

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Евгени Драганов Ананиев, катедра по Физиология на растенията, Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски”, в качеството ми на научен консултант на гл. асистент Анна Димитрова Димитрова

**Относно:** защита на докторска дисертация на тема: „Регулация на транскрипцията на рибозомните РНК гени в реконструирани кариотипове ечемик”, за придобиване на образователна и научна степен доктор по научна специалност 01.06.06.- „Генетика”

**Автор:** главен асистент Анна Димитрова Димитрова, секция „Молекулярна генетика”, „Институт по физиология на растенията и генетика”, при БАН

Главен асистент Анна Димитрова е родена на 18. 06. 1956 г. в гр. Сливен. Завършва висше образование (магистър по биология) през 1979 г в Биологически факултет на СУ „Св. Кл. Охридски”. От 1981 до сега работи последователно като биолог, научен сътрудник III и II степен, а от м. март 2011 г. като главен асистент, съответно в „Институт по генетика” (до 2010) и „Институт по физиология на растенията и генетика” (2010 – и в настоящия момент) при БАН. През 2008 г. е зачислена в свободна докторантура, а през 2011 г. е отчислена с право на защита.

Дисертационният труд на А. Димитрова е посветен на актуалния проблем на вътревидовото ядръцево доминиране (intraspecific nucleolar dominance), като частен случай на междувидовото ядръцево доминиране (interspecific nucleolar dominance), последното наблюдавано както при растения, така и при животни.

Дисертантката е избрала като моделна система за изследване линии на ечемик (*Hordeum vulgare* L.) с различна локализация или с променена позиция или структура на ядръцевите организатори (НОР)

Изследвана е функционалната активност на рРНК гените в няколко линии с хромозомни преустройства, получени в резултат на облъчване на сухи семена с  $\gamma$ -лъчи:

1. Т-1586, в която е запазена локализацията на двата НОР-а върху хромозомите 6Н и 5Н, на фона на хромозомна транслокация между хромозоми, които не носят НОР.
2. Т-30 - с реципрочна транслокация между хромозоми 6Н и 5Н, в резултат на което НОР5Н е прехвърлен на дългото рамо на хромозома 6Н и двата НОР-а се намират на една и съща хромозома.

3. T-21, при която е осъществено разцепване на НОР6Н на две еднакви части, като дисталната е прехвърлена върху НОР-носещото рамо на хромозома 5Н.
4. D-2946, с дублициран хромозомен сегмент в рамките на НОР6Н.
5. T-35, с интеркаларна делеция на НОР6Н, в резултат на което този кариотип има само един НОР върху хромозома 5Н.

Всички използвани линии ечемик са получени и любезно предоставени от проф. К. Гечев и в този смисъл работата на А. Димитрова представлява логическо продължение на изследванията на плеяда авторитетни български учени по този проблем (Хр. Николов, М. Анастасова-Кръстева, А. А. Хаджиолов, К. Гечев, С. Георгиев и др.)

Активността на рРНК гените в различните кариотипове ечемик е изследвана чрез използването на основни методи на молекулярната биология: диференциална активност на РНК полимераза I, скорост на елонгация на насцентните пре-РНК вериги в изолирани ядра, чувствителност на смилане на рДНК хроматина с екзогенна ДНК-аза I (като мярка за активност на гените за рРНК), както и профила на метилиране на рРНК гените (в частност *cis*-регулаторните им секвенции); последния изследван посредством активността на метил-чувствителните рестриктази Msp I, Hpa II и Hha I, съответно в местата –CCGG– и –GCGC–.

В работата си А. Димитрова успя да получи интересни резултати, които представляват несъмнен принос в изследването на рРНК-гените при ечемика, и в частност тяхната функционална активност при хромозомен позиционен ефект на НОР6Н и НОР5Н. По-важните приноси биха могли да се открият както следва:

1. Показано е, че броят на повторените рДНК копия е приблизително еднакъв в отделните линии (924 копия за НОР6Н и 1034 броя за НОР5Н). Този резултат се различава съществено от цитираните по-рано данни в литературата (Subramaniam and Azad, 1978) и е в съгласие с по-новите данни за вътревидови вариации в броя на рРНК гените при ечемика в зависимост от условията на средата.
2. Компенсаторният ефект по отношение на биосинтезата на рРНК в НОР6Н-делетираната линия T-35 се изразява в по-висока скорост на транскрипция (елонгация на транскрипцията) в единствения останал НОР5Н.
3. Компенсаторният ефект при единствения останал НОР5Н не се съпътства от повишена чувствителност към смилане на рДНК хроматина с екзогенна ДНКаза I,

което е индикация за отсъствие на компенсаторен ефект на базата на увеличена доза на активни рРНК гени.

4. Стимулацията на транскрипцията на рРНК гените в единствения останал НОР5Н се съпътства от висока степен на хипометилиране (деметилиране) на –С– в състава на последователностите –CCGG– и –GCGC–, главно в *cis*-регулаторните секвенции на МГС (промотор, терминатор на транскрипцията).

В качеството си на научен консултант познавам отлично работата на А. Димитрова от 2004 г. насам. Всички резултати в дисертацията на А. Димитрова са нейно лично дело, към което тя подходи с голяма отговорност и желание за работа. Бих отличил ясните и точни резултати по молекулната хибридизация с <sup>32</sup>P-белязани ДНК-сонди (“indirect end labelling”) и установените конкретно промени в профила на метилиране на МГС (хипометилиране) от т. нар. „къс рДНК повтор” в НОР5Н.

Анна Димитрова е изграден научен изследовател с дълъг стаж в молекулярната биология на растенията. През годините тя се изгради като добър познавач на регулацията на експресията на рРНК гените при растенията. Получените от нея резултати в дисертацията са важна стъпка в изучаването на феномена на вътревидовото ядърцево доминиране при ечемика и могат да служат като основа за още по-задълбочено изследване на този проблем с надежда тази „българска ниша” да бъде изпълнена с ново съдържание.

В заключение бих искал убедено да препоръчам на уважаемото Научно жури да даде единодушно исканата научна степен „ДОКТОР” на Анна Димитрова Димитрова, което тя без никакви съмнения напълно заслужава.

Гренобъл, 30. 06. 2011

Подпис:

/Е. Ананиев/