

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Мариела Константинова Оджакова-Байтошева,

СУ „Св.Климент Охридски“

на материалите, представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност **“Професор”** в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; научна специалност **Микробиология – геномика и регулация на генната експресия при прокариоти**

Обща част

Конкурсът за “Професор”, публикуван в ДВ бр. 47/22.05.2020 г. е в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност Микробиология – геномика и регулация на генната експресия при прокариоти и е обявен за нуждите на Лаборатория „Микробна генетика“, Департамент „Обща микробиология“, ИМкБ – БАН. Единствен кандидат е доц. дн Пенка Младенова Петрова от същия институт. Прегледът на документите показва, че процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена. Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител са изготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение, Правилника за развитие на академичния състав на ИМкБ, БАН и отговаря на критериите за придобиване на академичната длъжност „професор“.

Кратки биографични данни

Пенка Петрова завършва БФ на СУ “Кл. Охридски”, специалност Биотехнологични процеси, Генно и клетъчно инженерство през 1994 г. През 2003 г. защитава дисертационен труд на тема “Създаване на система за генно клониране при *Streptococcus thermophilus*” и придобива научна степен „Доктор“ по научна специалност 01.06.12 – Микробиология. От 2003 до 2009 г. работи в ИМкБ последователно като научен сътрудник, III, II, I степен, а от 2011 г. е избрана за доцент. От 2013 г. до 2020 г. е Ръководител на Лаборатория по генна експресия, ИМкБ ; от 2015 г. до 2020 г е председател на комисия за работа с ГМО (в ИМкБ) към МОСВ; от 2018 е ръководител на Департамента по обща микробиология и ръководител на Лаборатория по метагеномика и генна експресия. През 2019 г е избрана за директор на ИМкБ. През 2020 г защитава дисертационен труд на тема: „Молекулярно-биологични изследвания на нови бактериални гликозид-хидролази с промишлено приложение“ и придобива научната степен „Доктор на науките“ по Микробиология.

Общо представяне на научните трудове

Доц. Петрова е публикувала **общо 68** научни труда в областта на конкурса. **38** от публикациите са в престижни списания с **IF** и имат **общ IF 54.785**. Данните от Scopus показват, че трудовете ѝ са **цитирани над 400** пъти, с **h-index – 11**. Участвала е в **46** национални и международни научни форуми.

В настоящия конкурс, извън дисертационния труд за придобиване на ОНС „доктор“ и конкурса за доцент, доц. Петрова е представила **33** научни труда. От тях **17 са** публикации в реферирани списания с **IF**, **една** е публикация със **SJR**, **две** са без **IF/SJR**, но с квартали (**Q4**) и **две** са глави от книги в престижни издателства като Taylor & Francis Group и Elsevier. Представен е и **1** патент. В материалите за участие в конкурса са включени още 10 статии и доклади от сборници от международни конференции без **IF/SJR** и квартали. В повече от половината публикации доц. Петрова е първи или кореспондиращ автор. Представените за конкурса публикации имат **общ IF 31.078** и са цитирани **156** пъти по данни от Scopus. Доц. Петрова е участвал в 19 научни форума, след заемане на академичната длъжност „Доцент“

От представените публикации, **5** са обособени като **хабилитационен труд**. Според квартали, в които *Journal Citation Reports (JCR)* на *Web of Science* групира научните списания, **три са с Q1**, **една е с Q3** и **една е с Q4**, с които доц. Петрова има **105 точки** и покрива изискуемите **100 т.** по **показател В** от Правилника за прилагане на ЗРАСРБ. Показателите от група Г са както следва: **три публикации с Q1; три публикации с Q2; две публикации с Q3; една публикация с Q4; две глави от книги и един патент**, като общо събира **245 т.** (изискуем минимум 200 т). По показател цитирания за периода 2012-2020 са представени **200** цитирания, което отговаря на **400 т.** (изискуем минимум 100 т).

Научни приноси

Основните приноси на научните изследвания на доц. Петрова са в три главни направления: доказване на нови ензими чрез геномни, транскрипционни и ензимологични подходи; секвениране на геноми и метагеноми и прилагане на методите на генното инженерство за конструиране на нови бактериални продуценти на киселини и горива.

Прилагайки съвременни методи от областта на геномиката и транскриптомиката, доц. Петрова провежда задълбочени изследвания на ензимите, отговорни за разграждането или синтеза на пребиотичните въглехидрати (инулин, фруктоолигозахариди, галактоолигозахариди и нишесте) от млечнокисели бактерии. Използваните генетични подходи за идентификация и щамово разграничение на МКБ, както и подробен анализ на географското биоразнообразие на щамове са описани в трудовете 4, 24 (справка Г) и 1 (справка В). При изследване на българските МКБ са открити едни от първите в света продуценти на амилази, β -фруктозидаза и β -галактозидаза. За първи път са идентифицирани гени, отговорни за хидролизата на α -глюкани при някои видове МКБ и са изолирани амилолитични представители на вида *Lactobacillus sakei* и рода *Enterococcus*. Направен е транскрипционен анализ и е изследвана регулацията на генната експресия на скорбяла-модифициращите ензими (5, 6, 9, 12, 14, 15, 20, 21 и 25 – справка Г).

Показано е че, български щамове МКБ, изолирани от ферментирали зърнени храни и напитки могат да се развиват в среда, съдържаща пребиотични въглехидрати като единствен въглероден източник (15 и 20). Филогенетичният анализ разкрива принадлежността на амилолитичните МКБ към 4 главни групи бактерии: *L. casei/paracasei*, *L. plantarum/pentosus*, *P. acidilactici/pentosaceus* и *E. faecium/durans*. Идентифицирани са и амилолитични представители на видовете *L. fermentum*, *Str. bovis*, *L. sakei* и *Lc. lactis* и е доказана експресията на гените: *amy1*, *glgB*, *agl*, *malL*, *treC* и *dexC* (15). Биоинформатичният анализ на гените и ензимите показва, че белтъкът, кодиран от *treC* при *L. paracasei* е ортолог на гена *malL*. За първи път са описани щамове МКБ изолирани от боза, които съчетават амилолитични и пробиотични качества и имат антимикробна ефективност срещу патогенните видове *E. coli*, *K. pneumoniae*, *V. cholerae* и *Listeria monocytogenes* (6 и 12).

Изследвайки 115 МКБ са открити четири щамове, способни да разграждат дълговерижен инулин: *L. paracasei* B41, LC1 и 7 и *P. acidilactici* PD3 (20). Генът *inu* на *L. paracasei* B41 е секвениран и е доказано, че кодира нова клетъчно-свързана фруктан- β -фруктозидаза. Ензимът е успешно пречистен от клетъчната стена и са определени неговите биохимичните параметри. Показано е, че стенно-локализираните ензими притежават различен брой домени за връзка с клетъчната стена, вариращи от 4 до 6. За първи път при *L. paracasei* е описано и доказано ключовото влияние на мангановите йони (Mn^{2+}) върху върху активността на ензима инулиназа, експресията на гена за инулиназа (доказано чрез RT-Real time PCR), транспорта на фруктоза през клетъчната стена и ензими от гликолитичния път. Разработен е нов биотехнологичен процес за микробно получаване на фруктоза от инулин (4 и 5 от справка В).

Детайлно е изследвана способността на родопски щамове *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* да синтезират галактоолигозахариди (ГОЗ) с доказан бифидогенен ефект. Демонстрирано е нетипично свързване β -(1 $\rightarrow$ 4) на последната галактозна единица и това е вероятно свързано с уникалните полезни свойства на българското кисело мляко (4 – справка Г). Показано е, че щамове от род *Bacillus* продуцират извънклетъчни ензими свързани с разграждането на скорбяла и лигноцелулозни субстрати (1, 3, 10, 11- справка Г). Представени са първи експериментални доказателства за способността на *B. velezensis*, *B. toyonensis* и *B. safensis* да разграждат лигноцелулозни въглехидрати. За първи път е доказано, че те продуцират 2,3-бутандиол и то не само от субстрат глюкоза, но и от захари от състава на лигноцелулозата.

При *Bacillus pseudocalophilus* са идентифицирани нов ген *cgt* и ензим циклодекстрин глюканотрансфераза, като хомологията на аминокиселинната секвенция с досега известните ензими е под 87%. За първи път рекомбинантен ензим циклодекстрин глюканотрансфераза е имобилизиран в магнитно-модифицирани носители с цел получаване на циклодекстрини. Повторната употреба на ЦГТ-азен магнитен биокатализатор показват възможността за получаване на три до четири пъти по-голямо количество циклодекстрини в сравнение с добива на еднократно използваните ензимни препарати (трудове №10, 11, 18 и 23).

Секвениран е ген, кодиращ ензим неураминидаза от нетоксигенен щам *Vibrio cholerae*. Секвенирането и характеризирането на гена *nanH* и кодирания от него ензим дават възможност за разработване на безопасно производство на сиалидаза (7).

За първи път е извършено метагеномно секвениране на съобщество, разграждащо целулоза с приложение за деградация на отпадъци при пилотирани космически мисии. Направлението е ново за ИМикБ и поставя началото на метагеномните изследвания на съобщества за космически цели (2 – справка В).

Изцяло секвениран е геномът на *B. velezensis* 5RB (NZ_QXJL01000001.1) (1 и 3 - Г). Геномът се състои от 3.9 Мб, съдържа 4 605 гена, като 3 745 от тях кодират белтъци, 81 - тРНК и 8 - рРНК. Анализът на гените разкрива възможността на *B. velezensis* да превръща целулоза, лигноцелулоза, скорбяла и инулин директно в ценни нискомолекулни продукти. В генома му са открити и седем пълни клъстера за синтез на антибиотици (макролактин, бацилаен, дефицидин, фенгицин, бацилбактин, бацилисин и сърфактин). Поради разнообразните му метаболитни възможности, *B. velezensis* е вид с огромен потенциал за нови приложения в биотехнологиите.

Част от изследванията на доц. Петрова са насочени към конструиране на нови щамове-продуценти. За първи път е конструиран рекомбинантен щам *Klebsiella pneumoniae* G31–А с въведен ген за α -амилаза от *Bacillus licheniformis* 44MB82/G. Рекомбинантният щам е способен напълно да конвертира високо концентрирани разтвори на нишесте в 2,3-бутандиол. (8). За първи път в *Zymomonas mobilis* DSM 424 е въведен ген за екстрацелуларна α -амилаза. Генът от *Bacillus licheniformis* е клониран в совалкови вектори pZT1, pZT2 и pZT3, под контрола на промоторите Plac (*Escherichia coli*) и SacC (*Zymomonas mobilis*) и е доказана хетероложната му експресия (16 и 17). Част от изследванията (10, 11, 18 и 23) са посветени на успешната хетероложна експресия в *E. coli* на ензима циклодекстринглюканотрансфераза (ЦГТаза) на *Bacillus pseudokaliphilus* 8SB. Представените в този раздел резултати имат значителен принос, тъй като са свързани със създаването на една от първите рекомбинантни ЦГТ-ази. Секвенционният анализ на гена *sgt* разкрива, че ЦГТазата на щам 8SB е нов ензим, с ниско подобие с известните дотогава (11). Успешната извънклетъчна секреция на ензима от щам *E. coli* BL21 (DE3) и оригиналните етапи на пречистване позволяват получаването на големи количества рекомбинантен ензим (10). Показано е конструирането на щам *Klebsiella pneumoniae*, способен да продуцира 2,3-бутандиол от нишесте. В успешния продуцент *K. pneumoniae* G31 на 2,3-БД от глицерол, описан в патент (13), е клониран ген за амилаза *amyL* от щам *B. licheniformis* 44MB82/G. под контрола на различни промотори - Plac (*Escherichia coli*) и SacC (*Zymomonas mobilis*).

Доц.Петрова е представила и визия за бъдещите си изследвания. Гаранция за успеха на предвидените генетични проучвания на млечнокиселите бактерии и конструиране на нови продуценти на ценни метаболити от възобновяеми субстрати, освен безспорните научни постижения, експериментален и административен опит е и финансовата обезпечност осигурена от 7 текущи проекта.

Проектна дейност

Според попълнената справка за изпълнение на минимални национални изисквания (показател Е), Доц. Петрова е ръководител или участник в разработването на 20 научни проекта финансирани основно от ФНИ,МОН, договори с чуждестранни фирми, национални и европейски научни, оперативни и рамкови програми. Общата стойност на привлечените средства от проекти под нейно ръководство възлиза на 252 000 лв, като 225000 лв са по проект финансиран от китайската компания Bright Dairy & Food Co. Ltd.

Педагогическа дейност

Под ръководството на доц. Петрова са защитени успешно две докторски дисертации. Била е научен ръководител на 5 успешно защитили дипломанти от СУ и на 42 специализанти в България и чужбина. Титуляр е на курсове и програми за обучение: Генно инженерство и генна експресия при бактериите, Генно инженерство и рекомбинантни ДНК технологии, Генно модифицирани микроорганизми, Молекулярни изследвания на млечнокисели бактерии.

Експертна дейност

Доц. Петрова е участвала и участва в различни научни съвети и научни експертни комисии, научни журита за присъждане на ОНС „Доктор“ и конкурси за академична длъжност; изпитни комисии. Член е на Съюза на учените в България, Секция Микробиология, имунология и вирусология, на Европейската федерация на микробиологичните дружества (FEMS), на редакционната колегия на списание Journal of Investigative Genomics, MedCrave Group, САЩ

Заклучение:

Документите и материалите, представени от доц. Петрова отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение, Правилника за развитие на академичния състав на ИМикБ, БАН и надхвърлят минималните национални изисквания за придобиване на академичната длъжност „професор“. Представените материали ми дават основание да изразя убедено положителното си становище по отношение на кандидатурата на доц. дн Пенка Петрова за академичната длъжност “професор”. Тя е утвърден специалист, ползващ се с авторитет в научните среди. Като член на Научното жури по обявения конкурс давам положителна оценка и препоръчвам на членовете на уважаемия Научен съвет на ИМикБ към БАН да избере доц. Пенка Младенова Петрова на академичната длъжност „Професор по професионално направление 4.3. Биологически науки; научна специалност Микробиология – геномика и регулация на генната експресия при прокариоти

09 .09. 2020 г.

/проф.. д-р Мариела Оджакова/

