



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013  
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА  
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ“

BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

**ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ  
НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ,  
СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ  
В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ  
И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ.**

*Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд“*

**ПРИЛОЖЕНИЕ № 18**

**Бенефициент:**

Институт по биология и имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов"

Адрес: София 1113, бул. Цариградско шосе, № 73

Телефон: +359 2 971 13 95

Факс: +359 2 872 00 22

Мейл: [doktoranti.biotech@gmail.com](mailto:doktoranti.biotech@gmail.com)

Уеб адрес: [www.esf.ibir.bas.bg](http://www.esf.ibir.bas.bg)

**Партньори:**

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“, Биологически Факултет,

Химикотехнологичен и металургичен университет, катедра „Биотехнология“

Проген ООД

**Индивидуална учебна програма/план за представителите на целевата група<sup>1</sup>**

**Силвина Запрянова Запрянова**

секция „Имунобиология на размножаването“

Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ - БАН

Ръководител на дейност – доц. Павел Рашев, ИБИР-БАН

---

<sup>1</sup> Учебната програма/план е индикативна и може да бъде променяна според целите на проекта

## 1. Цели на учебната програма/план

### Роля на протеините на топлинния стрес в процесите на сперматогенеза и апоптоза

Едно от най-значимите събития в клетки подложени на стрес е синтезата на високо консервативни протеин на топлинния стрес-heat shock proteins-Hsps. Протеините на топлинния стрес изпълняват функцията на молекулярни шаперони и предпазват клетките от температурен и метаболитен стрес. Особен интерес представлява способността им да модулират апоптозата чрез взаимодействието им с ключови молекули от апоптотичните пътища. HSP70 е един от главните модулатори на апоптозата блокиращ освобождаването на *cyt C* от митохондриите и формирането на апоптозомата.  $\alpha$ B-crystallin инхибира процесинга на прокаспаза 3 и се свързва към проапоптотичните фактори Bax и Bcl-Xs като пречи на транслокацията им в митохондриите. Особено значение имат изследванията върху експресията на Hsps по време на различните фази на сперматогенеза. Интензивни са проучванията върху функционалната специфичност на двете изоформи Hsp72/73 на Hsp70 в половите клетки на бозайници, докато експресията на  $\alpha$ -crystallines в тестикуларна тъкан не е достатъчно добре проучена. Специфичната експресия и локализация на двете форми на  $\alpha$ B-Cry (фосфорилирана и нефосфорилирана) определят неговата шаперон-подобна активност и цитоскелетната му роля в поддържане на еластичната структура на сперматозоидната опашка.

В предишни проучвания ние изследвахме имунохистохимично експресията и локализацията на Hsp 70 и  $\alpha$ B-Cry в тестиси от мишки по време на пролиферацията, диференциацията и матурацията на половите клетки при нормални условия и след топлинен стрес. Наличието на конститутивната и индуцируемата изоформи на HSP70 по време на сперматогенеза и матурация при мишка в условия на термоиндуцирана апоптоза показва мобилизирането им в превенцията на апоптозата. Доказана е конститутивна експресия на  $\alpha$ B-crystallin в по-късните етапи на сперматогенеза при пубертални и полово зрели мишки. Специфичната локализация на  $\alpha$ B-crystallin в условия на спонтанна и термоиндуцирана апоптоза е указание за неговата шаперон-подобна активност при организацията на цитоскелета и при поддържане на еластичните структури на сперматозоидния флагелум, осигуряващ подвижността на зрелите сперматозоиди в последващите етапи на оплождане.

Целта на бъдещите ни изследвания е установяване на механизмите за осъществяване на апоптоза по време на сперматогенеза в условия на топлинен стрес, установяване на разликите в генната експресия на конститутивните и индуцируемите изоформи на Hsp70 и  $\alpha$ B-crystallin, както и върху генната експресия на някои про- и антиапоптотични фактори чрез имунохистохимични методи и qRT-PCR.

## 2. Теоретична подготовка

2.1. Тема 1 „Обучение за извършване на секвенционен анализ и генотипиране с автоматичен ДНК секвенатор”-49ч.

2.2. Тема 2 „Обща и репродуктивна имунология” -25ч.

- 2.3. Тема 3 „Адаптивен имунитет”-21ч.
- 2.4. Тема 4 „Инфекциозен имунитет. Иmunни терапии”-16ч.
- 2.5. Тема 5 „Дигитални изображения – получаване, обработка, съхранение”-15ч.
- 2.6. Тема 6 „Невроимунология и имуноендокринология + 1.4. Междуклетъчни - сигнални взаимодействия през ембрионалното и постнаталното развитие”-15ч.
- 2.7. Тема 7 „Идентифициране на биомаркери в перитонеална течност чрез DIGE” -18ч.
- 2.8. Тема 8 „Туморна имунология”-15ч.
- 2.9. Тема 9 „Ендокрин – зависими тумори и подходи на алтернативната медицина”-15ч.
- 2.10. Тема 10 „Имунохистохимични и ензимологични методи за оценка на туморите” -18ч.
- 2.11. Тема 11 „Методи за качествено и количествено определяне на протеолитичната активност на ензимите” -20ч.
- 2.12. Тема 12 „Синтез на противотуморни препарати”
- 2.13. Тема 13 „Пролиферация и апоптоза на туморни клетки” -16ч.
- 2.14. Тема 14 „Конфокална характеристика на “in vitro” култура след флуоресцентно белязване”-30ч.

### 3. Практическа подготовка/изследвания

- 3.1. Провеждане на опитна постановка за индуциране на температурен шок в миши тестиси и епидидимиси по метода на Leu et al., 1999.
- 3.2. Прилагане на имунохистохимичен метод върху парафинови срези от миши тестиси и епидидимиси за отчитане на експресията и локализацията на конститутивни и индуцируеми форми на Heat shock proteins – HSP70 and  $\alpha$ B-crystallin
- 3.3. Прилагане на имунофлуоресцентен метод върху парафинови срези от миши тестиси и епидидимиси за отчитане на експресията и локализацията на конститутивни и индуцируеми форми на Heat shock proteins – HSP70 and  $\alpha$ B-crystallin
- 3.4. Прилагане на qRT-PCR – за отчитане на генната експресия на HSPs и някои про-и антиапоптотични маркери.
- 3.5. Прилагане на TUNEL метод за детекция на апоптотични ядра в половите клетки.
- 3.6. Отчитане и обработка на данните от получените резултати и публикуване в подходящи списания.

#### 4. Очаквани резултати (целите да са съобразени с целите на ОП РЧР)

Посетени лекции и практически занимания- „Стволови клетки във възрастния организъм и възможности на тяхното приложение” - лектор проф. Станимир Кюркчиев.

Посетени семинари-представяне на темата на проекта на семинар пред целевата група: „Роля на протеините на топлинния стрес в регулацията на сперматогенезата и апоптозата”-08 ноември 2013г.

Посещение на семинар с лектор Prof. Katja Teerds на следните теми: изготвяне на постер и устна презентация, писане на статия. Посещение на семинари за представяне на мини-проектите на участниците в целевата група.

Във връзка с теоретичното и методичното обучение по проекта ще бъдат усвоени нови, съвременни методи с приложение в биотехнологиите, репродуктивната имунология, биологията на туморите, при манипулиране със стволови клетки. Посредством предвидените лекционни курсове и практически упражнения ще бъде повишено образователното ниво и квалификация на участниците в целевата група, както и подготовката за изготвяне на научно-изследователски проекти и работа в интердисциплинарни екипи. Резултатите от планираните експерименти ще се публикуват в подходящи списания и ще бъдат представени на научни форуми, което ще подобри качеството и интензитета на публикационната дейност на участниците.

Съгласувал: доц. Павел Рашев

Изготвил: Силвина Запрянова