

СТАНОВИЩЕ

Върху **дисертационен труд** на тема „Неураминидаза от *Vibrio cholerae* NON-O1 – изолиране, пречистване и характеризиране“ за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Микробиология“ (шифър 010612), по шифър 4.3 направление “Биологични науки”

автор: асистент Румяна Тодорова Енева, от Института по микробиология „Стефан Ангелов“ при БАН, Департамент „Обща микробиология“, Секция „Микробна Генетика“ с научен ръководител проф. д-р Игнат Абрашев, дбн.

от чл.-кор. Христо Миладинов Найденски д-р, (Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН), член на научното жури за защита на дисертационния труд, определено със заповед на Директора № I-105/01.07.2015 г.

Декларирам, че не съществуват условия за конфликт на интереси между мен и кандидата по смисъла на ал.1, т.3 и 5 от ДР на ЗРАСРБ

Изследванията върху факторите на патогенност и вирулентност при редица бактериални видове се разширяват и задълбочават не само с оглед изясняване патогенезата и диагностиката на причиняваните от тях инфекции, но и с цел търсене на подходящи мишени за създаване на нови антибактериални агенти и ваксини. Настоящият дисертационен труд третира и разработва именно един от известните фактори на патогенност, а именно ензима неураминидаза (или сиалидаза) при един важен представител – *Vibrio cholerae*, причинител на опасната и силно инфекциозна антропоноза – холера. Успешно е изолиран, пречистен в хомогенна форма и охарактеризиран ензима неураминидаза от условно патогенен щам *Vibrio cholerae non-O1*, с което се правят важни приноси за микробиологията и екологията на този био/серотип. Получените резултати изясняват редица съществуващи противоречиви данни в литературата относно молекулното тегло, брой субединици, субстратна специфичност и др. характеристики на ензима.

Тези накратко представени констатации, както и важната роля на неураминидазите (сиалидази) и техните субстрати в редица жизнено важни биологични процеси като регулация на клетъчното деление и морфогенеза, контрол на клетъчната адхезия и модифициране на рецептори, метаболизъм на ганглиозиди и гликопротеини, регулиране на имунната система чрез въздействие върху левкоцитите и възпалителната реакция и др. очертават ясно значимостта и актуалността на представените изследвания върху сиалидазите.

Поставените в дисертационния труд цел и задачи са изпълнени успешно и с адекватни експериментални подходи, реализирани прецизно с широк набор от класически микробиологични и биохимични методи, включително и такива за определяне физикохимичните свойства на ензима неураминидаза (PAGE, температурна стабилност, УВ спектър) и кинетичните свойства (температурен оптимум, ефект на рН и концентрацията на субстрата върху скоростта на ензимната реакция, субстратна специфичност и др.). Използваните съвременни молекулно-биологични методи (PCR анализ, секвениране, множествоно групиране и др.) позволяват доказването на *nanH* гена при изолираните щамове продуциращи ензима, определяне степента на сходство - 99% с щам *V. cholerae* Amazonia 3509, както и извеждане на аминокиселинната последователност на полипептида, което позволява да се определи теоретично неговото молекулно тегло и изоелектрична точка.

За първи път са проучени физикохимичните и генетични характеристики на неураминидазата при условно патогенните представители на *Vibrio cholerae* O1, за разлика от токсигенните щамове, които са добре проучени и ензима съществува като търговски продукт. Направените физикохимични и генетични характеристики, както и решените технологични въпроси от дисертанта, дават възможност за отстраняване на основното неудобство при производството на съществуващите търговски препарати, а именно работата с патогенни щамове, принадлежащи към особено опасния серотип O1.

Разработена е оригинална хранителна среда за култивиране на щама продуцент, и са получени нови данни за кинетичните характеристики на ензима, неговата гликопротеинова природа, индукцията на ензимната синтеза от различни вещества, включително и глюкомаркопептид и др.

Разработена е лесна за изпълнение, възпроизводима и икономически ефективна лабораторна технология за получаване на високо пречистен и силно активен ензим, което заедно с отсъствието на алдолаза и протеаза в крайния продукт го правят изключително подходящ за практическо приложение.

Заклучение

Представеният дисертационен труд на тема „„Неураминидаза от *Vibrio cholerae* NON-O1 – изолиране, пречистване и характеризиране“ представлява напълно завършено и задълбочено съвременно проучване върху този важен за оцеляването и патогенния потенциал ензим, изолиран от посочените условно патогенни холерни вибриони. Изхождайки от актуалността на дисертацията, използваната разнообразна и съвременна методология, медико-биологичната и биотехнологичната ѝ насочености, и постигнатите резултати с важна теоретична стойност и практическа приложимост, давам своята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да гласуват единодушно с положителен вот за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Румяна Тодорова Енева.

София, 01.09.2015

Изготвил:

(чл.-кор. д-р Христо Найденски)