

# СТАНОВИЩЕ

**От:** доц. д-р Милен Иванов Георгиев,  
Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН,  
Бул. Руски 139, Пловдив 4000

на дисертационен труд за присъждане на научна степен „доктор на науките“

**Автор:** доц. д-р Пенка Младенова Петрова

**Тема:** Молекулярно-биологични изследвания на нови бактериални гликозид-хидролази с промишлено приложение

**Професионално направление:** 4.3. Биологически науки

Настоящото становище е съставено в съответствие със Заповед I-128 от 23.12.2019 г. на Директора на Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН (ИМикБ) по решение на Научния съвет на ИМикБ, Протоколи 12 от 28.11.2019 г. и 13 от 17.12.2019 г.

## **Общо представяне на процедурата и справка за кандидата**

Представеният комплект материали е в съответствие с изискванията от Раздел III. Условията и реда за придобиване на научната степен „доктор на науките“ от Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Института по Микробиология „Стефан Ангелов“ при Българска Академия на Науките и включва всички необходими документи.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за откриване на процедура за защита на заседание на Националния семинар по обща микробиология на 18.11.2019 г.

Пенка М. Петрова постъпва в ИМикБ-БАН през 1997 г. като редовен докторант. След успешна защита на докторска дисертация (диплома от 2004 г.) преминава през всички степени на научен сътрудник (III – I), а през 2011 г. е избрана за доцент в ИМикБ-БАН, където работи и понастоящем. Личното ми впечатление от доц. д-р Петрова е, че тя е уважаван ерудиран учен със значителни компетенции в съвременната микробиология, молекулярна биология и биотехнологии.

## **Актуалност на тематиката, характеристика и оценка на дисертационния труд**

Потреблението на ензими и ензимни препарати от микробни източници в световен мащаб непрекъснато расте. Изучаването на ензимното разнообразие (в т.ч. хидролазните ензими) и кодиращите ги гени в съответните щам-продуценти допринася за допълване на знанието за адаптивните и еволюционни механизми (на ниво гени), и за филогенетичните връзки между различните микробни групи. Нещо повече, гликозид-хидролазите са важни индустриални ензими с редица приложения в хранително-вкусовата промишленост, фармацевтиката, медицината и биотехнологиите. В тази връзка приемам, че по същество дисертационният труд на доц. д-р Петрова е сериозна актуална научна разработка с научен и научно-приложен характер, като секвенирането на геном(и), идентифицирането на нови гени, хетероложна експресия на протеини с каталитична активност, и изолиране, пречистване и имобилизация на ензими.

Дисертационният труд на доц. д-р Петрова е написан на 358 страници; структуриран е адекватно и в рамките на общоприетите стандарти. Библиографичната справка включва 625 литературни източника, само 3 от които са на кирилица. Приятно впечатление прави и факта, че значителна част от цитираната литература е от последните години, което е още един атестат за актуалността на тематиката на дисертацията.

Детайлното познаване на съвременните тенденции в биотехнологията на бактериалните шам продуценти и гликозид-хидролазните ензими най-ясно личи от литературния обзор на дисертацията, който е компетентно и интелигентно структуриран. Литературният обзор завършва с обобщение, цел на дисертационния труд и адекватно формулиране на основните задачи и работни хипотези.

Методика на изследването. Прави приятно впечатление, че доц. д-р Петрова използва модерни методи с широк спектър на приложение, като биохимични, молекулярно биологични (PCR, RP-PCR, RAPD, MLST, PFGE, ДНК-, РНК-хибридизационни) и аналитични (BETX, TX-MS).

Разделът резултати и обсъждане е структуриран в четири подраздела, обобщаващи обемната работа по провеждане на молекулярно-биологични изследвания на гликозид-хидролизиращи ензими от млечно-кисели бактерии (подраздел 1) и бактерии от род *Bacillus* (подраздел 2), а също и ензими със субстрат сиалова киселина (подраздел 3) и анализиране на  $\beta$ -глюкуронидаза (подраздел 4). Заключението обобщава направените от доц. д-р Петрова изследвания и съответните изводи, постигнатите цели, а също и възможностите за бъдещи изследвания и евентуални приложения.

**Приносите** от дисертационния труд са разделени в две основни групи, като приноси с теоретичен характер (6 бр.) и такива с приложна насоченост (6 бр.). Така представени, приносите от дисертационния труд отразяват неговата същност и в същото време не надценяват получените резултати.

Теоретични:

1. За първи път са идентифицирани гените, отговорни за хидролизата на  $\alpha$ -глюкани при видовете *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus paracasei*. Изолирани са първите в света амилолитични представители на вида *Lactobacillus sakei* и рода *Enterococcus*.
2. За първи път са пречистени клетъчно-свързани фруктан- $\beta$ -фруктозидази на *Lactobacillus paracasei*. Нуклеотидната последователност на кодиращите ги гени доказва, че ензимите са нови, с аминокиселинна замяна в съседство с каталитичната триада на активния център.
3. Идентифицирани са нов ген *cgt* и ензим циклодекстрин глюканотрансфераза (ЦГТ) при *Bacillus pseudocalophilus*, като хомологията на аминокиселинната секвенция с досега известните ензими е под 87%.
4. За първи път е извършена хетероложна експресия на  $\beta$ -глюкуронидаза в диплоидни щамове на *Ogataea polymorpha*.
5. Секвениран е генома на *Bacillus velezensis* 5RB, а анализът на гените разкрива възможностите на щама да конвертира лигноцелулозни субстрати в ценни продукти.
6. За първи път е доказана връзката между хидрофобността на клетъчната повърхност и устойчивостта към органични разтворители.

Приложни:

1. Метод за бърз транскрипционен анализ на гени, отговорни за усвояването на нишесте от амилолитични млечнокисели бактерии.

2. Рекомбинантен ензим ЦГТ е имобилизиран за първи път в магнитно-модифициран носител с цел получаване на циклодекстрини (ЦД). Повторната употреба на ЦГТ-азен магнитен биокатализатор показват възможността за получаване на 3-4 пъти по-голямо количество ЦД за 120 мин в сравнение с добива при еднократно използване на ензимни препарати.
3. За първи път е осъществено детайлно молекулярно-биологично изследване на неураминидаза от нетоксичен щам *Vibrio cholerae*. Секвенирането и характеризирането на гена *nanH* и кодирания от него ензим създават възможност за разработване на технология за безопасно производство на сиалидаза.
4. За първи път е доказан синтез на ензими *in vivo*, хидролизиращи (хеми)целулоза при видовете *B. safensis*, *B. toyonensis*, и *B. velezensis*.
5. Създаден е нов метод на основата на PCR за детекция на „къси термошокови гени“ в *Streptomyces thermophilus*, което създава възможност за бърза селекция на щамове за влагане в стартерни култури.
6. За първи път е демонстрирано съдържанието на пребиотичните въглехидрати галактоолигозахариди, индол-3-пропионова киселина и циклични антимикробни пептиди в българско кисело мляко.

#### **Преценка на публикациите и личния принос на автора**

Резултатите от настоящата дисертация са обобщени в 33 научни публикации (*при изискуеми 20 без включените за придобиване на образователна и научна степен „доктор“*), в това число 18 в списания с импакт фактор (с общ ИФ 25.762), 1 в списание с SJR, 2 глави от книги, 6 доклади от конференции и семинари, публикувани в пълен текст и 6 броя статии в други списания.

Представени са разделителни протоколи между съавторите.

Забелязани са 281 цитирания в научната литература (*при изискуеми 150 броя*). Тази цифра, според мен, не бива да се абсолютизира, тъй като голяма част от публикациите са за периода 2017-2019, т.е. тепърва ще бъдат цитирани и оценени по достойнство от научната общност.

Резултатите по дисертацията са представени на 37 конференции в България и чужбина. Този факт, заедно с големия брой цитирания показва, че работата на доц. д-р Петрова е получила сериозен международен отзвук.

Съществени критични забележки към доц. Петрова нямам. В дисертацията се забелязват някои синтактични и печатни грешки, които по същество са минорни, поради което ги считам за несъществени, т.е. не намаляват качеството на дисертационния труд. Препоръката ми към доц. Петрова е да се опита да комбинира методологията, използвана в настоящата дисертация с последния от т.нар. омикс подходи, а именно метаболомиката, с цел постигане на изследвания върху бактериалните ензимни продуценти на системно ниво („системна биология“).

#### **Автореферат**

Авторефератът е в обем от 118 страници и е онагледен с 80 фигури и 26 таблици. Съдържанието на автореферата е според изискванията и напълно отразява основните резултати от дисертационния труд. Добре би било да има и резюме на английски език.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд съдържа значими научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ),

Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, Правилника на БАН и Институт по Микробиология – БАН. Представените материали и резултати напълно съответстват на специфичните изисквания, приети във връзка с Правилника на Институт по Микробиология – БАН.

Дисертационният труд показва, че доц. д-р Пенка Петрова притежава задълбочени теоретични знания, научна ерудиция и професионални умения по научната специалност.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване (представено от рецензираните дисертационен труд, автореферат и съпътстващи документи) и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди научната степен „доктор на науките“** на Пенка Младенова Петрова по професионално направление 4.3 Биологически науки.

04.03.2020 г.  
гр. Пловдив

Изготвил становището: .....

/Доц. д-р Милен И. Георгиев/

