



## Posudek oponenta habilitační práce

<b>Masarykova univerzita</b>	Přídodovědecká fakulta
<b>Fakulta</b>	Molekulární biologie a genetika
<b>Obor řízení</b>	<i>Mgr. Roman Hrstka, Ph.D.</i>
<b>Uchazeč</b>	Přídodovědecká fakulta
<b>Pracoviště uchazeče</b>	<i>Úloha proteínu rodiny Anterior gradient v lidských nádorech</i>
<b>Habilitační práce (název)</b>	MVDr. Juraj Kopáček, DrSc.
<b>Oponent</b>	Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV
<b>Pracoviště oponenta</b>	

### Text posudku

Nádorové ochorenia patria v súčasnosti k najčastejším príčinám úmrtí ľudí. Napriek obrovskému pokroku v biomedicínskom výskume nádorových ochorení, terapeutická účinnosť liečby vykazuje značné rozdiely v závislosti na mnohých faktoroch ovplyvňujúcich nádor a nádorové mikroprostredie. Nádory u ľudí sú charakteristické veľkou heterogenitou spôsobenou mnohými faktormi či už biologickými, genetickými alebo exogénnymi. Všetky tieto faktory priamo alebo nepriamo ovplyvňujú voľbu a najmä účinnosť zvolenej terapie. Nádorová terapia je tradične založená na chemoterapii a rádioterapii. Avšak v poslednom období sa veľká pozornosť venuje aj kombinácia viacerých typov terapie v závislosti od typu nádoru a jeho nádorových markerov. Preto je mimoriadne dôležité charakterizovať jednotlivé typy malignít práve na základe detailného poznania špecifických markerov a takto mať možnosť voľby cielenej terapie pre konkrétnu malignitu respektíve konkrétneho pacienta.

Habilitačná práca Mgr. Romana Hrstku PhD, popisuje proteíny z rodiny Anterior gradient, AGR2 a AGR3 ako perspektívne nové nádorové markery u niektorých nádorových ochorení ľudí. Z tohto pohľadu je habilitačná práca vysoko aktuálna. V teoretickom úvode autor predstavuje rodinu Anterior gradient proteínov popisuje ich nomenklatúru, kódujúce gény a ich funkciu hlavne v spojitosti s predikovanou PDI aktivitou v endoplazmatickom retikule. Nosnú a poznatkovo najdôležitejšiu a najhodnotnejšiu časť práce predstavuje skúmanie a opis vzťahu AGR2 a AGR3 k nádorovým ochoreniam. Autor vedecky, ale aj čitateľsky veľmi atraktívnym spôsobom popisuje svoju niekoľko ročnú prácu zameranú na

objasňovanie vzťahu proteínov AGR2, AGR3 a procesom karcinogenézy. Komplexnosť tohto prístupu je skutočne obdivuhodná a dokumentuje autorovu vedeckú erudovanosť. V úvode svojej práce sa autor zameril na skúmanie expresie AGR2 a AGR3 u pacientiek s karcinómom prsníka. Práve tieto a následné analýzy mu umožnili identifikovať vzťah medzi hladinou EsR a AGR2 čo je jeden z kľúčových poznatkov v habilitačnej práci Mgr. Romana Hrstku PhD. Korelácia tohto vzťahu bola následne detailne študovaná a autorovi sa podarilo identifikovať klasickú „promótorovú“ dráhu regulácie AGR2 cez ERE element v promótoře génu. O originalite a dôležitosti týchto zistení svedčí fakt, že výsledky práce boli publikované v prestížnom časopise *Oncogene*. Navyiac autor popri klasickej EsR závislej, odhaľuje aj neklasický mechanizmus účinku EsR na expresiu AGR2 cez väzbu na AP-1, čo autora logicky priviedlo ku skúmaniu zapojenia zodpovedajúcich signálnych dráh ERK/2, JNK alebo p28 MAPK. Pri tomto bádani autor použil celú škálu moderných prístupov ako je napríklad chromatinová imunoprecipitácia či využitie rôznych reportérových vektorov a inhibítorov signálnych dráh.

V ďalšej časti práce sa autor zaoberá detailným štúdiom vzťahu medzi expresiou AGR2 a negénomovou aktivitou EsR. Tu autor popisuje originálne poznatky získané pri štúdiu vzťahu AGR2 a niektorými signálnymi dráhami aktivovanými napr. rastovými faktormi. Kvalita výsledkov týchto štúdií je preukazateľne dokumentovaná publikáciou v časopise *Cancer letters*.

Pri skúmaní vzťahu expresie AGR2, ktorá je nezávislá na prítomnosti EsR autor vychádzal s pozorovaní medzi koreláciou expresie AGR2 a prítomnosti receptorov HER2 pri nádoroch mliečnej žľazy. Výsledkom tohto štúdia je dôležité zistenie, že expresia AGR2 môže slúžiť ako negatívny prognostický faktor u EsR negatívnych, ale HER2 pozitívnych nádorov.

Komplexnosť predkladanej habilitačnej práce je následne dokumentovaná štúdiom funkcie proteínov AGR2 a AGR3 na bunkovej úrovni. Autor sa hlavne zameril na identifikáciu väzobných partnerov týchto proteínov, pričom k tomu využil viacero proteomických alebo bunkových prístupov. O vhodne zvolených experimentálnych postupoch svedčí fakt, že autor bol schopný identifikovať nové väzobné molekuly hlavne z rodiny PDI, čo bolo následne potvrdené imunoprecipitáciou a na bunkovej úrovni „*in vivo*“ pomocou Proximity Ligation Assay. Nesporne dôležitý poznatok sa dosiahol identifikáciou AGR2 homodimérov ako aj AGR2/3 heterodimérov. Vysokú erudíciu pracoviska, kde Mgr. Hrstka pôsobí, názorne dokumentuje práca v *Journal of Molecular Biology* v ktorej kolektív autorov pomocou

moderných sofistikovaných proteomických prístupov identifikoval Reptin, ako špecifického väzobného partnera AGR2.

Precízne štúdium a mapovanie AGR2 v bunkách, umožnilo aj identifikáciu vzťahu AGR2 a p53, čo viedlo k poznatku o inhibícii transkripčnej aktivity p53 pri zvýšenej hladine proteínu AGR2.

Velmi kladne treba hodnotiť, že systematickým štúdiom sa v práci dospelo k objasneniu signálnej dráhy regulovanej pomocou AGR2.

Záverečná časť práce sa zaoberá úlohou AGR2 v procese metastáz a následne taktiež mapuje expresiu najmä AGR2 aj u iných ľudských nádorových ochorení. Kvalita tejto časti je opäť dokumentovaná review článkom v Cancer letters.

Autor v predkladanej práci jasne dokumentuje svoje vedecké zručnosti a myšlienkovú zrelosť, určite vycibrenú aj jeho dlhoročnou prácou na špičkovom pracovisku pod vedením RNDr. Bořivoja Vojtěška DrSc. Svoje poznatky zo štúdií vzťahu proteínov rodiny Anterior gradient Mgr. Hrstka jasne dokumentoval publikovaním viacerých prehľadových článkov v ktorých je autorom a sú súčasťou príloh tejto habilitačnej práce.

#### Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

- Z doterajšieho štúdia je zrejmé, že AGR2 je veľmi atraktívnou molekulou s pohľadu nádorovej progresie. Ako je známe významnú úlohu v tomto procese zohráva hypoxia. Bolo by možné ozrejmiť vzťah AGR2 a hypoxického prostredia?
- AGR2 môže byť sekretovaný mimo bunku. Dalo by sa predkladať, že by mohol existovať receptor AGR2?

#### Závěr

Habilitační práce Mgr. Roman Hrstki, Ph.D. „Úloha proteínu rodiny Anterior gradient v lidských nádorech“ **splňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Molekulární biologie a genetika.

V Bratislave dne 4.1.2017

.....  
podpis