

РЕЦЕНЗИЯ

От: **проф. Татяна Иванова Влайкова, д.б.**

Катедра Медицинска химия и биохимия,

Медицински факултет, Тракийски Университет, Стара Загора

Научна специалност: „Биохимия“, професионално направление: 4.3.

Биологически науки.

тел: 0888002438, e.mail: tatyana.vlaykova@trakia-uni.bg

Относно: конкурс за Доцент по научна специалност „Молекулярна биология“, професионално направление 4.3. Биологически науки, област на висшето образование 4. Природни науки, математика, и информатика

1. Информация за конкурса

Конкурсът, обявен за нуждите на секция "Регулация на генната активност", Институт по молекулярна биология „Академик Румен Цанев към БАН (ИМБ-БАН), е обнародван в Държавен вестник бр. 52/18.06.2024 г.

2. Кратка информация за кандидатът в конкурса

Единствен кандидат в конкурса е гл. ас. **Елена Божидарова Кръчмарова, дб.** Документите на кандидата са добре организирани и подредени и са в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за развитие на академичния състав в ИМБ-БАН.

През 2009 гл.ас. Кръчмарова е получила ОКС »бакалавър« от специалност „Инженер биотехнолог“, а през 2010 получава „магистърска степен по същата специалност от Химикотехнологичен и Металургичен Университет, София. През 2018 Елена Кръчмарова успешно защитава дисертация на тема «Експресия и свойства на човешкия интерферон-гама и негови мутантни аналози», подготвена под ръководството на акад. Иван Иванов и проф. Геновева Начева и получава ОНС «доктор» по «Молекулярна биология».

В Института по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“ (ИМБ-БАН), в секция „Регулация на генната активност“, Елена Кръчманова започва работа, още през 2010 първо като специалист-химик, от 2011 като асистент, а от 2018 досега като главен асистент. През периода 2015-2018 тя е задочен докторант в същата секция.

Според справката от Отдел «Човешки ресурси» на ИМБ-БАН, гл.ас. Кръчмарова има над 14 години и 5 месеца трудов стаж по специалността.

Освен основните научни ангажменти, гл.ас. Кръчмарова изпълнява и административна и организационна дейност. През 2012 тя е координатор на FEBS Advanced Lecture Course, а през 2024 тя е технически секретар на Национална научна конференция „80 години Съюз на учените в България – в служба на обществото“, 4 - 6 октомври 2024, МДУ „Фредерик Жолио-Кюри“, к. к. „Св. св. Константин и Елена“.

Елена Кръчмарова е получила три национални награди: награда от Съюза на учените в България с диплом от конкурса за високи научни постижения, направление „Научни постижения в защитени докторски дисертации от учени до 35-годишна възраст“, а през 2018 и 2020 получава друкратно награда „Еврика“ за постижения в науката.

Няма представена информация за проведени курсове и специализации за повишаване на нейната квалификация, разширяване на научните ѝ интереси и придобиване на нови практически умения.

3. Изпълнение на изискванията за заемане на академичната длъжност

В конкурса за АД „доцент“ гл.ас. Кръчмарова участва с 14 публикации, в списания, реферирани в Scopus и/или в Web of Science (**11 с ИФ; Общ ИФ=47.536**), и с два патента, един Европейски и един български. Много коретно Елена Кръчмарова е представила и списък от още три публикации в списания, реферирани в WoS, включени в дисертационния и труд. Личният принос на Елена Кръчмарова в провеждането на изследванията и представянето на научните резултати пт тях се доказва от факта, че в четири от 14 статии и 2 патента (25 %), с които д-р Кръчмарова участва в конкурса тя е водещ (първи автор), а в други 3 е втори автор (12%). През 2023 г. Елена е лектор по покана на 47-мия конгрес на FEBS, Тур, Франция и тя е участвала с устни доклади в над 10 национални и международни конференции, и в над 20 с постерни презентации.

Всички публикации и патенти на Елена Кръчмарова в тематично отношение изцяло отговарят на специалността **“Молекулярна биология”** на настоящия конкурс.

Елена Кръчмарова е включила в документите и списък с участията ѝ научни проекти: тя е ръководител на един национален проект, и член на аучните екипи на 2 международни и на 12 национални проекти.

При справка в WoS, профилът на Елена Кръчмарова се свързва с над 100 цитирания (вероятно и с автоцитирания) и с индекс на цитируемост **6 (h-index, по WoS)**.

Представената Академична справка за изпълнение на минималните национални изисквания показва, че гл.ас. Елена Кръчмарова покрива изискваните точки по показатели А, В, Г, Д и допълнителните изисквания по показател Е

<i>Група от показатели</i>	<i>Показател</i>	<i>Брой изисквани точки</i>	<i>Гл.ас. Елена Кръчмарова</i>
А	1. Дисертационен труд за ОНС „доктор“	50	50
В	4. Хабилизационен труд– научни публикации в Web of Science и Scopus*	100	4 x 25(Q1) = 100
Г		220	230
	Г7. Научна публикации в WoS/Scopus		4 x25 (Q1) = 100 1 x 20(Q2) = 20 2 x15 (Q3) = 30 3 x10 (SJR) = 30
	Г9. Изобретение, патент или полезен модел		2 x 25 = 50

Д	11. Цитирания (WoS/Scopus) (x2t)	60	91x2=182
Е		няма	171.9
	14. Участие в национален научен или образователен проект		12x10=120
	15. Участие в международен научен или образователен проект		2X20=40
	16. Ръководство на национален научен или образователен проект		1x20=20
	18. Привлечени средства по проекти, ръководени от кандидата	9400/5000	1.9

4. Оценка на учебно-преподавателската дейност на кандидата

Гл.ас. Кръчмарова е въввлечена в учебния процес на студенти от бакалавърски и магистърски програми на БФ на Софийски университет „Св. Климент Охридски“ и на Химикотехнологичен и Металургичен Университет, София. Тя е консултант при разработването на една дипломна работа за ОКС „бакалавър“ и две за ОКС „Магистър“ (едната на студент от Египет по програма „Еразъм“).

5. Характеристика на представените научни трудове/публикации

В своята изследователска работа, гл.ас. Кръчмарова продължава и задълбочава направлението, разработвано в нейната дисертационна работа - *Изследване на фактори, влияещи върху биологичната активност на човешкия гама-интерферон (hIFN γ) и продукцията му като рекомбинантен белтък.*

Други две основни направления в научните интереси на Елена Кръчмарова са 1) *Изследване на молекулните механизми на действие на белтъците ORF6 и Nsp13 на вируса SARS-CoV-2 в инфектираните клетки. Подходи за овладяване на цитокиновата буря и* 2) *Термодинамика на взаимодействие на йонни течности с транспортния белтък серумен албумин.*

Изследванията, провеждани от гл.ас. Кръчмарова се осъществяват с финансовата подкрепа на значителен брой НИП. Както бе споменато по-горе тя е ръководител на един национален и член на научните клетиви на 12 национални и 2 международни проекта.

6. Синтезирана оценка на основните научни и научно-приложни приноси на кандидата

Научните трудове, включващи резултати от изследванията по първото направление (*„Изследване на фактори, влияещи върху биологичната активност на човешкия гама-интерферон (hIFN γ) и продукцията му като рекомбинантен белтък“*), са 7 (5 статии от показател Г7.4, Г7.5, Г7.6, Г7.7, Г7.9 и двата патента Г9.1 и Г9.2). Основен фокус при изследванията са пост-транслационните модификации чрез гликозилиране на нативния hIFN γ . Оригинален принос са разработените за първи път чрез *молекулно-динамични (МД) симулации моделни структури* на гликозилирани хомодимери на дивия тип hIFN γ в пълната им дължина. Освен това тези моделни структури са едни от малкото МД симулации на гликопротеини описани досега в литературата (Г7.7). Чрез молекулно-динамични симулации е установено, че гликаните взаимодействат предимно с глобуларната част на белтъка, но също така осъществяват спорадични контакти с С-крайща на молекулата на hIFN γ (Г7.7). Други резултати с приносен характер получени чрез използването на тези МД симулации са тези доказващи, причините за протеолитичната резистентност на N-крайния FLAG пептид на hIFN (Г7.9).

Други изследвания насочени към изясняване състава на т.н. „включени телца“ (IBs) получени при пречистването на рекомбинантен hIFN γ , доказват, че нуклеиновите киселини са типичен компонент на IBs, а не замърсители получени в резултат на ко-преципитация. Тези резултат са оригинални с научно-приложен приносен характер, защото откриват перспективи за разработването на нови методи за пречистване на рекомбинантни белтъци от включени телца (Г7.4). Друг принос с приложен характер е разработения нов метод за експресията и пречистване на hIFN γ и негови мутанти аналози в биологично активна форма като разтворим белтък (от цитозолната фракция) (Г7.6). Методът е евтин, лесен за прилагане и може да се използва за производство на други рекомбинантни протеини с терапевтично приложение.

За намерине на подходящи условия за стабилизиране при съхранение след пречистване на рекомбинантен hIFN γ и на мутантните му аналози, Елена Кръчмарова и колегите от научната група провеждат широко скринингово проучване включващо 61 буфера и добавки (Г7.5). Установеният най-подходящ буфер за съхранение (Tris буфер, рН 8.0, допълнен с NaCl и 0,3 М трехалоза) , е оригинален резултат с приложен характер, с потенциално приложение за формулиране на фармацевтични продукти, базирани на hIFN γ .

Резултатите от изследванията по второто направление на научни интереси на Елена Кръчмарова („Изследване на молекулните механизми на действие на белтъците ORF6 и Nsp13 на вируса SARS-CoV-2 в инфектираните клетки. Подходи за овладяване на цитокиновата буря“), са представени в 6 от публикациите (B4.1-B4.4, Г7.8, Г7.10). Основен обект на изследванията включващи компютърни симулации и експериментални изследвания са най-токсичният белтък на SARS-CoV-2, **ORF6** и ензимът хеликаза **Nsp13**. Създаденият 3D компютърен модел на ORF6, молекулно динамични симулации на взаимодействията му с белтъци на инфектираните клетки и експерименталното потвърждаване на данните от симулациите, доказват, че един от важните таргети на взаимодействие на ORF6 е RAE1, един от основните участници в транспорта на иРНК в цитоплазмата (B4.1). Свързването на RAE1 от ORF6, води до неговото имобилизиране на RAE1 върху цитоплазмените мембрани и до блокиране на важни клетъчни функции, включително на имунния отговор на клетката, необходим за възпрепятстването на вирусното размножаване. Тези резултати са оригинални и за първи път предлагат механизъм, чрез който ORF6 на SARS-CoV-2 води до нестабилност на генома.

Резултати с приносен приложен характер са получени при *in silico* и *in vitro* изследванията показващи, че hIFN γ , и по-точно пептиди базирани на неговите С-краища, ефективно инхибират ORF6, формирайки стабилни, нековалентни комплекси с неговия С-край (B4.2). Тези резултати за първи път представят инхибитор на ORF6 на вируса SARS-CoV-2, и имат потенциал да бъдат приложени за разработването на потенциални терапевтици за лечение на COVID-19.

Друг важен фокус на изследвания на Елена Кръчмарова е ензимът хеликаза NSP13 на вируса SARS-CoV-2. Проведен е изчерпателен анализ на структурата, физикохимичните и биодинамични свойства на два джоба на Nsp13, които биха могли да бъдат използвани като прицелни за свързване с потенциални инхибитори. На основата на тази информация са проведени докинг с бази данни, съдържащи широк набор от природни и синтетични съединения и афинитетът им на свързване на двата джоба. Установено е, че едно от съществуващите вещества, което има най-добър свързващ и инхибиращ ефект е

активната съставка *Retonavir* (Г7.10), която се предлага от Pfizer като средство за лечение на HIV и хепатит С под търговското название Norvir.

Други изследвания в това направление са насочени към намирането на потенциални инхибитори на проинфламаторните цитокини IFN γ и интерлевкин-6 (IL-6), въввлечени в освобождаването на цитокини (CRS), наречен цитокинова буря, характерна за SARS-CoV-2 инфекцията. Използвайки МД-симулации са проведени изследвания на процеса на образуване на комплекс hIFN γ -hIFN γ 1 при различни условия (B4.3, Г7.8). Резултат с приносен характер е установената роля на хепаран сулфат (HS) и неговите протеоглици във всички процеси, включващи сигнално-трансдукционните пътища задвижвани от hIFN γ .

Резултатите от *in silico* и *in vitro* изследванията на Елена Кръчмарова доказват, че фракционираната форма на хепарина с ниско молекулярно тегло (LMWH) блокира свързването на hIFN γ с неговия извънклетъчен рецептор и в резултат прекъсва индуцираните от него сигнални пътища. Аналогично, LMWH модулира биологичната функция на IL-6 като блокира формирането на сигналния комплекс IL-6/IL-6R α /gp130 (B4.4). Резултатите от тези изследвания имат научно-теоретичен и научно-приложен приносен характер като дават светлина върху противовъзпалителното действие на хепарина и значимостта му за превенция и потискане на цитокиновата буря характерна за SARS-CoV-2 инфекцията.

Друга съществена част от публикациите на Елена Кръчмарова включват резултати от изследванията на *термодинамиката на взаимодействие на йонни течности с транспортния белтък серумен албумин*. В поредица от изследвания на (Г7.1-3), в които са анализирани взаимодействието на лекарствени препарати, под формата на йонни течности с моделния белтък говежди серумен албумин (BSA), доказват че:

1) Деветте йонни течности, базирани на ибупрофен, се характеризират с фармакокинетичен профил близък до този на ибупрофена (Г7.1), което показва потенциала на тези йонни течности да подобрят доставката на лекарства чрез повишаване на стабилността и разтворимостта на ибупрофена.

2) Осем йонни течности базирани на салициловата киселина (Г7.2) проявяват ниска цитотоксичност спрямо човешки фибробласти и кератиноцити и имат способност да инхибират цитокина IL-6 при стимулирани с липополизахариди кератиноцити.

3) Синтезираните аминокиселинни естерни соли на противовъзпалителния препарат **напроксен** се характеризират с висок афинитет на свързване с молекулата на BSA (Г7.3).

Резултатите от тези изследвания имат научно-приложен приносен характер и биха могли да намерят приложение във фармацевтичната индустрия при разработването на нови лекарствени форми и подобряване на съществуващите такива.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

В конкурса за академична длъжност „**доцент**” в област на висшето образование 4. Природни науки, математика, и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, и научна специалност „**Молекулярна биология**“, кандидатства гл. ас. д-р **Елена Божидарова Кръчмарова, дб.**

Съгласно представените ми за рецензиране материали и документи, считам, че научните интереси и приноси на Елена Кръчмарова са в съответствие на профила на обявения конкурс. Изпълнени са, а понякога от показателите са надхвърлени, всички задължителни изисквания по наукометричните показатели,

заложен в Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за развитие на академичния състав в ИМБ-БАН. В работите на кандидата има оригинални научни и научно-приложни приноси, които са получили международно признание, доказано със значимостта на списанията, в които те са публикувани и с големият брой техни цитирания от учени от международни научни групи и институции. Научната и професионалната квалификация на гл.ас. Елена Кръчмарова е несъмнена.

Въз основа на изпълнение на задължителните наукометрични показатели, както и на общата ми оценка на нейната научна дейност, считам, че **гл. ас. д-р Елена Божидарова Кръчмарова, дб.** отговаря на всички изисквания за заемане на АД „Доцент“. Всичко това ми дава основание да дам **напълно убедено** своята положителна оценка и в качеството си на член на Научното жури по обявения конкурс, препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури и на Научния съвет на ИМБ-БАН да гласуват положително за присъждането на **гл. ас. д-р Елена Божидарова Кръчмарова, дб.** на академичната длъжност „Доцент“ по научна специалност „Молекулярна биология“.

21.10.2024, Стара Загора

Член на научно жури:
/проф. Татяна Влайкова, дб/