

РЕЦЕНЗИЯ

от акад. проф. Иван Георгиев Иванов
относно конкурса за “Доцент” в Област на висше образование 4. Природни науки,
математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки,
Научна специалност „Молекулярна биология и генетика“, обявен за нуждите на
Института по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, БАН

1. Обща част

Конкурсът за “Доцент” по „Молекулярна биология и генетика“ в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, за нуждите на секция „Структура и функция на хроматина“ при ИМБ „Акад. Р. Цанев“, БАН е обявен в ДВ, бр. 92/03.11.2023 г. Единствен кандидат в конкурса е гл. ас. д-р Мария Христова Петрова от същата секция. Прегледът на документите показва, че процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена, а документите са изготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ).

2. Кратки биографични данни

Гл. ас. д-р Мария Петрова е родена на 17.11.1984 г. Тя е възпитаник на Биологическия факултет при СУ „Св. Кл. Охридски“, който завършва през 2007 г. с ОКС „Бакалавър“ по „Биология“, 2009 г. с ОКС „Магистър“ по „Молекулярна биология и генетика“ и 2014 г. с ОНС „Доктор“ по „Генетика“. До 2016 г. работи в БФ на СУ като биолог и асистент, а от 2016 г. в ИМБ при БАН, където последователно заема длъжностите асистент и гл. асистент. Общият ѝ трудов стаж по специалността е 11 години и 5 месеца. По време на своето професионално развитие тя е посещавала методично-квалификационни курсове като този по съвременни микроскопски методи през 2019 г. в Амстердам. От 2017 г. М. Петрова е член на Съюза на учените в България.

3. Научни трудове и приноси

Гл. асистент д-р Мария Петрова има общо 26 научни труда (всички с Q, SJR и JCR-IF), от които 23 са публикувани след придобиване на докторската ѝ степен. В конкурса за „Доцент“ участва с 17 публикации, които са цитирани досега 84 пъти. Тя е докладвала своите резултати и на 69 национални и международни научни форуми. По данни на Scopus, нейният h-index е 6.

Оценяваните 17 труда могат да се класифицират в следните три тематични групи: а) *Изследвания върху нови и алтернативни съединения с потенциално цитостатично действие* (трудове 4, 6, 7, 13, 15-17); б) *Изследвания, върху белтъци с роля в онкогенезата* (трудове 1, 3, 5, 10-12); в) *Изследвания на полимерни системи за доставка на нуклеинови киселини в клетките* (трудове 2, 8, 9, 14).

Научните постижения на д-р Петрова в тези три направления могат да се формулират както следва:

1) В сътрудничество с изследователи от други изследователски звена д-р Петрова е изследвала биологичните и фармакологични свойства на серия нови синтетични и природни вещества в качеството им на потенциални химиотерапевтици. От синтетичните тя избира поливалентни биологично активни съединения съдържащи две и повече фармакофорни групи в молекулата, каквито

са конюгатите на фероцена с други избрани съединения. След скрининг на биологината им активност, тя се спира на съединението с работна сигнатура DK164, което се характеризира със забележителен цитотоксичен ефект върху клетки от рак на млечна жлеза и бял дроб, но и върху нераковите клетки от същите органи. Изследванията показват, че действието на DK164 се дължи на про-апоптотичните му свойства. С цел да подобри неговата разтворимост във физиологични течности и да подобри бионаличността му в организма, той е конюгиран с пиперазин. Новото съединение CC78 не променя локализацията на регулаторния белтък NF- κ B в клетката, но за разлика от DK164 (с характерен про-апоптотичен ефект), то проявява некротично действие. Друг подход за повишаване бионаличността на фероценовите съединения е вграждането им в биоразградими мицели базирани на триблоковия съполимер PEO₁₁₃-b-P(CyCL₃-co-CL₄₆)-b-PEO₁₁₃, в който цитотоксичното им действие се запазва.

Освен синтетични съединения, д-р Петрова изследва антитуморната активност и на серия природни вещества, изолирани от хемолимфата на морския охлюв *Rapana venosa*. Тя установява, че фракцията с молекулна маса 50–100 kDa има противоракова активност. Тази фракция показва и значителен синергизъм с класическите химиотерапевтици цисплатина и тамоксифен.

За цитотоксична активност са изследвани и водно-етанолни екстракти от плодни тела на дървесни гъби и червена мухоморка, както и канабидиол. Положителен ефект са показали екстрактите от някои гъби и канабидиолът.

Изследвана е и антитуморната активност върху човешки клетки от рак на млечна жлеза, бял дроб, шийката на матката, кожата и рак на главата на протеинови фракции от хемолимфата на градинския охлюв *Helix aspersa*. Установено е, че хемоцианиновите субединици α -HnH и β -HnH проявяват цитотоксично действие съизмеримо с това на цисплатината.

2) Внимание заслужават задълбочените молекулярно-биологични изследвания на кандидатката върху ролята на ядрения белтък HMGB1 за онкогенезата – любима тема на секцията в която тя работи. HMGB1 активира RAGE рецептора, който пък играе важна роля в етиологията на различни заболявания като хронично възпаление, сепсис, артрит, диабетна нефропатия, атеросклероза и рак. Тя доказва, че при агресивни ракови клетъчни линии като MDA-MB-231 и H1299, RAGE рецепторът е локализиран в мембраната, а при клетките от рак с по-добра прогноза той се открива единствено в разтворимата фракция. С цел да изследва ролята на HMGB1 в процеса автофагия, д-р Петрова създава своеобразен биосензор съставен от две клетъчни линии от белодробен карцином експресиращи HMGB1, където ядреният белтък е слят към С-края на зеления флуоресцентен белтък (GFP). Този, базиран на HMGB1-GFP биосензор, е подходящ за наблюдение на динамиката в транслокацията на HMGB1 от ядрото към цитоплазмата в живи клетки чрез флуоресцентна микроскопия, която се счита за отличителен белег за автофагията.

3) Последната група трудове са посветени на разработването на полимерни системи за доставка на нуклеинови киселини в клетката за нуждите на генотерапията. В тази връзка д-р Петрова изследва три гребеновидни съполимера на полиетиленimina с модифицирани оксазолини за взаимодействието им с ДНК, както и за капацитета им да доставят и освобождават ДНК в еукариотните клетки. Задълбочено е изследвано влиянието на различните параметри на полиплекса за задържането, транспорта и освобождаването на ДНК, а също и механизмите на интернализация и устойчивостта на полиплексите в клетката. Оптимизираните

варианти на системата полимер-ДНК ще намерят приложение за трансфекция на таргетни клетки при генотерапия.

4. Научни проекти

Съгласно представената справка, д-р Мария Петрова е участвала в разработването на 9 научно-изследователски проекта финансирани от ЕС, СУ „Св. Кл. Охридски“ и МОН/НФНИ, на един от които е била научен ръководител.

5. Педагогическа дейност

Педагогическата дейност на д-р Мария Петрова се заключава във водене на упражнения на студенти от СУ по дисциплините „Генетика“, „Фармакогенетика“ и „Неврогенетика и генетичен анализ“ през периода 2015-2018 г.

6. Спазване на минималните национални изисквания за заемане на академичната длъжност „Доцент“

Справката за съответствие с минималните национални и специфичните за ИМБ изисквания за заемане на академичната длъжност „Доцент“ съгласно ЗРАСРБ показва:

- Показатели от група А: 50 т.
- Показатели от група В: 105 т.
- Показатели от група Г: 232 т.
- Показатели от група Д: 168 т.
- Показатели от група Е: 100 т.
- **ОБЩО: 655 т.**

(Изискуеми от ЗРАСРБ са 400 т., а според правилника на ИМБ – 430 т.)

От представените данни се вижда, че д-р Мария Петрова удовлетворява и дори превъзхожда официалните количествените критерии определени от ЗРАСРБ, както и вътрешните критерии на ИМБ за заемане на академичната длъжност „Доцент“ в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки.

Заключение: Гл. ас. д-р Мария Х. Петрова участва в конкурса с 17 научни труда (от общо 26) публикувани в реферирани научни списания с Q, SJR и JCR-IF, които са цитирани досега 84 пъти. Чрез своята научна продукция и приноси тя се представя като опитен изследовател в областта на молекулярната биология и молекулярната генетика. Тъй като нейните количествени показатели превъзхождат официално определените от ЗРАСРБ и вътрешните критерии на ИМБ за заемане на академичната длъжност „Доцент“ в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, убедено препоръчам на уважаемото Научно жури и на НС на ИМБ да ѝ присъдят.

София, 20.02.2024 г.

Подпис:

/Акад. проф. Иван Г. Иванов/

REVIEW

By Prof. Ivan Georgiev Ivanov, D.Sci.

Regarding the competition for Associate Professor in the Area of higher education: 4. Natural sciences, Mathematics and Informatics; Professional field 4.3. Biological Sciences, Scientific specialty Molecular Biology and Genetics announced by the Institute of Molecular Biology "Acad. R. Tsanev", BAS

1. General part

The competition for Associate Professor in the area of Higher Education: 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics, Professional Direction 4.3. Biological Sciences, Scientific specialty Molecular Biology and Genetics has been announced in State Gazette No. 92/03.11.2023 for the needs of the Institute of Molecular Biology "Acad. R. Tsanev" (IMB), Department "Chromatin Structure and Function". The only candidate is Ass. Prof. Dr. Maria Hristova Petrova, employee of the same department. The overview of the documents related with the competition shows that they are prepared in accordance with the Law on Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria (LDASRB) and the internal IMB rules and regulations.

2. Brief biographical information

Dr. Maria Petrova was born on 17.11.1984. She is a graduate of the Faculty of Biology at SU "St. Kl. Ohridski". She obtained a BS degree in Biology in 2007, a MS degree in Molecular Biology and Genetics in 2009 and a PhD degree in Genetics in 2014. Until 2016, she has been an employee (biologist and assistant prof.) of the Faculty of Biology, SU. Since 2016 she has successively held the positions of Ass. Prof. and Chief Ass. Prof. in the IMB, BAS. Her total work experience is 11 years and 5 months. During her professional development, she attended methodological qualification courses such as the one on modern microscopic methods "Functional imaging of nuclear organization and signaling" in 2019 in Amsterdam. Since 2017, M. Petrova is a member of the Union of Scientists in Bulgaria.

3. Scientific papers and achievements

Dr. Maria Petrova is the author of a total of 26 scientific papers (all with Q, SJR and JCR-IF), of which 23 have been published after obtaining her PhD degree. She participates in the competition for Assoc. Professor with 17 articles cited 84 times so far. She has also reported her results at 69 national and international scientific forums. According to Scopus, her h-index is 6.

The 17 publications to be evaluated can be classified into the following three thematic groups: a) Research on new and alternative compounds with potential cytostatic activity (papers 4, 6, 7, 13, 15-17); b) Studies on proteins related to oncogenesis (papers 1, 3, 5, 10-12); c) Development of polymeric nucleic acid delivery systems (papers 2, 8, 9, 14).

Dr. Petrova's achievements in the three scientific areas can be formulated as follows:

1) In cooperation with researchers from other Bulgarian scientific units, Dr. Petrova studied the biological and pharmacological properties of a series of new synthetic and natural substances as potential chemotherapeutics. From the group of synthetic ones, she has focused on polyvalent compounds containing two or more pharmacophoric groups in their molecule, such as ferrocene conjugates with various other compounds. After screening their biological activity, she settled on the compound

with the working signature DK164, which is characterized as a remarkably cytotoxic on breast and lung cancer cells. The obtained results showed that the effect of this compound was due to its pro-apoptotic properties. In order to improve its solubility in physiological fluids and improve its bioavailability, DK164 was conjugated with piperazine. The Dr. Petrova's studies showed that the new compound CC78 did not cause any change in the localization of the regulatory protein NF- κ B, but unlike DK164, exhibits a necrotic rather than pro-apoptotic effect. Another approach for increasing the bioavailability of the ferrocene compounds was their incorporation into biodegradable micelles based on the triblock copolymer PEO₁₁₃-b-P(CyCL₃-co-CL₄₆)-b-PEO₁₁₃, in which the cytotoxic effect was completely preserved.

Besides synthetic compounds, Dr. Petrova investigated also the antitumor activity of a series of natural substances isolated from the hemolymph of the marine snail *Rapana venosa*. She found that the 50–100 kDa fraction demonstrated anticancer activity. This fraction also showed significant synergism to classic chemotherapeutics such as cisplatin and tamoxifen.

Water-ethanol extracts of wood mushrooms and *Amanita muscaria*, as well as cannabidiol have been also tested for cytotoxic activity. Some of the wood mushrooms extracts (but not from *A. muscaria*), as well as cannabidiol, have shown a positive cytotoxic effect.

Dr. Petrova studied the antitumor activity of protein fractions isolated from the hemolymph of the garden snail *Helix aspersa* on human cells obtained from human breast, lung, cervical, skin and head and neck cancer. She found that the subunits α -HaH and β cHaH of the snail hemocyanin exhibited a cytotoxic effect comparable to that of cisplatin.

2) The candidate's in-depth molecular biological research on the role of the nuclear protein HMGB1 in oncogenesis deserves attention - a favorite topic of the Department where she works. HMGB1 activates the RAGE receptor, which in turn plays an important role in the etiology of various diseases such as chronic inflammation, sepsis, arthritis, diabetic nephropathy, atherosclerosis and cancer. Dr. Petrova demonstrates that in aggressive cancer cell lines such as MDA-MB-231 and H1299, the RAGE receptor is localized in the membrane, and in cancer cells with a better prognosis, it is found only in the soluble fraction. In order to investigate the role of HMGB1 in the autophagy process, Dr. Petrova created a unique biosensor composed of two lung carcinoma cell lines expressing HMGB1, where the nuclear protein was fused to the C-terminus of the green fluorescent protein (GFP). This HMGB1-GFP-based biosensor is suitable for monitoring the dynamics in the translocation of HMGB1 from the nucleus to the cytoplasm in living cells by fluorescence microscopy, which is considered a hallmark of autophagy.

3) Dr. Petrova's last group of papers are devoted to the development of polymer systems for delivery of nucleic acids into the cell for the needs of gene therapy. In this regard, she investigated three comb-shaped copolymers of polyethylenimine with modified oxazolines for their interaction with DNA as well as for their capacity to deliver and release DNA into cells. The influence of the different polyplex parameters on DNA retention, transport and release, as well as the mechanisms of polyplex internalization and stability in the cell, were thoroughly investigated. Optimized variants of the polymer-DNA system thus created could be used for transfection of eukaryotic cells in gene therapy.

4. Scientific projects

Dr. Maria Petrova participated in the development of 9 research projects funded by the EU, SU "St. Kl. Ohridski" and the National Research fund. In one of them she was a principal investigator.

5. Pedagogical experience

Dr. Maria Petrova has conducted exercises for SU students in the disciplines "Genetics", "Pharmacogenetics" and "Neurogenetics and genetic analysis".

6. Compliance with the minimum national requirements for holding the academic position Associate Professor

The formal check for compliance with the minimum national requirements for occupying the academic position Assoc. Professor according to the LDASRB indicates:

- Group A Indicators: 50 points.
 - Group B Indicators: 105 points.
 - Group Γ Indicators: 232 points.
 - Group D Indicators: 168 points.
 - Group E Indicators: 100 points.
 - TOTAL: 655 points
- (Required by the LDASRB 400 points, and by the IMB rules – 430 points)

From the above presented data, it is obvious that Dr. Maria Petrova satisfies the official quantitative criteria for holding the academic position Assoc. Professor in Higher Education 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics, Professional direction 4.3. Biological Sciences.

Conclusion: Dr. Maria Petrova participated in the present competition with 17 scientific papers (out of a total of 26) published in refereed scientific journals with Q, SJR and JCR-IF, which have been cited 84 times so far. Her scientific output and contributions give me the reason to conclude that she is an experienced researcher in the field of Molecular Biology and Molecular Genetics. She satisfies the official quantitative criteria according to the LDASRB for holding the academic position Assoc. Professor in the Field of Higher Education 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics, Professional Direction 4.3. Biological Sciences and I am highly recommending the respected Scientific Jury to award it to her.

Sofia, 20.02.2024

Signature: