

- B4-1.** Kristina Uzunova, Anna Vassilevaa, Margarita Kambourovaa, Viara Ivanova, Dimitrina Spasova, Rositza Mandeva, **Anna Derekova**, Alexandra Tonkova. **Production and Properties of a Bacterial Thermostable Exo-inulinase** Z. Naturforsch. 56c:1022-1028. DOI 10.1515/znc-2001-11-1220, Q2, IF 0,783 (2003)

Abstract: Enzyme production of newly isolated thermophilic inulin-degrading *Bacillus* sp. 11 strain was studied by batch cultivation in a fermentor. The achieved inulinase and invertase activities after a short growth time (4.25 h) were similar or higher compared to those reported for other mesophilic aerobic or anaerobic thermophilic bacterial producers and yeasts. The investigated enzyme belonged to the exo-type inulinases and splitted-off inulin, sucrose and raffinose. It could be used at temperatures above 65°C and pH range 5.5-7.5. The obtained crude enzyme preparation possessed high thermostability. The residual inulinase and invertase activities were 92-98% after pretreatment at 65°C for 60 min in the presence of substrate inulin.

Абстракт: Изследвана е биосинтезата на инулин-разграждащ ензим от новоизолиран термофилен щам *Bacillus* sp. 11, чрез периодически култивиране във ферментор. Получените инулиназна и инвертазна активности след кратко време на растеж (4.25 часа) са сходни или по-високи от активностите на ензими, за които се съобщава при други мезофилни аеробни или анаеробни термофилни бактериални продуценти и при дрожди. Изследваният ензим принадлежи към тип екзо-инулинази и разгражда инулин, захароза и рафиноза. Той може да се използва при температури над 65°C и рН от 5.5-7.5. Полученият непречистен ензимен препарат притежава висока термостабилност. Остатъчната инулиназна и инвертазна активности са 92-98%, след предварително третиране при 65°C за 60 минути в присъствие на субстрат инулин.

- B4-2** Miroslava Atanassova, **Anna Derekova**, Rossica Mandeva, Carsten Sjöholm and Margarita Kambourova. ***Anoxybacillus bogrovensis* sp. nov., a novel thermophilic bacterium isolated from a hot spring in Dolni Bogrov, Bulgaria.** Int J Syst Evol Microbiol 58: 2359-2362. DOI 10.1099/ij.s.0.65745-0, Q2, IF 1,463 (2008).

Abstract: A novel moderately thermophilic bacterium, designated strain BT 13T, was isolated from a geothermal water source in Dolni Bogrov, near Sofia, Bulgaria. The isolate was spore-forming, Gram-positive, facultatively anaerobic, alkalitolerant and heterotrophic, and was able to ferment a wide variety of carbon sources including D-glucose, sucrose, L-arabinose, L-rhamnose, starch, sorbitol and glycogen. Strain BT 13T grew optimally at pH 8.0 and 65 °C. Intracellular amylolytic activity was registered with glucose as the main product of starch hydrolysis. Phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene revealed that the strain belonged to the genus *Anoxybacillus*, the closest relatives being *Anoxybacillus flavithermus* and *Anoxybacillus kamchatkensis*. The DNA G+C content was 44.1 mol%. The fatty acid profile with a content of

iso-branched fatty acids of around 80 % of the total fatty acids is similar to that of recognized *Anoxybacillus* species. On the basis of genotypic differentiation and significant differences in phenotypic characteristics, it was concluded that strain BT 13T represents a novel species of the genus *Anoxybacillus*, for which the name *Anoxybacillus bogrovensis* sp. nov. is proposed. The type strain is BT 13T (5DSM 17956T 5NBIMCC 8427T).

Абстракт: Нова умерено термофилна бактерия, обозначена като щам BT 13T, е изолирана от геотермален воден източник в Долни Богров, близо до София, България. Изолатът е Грам-положителна, спорообразуваща, факултативно анаеробна, алкалотолерантна, хетеротрофна бактерия, способна да ферментира голямо разнообразие от въглеродни източници, включително D-глюкоза, захароза, L-арабиноза, L-рамноза, нишесте, сорбитол и гликоген. Щамът BT 13T расте оптимално при pH 8.0 и 65°C. Регистрирана е вътреклетъчна амилолитична активност, като глюкозата е основен продукт от нишестената хидролиза. Филогенетичният анализ, базиран на гена за 16S рРНК, разкрива, че щамът принадлежи към род *Anoxybacillus*, като най-близкородствените представители са *Anoxybacillus flavithermus* и *Anoxybacillus kamchatkensis*. Съдържанието на G + C в ДНК е 44,1 mol%. Профилът на мастните киселини със съдържание на изо-разклонени мастни киселини около 80% от общите мастни киселини, е подобен на този при описаните и признати *Anoxybacillus* видове. Въз основа на генотипна диференциация и значителни разлики във фенотипните характеристики, е направено заключението, че щам BT 13T представлява нов вид от род *Anoxybacillus*, за когото е предложено името *Anoxybacillus bogrovensis* sp. nov. Типовият щам е BT 13T (5DSM 17956T 5NBIMCC 8427T).

B4-3. Anna Dereкова, Miroslava Atanassova, Petya Christova, Bojidar Tchorbanov, Alexandra Shosheva, Rossitsa Mandeva, Patricia Rodríguez-Alonso, Jose I. Garabald, and Margarita Kambourova. **Physicochemical Characteristics of a Thermostable Gellan Lyase from *Geobacillus stearothermophilus* 98.** Z. Naturforsch. 65c. (3-4): 231-238. DOI 10.1515/znc-2010-3-411, Q2, IF 0,800 (2009)

Abstract: A purified thermostable gellan lyase, produced by a thermophilic bacterium, *Geobacillus stearothermophilus* 98, was characterized in relation to its physicochemical properties. The gellan lyase was established to have a molecular weight of 216 kDa, defined by capillary gel electrophoresis. Amino acid analysis revealed high quantities of Lys, His, Ala, Val, Ile, Glx, and Pro residues. The circular dichroism revealed 45% β -structure and practically lack of α -spiral domains. Kinetic studies showed high affinity of the enzyme to gellan as a substrate ($K_m = 0.21 \mu\text{M}$). The thermal denaturation investigated by circular dichroism showed a highly cooperative transition with a midpoint (T_m) at about 75°C. A single product was identified after enzyme action on gellan. Large exothermic aggregation near T_m was observed by differential scanning calorimetry. Two types of gellan lyase crystals were reproducibly isolated.

Абстракт: Характеризирани са физико-химичните свойства на пречистена термостабилна гелан лиаза, синтезирана от термофилната бактерия *Geobacillus stearothermophilus* 98. Установено е, че гелан лиазата има молекулно тегло 216 kDa, определено чрез капиларна

гел електрофореза. Анализът на аминокиселинният състав на белтъка разкрива високо съдържание на АК остатъци Lys, His, Ala, Val, Ile, Glx и Pro. Кръговият дихроизъм разкрива 45% β -структура и практически липса на α -спирални домейни. Кинетичните проучвания показват висок афинитет на ензима към субстрата гелан ($K_m = 0,21 \mu M$). Термичната денатурация, изследвана чрез кръгов дихроизъм, показва силно кооперативен преход със средна точка (T_m) при температура около $75^\circ C$. Ензимното действие върху гелана води до образуването на един продукт. С използването на диференциална сканираща калориметрия е установена силно екзотермична агрегация на ензима близо до T_m . Ензимът гелан лиаза образува два типа кристали.

B4-4. Ivanova, I., Atanassov, I., Lyutskanova, D., Stoilova-Disheva, M., Dimitrova, D., Tomova, I., **Derekova, A.**, Radeva, G., Buchvarova, V., Kambourova, M. **High Archaea diversity in Varvara hot spring, Bulgaria.** J. Basic Microbiol. 51:163-172. DOI 10.1002/jobm.201000160, Q2, IF 1.395 (2011)

Abstract: The phylogeny of the latest recognized domain, *Archaea*, is still complicated and it is largely based on environmental sequences. A culture independent molecular phylogenetic analysis revealed high *Archaea* diversity in a terrestrial hot spring, village Varvara, Bulgaria. A total of 35 archaeal operational taxonomic units (OTUs) belonging to three of the classified five *Archaea* phyla were identified. Most of the sequences were affiliated with the phylum Crenarchaeota (23), grouped in four branches. The rest of the sequences showed highest similarity to the unidentified archaeal clones (9), *Euryarchaeota* (2), and “*Korarchaeota*” (1). Eight (23%) of the sequenced 16S rDNAs didn't have known close relatives and represented new and diverse OTUs, four of them forming a new archaeal subgroup without close described sequences or culturable relatives. A sequence affiliated with “*Korarchaeota*” showed low similarity (90%) to the closest neighbor and both sequences formed unique branch in this phylum. Consequently, the constructed archaeal libraries are characterized by (1) high proportion of OTUs representing uncultivated archaeal phylogroups, (2) the abundance of novel phylotype sequences, (3) the presence of high proportions of *Crenarchaeota* phylotypes unrelated to cultivated organisms and (4) the presence of a sequence only distantly related to “*Korarchaeota*” phylum.

Абстракт: Филогенезата на най-новия признат домейн, *Archaea*, все още е сложна и до голяма степен се основава на нуклеотидни секвенции от некултивируеми представители. Чрез културално-независим молекулярен филогенетичен анализ е разкрито голямо разнообразие от археи в континентален горещ извор, село Варвара, България. Идентифицирани са общо 35 археални оперативни таксономични единици (ОТЕ), принадлежащи към три от класифицираните пет типа *Archaea*. Повечето от последователностите са свързани с типа *Crenarchaeota* (23), групирани в четири клона. Останалите последователности показват най-голямо сходство с неидентифицираните археални клонове (9), *Euryarchaeota* (2) и „*Korarchaeota*“ (1). Осем (23%) от секвенираните 16S рДНК не показват близко сходство със секвенции в база данните и представляват нови и разнообразни ОТЕs, четири от които образуват нова археална подгрупа, без близко

родствени описани секвенции или култивиреми представители. Последователност, свързана с „*Korarchaeota*”, показва ниско сходство (90 %) с най-близкородствения представител и двете последователности образуват уникален клон в този тип. Следователно, изградените археални библиотеки се характеризират с (1) висок дял ОТЕ, представляващи некултивиреми археални филогрупи, (2) изобилие от нови филотипове секвенции (3) наличие на висок процент филотипове *Crenarchaeota*, без родствена връзка с култивиреми организми и (4) наличието на последователност, далечно родствена само с типа „*Korarchaeota*“.

B4-5. Tomas Rezanka, Margarita Kambourova, Anna Dereкова, Irena Kolouchova, Karel Sigler. **LC–ESI–MS/MS Identification of Polar Lipids of Two Thermophilic *Anoxybacillus* Bacteria Containing a Unique Lipid Pattern.** *Lipids*, 47(7):729-39, DOI 10.1007/s11745-012-3675-0, Q2, IF 2,35 (2012).

Abstract: Phospholipids and glycolipids from two recently described species belonging to the thermophilic genus *Anoxybacillus* were analyzed by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry (LC/ESI–MS/MS). Analysis of total lipids from the facultatively anaerobic *A. bogrovensis* on a HILIC (Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography) column succeeded in separating diacyl- and plasmalogen phospholipids. The LC/ESI–MS/MS analysis of the strict aerobe *A. rupiensis* revealed the presence of different unique polar lipids, predominantly alanyl-, lysyl-, and glucosyl-phosphatidylglycerols and cardiolipins. Each of the classes of polar lipids was then analyzed by means of the ESI–MS/MS and more than 140 molecular species of six lipid classes from *A. bogrovensis* and nearly 200 molecular species of nine classes of polar lipids from *A. rupiensis* were identified. Five classes of unidentified polar lipids were detected in both strains. Plasmalogens were thus determined for the first time in a facultatively anaerobic bacterium, i.e. *A. bogrovensis*.

Абстракт: Фосфолипиди и гликолипиди от два наскоро описани вида, принадлежащи към термофилния род *Anoxybacillus* са анализирани чрез течна хроматография – електроспрей йонизираща тандемна мас спектрометрия (LC / ESI–MS / MS). Анализът на тотални липиди при факултативно анаеробната бактерия *A. bogrovensis*, на колона HILIC (Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography), успя да раздели диацил- и плазмалогенни фосфолипиди. LC / ESI – MS / MS анализът на липиди от облигатно аеробния *A. rupiensis* разкри присъствието на различни уникални полярни липиди, предимно аланил-, лизил- и глюкозил-фосфатидилглицероли и кардиолипини. Всеки от тези класове полярни липиди са изследвани с помощта на ESI-MS / MS, като в резултат на проведените анализ при *A. bogrovensis* са установени повече от 140 вида липиди, отнасящи се към шест липидни класа и близо 200 молекулни вида от девет класа полярни липиди са идентифицирани при *A. rupiensis*. Открити са пет класа неидентифицирани полярни липиди и от двата щамове. За първи път бяха определени плазмалогени във факултативно анаеробна бактерия, *A. bogrovensis*.

Г7-1. Kambourova M., N. Kirilova, R. Mandeva, **A. Derekova**. **Purification and properties of thermostable lipase from a thermophilic *Bacillus stearothermophilus* MC 7.** J. Mol. Catal. B, 22:307, Q3, IF 1, 408 (2003)

Abstract: Extracellular thermostable lipase produced by the thermophilic *Bacillus stearothermophilus* MC 7 was purified to 19.25-fold with 10.2% recovery. The molecular weight of the purified enzyme determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was shown to be 62 500 Da. The purified enzyme expressed maximum activity at 75–80 °C and its half-life was 30 min at 70 °C. The K_m and V_{max} were calculated to be, respectively, 0.33 mM and 188 $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ with p-nitrophenyl palmitate (pNPP) as a substrate. Enzyme activity was inhibited by divalent ions of heavy metals, thiol and serine inhibitors, whereas calcium ion stimulated its activity. The most advantageous method for immobilization was found to be ionic binding to DEAE Cellulose. The enzyme was able to hydrolyze both soluble and insoluble emulsified substrates and was classified as a lipase, expressing some esterase activity as well.

Абстракт: Извънклетъчна термостабилна липаза, синтезирана от термофилния *Bacillus stearothermophilus* MC 7, е пречистена 19.25 пъти с добив от 10.2%. Молекулното тегло на пречистения ензим, определено чрез натриев додецил сулфат - полиакриламид гел електрофореза (SDS-PAGE), е 62 500 Да. Пречистеният ензим проявява максимална активност при 75–80°C, а времето на полуживот на ензима е 30 минути при 70°C. С използване на субстрат р-нитрофенил палмитат (pNPP) са изчислени стойностите за K_m и V_{max} , които са съответно 0.33 mM и 188 $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$. Ензимната активност се инхибира от двувалентни йони на тежки метали, тиолови и серинови инхибитори, докато калциевият йон стимулира ензимната активност. Установено е, че най-благоприятният метод за имобилизация е йонно свързване с DEAE целулоза. Ензимът може да хидролизира както разтворими, така и неразтворимите емулгирани субстрати и е класифициран като липаза, проявявайки и известна естеразна активност.

Г7-2. I. Atanassov, D. Dimitrova, K. Stefanova, **A. Tomova**, I. Tomova, D. Lyutskanova, M. Stoilova-Disheva, G. Radeva, I. Danova, M. Kambourova. **Molecular Characterization of the Archaeal Diversity in Vlasa Hot Spring, Bulgaria, by using 16s rRNA and Glycoside Hydrolase Family 4 Genes.** Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 24 (3): 1979–1985. Q3, IF 0.503 (2010)

Abstract: Biodiversity in the archaeal community from Vlasa hot spring, Velingrad, Bulgaria was investigated by sequence analysis of PCR amplified fragments of 16S rDNA and a metabolic gene of glycoside hydrolase 4 family (GH4). The 16S rRNA gene analysis demonstrated that the spring was inhabited predominantly by Crenarchaeota affiliated to two orders, Desulfurococcales (families Pyrodictiaceae and Desulfurococcaceae) and Thermoproteales. Almost half of the 16S rDNA clones were affiliated with hyperthermophilic anaerobic sulfate reducer Thermosphaera

aggregans. Five 16S rDNA sequences were under cut off value of 97% homology to those of Genbank database and suggested the existence of novel phylogenetic units in the community. The archaeal diversity of the studied hot spring was further analyzed through sequence analysis of metagenomically cloned GH4 gene fragments. The comparative 16SrDNA and GH4 phylogenetic analyses demonstrated good correlation of the phylogenetic tree topology from both approaches, corresponding to the affiliation of the identified 16S rDNA sequences predominantly to organotrophic metabolizing taxons. The opportunity for simultaneous application of two molecular approaches, 16S rDNA and metabolite genes analyses for in dept characterization of environmental samples and directed metagenomic identification and cloning of metabolite genes of industrial interest is discussed.

Абстракт: Биоразнообразието в археалното съобщество от горещ извор Власа, Велинград, България е изследвано чрез PCR анализ на амплифицирани фрагменти от 16S рДНК и метаболитен ген от семейство гликозид хидролази 4 (GH4). Анализът на гена за 16S рДНК показва, че изворът е обитаван предимно от представители на *Crenarchaeota*, отнасящи се към два рода, *Desulfurococcales* (семейства *Pyrodictiaceae* и *Desulfurococcaceae*) и *Thermoproteales*. Почти половината от 16S рДНК клонове са отнесени към хипертермофилната анаеробна сулфатредуцираща архея *Thermosphaera aggregans*. Пет от изследваните 16S рДНК последователности бяха под граничната стойност от 97% хомология с тези в базата данни на Genbank, което предполага съществуването на нови филогенетични единици в съобществото. Археалното разнообразие в изследвания горещ извор допълнително е изследвано чрез анализ на последователности на метагеномно клонирани GH4 фрагменти от гени. Сравнителните филогенетични анализи по гена 16S рДНК и гена GH4 показват добра корелация в топологията на филогенетичните дървета от двата подхода, съответстваща на принадлежността на идентифицираните 16S рДНК последователности предимно към органотрофни таксони. Дискутира се възможността за едновременно прилагане на два молекулярни подхода, 16S рДНК и анализ на метаболитни гени за задълбочена характеристика на проби от околната среда и директната метагеномна идентификация и клониране на метаболитни гени от индустриален интерес.

Г7-3. Nadya Radchenkova, Anna Tomova, Margarita Kambourova. **Biosynthesis of an exopolysaccharide produced by *Brevibacillus thermoruber* 438.** Biotechnol and Biotechnol Eq., 25 (Suppl. 4): 77-79. Q3, IF 0.503 (2011).

Abstract: A thermophilic bacterial strain 438 isolated from the Rupi basin, Bulgaria, was chosen as a perspective exopolysaccharide producer. It was taxonomically identified as *Brevibacillus thermoruber*. Among ten different carbon sources tested, maltose in a concentration of 1.8 % provided the highest polymer production. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0.1 %) was chosen as the best nitrogen source. The highest polymer concentration (78.1 mg/L) was synthesized at pH 8.0 and 55°C.

Абстракт: Термофилен бактериален щам 438, изолиран от басейна на Рупите, България е избран като перспективен продуцент на екзополисахарид. Той е таксономично

идентифициран като *Brevibacillus thermoruber*. Сред десет различни изследвани източника на въглерод, малтозата, в концентрация 1,8 %, осигурява най-висока продукция на полимера. $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ (0,1 %) е избран за най-добър източник на азот. Най-висока концентрация на полизахарид (78,1 mg / L) се синтезира при pH 8.0 и 55°C.

Г7-4. Tomova, I, Lazarkevich, I., **Tomova A.**, Kambourova M., Vasileva-Tonkova, E. **Diversity and biosynthetic potential of culturable aerobic heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave, Bulgaria.** International Journal of Speleology, 42: 65-76. Q2, IF 2.36 (2013).

Abstract: Biocapacity of bacteria inhabiting karstic caves to produce valuable biologically active compounds is still slightly investigated. A total of 46 culturable heterotrophic bacteria were isolated under aerobic conditions from the Gallery with pre-historical drawings in Magura Cave, Bulgaria. Phylogenetic analysis revealed that most of bacterial isolates affiliated with *Proteobacteria* (63%), followed by *Actinobacteria* (10.9%), *Bacteroidetes* (10.9%), and *Firmicutes* (6.5%). A strong domination of Gram-negative bacteria (total 81%) belonging to nine genera: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Sphingobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Comamonas*, *Acinetobacter*, *Obesumbacterium*, and *Myroides*, was observed. Gram-positive isolates were represented by the genera *Bacillus*, *Arthrobacter*, and *Micrococcus*. One isolate showed a significant phylogenetic distance to the closest neighbor and could represent a novel species. Heterotrophic bacterial isolates from Magura Cave were investigated for hydrolytic enzymes production, antimicrobial and hemolytic activity. Predominance of producers of protease (87%), followed by xanthan lyase (64%), lipase (40%), β -glycosidase (40%), and phytase (21%) was observed. Over 75% of the isolates demonstrated antimicrobial and hemolytic activity. The results suggest that heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave could be a valuable source of industrially relevant psychrotolerant enzymes and bioactive metabolites. This study is a first report on the taxonomic composition and biological activity of culturable bacteria inhabiting a cave in Bulgaria.

Абстракт: Биокапацитетът на бактериите, обитаващи карстовите пещери, да синтезират ценни биологично активни съединения все още е слабо изследван. В аеробни условия са изолирани общо 46 култивируеми хетеротрофни бактерии от Галерията с праисторически рисунки в пещера Магурата, България. Филогенетичният анализ разкри, че повечето бактериални изолати се отнасят към *Proteobacteria* (63%), последвани от *Actinobacteria* (10.9%), *Bacteroidetes* (10.9%) и *Firmicutes* (6.5%). Наблюдава се силно доминиране на грам-отрицателни бактерии (общо 81%), принадлежащи към девет рода: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Sphingobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Comamonas*, *Acinetobacter*, *Obesumbacterium* и *Myroides*. Грам-положителните изолати са представени от родовете *Bacillus*, *Arthrobacter* и *Micrococcus*. Един изолат показва значително филогенетично отстояние от най-близкия съсед и вероятно представлява нов вид. Хетеротрофните бактериални изолати от пещерата Магура са изследвани за продукция на хидролитични ензими, антимикробна и хемолитична активност. Наблюдава се преобладаване на

продуцентите на протеаза (87%), последвано от ксантан лиаза (64%), липаза (40%), β -гликозидаза (40%) и фитаза (21%). Над 75% от изолатите показват антимикробна и хемолитична активност. Резултатите показват, че хетеротрофните бактерии, изолирани от пещера Магурата, могат да бъдат ценен източник на индустриално значими психротолерантни ензими и биоактивни метаболити. Това проучване е първи доклад за таксономичния състав и биологичната активност на култивируеми бактерии, обитаващи пещера в България.

Г7-5. Tomova, A., Tomova I., Vasileva-Tonkova, E., Lazarkevich, I., Stoilova-Disheva, M., Lyutskanova D., Kambourova, M. *Myroides guanonis* sp. nov., isolated from prehistoric paintings. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63: 4266–427. Q2, IF 2.48 (2013).

Abstract: A novel psychrotolerant, strictly aerobic, non-motile, rod-shaped bacterial strain, designated IM13^T, was isolated from a sample taken from prehistoric guano paintings in Magura Cave, northwest Bulgaria and subjected to a polyphasic taxonomic study. Strain IM13^T formed yellow colonies on LB agar plates and was Gram-staining-negative, heterotrophic and alkali-tolerant. It grew optimally at pH 7.5 and 30 °C in the absence of NaCl. Phylogenetic analysis of the whole 16S rRNA gene revealed that strain IM13^T branched with representatives of the genus *Myroides* with sequence similarity of 93–94 % with other species of the genus. The novel isolate contained iso-C_{15:0} (49.1 %), iso-C_{17:1 ω 9c} (18.2 %) and iso-C_{17:0} 3-OH (14.0 %) as dominant fatty acids. The DNA G+C content of strain IM13^T was 33.5 mol%. Based on phylogenetic inference and phenotypic characteristics, it was concluded that strain IM13^T represents a novel species of the genus *Myroides*, for which the name *Myroides guanonis* sp. nov. is proposed. The type strain is IM13^T (=DSM 26542^T =NBIMCC 8736^T).

Абстракт: Нов психротолерантен, строго аеробен, неподвижен, пръчковиден бактериален щам, означен като IM13^T, е изолиран от проба, взета от праисторически гуано рисунки в пещера Магурата, северозападна България, и е подложен на полифазно таксономично изследване. Щам IM13^T образува жълти колонии върху LB агарова среда и се багри отрицателно по Грам, хетеротрофен и алкалотолерантен. Той расте оптимално при pH 7.5 и 30°C в отсъствие на NaCl. Филогенетичният анализ на целия 16S рРНК ген показва, че щамът IM13^T се групира с представители на рода *Myroides*, като показва степен на сходство 93–94 % с другите видове от рода. Новият изолат съдържа изо-C_{15:0} (49.1 %), изо- C_{17:1 ω 9c} (18.2 %) и изо-C_{17:0} 3-ОН (14.0 %) като доминиращи мастни киселини. Съдържанието на ДНК G+C в щам IM13^T е 33,5 mol%. Въз основа на филогенетичната му позиция и фенотипни характеристики е направено заключението, че щам IM13^T представлява нов вид от рода *Myroides*, за който се предлага името *Myroides guanonis* sp. nov. Типовият щам е IM13^T (=DSM 26542^T =NBIMCC 8736^T).

Г7-6. Petrova D., Derekova A., Vlahov S (2006). **Purification and properties of individual collagenases from *Streptomyces* sp. strain 3B.** Folia Microbiologica 51 (2): 93-98. Q3, IF 0,963 (2006)

Abstract: *Streptomyces* strain 3B constitutively secreted collagenolytic enzymes during the post-exponential growth phase. Purification is described here leading to two collagenases (I and II) with specific activity of 3350 and 3600 U/mg, respectively, the highest activity obtained as yet for any streptomycete collagenase. Analysis of the purified enzymes by the method of zymography revealed that both I and II were homogeneous, with molar mass 116 and 97 kDa, respectively. Both collagenases were identical in their pH (7.5) and temperature optimum (37 degrees C). The inhibition profile of the enzymes by EDTA and 1,10-phenanthroline confirmed these enzymes to be metalloproteinases. By testing the activity with insoluble collagen, acid soluble collagen, gelatin, casein, elastin and Pz-PLGPR it was established that I and II are very specific for insoluble collagen and gelatin, showing a high activity toward acid soluble collagen and Pz-PLGPR. However, collagenases I and II failed to hydrolyze casein and elastin; they belong to true collagenases and resemble the clostridial enzymes.

Абстракт: Щам *Streptomyces* 3B синтезира конститутивно колагенолитични ензими по време на пост-експоненциалната фаза на растеж. Тук е описано пречистване, водещо до две колагенази (I и II) със специфична активност съответно 3350 и 3600 U/mg, най-високата активност, получена досега за стрептомицетна колагеназа. Анализът на пречистените ензими по метода на зимографията разкри, че I и II са хомогенни, с моларна маса съответно 116 и 97 kDa. Двете колагенази са идентични по рН (7,5) и температурен оптимум на действие (37°C). Профилът на инхибиране на ензимите от EDTA и 1,10-фенантролин потвърждава, че тези ензими спадат към металопротеиназите. Чрез тестване на активността с неразтворим колаген, киселинноразтворим колаген, желатин, казеин, еластин и Pz-PLGPR беше установено, че I и II са много специфични за неразтворимия колаген и желатин, показващи висока активност спрямо киселинно разтворимия колаген и Pz-PLGPR. Колагеназите I и II обаче, не хидролизират казеин и еластин; те принадлежат към истинските колагенази и наподобяват клостридиалните ензими.

- Г7-7. Ivanova, V., Tomova, I., Kamburov, A., **Tomova, A.**, Vasileva-Tonkova, E. and M. Kambourova. **High phylogenetic diversity of bacteria in the area of prehistoric paintings in Magura cave, Bulgaria.** *Journal of Cave and Karst Studies*, 75 (3): 218–228, Q3, IF 0.696 (2013)

Abstract: Magura Cave, situated in the northwest of Bulgaria and containing prehistoric paintings, is a famous tourist site. The present study is the first report on bacterial diversity in guano paintings in a Bulgarian cave using molecular methods. We identified 68 taxa, which is an unusually high number for oligotrophic niches. They are affiliated with eight phyla representing more than half of the bacterial divisions identified in caves. As in many other caves, *Proteobacteria* dominated in this type of ecosystem (about 40%), followed by *Nitrospirae* (22.5%) and *Acidobacteria* (21.5%). Weakly represented were *Actinobacteria* (6.4%), *Chloroflexi* (3.2%), *Planctomycetes* (2.2%), *Firmicutes* (2.2%), and *Gemmatimonadetes* (2.2%). About one third of all DNA sequences recovered in this study were new. Some of them had more than 10% divergence from the closest neighbor, which suggests the existence of new taxa of at least genus level. Bacteria identified in the community expressed various types of metabolism; lithoautotrophic, organotrophic, and methylotrophic.

Абстракт: Пещера Магурата, разположена в северозападната част на България и съдържаща праисторически рисунки, е известен туристически обект. Настоящото изследване е първият доклад за бактериалното разнообразие от гуано рисунки в българска пещера, използващо молекулярни методи. Ние идентифицирахме 68 таксона, което е необичайно голям брой за олиготрофните ниши. Те се отнасят към осем филотипа, представляващи повече от половината от бактериалните отдели, идентифицирани в пещерите. Както в много други пещери, в този тип екосистеми доминират *Proteobacteria* (около 40%), следвани от *Nitrospirae* (22,5%) и *Acidobacteria* (21,5%). Слабо представени са *Actinobacteria* (6,4%), *Chloroflexi* (3,2%), *Planctomycetes* (2,2%), *Firmicutes* (2,2%) и *Gemmatimonadetes* (2,2%). Около една трета от всички ДНК последователности, открити в това проучване са нови. Някои от тях показват повече от 10 % дивергенция от най – близкородствения представител, което предполага съществуването на нови таксони поне на ниво род. Бактериите, идентифицирани в общността, се характеризират с различен вид метаболизъм; литоавтотрофни, органотрофни и метилотрофни.

- Г7-8. Stefanova, K., Tomova, I., **Tomova, A.**, Radchenkova, N., Atanassov, I., Kambourova, M. **Archaeal and bacterial diversity in two hot springs from geothermal regions in Bulgaria as demonstrated by 16S r RNA and GH-57 genes.** *International Microbiology*, 18: 217-223. Q3, IF 1.326 (2015).

Abstract: Archaeal and bacterial diversity in two Bulgarian hot springs, geographically separated with different tectonic origin and different temperature of water was investigated exploring two genes, 16S rRNA and GH-57. Archaeal diversity was significantly higher in the hotter spring Levunovo (LV) (82°C); on the contrary, bacterial diversity was higher in the spring Vetren Dol (VD) (68°C). The analyzed clones from LV library were referred to twenty eight different sequence types belonging to five archaeal groups from *Crenarchaeota* and *Euryarchaeota*. A domination of two groups was observed, *Candidate Thaumarchaeota* and *Methanosarcinales*. The majority of the clones from VD were referred to HWCG (Hot Water Crenarchaeotic Group). The formation of a group of thermophiles in the order *Methanosarcinales* was suggested. Phylogenetic analysis revealed high numbers of novel sequences, more than one third of archaeal and half of the bacterial phylotypes displayed similarity lower than 97% with known ones. The retrieved GH-57 gene sequences showed a complex phylogenetic distribution. The main part of the retrieved homologous GH-57 sequences affiliated with bacterial phyla *Bacteroidetes*, *Deltaproteobacteria*, *Candidate Saccharibacteria* and affiliation of almost half of the analyzed sequences is not fully resolved. GH-57 gene analysis allows an increased resolution of the biodiversity assessment and in depth analysis of specific taxonomic groups.

Абстракт: Изследвано е археалното и бактериално разнообразие в два географски отдалечени български горещи извора, с различен тектонски произход и различна температура на водата. Разнообразието е проучено по отношение присъствието на два гена, 16S рРНК и GH-57. Археалното разнообразие е значително по-високо в горещ извор Левуново (LV) (82°C); бактериалното разнообразие е по-голямо в извор Ветрен дол (VD) (68 °C). Анализираните клонове от библиотеката на извор LV са отнесени към двадесет и осем различни типа секвенции, принадлежащи към пет археални групи от *Crenarchaeota* и *Euryarchaeota*. Наблюдава се доминиране на две групи, кандидат *Thaumarchaeota* и *Methanosarcinales*. По-голямата част от клоновете от VD са отнесени към HWCG (Hot Water Crenarchaeotic Group). Предложено е формирането на група от термофили в разред *Methanosarcinales*. Филогенетичният анализ разкри голям брой нови секвенции, повече от една трета от археалните и половината от бактериалните филотипове показват сходство по-малко от 97% с известните до момента. Идентифицираните GH-57 нуклеотидни последователности показват сложно филогенетично разпределение. Основната част от идентифицираните хомоложни GH-57 последователности са свързани с бактериалните отдели *Bacteroidetes*, *Deltaproteobacteria*, *Candidate Saccharibacteria*, като принадлежността на почти половината от анализираните секвенции не е напълно установена. Анализът на гена GH-57 позволява по-задълбочена оценка на биологичното разнообразие и анализ на специфични таксономични групи.

Г7-9. Petrova, V., Kujumdzieva, A., **Tomova, A.**, Georgiev, G., Stefanova, N., Pankov, R. (2016). **Superoxide dismutase and catalase participate in the regulation of quiescent state of human fibroblasts: In silico and**

biochemical analysis. Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 69 (4): 467-474. Q3, IF 0.284 (2016)

Abstract: The quiescent state is typical for cells in multicellular organism, but although widespread, yet little is known about the mechanisms that lead to its establishment and maintenance. In this article we explore the relationship between quiescence and cells oxidative status by examining the behaviour of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in two different cell lines – mouse and human fibroblasts, brought to quiescence by two different approaches – contact inhibition and growth in three-dimensional environment. By using bioinformatic analysis and biochemical studies we demonstrated similarity in the types SODs and catalases expressed in both cell lines and common behaviour, resulting in a tenfold activation of both types of enzymes at quiescent state. The results support the notion for existence of a common program, activated at cell quiescence which is associated with reduction of reactive oxygen species.

Абстракт: Състоянието на покой е типично за клетките на многоклетъчния организъм, но макар и широко разпространено, все още се знае малко за механизмите, които водят до неговото установяване и поддържане. В тази статия изследваме връзката между покой и клетъчен оксидативен статус, като изследваме поведението на антиоксидантните ензими супероксид дисмутаза и каталаза в две различни клетъчни линии - миши и човешки фибробласти, доведени до покой чрез два различни подхода – контактно инхибиране и растеж в три-измерна среда. Използвайки биоинформатичен анализ и биохимични изследвания, ние показахме сходство в типовете SOD и каталази, експресирани и в двете клетъчни линии, както и сходно поведение, което се изразява в десетократно активиране на двата вида ензими в състояние на покой. Резултатите подкрепят идеята за съществуване на обща програма, активирана в клетки в състояние на покой, която е свързана с редукция на реактивни кислородни видове.

Г7-10. Tomova, A., Kujumdzieva A., & Petrova, V. Carbon source influences *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell survival strategies: quiescence or sporulation. Biotechnology & Biotechnological equipment, 33, (1): 1464–1470. Q3, IF 1.186 (2019)

Abstract: When starving, diploid *Saccharomyces cerevisiae* yeasts can enter into at least two stable non-dividing states – sporulation or quiescence – and thus survive unfavorable conditions for long periods of time. However, which latent state will be preferred depends on numerous conditions. Here, we showed that budding yeasts can trigger transition into one or the other dormant state depending on the carbon source utilized. When fermentable carbon source (glucose) is present in the growth medium, the diploid *S. cerevisiae* entered quiescence. On the other hand, when cells were grown in the presence of the energy-rich respiratory carbon source ethanol, yeasts preferably formed ascospores. In both latent states a steady redox balance is maintained. Altogether, these findings strongly suggest that survival strategies in yeasts *S. cerevisiae* and transition into distinct differentiation programs depend on the cellular metabolic status.

Абстракт: При отсъствие на хранителни вещества, диплоидните дрожди *Saccharomyces cerevisiae* могат да навлязат в поне две стабилни, неделищи се състояния - споруляция или състояние на покой и по този начин да преживеят в неблагоприятни условия за дълги периоди от време. Кое латентно състояние ще бъде предпочетено обаче, зависи от редица условия. Тук ние показваме, че пъпкуващите дрожди могат да преминат в едно от двете латентни състояния в зависимост от използвания източник на въглерод. Когато в растежната среда присъства ферментируем източник на въглерод (глюкоза), диплоидът *S. cerevisiae* ще навлезе в покой. От друга страна, когато клетките се култивират в присъствие на богатия на енергия респираторен въглероден източник етанол, дрождите формират аскоспори. И в двете латентни състояния се поддържа постоянен редокс баланс. Като цяло тези открития категорично предполагат, че стратегиите за оцеляване при дрожди *S. cerevisiae* и преминаването им в различни диференциращи програми зависят от клетъчния метаболитен статус.

Г7-11. Daskalova, A, Petrova, V., Velkova, L., Kujumdzieva, A., **Tomova, A.**, Voelter W., Dolashka, P. **Investigation of protein expression of *Saccharomyces cerevisiae* cells in quiescent and proliferating state before and after toxic stress**, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35:1, 366-376, Q3, IF: 1.186 (2019).

Abstract: The focus of the present study is to determine proteins responsible for the oxidative and toxic stress response in proliferating and stationary phase (Go) cultures. Therefore, the yeast *Saccharomyces cerevisiae* was treated with oxidative and drug compounds (H₂O₂, menadione, zeocin, and ibuprofen) in both phases. These substances were chosen to determine the redox status of the yeast. *S. cerevisiae* appeared to employ different strategies to ensure their antioxidant defence metabolism. Analysis, including sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) coupled with mass spectrometry, was used in the search. The proteins were identified by SDS-PAGE, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight/time-of flight (MALDI-TOF/TOF) mass spectrometry analysis, and Mascot database-fingerprint. The final step was determination of protein profiles of yeast *S. cerevisiae* in proliferating (M) and stationary phase (Go). Seven bands were determined and the corresponding proteins were proposed: cytochrome c peroxidase, glutathione S-transferase omega-like, NADPH-dependent diflavin reductase, DNA replication fork-blocking protein, putative aryl alcohol dehydrogenase, AP-1-like transcription factor YAP5, GTP-binding protein. All putative proteins coincide with the literature database. A typical example of such an adaptation mechanism in the defence against oxidative damage is the synthesis of several glutathione and thioredoxin peroxidases in the yeast cell. A deeper investigation of the conserved mechanisms responsible for entry into, survival, and exit from quiescence in higher eukaryotes will help the development of new anticancer therapies, the study in the process of ageing and neurodegenerative diseases.

Абстракт: Настоящото изследване е фокусирано върху определяне на протеините, отговорни за реакцията на оксидативен и токсичен стрес при култури в експоненциална и стационарна (Go) фаза. Ето защо, дрожди *Saccharomyces cerevisiae* бяха третирани с окисляващи и лекарствени съединения (H₂O₂, менадион, зеоцин и ибупрофен) и в двете

фази. Тези вещества са избрани за повлияване на редокс състоянието при дрождите. *S. cerevisiae* използва различни стратегии за осигуряване на антиоксидантния си защитен метаболизъм. В изследването беше използван анализ, базиран на натриев додецил сулфат полиакриламидна гел електрофореза (SDS-PAGE), в съчетание с маспектрометрия. Протеините бяха идентифицирани чрез SDS-PAGE, матрично-асистирана лазерна десорбция/йонизация (MALDI-TOF/TOF) маспектрометричен анализ и Mascot база данни. Крайната стъпка беше определяне на протеиновите профили при дрожди *S. cerevisiae* в експоненциална (M) и стационарна фаза (Go). Определени бяха седем ивици, за които бяха предложени съответните протеини: цитохром с пероксидаза, омега-подобна глутатион S-трансфераза, NADPH-зависима дифлавин редуктаза, протеин, блокиращ репликационната вилка на ДНК, предполагаема арил алкохол дехидрогеназа, AP-1-подобен транскрипционен фактор YAP5, GTP-свързващ протеин. Всички предполагаеми протеини съвпадат с литературната база данни. Типичен пример за такъв адаптационен механизъм при защита срещу окислително увреждане е синтезата на няколко глутатион и тиоредоксин пероксидази в дрождевите клетки. По-задълбоченото изследване на консервативните механизми, отговорни за навлизането, преживяването и излизането от състояние на покой при по-висши еукариоти, ще помогне за разработването на нови противоракови терапии, изследването в процеса на стареене и невродегенеративни заболявания.

Г7-12. Daskalova, A, Tomova, A., Kujumdzieva A., Velkova, L, Dolashka, P., Petrova, V. **Menadione and hydrogen peroxide trigger specific alterations in RNA polymerases profiles in quiescent *Saccharomyces cerevisiae* cells.** *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, vol. 35(1), Q3, IF: 1.186 (2019).

Abstract: Yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, like other microbes in nature, respond to the unavailability of nutrients with entrance in quiescent/Go state. These cells exist in non-dividing, latent form by maintaining the cellular metabolism at a low level but still able to sense and adapt to environmental stresses. Their quiescent status characteristics are likely close to those of tissues and organs in mammals and humans. This fact makes them an appropriate model system for investigation of the basic mechanisms underlying the toxicity of different chemical compounds. In this study, the toxic effect of H₂O₂ and menadione on quiescent *S. cerevisiae* cells was evaluated through the analysis of RNA polymerases transcription profile and ribosomal RNA content. Distinct RNA polymerases subunits were expressed in Go yeast cells after short exposure to 0.1mmol/L menadione and 5mmol/L hydrogen peroxide. Significant transcription repression of RNA polymerases genes was observed as a response to menadione. Both stress agents induced changes in the 25S and 18S rRNA profile in quiescent and proliferating yeast cells. These results strongly suggest that the toxicological response of eukaryotic cells involves rapid alterations in RNA polymerases gene expression and changes in RNA transcriptome profiles, and depends on the specific mechanism of toxic action.

Абстракт: Дрождите *Saccharomyces cerevisiae*, подобно на други микроорганизми в природата, реагират на липсата на хранителни вещества с навлизане в състояние на покой /Go състояние. Тези клетки съществуват в неделящо, латентно състояние, като поддържат забавен клетъчния си метаболизъм, но все пак могат да усетят и да се адаптират към

стресови промени в околната среда. Характеристиките на дрождевите клетки, в състояние на покой, наподобяват тези на клетките в тъканите и органите при бозайници и хора. Този факт ги прави подходяща моделна система за изследване на основните механизми, лежащи в основата на токсичността на различни химични съединения. В това проучване е оценен токсичният ефект на H_2O_2 и менадион върху клетки на *S. cerevisiae* в покой, чрез анализ на транскрипционния профил на РНК полимерази и съдържанието на рибозомна РНК. Различни субединици на РНК полимерази се експресират в *Go* дрождеви клетки след кратко излагане на 0.1 mmol/L менадион и 5 mmol/L водороден пероксид. Значителна репресия на транскрипцията на гените за РНК полимерази се наблюдава в отговор на третирането с менадион. И двата стресови агента предизвикват промени в профила на 25S и 18S рРНК в *Go* и пролифериращи дрождеви клетки. Тези резултати категорично предполагат, че токсикологичният отговор на еукариотните клетки включва бързи промени в генната експресия на РНК полимерази и в транскриптомния профил на РНК и зависи от специфичния механизъм на токсично действие.

- Г7.0-1.** Kambourova, M., Mandeva, R., **Derekova, A.** **Thermostable α -glucosidase produced by *Bacillus stearothermophilus* 233.** Сборник от научна конференция на Съюза на учените с международно участие, Стара Загора (2003), том III, 194-198.

Abstract: α -glucosidase extracellular production by newly isolated *Bacillus stearothermophilus* was studied. In the process of optimization of α -glucosidase production, inducible synthesis was observed and maximum activity was established at pH 5.5 and 55°C after 24 hours of cultivation. Optimal conditions for the action of α -glucosidase from *Bacillus stearothermophilus* were 65°C and pH 5.5. The enzyme was thermostable (100%) after 24 h at 60°C and had a half life of 60 min at 70°C. It expressed highest activity to maltose and maltotriosesaccharides. Analysis of the hydrolysis products of various polysaccharides detected glucose as the sole product.

Абстракт: Изследвана е извънклетъчната синтеза на α -глюкозидаза от новоизолиран щам *Bacillus stearothermophilus*. В процеса на оптимизиране на продукцията на α -глюкозидаза се наблюдава индуцируема синтеза и се установява максимална активност при pH 5.5 и 55°C след 24 часа култивиране. Оптималните условия за действие на α -глюкозидазата от *Bacillus stearothermophilus* са 65°C и pH 5.5. Ензимът е термостабилен (100%) след 24 часа при 60°C и времето му на полуживот е 60 минути при 70°C. Той показва най-висока активност към малтоза и малтоологозахариди. При анализ на хидролизните продукти на различни полизахариди се открива глюкоза като единствен продукт от ензимното действие.

- Г7.0-2.** Kambourova M., **Derekova, A.**, Mandeva, R., Sjöholm, C. **Production, purification and properties of thermostable β -amylase from *Bacillus stearothermophilus*.** Сборник от научна конференция на Съюза на учените с международно участие, Стара Загора (2003), том III, 190-193.

Abstract: Five thermophilic aerobic strains expressing β -amylase activity were isolated from samples collected in the areas of different hot springs in Bulgaria. One isolate has been chosen for subsequent experiments due to its high activity and thermostability of the

synthesized enzymes. The new isolate was designed to *Bacillus stearothermophilus* based on its 16S rDNA analysis. The enzyme was purified 21-folds with 53% recovery. It had a temperature optimum at 65°C and its residual activity was 100% after 30 min treatment at temperature up to 55 °C. The main product of its action was observed to be maltose.

Абстракт: От проби, събрани в районите на различни горещи извори в България, бяха изолирани пет термофилни аеробни щамове, показващи β -амилазна активност. Един изолат е избран за последващи експерименти, поради високата активност и термостабилност на синтезирания ензим. Новият изолат е идентифициран като *Bacillus stearothermophilus* въз основа на 16S rDNA анализ. Ензимът беше пречистен 21 пъти с добив от 53%. Той се характеризира с температурен оптимум при 65°C и остатъчната му активност е 100% след 30 минути третиране при температура до 55°C. Беше установено, че основният продукт от неговото действие е малтоза.

Г7.0-3. Anna Tomova, Ventsislava Petrova. **Role of *Saccharomyces cerevisiae* antioxidant capacity on cellular differentiation.** Proceedings of Seminar of Ecology – 2019 with international participation 18th – 19th April, 2019.

Abstract: The role of several key antioxidant enzymes (Glr1p, Gsh1p, Cta1p, Sod1p, Sod2p) in *S. cerevisiae* yeasts were investigated for their influence on the entry, survival and exit from the G₀ cell cycle. It was shown that the regulation of cellular differentiation in the stationary *S. cerevisiae* cultures depends on their antioxidant genetic potential. The deletion of *GSH1*, encoding glutamyl synthetase, reduced the entry into the G₀ state by more than 50%. While, the absence of Mn SOD enzyme ($\Delta sod2$) impact the stability of the differentiated G₀ cells and resulted in a decrease of their capability to exit from the G₀ cell cycle (only 3% survival).

Абстракт: Изследвана е ролята на няколко ключови антиоксидантни ензими (Glr1p, Gsh1p, Cta1p, Sod1p, Sod2p), при дрожди *S. cerevisiae*, за тяхното влияние върху навлизането, преживяването и излизането от G₀ клетъчния цикъл. Показано, е че регулирането на клетъчната диференциация в стационарни култури на *S. cerevisiae* зависи от техния антиоксидантен генетичен потенциал. Делецията на гена *GSH1*, кодиращ глутамил синтетаза, води до намаляване капацитета за навлизане в G₀ състояние с повече от 50%. В същото време, липсата на ензима Mn SOD ($\Delta sod2$) влияе върху стабилността на диференцираните G₀ клетки и води до намаляване на способността им да излязат от G₀ клетъчния цикъл (само 3% преживяемост).

Г8-1. Kambourova, M., & **Derekova, A.** Developments in thermostable gellan lyase. Chapter in Book: Thermophilic microbes in environmental and industrial biotechnology: Biotechnology of thermophiles (pp. 711-730) doi:10.1007/978-94-007-5899-5_27 (Eds: Satyanarayana T, Littlechild J, Kawarabayasi Y), Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 2013.

Abstract: Thermostable carbohydrate-degrading enzymes are of special interest for many industrial applications as the solubility of carbohydrates at elevated temperatures sharply increases. Gellan is among the microbial exopolysaccharides found recently extensive use in food,

microbial cultivation media, and pharmaceutical industries. Enzyme modification of gellan could change its molecular weight, hardness of its gel, and its elasticity and in such a way might broaden its current spectrum of application. As gellan is soluble at temperatures higher than 60°C, an industrial need in a thermostable gellan lyase is clearly outlined. Several reports on mesophilic bacterial strains producing gellan lyases are known, and only one thermophilic bacterial producer, *Geobacillus stearothermophilus* 98, was reported up to now. In this chapter, the source microorganism and properties of the thermostable gellan lyase are discussed in relation to those of mesophilic producers. Even though the accumulated knowledge on the structural and catalytic properties of the gellan lyase is still very limited, the results obtained clearly demonstrate that it is a new enzyme with interesting characteristics, which could add to the commercial value of gellan as an emulsifier, stabilizer, gel agent, thickener and suspending agent, and application in the future are also suggested.

Абстракт: Термостабилните въглехидрат-разграждащи ензими са от особен интерес за много индустриални приложения, тъй като разтворимостта на въглехидратите при повишени температури рязко се увеличава. Геланът е сред микробните екзополisahариди, които напоследък намират широко приложение в храните, хранителните среди за култивиране на микроорганизми и фармацевтичната промишленост. Ензимната модификация на гелана може да промени молекулното му тегло, твърдостта на гела и еластичността му и по такъв начин да разшири сегашния му спектър на приложение. Тъй като геланът е разтворим при температури по-високи от 60°C, ясно се очертава промишлената нужда от термостабилна гелан лиаза. Известни са няколко съобщения за мезофилни бактериални щамове, синтезиращи гелан лиази, и досега е докладван само един термофилен бактериален продуцент, *Geobacillus stearothermophilus* 98. В тази глава микроорганизмът-продуцент и свойствата на термостабилната гелан лиаза са разгледани спрямо тези на мезофилните продуценти. Въпреки че натрупаните познания за структурните и каталитичните свойства на гелан лиазата са все още много ограничени, получените резултати ясно показват, че това е нов ензим с интересни характеристики, който би могъл да добави търговска стойност на гелана като емулгатор, стабилизатор, желиращ агент, сгъстител и суспендиращ агент и бъдещото му приложение се предполага.