



OPONENTSKÝ POSUDOK NA HABILITAČNÚ PRÁCU

Autor práce: Mgr. Martin Černý, Ph.D.

Název práce: Plant proteomics as a tool for elucidating the molecular mechanisms underlying signaling and plant interactions with the environment

Oponent: Doc. Ing. Tomáš Takáč, Ph.D

Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Predložená habilitačná práca je koncipovaná ako súhrn 8 vedeckých článkov a 1 metodické kapitoly v knihe publikovaných počas posledných 5 rokov. V každom z 8 článkových publikácií, ktoré sú publikované v popredných impaktovaných časopisoch, je habilitant korešpondenčným autorom, v prípade kapitoly je prvým autorom. Toto dokazuje vysokú odbornú spôsobilosť autora. Dve z 8 článkových prác sú prehľadové, obohatené o cenné bioinformatické metaanalýzy.

Habilitačná práca je písaná v anglickom jazyku a obsahuje tri tematické celky, pričom v každom z nich sú autorské práce veľmi prirodzene vložené do kontextu najnovšej literatúry. V práci sú tiež citované aj staršie prvoautorské a spoluautorské práce, bakalárske a diplomové záverečné práce vedené autorom habilitačnej práce, či nepublikované výsledky. Plné texty študentských záverečných prác sa v niektorých prípadoch nepodarilo dohľadať. Texty sú doplnené obrazovým materiálom (spolu 32 obrázkov), v drvivej väčšine prevzatých z vlastných publikácií alebo záverečných prác študentov. Rád by som vyzdvihol kvalitu predovšetkým sumarizujúcich schém, ale aj experimentálnej dokumentácie nielen po obsahovej, ale aj estetickéj stránke. Legendy a popisy k niektorým obrázkom však nie sú dostatočne jasné a vyžadujú si dodatočný náhľad do publikácie z ktorej sú prebraté.

Z metodického hľadiska práca pokrýva širokú škálu najmodernejších proteomických a iných biochemických metód vrátane tzv. bottom up proteomických prístupov, ale aj cielenej, tzv. top-bottom proteomiky. Využitie bioinformatiky v interpretácii proteomických dát je na špičkovej úrovni. Autor má evidentne nadštandardný prehľad o proteomických metódach a ich využití.

Po formálnej stránke je habilitačná práca spracovaná na vysokej úrovni a takmer bez chýb. Dá sa vytknúť napríklad prezentácia fotodokumentácie formou koláže na obr. 17, vytvorená spojením obrázkov bez vynechania medzier, alebo bez špecifikácie v legende. Ide však o ojedinelý príklad.

Osobne mi chýba pri jednotlivých kapitolách čiastkový súhrn dosiahnutých výsledkov ktorý by demonštroval význam proteomických analýz pre biologické mechanizmy študovaných tém.

Prvý tematický celok práce sa zaoberá technickým možnostiam skvalitnenia rozlíšenia rastlinného proteómu pomocou frakcionácie proteínov, a to na orgánovej, proteínovej a peptidovej úrovni. Zostrojenie knižníc peptidových spektier zásobných proteínov zrna jačmeňa pomocou rozmanitých frakcionačných metód považujem za jedinečný počin hodný zverejnenia vo forme verejne dostupnej databázy. Táto by našla široké uplatnenie v proteomickej, a iste aj širšej vedeckej komunite.

Druhá časť je venovaná proteomickým prístupom vo výskume klíčenia semien. Proteomická analýza semien jačmeňa z rôznych klimatických oblastí ČR je unikátny experiment a ukážkový príklad aplikácie proteomiky s veľkým významom pre prax.

Príspevok autora do súčasného poznania proteómu fytohormonálnej regulácie u rastlín je bezo sporu významný a pokrokový. Tejto problematike je venovaný tretí tematický celok, ktorý vyzdvihuje úlohu ubikvitinácie a degradácie proteínov v fytohormonálnej signalizácii a prepojenie cytokinínov s obrannými mechanizmami proti abiotickým stresom.

Posledná časť pojednáva o využití proteomiky pre štúdium biotických interakcií rastlín. Autorovi sa spolu so spoluautorským kolektívom podarilo odhaliť zmeny proteómu hrachu v odpovedi na vírus mozaiky prenosnej semenom, rozpracovať identifikáciu rastlinných patogénov pomocou hmotnostnej spektrometrie a identifikoval proteíny zodpovedné za udržanie benefičiálneho efektu huby *Acremonium alternatum* na rast *Arabidopsis* v rôznych koncentráciách sacharózy v rastovom médiu.

K práci mám nasledovné otázky:

1. Rastlinná proteomika bola a ešte stále je vnímaná ako perspektívny nástroj pre praktické využitie v poľnohospodárstve ale najmä šľachtení, kde by mohlo slúžiť na jeho urýchlenie identifikáciou markérových proteínov. Kde vidíte príčiny toho, že ani po dekádach využívania tejto metódy tieto predpoklady nie sú napĺňané? Ako plánujete využiť experiment
2. PEG frakcionáciu vyhodnocujete ako najúčinnjšiu frakcionačnú metódu pre rastlinné proteíny. Môžete ju ohodnotiť aj z hľadiska rôznych prístupov absolútnej a relatívnej kvantifikácie?
3. Aký je teda mechanizmus pozitívneho účinku peroxidu vodíka na klíčenie? S hypotézou redukcie endogénneho obsahu H_2O_2 a mobilizácie antioxidantnej kapacity sa dá polemizovať, nakoľko uvádzate zníženie abundancie proteínov responzívnych na H_2O_2 , katalázy a superoxididizmutázy. Sekretované peroxidázy môžu okrem odbúravania H_2O_2 aj schopnosť produkcie tohoto radikálu. Môžete navrhnúť aj iné možné mechanizmy pozitívneho účinku ROS na klíčenie? Aká je funkcia ROS v priebehu klíčenia?
4. Čo myslíte pod pojmom proteínové inhibítory? Aký je ich funkcia u rastlín?
5. Je možné na základe vašich výsledkov špecifikovať proteíny predstavujúce konvergenciu medzi stresovou a cytokinínovou signalizáciou?
6. Vedel by autor považovať nad prepojením ubikvitinácie s cytokinínovou signalizáciou u rastlín? Existujú možnosti aplikácie proteomiky na objasnenie tohoto mechanizmu?

Záverom konštatujem, že predložená habilitačná práca je hodnoverným dôkazom o vysokej vedeckej erudovanosti habilitanta v odbore biochémia a zodpovedá požiadavkám § 72 odst. 2, písm. b), zákona č. 111, 1998 Sb.

Habilitačnú prácu Mgr. Martina Černého, Ph.D preto **odporúčam** k prijatiu ako podkladu k udeleniu titulu docenta biochemie.

V Olomouci, dňa 06. 07. 2021

Tomáš Takáč