

СТАНОВИЩЕ

относно дисертационен труд, представен за присъждане на образователната и научна степен „Доктор” професионално направление 4.3. Биологични науки (молекулярна биология)

Автор на дисертационния труд: Горица Веселинова Раклеова

Тема на дисертационния труд: „Анализ на екстрацелуларни белтъци от суспензионни култури на *Dactylis glomerata* L. във връзка с тяхната роля в соматичната ембриогенеза”

Изготвил становището: доц. д-р Лъчезар Костов Карагъзов

По правило онтогенетичното развитие при висшите растения започва с образуването на зигота и постепенното оформяне на зародиш. Ембриогенезата е процес от изключителна важност, който преминава през различни етапи на диференциация и съчетава морфологични, анатомични и молекулни промени. Зиготната ембриогенеза е трудна за изследване – зародишът е скрит сред други тъкани, не се поддава лесно на анализи и третирания, материалът, с който се работи, е ограничен. Известно е обаче, че в клетъчни култури *in vitro* може да се предизвика соматична ембриогенеза, като в случая зародиши се образуват от диплоидни клетки след фитохормонална индукция. Двата вида ембриогенеза са аналогични, но при соматичната ембриогенеза споменатите по-горе експериментални ограничения отсъстват. Опитите с ембриогенни култури демонстрират, че диференциацията и оформянето на пълноценни зародиши зависи от редица фактори, отделяни в културалната среда. Сред тези фактори са показани нискомолекулни вещества, пептиди, белтъци, олигозахариди.

Дисертационният труд на Горица Раклеова (148 стр.) е посветен на изучаване на някои специфични екстрацелуларни белтъци, секретирани от ембриогенни суспензионни култури на *Dactylis glomerata* (ежова главица). Важна част в него заемат опитите да се покаже ролята на отделните белтъци при ембриогенезата.

Литературният обзор (28 стр.) е изчерпателен и разглежда подробно протеините, с които докторантката ще работи. Обсъдена е тяхната ензимна активност, структура и функция.

Разделът „Материали и Методи” (18 стр) обхваща описанието на голямото разнообразие от използвани молекулярно-биологичните методи. Тук следва да се добавят и методите за биоинформационна обработка на резултатите, картите на векторите и т.н. (Приложения 1 - 6). Горица Раклеова прилага и владее съвременните методи за идентификация на неизвестни белтъци, за изолиране, клониране и експресия на кДНК, за изолиране на рекомбинантни антители.

Разделът „Резултати и обсъждане” обхваща 71 стр. Представени са голям брой експериментални резултати, илюстрирани с 36 фигури и 7 таблици. Прави

впечатление подробното описание и доброто документиране на резултатите. Идентифицирани са няколко протеина, специфични за ембриогенни култури на *Dactylis glomerata*: алфа-амилаза, два катепсина, две хитинази. Открит е нов инхибитор на цистеинови протеинази (фитоцистатин). Пълноразмерните кДНК. На тези белтъци са изолирани, клонирани и подложени на експресия. Най-голямо място в дисертацията заема изследването на цистатина. Предложен е модел, който да обясни електрофоретичното поведение на този белтък, проведен е анализ на неговата експресия при различни тъкани и състояния, селектирани са специфични рекомбинантни антители срещу него.

След този раздел следва „Обобщение” (5 стр.), в което е направено общо обсъждане на резултатите и е предложен модел за участието на изследваните протеини при диференциацията и ембриогенезата. Изводите в дисертацията са подкрепени напълно достатъчно с оригинален експериментален материал. Те са написани ясно и показват добре приносите на дисертацията.

Получените от Раклеова резултати са нови и крайно интересни. Те служат за изказване на предположения, които подлежат на експериментална проверка. Съпоставени с други данни, те ще позволят да се получи по-пълна картина за механизмите на диференциация и ембриогенеза при растенията.

Част от резултатите представени в дисертацията са предмет на четири статии (една под печат), в които Раклеова е първи автор. Това според мен правилно отразява нейната роля при получаване на резултатите и в подготовката на публикациите. Резултатите от дисертацията са представени също и на няколко международни и национални конференции.

Представеният автореферат отразява правилно съдържанието на дисертационния труд. Като цяло смятам дисертацията за изключително качествена, за добро и обещаващо начало за бъдещи изследвания в това направление.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Смятам, че дисертационният труд на Горица Раклеова представлява значителен и оригинален принос в областта на молекулярната биология. Най-убедено подкрепям и препоръчвам на научното жури да присъди на Горица Веселинова Раклеова образователната и научна степен „Доктор”.

Изготвил становището:

11 април 2012

(доц. д-р Л. Карагъзов)