

СТАНОВИЩЕ

от Проф., д-р, дхн Венета Боянова Иванова,
Институт по микробиология „Стефан Ангелов” при БАН,
член на научно жури, сформирано със заповед № I-18 от 05.02.2018 на Директора на Института
по микробиология «Стефан Ангелов» и Научен ръководител на докторанта

относно дисертационния труд на редовен докторант Анна Иванова Бръчкова
на тема: **„Изолиране, идентификация и биологично действие на β -
карболинови алкалоиди и дикетопиперазини от антарктически
микроорганизми от вида *Laceyella sacchari*”**

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”
в професионално направление 4.3. „Биологически науки”, научна специалност 01.06.12.
„Микробиология” съгласно заповед № I-218/30.09.2010 г., ИМикБ, БАН

Докторантката Анна Иванова Бръчкова е родена на 01.06.1981 г. в гр. София. През 2000 г. завършва Профилирана гимназия „Св. Методий” с изучаване на чужди езици (немски и руски). От 2000-2006 г. се обучава в Биологическия факултет на СУ “Св. Климент Охридски”. След втори курс в Биологическия факултет, Бръчкова продължава образованието си по биология, като се премества в Техническия университет Кайзерслаутерн. След двугодишно обучение в Техническия университет в Кайзерслаутерн през 2004 г. се завръща отново в Биологическия факултет на СУ “Св. Климент Охридски”, България. През 2006 г. получава бакалавърска степен по специалността биология, а през 2008 г. защитава магистърска степен със специализация по „Зоология на гръбначните животни”. През 2007 г. завършва успешно двугодишен курс за учител по биология с включен в него учителски стаж. От 2005-2008 г. работи като секретарка във външнотърговската фирма „Steel Trading”. От 03.2008 – 01.2009 г. изпълнява длъжността на секретарка в немската фирма “Sysco Set Ltd.”. От 03. 2009 -05. 2009 г. работи като технически сътрудник във фирма „ВалТроник ООД”, а от 15.08. 2009 - 31.10.2009 г. изпълнява функцията на орнитолог по проект към БАН на тема: „Проучване на есенната миграция на птиците в Североизточна България”.

Със заповед № I-218/30.09.2010 Анна Иванова Бръчкова е зачислена, като редовен докторант в отдел по „Приложна микробиология” към ИМикБ, БАН на тема: *„Изолиране и идентификация на биологично активни вещества от арктически и антарктически микроорганизми”* с научен ръководител на докторанта проф., дхн Венета Боянова

Иванова. След отчитане на третата година от докторантурата, Анна Бръчкова е отчислена с право на защита в рамките на две години по шифър 4.3. направление „Биологически науки” („Микробиология”- 01.06.12), с научен ръководител проф., д-р., дхн Венета Боянова Иванова (заповед № I-99/14. 07. 2014). Със заповед №I-100/14. 07. 2014 е направена промяна (конкретизиране) на заглавието на темата на докторантурата както следва: *”Изолиране, идентификация и биологично действие на β -карболинови алкалоиди и дикетопиперазини от антарктически микроорганизми от вида *Laceyella sacchari*”*.

По време на разработката на докторантурата, редовният докторант Анна Бръчкова по собствено желание е провела следните специализации: От 01.05.2013-31.10.2013 г.(6 месеца) е на специализация в изследователския център Оуланка към Университета на Оулу, Финландия за изучаване на фински език и вземане на водни проби от Полярния кръг за хидробиологични изследвания. От 02.03.2015–30.11.2015 (9 месеца) е на специализация, като стипендиант на Немската федерална фондация за околна среда. Специализацията е проведена в Института за изследване на птиците „Фогелварте Хелголанд”, Германия на тема: „Полово специфични ефекти на възрастта на родителите върху жизнеспособността на поколението при морска птица с голяма продължителност на живота – речна рибарка (*Sterna hirundo*)”. Следва да отбележа, че проведените две специализации нямат отношение към разработваната тема на дисертацията, поради което срокът за приключване на дисертацията бе значително удължен.

Темата на дисертационната разработка е изключително актуална. В последните две десетилетия усилено се изследва микроорганизмовият свят, битуващ в студените региони на планетата Земя. Особено голям интерес представлява малко проученият континент Антарктида.

Дисертационният труд на Анна Бръчкова е посветен на изследване на антарктически микроорганизми. В процеса на търсене на нови биологично активни вещества с антимикробно действие бяха изследвани два непроучени щама *Thermoactinomyces* sp. IMBAS-14A и *Thermoactinomyces* sp. IMBAS-22A, изолирани от екскременти на пингвини, колекционирани на остров Ливингстън, Антарктида, продуценти на β -карболинови алкалоиди и дикетопиперазини (циклични дипептиди). Двата щам са идентифицирани до вида *Laceyella sacchari* с помощта на молекулярно биологични методи. Разработени са оригинални лабораторни технологии за изолиране, пречистване и препаративно хроматографско разделяне на β -карболинови алкалоиди и дикетопиперазини от културалните течности на *Laceyella sacchari* IMBAS-14A и *Laceyella sacchari* IMBAS-22A.

Доказана е пълната химическа структура чрез HPLC/DAD/ESI-MS, 1D и 2D ЯМР- анализи (^1H , ^{13}C , APT, HSQC и HMBC) на β -карболиновия алкалоид 1-метил- β -карболин (харман), с Mm. 182 Da и емпирична формула $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2$, изолиран от културалната течност на *Laceyella sacchari* IMBAS-14A. Алкалоидът преди това е изолиран многократно от медицински растения и от *Pseudomonas* sp. K44-1 и за първи път от *Laceyella sacchari*. Идентифицирана е частичната структура на 1-ацетил-4-метил- β -карболин по метода на метаболомиката (HPLC/DAD/ESI-MS). 1-ацетил-4-метил- β -карболинът се различава от 1-метил- β -карболина с 42 масови единици. Структурната разлика между двата компонента се дължи на присъствието на една ацетилна група (COCH_3) в структурата на 1-ацетил-4-метил- β -карболина. Последният е с Mm. 224 Da, емпирична формула $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ и за първи път е изолиран от природни източници. Подобие на UV-Vis спектрите между компонентите 1-метил- β -карболин (**1**) и 1-ацетил-4-метил- β -карболин (**2**) предполага и подобие в структурите им. Абсорбционните максимуми в UV-Vis спектъра на компонент **1** са при 220, 245, 299 и 365 nm, а на **2** при 220, 248, 301 и 373 nm. Получени са нови данни по отношение на биопродукцията на щам *Laceyella sacchari* IMBAS-22A. Той е продуцент на diketopiperazines (циклични дипептиди) *Cyclo(Pro-Leu)*, *Cyclo(Pro-Phe)*, *Cyclo(Leu-Val)*, *Cyclo(Phe-Leu)* и *Cyclo(Leu-Leu)*, които са с антимикробно действие. Те са изолирани за първи път от вида *Laceyella sacchari*.

Разработеният проблем в дисертацията е актуален, но изпълнението му е сложно и изисква комплексни познания както в областта на микробиологията, така и в областта на биоорганичната химия и генетика. Докторантката се опита да съчетае познанията си, но от представената по-горе професионална биографична справка става ясно, че тя при постъпването в нашата лаборатория не притежаваше предварително натрупан експериментален опит в посочените области. Ето защо на докторантката ѝ оказах максимална помощ, както в експерименталната част, също така в интерпретацията на спектралните анализи, водещи до идентификация на изолираните вещества, така и при оформлението на дисертацията в окончателен вид. Благодаря на доц., д-р. А. Гущерова за предоставените два щамове, изолирани и идентифицирани от екипа ѝ под нейно ръководство до род *Thermoactinomyces* sp. IMBAS-14A и IMBAS-22A. Тъй като колективът на нашата лаборатория разработваше в този момент три текущи проекта на докторантката ѝ бяха осигурени всички необходими условия за работа.

Докторантката Анна Бръчкова през периода на разработване на дисертационния труд показва старание и много добра организираност в експерименталната част, любознателност, упоритост и силно желание да отговори на поставените цели и задачи на

докторантурата и да изведе дисертационната разработка до края. Сравнително лесно се включи в спецификата на работата. Тя е възпитан млад учен, който се стреми да бъде любезен и внимателен към всички колеги. С голямо желание усвои методите за: култивиране, изолиране, пречистване и хроматографско разделяне на БАВ, както и усвояване на методите по изолиране на ДНК, с участието на гл.ас., д-р Йордан Манасиев, също така PCR анализа и интерпретацията на секвенциите на двата щама с участието на гл.ас., д-р Маргарита Дишева и доц., д-р Дилнора Гулямова. При разработване на дисертацията са използвани съвременни методи и техники. Получени са оригинални научни приноси. По темата на дисертацията са публикувани 3 статии с импакт-фактор, в които докторантката е първи автор. Забелязани са 5 цитирания на статиите по дисертацията. Досега Анна Бръчкова е участвала като съавтор с постерни доклади в 1 международен конгрес, 1 национална конференция и 1 на докторантски симпозиум на тема: “Молекулярната биология–отблизо. Предизвикателства и перспективи”. По време на докторантурата във връзка с общото специализирано обучение Анна Бръчкова посети задължителните курсове съгласно Правилника за дейността на Центъра за обучение и Академичния съвет при БАН, като събра по кредитната система 418 точки при необходими като минимален брой 250 точки. Участва също и в проект BG051PO001-3.3.04/32 по Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007 – 2013 г. Владее немски и английски, ползва фински и руски езици. Прилага много добре компютърните програми Word, Excel, Internet, PowerPoint, Photoshop, Outlook Express и статистическата програма MLwiN, които бяха необходими за експерименталната работа. От 01.09.2014 г. А. Бръчкова е назначена на позицията асистент в Института по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН.

Въз основа на представения дисертационен материал и на личните ми впечатления от докторантката считам, че дисертационният труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, правилниците за условията и реда за придобиване на научни степени за заемане на академични длъжности в БАН и по-конкретно в Института по микробиология „Стефан Ангелов”. Оценявам положително дисертационния труд и убедено подкрепям присъждането на образователната и научна степен „доктор“ на Анна Иванова Бръчкова по професионално направление 4.3. „Биологически науки” (Научна специалност 01.06.12. Микробиология).

10.04.2018 г.

Подпис:.....

(проф. дхн Венета Боянова Иванова)