

С Т А Н О В И Щ Е

От чл. кор. проф. дбн Румен Панков – катедра “Цитология, хистология и ембриология”
при Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

относно дисертационния труд на гл. асистент Веселина Светославова Москова-
Думанова на тема: „*Функционален анализ на болест-предизвикващи мутации в
потенциални сортиращи мотиви на белтъка бестрофин-1 (Best1)*”

Представеният дисертационен труд е посветен на проучване на група наследствени дегенеративни заболявания при човек, означавани като бестрофинопатии, довеждащи до прогресивна загуба на зрение. При всички изследвани заболявания са установени мутации в гена *best1*, който е отговорен за синтеза на интегралния базално-мембранен белтък бестрофин 1 в клетките на ретиналния пигментен епител. Проведеното изследване е съсредоточено върху мутации, описани при пациенти с Вителиформна макулна дегенерация на Бест, които засягат потенциални сортиращи домени в молекулата на бестрофин 1. Фокусирането именно върху тези мутации е логично обосновано от хипотезата, че именно неправилното сортиране и локализирането на бестрофин 1 извън базолатералната област на клетъчните мембрани, довежда до разстройства във функциите на клетките на ретиналния пигментен епител и развитие на патологични състояния. Проверката на тази хипотеза, определя и основната цел на дисертационната работа, а именно да се направи функционален анализ на избраните мутации, който да бъде използван за създаване на молекулярен модел за участието на изследваните мутации в патогенезата на вителиформната макулна дегенерация. Подбраната тематика е свързана с разрешаване на съществени и все още неизяснени въпроси от областта на съвременната клетъчна биологи. Проведеното изследване е важно и за медицинската наука поради свързаността си със заболяване, което силно снижава качеството на живот на болните индивиди. Всичко това ми дава основание да определя дисертационния труд като актуален и важен, както от фундаментална, така и от практическа гледна точка.

Представената работа е организирана по възприетата схема, като е спазен добър баланс между отделните части. Онагледена е с 57 подходящи фигури и включва литературна справка от 250 източника. Трябва да се отбележи високото качество на

включените конфокални образи, които са не само убедителен илюстративен материал, но и затвърждават общото впечатление за прецизно извършена изследователска работа.

Литературният обзор включва четири основни части, посветени на биологията на зрението, бестрофинопатиите, характеристика на гена *best1* и неговия продукт – белтъка бестрофин 1, както и основните механизми, отговорни за клетъчната поляризация и управляващи белтъчното сортиране. Информацията е представена професионално, като са отразени съвременните схващания по разглежданите въпроси. Литературният обзор показва добрата професионална подготовка на гл. ас. Московва-Думанова за изпълнение на експерименталната част от дисертационния труд.

Получените резултати са представени в хронология, която следва поставените конкретни задачи. В първият раздел са показани данните по подбор на клетъчна линия, подходяща за използване като моделна система за изследване на клетъчната поляризация и сортиране на белтъка бестрофин1. Убедително е показано, че най-подходяща за целите на планираното изследване е широко използваната епителна линия MDCK. Във втората голяма група резултати е изследвано, главно чрез конфокална имуофлуоресцентна микроскопия и морфометричен анализ, поведението на подобрите мутанти (Y85H, Q96R, L100R, L207I, Y227N, R25W), като само с едно изключение (L207I) е установено отместване на бестрофин 1 от базолатералната към апикалната част на клетъчната мембрана. При тези експерименти прави добро впечатление разработването на оригинален метод за околичествяване на апикалната експресия на изследвания белтък на базата на конфокални образи и включването на допълнителни контролни експерименти, доказващи апикалната локализация и правилното процесирание на екзогенните мутантни белтъци. Интересни са и резултатите, показващи, че за правилната мембранна локализация на бестрофин1 е необходимо белтъка да не е фосфорилиран в позиция Y227.

Получените резултати са дискутирани в светлината на съществуващите модели за мембранната топология на бестрофин 1 и като цяло подкрепят изказаната хипотеза, че изследваните мутации повлияват мембранната му локализация – ефект, който повлиява нормалното функциониране на фоторецепторите.

От проведените изследвания са формулирани четири извода и четири оригинални приноса, с които съм напълно съгласен. Резултатите от дисертационния труд са публикувани в четири статии (три с импакт фактор) и са докладвани на четири научни форума.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Гл. ас. Веселина Москова-Думанова е преподавател в катедрата по Цитология хистология и ембриология и служебните ни контакти датират вече повече от десет години. Представената от нея дисертация още веднъж потвърждава впечатленията ми за добрата ѝ професионална подготовка, високата компетентност и способността ѝ систематично и задълбочено да изследва и решава научни задачи в областта на съвременната клетъчна биология. Имайки предвид професионалните ѝ качества, научните постижения в настоящия труд и критериите на Биологически факултет при СУ „Св. Климент Охридски”, изразявам своета положителна оценка за представения дисертационен труд и убедено препоръчвам на членовете научното жури, назначено със заповед № РД 38-323/26.06.2014 год. на Ректора на СУ да присъдят на гл. ас. Веселина Москова-Думанова научната и образователна степен ”Доктор”.

08.09.2014 год.

чл. кор. проф. дбн Румен Панков