

## СТАНОВИЩЕ

**Върху материалите за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „Доцент“, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност “Молекулярна биология и генетика” за нуждите на секция “Структура и функция на хроматина”, обнародван в Държавен вестник бр. 92 / 03.11.2023 г.**

Изготвил становището: доц. д-р Теменуга Николова Гешева, Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“, БАН

Единствен кандидат за участие в конкурса е д-р Мария Христова Петрова.

### **1. Кратки биографични данни на кандидата.**

Д-р Мария Петрова е завършила Биологическия факултет на Софийския университет през 2007 г. Докторската си степен придобива през 2013 г. от Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“, Катедра Генетика, защитавайки дисертация на тема: „Изучаване на някои механизми, чрез които Fragile X Mental Retardation Protein 1 контролира невронното развитие при *Drosophila melanogaster*“. От 2013 г. заема длъжност биолог и Хоноруван асистент (2015-2016 г.) в Катедра Генетика - Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“. През периода 2016 - 2018 г. е Асистент в секция „Структура и функция на хроматина“, Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“ - БАН, където от 2018 г. до момента заема длъжност Главен асистент.

### **2. Публикационна активност и съответствие с изискванията на ППЗРАСРБ.**

В конкурса д-р Петрова участва със 17 публикации (общо кандидатката има 23 публикации в Scopus). Представени са още 3 публикации на базата на които тя е придобила степента "доктор". Съгласно представената справка, разпределението по ранг на 17-те статии за участие в конкурса след докторантурата е както следва: Q1 – 7 (41.2 %), Q2 – 3 (17.6%), Q3 – 6 (35.3%) и Q4 – 1 (5.9 %). Трябва да се отбележи високото качеството на научната продукция на кандидатката, която е публикувана в престижни научни издания като *Macromolecular bioscience*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Biomedicines*, *Pharmaceuticals* и др. В 6 от публикациите кандидата е първи автор и в 6 е втори автор (общо 12/17 - 70.6%), което предполага участие във всички етапи на планиране и провеждане на изследванията, както и в изготвянето на научните публикации. Д-р Петрова е предоставила данни за 84 цитирания в научни публикации без автоцитати и нейният *h-index* = 6. Д-р Петрова е водила упражнения по Генетика, Фармакогенетика, Неврогенетика и Генетичен анализ в бакалавърски и магистърски програми в Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“. Кандидатката също така е изготвила 2 броя рецензии относно дипломната работа на студенти от Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ и е участвала в 9 научно-изследователски проекта. Съгласно гореизложеното д-р Петрова напълно покрива, а по някои показатели надхвърля минималните държавни изисквания, както и изискванията на БАН и ИМБ за заемане на академичната длъжност „доцент“.

### **3. Научна дейност и приноси на кандидата.**

Научното творчество на кандидатката е посветено на изследването на протеини участващи в онкогенезата и създаването на потенциални противоракови лекарства на база фероценови комплекси, съчетаващи няколко биологично-активни субединици в една молекула. Освен фундаментални изследвания, то обхваща и такива с приложение в Генната терапия, като системи за доставка на нуклеинови киселини в клетката базирани на полимери.

#### **3.1. Изследвания свързани с анализ на иновативни и алтернативни съединения като потенциални химиотерапевтици.**

Основните насоки в представените научни изследвания на д-р Петрова и сътрудници са насочени към преодоляване на присъщите недостатъци на традиционалните химиотерапевтични средства, сред които неефективна индукция на клетъчна смърт, неспецифично действие и придобиване на лекарствена резистентност. Използваните стратегии са синтеза и изследването на нови молекулни структури като потенциални противоракови лекарства, както и изолирането на нови съединения с антитуморни свойства от различни природни източници (растения, гъби и безгръбначни).

От проведените биологични експерименти с фероценови конюгати, комбиниращи различни биологично-активни центрове, д-р Петрова е установила специфичен цитотоксичен ефект на фероцен-съдържащ камфор сулфонамид върху ракови клетки от рак на млечна жлеза и рак на бял дроб. Получени са и първоначални данни за механизма на цитостатичното и антипролиферативно действие на веществото, индикиращи про-апоптотични свойства и влияние върху процесите на автофагия, клетъчната локализация на ключови регулаторни белтъци и върху редокс баланса на раковите клетки. Свързването на пиперазин към амина на сулфонамидния фрагмент води до повишаване на разтворимостта и цитотоксичния потенциал, но и до загуба на селективното действие спрямо раковите клетки, като доминиращият механизъм на клетъчна смърт е некроза. При алтернативния подход за увеличаване на разтворимостта на веществото, чрез използване на полимерни наноносители, е установена сравнима антитуморна активност със свободното вещество в изследвания модел за рак на белия дроб. Това дава основание на авторите да предложат разработената мицелна система като подходяща наноплатформа за доставяне на органометални химиотерапевтици на базата на фероцен.

Изследванията на д-р Петрова върху антитуморните свойства на натурални продукти, включващи екстракти изолирани от хемолимфата на морски и градински охлюв, както и от плодните тела на различни видове дървесни гъби, позволяват идентифицирането на екстрактите с най-висок цитотоксичен потенциал. Това ще помогне за установяване на биологично активните компоненти в изследваните екстракти, както и тяхното влияние върху клетъчните процеси апоптоза и автофагия. Показано е също и селективното цитотоксично действие на Канабидиол спрямо белодробни ракови клетъчни линии.

### **3.2. Изследвания, посветени на белтъци с роля в онкогенезата.**

Изследвано е влиянието на HMGB1 (High Mobility Group Box 1) фактора и неговата скъсена форма върху експресията на пълната форма и разтворимия RAGE (receptor for advanced glycation end products) в модели на рак на млечна жлеза и на бял дроб. Д-р Петрова показва, че при по-агресивните ракови клетъчни линии преобладава мембранната форма на рецептора, докато при такива от рак с по-добра прогноза разтворимата форма на RAGE е в по-високо количество. В друга публикация, д-р Петрова установява, че само цялата молекула на HMGB1 води до активиране на NF-κB, наблюдавано чрез транслокация на белтъка от цитоплазмата към ядрото в ракови клетъчни линии.

За изследване на ролята на HMGB1 в процеса автофагия, д-р Петрова създава клетки от белодробен карцином, експресиращи HMGB1 слят към С-края на зеления флуоресцентен белтък (GFP). Така създаденият HMGB1-GFP биосензор е подходящ за изучаване на процесите автофагия, апоптоза и некроза, чрез наблюдение на транслокацията на HMGB1 от ядрото към цитоплазмата в живи клетки. В обзорна статия д-р Петрова описва различните функции на нуклеолина в онкогенезата, като ролята му в биогенезата на рибозомите, в поправката на ДНК, в клетъчното делене и епително-мезенхимния преход, стабилността на генома и др.

### **3.3. Изследвания на полимерни системи за доставка на нуклеинови киселини в клетката.**

Изследваните от д-р Петрова невирусни системи за доставяне на нуклеинови киселини, разкриват потенциала на три съполимера на полиетиленимин за взаимодействие с ДНК, както и за доставяне на молекулите ДНК в клетките. Установено е че клетъчната интернализация и ефективността на трансфекция значително се различават в зависимост от морфологията и структурата на полиплекса. Получените съполимери, както и съответстващите им комплекси с ДНК, са проявили ниска цитотоксичност към изследвания панел от човешки клетъчни линии. Изследван е и хидрофилен, нейонен и биологично толерантен полимер – линеен полиглицидол, с перспектива за различни биомедицински приложения. Установено е че компактната структура и по-малките размери на полиплексните частици са решаващи за ниската цитотоксичност и по-добрата биосъвместимост. Представен е и нов подход за подготовка на кухи/везикуларни сферични нуклеинови киселини, с улеснена клетъчната интернализация и липса на токсичност в изследваните клетъчни линии.

## **4. Заключение:**

Научните изследвания на Д-р Петрова са по актуална тема със значителен принос за идентифицирането на нови молекулярни мишени и съединения с химиотерапевтичен потенциал, които могат да допринесат за оптимизиране на противораковото лечение. Нейното научното творчество е разпознаваемо в международен план и надвишава изискванията за заемане на академичната длъжност „доцент“. То напълно отговаря на научната тематика следвана в секция “Структура и функция на хроматина”, за нуждите на която е обявения конкурс. Кандидатката се откроява с резултати допринасящи за

изясняване на фундаменталните механизми на противораковите свойства на 3 нови фeroценови конюгати. Нейните приноси се допълват от научно-приложни изследвания които позволяват разработването на наноплатформа за доставяне на органометални производни на базата на фeroцен и тяхното потенциално прилагане като химиотерапевтици. Друга положителна черта на публикациите на д-р Петрова е успешната работа в екип на молекулярни биолози в сътрудничество с химици и фармаколози. Съчетанието от постигнатите резултати и изследванията върху белтъчни фактори с роля в онкогенезата дава ясна перспектива за плодотворна бъдеща изследователска дейност. Личните ми впечатления за кандидатката са че тя притежава толерантност, инициативност, изключително чувство за отговорност, способност за работа в екип, както и подход за разпределение на функции и задължения при организиране на съвместни научно-изследователски дейности. Въз основа на гореизложеното, убедено предлагам на уважаемото научно жури и Научния съвет на ИМБ да гласува положително за заемане на академичната длъжност „доцент“ от д-р Мария Христова Петрова.

05.03.2024 г.

ПОДПИС:

/ доц. д-р Теменуга Гешева /

## OPINION

**On the materials for participation in the competition for election of an Associate Professor in the professional field 4.3. "Biological Sciences", specialty "Molecular biology and genetics" for the needs of section "Structure and Function of Chromatin", Institute of Molecular Biology "Rumen Tsanev", Bulgarian Academy of Sciences (BAS), published in the State Gazette No. 92 / 03.11.2023.**

Statement from: **Dr. Temenouga Nikolova Guecheva**, Associate Professor, Institute of Molecular Biology "Rumen Tsanev", Bulgarian Academy of Sciences (BAS)

The only candidate for participation in the competition is **Dr. Maria Hristova Petrova**.

**1. Brief biographical data of the applicant.** Dr. Maria Petrova graduated from the Faculty of Biology of Sofia University in 2007. She obtained her doctorate in 2013 from the Faculty of Biology, Sofia University "St. Kl. Ohridski", Department of Genetics, defending a dissertation on the topic: "Study of some mechanisms, through which Fragile X Mental Retardation Protein 1 controls neuronal development in *Drosophila melanogaster*". Since 2013, she holds the position of biologist and Honorary Assistant (2015-2016) in the Department of Genetics - Faculty of Biology, Sofia University "St. Kl. Ohridski". During the period 2016 - 2018, she was a Research Assistant in the "Structure and Function of Chromatin" section, Institute of Molecular Biology "Rumen Tsanev" - Bulgarian Academy of Science, where from 2018 until now she holds the position of Assistant Professor.

**2. Publication activity and compliance with the Regulations on the Implementation of the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act.** Dr. Petrova participated in the competition with 17 publications (in total, the candidate has 23 publications according to *Scopus*). Three more publications are presented, based on which she obtained her PhD degree. According to the report presented, the rank distribution of the 17 articles for participation in the competition is as follows: Q1 – 7 (41.2 %), Q2 – 3 (17.6%), Q3 – 6 (35.3%) and Q4 – 1 (5.9 %). It should be noted the high quality of the candidate's scientific output, which has been published in prestigious scientific Journals such as *Macromolecular bioscience*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Biomedicines*, *Pharmaceuticals*, etc. In 6 of the publications, the candidate is the first author and in 6 she is the second author (total 12/17 - 70.6%), which implies participation in all stages of planning and conducting research, as well as in the preparation of scientific publications. Dr. Petrova has provided data for 84 citations in scientific publications without self-citations; her *h*-index is 6. Dr. Petrova has led laboratory classes in Genetics, Pharmacogenetics, Neurogenetics and Genetic Analysis in undergraduate and graduate programs at the Faculty of Biology of Sofia University "St. Kl. Ohridski". The candidate also prepared 2 reviews regarding the

Thesis of students from the Faculty of Biology of Sofia University "St. Kl. Ohridski" and participated in 9 research projects. According to the presented above, Dr. Petrova fully meets, and in some indicators exceeds the minimum state requirements, as well as the requirements of the Institute of the Molecular Biology and the Bulgarian Academy of Science for holding the academic position of "Associate Professor".

### **3. Scientific activity and contributions of the candidate.**

The candidate's scientific work is dedicated to the study of proteins involved in oncogenesis and the creation of potential anticancer drugs based on ferrocene complexes, combining several biologically active subunits in one molecule. In addition to the fundamental research, it also covers those with application in Gene Therapy, such as polymer-based nucleic acid delivery systems into the cell.

#### **3.1. Research related to the analysis of innovative and alternative compounds as potential chemotherapeutics.**

The main topics in the presented scientific research of Dr. Petrova and her collaborators are the overcoming of the inherent shortcomings of traditional chemotherapeutic agents, including ineffective induction of cell death, non-specific action, and acquisition of drug resistance. The strategies used are the synthesis and investigation of new molecular structures as potential anticancer drugs as well as the isolation of new compounds with antitumor properties from various natural sources (plants, fungi, and invertebrates). From the conducted biological experiments with ferrocene conjugates combining different biologically active centers, Dr. Petrova has established a specific cytotoxic effect of ferrocene-containing camphor sulfonamide on breast cancer and lung cancer cells. Preliminary data on the mechanism of the cytostatic and antiproliferative action of the substance were also obtained, indicating pro-apoptotic properties and influence on autophagy processes, cellular localization of key regulatory proteins and on the redox balance of cancer cells. The binding of piperazine to the amine of the sulfonamide fragment leads to an increase in solubility and cytotoxic potential (the dominant mechanism of cell death being necrosis), but also to a loss of selective action against cancer cells. In the alternative approach of increasing the solubility of the substance, by using polymeric nanocarriers, comparable antitumor activity to the free substance was found in the studied lung cancer model. This gives the authors reason to propose the developed micelle system as a suitable nanoplatform for the delivery of ferrocene-based organometallic chemotherapeutics. Dr. Petrova's research on the antitumor properties of natural products, including extracts isolated from the hemolymph of sea and garden snails, as well as from various types of fungi, allowed the identification of the extracts with the highest cytotoxic potential. This will help to establish the biologically active components in the studied extracts as well as their influence on the cell processes apoptosis and autophagy. The selective cytotoxic action of Cannabidiol against lung cancer cell lines has also been demonstrated.

### **3.2. Studies devoted to proteins with a role in oncogenesis.**

The influence of the HMGB1 (High Mobility Group Box 1) factor and its truncated form on the expression of the full form and soluble RAGE (receptor for advanced glycation end products) in breast and lung cancer models was investigated. Dr. Petrova shows that in more aggressive cancer cell lines the membrane form of the receptor predominates, while in those from cancers with a better prognosis the soluble form of RAGE is present in higher amounts. In another publication, Dr. Petrova finds that only the whole molecule of HMGB1 led to NF- $\kappa$ B activation, observed by translocation of the protein from the cytoplasm to the nucleus in cancer cell lines. To investigate the role of HMGB1 in the autophagy process, Dr. Petrova created lung carcinoma cells expressing HMGB1 fused to the C-terminus of green fluorescent protein (GFP). The created HMGB1-GFP biosensor is suitable for studying the processes of autophagy, apoptosis, and necrosis by monitoring the translocation of HMGB1 from the nucleus to the cytoplasm in living cells. In a review article, Dr. Petrova describes the various functions of nucleolin in oncogenesis, such as its role in ribosome biogenesis, DNA repair, cell division and epithelial-mesenchymal transition, genome stability, etc.

### **3.3. Studies of polymeric systems for the delivery of nucleic acids into the cell.**

The non-viral nucleic acid delivery systems researched by Dr. Petrova reveal the potential of three polyethylenimine copolymers to interact with DNA as well as to deliver DNA molecules into the cells. Cellular internalization and transfection efficiency were found to vary significantly depending on polyplex morphology and structure. The obtained copolymers, as well as their corresponding complexes with DNA, showed low cytotoxicity to the studied panel of human cell lines. A hydrophilic, non-ionic, and biologically tolerant polymer - linear polyglycidol - was also investigated, with the prospect of various biomedical applications. The compact structure and smaller sizes of the polyplex particles were found to be decisive for the low cytotoxicity and better biocompatibility. A new approach for the preparation of hollow spherical nucleic acids, with facilitated cellular internalization and lack of toxicity in the investigated cell lines, is also presented.

**4. Conclusion:** Dr. Maria Hristova Petrova developed her scientific work on a relevant topic with great impact on the identification of new molecular targets and compounds with chemotherapeutic potential, which can contribute for optimization of the anticancer treatment. Her scientific achievements are recognized internationally and exceed the requirements for holding the academic position of "Associate Professor". The field of her studies fully corresponds to the scientific topic followed in the "Structure and function of chromatin" section, for the needs of which the competition was announced. The candidate stands out with results contributing to the clarification of the fundamental mechanisms of the anticancer properties of 3 newly synthesized ferrocene conjugates. Her contributions are complemented by scientific and applied research that allows the development of a nanoplatform for the delivery of ferrocene-based organometallic derivatives and their potential application as chemotherapeutics. Another positive distinctive of the Dr. Petrova publications is the successful teamwork of molecular biologists in collaboration with chemists and pharmacologists. The combination of the achieved results and research on protein factors with a role in oncogenesis gives a clear perspective for fruitful future research activity. My personal

impressions for the candidate are that she possesses tolerance, initiative, an exceptional sense of responsibility, the ability to work in a team, as well as an approach to the distribution of functions and duties when organizing joint research activities. Based on the above, I give my positive assessment and strongly recommend to the respected Scientific Jury and the Scientific Council of the Institute of Molecular Biology "Rumen Tsanev" to approve the application of Dr. Maria Hristova Petrova for the academic position of "Associate Professor".

Sofia, 03/05/2024

/Dr. Temenouga Guecheva, Associate Professor/