

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Ивайло Владимиров Димитров,
Институт по полимери – БАН

относно дисертационен труд на проф. д-р Йордан Атанасов Думанов на тема: „Самоорганизация и повърхностни свойства на $hBest1$ в модели на биологични мембрани“ 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 (Молекулярна биология)“

Настоящото становище е изготвено на основание на Заповед на Ректора на Софийски университет (СУ) „Св. Климент Охридски“ № РД 38-595 от 31.10.2023 год. и решение от заседанието на научното жури от 06.11.2023 год. То е съобразено с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото прилагане (ППЗРАСРБ) и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“.

Проф. Думанов е представил всички необходими документи по процедурата в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника на СУ.

Кратка професионална биография

Проф. Йордан Думанов завършва висшето си образование в СУ „Св. Климент Охридски“ с магистърска степен по „Клетъчна биология и биология на развитието“. През периода 1999-2001 год. работи в Германия като изследовател последователно в Института по човешка генетика към Университета на Грайфсвалд и в Института по биохимия на Рейнско-Вестфалския технически университет в Аахен. През 2006 год. защитава докторска дисертация в Университета Хохенхайм, Щутгарт, Германия на тема „Идентифициране на базолатералния сортиращ сигнал в цитоплазмения домен на интерлевкин-6 сигналния преносител gp130“. Научната кариера на проф. Йордан Думанов в катедра „Биохимия“ към Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ започва по-късно същата година, заемайки академичните длъжности от асистент до професор за периода 2006-2021 год. Бил е на двугодишна пост-докторска специализация в Института по зрението към Университет „Пиер и Мария Кюри“, Париж, Франция (2008-2010 год.) и на 4-месечна специализация в Андалуския център по молекулярна биология и регенеративна медицина (CABIMER), Севиля, Испания (2009 год.).

Наукометрични показатели

Проф. Йордан Думанов е съавтор на 64 научни публикации с общ импакт фактор 157.06, които са цитирани над 180 пъти. Бил е (съ)ръководител или участник в 20 научноизследователски проекти. Под негово (съ)ръководство успешно са защитили

3 докторанти и 9 дипломанти. Проф. Думанов е представил списък от 18 публикации в специализирани научни издания по темата на дисертационния труд. От тях 16 са публикувани в списания с импакт фактор, а останалите 2 – в издания без импакт фактор. Общият импакт фактор на тези публикации е 62.303. В значителна част от представените публикации проф. Думанов е водещ автор, което е доказателство за основната му роля в извършените изследвания. Резултати, свързани с дисертационния труд са представени на 22 научни форуми. Четири от защитените под ръководството на проф. Думанов дипломни работи и трите дисертационни труда за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ засягат отделни въпроси, свързани с тематиката на настоящия труд.

От представените материали се вижда, че проф. Йордан Думанов покрива минималните национални изисквания по всички показатели, посочени в ЗРАСРБ и в Правилника за приложението му, като по един от показателите ги надвишава.

Дисертационен труд и приноси

Дисертационният труд на проф. Думанов е посветен на изследвания на трансмембрания белтък бестрофин-1 (hBest1) в клетъчни култури и в модели на биологични мембрани. Изследванията са насочени към определяне на основните характеристики на белтъка, включващи структурата, взаимодействието му с основни мембранни липиди и асоциацията му с липидните рафтове в клетъчните мембрани. Приложението от автора интердисциплинарен изследователски подход е насочен към установяване на връзката между структурата и функциите на hBest1, което е от основно значение за изясняване на молекулните механизми, които са в основата на тежките дегенеративни заболявания на ретината (бестрофинопатии).

Дисертационният труд е написан на 196 страници, съдържащи 69 фигури, 3 таблици и приложения (представени на 30 страници). Цитирани са 294 литературни източници.

Целта на труда е формулирана ясно и точно, а именно да се проследи и изследва ролята на hBest1 в клетката, неговата структура, организация и функции, връзката между структура и функции, както и молекулните механизми, водещи до бестрофинопатии като за осъществяването ѝ са формулирани конкретни задачи, разделени в две направления.

Резултатите, получени по първото направление, са от изследвания на hBest1 в клетъчни култури като моделни системи. Провеждането на тези изследвания става възможно благодарение на създадената от ръководен от проф. Думанов колектив нова, стабилно трансфектирана с hBest1 клетъчна линия MDCK II - hBest1 (произхождаща от епител на бъбрек). Установено е, че при тази клетъчна линия растежните характеристики, метаболитната активност, морфологията и поляризацията не се влияят от стабилната експресия на белтъка. Показано е, че hBest1 се локализира по базолатералната мембрана в поляризирани за 6 дни MDCK II - hBest1 клетки. Изследвано е неговото взаимодействие с мембранни липиди като е установено, че експресията на hBest1 в клетките е свързана с повишеното натрупване и/или

биосинтезата на неламеларни за сметка на ламеларните липиди. По-нататък е изследвана асоциацията на белтъка с мембранните домени на стабилно трансфектирани MDCK II - hBest1 клетки като присъствието на белтъка предизвиква нарастване на течно-неподредените области в клетъчната мембрана. Прилагайки два различни подхода е показано, че hBest1 преимуществено се асоциира с течно-неподредените (65%) в сравнение с течно-подредените (35%) мембранни области. Това разпределение оказва пряко влияние върху структурата, олигомеризацията и функцията на hBest1.

Второто направление от изследвания на hBest1, представени в дисертационния труд на проф. Думанов е свързано с извънклетъчно провеждане на експерименти в модели на биологични мембрани. От ключово значение за успешното им извършване е разработената и въведена от групата на проф. Думанов оригинална методика за изолиране и пречистване на експресирания от клетъчната линия MDCK II - hBest1 функционално активен белтък. Това позволява изследването и установяването на структурата и повърхностните характеристики hBest1. Използвайки инфрачервена спектроскопия с Фурие-трансформация е анализирана и прецизирана вторичната структура на белтъка. За пръв път hBest1 е визуализиран чрез атомно-силова микроскопия като е проследено агрегирането му в присъствието на Ca^{2+} и промените в конформацията му в присъствието на 4-аминобутанова киселина (GABA) и глутамат (Glu). Особен интерес представляват изследванията, свързани с определянето на повърхностните физикохимични характеристики на дву- и трикомпонентни Лангмюирови монослоеви и Лангмюир-Блоджетови филми, съдържащи hBest1 и основните мембранни липиди фосфатидилхолин (POPC), сфингомиелин (SM) и холестерол (Chol). Установено е, че Chol подобрява и стабилизира смесването на компонентите съответно в hBest1/POPC/Chol и hBest1/SM/Chol филмите. Взаимодействията на белтъка с липидите, както и демонстрираният кондензиращ ефект на холестерола, оказват пряко влияние върху асоциирането на hBest1 с домените на клетъчната мембрана, неговата конформация, повърхностната му организация и функции.

В заключителната част от своя дисертационен труд проф. Думанов представя и резултати от биологичното охарактеризиране на сферични нуклеинови киселини (СНК), изградени от нефосфолипиден нуклеолипид, който представлява оригинална хибридна биомакромолекула, съставена от липидоподобен хидрофобен остатък, химически свързан по два алтернативни метода с олигонуклеотидна верига. Формираните във водна среда везикуларни структури с плътна олигонуклеотидна обвивка са изследвани за резистентност към ензимно разграждане и клетъчна интернализация, тъй като стабилността и бързата интернализация са отличителни черти на СНК. Получените резултати могат да се разглеждат като основа за бъдещи изследвания, свързани с използването на разнообразни наноструктури като носители на hBest1 за интеркалирането му в клетъчната мембрана и възстановяване на транспортните ѝ функции.

Формулираните от автора 18 извода и 7 приноса (3 с фундаментален характер, 2 с научно-приложен характер и 2 с методичен характер) коректно отразяват резултатите от проведените и представени в дисертационния труд изследвания.

Представеният дисертационен труд несъмнено представлява оригинално научно изследване, което напълно постига поставените цел и задачи. Нещо повече, получените резултати предоставят отлична възможност на проф. Думанов за продължаване на новаторските си изследвания, свързани с hBest1.

Заклучение

Дисертационният труд на проф. Йордан Думанов на тема „Самоорганизация и повърхностни свойства на hBest1 в модели на биологични мембрани“ напълно отговаря на изискванията за придобиване на научната степен „доктор на науките“ съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагането му и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“. Въз основа на това и на направения по-горе анализ *убедено давам своята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят на проф. д-р Йордан Атанасов Думанов научната степен „доктор на науките“ в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.3. „Биологически науки (Молекулярна биология)“*

Изготвил становището:

София,
14.12.2023 год.

/проф. д-р Ивайло Вл. Димитров/