

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Петя Койчева Христова

Биологически факултет, СУ „Св.Климент Охридски“

Катедра „Обща и промишлена микробиология“

Тема на дисертацията „Биосинтеза, изолиране и охарактеризиране на колагенази от мезофилни и термофилни актиномицети“,

Автор на дисертационния труд - Детелина Христова Петрова

Научен ръководител - проф. дбн Стоян Влахов

Представен за присъждане на **образователната и научна степен „доктор“**

Професионално направление: 4.3. Биологични науки (Микробиология)

1. Актуалност на тематиката

В съвременната биотехнологична индустрия получаването на ензими заема централно място. Едни от най-важните промишлени ензими, с най-дълга търговска история и отдавна регистрирани патенти са протеолитичните ензими. Постоянният ръст на пазара на индустриални ензими налага необходимостта от търсене и предлагане на нови биокатализатори от различни източници. Микробиалните протеази са търговски продукт с важна роля в биотехнологичните процеси. От особен интерес са специализираните проеази като колагеназите и еластазите, които имат приложение както в биотехнологичните производства, така и в медицината. Високата индивидуалност на всяка колагеназа обуславя различен механизъм на ензимно действие, което разширява сферата на приложение на колагенолитичните ензими. Микробиалните колагенази се продуцират основно от мезофилни микроорганизми, но тяхното широко-машабно индустриално приложение е затруднено, поради ниската им термостабилност. Затова разширяването на изследванията с термофилните актиномицети с цел търсене на продуценти на нови термостабилни ензими е особено перспективно. Самите термофилни организми са предпочитани за практическо приложение, не само поради високата термостабилност на продуцираните от тях ензимни комплекси, но и заради повишената скорост на растеж, интензивна акумулация на биомаса и значително по-кратко култивиране. Всичко това определя като перспективно, търсенето на нови продуценти както сред мезофилните, така е сред термофилните актиномицети, като продуценти на колагенази. Това определя темата на дисертацията не само като актуална, но и с реално практическо приложение.

2. Познаване на проблема

Литературният обзор на представената дисертация представлява едно задълбочено познание по темата за колагеназите. Докторантката с голяма прецизност и в логична последователност в първата част представя особеностите на колагеновата молекула и механизмите на действие на различните видове колагенази (тъканни и микробиални). Във втората част на обзора е направен преглед на технологичните схеми за изолиране и пречистване на колагеназите и в сравнителен план са представени основните физикохимични характеристики на изолираните до момента ензими. За подготовката по

проблема докторантката е използвала 355 литературни източника, които анализира и използва при интерпретацията на своите резултати.

3. Методика на изследването

В настоящото изследване докторантката е използвала класически микробиологични методи за изолиране и култивиране на актиномицетите, аналитични методи за определяне на специфичните ензимни активности, присъщи на колагеназните комплекси, математическо планиране на експеримента за увеличаване на продукцията на колагеназите и голям набор от биохимични и физикохимични методи за изолиране и пречистване на колагеназите. Усвояването на тези методи е предпоставка за формиране на качествени умения и нови компетенции в докторантката.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представената за становище дисертация е структурирана съобразно общоприетите изисквания. Написана е на 202 стр, като резултатите са представени с 45 фигури, 38 таблици и 2 схеми. Целта е ясно формулирана и за нейното постигане са поставени 6 основни задачи. Получените резултати показват, че колагеназната активност е присъщо свойство както на мезофилните, така и на термофилните актиномицети. За подбраните два перспективни щама-продуценти *Streptomyces cremeus* 3В и щам *Thermoactinomyces sacchari* 21Е са разработени успешни индивидуални подходи за повишаване на продукцията на колагеназите, технологични схеми за изолиране, пречистване и характеризиране на компонентите в колагенолитичните комплекси. Извършената експериментална работа е огромна по обем, изключително логично представена от докторантката на много добър научен език и добре илюстрирана с фигури и таблици. Дисертацията представлява едно пълно и завършено изследване по зададената тема, в която ясно се очертават четирите основни приноса:

-Изолиран и характеризиран е мезофилен стрептомицетен щам *S. cremeus* 3В продуцент на конститутивна колагеназа с висока активност.

-За първи път е изолирана, пречистена и характеризирана термофилна колагеназа от вида *T. sacchari*.

- Предложени са оптимизирани хранителни среди за култивиране на щамове-продуценти на колагенази, които биха могли да се използват в подобни изследвания.

- Разработени са достъпни и евтини методи за изолиране и висока степен на пречистване на колагенази от мезофилни и термофилни актиномицети.

5. Публикации и личен принос на докторанта

Получените резултати са представени в две научни публикации и в едно участие на научен форум. Едната от статиите е публикувана в реферирано научно списание - Journal of Basic Microbiology, с IF: 0.722 и по нея са забелязани 16 цитата. Счита се, че в представената дисертация има още много резултати, които могат да намерят място в научната литература. Познавам трудолюбието и усърдието на докторантката и мога да потвърдя, че цялата дисертация е самостоятелно дело на Детелина Петрова.

6. Автореферат

Представеният автореферат отговаря на изискванията и отразява основните резултати в дисертацията.

7. Забележки и въпроси

Към докторантката имам следните въпроси:

- а) Продукцията на колагенази при повечето бактерии се счита за един от факторите на инвазивност. Как може да се обясни синтеза на високо активна колагеназа от актиномицетни щамове, които не се причисляват към групата на патогените?
- б) Правени ли са експерименти за практическо приложение на получените колагенази?

8. Заключение

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантката Детелина Петрова е разширила теоретичната си компетентност и е придобила умения за работа с научна литература, обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на съвременни аналитични методи, придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях.

Въз основа на гореизложеното, оценявайки достойнствата на разработката и пълното ѝ съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, Правилника за неговото прилагане и Правилника на СУ „Климент Охридски“, давам убедено своята положителна оценка за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Детелина Христова Петрова.

01.06.2015

Подпис:

(доц. д-р Петя Христова)