

## Описание на досегашната научна работа

на изследователя Ася Владимирова Даскалова

асистент в лаб. Химия и Биофизика на Протеини и Ензими при ИОХЦФ-БАН

В процеса на работа в изследователската група на проф. Долашка съм овладяла различни съвременни методи за изолиране, пречистване и характеризиране на протеини и пептиди от сложни биологични обекти като хемолимфа на градински охлюви *Helix aspersa* и *Helix lucorum*, морски охлюв *Rapana venosa* и морски рак *Eriphia verrucosa*. Експерименталната ми работа включва получаване на различни фракции от хемолимфата и слузта на гореспоменатите организми, анализ на протеини чрез нативна и денатурираща полиакриламидна гел електрофореза и маспектрометрия. В процеса на работа съм овладяла следните процеси: разделяне и получаване на различни биоактивни фракции от хемолимфа и слуз чрез ултрафилтрация под налягане, с мембрани с различен размер на порите, ултрафилтрация чрез центрофужни тубички (Ultra Centrifugal Filter Unit Ultrafiltration Millipore Centrifugal Tubes), гел филтрационна хроматография за преистване на протеини (HiTrap® Desalting Columns), различни методи на диализа и ензимна хидролиза на протеини с трипсин. За изпълнението на тези процеси съм обучена да работя на следната апаратура: центрифуга (MicroStar 30 R, VWR), клетка за разделяне на протеини (Amicon® Stirred cell), апарат за електрофореза и изоелектрично фокусиране (Ettan IPGphor 3, GE Healthcare), както и с маспектрометър MALDI-TOF-MS Autoflex™ III, High Performance MALDI-TOF & TOF/TOF Systems (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). С цел изясняване механизмите на действие на активните протеини и пептидни фракции е провеждан протеомен анализ. Интерпретирането на резултатите е осъществено посредством използването на софтуерни продукти Melanie™ и ImageQuant TL. За идентифицирането на протеините е използван Peptide Mass Fingerprint анализ с Mascot на Matrix Science, както и други бази данни. Първичната структура на пептидите се определя ръчно и се потвърждава посредством програмата PEAKS Studio 4.2.

В следствие тези познания ми помогнаха да проведе изследвания върху оксидативния стрес при дрожди *Saccharomyces cerevisiae* и по-специално върху протеините продуцирани преди и след него. Тази тематика е обвързана с участието ми в проект на тема: “Състояние на покой при *Saccharomyces cerevisiae* – модел за изследване на токсикологичен и стресов отговор”, ФНИ ДН 11/10 от 15.12.2017 г., в който ИОХЦФ-БАН е партньорска организация с координатор проф. дн Павлина Долашка. Съавтор съм на подадена и приета публикация на тема „Investigation of protein expression of *Saccharomyces cerevisiae* cells in quiescent and proliferating state before and after toxic stress”. Това ми даде възможност да усвоя умения за систематизирането и оформянето на научни тези, както и да правя литературни справки по даден научен проблем. Идеята е докторската ми теза основно да обхваща изследванията в тази област.

Във връзка с изпълнението на задачи по Националната научна програма „Иновативни нискотоксични биологично активни средства за прецизна медицина (БиоАктивМед), ДО1-217/30.11.2018, работата ми включва подготовка на проби за изследване на

антиоксидантна и антигъбична активност от градински охлюв *Helix aspersa*, морски охлюв *Rapana venosa*, хемоцианин на *Helix aspersa* и дисоциирани хемоцианини от артроподни организми: *Carcinus aestuari* и *Limulus polyphemus*. В допълнение на работата ми по този проект съм извличала биологично активни вещества от живовляк *Plantago major* чрез процес на мацерация. За по нататъшни изследвания и тестове, пробите са подложени на изпаряване и лиофилизация.

За нуждите на Центъра за компетентност: „Чисти технологии за устойчива околна среда – води, отпадъци, енергия за кръгова икономика” (Clean&Circle)” изучавам маспектрометрична апаратура ESI- QTOF, свързана с апаратура UHPLC за ултра високаефективна течна хроматография.

С участието ми в национални и международни научни конференции през 2019 и 2020 придобих опит в изнасянето на устни доклади, обобщаването и представянето на научни резултати.

Участието ми в програмния комитет на научната конференция „ECOLOGICAL PRODUCTS FOR HEALTH”, организирана съвместно от ННП „Биоактивмед” и Център за компетентност „Чисти технологии за устойчива околна среда – води, отпадъци, енергия за кръгова икономика” (Clean&Circle) ми даде възможност да подобра организационните и техническите си умения.

От 2020 съм член на Българско Пептидно Дружество.

03.02.2021

гр. София

Изследовател:

/ас. Ася Даскалова/