

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Диана Христова Петкова, д.б.н., Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН, член на Научно жури определено със заповед

РД-38-246/19.05.2021 г.

във връзка с обявения конкурс за професор по научната специалност 4.3 Биологични науки (Биохимия) за нуждите на катедра Биохимия, Биологически факултет, Софийски университет „ Св. Климент Охридски” в ДВ бр. 32/16.04.2021

В конкурса участва единствен кандидат доц. д-р Йордан Атанасов Думанов. Кандидатът е роден през 1973 г. в г.Банско . През 1999 г. завършва Софийския Университет „ Св. Климент Охридски” специалност Биология със специализации – Клетъчна биология и биология на размножаването и Учител по биология. От 2001г. е докторант в университета Хохенхайм, Щутгард, Германия, където успешно защитава дисертация на тема „ Идентифициране на базолатералния сортиращ сигнал в цитоплазмения домен на интерлевкин-6 сигналния преносител gp130” през 2006 г. След защитата на дисертацията си постъпва на работа в катедрата по Биохимия, СУ „ Св. Климент Охридски“. От 2015 г. е доцент в същата катедра. Доц. Думанов е бил неколkokратно в чужбина на специализации във водещи лаборатории в областта на биохимията и молекулярната биология в Германия, Франция и Испания, което се е отразило положително на неговата научна квалификация.

Научните трудове, с които доц. Й.Думанов кандидатства в конкурса са следните: 14 научни статии в списания с ИФ, с общ ИФ 43. 131, една глава от книга, 5 статии в , реферирани списания без ИФ и едно Учебно пособие с колектив – „Протоколна тетрадка по биохимия.” Приложени са редица участия в научни мероприятия у нас и в чужбина. Бил е ръководител и участник в редица договори, финансирани от наши източници. Под негово ръководство са защитени 4 докторски дисертации, на една от които доц. Думанов е единствен ръководител. Бил е ръководител и на 8 дипломни работи. Забелязани са над 124 цитирания на научните му трудове. 75 от тях са на научните трудове , с които кандидатства в конкурса.

По направената справка за изпълнение на минималните национални изисквания по чл. 2 б от ЗРАСРБ и правилника за приложението му в СУ, доц. Думанов надвишава необходимите критерии за академичната длъжност професор..

Научните направления, в които работи доц. Йордан Думанов са в областта на биохимията, молекулярната и клетъчна биология. Основна част от научните му приноси са свързани с изясняване молекулните основи на някои социално значими патологии като наследствени дегенеративни заболявания на ретината; наночастици натоварени със специфични РНК, както и взаимовръзките между структурата, функцията и клетъчната локализация на някои белтъци. Част от изследванията са свързани с изясняване на механизма на взаимодействия на природни биологично активни вещества с различни видове клетки с цел изясняване на фармакологичното им приложение.

Според мен основните приноси на кандидата са следните и могат да се разделят на три групи.:

1. Изследвания свързани със структурата , взаимодействията с липиди и локализацията на hBest1 в клетъчната мембрана.

- Изследвани са молекулните основи на болестта на Best, която е автозомно доминантно наследствено заболяване, засягащо централното зрение. Трябва да се отбележи, че в последните години това са единствените изследвания в България посветени на белтъка бестрофин-1, мутациите на който са една от основните причини за тази патология. Тези изследвания са станали възможни благодарение на успеха на ръководения от доц. Думанов колектив да разработи и въведе оригинална методика за получаване в достатъчни количества на пречистен, функционално активен, рекомбинантен белтък бестрофин-1 от клетъчна линия, стабилно експресираща бестрофин-1.

- Установявани са структурата и повърхностните характеристики на бестрофин-1 в Лангмюирови монослое. Определени са елементите на вторичната структура на hBest1 чрез инфрачервена спектроскопия с Фурие трансформация (FTIR) и ролята на Ca^{2+} при тяхното формиране. При изследване на повърхностните свойства на белтъка чрез Лангмюирови монослое е доказано, че Ca^{2+} , Glu и GABA силно променят морфологията и площта на монослоеве. Създадените Лангмюир-Блоджетови филми са позволили да се визуализира белтъка чрез атомно-силова микроскопия и за пръв път в света са получени изображения на „чист“ hBest1. Доказани са размерите на молекулата на белтъка и промените, които настъпват при взаимодействие с Ca^{2+} , Glu и GABA.

- Приведени са за пръв път доказателства за взаимодействията на белтъка Best- 1 с фосфолипидни монослоеви, с цел изясняване механизма на взаимодействие на белтъка с мембранните липиди, тъй като от това зависи правилната ориентация, конформация и реорганизация на белтъка за проява на оптимална активност. Доказано е, че POPC елиминира действието на Ca^{2+} , Glu и GABA върху повърхостната динамика на филмите, което е доказателство, че фосфолипидите могат да променят съществено поведението на белтъка в клетъчните мембрани. Изследвани са и взаимодействията на белтъка със сфингомиелин и холестерол, основните липиди на *raft*-домените. Доказано е, че сфингомиелина и белтъка се смесват спонтанно. Установен е кондензиращия ефект на холестерола при чисти и смесени монослоеви от белтък и фосфолипиди,

- При изследването асоциацията на белтъка с мембранни домени на клетки е доказано, че 30% от hBest1 е локализиран в *raft*-домените. Освен това е доказано, че експресията на белтъка увеличава точно-неподредените участъци в клетките експресиращи белтъка в сравнение с тези неекспресиращи белтъка. Следователно асоциацията на hBest1 с L_0 и/или L_d домените има фундаментално значение за неговата структура, конформационна динамика, олигомеризация и е свързана с биологичната му роля като трансмембранен канал.

Получените данни за взаимодействията на hBest1 с POPC, SM, Chol, показват че структурата и биологичните функции на белтъка зависят от общата промяна във физикохимичните характеристики на „липидната“ среда, а не само от прякото взаимодействие с определени „типове“ молекули.

2. Приноси в изследванията върху новосинтезирани наночастици

Във връзка с новите методи на терапия на генетични заболявания чрез доставяне на нуклеинови киселини към таргетните клетки със специфични носители са изследвани различни видове полимерни наночастици за установяване на тяхната цитотоксичност и пътищата на интернализация в еукариотни клетки.

- Изследвана е интернализацията на гребеноподобни полиплекси, базирани на полиетиленимин и е доказано, че пътищата на този процес зависят от топологията и формата на полимерната верига като полиплексите с по-плътна структура могат да се считат за „обещаващи“ системи за гена трансфекция в еукариотни клетки. Проучването на интернализацията и ефективността на трансфекция в еукариотни клетки на полиплекси съдържащи PEOGMA-b-PLL диблоков кополимер доказва, че тези частици могат да

проникват директно през плазмената мембраната, а не посредством ендозомалния път като освобождават интактен и функционално активен плазмид, способен да експресира EGFP. Тези резултати са доказателство, че новосинтезираният PDEGMA-b-PLL диблок кополимер може да се използва като „добър“ кандидат за доставка на ДНК

- Проучването на цитотоксичността на наночастици, изградени на основата на амфибилния poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) - b l o c k - p o l y (ε - c a p r o l a c t o n e) – block - poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) (PDMAEMA20-b-PCL70-b-PDMAEMA20) триблоков кополимер съдържащи ДНК е доказало , че частиците, които са под формата на катионни мицели и капсули са „толерантни“ и нетоксични към еукариотни клетки.

- Изследването на цитотоксичността и интернализацията на наночастици от сферични нуклеинови киселини (Nucleic acid-polymer conjugates (NAPCs) е доказало, че те се характеризират с нетоксичност, биосъвместимост, повишено клетъчно усвояване без нужда от трансфекционни агенти и са стабилни към нуклеази.

3. Приноси в изследванията на природни биологично активни вещества

- Проведени са изследвания върху випоксин, който е основния токсичен компонент в отровата на българската пепелянка *Vipera ammodytes meridionalis*. Випоксинът е хетеродимерен постсинаптичен йонен комплекс, съставен от основна и токсична PLA₂ ензимна субединица (GIIA секреторна PLA₂) и киселинна, ензимно неактивна субединица - випоксинен киселинен компонент (viroxin acidic component, VAC). Випоксинът и отделните му субединици повлияват по различен начин целостта и жизнеспособността на еукариотни клетки, поради разликите във фармакологичната им активност. PLA₂ субединица предизвиква цитотоксичност, пренареждане на цитоскелета и ранна апоптоза по зависим от концентрацията начин, което е свързано с нейната ензимна активност. Випоксинът и VAC не засягат жизнеспособността на клетките, но проявяват висока степен на генотоксичност, докато увреждането на ДНК, предизвикано от PLA₂ субединицата е умерено и може да не е свързано с нейната каталитична активност.

- Установено е, че екстракти от ендемичното лечебно растение *Haberlea rhodopensis* (*Безсмъртниче*) повлияват клетъчната периферия, пермеабилзацията на мембраната и нарушават механичните контакти (tight junctions) при кератиноцити. Това е довело до предположението, че екстрактите могат да бъдат добър кандидат при комплексно третиране на патологични дерматологични състояния.

- Изследването на действието на метанолни екстракти от 6 вида *Inula* (Бял оман), съдържащи хлорогенни киселини, както и екстракти, съдържащи флавоноидни гликозиди, флавоноидни агликони, фенолни киселини и сесквитерпенови лактони върху нормални и ракови клетки е доказало, че те проявяват различна степен на цитотоксичност спрямо нормални и ракови клетки, което може да бъде в основата на по-нататъшни изследвания за техните потенциални анти-туморни свойства.

- Изследването на биологична активност на екстракти от *Lamium album L* е доказало добре изразеното им анти-туморно действие.

Характерно за основните научни приноси на доцент д-р Й.Думанов е, че те са систематично насочени към изясняване структурата и функцията на основния причинител на социално значими патологии наследствените дегенеративни заболявания на ретината. За причинителя на тези патологии белтъка hBest1 са получени много значими за научната литература резултати, които са публикувани за пръв път в световната литература. Трябва да се отбележат и резултатите върху полимерни наночастици, за приложението им като носители на НК при терапия на редица онкологични патологии.

Доц. Думанов има лекционна натовареност около 400 часа годишно, които включват основни лекционни курсове към катедра Биохимия, Биологически факултет и Физическия факултет на СУ. Кандидатът има и експертна дейност. Участвал е в Държавни изпитни комисии при защиты на дипломни работи, към катедрата по Биохимия, бил е член на журита за избор на гл. асистенти към СУ, МУ-Варна, ИМБ-БАН, както и рецензент на международно списание. Член е на Съвета на специалностите ЕООС (Биологически ф-т) и Оптометрия (Физически факултет), както и член на Управителния съвет на НИС (СУ).

Считам, че са спазени всички изисквания на новия Закон за развитие на академичния състав в Република България при обявения конкурс..

Заключение: Доцент д-р Йордан Думанов е представил за конкурса научна продукция и цитирания, които надвишават изискванията на ЗРАСРБ за академичната длъжност професор. . Научните му приноси имат оригинален характер. За пръв път е демонстрирана молекулната организация на белтъка hBest1 и значението на структурата на мембранния бислой за активността на белтъка. Получените резултати са намерили широк отзвук сред световната научна общност. Лекционната му натовареност отговаря на академичната длъжност, за която кандидатства. Доказал е уменията си да ръководи и обучава млади хора. Всичко това ми дава основания убедено да препоръчам доц. д-р

Йордан Думанов да бъде избран за административната и академична длъжност ПРОФЕСОР по шифър 4.3 Биологични науки (Биохимия) за нуждите на Биологически факултет , СУ „Климент Охридски”.

22.07.2021 г.

РЕЦЕНЗЕНТ :

Проф. Диана Петкова д.б.н.