciu publikacji z których według Habilitanta wybrano pewne wyniki i umieszczono je w rozprawie wraz z danymi wcześniej nie publikowanymi. Otóż w tekście omawianych rozdziałów (i szerzej – w całym tekście rozprawy) Habilitant odwołuje się tylko do jednej z tych sześciu prac (Łatowski i wsp., 2004) podczas gdy pozostałych pięć w ogóle nie figuruje w bibliografii do opiniowanej rozprawy habilitacyjnej. Dzieje się tak mimo iż zarówno pisząc główny tekst rozprawy jak i projektując ilustracje i legendy do nich Autor rzeczywiście w znacznym stopniu korzystał z wyników zawartych we wszystkich sześciu publikacjach.

Tak czy inaczej omawiane rozdziały rozprawy zawierają liczne doniesienia o charakterze nowości naukowej, których ważność dla rozwoju badań nad cyklem ksantofilowym potwierdza fakt ich wcześniejszego opublikowania w większości w renomowanych czasopismach - często cytowanych przez inne czasopisma - czego odzwierciedleniem są wysokie (w większości przypadków) wartości współczynników IF. Za najważniejsze spośród osiągnięć naukowych zawartych w rozprawie uważam udowodnienie za pomocą odpowiednich testów enzymatycznych, że oczyszczone preparaty zarówno deepoksydazy wiolaksantynowej (z liści szpinaku lub pszenicy) jak i deepoksydazy diadinoksyantynowej (z okrzemki *Cyclotella meneghiniana*) wykazują aktywność katalityczną *in vitro* tylko w obecności lipidów formujących tzw. odwrócone struktury heksagonalne, tzn. MGDG i PE oraz wykazanie za pomocą spektroskopii skorelowanych fotonów i mikroskopii elektronowej że w układach *in vitro* zastosowanych przez Habilitanta do analizy aktywności obydwu epoksydaz MGDG formuje struktury które rzeczywiście mogą być interpretowane jako odwrócone struktury heksagonalne. Ważność tych osiągnięć podkreśla dodatkowo fakt, że w momencie ich publikowania (2004-2005) rozmijały się zasadniczo z powszechnie wówczas akceptowanymi poglądami, wynikającymi z prac grupy Yamamoto, iż niezbędność MGDG dla obu aktywności epoksydacyjnych *in vitro* wynika z formowania przez MGDG w roztworze wodnym konwencjonalnych micelli zamykających wiolaksantynę lub diadinoksyantynę w swoim wnętrzu. Bardzo przekonująco brzmią rozważania Habilitanta sugerujące iż wszystkie, rozsiane w literaturze światowej doniesienia pokazujące możliwość rejestracji pewnej aktywności enzymatycznej obu deepoksydaz w układach nie zawierających lipidów formujących odwrócone struktury heksagonalne mają charakter artefaktów

7
wynikających z nieintencjonalnego wprowadzania do układów *in vitro* MGDG w formie zanieczyszczeń preparatów lipidów lub zanieczyszczeń preparatów badanych deepoksydaz. W połączeniu z licznymi danymi obecnymi w literaturze światowej, wskazującymi na istnienie w błonach tylakoidowych domen wzbogaconych w odwrócone struktury heksagonalne można z dużym prawdopodobieństwem zakładać, że rola tych struktur dotyczy także sytuacji *in vivo* a więc ma bezpośrednie odniesienie do funkcjonowania cyklu ksantofilowego w chloroplastach wszystkich organizmów zdolnych do jego przeprowadzania.

Bardzo ważne, noszące znamiona nowości naukowej i dlatego istotne dla rozwoju wiedzy o cyklu ksantofilowym, są w mojej opinii także doniesienia odnoszące się do znaczenia dla przebiegu deepoksydacji dynamiki molekularnej lipidów budujących odwrócone struktury, grubości warstwy hydrofobowej oraz dezagregacji substratów reakcji (epoksyksantofili). Co się tyczy znaczenia dynamiki molekularnej lipidów to w oparciu o wyniki przedstawione w rozprawie Habilitant zauważa, że można by postawić tezę iż zmniejszanie dynamiki molekularnej lipidów wchodzących w skład odwróconych struktur heksagonalnych (poprzez selekcję takich lipidów które zawierają reszty acylowe o niewielkim stopniu nienasycenia) prowadzi do przyspieszenia tempa deepoksydacji. Jednocześnie Habilitant wyraża przekonanie – któremu trudno odmówić słuszności – iż uwzględniając wyniki pochodzące z innych laboratoriów należy raczej mówić o tym, że określona deepoksydaza posiada pewien optymalny dla aktywności katalitycznej poziom dynamiki molekularnej lipidowych odwróconych struktur heksagonalnych na położenie którego to optimum poza stopniem nienasycenia reszt acylowych wpływają także inne czynniki, takie jak np. odpowiedni sposób zakotwiczenia deepoksydazy we frakcji lipidowej. Habilitant dowiódł też iż istotny wpływ na szybkość deepoksydacji ma grubość warstwy hydrofobowej struktur odwróconych i że także w tym przypadku zależność szybkości epoksydacji od grubości warstwy nie ma prostego charakteru (im cieńsza warstwa hydrofobowa tym wolniejsza epoksydacja) lecz może zależeć od różnych czynników związanych pośrednio z grubością warstwy hydrofobowej, np. stopniem jej krzywizny oraz właściwościami samej deepoksydazy. Rozprawa zawiera ponadto dowody eksperymentalne wspierające tezę iż jakkolwiek lipidy wchodzące w skład odwróconych struktur heksagonalnych wspomagają aktywność katalityczną deepoksydaz po prostu poprzez odwracanie agregacji wiolaksantyny/diadinoksantyny to o szybkości deepoksydacji decyduje zapewne kompleksowa charakterystyka właściwości funkcjonalnych odwróconych struktur heksagonalnych a zdolność lipidów do rozagregowywania epoksyksantofili jest tylko jednym z elementów tej charakterystyki. Habilitant opisuje ponadto wyniki wskazujące na istotną rolę wielkości elementarnej struktury heksagonalnej (= średnicy pojedynczej micelli odwróconej) dla szybkości deepoksydacji (im większa struktura elementarna tym wolniejsza deepoksydacja) jednak to osiągnięcie wydaje się nie być już tak przekonujące z uwagi na kontrowersyjny, zdaniem recenzenta model eksperymentalny jaki został zastosowany do testowania znaczenia wielkości struktury elementarnej.

Na uwagę zasługuje też ta część wyników zawartych w opiniowanej rozprawie habilitacyjnej która dotyczy ujawniania nowych właściwości katalitycznych epoksydazy zeaksantynowej. Opierając się analizie wpływu jonów kadmowych i cynkowych na przebieg akumulacji barwników cyklu ksantofilowego *in vivo* w komórkach rzęsy trójrowkowej w różnych warunkach oświetleniowych Habilitant formułuje tezę o kluczowej roli grupy/grup tiolowej/tiolowych cysteiny w cząsteczce epoksydazy zeaksantynowej dla szybkości reakcji epoksydacji zeaksantyny co wydaje się uzasadnioną i relatywnie nową informacją. Z kolei doświadczenia nad działaniem różnych aminocukrów na

akumulację barwników cyklu ksantofilowego u rzęsy trójrowkowej prowadzą Habilitanta do częściowego potwierdzenia prawdziwości dotąd hipotetycznego modelu przebiegu epoksydacji zeaksantyny (Bouvier i wsp., 1996) zakładającego, że metabolitem pośrednim powstającym przy przejściu zeaksantyna/anteraksantyna jest karbokation ksantofilu. Zarówno opinia co do roli reszty cysteiny jak i przejściowego powstawania karbokationu ksantofilu wydają się dobrze uzasadnione eksperymentalnie ale sugestię, że aktywna katalitycznie jest reszta cysteiny zlokalizowana w domenie SCR1 epoksydazy zeaksantynowej należy przy braku „twardych” dowodów eksperymentalnych (a takim byłaby np. ukierunkowana mutageniza) uznać za spekulacyjną.

Niestety rozdziały 6 i 7 nie są wolne także od poważnych uchybień. Podobnie jak w przypadku rozdziałów wstępnych rozprawy Habilitant wybitnie rzadko cytuje w toku dyskusji swoich wyników prace innych autorów pochodzące z lat 2008-2012, zdecydowanie dominują natomiast publikacje z lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych. Ponadto niestaranna praca redakcyjna dała o sobie znać także w przypadku tych dwóch rozdziałów – znowu znajdujemy w tekście odwołania do publikacji których nie ma w spisie literatury (np. Latowski i Strzałka, 2006, str. 56, Salier, 2000 – str. 75, Pinto i wsp., 2004 – str. 84, itd, itd.). Niektóre wyniki eksperymentów opisanych w omawianych rozdziałach zostały przedstawiona na kilku ilustracjach – np. aktywność katalityczna deepoksydazy wiolaksantynowej *in vitro* w obecności MGDG jako jedynego lipidu została pokazana w tabeli 6.1, na rysunku 6.9 oraz po raz trzeci na rysunku. 6.19. Są i inne przykłady tego typu. Zdaniem recenzenta można było poprzez wybranie innej koncepcji zawartości ilustracji uniknąć prezentacji tych samych wyników w kilku miejscach rozprawy.

W ostatnim rozdziale rozprawy (numer 8) Habilitant krótko podsumowuje swoje wyniki na tle światowej literatury wskazując na elementy nowości naukowej w tych wynikach zawarte. Ten rozdział został opracowany dobrze, Habilitant nieco częściej odwołuje się do nowszych publikacji innych autorów.

Podsumowując: rozprawę habilitacyjną dr Latowskiego oceniam pozytywnie z uwagi na wskazane powyżej nowe dane eksperymentalne wnoszące istotny wkład w gmach wiedzy o cyklu ksantofilowym i jego enzymatykę. Jednocześnie jednak wyrażam opinię, iż w związku z licznymi niedoskonałościami polegającymi przede wszystkim na

- ↓ odwoływaniu się przez Habilitanta głównie do publikacji pochodzących sprzed kilkunastu a nawet dwudziestu i więcej lat, co w niektórych przypadkach skutkuje ewidentną nieaktualnością linii wyводу naukowego,
- ↓ niestaranności pracy redakcyjnej

ocena rozprawy choć pozytywna – nie jest wysoka.

Ocena dokonań dydaktycznych i organizacyjnych dr Dariusza Latowskiego

Dr Dariusz Latowski ma na swoim koncie poważne dokonania dydaktyczne wyrażające się:

- ✓ kierowaniem wieloma (w sumie ponad osiemdziesięcioma) pracami inżynierskimi, licencjackimi i magisterskimi na trzech uczelniach krakowskich (Uniwersytet Jagielloński, AGH, Uniwersytet Pedagogiczny) oraz Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Tarnowie
- ✓ prowadzeniem szerokiego wachlarza zajęć dla studentów UJ, UP i PWSZ obejmującego wykłady, konwersatoria i ćwiczenia z takich przedmiotów jak biochemia, podstawy biochemii,



- biochemia i biologia, biotechnologia, chemiczne podstawy biotechnologii przemysłowej ,
mikrobiologia oraz budowa molekularna organizmów żywych z elementami biotechnologii
✓ opracowaniem nowych materiałów dydaktycznych na seminaria licencjackie oraz ćwiczenia laboratoryjne do niektórych przedmiotów

9

Z kolei co się tyczy aktywności w sferze organizacyjnej należy wspomnieć o pełnieniu przez Habilitanta przez jedną kadencję bardzo absorbującej funkcji sekretarza Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (2007-2009), o udziale w pracach Komitetu Organizacyjnego IV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (Kraków, 2009) i Komitetu Organizacyjnego 16 Międzynarodowego Sympozjum na temat karotenoidów (Kraków, 2011) a także przygotowaniu i wygłoszeniu zestawu wykładów adresowanych do uczniów liceów i gimnazjów tarnowskich oraz uczestników Światowego Forum Mediów Polonijnych (Tarnów, 2012).

Podsumowując, oceniam pozytywnie warstwę dydaktyczną oraz organizacyjną aktywności zawodowej dr Dariusza Latowskiego.

Konkluzja

Konkludując, po szczegółowej analizie treści przedstawionej do recenzji rozprawy habilitacyjnej (wstrzemięźliwa ocena pozytywna), dorobku naukowego (wysoka ocena), dydaktycznego i organizacyjnego (ocena pozytywna), działając na podstawie art. 16 i 17, rozdział 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki uznaję, że elementy te spełniają wymogi formalne określone we wspomnianych przepisach i wnioskuję niniejszym o dopuszczenie dr Dariusza Latowskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.