

## Становище

от

**проф. д-р Гинка Колева Генова – катедра Генетика, Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски”, София**

**Относно:** Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”, изготвен в Катедра Генетика на Биологическия факултет, СУ „Св. Климент Охридски”

**Тема:** “Скрининг на гени – интерактори на гена *fragile X mental retardation 1 (dfmr1)* при *Drosophila melanogaster*”

**Автор:** Димитрина Георгиева Георгиева

Дисертационният труд е посветен на важен проблем от областта на неврогенетиката – идентифициране на гени, чийто продукти взаимодействат с белтъка FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein) в изпълнението на неговите биологични функции в централната нервна система. Липсата на този белтък при човека, която е резултат от транскрипционното инактивиране на съответния ген, са свързани с редица симптоми, известни като синдром на чупливата X-хромозома (fragile X syndrome, FraX). Честотата на това заболяване в човешките популации е доста висока и разбирането на неговата молекулярна патология представлява определен интерес за клиничната практика. От друга страна, разбирането на функциите на FMRP в развитието и функционирането на нервната система е важно и от теоретична гледна точка.

В своите изследвания докторантката Димитрина Георгиева използва подходяща моделна система FraX при *Drosophila*. *Drosophila* е прекрасно изучен в генетично отношение организъм, на който могат да се прилагат различни по дизайн скрининги за откриване на разнообразни типове мутации в представляващи интерес гени.

Димитрина Георгиева използва подходите на правата генетика и провежда класически генетичен скрининг (“forward genetic screen”), за да намери X-хромозомни, химически индуцирани мутации в гени, които взаимодействат с

дрозофилния хомолог на гена за чупливата X-хромозома - *dfmr1* (*drosophila fragile X mental retardation 1*). В резултат на това тя получава над 200 доминантни мутации, модифициращи специално индуцирания свръх-експресионен мутантен фенотип „изрязани” крила, който служи като фон за откриването на тези модификаторни мутации. 19 от тях се оказват локализирани в X-хромозомата и имат рецесивен летален ефект. 8 от намерените мутации са енхансери, а 11 – супресори на фоновия крилов фенотип.

По-нататък докторантката прилага серия от стандартни за провежданото изследване експерименти, които в крайна сметка водят до идентифицирането на 4 гена, взаимодействащи с *dfmr 1*: *peb*, *ras*, *shaggy* и *rock*. Участието на 3 от тези гени: *peb*, *ras* и *rock* в генетични взаимодействия, респективно, в общи биологични пътища с *dfmr1*, се съобщава за пръв път в литературата, посветена на тези проблеми.

За изпълнението на тази част от дисертационния труд, Димитрина Георгиева е усвоила и приложила цял набор от методи на класическата генетика: насочено индуциране на мутации с придобиване на нова функция чрез системата UAS/Gal4 (свръхекспресионен крилов фенотип); индуциране на мутации с химичен мутаген; определяне на групата на скачване, в която се намира индуцираната мутация; рекомбинационен анализ и метод на припокриващите се дупликации за генетично картиране; комплементационен анализ за идентифициране на гените, в които са възникнали химически индуцираните мутации.

С помощта на имунохистохимични методи и конфокална микроскопия Димитрина Георгиева показва, че и четирите открити от нея доминантни интерактори на *dfmr1* в криловата тъкан: *peb*, *ras*, *shaggy* и *rock* доминантно контролират аксонната и синаптична морфология на развиващите се неврони в мозъка на *Drosophila*. Освен това, гените *peb*, *ras*, *shaggy* и *rock* взаимодействат с *dfmr1* и участват съвместно в намирането на пътя на нарастващите мозъчни неврони, в раклоняването на техните аксони и в образуването на синапси.

Тази част от дисертационния труд е подкрепена и с молекулярно-биологични данни. Проведеният от докторантката Western blot-анализ свидетелства за негативен контрол на белтъка Rock от dFMRP, кодиран от гена *dfmr1*.

Така, като краен резултат в дисертационния труд се показва, че белтъците Peb, Rock, Shaggy и Ras са функционални партньори на dFMRP в създаването на невронна мрежа при развитието на мозъка на *Drosophila melanogaster*.

Във връзка с този труд са представени 5 научни публикации: 2 статии са публикувани в *Biotechnology&BiotechnologyEquipment*. Друга статия е публикувана в специализирано научно списание без импакт-фактор (DIS). В две от статиите Георгиева е водещият автор, а в трета – тя дели мястото на първия автор заедно с докторантката Мария Петрова

Част от резултатите са представени като постери на 4-ри международни и 10 национални конференции.

#### **Заклучение:**

Докторантката Димитрина Георгиева е разработила достатъчен по обем дисертационен труд, посветен на актуален проблем на неврогенетиката. Тя е усвоила многобройни генетични методи, а също така имунохистохимични и молекулярно-биологични методи. Получила е интересни за науката резултати, придобила е достатъчно опит в натрупването на данни, тяхната статистическа обработка и интерпретация. Нейната публикационна активност отговаря на изискванията на закона за развитие на академичния състав в България и вътрешния правилник на БФ СУ „Св. Климент Охридски” за ОНС. Във връзка с всичко това убедено предлагам на Уважаемите членове на научното жури да присъдят на Димитрина Георгиева образователната и научна степен „Доктор” в професионално направление 4.3. Биологични науки (специалност „Генетика”).

06.06.2014 год.

Подпис:

/ Проф. д-р Г. Генова/