

Рецензия

от проф. Нина Т. Бакърджиева, доктор на науките

относно обявения от ИФРГ при БАН конкурс за доцент по биохимия (ДВ бр. 24 от 26.03.2010 г), на който е даден ход по новия Закон и Правилника за придобиване научни степени и заемане на академични длъжности с решение на НС на ИФРГ от 05.05.2011 г. с основна насоченост “Стрес индуцируеми белтъци и тяхната характеристика”

На обявения конкурс се е явила единствен кандидат доктор по биология Людмила Петрова Симова-Стоилова. Тя е завършила Биологическия факултет на СУ като магистър по биохимия с клинична химия през 1986 година и постъпва на работа в ИФР при БАН. В момента заема длъжността н.с. първа степен (главен асистент) към секция Молекулярна биология на растителния стрес към ИФРГ при БАН.

За участието си в конкурса кандидатката е представила 35 научни публикации (извън докторската дисертация), от които 16 са публикувани в български списания и един сборник, а 19 в чужбина в престижни специализирани научни издания. Между тях преобладават списанията с IF , съответно 16 публикации (напр. Photosynthetica, Biologia Plantarum, Plant Physiology and Biochemistry, Environmental and Experimental Botany, Acta Physiol. Plantarum, Plant Biology и др.). Симова-Стоилова е първи автор на 13 статии от приложния списък, а шест от тях са отпечатани в чуждестранни списания (пет от тях с IF). Като втори автор фигурира в 19 публикации, така че в болшинството статии от списъка тя има определена и ясна роля. Кандидатката работи в колектив с проф. доктор на науките Кл. Демиревска, която е водещ изследовател в тази тематика и задава насоките и методическите решения на изследователските задачи, а Симова-Стоилова е дала своя индивидуален принос за решаването им. Много често като съавтор фигурира името на Зл. Стоянова. От представения разделителен протокол много ясно се разграничава тяхната експериментална работа без да има дублиране. Докато Стоянова е акцентирала върху физиологичните показатели, то Симова-Стоилова е работила върху биохимията на белтъците и ензимите. Другите съавтори са партньори от чужбина и наши специалисти, чието участие съответства както на разработван конкретен проект, така и в зависимост от конкретната изследователска задача. Казаното до тук показва, че кандидатката Симова-

Стоилова се явява на конкурса със стойностни и представителни публикации, насочени към последователно решавана изследователска цел.

Тези публикации отразяват повече от 20 години целенасочен изследователски труд под ръководството на проф. Кл. Демиревска, от която Симова-Стоилова е получила знания и методически умения и е успяла да се изгради като вещ експериментатор и специалист, способен вече да решава изследователски задачи и да ги интерпретира умело. С това тя е намерила своето място и личен принос в представените в публикациите научни резултати. Към списъка на основните 35 публикации по конкурса, кандидатката е посочила и други четири – една отпечатана и три представени за печат, които обхващат периода след подаването на документите за конкурса поради което не подлежат на рецензиране. Те обаче показват че работата по темата на конкурса продължава и в момента.

Публикуваните научни трудове са свързани с разработката на 12 изследователски проекта, пет от които са финансирани НФНИ, два към БАН на бюджетна издръжка, един в рамките на “PISA”, четири са по международно сътрудничество с Швейцария, Англия и Украйна. Те са реализирани през последните 6-7 години. Научните резултати са представени на 15 международни форума, което сочи, че международната общност е получила информация за тях.

Акуратната справка за цитиранията, общо 130 бр., потвърждава факта, че изследванията са дали отзвук и са възприети в научните среди у нас и в чужбина. И по този показател кандидатката по конкурса Симова-Стоилова значително надвишава изискванията на чл. 3.2 от Правилника на ИФРГ за специфичните условия за заемане на определени длъжности в Института. Анализът на представените данни показва, че статиите по конкурса са цитирани от 5 български автори у нас, и 5 български автори в международни издания, както и от 120 учени от чужбина в авторитетни списания с IF. В редица от тях данните от представените по конкурса статии са използвани в дискусиата (напр. В58, В 61, В 68, В 87 и др.). Най-много са цитирани резултатите за мангановата и медната токсичност.

От всичко казано става ясно, че представените от кандидатката по конкурса научни трудове отразяват сериозна, задълбочена и целенасочена изследователска дейност, публикувани са в престижни наши и чуждестранни издания и са били цитирани в научната литература от много автори.

Основната насока на изследване е проследяване промените в разтворими ензимни белтъци под влияние на различни стресови фактори. В това отношение централно място с основание заемат проучванията върху ензима рибулозо-1,5-бифосфат карбоксилаза/оксигеназа с оглед ролята на ензима в основни метаболитни процеси като фотосинтезата и фотодишането. На молекулно ниво успешно е характеризирана конформационната динамика на ензима по отношение измененията в голямата и малката субединица, така и с оглед участието на свързаните с него белтъци – Рубиско активаза и Рубиско свързващия белтък. Данните добре се допълват от проучванията върху механизмите на протеолитичното разграждане на тези белтъци. Тези резултати дават основата за логичен анализ и задълбочено тълкуване на влиянието на стресовите фактори върху молекулата на Рубиско като е показано, че този ензим показва характерна реакция. Освен това в проучванията внимание е отделено и на антиоксидантните ензими супероксиддисмутаза, гваякол пероксидаза и каталаза, които показват типични и бързи промени при стрес. Като стресови фактори са използвани засушаване, токсични дози манган, мед и кадмий, предизвикано тъмнинно стареене, UV-B и др. Тематиката на изследванията е важен аспект на растителната биохимия и на молекулната биология на стреса при растенията. Тя е и актуална с отговорите които търси и дава на въпроса за механизмите на стреса в растителната клетка.

В експерименталната работа са използвани съвременни и подходящи за решаване на изследователската задача подходи и методи на биохимията. Между тях са изолиране и пречистване на ензима Рубиско, електрофореза на белтъчни фракции и изоензими, визуализирането им, определяне на протеолитична активност, определяне активността и изоензимния състав на антиоксидантни ензими. В повечето от изследванията са приложени успешно имунохимични техники, въведени и разработени успешно в секцията. Могат да се споменат имуноблотинг, ELISA, получаване на поликлонални и моноклонални антитела. Използването на тези методи е допринесло за по-детайлна и задълбочена интерпретация на резултатите. Общата постановка на опитите съответства на поставената цел. Определено може да се каже, че експерименталните подходи и методи правят представените данни убедителни, а направената от авторите интерпретация е в съответствие с тях, екзактна и логична. Тя е акуратно и компетентно съпоставена с литературните данни, направената дискусия е аргументирана и логична, на места даже

твърде предпазлива.

В изследванията, отразени в представените по конкурса публикации се съдържат важни научни резултати главно с фундаментален характер. От тях могат да се открият по-важни научни и методически приноси както следва:

1. Имунохимичните и биохимични изследвания на ензима Рубиско и свързаните с него функционални белтъци са позволили да се покаже:
 - Зависимостта между взаимодействията в Рубиско комплекса и функционалните промени като е посочена ключовата роля на Рубиско активазата и Рубиско свързващия белтък в регулацията на ензимната функция при стрес.
 - Съдържанието на Рубиско претърпява промени в различни фази от онтогенетичното развитие на два сорта ечемичени растения.
 - При сравняване на Рубиско от пет различни вида растения с използване на четири моноклонални антители е направен опит да се изясни мястото на локализация в молекулата на ензима, разпознавани от тях. Най-вероятно две от тях са върху голямата субединица.
 - Молекулата на Рубиско, този толкова ключов ензим в растителния метаболизъм, реагира на редица стресови фактори.
2. Характеризирана е протеолизата на Рубиско в изолирани хлоропласти от ечемик при тъмнинно стареене и е установено участието на специфичен тип протеази. Те се различават по зависимостта си от АТФ и наличието на метални йони, показват различна динамика в хода на стареенето. Те разграждат по различен начин немодифицираната и окислително модифицираната Рубиско.
3. Характеризирана е стресовата реакция при млади ечемичени растения, предизвикана от медна и манганова токсичност в зависимост от силата на стреса. Установени са характерни промени в голямата и малка субединица на Рубиско, на Рубиско активазата и на Рубиско свързващия белтък, които не са еднопосочни при високи концентрации на двата метала. И в двата случая обаче е налице намаление на Рубиско свързващия белтък, но по различен начин се повлиява Рубиско активазата. Стресовата реакция е съпроводена с различен баланс в активността на антиоксидантните ензими, както и с увеличение на

количеството на карбонилни групи в листните белтъци, което говори за различна степен на окислителна модификация.

4. Проучванията върху стресовия отговор на няколко сорта пшеница към засушаване са показали значително натрупване на пролин и някои шаперони, както и роля на цистеинов тип протеази. Установен е и сортово специфичен протеолитичен отговор.
5. При трансформирани тютюневи растения със способност да акумулират кадмий е установено значително увеличение на пероксидазната активност, а също и при кадмиева токсичност в сравнение с контролните растения.
6. Характеризиран е ефектът на различни видове стрес чрез съпоставяне промените в Рубиско белтъка, антиоксидантните ензими, протеолитичната активност и тяхната взаимозависимост.

Като методически приноси могат да се посочат:

1. Разработен е метод за пречистване на Рубиско активиза от ечемичени растения и са получени антитела към пречистения белтък, които са намерили приложение при следващите изследвания върху белтък-белтък взаимодействия и при проследяване промените към стресови фактори.
2. Разработен е ELISA тест за измерване специфичната протеолиза на Рубиско.

Като практическа препоръка се предлага:

1. Определянето на общата протеолитична активност да се използва като маркер за чувствителност към засушаване.

Изброените приноси имат оригинален характер по постановка и методика и дават нови научни факти. Кандидатката в конкурса за доцент има своя принос като участник в изследователските задачи. Като по-специфична насока на нейните проучвания се очертава протеолитичното разграждане на белтъците и характеризиране на специфичните протеази. И в двата случая тя има своя принос за получените научни резултати.

Към постановката на опитите бих направила една препоръка – да не се разширява повече вида на използваните стресови фактори, а изследванията да продължат с тези, които позволяват по-добро изясняване на механизмите на стресовата реакция в растителната клетка.

Заключение. На обявения конкурс за доцент към ИФРГ на БАН се е явила единствен кандидат главен асистент д-р Людмила Симова-Стоилова. Документите са представени акуратно и позволяват да се получи ясна картина както за научните резултати, така и за нейната публикационна активност, също за участието в изпълнението на научни проекти и в международни научни форуми. От прегледа им става ясно, че кандидатката отговаря на изисванията за даване на академичната длъжност “доцент”, предвидени ППНСАД, приет от НС на Института по физиология на растенията и генетика при БАН. Представени са повече от 25 научни публикации по темата на конкурса, над десет от които са в списания с IF, а броят на цитиранията значително надвишава изискуемата се бройка. Извършената изследователска работа е в актуална съвременна насока на растителната биохимия – биохимичните механизми на реакцията и чувствителността на растителната клетка към стрес. Получени са резултати с приносен характер, посочени по-горе, използвани са модерни и прецизни изследователски техники и резултатите от експериментите са обосновано и логично дискутирани.

Ето защо има достатъчно основание да предложи на почитаемите членове на научното жури и на НС на ИФРГ да дадат на Людмила Петрова Симова-Стоилова академичната длъжност “доцент”.

София, 10.06.2011 г.

Рецензент:

(проф. Н. Бакърджиева)