

Становище
на дисертационен труд
за получаване на научната и образователна степен „Доктор”
Професионално направление 4.3. „Биологични науки (Биофизика)”

автор на дисертацията: Бояна Димитрова Ангелова

тема: *Електроиндуцирано освобождаване на биологично активни вещества от дрожди чрез проточно третиране с импулсно електрично поле*

научен ръководител: доц. Валентина Ганев

рецензент: *доц. д-р Биляна Николова Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН*

В представената ми за становище работа на задочен докторант Бояна Ангелова е разгледана възможността за електроиндуцирано освобождаване на биологично активни вещества от няколко вида дрожди. Представени са предимствата на необратимата електропорация пред конвенционалните методи като механична дезинтеграция, химична екстракция или автолиза.

Дисертацията е написана на 141 стандартни страници, илюстрирана е с 48 фигури, 2 схеми, 3 таблици и включва 206 литературни източника (всички на английски). Оформена е в стандартните раздели: Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати и дискусия, Изводи, Приноси и Използвана литература.

В литературния обзор много подробно са описани дрождите като биологичен обект, разгледано е устройството на клетъчната им обвивка и приложението им в биотехнологията и молекулярната биология. В следващия раздел е обърнато внимание на методите за освобождаване на вътреклетъчни продукти от дрожди, като са описани няколко метода. Достатъчно задълбочено е описана електропорацията: разгледани са теории, механизми и етапи на електропорирането, начини на третиране, приложения на електропорацията и електроиндуцираното освобождаване на белтъци от дрожди.

Литературният обзор завършва без да бъде направено някакво обобщение или заключение.

Целта на настоящата дисертация е да се изследва възможността за използване на проточното третиране с импулсно електрично поле, като алтернативен метод за екстракция на интрацелуларни биологично активни вещества от дрожди.

За постигане на тази цел са поставени четири конкретни задачи.

Целта на дисертацията и задачите са ясно и точно формулирани.

В раздел Материали и методи подробно са описани използваните в изследването клетки, методите за култивирането им, подготовката и електропорацията, както и аналитичните методи използвани при определянето на екстрахираните вещества.

Имам следните въпроси към тази глава:

- Описани са оптичните плътности за всеки отделен щам, при които е проведено третирането. Можете ли да посочите те на какъв брой клетки съответстват?

- В т. 2.2 Подготовка на клетките за електропорация при всички щамове се споменава за инкубиране в дестилирана вода за различен интервал от време. Можете ли да обясните защо се налага това инкубиране?

Следващата глава обхваща получените резултати и дискусия.

Извършен е голям по обем работа, като е изследвано електроиндуцираното освобождаване на тотален белтък от дрожди; супероксид дисмутаза; екстракция на нискомолекулни биологично активни вещества, както и комбинация между електротретиране и последваща инкубация с литичен ензим при рекомбинантни дрожди. Особен интерес представляват изследванията с практическо приложение на необратимата електропорация целящи екстракцията на чисти биологично активни вещества с приложение в фармацевтичната, хранително-вкусова и козметична индустрия.

Към тази глава имам следните въпроси:

- В т. 1.1.1 се казва «чрез белязане с пропидиев йодид установихме, че средно 18.3% от получените клетки са мъртви», този процент е преди каквото и да било третиране?

- Как си обяснявате спада в количеството на тотален белтък от използвани бирени дрожди, представен на фиг. 7, при условие, че намирате 100% порация по пропидиев йодид, тази тенденция се наблюдава и при двете продължителности на третиране (0.5 и 1 ms)?

- В т. 1.2.4 е изследвано влияние на тиолово съединение, защо за това изследване се прилагат различни от останалите условия на електротретиране?

На страница 87 на фигура 25 и в предхождащият я абзац, описващ процедурата по третирането на щам *K. Marxianus* е отбелязано, че клетките след електричното третиране са разредени, в един от случаите, в 50mM КФБ и 180mM глицерол, а в абзаца след фигурата се споменава 175mM глицерол. Това случайна грешка ли е?

Като резултат от изпълнението на целта на дисертационния труд са формулирани 10 извода.

Приносите са разделени на 4 научни и 2 с научно-приложен характер.

Получените резултати са представени на 6 международни конференции и са публикувани в 2 списания с импакт фактор, съответно 2.14, Q2 и 3.16, Q1. Забелязани са общо 7 цитата.

Съдържанието на автореферата отговаря на дисертацията.

Заклучение

Считам, че представената ми дисертация, по актуалност, обем на извършената експериментална работа, наукометричност, макар и с някои малки технически забележки, отговаря на изискванията на закона за развитие на академичния състав на Република България.

Въз основа на това убедено препоръчвам на членовете на научното жури да гласуват положително и да присъдят на Бояна Димитрова Ангелова образователната и научна степен «Доктор».

31.03.2020г.

София

Рецензент:

Доц. д-р Биляна Николова