

Oponentský posudek na habilitační práci

Autor: **Ing. Tomáš Takáč, Ph.D.**

Název práce: **Proteomic insights into antioxidant defense, mitogen activated protein kinase signalling and cytoskeleton**

Oponent: **Doc. Mgr. Marek Petřivalský, Dr.**
Univerzita Palackého v Olomouci
Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta

Předložená habilitační práce je významným příspěvkem k objasnění role a vzájemné interakce reaktivních forem kyslíku (ROS), antioxidantních enzymů, signálních drah mitogenem-aktivovaných proteinkinás (MAPK) a cytoskeletu ve vývoji a růstu rostlin a jejich odpovědi na stresové podmínky. Práce zaměřená na rostlinnou biochemii a proteomiku zapadá do širokého kontextu biochemie, tedy oboru, ve kterém se uskutečňuje habilitační řízení. Jednotlivá témata habilitační práce jsou zpracována samostatně v kapitolách zahrnujících souhrn aktuálních znalostí oboru, příspěvku výzkumných projektů autora a perspektiv dalšího vývoje a jsou doložena 14 příloženými publikacemi. Kvalitu příložených publikací potvrzuje skutečnost, že prošly náročným recenzním řízením prestižních odborných časopisů v oboru proteomiky a rostlinné biologie. Mohu konstatovat, že úvodní část habilitační práce v anglickém jazyce (str. 5– 50) je nanejvýš zdařilá. Přehledně a srozumitelně seznamuje se všemi dosaženými výsledky v kontextu se současnou literaturou a vhodně proloženými odkazy na detailní výsledky v příložených publikacích autora.

Z významných výsledků je možno vyzdvihnout zejména:

- Regulace hladin ROS působením antioxidantních enzymů hraje klíčovou roli v procesech androgenese nebo kořenové organogeneze. Práce autora přispívají k pochopení, jak mohou být antioxidantní enzymy specificky regulovány na subcelulární a pletivové úrovni. Popsaná úloha ROS a peroxidasy jako modulátorů tvorby adventivních kořenů u lnu má potenciál praktického využití vedoucího k vylepšeným odrudám této rostliny
- K významným zjištěním patří popis narušení endocytózy a vezikulárního transportu v kořenech *Arabidopsis thaliana* při inhibici signálních drah enzymů fosfatidylinositol-3-kinasy a fosfatidylinositol-4-kinasy. Tento mechanismus je spojen se sníženou hladinou a aktivitou klíčových antioxidantních enzymů superoxidodismutasy a thioredoxinreduktasy.
- Navazující proteomická studie s využitím mutantů *A. thaliana* s defektní signální kaskádou aktivace MAPK prokázala signální funkci superoxidového radikálu v rostlinném vývoji a její negativní regulaci MAPK kaskádou. Aktivace antioxidantních enzymů v mutantních

roślinách, včetně superoxidů a enzymů askorbát-glutathionového cyklu, je podstatou jejich vyšší odolnosti na oxidativní stres.

- Práce autora prokazují úspěšnou aplikaci „shotgun“ proteomického přístupu jako doplňující alternativy k fosfoproteomickým analýzám. Aplikací toho přístupu na mutanty MAP3K a MAP4K *A. thaliana* byly dosaženy významné pokroky v pochopení regulační role MAPK signálních kaskád. Kromě potvrzení interakce MAPK drah a antioxidačních enzymů byla poprvé popsána úloha MAP3K v modulaci biosyntézy rostlinného hormonu kys. jasmonové a interakce MAPK s regulačním proteinem kalmodulinem. Vyvinuté metodické přístupy založené na „shotgun“ proteomice mají perspektivní využití ve studiu specifických změn rostlinného proteomu na subcelulární úrovni ve stresových podmínkách.

- Autorovy výsledky poukazují na nutnost uvážlivé interpretace dat získaných při použití chemických inhibitorů vezikulárního transportu ve studiích buněčné biologie. Proteomické studie srovnávající vliv tří různých inhibitorů v kořenech *A. thaliana* ukázaly, že tyto látky ovlivňují řadu dalších dějů na úrovni morfologie endoplasmatického retikula, akumulace zásobních proteinů a vakuolárního, jaderného a mitochondriálního transportu.

- Byly popsány nové významné funkce cytoskeletu rostlinných buněk, které přispívají k hlubšímu pochopení úlohy organizace cytoskeletu v regulaci genové exprese. Výsledky identifikují proteiny propojující polymerizaci aktinu se signální dráhou kys. abscisové a vezikulárním transportem v kořenech *A. thaliana*.

Ing. Tomáš Takáč, PhD., předloženou habilitační prací a přiloženými publikacemi prokazuje, že ve své výzkumné činnosti zdařile propojuje teoretické i experimentální znalosti a dovednosti oboru biochemie, proteomiky a rostlinné biologie. Habilitant je erudovaný vědecký pracovník ve svém oboru, který zvládá značné množství metodických postupů a který je schopen získané výsledky úspěšně předávat formou kvalitních publikačních výstupů. Oblast jeho výzkumu je aktuální, přináší nové poznatky, které mohou být využity např. v získání odrůd rostlin s větší odolností vůči abiotickým stresovým faktorům.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená habilitační práce odpovídá požadavkům § 72 odst. 3, písm. b), zákona č. 111, 1998 Sb. Na základě všech výše uvedených skutečností **doporučuji předložený habilitační spis k přijetí** jako podklad pro jmenování Ing. Tomáše Takáče, PhD., docentem v oboru biochemie.

V Olomouci dne 22.2. 2018

Doc. Mgr. Marek Petřivalský, PhD