



Praha, 24.6.2021

Oponentský posudek habilitační práce Mgr. Mateje Vestega, PhD. “Euglenozoa jako modelové organismy pro štúdium molekulárno-biologických a evolučních procesov”

Přestože Euglenozoa je z morfologického pohledu poměrně homogenní a vlastně trochu nudná skupina, zahrnuje organismy zcela zásadního významu. Poučená veřejnost zná velmi dobře trypanosomy způsobující spavou nemoc nebo Chagasovu chorobu, případně leishmanie způsobující celou paletu nemocí, a krásnoočka (*Euglena*) je asi stále ještě součástí osnov základního školství. Zajímavost těchto prvoků však spočívá v něčem zásadně jiném. U trypanosom a leishmanií jde, jakožto u zástupců linie Kinetoplastea, o bizarní uspořádání mitochondriálního genomu, u krásnoočka zase o poměrně nedávno vzniklý komplexní plastid eukaryotického původu. Trochu stranou zájmu donedávna stály zbylé dvě skupiny euglenozoi, totiž Diplonemea a Symbiontida, ale i ony se již začaly objevovat na stránkách prestižních časopisů díky své neuvěřitelné diverzitě (Diplonemea) a pozoruhodným symbiózám (Symbiontida).

Někteří zástupci euglenozoi jsou jakoby přeurčení stát se modelovými organismy. U *Trypanosoma brucei* je to snadná kultivovatelnost v axenických podmínkách, malý jaderný genom a široké možnosti reverzní genetiky. Připočteme-li k tomu fakt, že *T. brucei* je lidským patogenem a na výzkum tohoto druhu se dají snadněji získat peníze, je dokonáno. Rada jiných euglenozoi však takové štěstí nemá. Hlavní potíží u euglen je obří genom, který jejich výzkum značně komplikuje. Nedá se tedy očekávat, že by se *Euglena gracilis* mohla v blízké době stát „druhou trypanosomou“. I tak ale má výzkum euglenidů zásadní význam pro pochopení vzniku a evoluce fotosyntetických organel, plastidů. Ne všichni doceňují, že komplexní plastidy eukaryotického původu vznikly v evoluci mnohem častěji než primární plastidy prokaryotického (sinicového) původu a že se rozhodně nejedná o nějaké obskurní organely, kterými se zabývají podivíni, ale jde o standardní výbavu celé řady eukaryotických buněk. Přesto o nich víme mnohem méně než o primárních plastidech. Skupina Euglenida, která zahrnuje jak fotosyntetické, tak sekundárně nefotosyntetické a primárně aplastidické zástupce, je tedy ideální pro studium vzniku a evoluce komplexních plastidů.

Dr. Matej Vesteg věnoval výzkumu euglen a jejich plastidů značnou část své kariéry, což se odráží i v jeho habilitační práci, jejíž více než polovina se věnuje druhu *Euglena gracilis*. Práce je koncipována jako souhrn komentářů k patnácti publikacím v časopisech s IF, kterých je autorem. U osmi z nich je Dr. Vesteg prvním nebo seniorním autorem, u šesti korespondujícím autorem. Všechny články byly publikovány v rozmezí let 2009-2019 v impaktovaných časopisech, často s IF > 3 (Current Genetics,

DNA Research, FEBS Letters, Scientific Reports, Journal of Biotechnology). Z tohoto souboru jednoznačně vyčnívá review z roku 2019, které bylo publikováno v Biological Reviews s IF 10,701 a u kterého je Dr. Vesteg prvním a korespondujícím autorem. Témata článků jsou značně různorodá a sahají od molekulární biologie *E. gracilis* přes nefotosyntetické plastidy až po dávnou evoluci eukaryot a eukaryogenezi. Jsem přesvědčen, že množství i kvalita publikací je více než dostatečná pro habilitační práci.

V kvalifikačních pracích jednoznačně preferuji úvod ve formě souvislého textu. V případě habilitační práce Dr. Vestega se jedná o patnáct samostatných komentářů, což je jistě povolená alternativa. Vzhledem k heterogenitě přiložených publikací by snad souvislý úvod ani nebyl možný. Domnívám se, že publikace 3 (Vesteg a Krajčovič 2011) nemusela v habilitační práci vůbec být, s ostatními publikacemi souvisí přinejmenším jen velmi volně a stejně ve světě nevzbudila příliš zájmu, byť možná nezaslouženě. Komentáře obvykle výstižně charakterizují jednotlivé publikace a stručně (někdy až příliš stručně) nastiňují dalšího vývoje dané oblasti zkoumání. Místy se však v textu vyskytují inkonzistence nebo nedostatečná reflexe následného výzkumu, byť to není v žádném případě pravidlo a tyto nedostatky nesnižují celkový dojem z práce. Jako příklad uvedu několik poznámek ke kapitole 6 (Pôvod plastidov) – pokud neplatí chromalveolární hypotéza (a zdá se, že autor akceptuje, že neplatí, str. 25), pak alespoň některé „terciární“ plastidy obrněnek nebudou terciární (jak tvrdí autor na str. 26), ale přinejmenším kvartérní. V době psaní habilitační práce již bylo k dispozici několik seriálních hypotéz, které se s tímto snaží vypořádat. Co se týče nukleomorfů, myslím, že zde by měla být alespoň zmínka o „dinotomech“ (v současnosti je kontroverzní, zda jsou fotosyntetické struktury dinotomů plastidy nebo symbionti; v některých případech se evidentně jedná o „pouhé“ kleptoplastidy; autor habilitační práce je zjevně považuje za plastidy, měl se tedy o jejich jádře zmínit). Stejně tak postrádám zmínku o nedávno (2020) objevených dvou liniích obrněnek se „zelenými“ nukleomorfy. Podobně v kap. 14 (Reduktívna evolúcia plastidov nefotosyntetických prvokov, rias a rastlín) postrádám zmínku o rhodefidiích a ARLs, které považuji pro toto téma za důležité.

K širšímu tématu habilitační práce mám následující otázky:

1. K jaké variantě stáří plastidu euglen se autor přiklání (z těchto úvah bude asi lepší vynechat rapazu)? Je molekulární datování v případě exkavát věrohodné?
2. Souhlasím, že Euglenida je vhodná modelová skupina pro výzkum vzniku a evoluce komplexních plastidů. Zjevnou překážkou jsou však velké genomy euglen. Navrhl by autor podobnou skupinu, ve které se vyskytují poměrně blízce příbuzné primárně aplastidické, fotosyntetické a sekundárně nefotosyntetické organismy, ovšem s méně komplikovanými genomy? Chápu, že je nutno brát v potaz možnost axenické kultivace,

aby se člověk donekonečna nepotýkal s kontaminacemi, případně nebyl odkázán na single-cell metody.

3. Přítomnost pouze tří membrán v plastidu euglen je velmi zajímavá. Která membrána vlastně chybí? A jaký to má vliv na transport proteinů do plastidu?

4. Je dobře známo, že *Euglena gracilis* má i anaerobní metabolismus. Byly dělány pokusy se skutečně dlouhodobou kultivací v anoxických nebo mikrooxických podmínkách? Z vlastní zkušenosti vím, že alespoň některé primárně osmotrofní eugleny vydrží hypoxii/anoxii velmi dlouho.

5. Euglenozoa je morfologicky dost homogenní skupina, zejména co se týče bičíkového aparátu (z těchto úvah vynecháme trypanosomu, která, jak jinak, je modelový organismus pro stavbu bičíku). Proto je poměrně snadné rekonstruovat, jak vypadal LCEA. Co se dělo před LCEA však už není triviální. Jak je to třeba se vznikem typických znaků euglenozoi, jako je paralelní postavení bazálních tělísek bičíků a mikrotubulární korzet? Nalezneme nějaké jejich paralely v blízkosti euglenozoi?

6. Které verze vzniku plastidů „vyššího než sekundárního řádu“ u obrněnek (včetně peridininového plastidu) dává autor přednost a proč?

Závěr:

Předložená habilitační práce dr. Mateje Vestega má velmi dobrou úroveň a jsem přesvědčen, že splňuje všechna formální kritéria, která Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnavě vyžaduje pro habilitační práce. Rozhodně ji doporučuji k úspěšné obhajobě.

prof. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.
Katedra zoologie
Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta
Viničná 7, 128 44 Praha 2, Česká republika
www.cepickalab.com

