

## РЕЦЕНЗИЯ

**от:** Гинка Генова – професор по генетика в Катедра Генетика, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“ (понастоящем – пенсионер), член на Научно жури, съгласно заповед № 862/17.11.2023 на Директора на Института по Молекулярна Биология "Румен Цанев" – БАН

**Относно:** Конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“, по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност Молекулярна биология, обявен в Държавен вестник, брой 92/03.11.2023 за нуждите на секция „Структура и функция на хроматина“

### 1. Представени материали по конкурса

За участие в обявения конкурс е подал документи само един кандидат – гл. ас. д-р Мария Христова Петрова, член на секция „Структура и функция на хроматина“ в същия институт на БАН. Тя е представила всички необходими документи, съгласно ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение, както и Правилника на ИМБ на БАН, които са много старателно оформени и прегледни.

### 2. Кратки данни за кариерното и академично развитие

Д-р Мария Петрова има добро средно образование в областта на точните науки – тя е завършила Природо-математическата гимназия „Нанчо Попович“ в гр. Шумен, с основно изучаване на физика, математика, информатиката и английски език. През 2003 год. тя е приета за студентка в бакалавърската програма „Биология“ на Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ и след нейното завършване постъпва като магистър в програмата „Генетика“ на специалността „Молекулярна биология“ на същия факултет. М. Петрова разработва дипломна работа в областта на неврогенетиката върху моделен обект *Drosophila*, която по-късно прераства в тема на нейния дисертационен труд като редовен докторант в катедрата по Генетика на Биологическия факултет (2010-2013), защитена през 2014 год. Тя започва трудовия си стаж като биолог в катедрата по Генетика на СУ и след защитата на нейната докторска дисертация тя е хонорувана като асистент за извеждане на упражнения по генетика за бакалаври от БФ, упражнения по фармакогенетика за студенти от специалността Фармация на факултета по Химия и фармация, които се извеждат в БФ, както и за специализирани упражнения по неврогенетика и генетичен анализ в магистърската програма „Генетика и геномика“ на БФ. През 2016 год. д-р Петрова е назначена като асистент, а по-късно – като гл. асистент в Института по Молекулярна биология на БАН, в секцията „Структура и функция на хроматина“, където работи и понастоящем. Съгласно служебната бележка от ИМБ на БАН, общият ѝ трудов стаж по специалността е 11 години, 5 месеца и един ден, което я прави легитимна за участие в обявения конкурс.

### 3. Научни трудове

#### 3.1. Обща характеристика на научните трудове

Д-р М. Петрова е автор на 23 научни труда. В конкурса за академична длъжност „доцент“ тя е избрала да участва със 17 от тях, които са представени в нейния списък с научни публикации. В него са дадени и 3 други публикации във връзка със защитата на нейната докторска дисертация. Съгласно приложената в списъка справка, всички трудове за участие в конкурса са публикувани като статии в периодични списания с импакт фактор – **общ ИФ=42, 81** и **общ SJR=9,7**, и са в профила на конкурса. 5 от статиите в списания с импакт фактор (номера: 4, 13, 15, 16 и 17, съгласно номерацията на приложения списък) са обединени като „статии, еквивалентни на хабилитационен труд“, което е в съответствие с минималните национални изисквания за показатели от група В за заемане на академична длъжност „доцент“, съгласно Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ в ИМБ на БАН. Представените за участие в конкурса трудове са публикувани в периода 2018-2023 год. 16 от тях съдържат оригинални научни резултати, а една представлява обзор. В 6 от публикациите д-р Петрова е водещ първи автор или е в съвместно първо авторство, в други 5 тя е втори автор. Съгласно представената от кандидатката в конкурса подробна справка, **8** от нейните трудове са цитирани **общо 84 пъти** – само в научни издания, реферирани и индексирани във WOS/Scopus. Освен това е приложен списък на участия с доклади и постери в **69 научни форуми**, половината от които – международни.

#### 3.2. Изследователски направления и научни постижения

Както е видно от разширената хабилитационна справка на д-р Петрова, представените за реценциране научни трудове са систематизирани в три основни направления, които аз приемам:

**А) Първо направление:** Преобладаващата част от нейните публикации, включително и тези от „хабилитационния труд“, са свързани с **разработване на нови противотуморни съединения, синтезирани по химичен път или изолирани от живи организми, и изучаване на техните потенциални химиотерапевтични свойства** (публикации: 4, 6, 7, 13, 15-17). Понастоящем един от най-често използваните подходи в лечението на рака е химиотерапията, при която в организма се въвеждат вещества – химиотерапевтици, убиващи раковите клетки. Но нейното прилагане често е неефективно заради страничните токсични ефекти на тези вещества, както и заради несъвършенствата в действието им върху биохимичните пътища на раковите клетки и развитието на резистентност. Именно това прави задачата за създаване и идентифициране на нови противотуморни вещества силно актуална и важна за клиничната практика. Три групи вещества са във фокуса на научните изследвания на д-р Петрова в това научно направление: В **първата група** са включени наскоро синтезирани металоорганични съединения (4, 13 и 16). Те са създадени в колаборация с учени от Института по полимери и Института по органична химия с Център по фитохомия на БАН и са резултат от усилията на колектива за получаване на нов тип химиотерапевтични агенти, съчетаващи известните в противораковата терапия свойства на неорганичните метални съединения (дис-платина и нейни аналози) с потенциални предимства на включен в молекулата органичен комплекс, свързващ металния атом. DK164 и CC78 са камфор сулфонамиди,

съдържащи фероцен. В молекулите на тези съединения са комбинирани няколко функционални групи, с което се цели едновременно модулиране на различни регулаторни пътища в раковите клетки и повишаване на тяхната терапевтична ефективност в сравнение с монотерапевтичните агенти (4, 13). СС78 представлява аналог на DK164, структурно оптимизиран чрез заместване на функционални групи, с по-добра разтворимост и бионаличност във физиологични среди (13). Третото съединение от тази група – DK164-NP, представлява нова, биоразградима мицеларна форма на DK164 (16). За получаването ѝ са синтезирани полимерни наносители, в които се капсулира веществото DK164, така че с тази платформа то може да бъде доставяно до клетките (16).

Проведен е обстоен анализ на биологичната активност на синтезираните металоорганични съединения като потенциални антитуморни агенти (4, 13 и 16). Ключов механизъм на всяка химиотерапия е ефектът ѝ върху способността на раковите клетки за неконтролирано делене и растеж. Проведени са многобройни експерименти с тези съединения и е установено, че и трите притежават изразен цитотоксичен потенциал и са способни да убиват ракови клетки от различни типове тумори *in vitro*. DK164 демонстрира забележителна избирателност в цитотоксичното си действие спрямо ракови клетки от тумор на бял дроб (13). Цитотоксичността на СС78 се оказва дори по-висока от тази на класическите химиотерапевтици цис-платина и тамоксифен, но съединението няма добра разтворимост при физиологично рН, както и подходяща избирателност спрямо раковите клетки (13). Мицеларната форма на DK164 показва редица предимства в сравнение със свободното вещество и удовлетворява изискването за оптимална разтворимост, бионаличност в клетките и избирателно действие спрямо раковите клетки (16). Тези свойства правят DK164-NP многообещаващ кандидат за бъдеща оценка на противотуморното му действие и в експерименти *in vivo*, от което се вижда важното научно и приложно значение на тези разработки.

В работите на д-р Петрова се оценява също и друг аспект на антитуморния потенциал на синтезираните съединения – способността им да индуцират клетъчна смърт. Чрез прилагане на методите поточна цитометрия и имуноцитохимия е установено, че и трите вещества предизвикват клетъчна смърт от различен тип: програмирана – апоптоза, и случайна клетъчна смърт – некроза. При това за чистото вещество DK164 и за мицеларната му форма DK164-NP е установено, че индуцират главно проапоптозна активност в клетки от рак на белия дроб, в които присъства функционален туморсупресорен белтък p53. В клетки от същия тип рак, но с липсваща експресия на p53, те индуцират и некроза (13, 16). В противоположност на това, доминантният механизъм, чрез който СС78 индуцира клетъчна смърт, е некроза (13).

Ключови регулатори на сигналните пътища за програмирана клетъчна смърт са двата транскрипционни фактора: p53 и Nuclear Factor kappa B (NF- $\kappa$ B) и тяхната дерегулация има съществено значение в редица патологии, в това число и рак. В публикации 4, 13 и 16 е изследван ефектът на фероцен съдържащите камфор сулфонамиди върху клетъчната локализация на p53 в ракови клетки *in vitro* и е установено е, че всички те предизвикват неговата транслокация от цитоплазмата в ядрото, т.е. водят до активирането му в ракови линии с нормален, див тип ген за този белтък. Тъй като p53 е туморен супресор, чийто основен механизъм за елиминиране на раковите клетки е индукцията на апоптоза, неговото активиране е желан ефект на химиотерапевтичните агенти.

По отношение на другия транскрипционен фактор – NF- $\kappa$ B, свързан с апоптозата, в тези работи е показано, че той също се транслоцира от цитоплазмата в ядрото, но само при третиране с чистото вещество DK164 или с неговата мицеларна форма (DK164-NP) (4, 13 и 16). CC78 не провокира транслокация в ядрото на клетките от рак на белия дроб и в контролните клетки и очевидно не стимулира неговото активиране в тези клетки (13). Оказва се обаче, че дори транслокацията на NF- $\kappa$ B в ядрото на раковите клетки, провокирана от DK164, не води до индукция на проапоптозна активност и не е от ключово значение за антитуморния ефект на съединението. В полза на това свидетелстват проведените от авторите допълнителни експерименти за посттранскрипционното заглушаване на гена за Nuclear Factor  $\kappa$ B чрез интерферираща РНК (siRNA) в ракови клетки. Постигнатото по този начин намаляване на количеството на експресирания белтък не променя нивото на апоптоза под действие на DK164 като пряк отговор на антитуморната терапия (4).

Известно е, че обикновено антираковата терапия индуцира автофагия като цитопротективен отговор на цитотокичното действие на лекарството. Но тази терапия може също да стимулира автофаговите пътища, водещи до т.нар. автофагова смърт. Изхождайки от тази неуточнена роля на автофагията в туморогенезата, респективно – в терапията на рака, д-р Петрова изследва потенциала на трите фероцен съдържащи камфор сулфонамиди да индуцират автофагия в ракови клетки. Чрез имуноцитохимичен метод тя показва, че тези съединения индуцират в ракови линии увеличаване на количеството на клетките с грануларно разпределение на микротубулния белтък LC3-II, маркиращ автофагозомата, която се образува при автофагия (4, 13 и 16). За две от съединенията – DK164 и CC78, е изучена също и промяната в нивото на окислителния стрес в третираните с тях ракови клетки като още една потенциална мишена за антитуморна терапия (13).

В заключение трябва да се отбележи, че във всички тези трудове, които са интердисциплинарни разработки, е приложен обширен арсенал от химични, физикохимични, фармакокинетични и молекулно биологични методи, последните от които са и в контекста на обявения конкурс по специалността „Молекулярна биология“. Показано е, че наскоро синтезираните, нови фероцен съдържащи камфор сулфонамиди, притежават изявен антитуморен ефект и с това е открита перспектива за дизайн на нови противоракови лекарства.

**Втората група** съединения, обект на научните изследвания на д-р Петрова (6, 7, 15 и 17), са изолирани от природни източници – безгръбначни животни, гъби и растения, за които е установена или се предполага антиоксидантна, антитуморна или имуномодулираща активност. В публикация 15 за пръв се съобщава за потенциална антитуморна активност на биологично активни съединения при *безгръбначни животни*, в частност – на такива, които се изолират от хемолимфата на морския охлюв *Rapana venosa* като фракция с молекулно тегло между 50 и 100 kDA (HRv 50-100). В хемолимфата на друг вид мекотели – градинския охлюв *Helix aspersa* също са установени биологично активни субстанции с антитуморна активност (17). И в двата случая е показано, че тези съединения притежават цитотоксичност, която се доближава до тази на цис-платината и тамоксифена. Тя не само намалява жизнеспособността на раковите клетки, но също така променя тяхната морфология, индуцира автофагия и активиране на p53. При комбиниране на цис-платина и тамоксифен с HRV50-100 се наблюдава изразен

бустерен ефект, при което антитуморната активност се повишава трикратно в сравнение със самостоятелния ефект на класическите химиотерапевтици (15). Важен принос на тези разработки на д-р Петрова е, че те откриват нови възможности за съвместно прилагане на нетоксични, биологично активни съединения със стандартните химиотерапевтици за постигане на по-добър ефект при по-ниски дози и следователно – по-ниска токсичност на терапията за пациента.

В научните трудове от тази група са използвани и някои видове диворастящи дървесни *гъби* като източник на природни, биологично активни вещества с потенциално противотуморно действие (6). В тях са тествани различни методи за получаване на груби етанолни и водни екстракти от плодните тела на гъбите и е проведено първоначално изпитване на тяхната цитотоксична ефективност. Това е първото по рода си изследване върху български видове гъби, в което се установява цитотоксичност на техните екстракти и се очертава потенциал за бъдещото им използване в първична или в спомагателна химиотерапия.

Предмет на изследване в това направление са и *растителни субстанции* със специален фокус върху известния фитоканабиноид – канабидиол, който се добива от *Cannabis sativa* (7). За разлика от най-широко известния канабиноид, който също се получава от това растение – тетраhydroканабинол, канабидиолът не се свързва с ендоканабиноидните рецептори и не е психоактивен. Получени са първоначални данни, свидетелстващи за неговото цитостатично действие върху ракови клетъчни линии, което е резултат от индуцирана в тях апоптоза.

**Б) Второто направление** в трудовете на д-р Петрова е посветено на: *изясняване на взаимодействието на белтъка HMGB1 (High Mobility Group Box1) – лиганд, и на неговия рецептор RAGE (Receptor for Advanced Glycation of End Products) в клетъчен модел на рак с оглед използването на последния като биомаркер в антитуморната терапия* (1, 5, 10-12). Изследванията в това направление са инспирирани от нарастващия брой съобщения за ключово взаимодействие на двата белтъка в сигнализацията на пътища, свързани с развитието на редица патологии, включително и рак. Отдавна се знае, че HMGB1 е централен нехистонов белтък на хроматина, който може да се свързва с различни ДНК-структури в ядрото и да функционира като молекулен шаперон, поддържайки ядрената хомеостаза и геномната стабилност. От друга страна, той може да се транслоцира в цитозола, където се явява регулатор на автофагията, както и да се освобождава в междуклетъчното пространство, където действа като цитокин, индуцирайки възпаление, туморогенеза и метастазирание на туморните клетки. Негов специфичен рецептор е RAGE и се счита, че при взаимодействието на HMGB1 и RAGE се активира NF- $\kappa$ B като провъзпалителен транскрипционен фактор, който пък от своя страна индуцира експресия на RAGE и увеличава количеството на този рецептор. В няколко свои работи д-р Петрова със съавтори изследват взаимоотношението и влиянието на HMGB1 и на скъсената му форма – HMGB1 $\Delta$ C, в която е делетиран C-краят на молекулата, върху експресията на неговия рецептор RAGE в ракови линии с различен инвазивен потенциал (10, 12). Те изхождат факта, че RAGE съществува в две изоформи: като мембранносвързан белтък – пълна форма (fRAGE) с извънклетъчен домейн за разпознаване и свързване с лигандите, с трансмембранен домейн и цитозолна опашка, участваща в клетъчната сигнализация надолу от рецептора, и като свободна, разтворима форма (sRAGE), в която липсват трансмембранныят домейн и цитозолната опашка.

Съществува предположение, че свободната форма служи като капан за молекулите на лиганда HMGB1 и този капан инхибира активирането на сигналния път надолу от рецептора RAGE. В своите разработки авторите най-напред изследват нивото на експресия на отделните форми на RAGE (11). Техният уестърн блот анализ показва, че в клетките на линиите с по-голям инвазивен потенциал, независимо от вида на рака, се наблюдава преобладаваща експресия на мембранната форма на RAGE, а разтворимата е слабо представена, докато в линиите с по-добра прогноза за заболяването, обратно – мембранната форма е слабо представена или дори напълно липсва. От тези първоначални данни следва, че съотношението между двете форми на рецептора RAGE може да се използва като критерий/биомаркер за статуса на заболяването, предложено преди това от други автори.

При добавяне на лиганда HMGB1 в пълната или в скъсената му форма към клетки от рак на белия дроб (12), където в норма RAGE се експресира интензивно и участва в клетъчната адхезия, в раковата линия с добра прогноза на заболяването се наблюдава повишаване на общото количество на рецептора RAGE и поява на мембранната му форма, липсваща в контролата. В противоположност на това, в клетките от агресивен рак на белия дроб нивото на експресия на тоталния рецептор остава непроменено, както и балансът в тях на изоформите на RAGE, при въздействие и с двете форми на HMGB1. Тъй като при рака на белия дроб *in vivo* благоприятните прогнози се свързват с по-високи количества на RAGE, горепосочените резултати на д-р Петрова и съавтори са в подкрепа на това твърдение. При по-агресивния тумор от бял дроб обаче нито един от двата лиганда не променя инвазивния капацитет на клетките – не променя експресията на RAGE. Важно е да се отбележи също, че скъсената форма на лиганда HMGB1, в която липсва С-краят на молекулата с предпологаем домейн за белтъчните му взаимодействия, има по-силно изразен стимулиращ ефект в натрупването на RAGE и в промяната на баланса на неговите изоформи, с което се хвърля допълнителна светлина върху възможния механизъм на свързване между лиганда HMGB1 и рецептора RAGE (12). Подчертан ефект има скъсената форма на HMGB1 и в клетъчни линии от рак на млечната жлеза с неблагоприятна прогноза на заболяването (хормонално независим рак), където тя стимулира експресия практически само на мембранната форма на рецептора RAGE (10). Оказва се обаче, че тази скъсена форма на HMGB1, за разлика от пълната, не може да индуцира в ракови линии (с различна инвазивност) транслокация от цитоплазмата към ядрото на транскрипционния фактор NF- $\kappa$ B като предпологаема мишена надолу по сигналната каскада, активирана от RAGE (5).

**Въпрос:** Какви експерименти бихте планирали по-нататък, за да определите потенциалните рецепторни молекули (мембранен рецептор), чрез които HMGB1 активира NF- $\kappa$ B в клетъчни линии от рак на белия дроб (публикация 5)? Моля, аргументирайте Вашия отговор.

Специално трябва да се отбележи един методичен принос на д-р Петрова, който е виден в нейната (и на съавтори) работа №15 от списъка на статиите за хабилитиране. В тази работа тя е създавала две клетъчни линии от рак на белия дроб, експресиращи стабилно слят протеин GFP-HMGB1, чрез който удобно може да се визуализира по зелената флуоресценция на GFP всяка промяна в клетъчната локализация на HMGB1 в живите клетки.

**В) Третото направление,** представено с публикации 2, 8, 9 и 14, е посветено на *създаване и изследване на характеристиките на полиплексни системи с цел използването им за пренос на нуклеинови киселини в клетките.*

Разработките по това направление са проведени в колаборация между учени от различни области – химици, фармаколози и молекулярни и клетъчни биолози, от институти на БАН, на Полската Академия на Науките, от Софийския университет и Университета в Бургас. Полиплексите са наночастици, получени чрез свързване на катийонни полимери с ДНК, които могат да пренасят екзогенен генетичен материал чрез процес на трансфекция. Те преодоляват недостатъците на вирусните вектори като първи агенти за доставка на гени в генната терапия. В работите на д-р Петрова и съавторите ѝ са синтезирани: гребеноподобни съполимери на полиетиленимин и поли (2-етил-2-оксазолин) (2); блокови съполимери на основата на метакрилат, но с различни функционални групи – третични аминокгрупи или четвъртични амониеви групи (8); блокови съполимери с линеен полиглицидол като нейонен хидрофилен блок и странични амин хидрохлоридни групи (9). Всички тези съполимери образуват малки частици, които могат да се използват като платформа за свързване и компактизиране на ДНК. Те демонстрират ниска токсичност спрямо панел от различни човешки клетъчни линии. За да определят начина на интернализация на полиплексите при трансфекция, авторите използват плазмидна ДНК, експресираща зелен флуоресциращ протеин GFP, за микроскопска визуализация на трансфектираните клетки и лизозомно оцветяване с акридиноранж. Тези експерименти показват, че интернализацията, както и ефективността на трансфекцията зависят от топологията на съполимерната верига, формата на полиплексните частици и пътищата на тяхното интернализирание – чрез клетъчната мембрана и чрез ендозомния път.

Специално внимание заслужава публикация 14, тъй като тя представя нов подход за създаване на специален клас платформи за пренос на нуклеинови киселини, белтъци или лекарствени вещества – кухи/везикуларни сферични нуклеинови киселини. Тяхната триизмерна сферична структура е изградена от липозомна (везикуларна) сърцевина, покрита с тънък, ковалентно свързан полимерен слой, към който са присадени къси, радиално ориентирани олигонуклеотидни вериги ДНК. Изследвани са физикохимичните свойства на тези структури и е показано, че те притежават качества на типични сферични нуклеинови киселини – висок афинитет на свързване с хомоложни последователности, в сравнение с линейните им аналози, ниска цитотоксичност и ефективно приемане от клетките. Те преминават през клетъчната мембрана и навлизат в клетката без необходимост от трансфекционен агент.

В трудовете, с които д-р Петрова участва в конкурса за академичната длъжност „доцент“, е представена и една обзорна статия (1), посветена на ролята на белтъка нуклеолин в различни аспекти на онкогенезата, която, поради своя характер е извън обекта на рецензиране.

#### **4. Педагогическа дейност**

Д-р Петрова започва трудовата си кариера в Софийския университет, в катедрата по Генетика на Биологическия факултет. Тя е била хонорувана асистент през 2015 год. и е водила упражнения по генетика за бакалаври от БФ: 60 ч. – за специалност “Биомениджмънт и устойчиво развитие”, 120 ч. – за “Биология”, 120 ч. – за “Екология и

опазване на околната среда”; 210 ч. упражнения по фармакогенетика – за студенти-магистри от специалността Фармация на Факултета по Химия и фармация, които се провеждат от преподаватели на БФ, както и специализирани упражнения по неврогенетика – 30 ч., и генетичен анализ – 30 ч., в магистърската програма „Генетика и геномика“ на катедрата по Генетика на БФ. Така общата ѝ преподавателска дейност до сега възлиза на 570 учебни часа.

### **5. Научни проекти, организационна и експертна дейност**

Д-р Петрова е представила справка за участието си в 3 национални научни проекта и в 2 - на Европейския съюз, които имат отношение към изработването на нейната докторска дисертация (за периода 2009-2013 год.). Освен това тя активно се включва в разработването на научни проекти и след постъпването си на работа в Института по Молекулярна биология, в секцията „Структура и функция на хроматина“. Съгласно нейната справка, д-р Петрова е участник в 4 национални научни проекта, посветени на нейните разработки за периода 2016-2023 год., с които се представя и в настоящия конкурс.

Като млад учен експертната ѝ дейност се отнася до рецензиране на 2 магистърски дипломни работи на студенти от Биологическия факултет, която, надявам се, в бъдеще да бъде разширена и в други сфери. Това е и моята препоръка към д-р Петрова.

### **6. Обобщена оценка и съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и на ИМБ – БАН**

Публикациите на д-р Петрова съдържат оригинални данни с научен и приложен характер, те са важни от гледна точка на биомедицината и човешкото здраве. В работите ѝ са приложени многобройни съвременни молекулно- и клетъчнобиологични методи. Чрез тях е показан антитуморен потенциал на наскоро синтезирани фероцен-съдържащи камфор сулфонамиди. Представени са оригинални подходи и са създадени наночастици за пренос на нуклеинови киселини. Изучен е техният биологичен капацитет. Конструирана е система за стабилна експресия на слят GFP-HGMB1-протеин в живи ракови клетки.

Водещата позиция на д-р Петрова в голяма част от нейните изследвания, както и публикуването им в авторитетни списания с импакт фактор свидетелстват за това, че тя има главно място и личен принос в научните разработки и осъществяването на научните идеи. Резултатите от нейните трудове имат добър отзвук сред научната общност, за което свидетелства тяхната цитируемост и дискусии в многобройни научни форуми. Наукометричните показатели на нейната работа напълно отговарят на минималните национални изисквания и надхвърлят тези на ИМБ на БАН за заемане на академичната длъжност „доцент“. Групата показатели, съгласно Таблица 1 от Правилника за прилагане на ЗРАСБГ (изм. и доп. ДВ, брой 15 от 19. 02. 2019 год.), са, както следва: А1 (дисертация) – 50 т. (изисквани 50 т.), В4 (хабилитационен труд) – 105 т. (изисквани 100 т.), Г7 (публикации) – 232 т. (изисквани 220 т.), Д11 (цитирания) – 168 т. (изисквани 60 т.), Е14 (участие в национален научен или образователен проект) – 80 т. (изисквани 0 т.), Е15 (участие в международен научен или образователен проект) – 20 т. (изисквани 0 т.). Така, при изискван минимум от общо 430 т. д-р Петрова се представя в конкурса за заемане на академична длъжност „доцент“ с общо 655 т. По показател В4 (научни публикации, равняващи се на хабилитационен труд) тя участва с 5 от своите статии,



които се отнасят към първото направление от нейните научни изследвания. 3 от тях са с квантил Q1 и 2 – с квантил Q3.

### **Заклучение:**

В заключение, към всичко гореизложено бих искала да кажа, че д-р Мария Петрова е млад изследовател, който работи самостоятелно и целенасочено в актуална и перспективна област на изследване, с много добра и постоянна в годините публикационна активност, с резултати, публикувани в авторитетни международни списания и цитирани многократно от учени от други страни. Познавам д-р Петрова още от нейните студентски и докторантски години, от които тя остави в мен като неин научен ръководител отлични впечатления за способен, мислещ и отговорен млад изследовател и с удовлетворение виждам нейното развитие и израстване в избраната от нея област – молекулярна биология. Въз основа на всичко това, както и въз основа на приносите на нейните публикации и особено на тяхното потенциално приложение в медицинската практика, си позволявам най-убедено да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури да подкрепят избора на гл. ас. д-р Мария Христова Петрова за заемане на академичната длъжност „доцент“, по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност Молекулярна биология, за нуждите на секция „Структура и функция на хроматина“ в ИМБ на БАН.

07.03. 2024 год.

Рецензент: проф. Гинка Генова

## REVIEW

**by:** Ginka Genova – Professor of Genetics at the Department of Genetics, Faculty of Biology, Sofia University "St. Kliment Ohridski" (currently - retired), member of the Scientific Jury, according to order No. 862/17.11.2023 of the Director of the Institute of Molecular Biology "Rumen Tsanev" at BAS

**Regarding:** Competition for the occupation of an academic position "Associate Professor", in the field of higher education 4. Natural sciences, Mathematics and Informatics, professional direction 4.3. Biological Sciences, Molecular Biology specialty, announced in the State Gazette, issue 92/03.11.2023 for the needs of the "Structure and Function of Chromatin" section

### 1. Submitted materials for the competition

Only one candidate has submitted documents for participation in the announced competition – Dr. Maria Hristova Petrova, member of the section "Structure and Function of Chromatin" at the same Institute of BAS. She has submitted all the necessary documents according to the Law for the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria (LDASRB), the Regulations for its Implementation and the Regulations of the Institute for Molecular Biology at BAS, which are very thoroughly prepared and clear.

### 2. Brief data on career and academic development

Dr. Maria Petrova, Chief Assistant Professor, has a good secondary education in the field of exact sciences - she graduated from the "Nancho Popovich" High school for Natural sciences and Mathematics in the city of Shumen, with basic studies in Physics, Mathematics, Informatics and English. In 2003, she was accepted as a student in the Bachelor's program "Biology" at the Faculty of Biology of the SU "St. Kl. Ohridski" and after its completion she enrolled as a master's student in the Genetics program of the Molecular Biology specialty of the same faculty. M. Petrova developed a thesis in the field of Neurogenetics on the model object *Drosophila*, which later grew into the topic of her dissertation work as a full-time doctoral student in the Department of Genetics of the Faculty of Biology (2010-2013), which she defended in 2014. She started her work experience as a biologist in the Department of Genetics of Sofia University and after the defense of her PhD thesis, she was hired as an Assistant Professor to teach undergraduate Genetics classes at the Faculty of Biology, Pharmacogenetics exercises for undergraduates of the Pharmacy Department of the Faculty of Chemistry and Pharmacy, which are taught at the Faculty of Biology, as well as for specialized exercises in Neurogenetics and Genetic analysis in the Master's Program in Genetics and Genomics at the Faculty of Biology. In 2016, Dr. Petrova was appointed as an Assistant Professor and later as a Chief Assistant Professor at the Institute of Molecular Biology of the Bulgarian Academy of Sciences, in the section "Structure and Function of Chromatin", where she currently works. According to the official note from the IMB of BAS, her total work experience in the specialty is 11 years, 5 months and one day, which makes her legitimate to participate in the announced competition.

### 3. Scientific works

#### 3.1. General characteristics of scientific works

Dr. M. Petrova is the author of 23 scientific papers. In the competition for the academic position of "Associate Professor", she has chosen to participate with 17 of them, which are presented in her list of scientific publications. It also contains 3 other publications related to the defense of her doctoral dissertation. According to the reference in the list, all works for participation in the competition have been published as articles in periodical journals with an impact factor - **total IF=42.81** and **total SJR=9.7**, and are in the profile of the competition. 5 of the articles in journals with an impact factor (numbers: 4, 13, 15, 16 and 17, according to the numbering of the attached list) are combined as "articles equivalent to a habilitation thesis", which is in line with the minimum national requirements for indicators of group B to hold the academic position "Associate Professor", according to the Rules for the Implementation of the ZRASRB and the Rules for the Implementation of the ZRASRB in IMB at BAS. The works submitted for participation in the competition were published in the period 2018-2023. 16 of them contain original scientific results, and one is a review article. In 6 of the publications Dr. Petrova is the lead first author or co-first author, in 5 others she is the second author. According to the detailed reference submitted by the candidate in the competition, **8** of her works have been **cited a total of 84 times** - only in scientific publications, referenced and indexed in WOS/Scopus. In addition, a list of participations with reports and posters in **69 scientific forums**, half of which are international, is attached.

#### 3.2. Research fields and scientific achievements

As can be seen from the extended habilitation certificate of Dr. Petrova, the scientific works submitted for review are systematized in three main fields, which I accept:

**A) First Field of study:** The predominant part of her publications, including those from the "habilitation work", are related to the *development of new anticancer compounds synthesized chemically or isolated from living organisms and the study of their potential chemotherapeutic properties* (publications: 4, 6, 7, 13, 15-17). Currently, one of the most frequently used approaches in the treatment of cancer is chemotherapy, in which substances are introduced into the body - chemotherapeutics that kill cancer cells. But its application is often ineffective because of the toxic side effects of these substances, as well as because of imperfections in their action on the biochemical pathways of cancer cells and the development of resistance. This is what makes the task of creating and identifying new antitumor substances highly relevant and important for clinical practice. Three groups of substances are the focus of the scientific research of Dr. Petrova in this scientific field: The **first group** includes recently synthesized organometallic compounds (4, 13 and 16). They were created in collaboration with scientists from the Institute of Polymers and the Institute of Organic Chemistry with the Phytochemistry Center of BAS and are the result of the team's efforts to obtain a new type of chemotherapeutic agents, combining the properties of inorganic metal compounds known in anticancer therapy (cis-platinum and its analogues), with potential advantages of an organic complex included in the molecule, binding the metal atom. DK164 and CC78 are camphor sulfonamides containing ferrocene. Several functional groups are combined in the molecules of these compounds, with the aim to simultaneously modulate various regulatory pathways in cancer cells and increase their therapeutic effectiveness compared to monotherapeutic agents (4, 13). CC78 is an analogue of DK164, structurally optimized by substitution of functional groups,

with better solubility and bioavailability in physiological environments (13). The third compound from this group, DK164-NP, is a new, biodegradable micellar form of DK164 (16). To obtain it, polymeric nanocarriers have been synthesized in which the substance DK164 is encapsulated, so that via this platform it can be delivered to the cells (16).

A comprehensive analysis of the biological activity of synthesized organometallic compounds as potential antitumor agents has been carried out (4, 13, and 16). A key mechanism of any chemotherapy is its effect on the ability of cancer cells for uncontrolled division and growth. Numerous experiments have been carried out with these compounds and all three have been found to possess a prominent cytotoxic potential and are capable of killing cancer cells of various tumor types *in vitro*. DK164 demonstrated remarkable selectivity in its cytotoxic action against lung tumor cancer cells (13). The cytotoxicity of CC78 was found to be even higher than that of the classical chemotherapeutics cis-platinum and tamoxifen, but the compound lacked good solubility at physiological pH as well as appropriate selectivity towards cancer cells (13). The micellar form of DK164 shows a number of advantages compared to the free substance and satisfies the requirement for optimal solubility, cellular bioavailability and selectivity towards cancer cells (16). These properties make DK164-NP a promising candidate for future evaluation of its antitumor activity in *in vivo* experiments as well, which shows the important scientific and applied importance of these developments.

In the works of Dr. Petrova another aspect of the antitumor potential of the synthesized compounds has also been evaluated – their ability to induce cell death. By applying the methods of flow cytometry and immunocytochemistry, it was established that all three substances cause cell death of a different type: programmed – apoptosis, and random cell death – necrosis. Moreover, pure DK164 and its micellar form DK164-NP were found to induce mainly pro-apoptotic activity in lung cancer cells in which functional p53 tumor suppressor protein was present. In cells of the same cancer type but lacking p53 expression, they induce necrosis as well (13, 16). In contrast, the dominant mechanism by which CC78 induces cell death is necrosis (13).

Key regulators of the signaling pathways for programmed cell death are the two transcription factors: p53 and Nuclear Factor kappa B (NF- $\kappa$ B), and their deregulation is essential in a number of pathologies, including cancer. Publications 4, 13 and 16 investigated the effect of ferrocene-containing camphor sulfonamides on the cellular localization of p53 in cancer cells *in vitro* and it was found that all of them induced its translocation from the cytoplasm to the nucleus, i.e. they lead to its activation in cancer lines with a normal, wild-type gene for this protein. Since p53 is a tumor suppressor whose primary mechanism for eliminating cancer cells is the induction of apoptosis, its activation is a desired effect of chemotherapeutic agents.

Regarding the other apoptosis-related transcription factor NF- $\kappa$ B, in these works it was shown that it was also translocated from the cytoplasm to the nucleus, but only upon treatment with pure DK164 or its micellar form (DK164-NP) (4, 13 and 16). CC78 did not translocate into the nucleus of lung cancer cells and control cells and apparently did not stimulate its activation in these cells (13). However, it appears that even the translocation of NF- $\kappa$ B into the nucleus of cancer cells, stimulated by DK164 did not lead to the induction of pro-apoptotic activity and was not from key importance to the antitumor effect of the compound. Additional experiments carried out by the authors on the post-transcriptional silencing of the Nuclear Factor kappa B gene by interfering RNA (siRNA) in cancer cells manifest evidence in favor of this. The

reduction in the amount of protein expressed achieved in this way did not change the level of apoptosis under the action of DK164 as a direct response to antitumor therapy (4).

Generally, anticancer therapy is known to induce autophagy as a cytoprotective response to the cytotoxic action of the drug. But this therapy can also stimulate autophagic pathways leading to the so-called autophagic death. Proceeding from this dual role of autophagy in tumorigenesis, respectively – in cancer therapy, Dr. Petrova investigated the potential of the three ferrocene-containing camphor sulfonamides to induce autophagy in cancer cells. Using an immunocytochemical method, she showed that these compounds induced in cancer lines an increase in the amount of cells with a granular distribution of the microtubule protein LC3-II, marking the autophagosome that is formed during autophagy (4, 13 and 16). For two of the compounds – DK164 and CC78, the change in the level of oxidative stress in cancer cells treated with them was also studied as another potential target for antitumor therapy (13).

In conclusion, it should be noted that in all these works, which are interdisciplinary developments, an extensive arsenal of chemical, physicochemical, pharmacokinetic and molecular biological methods was applied, the latter of which are also in the context of the announced competition in the "Molecular Biology" specialty. Recently synthesized new ferrocene-containing camphor sulfonamides have been shown to have a pronounced antitumor effect, thus opening up a prospect for the design of new anticancer drugs.

**The second group** of compounds, subject of the scientific research of Dr. Petrova (6, 7, 15 and 17), are isolated from natural sources - invertebrates, fungi and plants, for which antioxidant, antitumor or immunomodulating activity has been established or is suspected. Publication 15 was the first to report the potential antitumor activity of biologically active compounds in *invertebrates*, in particular those isolated from the hemolymph of the marine snail *Rapana venosa* as a fraction with a molecular weight between 50 and 100 kDA (HRv 50-100). Biologically active substances with antitumor activity have also been found in the hemolymph of another mollusk species – the garden snail *Helix aspersa* (17). In both cases, these compounds have been shown to possess cytotoxicity approaching that of cis-platinum and tamoxifen. It not only reduces the viability of cancer cells, but also changes their morphology, induces autophagy and p53 activation. When combining cis-platinum and tamoxifen with HRV50-100, a pronounced booster effect was observed, in which the antitumor activity increased threefold compared to the independent effect of classical chemotherapeutic agents (15). An important contribution of these developments of Dr. Petrova is that they open new possibilities for the combined application of non-toxic, biologically active compounds with standard chemotherapeutics to achieve a better effect at lower doses and, therefore, lower toxicity of the therapy for the patient.

In the scientific works of this group, some species of wood-growing *fungi* were also used as a source of natural, biologically active substances with potential antitumor effects (6). In them, different methods for obtaining crude ethanol and aqueous extracts of mushroom fruiting bodies were applied and an initial test of their cytotoxic effectiveness was carried out. This is the first study of its kind on Bulgarian fungal species, in which the cytotoxicity of their extracts is established and the potential for their future use in primary or adjuvant chemotherapy is outlined.

**Plant substances** with a special focus on the well-known phytocannabinoid – cannabidiol, which is obtained from *Cannabis sativa* (7) are also the subject of research in this field. Unlike the most widely known cannabinoid, which is also obtained from this plant -

tetrahydrocannabinol, cannabidiol does not bind to endocannabinoid receptors and is not psychoactive. Initial data have been obtained indicating its cytostatic action on cancer cell lines, which is the result of induced apoptosis in them.

**B) The second field of study** in the works of Dr. Petrova is dedicated to: *elucidating the interaction of the protein HMGB1 (High Mobility Group Box1) - ligand, and its receptor RAGE (Receptor for Advanced Glycation of End Products) in a cancer cell model with a view to use the latter as biomarker in antitumor therapy* (1, 5, 10-12). Research in this field of study has been inspired by the growing number of reports on the key interaction of the two proteins in the signaling pathways related to the development of a number of pathologies, including cancer. It has long been known that HMGB1 is a ubiquitous, non-histone chromatin protein that can bind to DNA structures in the nucleus and function as a molecular chaperone, maintaining nuclear homeostasis and genomic stability. On the other hand, it can be translocated into the cytosol, where it appears as a regulator of autophagy, and released into the intercellular space, where it acts as a cytokine, inducing inflammation, tumorigenesis, and tumor cell metastasis. Its specific receptor is RAGE, and it is believed that the interaction of HMGB1 and RAGE activates NF- $\kappa$ B as a pro-inflammatory transcription factor, which in turn induces RAGE expression and increases the amount of this receptor. In several of her works Dr. Petrova and co-authors studied the relationship and effect of HMGB1 and its shortened form – HMGB1 $\Delta$ C, in which the C-end of the molecule is deleted, on the expression of its receptor RAGE in cancer cell lines with different invasive potential (10, 12). They reasoned that RAGE exists in two isoforms: one of them is a membrane-bound protein – a full-length form (flRAGE) with an extracellular recognition and ligand-binding domain, a transmembrane domain, and a cytosolic tail involved in cellular signaling downstream of the receptor, and another one is a free, soluble form (sRAGE), which lacks the transmembrane domain and the cytosolic tail. It has been suggested that the free form serves as a decoy for HMGB1 ligand molecules and this decoy inhibits the activation of the downstream signaling pathway of the RAGE receptor. In their works, the authors first examined the level of expression of the different forms of RAGE (11). Their western blot analysis showed that in the cells of the lines with a greater invasive potential, regardless of the type of cancer, a predominant expression of the membrane form of RAGE was observed, and the soluble form was poorly represented, while in the lines with a better prognosis of the disease, on the contrary – the membrane form was poorly represented or even completely absent. From these initial data, it follows that the ratio between the two forms of the RAGE receptor can be used as a hallmark/biomarker for disease status, previously proposed by other authors.

When the ligand HMGB1 was added in its full or truncated form to lung cancer cells (12), where normally RAGE is highly expressed and involved in cell adhesion, the cancer line with a good prognosis of the disease showed an increase in the total amount of the RAGE receptor and appearance of its membrane form which was absent in the control. In contrast, in aggressive lung cancer cells, the expression level of the total receptor remained unchanged, as well as the balance of RAGE isoforms, when treated with both forms of HMGB1. Since in lung cancer *in vivo* favorable prognoses of the disease are associated with higher amounts of RAGE, the above results of Dr. Petrova and co-authors support this statement. In the more aggressive lung tumor, however, neither ligand altered the invasive capacity of the cells – they did not alter RAGE expression. It is also important to note that the truncated form of the HMGB1 ligand, which lacks the C-terminus of the molecule with the putative domain for its protein interactions,

has a more pronounced stimulatory effect in the accumulation of RAGE and in changing the balance of its isoforms, thereby shedding further light on the possible binding mechanism between the HMGB1 ligand and the RAGE receptor (12). The truncated form of HMGB1 also has a pronounced effect in mammary cancer cell lines with an unfavorable prognosis of the disease (hormone-independent cancer), where it stimulates expression of practically only the membrane form of the RAGE receptor (10). However, it turns out that this truncated form of HMGB1, in contrast to the complete one, cannot induce in cancer lines (of different invasiveness) the translocation from the cytoplasm to the nucleus of the transcription factor NF- $\kappa$ B as a putative target downstream of the signaling cascade activated by RAGE (5).

**Question:** What experiments would you plan next to determine the potential receptor molecules (membrane receptor) through which HMGB1 activates NF- $\kappa$ B in lung cancer cell lines (publication 5)? Please, justify your answer.

One methodical contribution of Dr. Petrova should be mentioned, which is seen in her (and co-authors') work No. 15 from the list of habilitation articles. In this work, she has created two lung cancer cell lines stably expressing a GFP-HMGB1 fusion protein, through which any change in the cellular localization of HMGB1 can be conveniently visualized by the green fluorescence of GFP in living cells.

**C) The third field of study**, represented by publications 2, 8, 9 and 14, is devoted to *the creation and study of the characteristics of polyplex systems with the aim of using them for the transfer of nucleic acids into cells*.

Developments in this field of study were carried out in collaboration between scientists from different fields - chemists, pharmacologists and molecular and cell biologists, from the institutes of BAS, the Polish Academy of Sciences, the University of Sofia and the University of Burgas. Polyplexes are nanoparticles obtained by binding cationic polymers to DNA that can transfer exogenous genetic material by a transfection process. They overcome the disadvantages of viral vectors as the first gene delivery agents in gene therapy. Dr. Petrova and her co-authors synthesized in their works: comb-like copolymers of polyethyleneimine and poly (2-ethyl-2-oxazoline) (2); block copolymers based on methacrylate, but with different functional groups – tertiary amino groups or quaternary ammonium groups (8); block copolymers with linear polyglycidol as a nonionic hydrophilic block and side amine hydrochloride groups (9). All these copolymers form small particles that can be used as a platform to bind and compact DNA. They demonstrated low toxicity against a panel of different human cell lines. To determine the mode of internalization of polyplexes upon transfection, the authors used plasmid DNA expressing green fluorescent protein (GFP) for microscopic visualization of transfected cells and lysosomal staining with acridine orange. These experiments showed that internalization as well as transfection efficiency depended on the topology of the copolymer chain, the shape of the polyplex particles and the ways of their internalization – through the cell membrane and through the endosomal pathway.

Publication 14 deserves special attention as it presents a new approach to create a special class of nucleic acid, protein or drug delivery platforms – hollow/vesicular spherical nucleic acids. Their three-dimensional spherical structure consists of a liposomal (vesicular) core covered with a thin, cross-linked polymeric shell, to which short, radially oriented DNA oligonucleotide chains are grafted. The physico-chemical properties of these structures were investigated and it was shown that they possess properties of typical spherical nucleic acids –

high binding affinity to homologous sequences, compared to their linear counterparts, low cytotoxicity and efficient uptake by cells. They cross the cell membrane and enter the cell without the need for a transfection agent.

In the works with which Dr. Petrova participated in the competition for the academic position of "Associate Professor", a review article (1) dedicated to the role of the protein nucleolin in various aspects of oncogenesis was also presented, which, due to its nature, is outside the scope of the review.

#### **4. Pedagogical activity**

Dr. Petrova began her working career at Sofia University, in the Department of Genetics of the Faculty of Biology. She was a part-time Assistant in 2015 and led exercises in Genetics for bachelors from BF: 60 hours – for "Bio management and Sustainable Development", 120 hours – for "Biology", 120 hours – for "Ecology and Environment Protection"; 210 hours of exercises in Pharmacogenetics – for master's students from the Pharmacy specialty of the Faculty of Chemistry and Pharmacy, which are led by teachers of the Faculty of Biology, as well as specialized exercises in Neurogenetics – 30 hours, and Genetic analysis – 30 hours, in the Master's program "Genetics and Genomics" of the Department of Genetics of the Faculty of Biology. Thus, her total teaching activity so far amounts to 570 teaching hours.

#### **5. Scientific projects, organizational and expert activity**

Dr. Petrova has submitted a report on her participation in 3 national scientific projects and in 2 - of the European Union, which are related to the preparation of her doctoral dissertation (for the period 2009-2013). In addition, she is actively involved in the development of scientific projects and after joining the Institute of Molecular Biology, in the "Structure and Function of Chromatin" section. According to her reference, Dr. Petrova is a participant in 4 national scientific projects dedicated to her developments for the period 2016-2023, with which she is also presenting herself in the current competition.

As a young scientist, her expert activity refers to reviewing 2 master's theses of students from the Faculty of Biology, which, I hope, will be expanded to other fields in the future. This is also my **recommendation** to Dr. Petrova.

#### **6. Summarized assessment and compliance with the requirements of ZRASRB and of IMB at BAS**

The publications of Dr. Petrova contain original data of a scientific and applied nature, they are important from the point of view of Biomedicine and human health. Numerous modern molecular and cell biological methods have been applied in her works. They showed the antitumor potential of recently synthesized ferrocene-containing camphor sulfonamides. Original approaches have been presented and nanoparticles have been created for the transfer of nucleic acids. Their biological capacity has been studied. A system was constructed for the stable expression of a GFP-HGMB1-fusion protein in living cancer cells.

The leading position of Dr. Petrova in a large part of her research and the publication of her works in respected journals with an impact factor, testify to the fact that she has a major place and personal contribution in the scientific developments and the implementation of the



scientific ideas. The results of her works have a good response among the scientific community, as evidenced by their citations and discussions in numerous scientific forums.

The scientific indicators of her work fully meet the minimum national requirements and exceed those of the IMB of BAS for holding the academic position of "Associate Professor". The group of indicators, according to Table 1 of the Regulations for the Implementation of the ZRASBG (amended and supplemented SG No. 15 of 19. 02. 2019), are as follows: A1 (dissertation) – 50 points (required 50 points), B4 (habilitation thesis) – 105 points (required 100 points), D7 (publications) – 232 points (required 220 points), D11 (citations) – 168 points (required 60 points), E14 (participation in national scientific or educational project) – 80 points (required 0 points), E15 (participation in an international scientific or educational project) – 20 points (required 0 points). Thus, with a required minimum of a total of 430 points Dr. Petrova presented herself in the competition for the academic position of "Associate Professor" with a total of 655 points. In indicator B4 (scientific publications equivalent to a habilitation thesis), she participated with 5 of her articles, which refer to the first field of study of her research. 3 of them are with quartile Q1 and 2 – with quartile Q3.

### **Conclusion:**

In conclusion, to all of the above, I would like to say that Dr. Maria Petrova is a young researcher who works independently and purposefully in an up-to-date and promising field of research, with very good and constant publication activity over the years, with results published in respected international journals and cited many times by scientists from other countries. I know Dr. Petrova since her student and doctoral years, from which she left excellent impressions on me as her supervisor as a capable, thinking and responsible young researcher, and I am pleased to see her development and growth in her chosen field of Molecular Biology. Based on all this, as well as on the basis of the contributions of her publications and especially their potential application in medical practice, I allow myself to most confidently recommend to the members of the esteemed Scientific Jury to support the selection of Chief Assistant Professor Maria Hristova Petrova, PhD, for the academic position of "Associate Professor", in the field of higher education 4. Natural sciences, Mathematics and Informatics, professional direction 4.3. Biological Sciences, Molecular Biology specialty, for the needs of the "Structure and Function of Chromatin" section in the IMB of BAS.

07.03. 2024

Reviewer: Prof. Ginka Genova

