

Zpráva o průběhu přednášky před odbornou veřejností v rámci habilitačního řízení Mgr. Martina Černého, Ph.D.

Proteomická analýza semen, klíčení a brzkého vývoje rostlin

Přednáška se konala dne 17.2. 2022 od 14 hodin prostřednictvím online platformy MS Teams. Posluchačů bylo celkem 32. Mimo ostatní se účastnili tři členové hodnotící komise (Prof. Grubhoffer, Prof. Šebela - předseda, Doc. Šulc) a všichni oponenti habilitační práce (Doc. Lochman, Doc. Petrák, Doc. Takáč). Přítomni byli rovněž čtyři členové vědecké rady PŘF UP (Prof. Dvořák, Prof. Frébort, Doc. Kryštof, Prof. Šebela). Prof. Dvořák a Doc Kryštof přijali roli hodnotitelů přednášky.

Na úvod předseda habilitační komise, Prof. Šebela, uvedl kandidáta Dr. Martina Černého. Zazněly informace o předložené habilitační práci, jejím obsahu a autorském přínosu autora k vědeckému poznání v oblasti proteomiky jako vhodného nástroje pro studium biologických procesů.

Přednáška představila historii studia chemických vlastností proteinů. Zmíněna byla osobnost Holanďana Gerarda Muldera, který poprvé použil termín protein a publikoval práci o chemickém složení proteinů, ukázány byly nejvýznamnější objevy v souvislosti s analýzou proteinů v posledních 100 letech s odkazem na nejnovější vývoj. Definovány byly důležité pojmy, např. proteoforma, proteinová rodina, proteinová modifikace. Vysvětlen byl postup experimentů pro identifikaci proteinů zahrnující dnes extrakci, separaci a sekvencování pomocí hmotnostní spektrometrie, dále Dr. Černý objasnil problematiku absolutní a relativní kvantifikace proteinů ve vzorku a poukázal na to, že ne všechny proteinové komponenty vzorku lze identifikovat, nebo dokonce kvantifikovat. Uvedl, že odhadovaný počet proteinů v eukaryotní buňce je v řádu miliard a koreloval ji s citlivostí současných hmotnostních spektrometrů. Srovnal možnosti současné proteomiky v porovnání s transkriptomikou. Výhodou proteomiky je např. zachycení buněčné odpovědi na úrovni proteinových modifikací. To se dobře uplatňuje například při studiu hormonální signalizace v buňce a obecně mapování buněčných procesů. Z vlastního výzkumu představil Dr. Černý možnosti frakcionace rostlinných proteinových vzorků vedoucí k vyššímu počtu identifikovaných proteinů. Pokračoval o relevanci predikce proteinů na základě analýzy transkriptu a ukázal, že zejména na poli biomarkerů pro diagnostiku je čistý přínos proteomiky dosud velmi omezený. Následovalo shrnutí úvodní části v anglickém jazyce.

Ve druhé části shrnul Dr. Černý oblasti svojí výzkumné práce. Začal problematikou sledování procesů klíčení rostlin ze semen, kde zmínil patentové řízení autorské metody sledování klíčení měřením vodivosti a vysvětlil význam peroxidu vodíku pro urychlení klíčení, který s kolegy analyzovali na úrovni proteinů a jenž je odlišný od teplotní regulace. Peroxid vodíku narušuje metabolismus kyseliny abscisové. Komentované cílené profilování proteomu obilky ječmene bylo zaměřeno na sledování rozdílů na úrovni proteinů v kolekci obilky ječmene z rozmanitých stanovišť v ČR. Byla připravena proteinová knihovna včetně kvantitativní informace. Proteiny, které byly ovlivněny prostředím (teplota, sucho), zahrnovaly i ribosomální proteiny, přičemž je známo, že u rostlin ribosomy mění složení v reakci na teplotu. Validace proběhla provedením srovnatelných experimentů na huseníčku. Proběhly i experimenty s analýzou lipidů a klíčivosti. Obilky ze suché a teplé lokality měly vysokou klíčivost. Na úrovni proteomu to bylo korelováno se zvýšenou úrovní proteinů teplotního šoku (HSP), které hrají roli v distribuci abscisové kyseliny a ovlivnění klíčení semen. To se odrazilo i ve změnách proteinů zapojených do příslušné signalizace. V závěru Dr. Černý ukázal, že rozdílné lokality pěstování ječmene se odrážejí i v modifikacích konkrétních proteinů. Tato část byla rovněž shrnuta v anglickém jazyce. Nechybělo poděkování spoluautorům.

Přednáška Dr. Černého proběhla v délce zhruba 50 min. Poté následovala všeobecná 30 min diskuse k tématu. Zaznělo několik dotazů posluchačů, které byly stručně a věcně zodpovězeny:

- 1) „Co je výzvou současné proteomiky?“ (odpověď: cena a dostupnost moderních přístrojů, reprodukovatelnost a přenositelnost proteomiky, statistika)
- 2) „Když se dělá srovnávací proteomika, kolik je třeba vzorků (opakování) pro získání relevantních dat?“ (odpověď: víc než 5 opakování nelze, není-li robotizace). Doplňkovou otázkou a k ní danou odpovědí bylo i porovnání přístrojů, hmotnostních spektrometrů, starší a novější generace.
- 3) „Dochází u rostlin k větší změně v úrovni proteomu v důsledku vysokých či naopak nízkých teplot?“ (odpověď: sensing teplotních změn u rostlin zahrnuje stejné skupiny stresových proteinů).
- 4) „Jaká je dostupnost a kvalita softwaru pro interpretaci dat, jak je důležitá validace dat pomocí nezávislých metod?“ (odpověď: je dostatek dostupného softwaru, existují publikované databáze mutantních fenotypů, využívá se porovnávání dat s výsledky dosaženými na huseníčku; transkriptomika zřejmě není relevantní validací pro proteiny, skepticky se Dr. Černý dívá na význam využití protilátek, pokud není přidána metodika, např. mikroskopie).
- 5) „Je stále v proteomice klíčová příprava vzorku, nebo už díky vysoké citlivosti instrumentální ch analýz lze přípravu vzorku zjednodušit?“ (odpověď: v některých aplikacích, zejména při malých množstvích výchozího materiálu, se osvědčilo prosté jednokrokové extrahování).

Za hodnotitele přednášky z posluchačů-členů VR PŘF UP, krátce promluvil prof. Zdeněk Dvořák, který se vyjádřil pochvalně k obsahu i formě přednášky a ocenil úroveň reakcí v diskusi.

Na základě výše uvedeného hodnotitelé přednášky před odbornou veřejností potvrzují požadovanou úroveň přednášení a odborné diskuse a splnění jedné z povinností uchazeče v průběhu habilitačního řízení. Nechtě je tento zápis součástí dokumentace habilitačního řízení Dr. Martina Černého pro zasedání vědecké rady Přírodovědecké fakulty UP dne 9.3.2022.

V Olomouci dne 18.2.2022

prof. Mgr. Marek ŠEBELA, Dr.
profesor v oboru biochemie,
KBC PŘF UP, člen vědecké rady PŘF UP,
předseda hodnotící komise pro habilitační řízení

prof. RNDr. Zdeněk DVOŘÁK, DrSc. Ph.D.
profesor v oboru biochemie,
vedoucí KBB PŘF UP,
člen vědecké rady PŘF UP

doc. RNDr. Vladimír KRYŠTOF, Ph.D.
docent v oboru biochemie,
vedoucí KEB PŘF UP,
člen vědecké rady PŘF UP