



## СТАНОВИЩЕ

за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.3 Биологически науки, научна специалност „Молекулярна биология“ на задочен докторант Елица Христова Ботева, ИМБ, БАН

Тема на дисертационния труд: ДНК дегликираща активност на гликолитичния ензим фосфоглюкоизомераза

от проф. д-р Мариела Оджакова-Байтошева, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, член на научното жури съгласно заповед № - 111-ОБ от 28.06.2024 г. на директора на ИМБ, БАН

### Общи данни за кандидата

Елица Ботева има бакалавърска степен по Молекулярна биология (2006 г.) и магистърска степен по Генетика (2011 г.) от Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

Работила е като специалист-биолог последователно в: Медицински ц-р „Просел“ (2006-2008); Електрохимичен и Раков институт, Международна Изследователска Фондация Хасуми Токио, Япония (2008-2009); Национална референтна лаборатория по ХИВ/СПИН, НЦЗПБ (2010); ИМБ, БАН (2013-до сега, а от 2016 г. е задочен докторант)

### Изпълнение на минималните държавни изисквания и индивидуалния план

Резултатите от изследването са отразени в 6 излезли от печат публикации с общ брой точки от съответните квартали 85 т. при изискван минимум от 30 т. и общ импакт-фактор 10.012 при минимум 2.0, с което активите на докторанта значително надхвърлят изискванията на ЗРАСРБ и правилника за неговото прилагане в БАН и ИМБ-БАН. В четири от публикациите докторантът е първи автор, като до момента са забелязани и 10 цитата на тези публикации. Резултатите са докладвани на 10 научни национални и международни форуми. Докторантът е покрил и значително надхвърлил броя кредити, които се изискват от Центъра за обучение при БАН за придобиване на ОНС „Доктор“. При изискван минимум от 250 кредита са събрани общо 822 кредита, т. е. над три пъти повече. Изследванията в дисертацията са извършени в рамките на два проекта с финансовата подкрепа на МОН (Фонд „Научни изследвания“ и „Програма за подпомагане на млади учени и докторанти в БАН“), което показва, че докторантът е натрупал опит в екипна работа и в разработването на научноизследователски проекти.

### Анализ на дисертационния труд

Интензивното развитие на молекулярната биология през последните десетилетия доведе до отхвърляне на някои закостенели представи като тези за изключително белтъчната природа на биокатализаторите и тяхната строга специфичност към определен субстрат. Освен това, освен каталитични, някои ензими изпълняват и други, несензимни функции. Пример за такъв ензим е обектът на изследване в настоящата дисертация – гликолитичният ензим фосфоглюкозоизомераза (Pgi). Освен специфичната му изомеразна активност в гликолизата, човешкият ензим, например, действа като цитокин и невротрофин. Предоставената ми за становище дисертация на Елица Христова Ботева изцяло се вписва в светлината на най-съвременните молекулярно-биологични изследвания, от една страна разширявайки представата ни за многообразието от функции, които може да изпълнява

един ензим, а от друга – изследвайки го в контекста на такъв значим за човешката физиология и патология процес като процесът на неензимно гликозилиране или гликиране.

Дисертацията е написана на 189 стр. (в т. ч. неномерираните) и включва стандартните раздели, като разделите Резултати и Обсъждане са обособени в отделни глави. Литературният обзор и Обсъждането завършват с кратки заключения, които логично водят до целта и обобщават постигнатите резултати. Дисертацията съдържа богат илюстративен материал от 55 фигури и 3 таблици, които документират и подкрепят докладваните резултати. Литературната справка от 287 литературни източника е показател за добро запознаване на докторанта със състоянието и тенденциите на изследванията по темата на дисертацията. Това проличава и от литературния обзор, написан на добър литературен език и научен стил. В него са разгледани ключови за изследването въпроси като Майяровата реакция с нейните етапи и продукти като е акцентирано върху гликирането на ДНК и физиологичните последици от този процес. Друг основен раздел в обзора е посветен на защитните механизми срещу гликирането и по-специално на поправката на гликирана ДНК. Така става ясно, че данните за поправка на гликирана ДНК са оскъдни и противоречиви и че изобщо липсват данни за поправката на ДНК, модифицирана с ранни гликоадукти. По този начин още в литературния обзор се очертават актуалността и значимостта на дисертацията и логично се извежда нейната цел.

Целта на дисертацията е следствие от предходни изследвания, които показват, че лизати от чревната бактерия *Escherichia coli* катализират отстраняването на фруктозо-6-фосфатни остатъци от ДНК. По-конкретно целта се свежда до идентифициране и охарактеризиране на тази активност. За постигането на целта са обособени две групи задачи – първата, отнасяща се до идентифициране на активността, а втората – до нейното детайлно изследване в бактериални и човешки клетки с адекватни молекулярно-биологични методи и теоретични анализи.

Разделът Материали и Методи от дисертацията впечатлява с разнообразието и подробното описание на използваните материали (шамове и клетъчни линии, химикали, консумативи и антитела) и методи. Арсеналът от използвани методи е изключително богат и включва хроматографски, електрофоретични, имунологични, мас-спектрални и количествени методи, ензимни и мутационни тестове, статистически и биоинформатични анализи, молекулно моделиране, докинг и молекулна динамика. Без съмнение това е допринесло за отличната методична подготовка на Елица Ботева от една страна, а от друга – за успешно решаване на поставените задачи и постигане целта на дисертацията.

Резултатите са представени в пет глави и впечатляват с логичната последователност на планираните и провеждани експерименти. В Глава 1 е описано идентифицирането на фосфоглюкозонизомеразата като най-вероятен носител на наблюдаваната ДНК-дегликазна активност. В Глава 2 подробно е охарактеризирана наблюдаваната ДНК-дегликазна активност в бактерии. Изследванията в тази глава завършват с определяне на кинетичните константи на ензима като ДНК-дегликаза и изследване на неговата физиологична роля в качеството му на евентуален ДНК-репаративен ензим. Предположената ДНК-репаративна функция на ензима се подкрепя от наблюдаваната значително по-висока честота на спонтанните мутации в щама с делетиран *Pgi* ген. Друго достойнство на дисертацията е нейният обхват. Изследванията в нея не се ограничават само до бактериите, но изхождайки от високата консервативност на ензима, те се прехвърлят и върху човешки клетки. В Глава 3 с няколко независими метода убедително е демонстрирано присъствието на *Pgi* в ядрата на нормални и ракови човешки клетки, с което се потвърждават литературни данни и се

посочва още една причина за ядрената локализация на ензима. В Глава 4 експерименталните данни за ДНК-дегликазна (репаративна) активност на Pgi са убедително подкрепени от обширни биоинформатични анализи, които определят ензима като същински ДНК репаративен ензим. От друга страна молекулно-динамичните изследвания в Глава 5 добре обясняват експерименталните данни за по-ниска дегликазна активност на ензима в сравнение с изомеразната му активност.

Обсъждането на резултатите демонстрира зрялост на Елица Ботева и умение задълбочено да анализира резултатите от своите изследвания в контекста на световната научна литература, както и реално да оценява тяхната значимост и перспективи за бъдещи изследвания. Приятно впечатление прави направеният в заключението на дисертацията акцент върху биологичния смисъл на новооткритата ензимна активност на Pgi, която в един каталитичен акт поправя ДНК и рециклира захарта за икономично използване в метаболитните пътища. Направените изводи и оценката на научните приноси са кратки, логични и точно отразяват резултатите от проведените изследвания. Формулирани са 4 научни приноса с оригинален и 1 с потвърдителен характер, които са достоверни и с които съм изцяло съгласна.

Авторефератът представлява удачно съкратена версия на дисертацията, при което тя не е загубила нищо от своите достойнства, поради което приемам начина, по който той е оформен и поднесен на читателя.

Към докторанта имам следния **въпрос**: На Фиг. 20С в Глава 2 от Резултатите, данните за съдържанието на глюкозо-6-фосфат в *E. coli* са представени в микромолове на брой клетки. Бихте ли уточнили на какви моларни концентрации отговарят тези данни, за да придобием по-ясна представа за физиологичните клетъчни концентрации на глюкозо-6-фосфата, който съгласно данните от дисертацията се проявява като потенциален мутаген.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

С отлични впечатления съм от представения ми за становище дисертационен труд. Елица Ботева представя едно обширно и задълбочено изследване върху неизвестна досега функция на отдавна известен и високо консервативен ензим. Впечатлена съм от мащабите и качеството на изследванията. В резултат от проведените изследвания са получени значими научни резултати, основно с оригинален характер. В хода на изработването на дисертационния труд докторантът е овладял изключително голям брой от най-съвременни експериментални и теоретични методи и е придобил опит в разработването на научноизследователски проекти. Резултатите от изследванията са публикувани в реферирани международни издания с висок общ импакт фактор и вече са забелязани цитирания. С наукометричните си показатели докторантът изцяло покрива и значително надхвърля критериите на ЗРАСРБ, БАН и ИМБ-БАН за придобиване на ОНС „Доктор“. Всичко казано дотук ми дава основание убедено да дам своя положителен вот за присъждане на ОНС „Доктор“ на Елица Христова Ботева по Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност „Молекулярна биология“.

25.09.2024

Изготвил становището:  
/проф. М. Оджакова/