

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Рашел Коен

секция „Повърхности и колоиди” при Институт по физикохимия „Акад. Ростислав Каишев”, БАН

Относно: Дисертационен труд на тема „МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ НА ЛИПОЛИТИЧНИ И ПРОТЕОЛИТИЧНИ ЕНЗИМИ ВЪРХУ СУБСТРАТИ, ОРГАНИЗИРАНИ В МОДЕЛНИ НАНОРАЗМЕРНИ СТРУКТУРИ”, представен от КРИСТИНА МИРЧЕВА МИРЧЕВА, задочен докторант по професионално направление 4.2. Химически науки” (Физикохимия) за присъждане на образователната и научна степен „доктор”

Целта на дисертацията е чрез прилагане на феноменологичен кинетичен подход да се изследват механизмите на съвместно действие на липолитични и протеолитични ензими върху субстрати и смеси от субстрати, организирани в различни наноразмерни структури. Изследвани са два вида ензимно-каталитични процеси: 1. действие на липази и фосфолипази върху триглицеридии фосфолипиди и 2. действие на протеолитични ензими върху протеини от растителен произход. Тези изследвания имат фундаментално значение за изясняване на важните за живите организми процеси на липолиза, фосфолиполиза и протеолиза. Освен това резултатите са свързани и с използването на тези процеси в медицината, фармацията и в някои други индустриални производства.

В увода на дисертацията е направен кратък анализ на необходимостта от провеждането на изследванията и са изложени целите на дисертационния труд. В литературният обзор са първоначално се разглежда значимостта на основните моделни вещества, използвани при изследванията. Тук бих отбелязала, че заглавието на глава II.1. не отговаря напълно на съдържанието, тъй като частта, свързана със значимостта на липидите, основно третира въпроса за действието на липазите и фосфолипазите. Съвременното състояние на познанието за липолитичните и протеолитичните ензими и различните субстрати, тяхното значение за живите организми и възможностите за приложение е изложено ясно, нагледно и аналитично в глави II.6.1 и II.6.2. В литературния обзор са подробно разгледани и различните моделни системи, използвани за изследване на ензимно-каталитични реакции на повърхности, експерименталните методики за тяхното получаване и основните термодинамични параметри, които ги характеризират. Логично всичко това се обединява в подробен анализ на различните видове ензимно-каталитични реакции. Кинетичните модели, описващи повърхностния механизъм на ензимната липолиза са нагледно представени, като прави впечатление доброто разбиране на физическия смисъл на използваните уравнения.

Използваните експериментални методики са подробно и ясно описани и не оставят съмнение за самостоятелното провеждане на експериментите както по получаването на различните монослоеви, бислойни везикули, липидни нанокapsули, коацерватни комплекси, така и при измерванията с електронна лангмюирова везна и по методите на стоящото мехурче и висящата капка.

В експерименталната част в началото на всяка глава с помощта на схемата на Michaelis-Menten са изведени кинетични уравнения, които описват предложения кинетичен механизъм за действие на липазата HLL и фосфолипидата PLA₂ върху съответните субстрати – трикаприлин, PEG – St и техните смеси, и фосфолипиди (DLPC и DOPC). Такива теоретични изрази са приложени и за случаите на смесени монослоеове при едновременно действие на два ензима. Подходящо са интерпретирани и данните, получени за площ на молекула и ΔV потенциал. Така предложеният в дисертацията подход за определяне на феноменологичната глобална константа Q_m , отчитаща влиянието на организацията на монослоя върху процесите, съпътстващи ензимокаталитичните реакции, позволява съпоставянето на различните етапи на ензимна хидролиза, сравнение на каталитичното действие на липазите поотделно и в смес, както и сравнение на действието на липазите върху различно организирани субстрати в монослоеове, бислойни везикули и липидни нанокapsули.

Получените резултати напълно отговарят на целите на научното изследване. Би трябвало, обаче, да бъде по-ясно показано доколко предложеният подход позволява разширяването на изследванията и към други случаи на липолиза и протеолиза.

Изводите на дисертацията са дадени доста описателно и по-скоро обобщават направените изследвания и получените резултати.

Както дисертацията, така и авторефератът са написани стегнато, ясно и на добър научен език. Поради големия брой на съкращенията на използваните термини и параметри – кинетични и термодинамични, за улеснение на читателя, бих препоръчала на дисертантката в бъдеще да ги представя подредени отделно.

В работата са цитирани 176 литературни източника. 51 от тях са публикувани в периода 2001-2009 година, което показва добро познаване както на класическите изследвания, така и на съвременното състояние на научните проблеми.

Резултатите в дисертационния труд са публикувани в 5 научни публикации, 4 от които в реномирани международни списания с висок импакт фактор. В 4 от публикациите Кр. Мирчева е първи автор, което доказва нейния принос при проведените изследвания. Материалите по дисертацията са представени на 6 научни конференции – национални и международни. Вече са забелязани и 2 цитирания в J. Phys. Chem.

Прави впечатление и че дисертантката е съвместявала работата си по дисертацията със задълженията си като асистент в катедра „Физикохимия”. Отлични впечатления остави у мене и нейното представяне пред Колоквиума по Физикохимия на повърхностите и дисперсните системи.

Въпроси: 1. Какво точно има предвид дисертантката в увода, където е написано, че всички биологични мембранни повърхности са съставени от комплексни смеси от гликолипиди и гликопротеини.

2. Как е определен средния диаметър на SUV?

Заклучение: Представеният дисертационен труд е изпълнен на високо научно ниво, което значително надвишава изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Ето защо убедено препоръчвам присъждане на образователната и научна степен „Доктор” на Кристина Мирчева Мирчева.

28. 06. 2011 г.

Съставил:

\ доц. д-р Рашел Коен \

