

## Posudek oponenta habilitační práce

|                                       |                                                                               |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Uchazeč</b>                        | <b>RNDr. Radek Litvín, Ph.D.</b>                                              |
| <b>Habilitační práce</b>              | Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life                 |
| <b>Oponent</b>                        | prof. RNDr. Dušan Lazár, Ph.D.                                                |
| <b>Pracoviště oponenta, instituce</b> | Katedra biofyziky, Přírodovědecká fakulta,<br>Univerzita Palackého v Olomouci |

Předložená habilitační práce pana RNDr. Radka Litvína, Ph.D. obsahuje přes 50 stran textu, 14 obrázku, 2 tabulky a v seznamu literatury se odkazuje na 693 publikací. Práce je založena na 8 publikacích, které byly publikované v letech 2014 – 2019 převážně v časopisu *Photosynthesis Research* (5 článků), dále pak v *Scientific Reports* (2 články) a jeden článek v *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*. U pěti těchto publikací je dr. Litvín poslední a korespondující autor, u jedné je první a korespondující autor, u jedné publikace je první autor a u jedné publikace je dr. Litvín spoluautor. Tyto publikace se převážně týkají, jak název habilitační práce napovídá, světlosběrných komplexů vodních fotosyntetizujících organismů.

Habilitační práce je psaná v anglickém jazyce. V práci se vyskytují zkrácené tvary, například „l'm“, „l'd“ nebo „haven't“, které do oficiálního textu typu habilitační práce nepatří. A anglickém jazyku se občas vyskytují menší chyby, jako například špatný slovosled („... what really is photosynthesis ...“), nebo chybějící čárka („It is these enzymes which ...“). Celkově je však úroveň anglického jazyka uspokojivá.

Práce je psaná jako informativní text o fotosyntéze, kde se autor zaměřuje na první, na světle závislou, část fotosyntézy. Autor popisuje jednotlivé (pigment-)proteinové fotosyntetické komplexy, organizaci thylakoidní membrány, sběr světelné energie, ochranu před světlem a fotosyntézu ve stromě života. Až v závěrečné části habilitační práce nazvané „sběr světla v hnědých řasách“ se autor odkazuje a diskutuje zmíněných osm prací, které tvoří základ jeho habilitace.

Jelikož jednotlivé publikace, na kterých je habilitační práce založena, již prošly recenzním řízením, nebudu se k nim vyjadřovat a sdělím svůj názor jen k vlastnímu textu habilitace. Moje připomínky k textu jsou:

strana 7 – „NADPH+H“ je nejspíš překlep, dále v textu autor zmiňuje roli měnící se intenzity světla, ale opomenul zmínit také důležitou roli spektrálního složení světla. Dále pak, užití pojmu „weather“ není nejvhodnější a měl být použitý a vysvětlený standardně používaný pojem „fluctuating light“. Na stejné straně autor zmiňuje, že molekulární kyslík je nezbytný pro zvířata k dýchání, zapomenul však zmínit i lidi.

strana 9 – zatímco v souvislosti s protonmotivní silou autor správně upřednostňuje pojem „rozdíl pH“ na obou stranách membrány před standardně a nesprávně používaným pojmem „gradient pH“, autor vůbec nezmínil elektrickou složku protonmotivní síly a roli příslušných iontů ( $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cl^-$ ) a iontových kanálů na jejím formování.

strana 11 – autor píše, že oxidace manganového klastru se děje s časovými konstantami v rozmezí 55  $\mu s$  až 1 ms, ale o pár řádků dále jsou uvedené tyto časové konstanty v rozmezí 40  $\mu s$  až 1.6 ms, což je zbytečná nesrovnalost

strana 12 – chybí označení pro dvojnásobně zredukované a protonované plastochinony ( $PQH_2$ ) jako plastochinoly

strana 14 – autor píše „electron transfer rate“ ale myslí tím „electron transfer rate constant“

strana 19 – autor píše, že z důvodu existence 14 podjednotek c vytvářejících prstenec c ATP-syntázy, kdy během jednoho celého otočení prstence c dojde k tvorbě 3 molekul ATP, je potřeba 14 protonů, čili poměr  $H^+/ATP$  je 14/3. Toto je pouze strukturní poměr a termodynamický poměr  $H^+/ATP$  je blízký 4. Poměr termodynamického s strukturního  $H^+/ATP$  poměru ( $4 / 14/3 = 0.857$ ) je pak efektivita ATP-syntázy.

V souvislosti s textem habilitační práce mám na dr. Litvína následující dotazy:

strana 7 – autor použil zkratku NPQ pro „nefotochemické zhášení“ a píše, že se jedná a matoucí pojem. Zdánlivé pomatení může být způsobeno tím, že vysvětlení NPQ jako „nefotochemické zhašení“ není úplné. Co zde chybí a tudíž na základě čeho bylo NPQ definované?

strana 11 – autor popisuje  $S_0$  stav manganového klastru jako „plně redukovaný na tmě adaptovaný stav“. Je to správně? Pokud by bylo, tak by většina manganového klastru měl ve tmě být ve stavu  $S_0$ , toho je ale jenom okolo 25% a manganový klastr je ve tmě většinou ve stavu  $S_1$  (okolo 75%). Čím to je způsobené?

strana 12 – autor píše, že dochází k uvolnění protonu z manganového klastru během každého jeho přechodu mezi jednotlivými stavy. Toto není úplně pravda. Během přechodu mezi kterým S-stavy manganového klastru nedochází k uvolnění protonu?

Habilitační práce dr. Litvína je doprovázena i analýzou plagiátorství – v daném dokumentu jsem neshledal žádné významné shody kromě citací referencí, což je samozřejmé.

#### **Závěr**

Habilitační práce RNDr. Radka Litvína, Ph.D. „Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life“ splňuje požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Biofyzika.

V Olomouci, dne 31. 3. 2025



podpis oponenta

### The reviewer's evaluation of the habilitation thesis

|                                                  |                                                                                                      |
|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Candidate</b>                                 | <b>RNDr. Radek Litvín, Ph.D.</b>                                                                     |
| <b>Habilitation thesis</b>                       | Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life                                        |
| <b>Reviewer (name and surname incl. degrees)</b> | Michael Schroda, Prof. Dr.                                                                           |
| <b>The reviewer's department, institution</b>    | Molecular Biotechnology & Systems Biology, RPTU Kaiserslautern-Landau, 67663 Kaiserslautern, Germany |

First, I would like to point out that I do not know Dr. Litvin personally and therefore have no bias whatsoever. Dr. Litvin's habilitation thesis is a 52-page text in which he provides a general overview of the light reactions of photosynthesis as they are realized in the various branches of the tree of life, and then delves more deeply into aspects of light harvesting and non-photochemical quenching in various groups of algae, the area in which he has made his contributions to the field. The latter consists of eight original articles, two with him as first author, five as last author and one as second author. The text of the thesis is very well structured and written. The 693 citations give a sense of Dr. Litvin's passion for photosynthesis and his extraordinary knowledge of the field. It was a pleasure to read. That this text is really written by him is clear to any interested reader and is confirmed by the anti-plagiarism check, which shows only 8.4% similarity with existing literature. I find the text so good that I would like to see it published as a review or book chapter, it would be a wonderful introduction to photosynthesis for my students. In my opinion, there are two highlights of Dr. Litvin's contribution to the field. The first is his insight into the mechanisms underlying chromatic adaptation in *P. tricornutum*. These are papers P4-P6 with 78, 38 and 54 citations (Google Scholar) where he shows that the accumulation of Lhcf15 containing Chl a absorbing above 680 nm is key and is accompanied by the organization of PSI antenna complexes into distinct thylakoid membrane regions, the formation of thylakoid membrane superstacks and morphological changes of the plastid. The second highlight is his analysis of PSI antennae in *N. oceanica*, where he was able to identify RedCAP and Lhcx and define the antenna binding sites around PSI in single particle analyses. These are papers P2 and P3 with 69 and 26 citations respectively. I really like his approaches using protein biochemistry, mass spectrometry, structural biology, and biophysics that he used to make these findings. One could argue that Dr. Litvin could have published in higher impact journals. However, what matters more is how the publications are received in the field, which is clearly reflected in the high number of citations of his articles. Many articles in "high impact" journals do not receive as much attention as Dr. Litvin's work. This is all the more important considering that he works in a niche that does not receive as much public attention as, say, land plants. In this respect, his h-index of 20 is quite remarkable.

### Questions of the reviewer on the defence of the habilitation thesis

In a cryo-ET study of Wietrzynski et al. 2020 (Elife) the authors doubted the existence of semi-crystalline arrays of PSII-LHCII supercomplexes and proposed that this might have been an artifact occurring during thylakoid membrane preparation. In his 2016 Sci Rep paper, Dr. Litvin shows such densely packed PSI-LHC arrays resembling such semi-crystalline arrays observed for PSII-LHCII. I would love to hear his opinion whether this could be an artifact?

.....

### **Conclusion**

The habilitation thesis of RNDr. Radek Litvín, Ph.D. "Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life" **meets** the standard requirements for habilitation theses in the field of Biophysics.

In Kaiserslautern on March 24, 2025



Signature of the reviewer

## Posudek oponenta habilitační práce

|                                                       |                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Uchazeč</b>                                        | <b>RNDr. Radek Litvín, Ph.D.</b>                                                                                                                                                                                              |
| <b>Habilitační práce</b>                              | Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life                                                                                                                                                                 |
| <b>Oponent (doplnit jméno a příjmení vč. titulů):</b> | Prof. ing. Miloš Barták, CSc.                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Pracoviště oponenta, instituce</b>                 | Ústav experimentální biologie, Oddělení experimentální biologie rostlin, Laboratoř fotosyntetických procesů, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Univerzitní kampus Brno-Bohunice, Kamenice 5, C13/119, 62500 Brno |

### Formální aspekty práce

Habilitační práce je psaná formou celkového přehledu problematiky uvedené v názvu habilitační práce, a to se specifickým zaměřením na odborná témata související s absorpcí a transformací energie fotosynteticky aktivního záření ve světlosběrných komplexech a superkomplexech fotosystémů PSI a PSII. Výběr tématu i celkového zaměření habilitační práce odráží témata odborných publikací, které uchazeč publikoval v posledních letech. Z tohoto pohledu lze ocenit uchazečovu publikační aktivitu, a to ať již jako prvoautora, či jako člena širší autorské skupiny. Celková publikační aktivita uchazeče je vynikající.

Práce je psána v anglickém jazyce a z formálního hlediska velmi dobrou profesní angličtinou prostou laboratorního žargonu či moderních 'trendy' výrazů. V angličtině habilitační práce je jen minimální množství gramatických či syntaktických chyb a po formální stránce jí nelze nic vytknout. Velmi oceňuji preciznost veškerých odborných vyjádření, která jsou psána velmi přesnou 'biofyzikální' angličtinou, a proto prakticky nepřipouštětelný možný nesprávný význam. V neposlední řadě oceňuji i velmi osobní pohled, který autor včlenil do popisu 'milníků', které lemovaly jeho profesní dráhu v průběhu PhD studia a následného období vedoucí k habilitaci. Z 'Preface' je patrné, že autorův popis jeho pracovní historie na půdě Jihočeské univerzity není ani zdaleka formální a že odráží týmovou práci a společenského ducha, který biofyzikální pracoviště JČU již tradičně provázejí.

Formální členění habilitační práce je typické pro práce tohoto typu a splňuje nároky kladené na habilitační práce. Autor se v expozé (s. 1- 24) zaměřil na obecné charakteristiky PSI, PSII, cytochromu b6f a dalších proteinových komplexů a v hutném kompediu popsal současný stav problematiky primárních fotochemických procesů fotosyntézy vázaných na absorpci fotosynteticky aktivního záření a její transformaci ve světlosběrných komplexech a fotosystémech. Tato část je psána velmi příjemným, čtivým jazykem a je atraktivní i pro čtenáře, který přímo nepracuje v úzce vymezené odborné oblasti biofyziky fotosyntézy. S ohledem na název habilitační práce je velmi přínosné, že autor věnoval poměrně velkou část obecného úvodu problematice absorpce energie dopadajícího záření a strukturu jednotlivých pigmentů, pigment-proteinových komplexů, které se účastní transformace absorbované energie (bliže viz Specifické aspekty práce)

V další pasáži textu habilitační práce se autor zaměřil na hlavní výsledky své práce za poslední období. Po přečtení je zřejmé, že habilitant vybral opravdu to podstatné, co prezentované (a publikované) práce přinášejí a hlavní výsledky doplnil krátkým ale velmi dobře cíleným komentářem. Z formálního

hlediska je důležité konstatovat, že výsledky kontroly textu habilitační práce antipalgiátorským programem potvrzují autorství textu RNDr. Radka Litvína.

### Specifické aspekty práce

Z odborného hlediska je habilitační práce psána velmi precizně a nemám žádné výhrady k výsledkové a interpretační části práce. Velmi jsem ocenil výsledky získané v oblasti komponent nefotochemického zhášení (NPQ) u eustigmatofytních řas, a to zejména příspěvku konverze pigmentů xantofylového cyklu. Ocenil jsem autorovo kritické hodnocení korelace hodnot NPQ a zeaxantinu neboť příspěvek tvorby zeaxantinu do celkového nefotochemického zhášení se zdá být u těchto autotrofních organismů relativně malý (s.46). Rovněž oceňuji autorův rozbor výpočtu hodnot NPQ na základě automatizovaných časových schémat, která jsou dostupná prakticky ve všech vědecky využívaných modulovaných fluorometrech. Proto podporuji autorovy závěry týkající se detailní analýzy zhášení fluorescence chlorofylu (NPQ) v období těsně po odeznění saturačního pulsu. Rovněž analýza relaxačních (temnotních) kinetik fluorescence chlorofylu (ve vysokém časovém rozlišení), a komponent NPQ, jak autor naznačuje na jiném místě textu habilitační práce, je cestou, jak přesně analyzovat transformaci absorbované energie fotosynteticky aktivního záření u autotrofních mikroorganismů vyskytujících se v prostředích s dynamicky se měnícími se radiačními podmínkami (včetně autorem studovaných mořských rozsivek).

### Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

Výsledky, které habilitant ve své habilitační práci uvádí, jsou již publikovány v odborných člancích v časopisech s vysokou hodnotou impakt faktoru (IF), které jsou profesně velmi dobře etablovány v oblasti výzkumu fotosyntézy. Jednotlivé habilitantem publikované články prošly standardním oponentním řízením těchto odborných časopisů, což je zárukou jejich vysoké odborné kvality. Proto mám pro potřeby obhajoby pouze několik dílčích koncepčně-metodických otázek a také několik otázek týkající se interpretace habilitantem získaných výsledků.

(1) Ve své odborné práci jste se v posledním desetiletí zaměřil na modelové druhy eustigmatofytních mořských řas, zejména *Nannochloropsis oceanica*. Mohl byste charakterizovat fotoochranné mechanismy, které u tohoto druhu můžeme považovat za takzvané 'rychlé' a 'pomalé' komponenty nefotochemického zhášení?

(2) Jaký je Váš názor na roli molekul chlorofylů, takzvaných *red-shifted chlorophylls* lokalizovaných ve světlosběrných komplexech v procesu absorpce záření a emise fluorescence u sladkovodních eustigmatofytních řas?

(3) V jednom z příložených odborných článků (Bína et al. 2016, Scientific Reports) jste se jako člen širší pracovní skupiny zabýval strukturními aspekty thylakoidní membrány chloroplastu u rozsivek vystavených záření s posílenou červenou složkou spektra. Studovaným fenoménem byla laterální heterogenita fotosystémů, zejména PSI, takzvaná laterální segregace. Mohl byste komentovat jakou rychlostí takto indukované změny probíhají (tj. minimální expoziční doba) a jsou-li vratné?

(4) Mohl byste porovnat strukturu LHCII-PSII komplexů Vámi studovaných druhů řas se strukturou LHCII-PSII komplexů jednobuněčných řas rodu *Trebouxia*?

### **Závěr**

S ohledem na výše uvedené části posudku mohu konstatovat, že předkládaná habilitační práce je velmi kvalitní a odráží výzkumné aktivity habilitanta. Práci samotnou hodnotím velmi vysoko a nemám k ní žádné výhrady. Proto ji rád doporučuji k obhajobě. Po úspěšné obhajobě pak navrhuji udělit uchazeči akademický titul docent.

Habilitační práce RNDr. Radka Litvína, Ph.D. „Light harvesting in eukaryotic algae - Where light meets life“ **splňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Biofyzika.

V Brně, dne 25.3.2025

prof. Miloš Barták

podpis oponenta

