

СТАНОВИЩЕ

Върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен «Доктор»

Автор на дисертационния труд: Мария Христова Петрова

Тема на дисертационния труд: Изучаване на някои механизми, чрез които Fragile X Mental Retardation Protein 1 контролира невронното развитие при *Drosophila melanogaster*, разработен в катедра Генетика, Биологически факултет, СУ”Св. Климент Охридски”

Автор: Маргарита Георгиева Пешева, доц. д-р в СУ”Св. Климент Охридски”, Биологически факултет, катедра Генетика

Дисертационният труд на Мария Христова Петрова е посветен на изучаване на някои механизми, чрез които Fragile X Mental Retardation protein 1 контролира невронното развитие при *Drosophila melanogaster*. Докторантката е насочила вниманието си към изясняване ролята на продукта на гена *fmr1*- РНК- свързващ белтък (dFMRP). Той има отношение към неврогенеративното заболяване синдром на чупливата X хромозома (fragile X syndrom). Синдромът е най-честата причина за умствената изостаналост при човека и поява на неврологични дефекти, голяма част от които засягат невронната морфогенеза. За да изучи механизмите, чрез които белтъка dFMRP контролира неврогенезата, докторантката използва моделен обект винената мушица *Drosophila melanogaste*. Тя заема водещо място в редица изследвания с добре изучена генетика и подходяща нервна система, с това, че 80% от човешките хомолози, свързани с наследствени заболявания, са представени в генома на дрозофила.

Дисертационният труд обхваща 139 страници, като литературната справка включва 418 автора, повечето публикувани след 200-та година.. Целта на дисертацията е формулирана ясно и задачите произтичат логично от нея. Резултатите са онагледени с 8 таблици и 20 фигури, всички с отлично качество, много добре обозначени, което улеснява възприемането им и убеждава в тяхната достоверност. Съпоставката и обсъждането на получените резултати е задълбочена

Литературният обзор е написан на 36 страници. Подробно е описана неврогенезата и невронното развитие, структурата., функцията и клетъчната

локализация на dFMRP, както и ролята му върху контрола на генната експресия. Прави много добро впечатление отличната осведоменост на докторантката по проблема, разработен от нея. Трябва да подчертая липсата на правописни грешки в написаното. Имайки предвид значимостта на изследването, докторантката формулира ясна цел на изследване: контролната роля на FMRP върху експресията на гени, участващи в невронното развитие на *Drosophila melanogaster*. Представените 6 задачи отразяват конкретното изпълнение на поставената цел

От раздела „Материал и методи” личи, че докторантката е използвала съвременни молекулярно-генетични и микроскопски методи. Те са описани подробно, което позволява прилагането им и в други лаборатории. За изследването са използвани редица линии *Drosophila melanogaster*, с определени мутации. За статистическа обработка на резултатите са използвани програми GraphPad InStat1 и Excel, теста на Стюдант. В конкретни случаи е прилаган биоинформатичен анализ.

Получени са значими резултати, с научно-приложна значимост (представени на 59 страници), които адекватно отразяват поставените задачи. Докторантът представя собствените резултати и едновременно ги обсъжда много добре в контекста на използваната литература.

Направен е насочен скрининг с използването на GAL4/UAs-системата за индукция на експресия и свръхекспресия на гена *dfmr1* в ретината на очите и в криловия имагинален диск. Изследвано е генетичното взаимодействие на този ген с предварително избрана група от гени с важна роля в развитието на нервната система. Намерени са гени-модификатори-енхансери и супресори на гена *dfmr1*, като при 27°C са получени мутантни фенотипове с крилни изменения и при двата пола, а очните изменения при двата пола се проявяват при 21°C. Докторантката предполага, че енансерните гени кодират белтъци, които участват в общи комплекси с продукта на гена *dfmr1*-FMRP. Чрез анализа на гени, контролиращи растежа и разклоняването на аксона се доказва по неоспорим начин участието на *dfmr1* гена в различни процеси в ЦНС на *Drosophila*.

Съществен момент в работата е установяването на генетични взаимодействия на гена *dfmr1* с гена *dlg1*, имащ отношение към клетъчната

поляриност, развитието на мозъчните неврони и функциониране на синапсите, и гена *scib*, имащ отношение към клетъчната пролиферация и синаптичната структура и физиология при *Drosophila*. Чрез биоинформатичен анализ докторантката открива в екзоните на транскриптите на няколко гена G-квартетна последователност. Тя установява, че dFMRP като РНК-свързващ белтък играе ключова роля в експресията на много от анализирани гени. За изясняване механизма на неврогенезата допринасят резултатите, показващи че за експресия на гена *dlg1* е необходимо нормално количество на dFMRP.

При изучаване експресията на гените *capt* и *dlg1* са намерени четири допълнителни регулаторни последователности, които са критични за определяне на местата на сплайсинг в пре-иРНК. Дисертантката обобщава, че нивото на изоформите, кодирани от генетични интерактори на *dfmr1* се променя в зависимост от нивата на транскрипция на dFMRP. Чрез Western blot-анализ е установена ролята на FMRP върху контрола на транслацията на изоформи на гена *dlg1*, като е посочено че критичното ниво на контрол на експресия на тези изоформи е преди транслацията.

Представените изводи (7) и приноси (3) отразяват постиженията на докторантката, подробно разгледани в глава «Резултати и обсъждане».

По дисертационния труд са изготвени в съавторство три научни разработки: една в реферирано международно списание с IF (Int.J.Bioautomation – in press) и две в реферирани международни списания без импакт фактор. В две от публикациите докторантката е първи автор. Това е доказателство за личния принос на докторантката в изработването и написването на публикациите. Представен е и доклад в пълен текст, изнесен на международна конференция. Докторантката има участия с постери на 3 международни и 10 национални конференции.

Заклучение:

Дисертационният труд и получените резултати имат принос с научно-приложно значение. Получени са оригинални резултати относно механизмите, участващи в регулацията на неврогенезата при *Drosophila*. Докторантката има водеща роля и творческо, лично участие в научните разработки. Като имам предвид качеството и обема на извършената работа, отличното оформяне на

**дисертационния труд, стила на написване и качествата на научните трудове
имам основание да гласувам за присъждане на образователната и научна
степен „доктор” в професионално направление 4.3 „Биологични науки” по
научната специалност „Генетика” на Мария Христова Петрова.**

26. 11. 2014г.

гр. София

Изготвил становището:

(доц. д-р М. Пешева)