

Р Е Ц Е Н З И Я

върху дисертационния труд „Структура и функции на въглехидратните вериги на хемоцианин, изолиран от морски охлюв *Rapana venosa*” представен от Людмила Георгиева Велкова за присъждане на научната и образователна степен „ДОКТОР”

Рецензент : дхн. инж. Борис Василев Алексиев, професор при катедра „Химия и химични технологии” на Филиал – Разград към Университет „Ангел Кънчев” – Русе

Дисертационният труд се отнася до много актуална област на въглехидратната и протеинова химия, която се занимава с природните гликопротеини. В последно време интересът към тях нараства лавинообразно поради доказаното им участие в редица биохимични процеси в растителния и животински свят. Откриват се и възможности за практическото им приложение в медицината за лечебни и диагностични цели.

Изследванията в тази област се затрудняват в значителна степен от хетерогенността и високата молекулна маса на природните гликопротеини. Това пролича още преди повече от 30 години при първоначалните експерименти върху яйчния овомукоид, проведени в групата на проф. М. Кръстева. В последно време нещата у нас в тази област съществено се промениха в позитивна посока благодарение на напредъка на изследователските методи в световен мащаб и изключителната активност на колегите от групата, ръководена от доц. д-р П. Долашка.

Дисертационният труд на г-жа Велкова е разработен в лабораторията „Химия и биофизика на белтъци и ензими” на Института по органична химия с Център по фитохимия при Българската Академия на науките, в лаборатории на университетите в Гент (Белгия) и Тюбинген (Германия). Той обхваща 161 страници, разпределени, както следва :Използвани съкращения – 3 страници, Увод – 2, Литературен обзор – 43, Цел и задачи – 1, Материали и методи – 24, Резултати и дискусия – 72, Изводи – 2, Приноси – 1, Литературни източници – 8, Публикации и участия в научни форуми – 2 и цитати – 3 страници. Цитираната литература обхваща 139 акуратно посочени източници и около 34 % от тях са за периода от последните 10 години, което потвърждава високата актуалност на тази

тематика и ми дава основание да приема литературната осведоменост на докторантката за много добра.

Литературният преглед потвърждава направеното по-горе заключение. Разглеждането на състоянието на третираните в дисертационния труд въпроси до началото на изследванията на докторантката се характеризира с издържан в научно отношение стил и отлично онагледяване. Имам и няколко бележки към тази част на труда :

1. В някои части на раздела има излишни, по мое мнение, подробности (пример за биохимичния синтез), отстраняването на които би намалило и без това големия обем на прегледа.
2. На стр. 43, фиг. 22 е написано аспарагинова киселина, вместо аспарагин. Същата фигура се повтаря по същия начин и на стр. 104.
3. На стр.7, ред 9 фразата „В зависимост от природата...” се повтаря.
4. На стр. 48 , ред 4 се споменава за „два полипептида с молекулна маса 73 и 75 килодалтона”. Като граница между полипептиди и протеини е приет мономерният инсулин, чиято молекулна маса е малко под 6 килодалтона. В този смисъл, строго погледнато, става дума за типични протеини.
5. Макар и ограничено в тази и останалите части на труда се срещат непоправени печатни грешки, неправилно членуване и поставени не на място запетаи (примери на стр. 18, ред 9, стр. 33, ред 12 отдолу, стр. 45, ред 7, стр.44, редове 5-6 отдолу, стр. 58, ред 9 и др.).

Целта и задачите на разработката са формулирани кратко и ясно.

В раздела Материали и методи са описани стриктно използваните реагенти, апаратура и методики. Тук имам следните бележки и въпроси:

1. Посочените линейни градиенти в някои случаи будят съмнения за случайни пропуски. Например на стр. 51, ред 2 отдолу се посочва разтвор А с концентрация на трифлуорооцетна киселина 0,1 % и разтвор В с концентрация на същата киселина 0,05 %. Подобен случай има и на стр. 57.
2. От написаното на стр. 53, редове 1-4 става ясно, че в случая няма гелфилтрационен ефект, щом малките молекули изпреварват големите, но се твърди, че имало комбинация от електрофореза и гелфилтрация.

- 3 На стр. 54-55 има елементарни сведения за метода на Едман и масспектрометрията, които не подхождат за нивото на докторски труд.
- 4 На фона на използваната прецизна терминология нямат място термини като „бикарбонатен” буфер (стр. 57, ред 12). И още – дали е уместно да се пише за „молекули” аргон (стр.65, ред 7) и „екстинционни” коефициенти (стр.67, ред 13) ?
- 5 На стр. 64, ред 4 отдолу се използва изразът „...според тяхното m/z ...”. Защо тук и на много други места в дисертационния труд не се използва терминът масово число ?

В раздела Резултати и дискусия е описана много прецизно проведената експериментална работа. Получените резултати са интерпретирани задълбочено и без излишни „залитания”. Отлично впечатление оставя старанието даден резултат да бъде потвърден по няколко независими начина (пример на стр. 89 по отношение на измерените молекулни маси). Заслужават висока оценка и резултатите, получени за фукоза и уронови киселини (стр. 110 и др.). Към тази част от работата имам следните бележки и въпроси :

1 Намирам използвания термин „консервирани” (стр.88, ред 5 отдолу, стр. 100, фиг. 53) относно определени структурни елементи за неподходящ. Добре е докторантката да поясни още защо е въвела термина „нативна” електрофореза (стр. 75, ред 1).

2 На стр. 86, фиг. 44 има противоречие между посочената на фигурата стойност и тази от подфигурния текст.

3. Какъв е смисълът на израза „...между с аминокиселинни остатъци” (стр. 141, ред 12 отдолу) ?

Изводите и приносите на труда са изложени с необходимата прецизност от докторантката. Те добре разграничават потвърдителните от оригиналните постижения.

В обобщен вид приносите на дисертационното изследване виждам в следното :

1. Обоснована и успешно приложена е схема за изследване на гликопротеини, включваща два подхода : откъсване и самостоятелно определяне структурата на въглехидратната част и разграждане на обекта до гликопептиди, изолиране на последните и определяне на структурата им. Този подход е осигурил на докторантката, нейната ръководителка и съавторите им възможност да определят и местата на гликозилирането.

2. Намирам за напълно основателни претенциите за приносите, свързани с участието на фукоза и уронови киселини в структурата на изследваните обекти. Доказателствата в това отношение са постигнати с изключително чувствителни съвременни методи и апарати, усвояването на работата с които ми дава основание да заключа, че напълно е изпълнена и образователната част при реализирането на докторантурата.
3. Висока оценка заслужават и кръговодихроичните изследвания в работата, тъй като те дават възможност да се изучат влиянията на въглехидратните вериги върху стабилността на съответните конформационни конструкции, което има не само чисто теоретично, но и значение за практическото приложение на изследваните обекти. Тук заслужава упоменаване и намерената противовирусна активност на гликозилираната функционална единица, което спада също към оригиналните постижения на докторантката.

Проекто-авторефератът обективно отразява съдържанието на дисертационния труд.

З А К Л Ю Ч Е Н И Е

Представеният от г-жа Велкова дисертационен труд съдържа съществени научни приноси, изложени вече в рецензията. Те са публикувани в 5 научни работи, отпечатани в широко следени международни списания с импакт фактор в интервала 1,4 – 4,3. Закономерно тези постижения са цитирани до момента на оформяне на дисертацията 15 пъти от чужди автори. 13 от цитатите са публикувани в едни от най-реномираните списания за съответната област.

В хода на изследванията докторантката е усвоила и приложила както класически, така и най-новите варианти в областта на хроматографските и масспектралните методи. При това тя е почерпила опит и знания не само в Института по органична химия с Център по фитохимия на БАН, където работи, но и в лаборатории в чужбина, които са на челни места в Европа и света.

Въз основа на изложеното дотук настоятелно препоръчвам присъждането на образователната и научна степен „ДОКТОР” на Людмила Георгиева Велкова.

19.02.2013 г.

Рецензент :

/ проф. Б. Алексиев /