

Справка за научните приноси на гл. ас. д-р Емил Дамянов Първанов

В този документ е представено кратко резюме на подробно описаните в хабилитационната справка резултати и приноси.

I. Картографиране на рекомбинационните явления по дължината на миши хромозоми.

1. С помощта на генетични кръстоски между две миши линии (C57BL/6J и CAST/EiJ) и генотипиране на поколението получено от обратната кръстоска на хибридите с C57BL/6J определихме с точност от поне 225 килобази разположението на 5472 рекомбинационни явления по дължината на хромозома 1 (*публикация В4.1*), резултат от проследяването на 6028 мейози. Рекомбинационните събития в последните 24.7 мегабази към теломерите бяха определени до ниво рекомбинационна точка (хотспот). Картографирането по дължината на мишата хромозома беше първото по рода си подробно определяне на мястото и честотата на рекомбинация при хромозома от бозайник.
2. Анализ на честотата и разпределението на рекомбинационните хотспотове показва, че глобалното ниво на мейотична рекомбинация е еволюционно консервативно с локални вариации по хромозомата, като за болшинството от рекомбинационните явления (90%) отговарят малка част от най-активните хотспотове (10%) (*публикация В4.1*).
3. Сравнение между рекомбинацията при мъжка и женска мейоза показва, че при женските индивиди имаме 1.2 пъти по-голяма честота на рекомбинация спрямо мъжките, което се дължи на различна степен на компактизация на хромозомите при мъжка спрямо женска мейоза (*Публикация В4.1*).

II. Разкриване на транс-действащите фактори определящи разположението и активността на отделните рекомбинационни хотспотове при мейоза.

1. Получените рекомбинационни карти на миша хромозома 1 послужиха като основа за сравнение на мейотичните рекомбинационни хотспотове при промяна в генетичния фон (*публикация В4.2*). Чрез използването на кръстоска между конгенна миша линия по хромозома 1 и миша линия C57BL/6J получихме поколение хетерозиготно по теломер-проксималната част на хромозома 1 и с C57BL/6J алели в останалата част на генома. Генотипиране и сравнение на хотспотовете в теломер-проксималната част на хромозома 1 спрямо тези картирани в публикация В4.1 показва, че заместването на CAST/EiJ алели с C57BL/6J такива води до намаляване на активността или пълно изчезване на някои хотспотове, както и до появата на други хотспотове на нови места. Откритието показва, че отдалечени алели в генома имат пряко отношение в активността и положението на местата където ДНК рекомбинира по време на мейоза.
2. Локус на хромозома 17 е отговорен за активацията на рекомбинационни хотспотове на хромозома 1 (*публикация В4.2*). Разработката на алел-специфичен ПСР даде възможност за индивидуално фенотипиране на мъжки индивиди по активност на

отделни хотспотове, последвано от генотипиране на генома и QTL-анализ позволи определянето на този локус като определящ за положението и честотата на рекомбинация по време на мейоза.

3. Транс-факторът от хромозома 17 повлиява и двете рекомбинационни явления – кросингоувъри и генни конверсии (*публикация В4.2*). Разработката на изследване чрез клониране на рекомбинационни продукти от мейозата в *E.coli* позволи количествено сравнение на рекомбинантните молекули получени при различен генетичен фон и разграничението на двата типа основни рекомбинационни продукта – генни конверсии и кросингоувъри. Резултатите показаха, че активацията или изчезването на един хотспот засяга не само кросингоувърите (установени при генотипиращият метод), но и генните конверсии.
4. Prdm9 е генът определящ рекомбинационният пейзаж по време на мейоза (*публикация В4.3*). Допълнително фенотипиране и генотипиране на мъжки индивиди с рекомбинация на хромозома 17 помогна да се скъси участъкът съдържащ открития по-рано локус контролиращ положението на хотспотовете в мишия геном. Установеният ген се оказа Prdm9, кодиращ хистон метилтрансфераза и докладван през 2005 година като ген, чиято липса на експресия води до стерилитет при мъжки и женски мишки. Секвениране на Prdm9 алели при различни линии мишки показва наличието на консервативни KRAВ-домейн към N-края на пептидната верига, отговарящ за белтък-белтъчни взаимодействия; PR-SET домейн имащ каталитична функция и пренасящ метилова група от S-аденозин метионин към лизинов хистонов остатък; C-терминален край съдържащ поредица от цинкови пръсти с роля за свързване към ДНК. Секвенционният анализ показва висока вариабилност както в броя на цинковите пръсти при различни миши линии, така и в нуклеотидите кодиращи аминокиселините въввлечени в директен контакт с ДНК, което обяснява различните позиции на хотспотове при различните миши линии.

III. Определяне на механизма на действие на Prdm9.

1. Prdm9 действа като хистон метилтрансфераза по време на мейоза I триметилирайки лизинови остатъци 4 и 36 на хистон 3 (*публикация В4.4*). Ин виво експерименти показаха, че тези две хистоновы модификации се срещат едновременно почти винаги на местата където са рекомбинационните хотспотове, но не и в останалата част на генома. Тези модификации определят не само местата, където рекомбинацията на ДНК може да се случи, но също и дължината на образуваните по-късно Д-лупове по време на поправката на ДНК чрез хомоложната хромозома (чрез корелация на броя модифицирани нуклеозоми от Prdm9). Ин витро тестване на ензимната активност на експресиран и пречистен Prdm9 потвърдиха ин виво резултатите, както и фактът че Prdm9 метилира лизин 36 с няколко пъти по-ниска скорост от лизин 4.
2. Prdm9 взаимодейства с набор от белтъци, за да притегли хотспот ДНК към хромозомната ос и да осигури благоприятни условия за рекомбинация (*публикация В4.5*). Комбинация от ин витро опити, дрождев двуhibриден анализ и ко-имунопреципитация от миши сперматоцити разкриха, че Prdm9 чрез KRAВ-домейна си

Справка за научните приноси

гл. ас. д-р Емил Дамянов Първанов

взаимодействия с други хистоновы модификатори, мейотични кохезини и синаптонемалният комплекс. Чрез това последно изследване стигнахме до крайният модел на действие на Prdm9, от времето му на експресия, специфичност на ДНК свързване, ензимна активност и взаимодействие с други протеини, които определят ролята му на първия открит при бозайници главен регулатор на ДНК рекомбинация при мейоза.

IV. Анализ на тенденциите в дигитално здравеопазване, безопасност на пациентите и персонализирана медицина.

1. В няколко статии бяха разгледани и обобщени знанията относно действието и ефектите на различни растителни вещества при лечението на заболявания на черния дроб като жълтеница (*публикация Г7.1 и публикация Г7.2*), заболявания причинени от прием на алкохол (*публикация Г7.3*), както и обзор на молекулярните механизми водещи до развитие на хепатоцелуларен карцином (*публикация Г7.4*). Бяха описани основните растителни видове известни от древността, информация за биологично активните вещества, които съдържат, както и тенденциите в развитието на лечението при тези заболявания.
2. Проведени бяха няколко библиометрични анализи свързани с Ковид пандемията и по-специално употребата на различни бързи антиген тестове базирано на наличната научна литература (*публикация Г7.7*) и употребата на различни видове маски за предпазване базирано на данни от Гугъл трендс (*публикация Г7.9*). Разпространението на невярна информация по време на пандемията провокира написването на статия отразяваща ролята на социалните медии в популяризирането на грешна информация по теми свързани с медицината и здравето (*публикация Г7.5*).
3. Развитието на дигиталните технологии и тяхното приложение в медицината и лекуването и превенцията на заболявания беше отразено в друга категория статии. Библиометричен анализ беше извършен относно приложението на дигитални технологии в кардиологията (*публикация Г7.6*). Приложението на дигиталните технологии беше разгледано и при контрол на хипертензията, чрез анализ на патентите регистрирани за неинвазивни сензори за постоянен мониторинг на кръвното налягане, техните характеристики, предимства и недостатъци (*публикация Г7.8*). Обзор на дигиталните сензори за нивата на кръвната захар беше направен отново на базата на съществуващите патенти и аналогично бяха направени сравнения в техните характеристики (*публикация Г7.10*).