

СТАНОВИЩЕ

от проф. Мария Богомилова Ангелова, д.б.н., Институт по микробиология, „Стефан Ангелов” при БАН

върху дисертационен труд, представен за защита пред научно жури за получаване на образователната и научна степен “доктор”

Автор на дисертационния труд: Емилия Иванова Писарева

Тема на дисертационния труд: “Изследване на механизма за биосинтеза на цитринин при гъби от род *Monascus*”

Съвременните тенденции в хранително-вкусовата и козметична промишленост се характеризират с интензивно навлизане на природни хранителни добавки и оцветители. В Азия, пигментите, синтезирани като вторични метаболити от представители на род *Monascus*, се използват за тази цел, а така също и в народната медицина, още от древността. В последните години се отбелязва значително разширяване на техния периметър на приложение в Европа и Америка. Това от своя страна изисква повишаване знанията относно биосинтезата и регулацията на пигментите, детайлно охарактеризиране на химическата им структура и на фармакологичните им и токсикологични свойства. В по-голямата си част, усилията на изследователите са насочени към създаване на ефективни методи за биосинтеза на *Monascus* пигменти. Един от най-важните аспекти в проучванията е свързан с изясняване на механизмите на регулация на тяхната биосинтеза. Получената информация може да бъде полезна, за да се избегне присъствието на нежелани метаболити, някои от които са токсични. Тук идва изследването на Емилия Писарева, за да допринесе за разбирането, че създаването на технологии за подобни продукти трябва да върви едновременно с охарактеризиране на съпътстващите ги токсични ко-продукти. Всичко това доказва актуалността и необходимостта от разработката. Освен това, Писарева има шанса да работи в школата на д-р Куюмджиева, което е предпоставка за съвременно ниво на изследванията и за израстване на квалифициран млад учен в областта на микробиологията.

Основната насоченост на тезата е свързана с получаване на нови знания относно ролята на генетичните особености при регулиране биосинтезата на цитринин при гъби от род *Monascus* в зависимост от условията на култивиране. Целта е да се докаже молекулната база за биотехнологичния потенциал на цитринин несинтезиращи щамове, продуценти на ценни пигменти.

Дисертационният труд на Писарева е написан в отличен научен стил, с ясно излагане на експерименталните данни и обсъждане на основата на публикуваното в литературата с акцент от последните 10 години. Обзорът представлява задълбочено

описание на състоянието на проблема в световен мащаб, от което се очертава целта на разработката и задачите за нейното постигане.

В експерименталната работа е използван много широк набор от методи. Без да пренебрегва рутинните, авторката е усвоила и приложила най-съвременни микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и биоинформатични методи. Искам да подчертая, че е използван много удачен подход – сравняване генетичните особености на щамове *Monascus*, продуценти на пигменти, но с различен потенциал за синтеза на цитринин.

Извършена е сериозна и трудоемка работа за доказване ролята на физичните и химичните фактори на средата върху образуването на пигменти и цитринин; проведени са детайлни сравнителни *in silico* и биохимични анализи на ензими от основните метаболитни пътища, както и *in silico* анализ на гените, кодиращи тези ензими; доказана е ролята на активатора на ген *pksCT*, отговорен за регулацията на цитрининовата синтеза. След подходящо подбрани изследвания, реализирани на съвременно ниво е разработен модел, който дава възможност да се оцени участието на вторичните метаболити в стратегията на микробните клетки за адаптация към условията на средата.

Изводите съответстват на получените резултати и подчертават мащаба на изследванията и тяхната теоретична и приложна значимост.

Получени са резултати, които дават нова информация за биохимичната и генетична база на цитринин-несинтезиращи продуценти на пигменти. Подобни резултати в научната литература се срещат рядко. Докторантката е описала добре състоянието на този проблем в обзора, но според мен не е използвала достатъчно литературните данни в раздел „Резултати и дискусия“, което би дало възможност на читателя да оцени оригиналните приноси.

От направените с разработката приноси искам за подчертая следните:

1. Селектиран е оригинален, високоефективен щам *Monascus pilosus* C1, продуцент на пигменти с делеция на ген *pksCT*, кодиращ синтезата на микотоксина цитринин. Този щам може да бъде база за производство на пигменти без наличието на токсични ко-продукти.

2. Доказано е, че оптималните условия за продукцията на пигмент не предизвикват образуването на цитринин.

3. Разработен е модел за биохимичен и *in silico* анализ за сравнително проучване особеностите на вторичния метаболизъм при аскомицети. Доказано е че, активното участие на ключови ензими в основните метаболитни пътища не е свързано с биосинтезата на цитринин.

4. Потвърдено е значението на специфичен ген *pksCT* за биосинтезата на цитринин при щамове от род *Monascus*.

5. Постигнато е оригинално продължение на разработките на лабораторията за продукция на пигменти от *Monascus* без примеси на токсини на съвременен ниво и е доказана възможността за ефективното им получаване.

Резултатите на Емилия Писарева са включени в 4 научни статии, 1 заявка за патент и 5 участия в научни форуми. Всички статии са публикувани в реномирани списания с ИФ. Освен това тя е на първо място в статиите и постерите, което е указание, че резултатите в дисертацията основно са дело на докторантката.

В заключение: актуалността, както и теоретичната и приложна стойност на разработката са несъмнени, докторантката е усвоила широк набор от съвременни методи, получени са важни за науката и практика резултати, направени са оригинални приноси, които са станали видими за научната общност у нас и в чужбина.

Въз основа на направения разбор предлагам на уважаемите членове на Научното жури, сформирано със заповед на Ректора на Софийския университет „Св. Климент охридски“ да присъдят на Емилия Иванова Писарева образователната и научна степен “доктор”.

15. 02. 2013 г

София

Изготвил становището:

/проф. М. Ангелова д.б.н./