

Oponent: Mgr. Leona Nevěliková

### **POSUDEK OPONENTA:**

Diplomová práce Lenky Vilímkové s názvem „**Studium enzymových systémů kvasinky *Candida tropicalis* zodpovědných za hydroxylaci fenolu**“ je zaměřena na sledování metabolismu fenolu, konkrétně jeho hydroxylace na katechol, v mikrosomální a cytosolární frakci kvasinky *Candida tropicalis*, kmen Ct2. Oxidace fenolu byla sledována z hlediska různých typů kultivace buněk a z hlediska doby skladování zmražených buněk *Candida tropicalis*. Dále se práce zabývá optimalizací izolace a charakterizací NADPH-dependentní fenolhydroxylasy, tedy enzymu, který je přímo odpovědný za hydroxylaci fenolu v cytosolární frakci buněk *C. tropicalis*.

Práce má 87 stran a je přehledně dělena do sedmi kapitol. Kapitola „Úvod“ je zpracována velmi přehledně a shrnuje již publikované informace o vlivu xenobiotik na životní prostředí a o jejich metabolismu. Dále se zabývá průmyslovým využíváním fenolických látek a řeší jejich toxicitu. Nakonec shrnuje i poznatky o mikroorganismech a jejich enzymech, které degradují fenolické látky. Kapitola „Cíl diplomové práce“ vytyčuje tři hlavní cíle práce. Kapitola „Materiál a metody“ výstižně shrnuje použité přístroje a reagentie a popisuje používané metody. Autorka si při vypracování diplomové práce osvojila mikrobiologické, analytické i biochemické metody. Kapitola „Výsledky“ přináší přehledně zpracované získané výsledky diplomové práce. Tedy výsledky zabývající se izolací obou subcelulárních frakcí, sledování fenolhydroxylasové aktivity, optimalizací izolace NADPH-dependentní fenolhydroxylasy a její charakterizací. Kapitola „Diskuse“ výstižně diskutuje získané výsledky. Kapitola „Závěr“ konstatuje, že cíle diplomové práce byly splněny a stručně shrnuje získané výsledky. Seznam použité literatury obsahuje 73 citací.

Práce má dobrou formální úroveň s minimem překlepů, některé věty ale nejsou gramaticky úplně správně.

Celkově lze konstatovat, že práce přináší řadu nových výsledků a diplomantka prokázala způsobilost k samostatné koncepční práci, k řešení dané problematiky i k práci s literaturou.

K práci mám tyto připomínky a dotazy:

- 1) Cizí nebo počeštěné výrazy by měly být dány do uvozovek. (např. „blank“, str. 38)
- 2) Co jsou to parafarmaceutika? (str. 23)
- 3) Co je to limitované medium? (str. 34)

- 4) Při stanovení aktivity NADPH:CYP reductasy je v postupu napsáno, že bylo použito takové množství vzorku, aby změna absorbance byla lineární po dobu jedné minuty. Jaké množství vzorku to bylo?
- 5) Co znamená zkratka BSM medium a z čeho se toto medium skládá?
- 6) Jak byl 1000 l fermentor před kultivací čištěn a sterilizován?

Práce v plné míře vyhovuje požadavkům kladeným na diplomové práce v oboru biochemie na PřF UK, proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou „výborně“.



podpis oponenta