



Příloha č. 11

Posudek oponenta habilitační práce

Masarykova univerzita	
Fakulta	Přírodovědecká
Obor řízení	Biochemie (habilitační řízení)
Uchazeč	<i>Mgr. Pavel Bouchal, Ph.D.</i>
Pracoviště uchazeče	Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav biochemie, Brno
Habilitační práce (název)	<i>PROTEOMICS IN MOLECULAR ONCOLOGY AND IN BIOTECHNOLOGY</i>
Oponent	RNDr- Hana Kovářová, CSc.
Pracoviště oponenta	ÚŽFG AV ČR, v.v.i.Liběchov

Text posudku (rozsah dle zvážení oponenta)

Habilitační práce v pevné vazbě formátu A4 má rozsah 50 stran včetně použité literatury a seznamu publikací autora zahrnutých v práci. Kopie těchto publikací v plném rozsahu následují. Práce je vypracována v jazyce anglickém. Je členěna do kapitol zahrnujících: 1. Předmluva, 2. Úvod, 3. Proteomika, nástroj pro komplexní proteinovou analýzu, 4. Cíle práce, 5. Proteomika vmolekulární onkologii, 6. Proteomika vbiotechnologických aplikacích, 7. Závěry, 8. Použitá literatura, 9. Přílohy – Publikace.

Záměry práce jsou jasně formulovány, jak pro možnosti proteomiky v oblasti molekulární onkologie, tak i pro podrobnou analýzu biochemických mechanismů u vybraných bakterií.

V úvodu habilitační práce jsou stručně, ale výstižně, popsány, klasické i stávající proteomické metody a přístupy s uvedením výhod či limitací jednotlivých postupů. Na konci každé metodické části je uvedena vlastní zkušenost uchazeče spolu s jeho týmem při využití těchto postupů a výsledné publikace výsledků.

Část „Proteomika v molekulární onkologii“ se zaměřuje na 1) Identifikaci, verifikaci a validaci potenciálních biomarkerů spojených s metastázou lymfatických uzlin u nádoru prsu, zejména luminal A subtypu s klasifikací „low-grade“ nádoru; 2) Verifikaci vybraných potenciálních biomarkerů s využitím cílené proteomiky; 3) Klasifikaci nádorové tkáně na základě proteomických profilů a korelace s transkriptomovým profilem; 4) Selekcce biomarkerů detekci nádoru a neinvazivní sledování terapie. Společným rysem většiny prací, v souladu se současnými požadavky pro publikační výstupy, je verifikace ortogonální metodou, porovnání proteomických dat s transkriptomickými výsledky, a validace na klinickém setu nezávislých vzorků.

Postupy s použitím jak 2-DE separace a MS tak především shotgun proteomiky byly využity při identifikaci proteinů spojených s metastatickým procesem spolu svýběrem slibných biomarkerů. Reprezentativní studie publikovaná v r. 2015 v MCP popisuje karyoxypeptidasu B1 a nukleární faktor kappaB asociované proteiny za slibné biomarkery „low grade“ nádoru prsu. Zvýšení CB1 hladiny a aktivace NF-kappa B dráhy reprezentují pro-metastatické mechanismy unikátní pro „low grade“ nádor. Práce jiných autorů poukázala na blokaci NF-kappa B dráhy jako prostředku pro efektivní terapii u časného nádoru prsu. Dalšími

zajímavými proteiny v této práci byly proteiny spojené s cytoskeletem, jako PDLIM2 a transgeliny.

Verifikaci vybraných potenciálních biomarkerů s využitím cílené proteomiky, zejména SRM, je velmi perspektivní i z pohledu možného klinického použití. SRM analýza transgelinů a dalších 11 validovaných proteinů (uvedená v této práci a podaná k publikaci) propojuje několik aspektů agresivity nádoru prsu.

Není překvapivé, že cDNA profily carcinomu prsu byly odlišné od proteomických. To jednoznačně vyhrazuje proteomice možnost využít její potenciál k lepší a klinicky využitelné klasifikaci nádoru prsu.

Druhá část práce „Proteomika v biotechnologických aplikacích“ se soustředí na aplikaci proteomiky: 1) u denitrifikujících bakterií s ohledem na mechanismy regulace a odpověď na redox zátěž; 2) pro dynamickou analýzu růstových podmínek u síru-oxidujících bakterií. Proteinové složení 4 kmenů *Paracoccus denitrificans* (1 WT + 3 specificky deletované či mutantní) rostoucích za různých podmínek v přítomnosti nitrátu odhalilo několik způsobů regulace. Současně poskytlo nejvíce ucelené pokrytí proteomu této bakterie, dostupné v on-line databázi.

Acidofilní mikroorganismy, schopné oxidovat dvojmocné železo a anorganickou formu síry jsou dalším zájmem a z původní 2DE analýzy se přesunují k LC-MS.

Uved'te, prosím, které ze stávajících proteomických nálezů u těchto bakterií jsou perspektivní z pohledu biotechnologického využití.

Souhrně lze předloženou habilitační práci považovat za přínosnou z toho pohledu, že se dotýká aktuálních tématik a současně ukazuje multidisciplinární charakter proteomiky. Z předkládaných prací, včetně uvedeného podílu předkladatele habilitační práce je patrné, že se autor aktivně podílel a přispěl k úspěšnému řešení různých fází řešených projektů.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce (počet dotazů dle zvážení oponenta)

Jakým možným mechanismem či funkcí se v metastatickém procesu „low grade“ nádoru prsu uplatní aktivita NF-kappa B dráhy a její blokáce?

Pokoušel se tým autorů uplatnit tyto výsledky (SRM analýza transgelinů a dalších 11 validovaných proteinů) jinak, než formou publikace?

Je vývoj metody monitorování nových specifických proteinů, jednotlivých či v multiplexním provedení, reálnou cestou k personalizované medicíně popř. přesnější medicíně u nádoru prsu?

Uved'te, prosím, které ze stávajících proteomických nálezů u studovaných bakterií jsou perspektivní z pohledu biotechnologického využití.

Závěr

Habilitační práce Mgr. Pavla Bouchala, Ph.D. „PROTEOMICS IN MOLECULAR ONCOLOGY AND IN BIOTECHNOLOGY“ ***splňuje*** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Biochemie.

V Brně dne

RNDr. Hana Kovářová, CSc.
podpis