



СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Галина Симеонова Радева,

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

Относно: дисертационния труд на **Георги Тодоров Дановски** на тема: „Механизми на разпространение на γ H2AX и MDC1 извън зоната на ДНК увреждане“

Общо описание на представените документи

Определена съм за член на научното жури със заповед на Директора на ИМБ №54-ОБ/26.03.24 г. и Протокол 1/12.04.24 г. на заседание на научното жури за изготвяне на становище по процедура за защита на дисертационен труд на тема: „Механизми на разпространение на γ H2AX и MDC1 извън зоната на ДНК увреждане“ в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Молекулярна биология“. Автор на дисертационния труд е Георги Дановски с научен ръководител доц. д-р Стойно Стойнов.

Представеният дисертационен труд на Георги Дановски е написан на 107 страници и съдържа 23 фигури и две таблици, и цитирани 274 литературни източника. По обем, структура и оформяне дисертацията напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника на ИМБ за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“. Авторефератът, написан на 52 страници, отразява правилно съдържанието на дисертацията и приносите на включените в нея изследвания и отговаря на изискванията на горе-посочените документи.

Актуалност и значимост на дисертационния труд

Представеният ми за становище дисертационен труд е фокусиран върху фундаментално изследване на механизмите на ДНК поправката и функцията на белтъците, участващи в този процес, тяхната динамика и тяхното пространствено разпределение. Известно е, че механизмите на ДНК поправката представляват сложна биохимична мрежа, включваща повече от 300 белтъка, които участват в комплексни биохимични взаимодействия, формирайки взаимно свързани пътища. Изследването на ДНК поправката изисква задълбочени познания освен за функциите на белтъците и техните взаимодействия, промените в регулаторните им участъци, които влияят върху факторите на поправка, но и за динамиката и пространственото им разпределение в клетката, за да бъде процеса ефективен и да поддържа генетичната стабилност на клетките. За изясняване на този процес, целта на дисертационния труд е да се проучи процеса на разпространението на γ H2AX и MDC1 извън зоната на увреждане по време на поправка на комплексни ДНК повреди, като следствие от киназната активност на ATM и да се предложи математически модел, описващ неговия механизъм.

Исклучително актуална и подчертано интердисциплинарна научна област, обединяваща различни дялове от молекулярната биология, биоинформатика и математическо моделиране на биологични процеси с множество приложения.

Познаване на проблема от докторанта

Литературният обзор е изготвен целенасочено върху уврежданията на ДНК и процесите в клетката, които поправят тези увреждания. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, показват че Георги Дановски е запознат с детайлите на разработвания проблем. Поставената цел на дисертацията произтича от необходимостта да се измери прецизно кинетиката на натрупване и премахване към местата на увреждане на голям брой белтъците, участващи в процеса на поправка на ДНК

За реализирането на тази цел са формулирани 4 взаимно свързани задачи, които довеждат до създаване на количествен модел, описващ натрупването и разпространението в пространството на ATM и MDC1 при наличие на комплексни ДНК повреди. Проведените експерименти и анализирани количествени модели потвърждават хипотезата на докторанта, че в основата на разпространението на MDC1 (mediator of DNA damage checkpoint protein 1) е дифузията на активирания ATM (Ataxia-telangiectasia mutated kinase).

Методика на изследването

В методичната част-раздел „Материали и методи“ са описани подробно използваните експериментални процедури и проведената обработка на данни. В хода на работа по дисертацията докторантът се е запознал с методите на клетъчната и молекулярна биология, микроскопски техники за работа с живи и фиксирани клетки и анализ на микроскопските изображения. Извършено е математическо моделиране на натрупване и разпространение на белтъци от ДНК поправката на места на комплексни повреди. Гореспоменатите методи са удачно съчетани при проведените изследвания и допринасят за изясняване на механизмите на поправка на най-сериозните увреждания - двойноверижните скъсвания на ДНК. Много добро впечатление прави много добре описаните и илюстрирани широк набор от методи, което позволява тяхното коректно възпроизвеждане.

Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Представените резултати -раздел „Резултати“ в дисертационния труд са в пълно съгласие с ясно поставената цел и правилно дефинираните за изпълнение задачи. Постигнатите резултати показват актуалността на разработената тема. Представянето на резултатите е съчетано с компетентна дискусия на всички етапи от разработката на проблема, базирайки се на подходящи литературни източници, което показва задълбочени познания на докторанта в областта на молекулярната биология и биоинформатика.

Въз основа на постигнатите резултати са направени пет извода и са обобщени пет оригинални приноси, с които е постигната целта на дисертацията. Приемам формулировката на приносите и искам да подчертая тяхното значение в теоретичен и в научно-приложен аспект, както следва:

Фундаменталните приноси са свързани с детайлното охарактеризиране на пространствено-времето разпространение на ATM и MDC1 на места с комплексни ДНК увреждания, предизвикани чрез микрооблъчване с ултравиолетов лазер, което разкрива механизма на разпространение на уН2АХ като ключова стъпка от процеса на ДНК поправка.

Научно-приложните приноси включват създаването на компютърната платформа за анализ на микроскопски изображения, на име CellTool, която позволява измерване на кинетиките на натрупване на белтъци, участващи в процеса на ДНК поправка. CellTool притежава удобен за работа графичен интерфейс, който осигурява бърз, лесен и точен анализ на изображенията, както и стандартизирани протоколите за бърз и качествен анализ на експерименти с микрооблъчване с ултравиолетов лазер и fluorescence recovery after photobleaching (FRAP). Програмата е удобна за анализ на широк набор от микроскопски данни, като позволява прецизното проследяване и околичествяване на промени във флуоресцентния интензитет.

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в две научни публикации в списания с отворен достъп International Journal of Molecular Sciences и Molecular Cell, в квартал Q1, което е потвърждение на високото ниво на изследванията. В една от публикациите докторантът е първи автор, което е свидетелство за водещото му участие и принос. Докторантът е представил резултатите от дисертационния труд, главно с изнесени доклади на десет международни и национални научни форуми.

Заклучение

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. Дисертационният труд показва, че докторант Георги Дановски е придобил необходимото ниво на научна компетентност в областта на молекулярната биология, и по специално в бionформатиката, при което е получил интересни и ценни научни резултати. 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 Георги Дановски в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Молекулярна биология“.

30.05.2024 г.

Подпис:

/доц. д-р Галина Радева/