



СТАНОВИЩЕ

От доц. д-р Тания Иванова Топузова-Христова, катедра Клетъчна биология и биология на развитието, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Относно дисертационен труд на Георги Тодоров Дановски за придобиване на научната и образователна степен „доктор“ в направление 4.3. Биологически науки (Молекулярна биология) към Лаборатория „Геномна стабилност“ с научен ръководител доц. д-р Стойно Стефанов Стойнов

Данни за докторанта и докторантурата.

Георги Тодоров Дановски е завършил бакалавърска степен по Молекулярна биология в Биологически факултет на СУ през 2013 г. и магистърска степен по Биохимия в същия факултет през 2015 г. Зачислен е като редовен докторант към Лаборатория „Геномна стабилност“ в Института по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, БАН, със заповед № 820 / 18.12.2015 г, с тема на дисертацията "Механизми на разпространение на γ H2AX и MDC1 извън зоната на ДНК увреждане" с научен ръководител доц. д-р Стойно Стойнов. По време на докторантурата докторантът е работил в Института по молекулярна биология като асистент и биолог от 1.10.2015 г. Спазени са всички срокове и критерии съгласно Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав на Република България и Правилника за развитието на академичния състав на Института по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“ при Българска академия на науките, раздел 4 и няма допуснати нарушения.

Данни за дисертацията:

Тема. Темата на дисертацията "Механизми на разпространение на γ H2AX и MDC1 извън зоната на ДНК увреждане" отразява съдържанието ѝ. Темата е особено актуална, с оглед на установяването на прецизните механизми на маркиране и поправяне на увредени участъци в геномната ДНК, както и на възможностите за математическо моделиране на белтъчната кинетика в сложната биохимична репарационна мрежа. Темата е част от активно разработваната в последните години научна проблематика на Лабораторията „Геномна стабилност“ в Института по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, БАН, по която се публикуват резултати в най-престижните научни списания в областта на клетъчната и молекулярна биология, като Cell, Nature Communications, Molecular cell, Cell Division, PLoS ONE и други.

Основни части на дисертацията.

В литературния обзор стегнато са представени съвременните знания за видове ДНК увреждания и системите за репарация, които действат в еукариотните клетки, причинителите на екзогенни ДНК увреждания и ролята на γ H2AX и MDC1 в тяхното маркиране и насочване на репаративните комплекси. Тази част от дисертацията е разгърната на 23 страници и е илюстрирана с 6 фигури, чиито източници са надлежно цитирани.

Целта на докторската дисертация 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. За изпълнението на тази цел са формулирани 4 задачи, които включват както био-информатични, така и молекулярно-биологични методи на съвременно ниво. Две от задачите са свързани с разработване на компютърни програми за анализ на микроскопски експерименти с микрооблъчване с ултравиолетов лазер и FRAP и за пресмятане на биологични модели на реакция-дифузия.

Използваните методи и моделни системи са адекватни на поставените задачи и са на най-съвременно ниво. Използвани са клетъчни линии HeLa Kyoto, стабилно експресиращи белтъци, свързани с процесите на ДНК репарация и свързани с GFP или mCherry, които са анализирани чрез прилагане на FRAP метод, съчетан с имунофлуоресцентно определяне на γ H2AX около фокуса на увреждане. Направен е математически модел и изображенията са анализирани чрез компютърната програма CellTool, създадена от докторанта в изпълнение на задачите. Анализите на микроскопските изображения и използваните математически формули за нормализация на сигнал, FRAP анализ и моделиране с уравнение на реакция-дифузия са подробно описани на 14 страници.

В частта Резултати е представена разработената компютърна програма със свободен достъп CellTool, която обединява всички необходими инструменти за анализиране на кинетиките на белтъците участващи в процеса на ДНК поправка получени от микроскопски експерименти и FRAP метод. Програмата е валидирана с клетъчна линия, експресираща два флуоресцентно тагнати белтъка – участващ в ДНК поправка и напускащ местата на увреждане. Протоколът е адаптиран и за FRAP анализ,

като са проследени MDC1 и ATM в зоната на комплексно увреждане в различни модели (например при наличие или отсъствие на RAD21).

Формулирани са пет извода, които обобщават постигнатите резултати от отделните задачи и пет приноса с теоретико-приложен и методически характер. Създаването на компютърна програма със свободен достъп за анализ на микроскопските изображения само по себеси е достатъчно голям приложен и методически принос, а добавянето и на стандартизирани протоколи за FRAP анализи, математически апарат и програма за моделиране на биологични процеси чрез уравнение на реакция-дифузия и теоретичен модел, описващ разпространение на γ H2AX и MDC1 като следствие на дифузията на ATM, прави работата изключително стойностна.

Научен апарат. Цитирани са 274 източника, включително статии с участие на докторанта във връзка с дисертационния труд. Изобилието от използвани източници показва дълбоко познаване на разработваната тематика.

Автореферат. Авторефератът съдържа 52 страници и отразява по същество съдържанието на дисертационния труд. Включените части са Въведение, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати, Дискусия, Изводи и Приноси.

Публикации. Докторантът е представил списък от общо три публикации по темата на дисертацията – две статии, публикувани в периодични издания и една, която е в процес на рецензиране. Двете статии са в списания с квантил Q1 и носят общо 50 точки, което надвишава минималния брой от 30 точки за направление 4.3. Биологични науки, съгласно Приложение 1 на ЗРАСРБ. В едната от публикуваните и в рецензираната статии докторантът е първи автор, което е показател за съществения принос в експерименталните данни и получените резултати, включени в съответните публикации. До момента на стартиране на процедурата по защита на дисертацията, посочените две публикации са получили общо над 100 цитирания в научната литература (120 според WoS и 198 в Google Scholar), което е добър атестат за значимостта и актуалността на получените резултати.

Заклучение. Представеният ми за становище дисертационен труд е посветен на една фундаментална област на биомедицинските изследвания, а именно изясняване на молекулните и контролни механизми на поправката на комплексни ДНК увреждания. Като част от планираните задачи са създадени и валидирани две компютърни програми за анализ на микроскопски изображения и теоретичен модел, обясняващ получените данни за поведение на два от белтъците, участващи в процесите на детекция и поправка

на комплексни ДНК увреждания. Изпълнени са изискванията на ЗРАСРБ за научната и образователна степен „доктор“ и давам своята положителна оценка относно присъждането на научната и образователна степен „доктор“ в направление 4.3. Биологични науки (Молекулярна биология) на Георги Тодоров Дановски.

31.05.2024

Изготвил становището:

Гр. София

/доц. д-р Таня Топузова-Христова/