

## Oponentský posudek habilitační práce

Mgr. Aleše Pečinky, PhD

### Epigenetická kontrola organizace chromatinu a její vliv na regulaci genové exprese rostlin

Univerzita Palackého v Olomouci , Přírodovědecká fakulta 2022

Struktura a funkce jaderného chromatinu jsou studovány již více než sto let. V roce 1928 popsal E.Heitz dva jeho základní typy v interfazních jádrech a mitotických chromosomech jätrovky a nazval je euchromatin a heterochromatin. Zhruba po dalším půlstoletí začala věda chápat základní chromatinové složení jako komplex DNA a s ní asociovaných proteinů, zejména histonů. Ale také postupně poznávat, že těch chromatinů je více než dvakrát tolik, že v rámci buněčného života a diferenciaci procházejí různými dynamickými změnami a že jak struktura, tak funkce v něm obsažených genů je složitě regulována nejrůznějšími zásahy epigenetickými. Zhruba od sedmdesátých let začala epigenetika čím dál více doplňovat či korigovat klasickou mendelovskou genetiku. A máme-li věřit názoru autora této habilitační práce, tento výzkum prožívá v současnosti svůj „zlatý věk“...

Mgr.habil.Aleš Pečinka ,PhD se o tom, možno říci úspěšně, snaží oponenta i další čtenáře přesvědčit oběma částmi své habilitační práce.

V prvé řadě souborem třinácti vybraných relevantních publikací, pocházejících vesměs ze špičkových časopisů v rozmezí let 2009-2020. U naprosté většiny z nich je buď prvním nebo posledním /korespondenčním autorem .Nepovažuji za nutné uvádět zde jejich „impakty“ a vůbec už ne vyjadřovat se ke kvalitě jejich obsahu. Tu jistě vysoce profesionálně posoudili jejich editoři. Rozhodně se nepovažuji za experta „epigenetické problematiky“ a nedokázal bych tedy sestavit žebříček přínosnosti jejich dílčích výsledků pro světovou vědu. Ale snad se na tomto místě mohu zeptat pana habilitanta, jak ten kvalifikační žebříček vidí on ? Velmi oceňuji jak stylistickou, tak grafickou úroveň těchto týmových prací, široký výběr pokusných modelů, logiku a esprit diskusí, zejména obratnost v interpretaci často nejednoznačných výsledků. Dílčí závěr- habilitant je dle mého soudu nepochybnou vědeckou osobností, invenční, originální a v mnoha ohledech precizní.

Svoje schopnosti didaktické až popularizační pak dokládá onou částí „úvodní“ – mající charakter špičkových vysokoškolských skript až učebnicové monografie Je až neuvěřitelné, co se mu zdařilo faktologicky poskládat do textu v rozmezí cca čtyřiceti stran.

. Seznam použité literatury zabírá jedenáct stran, téměř vždy po osmnácti citacích. Strukturoval je do pěti hlavních kapitol: 1. Základní charakteristika jaderného genomu rostlin, 2. Hlavní oblasti jaderného genomu, 3. Organizace euchromatinu a heterochromatinu v buněčných jádrech rostlin, 4. Vliv abiotického stresu na heterochromatin rostlin, 5. Jaká je budoucnost studia chromatinu rostlin?

Tento výčet sám o sobě možná působí trochu bezbarvě – ale autor onen celek pojal jako nesmírně poutavou, originální historickou detektivku z dějin (nejen) rostlinné molekulární biologie. Příkladem bud'tež už subtitulky 2.1. Tandemové repetice – opomíjená, ale nepostradatelná součást genomu, 2.2. Transponovatelné elementy- genomičtí parazité mnoha funkcí. Co by asi této formulaci někdy před osmdesáti lety řekla Barbara McClintocková ?

Třetí kapitola je věnována jedné z hlavních oblastí autorova zájmu , tedy organizaci euchromatinu a heterochromatinu u rostlin. Na několika místech jsou přejaté informace doplňovány o poznatky z vlastních publikací, pro čtenáře zviditelněné tučným tiskem . Subkapitola 3.1. Epigenetický základ euchromatinu a heterochromatinu je opět faktologicky nabitým a nesmírně zajímavým putováním našeho vývoje poznání. V něm hlavní roli hraje „DNA metylace jako klíčová epigenetická modifikace rostlin“. A těch deset stran textu je korunováno sdělením, že „molekulární analýzy vymezují čtyři základní typy chromatinu rostlin“ (celkově jich je možná až devět) a tabulkou těchto typů u huseníčku rolního (Roudier et al. 2011)- Podle ní „euchromatin“ – tedy ten, co se nám pod mikroskopem jeví světle/šedě je vlastně dvojího typu: značí se tak jednak aktivní geny, jednak mezigenové oblasti. A tmavá/černá heitzovská chromocentra by měla signalizovat jednak oblasti genů vývojově aktivních – „fakultativní heterochromatin“ jednak seskupení transpozonů coby „heterochromatin konstitutivní“.

Opět atraktivní a nejen pro základní výzkum, ale také pro zemědělskou praxi cenné členění má kapitola čtvrtá , věnovaná fyziologicko-genetickým interakcím stres *versus* chromatin – viz 4.1. Vliv stresu na strukturu a funkci heterochromatinu rostlin a 4.2. Může stres působit aktivaci a množení rostlinných transpozonů? Nikoliv překvapivě se tato problematika stává předmětem zvláštního zájmu v situaci, kdy svět čelí extrémním klimatickým změnám a bere v úvahu jejich nejen fyziologické, ale i genetické důsledky. Světelný (sluneční záření) i teplotní stres coby chromatin modifikující faktory byly i součástí autorových prací (opět patřičně tučně zdůrazněno) a výsledky vedly i k formulaci dalších úvah, mimo jiné s evolučním podtextem. Citujeme: „Zjištění, že některé transpozony využívají kanonické transkripční dráhy zodpovědné za reakce vůči stresu vede k provokativní otázce. Podařilo se transpozonům připojit také na regulační dráhy řídící vývoj rostlin? Napojení na vrcholové meristémy a reprodukční orgány by umožnilo množení přímo v pletivech vedoucích ke tvorbě příští generace bez nutnosti stresu.“ A konstatování „...recentní

*výzkum odpovědí transpozonů na stres poskytl řadu nových poznatků o vztazích mezi těmito genomickými parazity a jejich hostitelskými genomy...*

Obsah závěrečné „prognostické“ kapitoly 5. nezůstává nic dlužen jejímu názvu. A opět ilustruje habilitantův vřelý zájem o rostlinnou chromatinově epigenetickou niku. *„Lze říci, že se momentálně nacházíme ve zlaté éře studia chromatinu, kdy jsme pochopili základní principy řady epigenetických drah, nicméně detailní poznání a následné aplikace výsledků do biotechnologické a zemědělské praxe je stále před námi..“* Příklad : *Co bylo dříve, slepice nebo vejce? ...Indukuje navázání transkripčního faktoru změnu z heterochromatinu na euchromatinnebo musí nejdříve dojít ke změně a teprve poté může dojít k navázání transkripčního faktoru?*

Současně je zasvěceně realistický v odhadu nejrůznějších technických úskalí i finančních limitů této práce. Uvědomuje si ku příkladu, že většina dosavadních znalostí, týkajících se organizace, povahy a funkce rostlinného chromatinu je založena na studiích provedených u huseničku rolního, v mnoha směrech „molekulárně atypického“ vůči většině rostlinných druhů. Ano, jeho genom je sympaticky malý, ale také třeba neobsahující některé tandemově repetitivní oblasti, především centromery a ribozomální DNA. Zmiňuje, že celogenomová analýza rozmístění chromatinových modifikací u druhů s velkým genomem je stále velmi drahá – *„40-ti násobné sekvenování metylomu huseničku lze pořídit za cenu okolo 5000 Kč, u ječmene přibližně za 200 000 Kč a u pšenice za 650 000.* Uvádí jako protipól huseničku druhy s tzv. Rab1 organizací. Mohl by nepoučenému oponentovi stručně osvětlit tento fenomén? Konstatuje naši zatím velmi omezenou znalost- málem typu špičky ledovce- o epigenetické kontrole významných hospodářských znaků. Mohl by blíže ilustrovat mechanismus epiregulace zmíněných vernalizačních mechanismů u obilovin?

Jako jeden z velkých technických problémů uvádí habilitant nutnost používání pouhých buněčných mixů z různých rostlinných orgánů či pletiv. Ano, dosud nedovedeme (pokud kdy vůbec budeme umět) pro podobné analýzy naveliko izolovat či přímo kultivovat jako u živočichů, buňky určitého typu. A tedy určitého chromatinového „typu i stavu“. Na druhé straně jistě ví o existenci rostlinných „HeLa like“ buněčných liniích. Ano, k dispozici, s patřičným zázemím genomickým, transkriptomickým či protetickým zatím jsou jen ty tabákové, typu VBI-0 či BY-2. Využívány jsou třeba na UKPřF ke studiím genového silencingu. Huseničkové alternativy jejich kvality dosud nedosahují Mohla by toto být jedna z alternativ? Bohatý faktologický materiál této vskutku výjimečné habilitační práce nabízí zvědavému oponentovi možnost mnoha dalších otázek. Ponechám si však je na případnou veřejnou diskusi.

Před tradičním závěrem si však ještě dovoluji jedno další zdůvodnění, proč mne tato habilitační práce tolik zaujala. Omlouvám se za tento seniorský rozmar, snad tím důstojnost.

habilitačního řízení nijak nezlehčím. Na počátku sedmdesátých let jsem absolvoval jednu ze svých prvních zahraničních stáží v tehdy východoněmeckém Zentrall Institute für Genetik und Kulturpflanzenforschung AdW DDR v Gaterslebenu. V zapadákově „sugar beet country“ na úpatí Harzu. Daleko od civilizace berlínské, blízko k neprostupné hranici s NSR. Nikoliv jako genetik, leč jako začínající „biotechnolog“. Můj tehdejší vizionářský školitel, Dr. Zdeněk Landa, mi dal za úkol odvodit pro jeho karyologická studia „suspensní buněčnou kulturu Vicia faba“. A kde tehdy byla dostupná Mekka studia tohoto kultovního modelu ? Přece v ZIGK.

Ne, gaterslebenské odborné zkušenosti mi nepomohly. Přijatelné „suspensky koňského bobu“ nemá dodnes nikdo na světě . Ale já jsem navzdory tomu strávil několik lidsky i vědecky nezapomenutelných týdnů v blízkém kontaktu s týmem skvělého ředitele ZIGK, renesančního člověka prof. Rigomara Riegera. A propadl tak i kouzlu osobnosti a rodiny jistého Ingo Schuberta. Tehdy mne všemožné chromozomální aberace naprosto nelákaly- ale Inga jako školitele dnešnímu habilitantovi rozhodně závidím. A jejich vědě velmi fandím.

#### **Závěr:**

Předloženou habilitační práci Mgr.habil.Aleše Pečinky PhD považuji za mimořádně kvalitní spis, týkající se významné oblasti základního výzkumu, s nepřehlédnutelným dopadem na biotechnologickou a zemědělskou praxi.

Dokládá natolik autorovy schopnosti vědecké i pedagogické , že by po mém soudu splňovala i požadavky řízení profesorského.

V daném případě tedy konstatuji, že odpovídá požadavkům § 72, odst.2,písm.b), zákona č.111,1998 Sb v platném znění .

Vědecké radě Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci proto doporučuji tuto práci k **přijetí jako práci habilitační a k jejímu obhájení**

v Praze dne 11. května 2022

Prof. RNDr. Zdeněk Opatrný CSc.  
emeritní profesor UKPřF