

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р инж. Петър Тодоров Тодоров,
Факултет по химични технологии при ХТМУ-София

на дисертационен труд на ас. **Христина Илиева Димитрова**
на тема: "Кристализация и структурен анализ на две палиндромни ДНК
секвенции с флуоресцентни маркери" за придобиване на образователната и
научна степен "доктор", професионално направление 4.4 *Науки за Земята*
(*Синтетични и природни порести материали*) към направление "Структурна
кристалография и материалознание"

Докторантката Христина Илиева Димитрова е завършила висшето си образование в Софийски университет "Св. Климент Охридски", Биологически факултет, специалност "Екология и опазване на околната среда" ОКС Магистър през 2005 г. На 12.01.2012 г. е зачислена като редовен докторант към направление "Структурна кристалография и материалознание" в ИМК-БАН с научен ръководител проф. д-р Борис Шивачев. Отчислена е с право на защита на 11.10.2016 г. (Заповед 326РД/11.10.2016). Докторантката е положила в срок всички изпити предвидени в индивидуалния план. От 2017 г. до сега Христина Димитрова е назначена като асистент към ИМК-БАН.

Научните интереси на ас. Димитрова са в областта на структурния анализ, кристалографията, кристалния растеж, молекулярната биология и др.

Дисертационният труд е представен на 118 страници заедно с приложенията, от които 27 стр. Литературен обзор, базиран на 113 източника, включително и от 2017 г. Добро впечатление прави умението на дисертантката да обобщава експериментални данни и да илюстрира направените изводи чрез подходящо оформени таблици (14 на брой) и фигури (38 на брой).

В литературният обзор дисертантката е разгледала подробно основните методите за проследяване и анализиране на биологични

молекули, каквито представляват и нуклеиновите киселини, а именно флуоресцентната спектроскопия, ЯМР, кръговия дихроизъм, UV-Vis спектроскопията, електрофоретичните методи и др. Описани са и различни кристалizacionни практики за израстването на добре дифрактиращи монокристали, като основен акцент е отделен на монокристалния рентгеноструктурен анализ. Дадени са и общи представи за ДНК и нейните конформационни състояния, като основно място е отделено на дикерсоновия додекамер. Дисертантката е дала и подробно описание на протеиновата база данни (PDB), което отлично кореспондира с целта на дисертационната работа. От литературният обзор става ясно, че ас. Христина Димитрова се е запознала много добре с литературните сведения по темата и свободно борави с тях. Въз основа на това точно и ясно е формулирана целта на дисертационния труд и са определени съответните 7 задачи за изпълнение.

Разделът "Материали и методи" заема 15 страници. Той е написан кратко, точно и ясно и съдържа необходимата информация за изпълнение на описаните експерименти. Всички кристалizacionни условия и експериментални данни, използваните лиганди (флуоресцентни маркери), както и кристалографската разшифровка на макромолекули са детайлно описани в раздела "Материали и методи".

В раздела "Резултати и дискусия" заемащ 24 страници дисертантката разглежда агарозната гел-електрофореза на ДНК, като предварителен анализ целящ визуализация и сравнителен анализ на взаимодействието на полинуклеотидните вериги на ДНК със специфични лиганди. Като селективни флуоресцентни маркери, свързващи се с конкретна нуклеотидна последователност са използвани DAPI, Berenil, AK3-4, AK3-9, DL72, DL89 и EtBr. За проверка на ДНК-лиганд взаимодействието е използван флуоресцентния метод. Важна част от научното изследване е определяне и оптимизиране на кристалizacionните условия за израстването на монокристали подходящи за монокристален рентгеноструктурен анализ. Дисертантката Христина Димитрова успешно е оптимизирала условията като е варираща концентрацията на ДНК, температурата, йонната сила, pH на средата и използването на различни буфери, присъствието на 2-метил-2,4-пентандиол (MPD), двувалентни йони и полиамина Спермин. Описан е

структурният анализ на съкристалizacionните форми на олигонуклеотидните ДНК-секвенции 5'-CGTGAATTCACG-3' и 5'-CGCGAATTCGCG-3' с различни флуоресцентни маркери. За първи път е решена структурата на 5'-CGTGAATTCACG-3' с флуоресцентния маркер DAPI, чрез монокристална рентгенова дифракция при резолюция от 2.2 Å в пространствена група P2₁2₁2₁. Координатите и структурните фактори са депозирани в протеиновата база данни (PDB) под номер 5T4W. За първи път е отснет и експеримент от кристал на d(CGTGAATTCACG)₂ с флуоресцентен маркер, чийто координати и структурни фактори са депозирани в PDB под номер 5NT5.

Авторефератът отговаря на изискванията на Правилника на ИМК-БАН и отразява напълно резултатите от проведените изследвания.

Резултатите от дисертационната работа са отразени в 2 научни публикации: в *Bulgarian Chemical Communications* (IF=0.24) и *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications* (IF=0.8), както и 1 в тематичен сборник от международна конференция на *Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances*.

В двете представени научни публикации ас. Христина Димитрова е първи автор. Представените публикации са посветени на кристалната структура на съкристалizacionните форми на олигонуклеотидните ДНК-секвенции 5'-CGTGAATTCACG-3' и d(CGTGAATTCACG)₂.

Докторантката ас. Димитрова е взела участия в 3 научни форуми с постерни съобщения и доклади по темата на дисертационния си труд.

Вече е забелязан един цитат на публикация от 2017 г., което е индикация за качеството на публикуваните резултатите.

Представеният дисертационен труд е напълно дисертабилен, с оригинален принос за науката. Представените материали и резултати напълно съответстват на изискванията на ЗРАС в Република България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Института по минералогия и кристалография „Акад. Иван Костов“ – БАН.

Въз основа на изложеното по-горе с убеденост давам положителна оценка на дисертационния труд на **ас. Христина Илиева Димитрова** и препоръчвам на уважаемите членовете на научното жури да подкрепят присъждането ѝ на образователната и научна степен "доктор" по професионално направление 4.4 *Науки за Земята (Синтетични и природни порести материали)* към направление "Структурна кристалография и материалознание".

18.05.2018 г.
гр.София

Изготвил становището:
/доц. д-р инж. Петър Тодоров/