

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Йордан Думанов – катедра “Биохимия” при Биологически факултет на СУ
„Св. Климент Охридски”

относно дисертационния труд на асистент Никола Йорданов Младенов на тема:
**„Взаимодействие на hBest1 с мембранни липиди и асоциирането му с детергент
резистентни домени от еукариотни клетки”** за присъждане на образователна и
научна степен „Доктор” по професионално направление 4.3 Биологически науки
(Молекулярна биология – Клетъчна поляризация и мембрани)

Научни ръководители: доц. д-р Йордан Думанов
доц. д-р Тоня Андреева

Дисертационният труд на докторант Никола Младенов е посветен на изследвания свързани с Ca^{2+} -зависимия йонен канал бестрофин-1 (hBest).

Мутации в гена *BEST1*, който е отговорен за синтезата на белтъка hBest1 причинява различни дегенерации на макулата, наречени бестрофинопатии. Също така се предполага, че hBest1 участва и в развитието на невро-дегенеративни заболявания като болест на Алцхаймер и болест на Паркинсон, което определя актуалността на научните изследвания и дискутираните в дисертацията проблеми.

hBest1 е трансмембранен йонен канал, който се експресира предимно в клетките на ретиналния пигментен епител (RPE), в астроцити, глиални клетки и неврони от централна нервна система. hBest1 участва в Ca^{2+} -зависимия транспорт на Cl^- през клетъчната мембрана, на HCO_3^- , на невротрансмитерите γ -аминобутирилова киселина (GABA), глутамат и др., поради което има голямо значение за поддържане на хомеостазата и предаването на различни сигнали в клетките.

Структурата и функцията на белтъка hBest1 са все още дискуссионни, затова проведените изследвания описани в дисертацията са насочени към: 1) изучаване на неговите повърхностни характеристики при вграждането му в Лангмюирови монослоеове от сфингомиелин с участието на Ca^{2+} , Glu и GABA при условия, които са близки до физиологичните, 2) изследване кондензиращия ефект на холестерола и 3) установяване на локализацията на белтъка в клетъчните мембрани на MDCK II еукариотни клетки.

Дисертационната работа е написана по стандартната схема с общ обем от 116 страници, който е добре балансиран като най-обемната част е глава „Резултати и дискусия“ (43 стр.). Работата е онагледена с 37 фигури, 3 приложения и е използвана литературна справка от 278 източника. Литературният обзор е изчерпателен, задълбочен и подкрепен с подходящ илюстративен материал. Прецизно са описани структурата и ролята на мембранните микродомени, структурата и функцията на hBest1 и основните принципни подходи за анализиране на моделни мембранни системи и биологични мембрани. Целта и задачите са точно формулирани, а получените оригинални резултати са представени и дискутирани ясно и обстойно в светлината на съществуващите в научната литература данни. Проведените изследвания с hBest1 са интердисциплинарни, при които са използвани актуални и адекватни за постигането на поставената цел експериментални методи от областта на съвременната физикохимия, биохимия, биофизика и клетъчната биология.

Резултатите биха могли да се разделят на три големи групи в зависимост от използваните изследователски подходи/методи:

- 1) Резултати от физикохимични изследвания показващи а) различното повърхностно поведение на hBest1/SM монослоя свързано с промяна в конформацията, динамиката, стабилността, и организацията на белтъчните молекули, както и спонтанната смесваемост на hBest1 и SM като

фундаментална физикохимична характеристика; б) кондензиращ ефект на холестерола върху монослоевете от hBest1 и POPC, а също и върху монослоевете от hBest1 и сфингомиелин.

- 2) Резултати от биохимични изследвания – показващи разпределението на hBest1 в DRM и DSM в MDCK II-hBest1 клетки, което е съответно 30% и 70%.
- 3) Резултати от биофизични изследвания – потвърждаващи резултатите от биохимичните изследвания, където, hBest1 преимуществено се асоциира с L_d областите (65%) и по-малко с L_o областите (35%) в мембраните на живи MDCK II-hBest1 клетки и доказващи, че наличието на молекулите hBest1 в мембраните на стабилно трансфектирани MDCK II клетки води до увеличаване на L_d областите.

Спонтанната смесваемост на hBest1 и SM, както и кондензиращия ефект на холестерола са предпоставка за различни взаимодействия и асоциация на hBest1 с мембранните домени и предизвикващи различни структурни конформации на белтъка, които повлияват неговите биологични функции. Тези резултати допринасят за разбирането на връзката структура-функция при hBest1 и за възникващите патологични състояния.

От получените резултати са формулирани седем извода и три оригинални приноса. Резултатите от дисертацията са представени в две научни публикации (докторантът е водещ автор на едната), в научното списание *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, с общ импакт фактор е 7.95 и са докладвани на три научни форума. На една от статиите са забелязани две цитирания.

Получените резултати от докторант Никола Младенов са важни за биомедицината, поради доказаните патологични състояния свързани с hBest1, които понижават качеството на живот на засегнатите индивиди, което ми дава основание да определя дисертационния труд като значим, както за фундаменталната наука, така и за клиничната практика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Представеният ми за становище дисертационен труд на Никола Младенов потвърждава високите професионални умения и компетентности на докторанта, способността му задълбочено да анализира и решава научни задачи, да използва, интерпретира и интегрира получените резултати в различни области на съвременната интердисциплинарна наука.

Професионалните качества, получените резултати в изследванията и наукометричните показатели на Никола Младенов, които отговарят на всички изисквания на ЗРАСБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ “Св. Климент Охридски“, ми дават основание да изразя своето положително становище за дисертационния труд и убедено предлагам на научното жури назначено със заповед РД38-471/30.09.2020 на Ректора на СУ да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Никола Йорданов Младенов в научно направление 4.3. Биологически науки (Молекулярна биология – Клетъчна поляризация и мембрани).

29.10.2020 г.

доц. д-р Йордан Думанов