

Oponentský posudek disertační práce

Biotransformace fenolických látek enzymovými systémy kvasinky *Candida tropicalis* a bakterie *Comamonas testosteroni*

Autor: RNDr. Lenka Vilímková

Oponent: Doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc., Ústav biologie a lékařské genetiky UK II. LF, Praha

Téma disertační práce RNDr. Lenky Vilímkové se soustřeďuje na izolaci a charakterizaci enzymů, které řídí biodegradaci fenolu kvasinkami *Candida tropicalis* a bakteriemi *Comamonas testosteroni*. Cíl práce sleduje aktuální trendy v dekontaminaci fenolických látek z vnějšího prostředí, kam se dostávají průmyslovou činností a rizikovým zacházením s odpady, a rozšiřuje poznatky o enzimech, které se podílejí na biodegradaci fenolu, jmenovitě o NADPH-dependentní fenolhydroxylase a katechol-1,2-dioxygenase.

Předložená česky psaná disertační práce je souhrnem výsledků tří původních vědeckých prací, kde byla kandidátka jednou prvním autorem, jednou druhým a jednou pátým spoluautorem. Články byly publikovány v renomovaných mezinárodních časopisech a soubor prací vytváří logicky propojený celek. Disertace je přehledně a logicky členěna a představuje ucelenou výzkumnou studii. K dobré orientaci v odborně náročném textu pomáhá seznam použitých zkratk. V disertaci RNDr. Lenky Vilímkové hodnotím kladně úvodní část, která představuje zasvěcený přehled o enzimech metabolizujících fenol. Tato část by mohla sloužit jako základ přehledného článku. Kapitola zabývající se metodami je velmi podrobná a ukazuje, že autorka zvládla metody klasické izolace enzymů a jejich strukturní a kinetické charakterizace. Ve všech případech studia daných enzymů byla volba metody adekvátní testovaným hypotézám. Kapitola Výsledky shrnuje data všech publikací uvedených v příloze. Třebaže není disertační práce v některých ohledech pionýrskou prací, získala RNDr. Vilímková se spolupracovníky velmi zajímavé výsledky: poprvé publikovanou úspěšnou metodu izolace katechol-1,2-dioxygenázy z cytosolu kvasinky *C. tropicalis* a původní charakterizaci bakteriálního enzymu bakterie *Comamonas testosteroni*. Studie RNDr. Vilímkové tedy pomohly objasnit některá nová data týkající se přípravy a charakterizace enzymů degradujících fenolické látky kvasinky *C. tropicalis* a bakterie *C. testosteroni*.

Po stránce formální je práce zpracována na dobré úrovni s minimem překlepů, které jsem s kandidátkou probral ústně. Jedinou výtku mám k názvosloví enzymů, které je v češtině

jednoslovné, proto se přimlouvám za název pro disertaci klíčového enzymu: katechol-1,2-dioxygenasa a dále glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasa, glutamátdehydrogenasa, fruktosa-6-fosfátkinasa a pod. Ve vlastní tématice a věcném obsahu nemá práce zásadní slabiny, které by bylo třeba vytknout; a získané výsledky jsou hodnotné. Svědčí to o velmi dobrém vedení školitelem a o odborných kvalitách řešitelského teamu. Proto mám kromě několika málo věcných otázek pouze formální připomínky:

- 1) Nešel by termín degradér nahradit vhodnějším českým pojmen, i kdyby šlo o opis?
- 2) Citace doporučuji psát v plné formě, tedy i s názvy prací.
- 3) Jaký je rozdíl mezi termíny nabohacen a obohacen o?

Zmíněné otázky jsou následující:

- 1) Jaký je chemismus působení DEAE Sepharosy? Co si myslíte o tvrzení týkajícím se tohoto anexu na straně 60?
- 2) Jaké bezpečnostní opatření jste používala při práci s fenolem, který je v molekulárně biologických metodách stále více nahrazován méně nebezpečnými látkami?
- 3) Jak vysvětlujete pozdější eluci částečně purifikované fenolhydroxylasy při rechromatografii než u počáteční chromatografie?
- 4) Jak jste prokázala, že „proužky“ na SDS-PAGE-gelu jsou skutečně proužky NADPH-dependentní fenolhydroxylasy nebo katechol-1,2-dioxygenasy? Prováděla jste westernův přenos?
- 5) Můžete znovu interpretovat výsledky v Tabulce 8? Při které hodnotě pH bylo dosaženo nejvyšší V_{max} ?
- 6) Jakými metodami a z jakých zdrojů byly izolovány enzymy v diplomových pracech J. Pácy (2005) a V. Kremličkové (2005)?
- 7) Jaký byl podíl Vaší práce v publikacích 1 a 3 v příloze?

Celkově lze disertační práci hodnotit pozitivně jako užitečný příspěvek k problematice biologické remediace fenolických látek ve vnějším prostředí. Předloženou disertační práci i přes formální a věcné připomínky považuji za kvalitní a její výsledky za originální. RNDr. Lenka Vilímková prokázala schopnost samostatné vědecké práce, a proto doporučuji, aby práce byla přijata jako podklad pro disertační řízení a jmenování RNDr. Lenky Vilímkové PhD.

jaroslav.mares@lfmotol.cuni.cz