

OCENA
pracy habilitacyjnej i dorobku naukowego
dr Dariusza Latowskiego

1. Ocena dorobku naukowego:

a. przed uzyskaniem stopnia doktora

Dr Dariusz Latowski w 1997 roku ukończył studia biologiczne w zakresie biochemii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ. Pracę magisterską napisał pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisława Więckowskiego w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin uzyskując dyplom z wyróżnieniem. W tym samym roku podjął studia doktoranckie jako uczestnik Międzynarodowego Studium Doktoranckiego Biochemia-Biofizyka przy Instytucie Biologii Molekularnej UJ. W trakcie studiów doktoranckich był zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ, oraz w katedrze Chemii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie. Zainteresowania naukowe Habilitanta w całym okresie jego pracy naukowej były jasno skryształizowane. W swoich publikacjach podejmuje tematykę skomplikowaną, a jednocześnie ważną i aktualną. Szczegółowa analiza Jego zainteresowań badawczych, objawiających się w opublikowanych pracach, pozwala także prześledzić ewolucję towarzyszącej mu idei badawczej. Zaprezentowany dorobek naukowy można ułożyć w zwartą i logiczną całość. Warto podkreślić jego spójność z rozwojem pokrewnych zagadnień w nauce światowej. W badaniach tych punktem wyjścia było zagadnienie funkcjonowania cyklu ksantofilowego w komórkach fotosyntetyzujących.

Dorobek naukowy dra Latowskiego wypracowany przed uzyskaniem stopnia doktora był oceniany w roku 2003 i dlatego omówię tylko skrótowo ten okres działalności naukowej, ograniczając się do wypunktowania jego zasadniczych kierunków. W tym okresie Habilitant koncentrował się na zagadnieniach związanych z układem liposomowym i badaniu kinetyki reakcji deepoksydacji elementów cyklu wiolaksantynowego: 1. udowodnił powstawanie odwróconych miceli MGDG, 2. opracował matematyczny model cyklu, który zweryfikował w systemie naturalnym, 3. dostarczył danych wskazujących na zróżnicowanie tempa deepoksydacji zeaksantyny i wiolaksantyny. W pracach swych opisał niektóre właściwości cyklu wiolaksantynowego, które weszły do literatury przedmiotu. Wiele wyników uzyskanych w tych eksperymentach znalazło odbicie w przygotowanej dysertacji doktorskiej. W roku 2003 obronił pracę doktorską pt. „Molekularne aspekty osiągnięć związanych z badaniami cyklu ksantofilowego w układach modelowych i naturalnych” przygotowaną pod

kierunkiem prof. dr hab. Kazimierza Strzałki. W omawianym okresie dr Latowski opublikował **jako pierwszy autor bądź współautor 6 prac oryginalnych z IF, 3 krótkie publikacje nieujęte na „liście filadelfijskiej” oraz 1 publikację przeglądową (sumaryczny IF 10,607)**, a także szereg polskich i zagranicznych komunikatów konferencyjnych. Uzyskane wyniki dały podstawę do rozwoju dalszych badań kontynuowanych do chwili obecnej. Zagadnienia te nie straciły na aktualności i były rozwijane przy zastosowaniu metod, które wcześniej nie były dostępne. W trakcie studiów doktoranckich uzyskał dwukrotnie stypendium FNP i Funduszu im. Stanisława Estreichera oraz Londyńskiego Towarzystwa Biochemicznego.

b. po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora w 2003 roku Habilitant podjął pracę na stanowisku adiunkta w Katedrze Chemii, a następnie w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie, gdzie pracował do 2009 roku. Od 2009 roku jest zatrudniony jako adiunkt w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin UJ. Ponadto od 2003 roku pracuje jako wykładowca w PWSZ w Tarnowie.

W tym okresie czasu dr Latowski kontynuował badania przedstawione we wcześniejszych w pracach poszerzając pole zainteresowań badawczych o nowe metody, a także o zagadnienia związane między innymi z cyklem diadinoksantynowym. Wyniki swe przedstawił w szeregu publikacji. **Oprócz prac będących podstawą pracy habilitacyjnej, opublikował 13 artykułów eksperymentalnych** w zagranicznych i w polskich czasopismach naukowych. Ponadto jest pierwszym autorem lub współautorem dalszych **3 prac przeglądowych** opublikowanych w polskich i zagranicznych i czasopismach z IF (sumaryczny IF=33,795). Wszystkie wymienione wyżej teksty napisane są w języku angielskim, a w trzech pracach jest **pierwszym autorem**. Na podkreślenie zasługuje fakt, że publikacje te przygotowane zostały **w zespołach składających się z niewielu badaczy**. Ponadto w tym okresie swojej działalności naukowej dr Latowski opublikował jak pierwszy autor bądź współautor **2 rozdziały książkowe** (jedna w wydawnictwie Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, a druga w wydawnictwie Springera) i 7 prac oryginalnych w czasopismach spoza listy filadelfijskiej. Rezultaty prac eksperymentalnych prezentował także podczas kilkudziesięciu krajowych i zagranicznych konferencji naukowych. Oba rozdziały książkowe i prace przeglądowe stanowią obok prac eksperymentalnych ważny element dorobku naukowego Habilitanta. Są one klarowne pod względem formy i odznaczają się wysokim poziomem merytorycznym oraz świadczą o dobrej znajomości literatury

przedmiotu. Odkrycia i opisane efekty zostały zauważone przez międzynarodową społeczność i zacytowane wg bazy WEB of Science do października 2013 roku 492 razy (h-indeks=12).

Do kluczowych osiągnięć Habilitanta opisanych w poszczególnych pracach eksperymentalnych należy doprecyzowanie roli MGDG w regulacji cyklu wiolaksantynowego i diadinoxantynowego. Dr Latowski opisał znaczenie powstawania tzw. miceli odwróconych i odwróconych struktur heksagonalnych, o których obecności wiedzieliśmy, ale nie zdawaliśmy sobie sprawy z ich fizjologicznego znaczenia dla funkcjonowania cyklu VAZ. W literaturze przedmiotu opisywano uprzednio jedynie obecność takich miceli w środowisku wodnym zarówno w układach naturalnych jak i modelowych błonach liposomowych. Obecnie wiemy, między innymi na podstawie badań przedstawionych w pracy Habilitanta opublikowanej w *Biochimica Biophysica Acta* (2011), że znaczenie MGDG dla przebiegu deepoksydacji polega między innymi na tworzeniu struktur odwróconych. Określenie roli MGDG Habilitant rozwiązywał w badaniach opublikowanych w *Biochimica Biophysica Acta* (2010) z lipidami lamellarnymi i nielamellarnymi i wykazał konieczną obecność lipidów nielamellarnych dla aktywności deepoksydaz. W pracy opublikowanej w *Russian Journal of Plant Physiology* (2006) przedstawił nowe dane dotyczące roli jonów Mg^{2+} i pH środowiska w regulacji reakcji deepoksydacji. Zaprezentował też zmiany w aparacie fotosyntetycznym w wyniku oddziaływania stresu solnego. Część badań poświęcił zróżnicowanej aktywności obu deepoksydaz oddziałujących z błonami tylakoidów. Badania Habilitanta wskazują na zaangażowanie reszt cukrowych w reakcjach katalizowanych przez oba enzymy. Wykazał także (*Phycologia* 1012), że obecność aminokwasów obdarzonych ładunkiem może w istotny sposób modyfikować właściwości tworzenia asocjacji deepoksydaz z MGDG i jednocześnie udowodnił, że nie są one niezbędne do przebiegu reakcji. Analiza struktury I rzędowej enzymów doprowadziła do wniosku sugerującego zróżnicowaną interakcję z MGDG. Przeprowadzone badania pozwoliły na przypisanie resztom cukrowym ważnej roli w stabilizacji enzymów w błonie, jak również na wskazanie zależności tempa reakcji od dynamiki molekularnej warstwy hydrofobowej. Badania te ponadto umożliwiły zaklasyfikowanie deepoksydaz do grupy białek enzymatycznych, których aktywność regulowana jest poprzez lipidy nielamellarne. Praca ta zapewne doczeka się wielu cytowań.

Całą serię badań dr Latowski poświęcił analizie wpływu grubości warstwy hydrofobowej na szybkość reakcji katalizowanych przez badane białka. Prace te dotyczyły zarówno cyklu wiolaksantynowego jak i diadinoxantynowego i doprowadziły do określenia stereometrycznego usytuowania substratu enzymów w błonie lipidowej oraz wskazały na

udział grup epoksydowych we wzajemnym zorientowaniu cząsteczek wchodzących w reakcje. W pracy opublikowanej w *Biophysical Chemistry* (2009) zaproponował ponadto usytuowanie barwników ksantofilowych typu *cis* i *trans* w membranach. Kolejne analizy wykazały, że średnica miceli ma zasadnicze znaczenie dla tempa przebiegu reakcji deepoksydacji i to zarówno w przypadku wiolaksantyny jak i diadinoksantyny. Autor wskazał na znaczenie wielkości miceli dla przebiegu katalizowanego procesu. Następnym analizowanym przez Habilitanta czynnikiem było zjawisko dezagregacji barwników cyklu ksantofilowego w zależności od typu lipidów tworzących micle. W trakcie tych badań wykazał, że sama dezagregacja barwników, która zachodzi z wysoką wydajnością w przypadku lipidów tworzących liposomy nie gwarantuje szybkiego tempa reakcji, jednakże w przypadku lipidów nielamellarnych dezagregacja może przyspieszać reakcje. Wnioskiem wynikającym z tych badań jest stwierdzenie, że dezagregacja substratów reakcji jest jednym z elementów wpływających na przebieg całości procesu.

2. Ocena pracy habilitacyjnej

Wybrane rezultaty i zasadnicze wnioski wynikające z sześciu artykułów (w tym 5 oryginalnych i 1 przeglądowej) opublikowanych w latach 2004-2011 ujęte zostały w przygotowanej monografii przedstawionej jako praca habilitacyjna. Wszystkie dotyczą enzymów cyklu ksantofilowego i **stanowią zwartą grupę tematyczną podejmując próbę całościowego rozwiązania ściśle określonego tematu**. W pięciu wspomnianych artykułach dr Latowski **jest pierwszym autorem**. Publikacje te podążają za światowymi tendencjami pod względem aktualności podejmowanych tematów. Prace eksperymentalne opublikowano w czasopismach o szerokim zasięgu (*Biochemistry*, *Acta Physiologiae Plantarum*, *Journal of Plant Physiology* i *Russian, Journal of Plant Physiology*) o wskaźniku cytowań od 0.433 do 4,008. Wśród czasopism publikujących fizjologiczne prace doświadczalne wykonane na materiale roślinnym niewiele ma znacznie wyższy współczynnik IF. Autor rozwiązał szereg ważnych problemów z dziedziny fizjologii roślin, i co warto podkreślić, **przedstawił nowe spojrzenie na zagadnienie funkcjonowania cyklu ksantofilowego oraz zaproponował interesującą teorię pozwalającą połączyć znane z literatury fakty i wyniki badań własnych**.

W monografii opublikowanej w wydawnictwie *Trivium* w 2013 roku Habilitant skoncentrował uwagę na zależnościach pomiędzy warunkami panującymi w środowisku i aktywnością epoksydaz katalizujących przemiany barwników cyklu ksantofilowego. Poniżej zasygnalizuję te, które wydają się mieć największe znaczenie. Można wyróżnić kilka tematów

badawczych rozwiniętych w artykułach będących podstawą monografii. Wszystkie prace doświadczalne oparto na eksperymentach prowadzonych *in vivo*. Stwierdzone w doświadczeniach zależności opisane w 2004 i 2005 roku w czasopiśmie *Biochemistry* pozwoliły na zweryfikowanie dotychczas panującego poglądu i wskazanie na fakt, że gradient protonowy nie wpływa na szybkość katalizowanego procesu. Przedstawione rezultaty mogą stanowić ważny element w toczących się debatach nad sposobem regulacji cyklu VAZ. Prace ta są przejawem wnikliwości i odwagi we wnioskowaniu i próbą spojrzenia na uzyskane wyniki w szerszym kontekście przy uwzględnieniu obserwacji biochemicznych i fizjologicznych. Wyniki badań przedstawionych w publikacji z 2005 roku (*Biochemistry*) wskazują na zasadnicze różnice w sposobie regulacji szybkości procesu epoksydacji pomiędzy roślinami wyższymi i okrzemkami, co może mieć znaczenie dla zrozumienia ewolucji cyklu VAZ. Habilitant wskazał też na kluczową rolę właściwości interakcji substratu z membraną dla przebiegu katalizowanych reakcji epoksydacji. Przedstawione w pracy wyniki umożliwiają dokonywanie porównań reakcji zachodzących w różnych tkankach roślinnych w uruchamianiu całego systemu reakcji obronnych. Pomimo wielu znanych faktów literaturowych stale brak było jednoznacznych dowodów wskazujących na znaczący wpływ metali ciężkich na parametry fotochemiczne świadczące o rozpraszaniu nadmiaru energii. Przedstawione w monografii wyniki są ważnym argumentem świadczącym, że oba metale wykazują zróżnicowany sposób działania. Na uwagę zasługuje też fakt zaprezentowania w pracy opublikowanej w *J. of Inorganic Biochemistry* (2005) dowodów na zróżnicowanie kierunku oddziaływanie kadmu i cynku na aktywność epoksydazy ksantynowej, co jest potwierdzeniem szeregu wcześniejszych danych. Kolejnym ważnym osiągnięciem zaprezentowanym w monografii jest przedstawienie złożoności reakcji regulowanych z zaangażowaniem określonych reszt cysteinowych. Postęp w zrozumieniu funkcji reszt cysteinowych w regulacji epoksydacji/deepoksydacji może pomóc w zrozumieniu szeregu opisanych przez fizjologów fenomenów. Stwierdzenie podobnego kierunku reakcji również u okrzemek realizujących cykl diadinoksantynowy nadaje temu odkryciu dużą rangę, a obecność sekwencji kodujących cysteinę w określonych obszarach genu ZEP2 pozwala podejrzewać istnienie bezpośredniego związku z aktywnością enzymu. Praca opublikowana w *Journal of Plant Physiology* w 2007 roku analizuje natomiast hamujący wpływ aminocukrów na aktywność epoksydaz jak również mechanizm przeprowadzania reakcji epoksydacji z udziałem karbokationu. Do najcenniejszych w mojej opinii odkryć dra Latowskiego zaliczyłbym wskazanie konkretniej sekwencji reszt aminokwasowych zaangażowanych w katalizę reakcji epoksydacji zarówno w ZE jak i DE. Każda tego rodzaju analiza jest bardzo

cenna i umożliwia w dalszej perspektywie podjęcie prac biotechnologicznych zmierzających do kontrolowania funkcji cyklu VAZ. Wykazanie szeregu zjawisk z zastosowaniem różnorodnego materiału badawczego podnosi rangę opisywanych fenomenów. Analiza sekwencji szeregu epoksydaz dostarczyła argumentów potwierdzających wcześniejsze obserwacje i wskazała na zaangażowanie reszt Trp i Lys lub Arg w procesie katalizowania reakcji. Obserwacje te posłużyły wyciągnięciu wielu szczegółowych wniosków i zapewne w przyszłości będą jeszcze wykorzystywane. Ukoronowaniem prac przedstawionych w powyższych publikacjach jest zaproponowanie molekularnego mechanizmu funkcjonowania cyklu ksantofilowego.

Zagadnienie aktywności epoksydaz było analizowane w wielu innych pracach biochemicznych, ale próba interpretacji znaczenia tych faktów na poziomie fizjologiczno-ekologicznym jest bardzo nowatorska. Takie podejście do zagadnienia świadczy o wnikliwości badacza, a także o pewnego rodzaju „odwadze” eksperymentatora szukającego dodatkowego potwierdzenia prawdziwości stawianych tez w pokrewnych polach badań. W praktyce laboratoryjnej wiemy jak trudno jest znaleźć takie dodatkowe argumenty.

Wszystkie publikacje przedstawione w ramach pracy habilitacyjnej włączają się w ogólną dyskusję naukową, a zacytowanie w pracy bardzo wielu pozycji literaturowych z ostatnich lat świadczy o aktualności tematu. Wszystkie prace eksperymentalne stanowią dowód znajomości literatury przedmiotu, jego krytycznej analizy, gruntownych przemyśleń i są ilustracją rozwoju zainteresowań Habilitanta. Należy żywić nadzieję, że przedstawione w pracach teorie zostaną zweryfikowane i potwierdzone dodatkowymi doświadczeniami, co zaowocuje dalszą współpracą z innymi ośrodkami badawczymi. We wszystkich publikacjach przedstawionych jako praca habilitacyjna Autor zaprezentował swoje kompetencje w prowadzeniu badań eksperymentalnych. Wysoki stopień samodzielności i **duży udział własny w wykonaniu prac eksperymentalnych**, planowaniu badań i pracach redakcyjnych wynika zarówno z wielokrotnie prezentowanych umiejętności jak i bezpośrednich deklaracji w złożonych dokumentach. Warto dodać, że monografia będąca syntezą najważniejszych osiągnięć naukowych dra Latowskiego odznacza się przejrzystością, co nadaje jej wartość dydaktyczną.

Z powyższego przeglądu publikacji przedstawionych jako „dorobek naukowy” i „praca habilitacyjna” wynika, że pod względem uzyskanych rezultatów, zastosowanych metod, zaproponowanych i zweryfikowanych hipotez stanowią one liczący się fragment polskiego dorobku naukowego. Świadczą one o dobrym opanowaniu metod analitycznych, pomysłowości w planowaniu badań i są świadectwem systematycznego rozwoju całej grupy

badawczej, z którą pracuje Habilitant. Dorobek nie budzi zatem zastrzeżeń recenzenta. **Moim zdaniem, dr D. Latowski jest wybitnym specjalistą w zakresie fizjologii roślin w dziedzinie dotyczącej funkcjonowania cyklu ksantofilowego.**

3. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej:

Dr Latowski godzi obowiązki naukowe z dydaktycznymi pracując na Uniwersytecie Jagiellońskim, Uniwersytecie Pedagogicznym, PWST w Tarnowie oraz AGH i prowadząc bardzo różnorodne zajęcia poczynając od ćwiczeń, konwersatoriów, wykładów i seminariów, a kończąc na sprawowaniu opieki nad pracami magisterskimi (23 prace), licencjackimi (56 prac) i pracami inżynierskimi (4 prace). Jego działalność dydaktyczna uzyskuje wysokie oceny bezpośredniego przełożonego prof. dr hab. K. Strzałki jak i studentów oraz pracowników wszystkich uniwersytetów. Zgodnie z opinią środowiska Habilitant reprezentuje wysoki poziom w ocenianych obszarach działalności. Prowadzone prace naukowe znajdują odbicie w pracy dydaktycznej i organizacyjnej i są rozwijane w pracach licencjackich, magisterskich, a także w działalności popularyzatorskiej. W dorobku naukowo-dydaktycznym dra Latowskiego znalazła się także funkcja promotora pomocniczego rozprawy doktorskiej obronionej w AGH. Do Jego działalności dydaktycznej zaliczyć też można opracowanie artykułów przeglądowych opublikowanych w polskich i zagranicznych czasopismach. Habilitant prowadził także działalność popularyzatorską opracowując cykl wykładów dla uczniów, a także wygłaszając wykłady na zaproszenie organizatorów Światowego Forum Mediów Polonijnych.

Działalność organizacyjna dra Latowskiego jest również bardzo intensywna. W latach 2007-2009 pełnił funkcje sekretarza Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej (PTBER), i członka krakowskich komitetów organizacyjnych dwóch konferencji: IV-Zjazdu PTBER w Krakowie w 2004 roku i międzynarodowego sympozjum dotyczącego karotenoidów w 2011. Środki finansowe na przeprowadzenie badań uzyskiwał pracując w zespołach zabiegających o fundusze KBN, MNiSW, NCN, DAAD, DFG i akcji COST. W siedmiu realizowanych projektach był wykonawcą, w czterech głównym wykonawcą, a także redaktorem wniosku projektu polsko-niemieckiego finansowanego przez DFG i Ministerstwo Nauki i Edukacji RP. Prace doświadczalne wykonywał we współpracy z kilkoma zespołami badawczymi pracującymi na terenie Polski i Niemiec.

Opinie naukowe przedstawione przez prof. dr R. Gossa i prof. dr hab. K. Strzałkę są jednoznacznie pozytywne i podkreślają szereg walorów dra Latowskiego jako pracownika naukowego jak i dydaktyka.

4. Wniosek Końcowy

Podsumowując pragnę stwierdzić, że w okresie po uzyskaniu stopnia doktora Habilitant uzyskał wartościowe rezultaty będące twórczym wkładem do nauki i **znacznie poszerzył swój dorobek naukowy, który spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.** Na szczególną uwagę zasługuje wzbogacenie naszej wiedzy o mechanizmie funkcjonowania cyklu ksantofilowego. Autor podbudował pracami doświadczalnymi własne wcześniej wysuwane koncepcje i wysunął nowe, które mogą stanowić punkt wyjścia do kolejnych prac. Postęp w opisywanej dziedzinie wiedzy i **szereg wniosków wynikających z tych prac buduje fundamenty dla badań aplikacyjnych.** Jego **pozycja w nauce znajduje odzwierciedlenie w licznych cytowaniach i zaproszeniach do wykonywania recenzji prac naukowych w wielu czasopismach liczących się na arenie międzynarodowej,** a także do oceny projektów grantów krajowych i międzynarodowych. Doświadczenia naukowe i organizatorskie zdobyte podczas realizacji prac mogą owocować w przyszłości dalszym szybkim postępem całego zespołu badawczego z którym współpracuje. Jego wiedza i doświadczenie służy rozwijaniu badań w Polsce i promowaniu naszej nauki na arenie międzynarodowej. Można mieć pewność, że w przyszłości będzie kontynuował współpracę z placówkami zagranicznymi.

Znaczącą pozycję osiągnął dzięki systematycznej, wydajnej i wytrwałej pracy. Praca ta polegała nie tylko na aktywności *sensu stricte* naukowej, ale także na działalności organizacyjnej. Wszystkie obowiązki naukowca łączył z zaangażowaniem w działalność dydaktyczną.

W związku z powyższym z głębokim przekonaniem stwierdzam, że dorobek naukowy i przedstawiona praca habilitacyjna dr Dariusza Latowskiego w pełni uzasadnia wniosek o dopuszczenie do przeprowadzenia kolokwium habilitacyjnego przed Radą Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Kraków, 15.10.2013


prof. dr hab. Zbigniew Miszański