

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Соня Костадинова Трифонова
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление 4.3. Биологически науки
докторска програма “Биохимия“

Автор: Станимира Ангелова Ангелова

Тема: „Изследване свойствата на биоинженерни алфа-D-глюкани, синтезирани от мутантна глюканзахараза URE 13-300“

Научен ръководител: проф. д-р Илия Николов Илиев – Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед № РД-21-2469 от 18.12.2023 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Изследване свойствата на биоинженерни алфа-D-глюкани, синтезирани от мутантна глюканзахараза URE 13-300“ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Биохимия“. Автор на дисертационния труд е Станимира Ангелова Ангелова – докторант в редовна форма на обучение към катедра „Биохимия и микробиология“, с научен ръководител проф. д-р Илия Николов Илиев от ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Станимира Ангелова комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Чл. 36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Докторантката е приложила 3 броя публикации по темата на дисертационния труд.

Станимира Ангелова е възпитаник на Биологическия факултет на ПУ „П. Хилендарски“; завършила е ОКС „бакалавър“, специалност „Молекулярна биология“ през 2014 г. и ОКС „магистър“, специалност „Биофармацевтична биохимия“ през 2018 г. В периода м. май 2016 г. – м. януари 2017 г. работи в Ритейл Дайрект ЕООД, а от м. февруари 2017 до м. март 2020 г. в Биовет АД – Пещера, като химик-аналитик. На

01.03.2020 г. е зачислена като редовен докторант в катедра „Биохимия и микробиология“, докторска програма „Биохимия“ и същевременно, от м. май 2020 г. работи като изследовател в Центъра по технологии на ПУ „Паисий Хилендарски“.

2. Актуалност на тематиката

Ензимно катализираните реакции намират все по-голямо приложение в индустриалните процеси, поради безспорните им предимства като селективност, икономичност, ефективност и по-слаб отпечатък върху околната среда. Поради това, изолирането и охарактеризирането на нови ензими, и подобряване на характеристиките на съществуващите е основно направление в съвременните биотехнологии. Перспективите в тази насока са фокусирани към микробните продуценти, които са предпочитани пред растителните и животински източници, тъй като производството на микробни ензими е по-евтино, по-лесно контролируемо и надеждно.

Глюканзахаразите синтезират глюкани с различна разтворимост, степен на разклоняване, маса и конформация, които се прилагат в хранително-вкусовата, медицинската, фармацевтичната и козметичната индустрии, като стабилизатори, пълнители, имуностимуланти или пребиотични съединения. Предвид разнообразните възможности за приложение, микробните глюканзахарази са интензивно проучвани; секвенирани са и са клонирани гени, кодиращи ензимите; анализирана е връзката структура – функция. Чрез стратегиите на рационалния дизайн се работи за създаването на молекули с подобрени ензимни функционалности.

В този аспект, темата на дисертационния труд, свързана с получаване на мутантна глюканзахараза чрез методите на протеиновото инженерство и анализиране на свойствата ѝ е актуална, и с потенциал за практическо приложение.

3. Познаване на проблема

Литературният обзор е написан целенасочено и аналитично, и обхваща всички аспекти на разработваната тематика. В първите два раздела на обзора е представена информация за микробните глюканзахарази, структурната им организация, механизмите на действие и видовете глюкани, синтезирани от млечнокисели бактерии. Основният акцент в обзора е върху сайт-насочения мутагенез в гените, кодиращи GH70 глюканзахаразите, който води до промени в структурата и активността на ензимите, както и в свойствата на синтезираните глюкани. Логично, обзорът завършва с приложенията на λ -глюканите и олигозахаридите, синтезирани с микробни GH70 глюканзахарази, което аргументира целта на дисертационния труд.

Обзорът, оформен на базата на 175 литературни източника на латиница (над 70% от които публикувани след 2000 г.), показва много добра теоретична осведоменост на докторантката по темата на дисертационния труд и уменията ѝ да анализира научната информация с оглед на избраната тематика.

4. Методика на изследването

Целта на дисертационния труд и произтичащите задачи са ясно и точно формулирани. За постигането им е избран е подходящ методичен подход. При решаването им, Станимира Ангелова е усвоила и приложила голям брой съвременни биохимични, химични, микробиологични, молекулярно-биологични методи, сред които HPLC хроматографски анализ, ЯМР структурен анализ, методи за изследване на кинетиката на ензимни реакции, сайт-насочен мутагенез и биоинформатичен анализ. Много добро впечатление прави коректното и изчерпателно описание на методите, което дава възможност да бъдат възпроизведени. Големият брой разнообразни методи, които са адекватно планирани и изпълнени, ясно показва, че докторантката е придобила необходимия методичен опит за провеждане на научен експеримент.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд включва 157 страници. Съдържанието е структурирано в раздели, между които са спазени оптимални съотношения: Въведение – 2 стр., Литературен обзор - 32 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 15 стр., Резултати и обсъждане – 50 стр., Изводи – 2 стр., Приноси – 1 стр., Литература – 11 стр.. Към раздел Резултати и обсъждане са включени 33 страници приложения.

Резултатите от експерименталната работа са систематизирани в пет основни подраздела. Анализирани са свойствата на глюканзахарата (URE 13-300), синтезирана от рекомбинантния щам *Escherichia coli* BL21, включително е проучено влиянието на органични разтворители върху активността, върху трансферазните реакции и степента на полимеризация на синтезираните глюкоолигозахариди (подраздели 1 и 2). За първи път е осъществен е синтез на олигозахариди във водно-органична среда с глюканзахараза URE 13-300. Безспорен принос на разработката е успешно проведения сайт-насочен мутагенез чрез замяна на аминокиселината глицин на 449 позиция с лизин в домен В на каталитичния домен 1 на ензима (подраздел 3). Получената мутантна глюканзахараза U13M1 се експресира при различни условия и има променени биохимични и кинетични свойства (подраздел 4). Синтезираният, с мутантния ензим глюкан е с редуцирани α -(1-3)-гликозидни връзки. Друг значим принос на дисертационния труд е определянето на оптималните условия за синтез на олигозахариди с глюканзахараза U13M1 (подраздел

5). Експерименталният материал е богато онагледен с 3 таблици и 31 фигури; допълнително в приложенията се представени 63 фигури.

Резултатите са компетентно и критично анализирани. Всеки от подразделите завършва с кратко заключение, в което резултатите са обсъдени с оглед на поставените цел и задачи, и на базата на наличните в литературата данни, и са набелязани някои перспективи за бъдеща работа.

Изводите са логично следствие от поставените задачи и отразяват вярно получените резултати. Формулираните приноси имат научно и приложно значение.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Във връзка с дисертацията, Станимира Ангелова е представила 3 публикации, които са реферирани и индексирани в световноизвестните бази данни. Статиите са на английски език и в две от тях Станимира Ангелова е първи автор. Една от публикациите е в списание с Q2 (Catalysts), а останалите 2 са в списания с Q4 (Acta Microbiologica Bulgарica и Ecologia Balkanika). С посочените публикации, докторантката изпълнява националните минимални изисквания на придобиване на ОНС „доктор“ в професионално направление 4.3 Биологически науки: Показател А – 50 т.; Показател Г – 44 т.

По време на обучението си в ОНС „доктор“, Станимира Ангелова е участвала в 6 научни форума, 5 научно-изследователски проекта и е провела двумесечна специализация в Университета в Гент, Белгия.

Познавам лично докторантката – Станимира Ангелова, като работоспособен, всеотдаен, високо ерудиран млад изследовател и колега, който активно участва в изследователската и преподавателска дейност на катедра „Биохимия и микробиология“. Включва се с ентузиазъм и в административни дейности, доказателство за което са участията ѝ в процедури по програмна акредитация на докторски програми. Убедено мога да заявя, че дисертационният труд на Станимира Ангелова е резултат от работата ѝ, под ръководство на проф. д-р Илия Илиев.

7. Автореферат

Авторефератът е направен според изискванията и вярно отразява основните резултати на дисертационния труд.

8. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам да продължи работата, свързана с използване на мутантната глюканзахараза U13M1 за синтез на глюкани с подобрени физико-химични свойства и приложения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд *съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на **всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката Станимира Ангелова **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност **Биохимия**, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване, представяне и интерпретиране на получените резултати.

Поради гореизложеното, убедено давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“* на **Станимира Ангелова Ангелова** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „**Биохимия**“.

19.02.2024 г.

Изготвил становището:

Проф. д-р Соня Костадинова Трифонова