

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Галина Симеонова Радева,

Институт по молекулярна биология „Академик Румен Цанев“(ИМБ)-БАН,
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 „Молекулярна биология“

Автор: Теодора Красимирова Дянкова-Дяковска

Тема: „Кинетика на натрупване и премахване на белтъци от репликационната вилка при нейното спиране и рестарт“

Научен ръководител: доц. д-р Стойно Стойнов

1.Общо представяне на материалите по процедурата

Със заповед № 1035/01.12.2024 г. на Директора на Института по молекулярна биология (ИМБ) съм определена за член на научното жури във връзка със защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Молекулярна биология“. Темата на дисертационния труд е „ Кинетика на натрупване и премахване на белтъци от репликационната вилка при нейното спиране и рестарт “ на Теодора Дянкова-Дановска, докторант в редовна форма на обучение, с научен ръководител доц. д-р Стойно Стойнов от ИМБ.

Представеният от Теодора Дянкова-Дановска комплект материали на електронен носител е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за развитие на академичния състав на БАН и на ИМБ и включва всички изискващи се за процедурата документи.

2.Кратки биографични данни за докторанта.

Теодора Дянкова-Дановска притежава ОКС „бакалавър“ по специалност „ Молекулярна биология“от Пловдивския Университет „Паисий Хилендарски“ (2013 г.) и ОКС „магистър“ по специалност „Генно и клетъчно инженерство“(2015 г.) от Биологическия факултет, СУ „Св. Климент Охридски“. От 2016 г. тя е редовен докторант по докторска програма „Молекулярна биология“ в Института по молекулярна биология, БАН. От 2016 г. до март 2022 г. Дановска работи в Лаборатория по Геномна стабилност, ИМБ, БАН като асистент и биолог.

3. Характеристика на дисертационния труд

3.1. Актуалност на дисертационната тема, целесъобразност на поставените задачи

Известно е, че репликацията на ДНК при бозайници е сложен и строго контролиран процес. Все още не са напълно изяснени механизмите за поправка на ДНК по време на репликацията и в началните ѝ етапи, както и промените, които настъпват в репликационната вилка при репликационен стрес. Последният може да доведе до спиране, забавяне или неправилно протичане на репликацията. Кинетиката на натрупване и премахване на белтъците от репликационната вилка играе ключова роля за осигуряване на адекватен клетъчен отговор и възстановяване на репликацията. Клетките имат сложни механизми за защита и репарация на ДНК, но когато тези механизми са нарушени, възниква генетична нестабилност и риск от заболявания. В този контекст, групата в Лабораторията по Геномна стабилност има дългогодишен интерес и значителни резултати в изясняването на този процес.

Настоящият дисертационен труд е едно продължение на тези изследвания с цел „ да се изследват кинетиките на натрупване и премахване на ключови белтъци , участващи в репликацията при спиране и рестарт на вилката“ чрез съвременни методи на спининг конфокалната микроскопия и разработени софтуери за високопроизводителна обработка на изображенията. Детайлното познаване на динамиката и количественото определяне на белтъците, участващи в репликацията на ДНК е от съществено значение за разработването на противоракови терапии и стратегии за предотвратяване на стареенето, което определя и актуалността на разработената тема.

3.2. Познаване на проблема

Литературният обзор предлага анализ на актуалното състояние на изследванията върху проблематиката на дисертационния труд. В него се разглеждат ключови процеси като репликацията на ДНК и терминацията, както и факторите, които могат да предизвикат репликационен стрес. Особено внимание е отделено на контролните пунктове на клетъчния цикъл, които играят съществена роля за поддържането на геномната стабилност. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, показват че Теодора Дановска познава отлично съвременното състояние на разработвания научен проблем.

3.3. Методи на изследването

За изпълнението на поставените задачи е подбрана комбинация от съвременни методи на клетъчната и структурната биология, главно микроскопски изследвания посредством спининг диск конфокална система. Използвани са методи на клетъчно култивиране и третиране, имуноблотинг, микрооблъчване на живи клетки. За анализът на тези експерименти е използван софтуера CellTool, разработен от колектива на Лабораторията по Геномна стабилност. Използваните в дисертацията методи съответстват на задачите, гарантирайки тяхното изпълнение.

3.4. Оценка на дисертационния труд.

Дисертационният труд на Дянкова-Дановска е написан на 107 страници, съдържа 41 фигури, 2 таблици и 234 цитирани литературни източника.

Структуриран е съгласно общоприетите изисквания за този вид трудове и съдържа разделите: Въведение (3 стр.); Литературен обзор (23 стр.); Цел и задачи (1 стр.); Материали и методи (11 стр.) Резултати (40 стр.); Дискусия (7 стр.) Изводи и приноси (1 стр.) и Списък на използваната литература. Към дисертацията са приложени списък на научните публикации и участие в научни форуми на докторанта. Авторефератът е написан на 66 страници, вярно отразява съдържанието на дисертацията и приносите на проведените изследвания. Целта на дисертацията е убедително аргументирана в светлината на направения литературен обзор. За постигането на тази цел са формулирани пет задачи и по всяка от тях е извършена експериментална работа, с ясно представени и добре илюстрирани резултати. В края на дисертацията са изведени 6 извода и са формулирани 2 приноса с оригинален научен и научно-приложен характер, които вярно и точно отразяват основните резултати от проведените експериментални изследвания.

По-значими научни резултати и приноси от изследванията в дисертацията биха могли да се обобщят както следва:

- Разработена е методология за измерване и изследване на динамиката на белтъци участващи при ДНК репликацията при спиране и рестарт на репликационната вилка с висока времева разделителна способност в единични живи клетки чрез спининг диск конфокална микроскопска система;
- С помощта на софтуера CellTool е измерена динамиката на репликационни белтъци RPA1, PCNA и POLD2 при спиране и рестарт на репликационната вилка в условията на активна и инхибирана S-фаза на клетката. Определено е количественото влияние на белтъците ATR, PARP1, ATM и MRE11 върху динамиката по време на тяхното спиране и рестарт.

При разработването на софтуера CellTool, Теодора Дянкова-Дановска е участвала в дизайна на графичния интерфейс и на протоколите за анализ на изображенията; в написването на документацията и тестването на софтуера върху реални експериментални данни.

По темата на дисертацията Теодора Дянкова-Дяковска е представила три научни публикации в списания с отворен достъп, с квартили Q1. В две от публикациите Теодора Дянкова-Дановска е първи автор, самостоятелно или споделено с Георги Дановски. Публикацията, в която тя е първи автор, е под рецензиране, а ръкописът е публично достъпен като препринт (има DOI). Индивидуалните приноси и участие на докторантката в две от публикациите са ясно са диференцирани като са представени разделителни протоколи за приносите на авторите в посочените статии. Представените статии покриват и надхвърлят минималните национални изисквания за ОНС „доктор“.

Дянкова-Дановска е представила своите резултати с участие в 10 национални или международни научни конференции.

Заклучение:

Дисертационният труд на Теодора Дянкова-Дановска представя оригинални резултати, които допринасят за изясняване на детайлния механизъм на репликацията на ДНК при човешки клетки, при отговор на клетката на репликационен стрес. Прецизните изследвания на кинетиката на натрупване и отстраняване на белтъците, участващи в репликацията при спиране и рестарт на вилката, са осъществени чрез съвременни микроскопски подходи с висока времева резолюция за изследване на живи клетки. Дисертационният труд демонстрира, че Теодора Дянкова-Дановска е придобила необходимото ниво на научна компетентност в областта на молекулярната биология и биоинформатиката, като се е утвърдила като висококвалифициран млад учен. Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които отговарят на всички изисквания на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, както и изискванията на ИМБ. Въз основа на това давам своята положителна оценка и убедено препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на Теодора Дянкова-Дановска в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Молекулярна биология“.

18.12.2024 г.

Изготвил становището:

/доц. Г. Радева)