

СТАНОВИЩЕ
от проф. дбн Румен Георгиев Панков,
научен ръководител на докторант Ралица Бориславова Скробанска

Относно: Дисертационния труд на ас. Ралица Бориславова Скробанска от катедра по „Цитология, хистология и ембриология” при Биологически факултет на СУ „Св. Кл. Охридски” на тема „Сигнализация при клетки, отглеждани в условия на триизмерен матрикс” за присъждане на научната и образователна степен „Доктор” по научната специалност „Клетъчна биология”

Като научен ръководител на докторанта, съм съпричастен към разработвания проблем и считам, че избраната тематика е една от най-актуалните в съвременната клетъчна биология. Изследването на клетъчното поведение в триизмерни култури съчетава удобството на лабораторните условия, като едновременно с това предлата възможността за наподобяване на средата в която съществуват клетките в многоклетъчния организъм. Поради по-голямата съпоставимост на получените резултати с условията *in vivo*, този подход бързо навлиза в съвременните клетъчнобиологични изследвания и успешно се налага над конвенционалните, монослойни системи за клетъчно култивиране.

Представеният от ас. Скробанска дисертационен труд може условно да бъде разделен на три части. В първата част е направена характеристика на основните сигнални пътища (FAK и Src) опериращи в клетки отглеждани в пост-клетъчен матрикс, като е показано, че за разлика от конвенционалните, монослойни култури, в триизмерната система Src е определящ за активирането на Ras/Raf/ERK сигналния път и клетъчната пролиферация. Едновременно с това е демонстрирано, че тази моделна система предизвиква активиране на фибробластите, има по-големи сходства с наранена тъкан и е по-подходяща за изследване на възпалителни процеси. В търсене на система, която отразява най-добре условията на съществуване на клетките в нормална, неувредена тъкан, ас. Скробанска разработва нова триизмерна клетъчна култура (означена като «фибробласти в нативен матрикс»), базирана на миши клетки от линията GD25b1, които нямат контактното инхибиране и могат да нарастват и след достигане на конфлуентност. Във втората част от дисертацията си, използвайки разнообразни методи като култивиране в триизмерни условия, създаване на първични клетъчни култури, снемане на растежни криви, хистохимични, имуноцитохимични изследвания, ФАКС анализ, pull-down тестове, имуноблотинг с фосфоспецифични антитела и др. тя охарактеризира тази култура и я сравнява с подкожна съединителна тъкан. Резултатите убедително показват, че клетките в тази моделна система, по своята организация и

сигнални каскади наподобяват нормална тъкан. При тези изследвания, ас. Скробанска установява и интересния факт, че въпреки забавянето на пролиферативната си активност и снижаване на експресията на циклин Д, клетките в триизмерната моделна система продължават да поддържат високо ниво на активиране на ERK. Третата част от дисертацията ѝ е посветена на изследване именно на това „несъответствие“, като е установено, че в триизмерната култура оперира интересен механизъм, при който пролиферативната активност на ERK се регулира чрез секвестрирането му в липидните рафтове, ограничавайки по такъв начин възможността му да навлиза в клетъчното ядро и да стимулира пролиферацията. Докторантката не само регистрира този нов и интересен факт, а провежда и допълнителни изследвания при които експериментално повлиява количеството на рафт домените (чрез третиране с ловастатин и обратен преход от триизмерно към монослойно култивиране) и по такъв начин отново потвърждава значението на мембранната локализация на ERK в регулирането на клетъчната пролиферация.

От проведените изследвания са изведени четири основни извода, които намирам за коректни, подкрепени от експерименталните данни и напълно отговарящи на поставените цел и задачи. Резултатите са публикувани в две статии (една от които с импакт фактор) и са представени на две научни конференции. Трябва да се отбележи, че отбелязаните в автореферата четири цетата са всъщност повече. При използването на системата за търсене Google scholar се откриват общо 10 цитата от които 7 - в научни статии и 3 - в дисертации, защитени в чужди университети.

Заклучение: Като научен ръководител на докторантката познавам работата ѝ отблизо. В процеса на разработване на дисертацията си Ралица прояви енергичност, умение да планира добре експериментите си, критично да анализира получените резултати и да извежда логични обобщения. Считам, че тя изпълни успешно поставената в дисертацията цел и се разви като перспективен специалист в областта на съвременната клетъчна биология. Всичко това ми дава одование да изразя положителната си оценка и да препоръчам на членовете на научното жури да присъдят на ас. Ралица Бориславова Скробанска научната и образователна степен „Доктор“.

08.09.2011 год.

Подпис:

/проф. дбн Румен Панков/