

РЕЦЕНЗИЯ

ОТ доц. Светла Трифонова Данова, дбн

Секция Микробна генетика при Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

НА дисертационен труд на тема:

**БИОСИНТЕЗА, ИЗОЛИРАНЕ И ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА КОЛАГЕНАЗИ ОТ
МЕЗОФИЛНИ И ТЕРМОФИЛНИ АКТИНОМИЦЕТИ**

Разработен от **Детелина Христова Петрова**, докторант по научна специалност
Микробиология, към Биологически факултет на Софийски университет ”Св. Климент
Охридски”,

научен ръководител: **проф. дбн. Стоян Влахов**

1. Актуалност и значимост на разработвания проблем

Дисертационният труд е посветен на проблем с непреходно значение – разработка на езними, с потенциал за приложение в биотехнологичните производства и в медицината. Независимо от множеството разработки по проблема в чужбина и у нас, докторантката е намерила нови аспекти, насочвайки се към термофилни актиномицети и продуцираните от тях протеолитични езними. Това доказва актуалността на разработката. В унисон с нуждите на пазара, работата съчетава търсенето на нови продуценти на колагенази сред мезофилните и термофилни представители на актиномицети. Разработени са щамове от колекцията на катедрата по Обща и промишлена микробиология, при Биологически факултет на СУ, в която са събрани изолати от различни географски райони у нас и в чужбина.

2. Оценка на структурата на дисертацията и получените резултати

Дисертацията е изложена на 202 страници текст и спазва общоприетата схема както следва: *използвани съкращения* – 1 стр., *увод* – 1 стр., *литературен обзор*- 54 стр., *цел и задачи* – 1 стр., *материали и методи* – 14 стр., *резултати* - 90 стр., *обсъждане* – 14 стр., *изводи*– 1 стр., *приноси* -1 стр., *използвана литература* – 18 стр., *списък на научните публикации*- 2 стр.

Спазени са препоръчителните съотношения между отделните части на труда.

Цялостно работата се отличава със стегнат научен стил, без технически грешки.

2.1. Литературна осведоменост и постановка на целта и задачите

Литературният обзор е конкретен и в логическа последователност са разгледани общата характеристика на протеазите и в частност колагеназите с различен произход, технологичните и методични подходи за тяхното изолиране и характеризирание и условията за оптимизиране на продукцията на тези важни ензими. Обемът, структурирането и обобщената информация по проблема доказват, че докторантката е запозната в детайли с постиженията на световната наука и практика и това и позволява правилно да се насочи към решаването на актуални научни въпроси, без които е невъзможно внедряването на нови ензими.

Литературата е тясно свързана с дисертационната тема, обхваща обширен период от над 30 години, като значителна част от цитираните работи са от последните 10 години. Литературният списък включва 355 заглавия в т.ч. 337 на латиница и 18 на кирилица, което потвърждава добрата теоретична осведоменост на докторантката.

В светлината на представените научни търсения по проблема е формулирана ясно целта на докторантурата: *Проучване на мезофилни и термофилни актиномицети за продукция на колагеназа, тяхното изолиране, пречистване и физикохимично охарактеризиране с оглед на практическото им приложение.*

За постигането и са дефинирани 6 логически свързани задачи, с 10 подзадачи. Този факт доказва обем и мащабност на проучването.

2.2. Оценка на използваните материали и методи

Използваният набор от методи е адекватен за реализацията на дисертационния труд. Те са описани подробно и изцяло покриват разнообразните аспекти на работата. Най-голяма част от тях заемат микробиологичните и биохимичните методи. На места могат да бъдат избегнати някои подробности и технически детайли, което съм посочила в личен разговор с докторантката.

Решаването на експерименталните задачи е основано на правилен методичен подход, но в бъдещата работа е добре да се включат доказали своята ефективност нови молекулярни методи и подходи в охарактеризирането на белтъчни структури и на техните продуценти.

2.3. Оценка на получените резултати, изводите и приноси на дисертационния труд

Извършена е значителна по обем и съдържание експериментална работа, богато илюстрирана с 40 фигури и 33 таблици. Докторантката умело съчетава индуктивния подход, разделяйки резултатите от дискусията, като в отделни раздели прилага аргументиране на подхода за конкретния етап от изследването с теоретична постановка и/или с постиженията на други автори. Докторантката започва със скринингови тестове на 51 мезофилни стрептомицета и доказва висок процент протеолитични щамове в групата. Като добър микробиолог тя включва и класическо таксономично характеризирани на термофилния актиномицет, паралелно с работата по вече охарактеризирани в катедрата стрептомицетни и актиномицетни щамове от колекцията.

В работата личи стратегията за намиране на продуцента и за охарактеризиране всички аспекти на лабораторна оценка на перспективните щамове, без която не може да се премине към мащабиране и внедряване. Затова основната част от експерименталната работа е посветена на проучванията върху условията на растеж и колагенолитичната активност на подбраните *S. cremeus* 3В и *T. sacchari* 21Е и върху изолирането, пречистването и охарактеризирането на колагенази съответно от мезофилния и термофилен продуцент. Детелина Петрова критично оценява постигнатото по отношение на пречистването на ензимите при активните изолати *S. cremeus* 3В и *T. sacchari* 21Е и оптимизиране на средата и условията за тяхната синтеза. Много добро впечатление правят схемите по пречистване на колагеназите от избраните, като активни актиномицетни щамове (схема 1 и 2 на стр. 139 и 153).

Резултатите са представени подробно и аналитично, като благодарение на последващия раздел дискусия е направена цялостна оценка на постигнатото и изпълнението на задачите. Получените резултати са важни не само за реализиране целта на дисертацията, но и в приложен аспект: (1) охарактеризиран е технологично-важен ензим и (2) са предложени достъпни и евтини методи за изолиране и висока степен на пречистване на колагенази от мезофилен щам *Streptomyces cremeus* 3В и термофилен актиномицетен щам *Thermoactinomyces sacchari* 21Е. Това са безспорни приноси на работата.

Направените 10 извода са логично следствие от цялата разработка и дават информация за стойността на проведените експерименти. Бих препоръчала по-кратка формулировка на някои от изводите, напр. 4 и 5.

Приносите са ясно формулирани и могат да бъдат оценени като научно-приложни и такива с потвърдителен характер.

3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Резултатите от дисертационния труд са представени на 1 научен форум и са обобщени в 2 публикации, вкл. с ИФ. На всичките работи Детелина Петрова е първи автор, което доказва персоналното ѝ участие в разработката. Допълнително основание за това твърдение ми дават и личните впечатления от докторантката. Още като студентка тя се отличаваше с упоритост и прецизност в лабораторните изследвания, иновативно мислене и самостоятелност при разработване на дипломна работа. Подчертаният интерес към физиологията и биохимията на стрептомицети е в основата на упоритата работа с колекционните щамове на катедрата, съгласно целите и задачите на дисертацията. И резултатите са налице: Една от представените публикации на Детелина Петрова вече има 16 цитата, което е неоспорим атестат за значимостта ѝ.

4. Препоръки, забележки и въпроси

Представеният ми за рецензия труд е обемен (202 стр.) и считам, че има своя научен фокус и добра логическа конструкция, базирана на правилен методичен подход. Независимо от факта, че преобладават класическите микробиологични и биохимични изследвания, работата има своето значение. Искам да отбележа, че в дисертационния труд има достатъчно приложни резултати, които заслужават да бъдат оформени в последваща/и публикации и заедно с приносите те да получат публичност.

В тази връзка бих искала да попитам докторантката:

- (1) Как вижда бъдещето на тази разработка и може ли да се използват за внедряване двата активни щама?
- (2) Кои от модерните молекулярни методи би препоръчала за доразработване на подобни ензими /продуценти?

Позволявам си да препоръчам на докторантката в бъдеще да представя детайлите на използваните методични подходи само в раздел «Материали и методи», като ги ограничава

до необходимия за разбирането минимум в раздел «Получени резултати». Това обаче не намалява общата положителна оценка на работата.

5. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

Настоящият дисертационен труд е своеобразно надграждане на знанията и компетенциите на Детелина Петрова като микробиолог. От работата личи много добра литературна осведоменост, която може да бъде постигната само с помощта на умения за анализ и обобщение на научна литература (при това на английски език). Т.е. докторантката е подобрила както теоретичната си подготовка, така и практическите умения на микробиолог и биохимик.

Представените дисертация и автореферат доказват изградени умения за самостоятелна работа по конкретни научни задачи, за анализ и научно-издържана дискусия на получените резултатите и последващи обективни изводи.

Гореизложеното ми дава основание да смятам, че докторантката е придобила компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната и научна степен „Доктор”.

6. Заключение

В заключение искам да подчертая, че материалът е дисертабилен, докторантката е усвоила широк набор от методи, експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са база за следващи научни и приложни разработки. Въз основа на направения разбор, предлагам на уважаемите членове на научното жури, сформирано със заповед на Ректора на СУ No РД38-306/12.05.2015 г и в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на БФ - при СУ да присъдят на докторант Детелина Петрова, научната и образователна степен „Доктор“ по Професионално направление 4.3 Биологически науки, Научна специалност: Микробиология.

Гр. София

30.05.2015 г.

Рецензент:.....

(доц. дбн Светла Т. Данова)