

## СТ А Н О В И Щ Е

по дисертационен труд за присъждане на научната степен „Доктор на науките” в Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност: „Молекулярна биология“

**Тема на дисертацията:** „Самоорганизация и повърхностни свойства на hBest1 в модели на биологични мембрани”

**Автор:** проф. д-р Йордан Атанасов Думанов

**Изготвил становището:** проф. Д-р Албена Владимирова Александрова, катедра „Физиология и биохимия“, НСА „Васил Левски”, член на научното жури, определено със заповед на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ № РД 38-595/31.10.2023 г.

### 1. ПРЕДСТАВЯНЕ НА ПРОЦЕДУРАТА И КАНДИДАТА

Представените от проф. Йордан Думанов документи за процедурата по защита: дисертационен труд и съпътстваща документация, напълно отговарят на изискванията на ЗРАСБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“.

Проф. Йордан Думанов завършва висшето си образование в Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ с магистърска степен по Клетъчна биология и биология на развитието и втора специализация Учител по биология (1999 г.), както и ИКТ в образованието (2011 г.). През 2006 г. защитава успешно докторска степен в Университета Хохенхайм в Штутгарт, Германия на тема „Идентифициране на базолатералния сортиращ сигнал в цитоплазмения домен на интерлевкин-6 сигналният преносител gp130”.

Професионалната му кариера започва през 1999 год. като изследовател в Института по човешка генетика към Университет на Грайсвалд, Германия (1999-2000 г) и Институт по биохимия, RWTH - Аахен, Германия (2001). В периода 2001-2006 г. е докторант в Университета Хохенхайм в Штутгарт, Германия. През 2006 г. е назначен за асистент в катедрата „Биохимия“ на Биологически факултет при СУ и последователно заема длъжностите: старши асистент (2007-2011), главен асистент (2011-2014), доцент (2015-2021 г.) и професор (2021- досега, рег. № в НАЦИД 43841).

Специализирал е във водещи в областта на офталмологията научни институти във Франция (Институт по зрението, Университет „Пиер и Мария Кюри“, Париж) и Испания (САБИМЕР, Севиля). Тези специализации са свързани със задълбочени научни изследвания върху белтъка бестрофин-1 и бестрофинопатиите. Интересите на проф. Думанов към бестрофинопатиите се развиват последователно и успешно, което е отразено в неговите трудове и въвеждането на това направление в БФ на СУ „Св. Климент Охридски“. Научната група на катедра „Биохимия“ е единствената в България, която изследва hBest1.

Като преподавател в Биологически факултет, проф. Думанов е титуляр на задължителните лекционни курсове за ОКС „Бакалавър“ по „Биохимия“ в редовна форма на обучение на специалностите „Биология“, „Екология и опазване на околната среда“, „Оптометрия“, както и на курса по „Биологични мембрани“ за специалността „Молекулярна биология“ в задочна форма на обучение. Той е водещ преподавател в задължителните курсовете за ОКС магистър по „Биохимия“, „Клетъчна биология и патология“, „Основи на

биохимията“, „Белтъчно сортиране и клетъчна поляризация“, както и на избираемия курс по „Моделни мембрани“.

Проф. Думанов участва в ръководството на 9 успешно защитени дипломни работи, на 7 от които е ръководител и на 2 съ-ръководител. Той е също така е съ-ръководител на 3 успешно защитени докторски дисертации към катедрата по Биохимия.

Проф. Думанов е участник в общо 11 успешно завършили научно-изследователски проекти, от които е ръководител на 2 и е участник в 9 проекта, подкрепени финансово от ФНИ-МОН. Той е участник също в 8 научно-изследователски проекти (на 4 от които е ръководител, в 1 е съ-ръководител, в 3 е участник), подкрепени финансово от СУ „Св. Климент Охридски“, както и участник в 1 проект за Научна Инфраструктура „Клетъчни Технологии в Биомедицината“.

## **2. СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

Представеният ми за становище дисертационен труд е добре структуриран в обем от 196 страници и съдържа следните раздели: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (23 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (22 стр.), Резултати и обсъждане (81 стр.), Изводи (3 стр.), Приноси (1 стр.), Бъдещи изследвания (1 стр.), Списък с публикации свързани с темата на дисертацията (3 стр., 16 статии с импакт фактор и 2 без импакт фактор), Списък с участия в научни форуми, на които са представени резултати свързани с темата на дисертацията (4 стр., 21 форума в страната и 1 в чужбина), Приложения (30 бр.), използвана литература (294 заглавия на латиница). Дисертацията следва приетите изисквания за този тип научен труд.

## **3. АКТУАЛНОСТ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД, ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ И НАУЧНИ ПРИНОСИ**

Актуалността на дисертационната тема „Самоорганизация и повърхностни свойства на hBest1 в модели на биологични мембрани“ се обуславя от широкото разпространение на бестрофинопатиите, които водят до прогресивна загуба на зрението и засега са нелечими. Бестрофинопатиите се асоциират с над 200 мутации в гена за бестрофин-1 (BEST1) и засягат приблизително от 1 на 16 500 до 1 на 21 000 души. Човешкият бестрофин-1 е калциево зависим хлорен канал, който се експресира по базолатералната повърхност на ретиналния пигментен епител. За hBest1 са предположени и други функции като транспортер на  $\gamma$ -аминобутирилова киселина и глутамат в нервната система, както и наличие на връзката с невродегенеративни заболявания като болестите на Алцхаймер, Паркинсон, епилепсия и др. Получените резултати от изследванията и придобитите данни по дисертацията дават нови знания и разбиране за повърхностната организация на hBest1, взаимодействията му с основните мембранни липиди и връзката му с различните микродомени в клетъчните мембрани. Те са от фундаментално значение за разбирането за модулирането и регулирането на активността на каналните молекули на hBest1 в клетките.

Проф. Думанов има опит повече от 10 години в изследванията за изясняване на структурата и функционалната активност на hBest1 и логично това определя и целта на изследванията, представени в дисертационния труд, а именно на основата на връзката структура-функции, да се разкрият детайлно молекулярните механизми, водещи до бестрофинопатии. Подходът за постигането на тази цел изисква запазване на транслацията на hBest1 от ретиналните епителни клетки в условия *in vitro*. За постигането на целта, проф. Думанов си е поставил следните задачи: 1) към създаване на клетъчни линии от трансфектирани с нормални и мутантни форми hBest1 еукариотни клетки с доказана експресията на hBest1 белтъците в тях и определяне на влиянието на hBest1 върху

развитието на клетките и техния метаболизъм и 2) в модели на биологични мембрани, които са пряко зависими от изолирането и пречистването на hBest1 от стабилно трансфектираните MDCK II - hBest1 клетки, да се определят повърхностните физикохимични характеристики на Лангмюирови монослоеви и Лангмюир-Блоджетови филми от пречистен hBest1, както и на дву- и трикомпонентни Лангмюирови монослоеви и Лангмюир-Блоджетови филми, съдържащи hBest1 и комбинации от основните мембранни липиди фосфатидилхолин, сфингомиелин и холестерол. За реализиране на задачите, заложените в дисертационния труд, проф. Думанов прилага изключително широк набор от съвременни и класически методи за изследване при използване на клетъчни култури и модели на биологични мембрани (вкл. Real-Time PCR, цитометрия, имунофлуоресценция, молекулно-ситова хроматография, афинитетна хроматография, инфрачервена спектроскопия с Фурие-трансформация, Брюстер-ъглова микроскопия, атомно силова микроскопия и др.).

Проведените от проф. Думанов в дисертацията задълбочени изследвания с клетъчни култури за сортирането на hBest1 и негови мутантни форми показват, че най-малко три сортиращи сигнали и фосфорилиране са определящи за правилното насочване на hBest1 към базолатералната мембрана; експресията на hBest1 в клетките води до промяна в липидния метаболизъм, а локализирането на белтъка в плазмената мембрана предизвиква нейното „флуидизиране“ и намаляване на големината на подредените области в нея; детектираната частична асоциацията (~ 30 %) на hBest1 с липидните рафтове определя основната роля на различните микродомени за повърхностната (само)организация и активността на белтъка.

Получените в разработката значителен брой нови данни чрез прилагането на различните методични подходи и нагледно представени чрез таблици, графики и снимки (вкл. голяма част от тях е изнесена като приложения – 30 бр.), дават възможност за достоверна и обективна оценка на функционалната активност на hBest1 в зависимост от структурните характеристики. Интерпретацията на получените резултати убедително показват широките познания по проблема и високия професионализъм на проф. Думанов. В резултат от проведените изследвания са формулирани 18 извода и 7 приноса (3 с фундаментален характер, 2 с научно приложен характер и 2 с методичен характер), с които съм напълно съгласна. От тях бих искала да подчертая създадените две нови, стабилно трансфектирани с hBest1, клетъчни линии и оригиналният метод за пречистване и изолиране на hBest1 от клетките на новосъздадената MDCK II - hBest1 клетъчна линия, което дава възможността за провеждане на изследвания с моделни мембрани за разбиране на молекулярните механизми на взаимодействие на hBest1 с основни липиди, определящи повърхностните свойства, локализация, (само)организация и функции на hBest1 в клетъчните мембрани. Много добро впечатление правят планираните бъдещи изследвания на автора, които затвърждават стабилният му научен интерес към проблема и стремеж към получаване на практически приложими стратегии (създаването на наночастици с участието на hBest1) за транспорт и интегриране на белтъка в мембраните на клетките и възстановяване на мембранните функции.

#### **4. ОЦЕНКА НА НАУКОМЕТРИЧНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ**

Проф. Думанов е представил списък от 18 публикации по темата на дисертационния труд. От тях 16 са в списания с ИФ и 2 в списания с ИФ-ранг. Общият импакт фактор на тези публикации е 62,303, а забелязаните им цитирания са 44. Отчитайки разпределението на публикациите по квартали трябва да се отбележи, че от 16 публикации, повече от половината - 9 публикации са в списания с Q1. В списания с Q2 са 3 публикации, в списания с Q3 са 2 публикации, и в списания с Q4 са 2 публикации. Наукометрични показатели на

проф. Думанов са в пълно съответствие с изискванията в ЗРАСБ - 390 точки, което надхвърля минималния изискуем брой точки за тази степен.

## **5. АВТОРЕФЕРАТ**

Авторефератът включва значителна част от получените резултати и тяхното обсъждане. По същество авторефератът отразява всички основни изводи и приноси на дисертационния труд.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В дисертационния труд на проф. Йордан Думанов са представени оригинални резултати от обширно иновативно изследване, получени чрез прилагане на съчетани подходящо най-съвременни методи. Трудът е написан прецизно, онагледен е с подходящ доказателствен материал и данните са интерпретирани с вещина. Поставените конкретни задачи са изпълнени и поставената цел е постигната. При разработката на дисертационния труд са постигнати значими резултати, които имат съществен приносен характер, както в теоретичен, така и в практически аспект. Работата на проф. Думанов намира широк отзвук сред специалистите в областта и характеризира автора като висококвалифициран специалист в областта на молекулярната биология. Дисертационният труд напълно удовлетворява критериите на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане му и Правилника на СУ за условията и реда за придобиване на научните степени и академичните длъжности на Софийски университет за получаване на научна степен "Доктор на науките". Горезложеното ми дава основание да дам положителна оценка на труда и да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят на проф. Йордан Атанасов Думанов научната степен „Доктор на науките” по Професионално направление 4.3 Биологични науки (Молекулярна биология).

12.12.2023 г.

Изготвил становището:

/проф. Албена Александрова/