

Dariusz Latowski
Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin WBBiB UJ
ul. Gronostajowa 7,
30-387 Kraków
e-mail: dariuszlatowski@gmail.com

Autoreferat

I. STUDIA MAGISTERSKIE

Jestem absolwentem biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W czasie studiów swoje zainteresowania naukowe rozwijałem najpierw pod opieką pani prof. dr hab. Barbary Gumińskiej, a od czwartego roku studiów w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin, pod opieką pana prof. dr hab. Stanisława Więckowskiego, promotora mojej pracy magisterskiej. Tytuł magistra biologii w zakresie biochemii otrzymałem w roku 1997. Studia ukończyłem z wyróżnieniem, uzyskując średnią z wszystkich ocen 4,87.

II. STUDIA DOKTORANCKIE

Po ukończeniu studiów magisterskich rozpocząłem Międzynarodowe Studia Doktoranckie Biochemia-Biofizyka przy Instytucie Biologii Molekularnej UJ (obecnie Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii (WBBiB)). Opiekunem mojej pracy doktorskiej, a później jej promotorem był pan prof. dr hab. Kazimierz Strzałka. Rozpoczynając studia doktoranckie rozpocząłem też badania nad cyklem ksantofilowym, zwanym też cyklem wiolaksantynowym, w którym pod wpływem światła wiolaksantyna poprzez produkt pośredni anteraksantynę, przekształcana jest w zeaksantynę. Przemiany te są odwracane po usunięciu intensywnego światła [1, 2, RH: 11-13*]. Efektem prowadzonych badań była rozprawa doktorska zatytułowana „Molekularne aspekty reakcji cyklu ksantofilowego w układach modelowych i naturalnych”. Do najważniejszych osiągnięć związanych z badaniami cyklu ksantofilowego w ramach pracy doktorskiej mogę zaliczyć:

1. opracowanie liposomowego układu do badań kinetyki reakcji deepoksydacji wiolaksantyny i anteraksantyny;

Opracowany układ liposomowy oprócz wiolaksantyny opiera się na fosfatydylocholinie (PC) i monogalaktozydylacyloglicerolu (MGDG). Jest układem z jednej strony bardziej przypominającym układy naturalne niż stosowany wcześniej i mniej zdefiniowany układ zawierający, jako jedyny lipid, MGDG a z drugiej strony stanowi optymalne środowisko do różnorodnych badań nad deepoksydacją

* RH- rozprawa habilitacyjna Latowski D. „Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego” 2013

epoksyksantofili, umożliwiając np. swobodną, w pewnym zakresie, manipulację proporcjami PC do MGDG [3].

2. udowodnienie, że w opracowanym układzie MGDG tworzy odwrócone micle i postawienie hipotezy, że ich obecność jest warunkiem koniecznym do przebiegu deepoksydacji;

3. opracowanie matematycznego modelu cyklu ksantofilowego i jego weryfikację z danymi uzyskanymi eksperymentalnie w modelowych układach lipidowych i naturalnych (*Lemna trisulca* L.) [4];

4. wykazanie, że deepoksydacja wiolaksantyny jest wolniejszym i bardziej zależnym od temperatury etapem reakcji niż deepoksydacja anteraksantyny [3, 4];

5. wykazanie, że epoksydacja zeaksantyny jest procesem znacznie wolniejszym od deepoksydacji wiolaksantyny, ale podobnie jak w deepoksydacji drugi, tj. końcowy, etap reakcji jest mniej zależnym od temperatury niż etap pierwszy.

Otrzymane w czasie przygotowywania rozprawy doktorskiej wyniki zostały opublikowane w 6 pracach eksperymentalnych [3-8] i kilkunastu komunikatach zjazdowych z konferencji krajowych i zagranicznych.

W czasie studiów doktoranckich prowadziłem też zajęcia dydaktyczne z biochemii dla studentów biologii, aktywnie uczestniczyłem w planowaniu obecnej siedziby WBBiB w szczególności odpowiadając za projekt pracowni wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Przez pół roku, na przełomie lat 1998-1999, byłem też zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ, w ramach zastępstwa.

Pod koniec studiów doktoranckich nawiązałem współpracę z prof. Hansem-Erikiem Åkerlundem z Uniwersytetem w Lund (Szwecja). Byłem dwukrotnym laureatem stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców, stypendystą Funduszu im. Stanisława Estreichera i Londyńskiego Towarzystwa Biochemicznego.

Od roku 2001 rozpocząłem pracę na stanowisku asystenta w Katedrze Chemii Akademii Pedagogicznej (obecnie Uniwersytetu Pedagogicznego) w Krakowie.

Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii uzyskałem 4 marca 2003 roku na Wydziale Biotechnologii (obecnie WBBiB) UJ. Na wniosek recenzentów, praca została uznana za wyróżniającą.

III. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

III. a) działalność naukowa w ramach przygotowywania rozprawy habilitacyjnej

Po ukończeniu studiów doktoranckich kontynuowałem badania związane z cyklem ksantofilowym skupiając się już nie tylko na typowym i najbardziej powszechnym cyklu wiolaksantynowym, ale też na innej odmianie cyklu ksantofilowego, zwanej cyklem diadinoksantynowym, w którym pod

wpływem światła, odwracalnej deepoksydacji ulega monoepoksyd, diadinoksantyna. Barwnik ten przekształcany jest do diatoksantyny, a reakcję katalizuje enzym określany, jako deepoksydaza diadinoksantynowa (DDE) [9, RH: 14-15*].

Pierwsza grupa badań obejmowała doświadczenia, które miały na celu weryfikację słuszności postawionej wcześniej, w wyniku własnych eksperymentów hipotezy, że w procesie deepoksydacji kluczową rolę odgrywają struktury odwrócone.

Od roku 1974 wiadomym było, że w układzie *in vitro* dla zapewnienia optymalnych warunków dla aktywności deepoksydazy wiolaksantynowej (VDE) niezbędna jest obecność MGDG [10; 11], głównego lipidu błon tylakoidów. Późniejsze badania wykazały, że również DDE wymaga tego lipidu do uzyskania optymalnej aktywności [12, 13]. Fakt ten, aż do 2004 roku tłumaczono tym, że MGDG tworzy micelle, zamykające w swoim wnętrzu wiolaksantynę, czy diadinoksantynę powodując tym samym dezagregację barwnika i czyniąc go dostępnym dla enzymu. W takim wyjaśnieniu roli MGDG nie uzasadniono szczególnego znaczenia tego właśnie lipidu w stosunku do innych badanych, które okazały się mniej skuteczne w zapewnieniu aktywności deepoksydazy lub nie zapewniały jej wcale [11]. Pominęto również ważny, moim zdaniem fakt, że zarówno wartość krytycznego parametru upakowania cząsteczki MGDG [14], jej kształt i stopień hydratacji [15], przemawiają za tym, że lipid ten nie tworzy w roztworze wodnym opisywanych przez Yamamoto miceli, ale tzw. struktury odwrócone, które mogą być sferyczne – i wówczas zwane są odwróconymi micelami, lub cylindryczne – i wówczas noszą nazwę odwróconych struktur heksagonalnych (H_{II}) [16-21]. Obecność takich lipidowych struktur odwróconych wykazano już wcześniej zarówno w układach naturalnych, np. błonach tylakoidów, jak i w modelowych błonach liposomowych [3, 8, 22-24].

Szczególne role MGDG w aktywacji obu wspomnianych typów deepoksydaz mogła zatem mieć swoje uzasadnienie w tworzeniu przez ten lipid struktur odwróconych, ale nie można też wykluczyć, że znaczenie tego lipidu w przebiegu deepoksydacji jest wynikiem obecności w jego cząsteczce reszty cukrowej. Pełne poznanie roli MGDG w procesie deepoksydacji wiolaksantyny i diadinoksantyny było jednym z celów badań opisanych w rozprawie habilitacyjnej. Realizowałem go przez wybór dwóch typów lipidów:

jeden to lipidy lamellarne, tworzące w układach wodnych liposomy;

drugi to lipidy nielamellarne, tworzące w układach wodnych struktury odwrócone.

Wśród lipidów lamellarnych wybrałem taki, który zawiera resztę cukrową (digalaktozylodiacylglicerol, DGDG) i taki który jest fosfolipidem (PC), podobnie wśród lipidów nielamellarnych jednym był glikolipid, MGDG, a drugim fosfatydyloetanolamina (PE) z różnymi resztami acylowymi.

Otrzymane wyniki jednoznacznie wykazały, że obie badane deepoksydazy wykazują aktywność jeżeli w układzie obecne są lipidy nielamellarne. W przypadku VDE wobec PE uzyskiwałem nawet

* RH- rozprawa habilitacyjna Latowski D. "Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego" 2013

wyższą aktywność niż w obecności MGDG. Pierwsze wyniki z tego zakresu badań zostały opublikowane w *Biochemistry* w dziale *New Concepts*, a publikacja ta zwróciła uwagę Amerykańskiego Towarzystwa Chemicznego (American Chemical Society), które w jednym ze swoich biuletynów „Chemical & Engineering News” zamieściło pozytywną informację na jej temat (załącznik 1; <http://pubs.acs.org/cen/news/8214/8214membrane.html>) [25, RH: 53-60*].

Dalsze badania w tym zakresie wykazały, że:

1. w obecności PE z różnymi resztami acylowymi aktywność VDE jest zasadniczo większa niż aktywność DDE [26, RH: 60-62*]

Świadczyć to może o innym mechanizmie oddziaływania DDE z błoną tylakoidów, gdzie zachodzi deepoksydacja, niż w przypadku VDE. Obecnie przyjmuje się trzy koncepcje tłumaczące oddziaływanie VDE z błoną tylakoidów (nie ma propozycji oddziaływania DDE z błoną tylakoidów).

Jedna zakłada udział reszt Glu leżących w C-końcowej domenie VDE [27- 29], druga mówi o współdziałaniu w tym wiązaniu także czterech leżących blisko siebie reszt His [30, 31], a trzecia uwzględnia możliwość, że oddziaływanie VDE z błoną nie musi polegać na bezpośredniej interakcji z lipidami błonowymi żadnej z omawianych wyżej reszt aminokwasów, ale może być wynikiem niezbędnych zmian konformacyjnych w strukturze enzymu spowodowanych wzajemnym oddziaływaniem reszt His i reszt Glu [31].

W świetle powyższych koncepcji, zaobserwowane w wyniku własnych badań różnice w zależności aktywności deepoksydaz od stosowanych lipidów sugerują, że oddziaływania VDE i DDE z odwróconymi strukturami lipidowymi wydają się opierać na różnych mechanizmach. Możliwe, że w efektywnym oddziaływaniu DDE ze strukturami lipidowymi reszty galaktozy odgrywają istotniejszą rolę niż w przypadku interakcji VDE. Poza obserwowanymi różnicami przemawiałyby za tym następujące fakty:

- podczas, gdy w C-końcowej domenie VDE aminokwasy obdarzone ładunkiem stanowią 47% wszystkich tworzących tę domenę aminokwasów, a reszty Glu to 25%, to w przypadku DDE w obrębie tej domeny nie ma aminokwasów obdarzonych ładunkiem [32];

- MGDG, jak i PE charakteryzują się dużą i podobną zdolnością tworzenia wiązań wodorowych pomiędzy swoimi polarnymi grupami, a także z grupami będącymi donorami bądź akceptorami wodoru [15].

Biorąc pod uwagę fakt, że VDE charakteryzuje się wysoką zawartością dodatnio naładowanych aminokwasów, które szczególnie przy niższych wartościach pH mogą pełnić funkcje wydajnych donorów wodorów, nie można wykluczyć, że wspomniane właściwości MGDG i PE mogą odgrywać istotną rolę w przyłączaniu VDE i DDE do stworzonych przez te lipidy struktur [27; 29]. Z drugiej strony mimo, iż VDE w C-końcowej domenie, posiada znacznie większy udział dodatnio naładowanych aminokwasów, to i tak wiąże się do MGDG ponad 30 razy łatwiej niż do PE [33]. Można by zatem

* RH- rozprawa habilitacyjna Latowski D. "Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego" 2013

uznać, że reszty galaktozy obecne w cząsteczce MGDG pełnią rolę dodatkowego punktu orientacyjnego dla deepoksydaz, zwiększając wydajność interakcji tych enzymów z błoną, ale nie są niezbędne do wystąpienia tej interakcji i przebiegu reakcji.

2. szybkość deepoksydacji nie zwiększa się wraz ze wzrostem dynamiki molekularnej dwuwarstwy struktur odwróconych, co świadczy, o tym że dla deepoksydacji występuje pewne optimum dynamiki molekularnej warstwy hydrofobowej, które potencjalnie związane jest z:

interakcją struktury lipidowej z enzymem (np. zapewniając optymalny stopień zanurzenia enzymu we frakcji lipidowej);

rozmiarem elementarnej miceli struktur odwróconych;

zapewnieniem optymalnej orientacji substratu dla enzymu lub ruchliwości substratu [26, RH: 71-73*]

3. grubość warstwy hydrofobowej struktur odwróconych wywiera istotniejszy wpływ na szybkość reakcji deepoksydacji wiolaksantyny niż diadinoksantyny

Różną grubość warstwy hydrofobowej uzyskałem w tych badaniach przez zastosowanie dwóch syntetycznych PE. Jedna zawierała dwie reszty kwasu oleinowego (C18, PE_{ol}) a druga reszty kwasu palmitoolienowego (C16, PE_{opal}). Zmniejszenie grubości warstwy hydrofobowej struktur odwróconych w przypadku VDE wywierało zdecydowanie wyraźniejszy wpływ na szybkość pierwszego etapu reakcji niż drugiego. Deepoksydacja wiolaksantyny w obecności PE_{opal} zachodziła dwa razy wolniej niż w przypadku PE_{ol}, podczas gdy szybkość przekształcania anteraksantyny w zeaksantynę w przypadku obu lipidów była zbliżona i tylko nieznacznie wyższa w obecności PE_{ol}. W przypadku deepoksydacji diadinoksantyny występuje tylko jeden etap reakcji, a szybkość przekształcania diadinoksantyny w diatoksantynę w obecności dwóch stosowanych lipidów była tylko nieznacznie mniejsza w strukturach o mniejszej grubości warstwy hydrofobowej.

Porównując wpływ grubości warstwy hydrofobowej na deepoksydację wiolaksantyny i diadinoksantyny należy uwzględnić strukturę substratu. Wiolaksantyna jest dieepoksydem i lokalizuje się w błonie w płaszczyźnie prostopadłej do jej powierzchni pod pewnym kątem zależnym od rodzaju stosowanego lipidu [35-36]. I tak np. dla MGDG cząsteczki wiolaksantyny odchylają się od płaszczyzny prostopadłej do dwuwarstwy o ponad 35°, a w przypadku DGDG o 28°. Dla zeaksantyny, która pozbawiona jest obu grup epoksydowych wartości tych kątów są już zdecydowanie mniejsze i wynoszą odpowiednio 16,69° w obecności MGDG i 8,72° w DGDG. Wskazuje to na znaczny udział grup epoksydowych w orientacji cząsteczek ksantofili w warstwie hydrofobowej.

Przytoczone dane wskazują, że niezależnie od typu dwuwarstwy i rodzaju tworzących ją lipidów epoksyksantofile odchylają się od płaszczyzny prostopadłej do dwuwarstwy o kąt większy niż ich deepoksydowe pochodne.

Grubość dwuwarstwy hydrofobowej badanych struktur z pewnością inaczej wpływa na ułożenie diepoksydu jakim jest wiolaksantyna, a inaczej na lokalizację monoepoksydu, diadinoksantyny, który oprócz braku jednego ugrupowania epoksydowego, dodatkowo ze względu na jedno wiązanie potrójne w miejscu podwójnego u wiolaksantyny, ma krótszą cząsteczkę. W świetle przedstawionych danych można przypuszczać, że w strukturach lipidowych obecnych w mieszaninie reakcyjnej cząsteczki wiolaksantyny i diadinoksantyny układają się w warstwach hydrofobowych tych struktur odmiennie a wartości kątów odchylenia tych barwników od płaszczyzny prostopadłej do warstwy lipidowej w strukturach zbudowanych z PE_{opal} i PE_{ol} są różne. Biorąc pod uwagę budowę deepoksydazy, ułożenie cząsteczek epoksyksantofili w warstwach hydrofobowych może odgrywać kluczową rolę w szybkości reakcji deepoksydacji. Popiera to również fakt, że zgodnie z obecnym stanem wiedzy, centrum aktywne deepoksydazy jest zagłębieniem liczącym około 40 Å, a substrat musi wnikać do niego na stosunkowo dużą głębokość [11, 37]. Kąt, pod jakim układa się cząsteczka epoksyksantofilu w błonie, z pewnością wywiera istotny wpływ na szybkość, wydajność, a być może również na samą możliwość wnikania substratu do centrum aktywnego deepoksydazy, która też oddziałując z błoną, lokalizuje swoje centrum aktywne pod określonym kątem do powierzchni błony. Zatem wzajemna właściwa orientacja cząsteczki substratu w warstwie hydrofobowej i przylącanego do tej warstwy enzymu wydają się być kluczowe w przebiegu reakcji [26, RH: 73-75*].

4. im większa średnica elementarnej miceli struktur odwróconych, tym wolniejszy przebieg reakcji, tym więcej czasu potrzeba na powstanie interakcji substrat – enzym

Zwiększając średnicę miceli elementarnej struktur odwróconych zaobserwowałem, że wraz z jej wzrostem zmniejsza się szybkość deepoksydacji. Obserwacja ta dotyczyła zarówno VDE jak i DDE. W przypadku VDE, gdzie reakcja zachodzi dwuetapowo, zwiększanie średnicy miceli elementarnej miało znacznie większy wpływ na obniżenie szybkości deepoksydacji wiolaksantyny niż anteraksantyny i było zdecydowanie etapem limitującym cały proces. Bardzo podobne spadki aktywności wraz ze wzrostem średnicy obserwowałem w przypadku deepoksydacji diadinoksantyny do diatoksantyny. Można zatem wnioskować, że wzrost średnicy jednostek elementarnych wydłuża drogę i tym samym czas dyfuzji epoksyksantofili do VDE i DDE. Krótka droga to szybka deepoksydacja, droga dłuższa spowolni szczególnie pierwszy etap reakcji, zależny od czasu zetknięcia się substratu z enzymem [26, RH: 76-81*].

5. substraty deepoksydacji znacznie łatwiej ulegają dezagregacji w lipidach nielamellarnych (MGDG, PE) niż w lamellarnych (DGDG, PC)

Zaobserwowałem, że zarówno wiolaksantyna, jak i diadinoksantyny ulegają dezagregacji przy znacznie mniejszych stężeniach lipidów tworzących struktury odwrócone, niż stężenia lipidów tworzących liposomy. W celu sprawdzenia, czy rola MGDG i PE w deepoksydacji nie sprowadza się właśnie do dezagregacji barwników (a nie tworzenia struktur odwróconych) porównałem aktywność VDE i DDE stosując takie stężenia wszystkich badanych lipidów, przy których obserwowałem całkowitą dezagregację barwników. Dobłą korelację między dezagregacją barwników a aktywnością enzymów zaobserwowałem jedynie dla lipidów nielamellarnych (MGDG i PE). W przypadku lipidów tworzących liposomy (DGDG i PC) nawet w obecności takich ich stężeń, które zapewniały całkowitą dezagregację barwników aktywność enzymu była znikoma lub nie obserwowałem jej wcale. Wynik ten zaprzecza przypuszczeniu, że lipidy tworzące struktury odwrócone zapewniają deepoksydację jedynie przez ułatwienie rozagregowywania barwników. Chociaż rzeczywiście ich rola w tym procesie jest niekwestionowana, to w samej biochemii mechanizmu deepoksydacji poza ułatwianiem rozpuszczania barwników i tym samym ich dostępu do enzymu, lipidy te zapewniają istnienie struktur, które są też niezbędne w przebiegu samego procesu katalizy enzymatycznej deepoksydacji [38, RH: 81-88*].

Prezentowana powyżej część eksperymentów nad cyklem ksantofilowym pozwoliła na wprowadzenie badanych deepoksydaz, które są aktualnie jedynymi znanymi deepoksydazami cykli ksantofilowych, do grona kilku znanych enzymów, których aktywność regulowana jest przez lipidy nielamellarne.

Druga grupa badań, których wyniki objęte zostały rozprawą habilitacyjną to eksperymenty związane z dokładniejszym poznaniem drugiej grupy enzymów cyklu ksantofilowego – epoksydaz. Do tej pory nie znana jest metoda izolacji tych enzymów, stąd wszystkie doświadczenia były doświadczeniami *in vivo*. Przeprowadzone w tym zakresie badania pozwoliły na:

1. stwierdzenie, że do przebiegu epoksydacji zeaksantyny nie jest potrzebny gradient protonowy i nie hamuje on tego procesu, w przeciwieństwie do epoksydacji diatoksantyny, gdzie gradient protonowy hamował aktywność epoksydazy diatoksantynowej (DE) [39, 40].

Powyższe stwierdzenie sugeruje różne mechanizmy regulacji aktywności epoksydazy zeaksantynowej (ZE) i DE.

2. stwierdzenie że kadm jest inhibitorem epoksydazy zeaksantynowej roślin wyższych (ZE) a hamowanie to jest odwracalne przez cynk i związane z obecnością w konserwatywnym motywie, tzw. SCR1, reszty Cys [41, RH: 91-98*];

3. sformułowanie hipotezy, że jedną z trzech zidentyfikowanych epoksydaz w cyklu dadinoksantynowym jest epoksydaza oznaczona, jako ZEP2

W okrzemkach, gdzie występuje cykl diadinokstynowy obserwowano hamowanie epoksydacji jonami kadmu [42]. Nie podano jednak żadnego mechanizmu tego zjawiska. Na podstawie własnych wyników dotyczących badań nad ZE wnioskuję, że i w przypadku okrzemek, za hamowanie odpowiedzialna jest interakcja kadmu z resztami Cys. Jedynie gen ZEP2 posiada w ramach konserwatywnej domeny reszty Cys. Leżą one stosunkowo blisko reszt innych aminokwasów, których udział w aktywności enzymu sugerują na podstawie streszczonych poniżej badań [RH: 91-98*].

4. odkrycie, że aminocukry hamują epoksydację zeaksantyny i potwierdzenie proponowanego przez Bouvier'a i wsp. [43] mechanizmu epoksydacji zeaksantyny z powstaniem karbokationu [44]

5. sformułowanie hipotezy, że w mechanizmie epoksydacji katalizowanej zarówno przez ZE, jak i DE istotna jest następująca sekwencja reszt aminokwasowych TrpXXLys(Arg) leżąca w konserwatywnym motywie (SCR1)

Taka sekwencja powtarza się w motywie SCR1 wszystkich znanych epoksydaz. Przeprowadzone w ramach rozprawy habilitacyjnej badania wykazały, że jeżeli w pobliżu tego motywu znajduje się reszta Cys, wówczas obserwowałem odwracalne jonami cynku, hamowanie aktywności enzymu. W proponowanym przez Bouvier'a [43] mechanizmie epoksydacji powstający karbokation oddziałuje z resztami aminokwasów nukleofilowych w centrum aktywnym. Takim mechanizmem można też tłumaczyć hamowanie epoksydacji przez aminocukry. Aminokwasami nukleofilowymi są Arg, His i Lys. W większości znanych epoksydaz po bardzo konserwatywnej, dla niemal wszystkich lipo kalin, reszcie Trp występuje reszta Lys u innych Arg.

Obecnie uczestniczę w badaniach mających na celu wersyfikację postawionych hipotez.

Podsumowaniem wszystkich opisanych powyżej doświadczeń jest propozycja molekularnego mechanizmu cyklu ksantofilowego zaprezentowana w ostatnim rozdziale monografii habilitacyjnej [RH*].

Znaczna część omówionych wcześniej eksperymentów została przeprowadzona we współpracy z Instytutem Botaniki Uniwersytetu w Lipsku. Pracujący tam zespół posiada duże doświadczenie w hodowli glonów, w tym okrzemek, które były źródłem DDE i diadinoksantyny. Dzięki

* RH- rozprawa habilitacyjna Latowski D. "Molekularny mechanizm cyklu ksantofilowego" 2013

zainteresowaniu pracującego tam prof. Gossa moimi planami związanymi ze sprawdzeniem roli MGDG i struktur odwróconych w molekularnym mechanizmie cyklu ksantofilowego, w roku 2004 rozpoczęła się nasza trwająca do dzisiaj współpraca.

Efektem tej współpracy są 3 projekty badawcze, 9 publikacji i ponad 20 komunikatów zjazdowych.

Do rozprawy habilitacyjnej włączyłem dwie z tych prac [38, 26].

W skład rozprawy wchodzi jeszcze trzy inne prace eksperymentalne [3, 41, 44] i jedna praca przeglądowa [45] ukazująca stan wiedzy na temat cyklu ksantofilowego jeszcze przed uzyskaniem wyników otrzymanych podczas badań opisanych w rozprawie, a ciesząca się dużym powodzeniem o czym zostałem poinformowany przez Wydawnictwo (załącznik 2).

III. b) działalność naukowa nie objęta rozprawą habilitacyjną

Poza badaniami związanymi z przygotowaniem rozprawy habilitacyjnej prowadziłem też inne badania dotyczące np.:

1. wpływu MGDG na deepoksydację wiolaksantyny *in vivo*, w aspekcie jej uwalniania z kompleksów LHCII

W badaniach tych potwierdzono, że deepoksydacja wiołaksantyny *in vivo* jest zależna od MGDG i zachodzi w obrębie bogatych w ten lipid domen błonowych [46]

2. wpływu lipidów tylakoidowych na organizację kompleksu barwnikowo-białkowego LHCII,

W efekcie tych badań wykazano, że MGDG i DGDG wspierają agregację kompleksu, podczas gdy lipidy naładowane ujemnie, jak sulfolipid (SQDG) czy fosfatydyloglicerol przyczyniają się do wyraźnej dezagregacji wyizolowanego LHCII [47]

3. analizy porównawczej aktywności deepoksydazy wiołaksantynowej z *Mantoniella squamata* i szpinaku w obecności LHC izolowanych z obu tych gatunków.

Otrzymane wyniki wykazały znaczną rolę kompleksów barwnikowo-białkowych w kinetyce reakcji deepoksydacji *in vitro* [48]

4. porównanie wpływu zasolenia na przebieg cyklu ksantofilowego u niewrażliwej na stres solny *Brassica oleracea* i wrażliwej *Phaseolus vulgaris*

Wykazano, że zasolenie ma znacznie mniejszy wpływ na funkcjonowanie cyklu ksantofilowego w *B. oleracea* niż w *P. vulgaris*, co podkreśla fizjologiczne znaczenie cyklu ksantofilowego w prawidłowym funkcjonowaniu roślin [49]

5. opracowania układu do badań epoksydacji zeaksantyny, pozwalającego na prowadzenie badań tej reakcji w wyizolowanych tylakoidach i z egzogennym substratem [50]

6. poznania mechanizmów kumulacji cynku w śluzowcu *Fuligo septica* wykazując, że najprawdopodobniej za kumulację tą odpowiedzialny jest jeden z głównych barwników tego śluzowca, tj. fuligorubina A [51].

Obecnie moje zainteresowania badawcze skupiają się na badaniach transgenicznej deepoksydazy wiolaksantynowej, analizie porównawczej deepoksydaz diadinoksantynowych i epoksydaz diatoksantynowych i co z tym związane na uzyskaniu ekspresji tych enzymów w bakteriach. Prowadzę też badania wpływu temperatury na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego okrzemek. Uczestniczę też w projekcie obejmującym badania czynników stresowych takich jak zasolenie, czy obecność patogenów na przebieg cyklu ksantofilowego (wiolaksantynowego).

IV. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA DZIAŁALNOŚCI NAUKOWEJ W LICZBACH

IV. a) publikacje i komunikaty konferencyjne

Do tej pory opublikowałem 39 prac, w tym 6 o charakterze przeglądowym. Jestem też autorem 2 rozdziałów w książce i ponad 70 komunikatów z konferencji krajowych i zagranicznych. Sumaryczny impact factor wszystkich publikacji wynosi nieco ponad 58. Sumaryczna liczba punktów zgodnie z wykazem punktacji czasopism, opublikowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 756. Suma cytowań odczytana z bazy Web of Science dnia 23 kwietnia 2013 wynosi 491. Szczegółowa charakterystyka znajduje się w załączonym *Wykazie Publikacji*

IV. b) udział w projektach badawczych

- przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. Molekularne aspekty mechanizmu reakcji cyklu ksantofilowego w układach modelowych i naturalnych – grant promotorski KBN nr 3 P04A 07321 – główny wykonawca – zakończony w 2002 roku;

2. Rola chinonów i karotenoidów w molekularnych mechanizmach adaptacyjnych i obronnych błon fotosyntetycznych w warunkach stresu oksydacyjnego – grant KBN nr. 6 P04A 028 19 – wykonawca – zakończony w 2003 roku;

-po uzyskaniu stopnia doktora:

3 (1). Mechanizmy orientacyjnych ruchów chloroplastów w roślinach wyższych i ich regulacja – grant KBN nr PB320/PO4 2003/25 – wykonawca – 2003 – 2006;

4 (2). Lipid dependence of the xanthophyll de-epoxidases of the algae *Mantoniella squamata* and *Cyclotella meneghiniana* – grant German Academic Exchange Service (DAAD) nr D/03/44638) – wykonawca – 2004 – 2005;

5 (3). Molekularne mechanizmy adaptacyjne i obronne przed stresem oksydacyjnym w roślinach – rola barwników fotosyntetycznych i lipidów prenylowych – grant KBN nr 2 P04A 063 28 – wykonawca – 2005 – 2008;

6 (4). Zastosowanie modelowych układów błonowych w badaniach interakcji lipidowo-białkowych w błonach tylakoidów roślin wyższych i glonu *Mantoniella squamata* Projekt specjalny międzynarodowy MNiSzW i DFG, nr 50/N-DFG/2007/0 – wykonawca – 2007 – 2010;

7 (5). Remobilizacja Pb w środowisku w wyniku rozpuszczania piromorfitu $Pb_5(PO_4)_3Cl$ w obecności bakterii – grant KBN, nr N N307 101535 – główny wykonawca – 2008 – 2011

8 (6). Rola witaminy E i barwników cyklu ksantofilowego w reakcji roślin na stres solny – grant MNiSW, nr N N310 298639 – wykonawca – 2010 – 2013;

9 (7). Mechanizmy odpornościowe i sygnałne indukowane u fakultatywnego halofita *Mesembryanthemum crystallinum* w odpowiedzi na zasolenie i stres biotyczny - projekt niewspółfinansowany realizowany w ramach Akcji COST FA0901 nr 830/1/N-COST/2010/11 – wykonawca – 2011 – 2013;

10 (8). Specyficzne, molekularne wskaźniki lokalnej obecności człowieka w przeszłości. Kompleksowe badania paleoekologiczne późnholoceńskiego osadu z jeziora łańskiego (północno-wschodnia Polska) – projekt indywidualny finansowany przez NCN nr 2011/01/B/ST10/05006 – główny wykonawca – 2011 – 2014;

11 (9). Sztuczne błony, jako układy modelowe w badaniach molekularnych mechanizmów adaptacji okrzemek do zmiennych temperatur – projekt NCN międzynarodowy niewspółfinansowany na bazie polsko-niemieckiej umowy między Ministrem Edukacji i Nauki Rządu Rzeczypospolitej Polskiej, a Prezesem Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) - redaktor wniosku – 2011 – 2014

IV. c) recenzje naukowe

Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych:

1. Recenzja projektu badawczego Homing Plus na zlecenie Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (2012)

Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:

1. „Wszechświat” – recenzja dwóch artykułów (2008, 2009);

2. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics* – recenzja jednego artykułu (2010);

3. *Journal of Plant Physiology* – recenzja jednego artykułu (2010);

4. *African Journal of Microbiology Research* – recenzja jednego artykułu (2011);

5. *Journal of Biological Chemistry* – recenzja jednego artykułu (2011);

6. *Plant Physiology and Biochemistry* – recenzja jednego artykułu (2011);

7. *Photosynthetica* – recenzja jednego artykułu (2011);

8. *Acta Physiologiae Plantarum* – recenzja jednego artykułu (2012);

9. *Plant Cell Reports* – recenzja jednego artykułu (2012)

IV. d) staże zagraniczne

- przed uzyskaniem stopnia doktora:

2000 (5-miesięcy) pobyt w Department of Plant Biochemistry, Lund University, Sweden w ramach Stypendium Erasmus/Socrates,;

-po uzyskaniu stopnia doktora:

2004 (1 miesiąc) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DAAD);

2005 (1 miesiąc) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DAAD);

2008 (1 miesiąc) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DFG);

2008 (1 miesiąc) – staż naukowy w Department Plant Biochemistry, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Universitätsstr.1, D-40225 Düsseldorf, Germany

2010 (1 miesiąc) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DFG);

2010 (3 tygodnie) – staż naukowy w Department of Genetics, The Alexander Silberman Life Science Institute, The Hebrew University of Jerusalem, 91904, Jerusalem, Israel;

2011 (3 tygodnie) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DFG);

2012 (3 tygodnie) – staż naukowy w Biological Research Centre, Hungarian Academy of Science, Szeged, Hungary

2012 (1 miesiąc) – staż naukowy w Institute of Botanic, Leipzig University, Germany (w ramach projektu DFG)

V. DOROBK DYDAKTYCZNY, POPULARYZATORSKI I ORGANIZACYJNY na RZECZ NAUKI

Promotor prac inżynierskich:

4 (Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie);

Promotor prac licencjackich:

ok. 50 (Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Tarnowie);

6 (Uniwersytet Jagielloński);

Promotor prac magisterskich:

10 (Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie);

8 (Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie);

5 (Uniwersytet Jagielloński)

Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej: Testowanie biologicznych metod usuwania związków zawierających cyjanki oraz wymywania metali ciężkich z wód i osadów (Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie)

Prowadzone zajęcia dydaktyczne (wybrane):

Biochemia dla studentów biologii, biotechnologii (zajęcia laboratoryjne – Uniwersytet Jagielloński (dla studentów biologii na Uniwersytecie Pedagogicznym dodatkowo wykłady, koordynacja kursu));

Podstawy Biochemii dla studentów I-stopnia biochemii (zajęcia laboratoryjne, konwersatoria, wybrane wykłady – Uniwersytet Jagielloński);

Biochemia (25% wykładów dla studentów II-stopnia Chemii o specjalności chemia biologiczna);

Biochemia i biologia dla studentów I-stopnia Chemii stosowanej (wykłady i laboratoria, koordynacja kursu);

Biochemia dla studentów I-stopnia Ochrony Środowiska (wykłady i laboratoria, koordynacja kursu);

Biotechnologia w ochronie środowiska dla studentów I-stopnia Ochrony Środowiska (wykłady);

Chemiczne podstawy biotechnologii przemysłowej dla studentów I-stopnia Chemii stosowanej (wykłady i laboratoria, koordynacja kursu);

Mikrobiologia dla studentów I-stopnia Ochrony Środowiska (wykłady i laboratoria, koordynacja kursu);

Budowa molekularna organizmów żywych – wykłady na studiach podyplomowych z Biologii Molekularnej

z Elementami Biotechnologii – projekt współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Opracowanie zajęć dydaktycznych:

- wszystkie w/w wykłady;

- 25% konwersatoriów z Podstaw Biochemii dla studentów biochemii;

- zajęcia laboratoryjne z Biochemii i Mikrobiologii dla studentów studiów I-stopnia z Ochrony środowiska (PWSZ w Tarnowie, AGH) i z Biochemii i biologii dla studentów studiów I-stopnia Chemii Stosowanej (PWSZ w Tarnowie);

- opracowanie instrukcji na dwa zajęcia laboratoryjne z Biochemicznej analizy instrumentalnej dla studentów Chemii Biologicznej;

- opracowanie materiałów dydaktycznych (konspektów i tekstów naukowych) na seminaria licencjackie "Postęp w biologii eksperymentalnej roślin";

- modyfikacja czterech zajęć laboratoryjnych z Podstaw Biochemii dla studentów biochemii;

Działalność w zakresie popularyzacji nauki:

-przygotowanie cyklu wykładów dla uczniów liceum i gimnazjum z zakresu biochemii i biotechnologii w ramach tzw. Tarnowskich Piątków Chemicznych i Tarnowskich Piątków w Ochronie Środowiska

-wykład na zaproszenie organizatorów Światowego Forum Mediów Polonijnych – Tarnów 2012 „Małopolskie, krajowe i światowe standardy środowiskowe zapewniające zrównoważony rozwój. Rola młodzieży w światowym partnerstwie dla osiągnięcia zrównoważonego rozwoju”.

Inna działalność organizacyjna:

Sekretarz Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (2007 - 2009);

Członek Komitetu Organizacyjnego IV-Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin, Kraków 2009;

Członek Komitetu Organizacyjnego 16th International Symposium on Carotenoids, (XVI Międzynarodowego Sympozjum Karotenoidowego) Kraków 2011

VI. LITERATURA

- [1]. Sapozhnikov D.I., Krasnovskaya T.A., Maevskaya A.N. *Changes observed in the relation between the main carotenoids in the plastids of green leaves exposed to light*, "Dokl. Akad. Nauk. SSSR" 1957; **113**: 465–467
- [2]. Yamamoto H.Y., Nakayama T.O.M., Chichester C.O. *Studies on the light and dark interconversions of leaf xanthophylls*, "Arch. Biochem. Biophys." 1962; **97**: 168–173
- [3]. Latowski D., Kruk J., Burda K., Skrzynecka-Jaskier M., Kostecka-Gugała A., Strzałka K.: Kinetics of violaxanthin de-epoxidation by violaxanthin de-epoxidase, a xanthophyll cycle enzyme, is regulated by membrane fluidity in model lipid bilayers, "European Journal of Biochemistry" 2002; **269**: 4656–4665;
- [4]. Latowski D., Burda K., Strzałka K.: A mathematical model describing kinetics of conversion of violaxanthin to zeaxanthin via intermediate antheraxanthin by the xanthophyll cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase, "Journal of Theoretical Biology" 2000; **206**: 507–514;
- [5]. Latowski D., Kostecka A., Strzałka K.: Effect of monogalactosyldiacylglycerol and other thylakoid lipids on violaxanthin de-epoxidation in liposomes, "Biochemical Society Transactions" 2000; **28**: 812–814;
- [6]. Latowski D., Åkerlund H-E., Strzałka K.: Are galactolipids engaged in the molecular mechanism of the xanthophyll cycle?, *Advanced Research on Plant Lipids*, Kluwer Academic Publishers 2003: 393–396;
- [7]. Strzałka K., Latowski D., Burda K., Kostecka-Gugała A., Kruk J.: Involvement of membrane lipid fluidity in regulation of molecular mechanism of the xanthophyll cycle, *Advanced Research on Plant Lipids*, Kluwer Academic Publishers 2003: 357–360;
- [8]. Latowski D., Kostecka-Gugała A., Strzałka K.: Effect of temperature on violaxanthin de-epoxidation, the xanthophyll cycle reaction, in vivo and in model systems, "Russian Journal of Plant Physiology" 2003; **2**: 173–178;
- [9]. Stransky H., Hager A. *The carotenoid pattern and the occurrence of the light-induced xanthophyll cycle in various classes of algae. VI. Chemosystematic study*, "Arch. Microbiol." 1970; **73**: 315–323;
- [10]. Yamamoto H.Y., Chenchin E.E., Yamada D.K. *Proceedings of the 3-rd International Congress Photosynthesis*, red. Avron M., Amsterdam, "Elsevier Scientific" 1974: 1999–2006;
- [11]. Yamamoto H.Y., Higashi R.M. *Violaxanthin de-epoxidase. Lipid composition and substrate specificity*, "Biochim. Biophys. Acta" 1978; **190**: 514–522;
- [12]. Hager A., Holocher K. *Localization of the xanthophyll-cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase within the thylakoid lumen and abolition of its mobility by a (light-dependent) pH decrease*, "Planta" 1994; **192**: 581–589;

- [13]. Jakob T., Goss R., Wilhelm C. *Unusual pH-dependence of diadinoxanthin de-epoxidase activation causes chlororespiratory induced accumulation of diatoxanthin in the diatom Phaeodactylum tricornutum*, "J. Plant Physiol." 2001; **158**: 383–390;
- [14]. Israelachvili J.N., Mitchell D.J. *A model for the packing of lipids in bilayer membranes*, "Biochim. Biophys. Acta" 1975; **389**: 13–19;
- [15]. Sen A., Hui S.W. *Direct measurement of headgroup hydration of polar lipids in inverted micelles*, "Chem. Phys. Lipids" 1988; **49**: 179–184;
- [16]. Kreutz W. *X-ray structure research on the photosynthetic membrane*, "Adv. Bot. Res." 1970; **3**: 53–169;
- [17]. Shipley G.G., Green J.P., Nichols B.W. *The phase behavior of monogalactosyl, digalactosyl, and sulphaquinovosyl diglycerides*, "Biochim. Biophys. Acta" 1973; **311**: 531–544;
- [18]. Sen A., Williams W.P., Quinn P.J. *The structure and thermotropic properties of pure 1,2-diacylgalactosyldiglycerides in aqueous systems*, "Biochim. Biophys. Acta" 1981; **663**: 380–389;
- [19]. Verkleij A.J. *Lipidic intramembranous particles*, "Biochim. Biophys. Acta" 1984; **779**: 43–63;
- [20]. Hafez I.M., Cullis P.R. *Roles of lipid polymorphism in intracellular delivery*, "Adv. Drug Deliv." 2001; **47**: 139–148;
- [21]. Latowski D., Strzałka K. *Odwrocone struktury lipidowe i ich rola w procesach biologicznych*, "Kosmos" 2007; **56**(1–2): 247–275;
- [22]. De Kruijff B., Verkeley A.J., van Echteld C.J.A. i in. *The occurrence of lipidic particles in lipid bilayers as seen by 31P NMR and freeze-fracture microscopy*, "Biochim. Biophys. Acta" 1979; **555**: 200–209;
- [23]. Walde P., Giuliani A.M., Boicelli C.A. i in. *Phospholipid-based reverse micelles*, "Chem. Phys. Lipids" 1990; **53**: 265–288;
- [24]. Venetië R.V., Verkleij A.J. *Analysis of the hexagonal II phase and its relations to lipidic particles and the lamellar phase. A freeze-fracture study*, "Biochim. Biophys. Acta" 1981; **645**: 262–269;
- [25]. Latowski D., Åkerlund H.E., Strzałka K.: *Violaxanthin de-epoxidase, the xanthophyll cycle enzyme, requires lipid inverted hexagonal structures for its activity*, "Biochemistry" 2004; **43**: 4417–4420;
- [26]. Latowski D., Schaller S., Olchawa-Pajor M., Goss R., Strzałka K.: *Violaxanthin and diadinoxanthin cycles as an important photoprotective mechanism in photosynthesis*, "Russian Journal of Plant Physiology" 2011; **58**: 952–964;
- [27]. Bugos R.C., Yamamoto H.Y. *Molecular cloning of violaxanthin de-epoxidase from romaine lettuce and expression in Escherichia coli*, "Proc. Natl. Acad. Sci. USA" 1996; **93**: 6320–6325
- [28]. Hieber A.D., Bugos R.C., Verhoeven A.S. i in. *Overexpression of violaxanthin de-epoxidase: properties of C-terminal deletions on activity and pH-dependent lipid binding*, "Planta" 2002; **214**: 476–483.
- [29]. Hieber A.D., Bugos R.C., Yamamoto H.Y. *Plant lipocalins: violaxanthin de-epoxidase and zeaxanthin epoxidase*, "Biochim. Biophys. Acta" 2000; **1482**: 84–91;
- [30]. Emanuelsson A., Eskling M., Åkerlund H.E. *Chemical and mutational modification of histidines in violaxanthin de-epoxidase from Spinacia oleracea*, "Physiol. Plant." 2003; **84**: 218–224;
- [31]. Gisselsson A., Szilagyi A., Åkerlund H.E. *Role of histidines in the binding of violaxanthin de-epoxidase to thylakoid membrane as studied by site-directed mutagenesis*, "Physiol. Plant" 2004; **122**: 337–43;
- [32]. Coesel S., Oborník M., Varela J. i in. *Evolutionary Origins and Functions of the Carotenoid Biosynthetic Pathway in Marine Diatoms*, PLoS ONE. 2008; **3**(8): e2896 DOI: 10.1371/journal.pone.0002896;
- [33]. Rockholm D.C., Yamamoto H.Y. *Violaxanthin de-epoxidase*, "Plant Physiol." 1996; **110**: 697–703.
- [35]. Gruszecki W.I., Siewiesiuk J. *Galactolipid multibilayers modified with xanthophylls: orientational and diffractometric studies*, "Biochim. Biophys. Acta" 1991; **1069**: 21–26;
- [35]. Gruszecki W.I., Grudziński W., Banaszek-Glos A. i in. *Xanthophyll pigments in light-harvesting complex II in monomolecular layers: localisation, energy transfer and orientation*, "Biochim. Biophys. Acta" 1999; **1412**: 173–183 (a);
- [36]. Gruszecki W.I., Sujak A., Strzałka K. i in. *Organisation of xanthophyll-lipid membranes studied by means of specific pigment antisera, spectrophotometry and monomolecular layer technique lutein versus zeaxanthin*, "Z. Naturforsch. C" 1999; **54** (7–8): 517–525 (b);
- [37]. Charron J-B.F., Ouellet F., Pelletier M. i in. *Identification, expression, and evolutionary analyses of plant lipocalins*, "Plant Physiology" 2005; **139**: 2017–2028;
- [38]. Goss R., Lohr M., Latowski D., Grzyb J., Vieler A., Wilhelm Ch., Strzałka K.: *Role of hexagonal structure-forming lipids in diadinoxanthin and violaxanthin solubilization and de-epoxidation*, Biochemistry 2005; **44**: 4028–4036;
- [39]. Goss R., Ann Pinto E., Wilhelm C. i in. *The importance of a highly active and pH-regulated diatoxanthin epoxidase for the regulation of the PS II antenna function in diadinoxanthin cycle containing algae*, "J. Plant Physiol." 2006; **163**: 1008–1021;

- [40]. Mewes H., Richter M. *Supplementary ultraviolet-B radiation induces a rapid reversal of the diadinoxanthin cycle in the strong light-exposed diatom Phaeodactylum tricornutum*, "Plant Physiol." 2002; **130**: 1527–1535;
- [41]. Latowski D., Kruk J., Strzałka K.: Inhibition of zeaxanthin epoxidase activity by cadmium ions in higher plants, "Journal of Inorganic Biochemistry" 2005; **99**: 2081–2087;
- [42]. Bertrand M., Schoefs B., Šiffel P. i in. *Cadmium inhibits epoxidation of diatoxanthin to diadinoxanthin in the xanthophyll cycle of the marine diatom Phaeodactylum tricornutum*, "FEBS Lett." 2001; **508**: 153–156;
- [43]. Bouvier F., d'Harlingues A., Hugueney P. i in. *Xanthophyll biosynthesis: Cloning, expression, functional reconstitution, and regulation of β -Cycloxyenyl carotenoid epoxidase from pepper (Capsicum annuum)*, "J. Biol. Chem." 1996; **271**: 28861–28867;
- [44]. Latowski D., Banaś A.K., Strzałka K., Gabryś H.: Amino sugars – new inhibitors of zeaxanthin epoxidase, a violaxanthin cycle enzyme, "Journal of Plant Physiology" 2007; **164**: 231–237;
- [45]. Latowski D., Grzyb J., Strzałka K.: The xanthophyll cycle – molecular mechanism and physiological significance, "Acta Physiologiae Plantarum" 2004; **26**: 197–212;
- [46]. Schaller S., Latowski D., Jemioła-Rzemińska M., Wilhelm C., Strzałka K., Goss R. The main thylakoid membrane lipid monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) promotes the de-epoxidation of violaxanthin associated with the light-harvesting complex of photosystem II (LHCII), "Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics" 2010, **1797** (3): 414–424;
- [47]. Schaller S., Latowski D., Jemioła-Rzemińska M., Dawood A., Wilhelm C., Strzałka K., Goss R. Regulation of LHCII aggregation by different thylakoid membrane lipids, "Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics" 2011, **1807** (3): 326–335
- [48]. Schaller S., Latowski D., Jemioła-Rzemińska M., Quaas T., Wilhelm C., Strzałka K., Goss R. The investigation of violaxanthin de-epoxidation in the primitive green alga *Mantoniella squamata* (Prasinophyceae) indicates mechanistic differences in xanthophyll conversion to higher plants, "Phycologia" 2012, **51** (4): 359–370;
- [49]. Misra A. N., Latowski D., Strzałka K.: The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress, "Russian Journal of Plant Physiology" 2006, **53** (1): 102–105;
- [50]. Kuczynska P.; Latowski D.; Niczyporuk S.; Olchawa-Pajor M., Jahns P., Gruszecki W.I., Strzałka K. Zeaxanthin epoxidation - an in vitro approach, *Acta Biochimica Polonica* 2012 **59**: 105–107;
- [51]. Latowski D., Lesiak A., Jarosz-Krzemińska E., Strzałka K.: *Fuligo septica*, as a new model organism in studies on interaction between metal ions and living cells, "Metal Ions in Biology and Medicine" 2008, **10**: 204–209

Dariusz Latowski