

Рецензия

От доц. д-р Любомир М. Стоилов, секция „Молекулярна генетика”, Институт по физиология на растенията и генетика - БАН, член на научно жури на конкурс за заемане на академичната длъжност “професор” по научна специалност „Генетика”, шифър 01.06.06, обявен в ДВ бр. 62 от 12.08.2011г. за нуждите на Секция „Молекулярна генетика ” в Институт по физиология на растенията и генетика - БАН

Единственият кандидат, подал документи за участие в конкурса, е доц. д-р Елена Иванова Георгиева, Секция „Молекулярна генетика” – Институт по физиология на растенията и генетика, БАН. Представените материали и документирани научни постижения по форма и по съдържание отговарят на изискванията на СРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в БАН, както и на съответния Правилник на ИФРГ.

Доцент Е. Георгиева е завършила Биологическия факултет на СУ Кл. Охридски, специалност Биохимия и микробиология. Научният стаж на доц. д-р Елена Иванова Георгиева обхваща период от 41 год., от които 4 като специалист-биолог, 7 докторантура, 9 години научен сътрудник II-I ст. и 21 години ст.н.с. II ст., впоследствие доцент, първоначално в Института по молекулярна биология, а след защитата на научната и образователна степен доктор – в Института по генетика, БАН. Научната продукция на доц. Е. Георгиева за този период включва 53 публикации с общ импакт фактор 93.8, както и 24 участия в международни конгреси, конференции и симпозиуми и 23 участия в национални конгреси, конференции и симпозиуми с публикувани резюмета и постери. Трудовете на д-р Е. Георгиева са цитирани общо 406 пъти, изключително в международни издания и няколко дисертационни разработки в чужбина. Научните публикации, представени в конкурса за професор по научна специалност „Генетика” са 34 на брой, от които 17 в международни списания с импакт фактор, 5 в международни списания без импакт фактор, 2 в български списания с импакт фактор, 2 в български списания без импакт фактор, 6 доклада публикувани в пълен текст, 1 статия в книга и 1 научно-популярна изява.

Като учен д-р Георгиева се оформя първоначално в групата, ръководена от Акад. Р. Цанев, като защитената под негово ръководство дисертация „Изследвания върху белтъчния състав на хроматинови фракции, получени чрез нуклеазно разграждане” е детерминирала и едно от основните научни направления, в които д-р Георгиева

впоследствие се е изградила като специалист, а именно структурната и функционална организация на хроматина и регулацията на генната експресия в еукариотния геном.

Принципно, за да менажират своите сложни генни експресионни профили, еукариотните организми трябва да притежават комплексна система за тяхната регулация. За разлика от прокариотите, където транскрипцията се регулира основно чрез репресори и активатори, при еукариотите пакетирането на ДНК в хроматина а ргіогі подтиска придвижването на РНК полимеразата и достъпа на транскрипционните фактори, което налага значително ремоделиране на хроматиновите структури в хода на транскрипцията. Познанията за низшите нива на организация на хроматина, основно нуклеозомалния му строеж, са сравнително детайлни, докато висшите нива на организация, както и факторите, регулиращи тяхната конформация и връзката им с транскрипцията, са все още недостатъчно добре проучени. Това прави изследванията на д-р Георгиева в тази област много актуални. В тази ключова област от нейната изследователска дейност се открояват няколко основни направления.

Голяма група от изследвания, плод на плодотворно международно сътрудничество, са посветени на биологичната роля на пост-транслационното хистоново модифициране в растителния хроматин. Тук заслужават внимание проучванията върху ензимологията на хистоновото ацетиране като една основна хроматинова модификация, влияеща върху транскрипционната активност при еукариотите, както и връзката и с процесите на клетъчната диференциация при растенията. За първи път при растенията са анализирани двете основни ензимни активности – хистонова ацетилтрансфераза (ХАТ) и хистонова деацетилаза (ХД), като е доказано наличието на множествени форми на тези ензими при царевицата. Идентифицирани са две ядрени хистонови ацетилтрансферази, един цитоплазмен ензим и две ядрени хистонови деацетилази. Тези данни представляват пионерен симултантен анализ на хистонови ацетилтрансферази и хистонови деацетилази по време на клетъчната диференциация в хода на ранното покълване при царевицата. В тази връзка интерес представляват и данните относно пост-синтетично фосфорилиране на хистонови деацетилази. Резултатите, получени от д-р Георгиева и съавтори показват, че хистоновата деацетилаза HD1-A е фосфорилирана, въз основа на което се лансира предположението, че промяната в субстратната специфичност на ензима е в резултат от обратимо фосфорилиране.

Съществен компонент от тези изследвания са и разработките, анализиращи асоциирането на различните ензимни активности към хроматина при дрожди, царевица

и *Physarum*. Получените данни показват, че ензима HD-1A не е свързан с хроматина, а HD-2 е ензим, асоцииран с хроматина през целия период на покълване, като хистоновата деацетилаза HD-1B е представена както в хроматин свързаната, така и в разтворимата му форма. Установено е също, че двете ядрени хистонови ацетилтрансферази НАТ-А1 и НАТ-А2 са здраво свързани с хроматина. Въз основа на получените резултати е лансирана хипотеза, отреждаща ключова функция на тези ензими за свързването на регулаторни белтъци към хроматина, като деацетилирането на хистоните от специфични ХД играе ролята на регулаторен механизъм в ранните стадии на активирането на гените, за разлика от ролята на хистоновото ацетилиране за структурирането на нуклеозомите по време на транскрипцията. Към тези разработки трябва да бъдат отнесени и данните, показващи, че изоформите на хистони H3 и H4 с по-висока степен на ацетилиране имат и по-бърза електрофоретична подвижност, което дава възможност за първичен скрийнинг на свръхацетилирани хистонови модификации.

В рамките на това направление заслужават внимание изследванията на пост-транслационното хистоново ацетилиране на ниво индивидуални гени. Посредством метода на хроматиновата имунопреципитация (ChIP) е постигнато прецизно картиране на степента на ацетилиране на хистоните H3 и H4 в нуклеозомите, локализирани около промотора и в кодиращия участък на *SUC2* гена при див тип дрожди и мутантни щамове с делеция в гените, кодиращи различни хистонови ацетилтрансферази. Лансирана е хипотезата, че транскрипционната активност на *SUC2* е свързана повече със степента на ацетилиране на хистон H3, отколкото на H4, като експресията на този ген се регулира посредством реорганизацията на Tup1p белтъка около промотора и в кодиращия участък. Този резултат, публикуван в реномираното списание *Journal of Biological Chemistry*, заедно с проучванията върху механизмите на регулация на *MAT2A* гена при черен дроб от плъх и свързването на фактори и модифициращи ензимни комплекси към промотора на ранно-експресирания се миши ген *Egr1*, допринася съществено за изясняване на механизмите на регулация на генната експресия по време на клетъчното развитие при еукариотите. Тук трябва да бъдат отбелязани и резултатите, получени от д-р Георгиева в авторски колектив под ръководството на проф. J. Bennetzen върху картирането на местата на свързване на ядрения матрикс и анализа на транскрибиращите се секвенции в дълъг хромозомен участък, съдържащ царевичния *Adh1* ген, публикувани във високо-импактното списание *The Plant Cell*.

Към изследванията, насочени към анализ на механизмите на генната експресия при еукариотите, може да се причисли и скрийнинга за белтъци, асоциирани с ядрени прото-онкогени и туморно-супресорни гени в *Zea mays* по време на клетъчния цикъл. Получените резултатите показват наличието на хомолози на гръбначните c-тус, p-тус, c-fos, c-jun и p53 гени в генома на царевицата, като данните са потвърдени не само на белтъчно ниво, но и на ниво иРНК. Този факт показва, че в растителната клетка е вероятно хомолозите на тези силно консервативни белтъци, имащи функция главно на прото-онкогени при животинските клетки, да участвуват в регулаторни механизми, свързани с репликацията и репарацията на ДНК и при растенията.

Друго основно направление от изследователската дейност на д-р Е. Георгиева, където са получени значими резултати, както от фундаментално естество, така и с приложен характер, са проведените медико-биологични изследвания, насочени към анализ на генетичните и епигенетични механизми, участващи в регулацията на канцерогенезата при човека. Тук се открояват няколко основни разработки.

Изследван е ДНК-полиморфизмът и наличието на мутации в туморно-супресорния ген p53, както и ролята им за развитие на Балканската Ендемична Нефропатия (БЕН) като едно социално-значимо за Българската популация заболяване. Въз основа на хипотезата, че генетичните пътища, водещи до това заболяване, могат да бъдат опосредствани от дисфункция на туморно супресорния ген p53, 90 клинично дефинирани български БЕН-пациенти са анализирани за мутации в този ген чрез прилагане на оптимизиран PCR-SSCP-секвенционен анализ. Единични базови замени са детектирани в 10% от случаите. Хетерозиготното състояние на p53 мутациите, наличието им в кръвни проби на пациентите и фамилият характер на заболяването дават основание да се лансира предположението, че установените мутации в p53 гена имат герминативен характер. Три от доказаните p53 мутации са нови за българската популация и са инкорпорирани в международна база данни. Тези резултати показват, че промените в p53 вероятно са част от генетичния контрол на БЕН и имат значение, както за проследяване на развитието и унаследяването на заболяването, така и за терапията му.

Друга група изследвания са посветени на молекулярно-генетичен анализ на туморно супресорни гени и прото-онкогени при болни от рак на дебелото черво. Изследвани са български пациенти с рак на дебелото черво по отношение на мутационния статус на гените K-ras, B-raf и p53 от туморни, мукозни и чернодробни тъкани чрез комбинация от PCR-RFLP и PCR-SSCP подходи. Резултатите са допълнени

от секвенирането на мутациите в *K-ras*, *B-raf* и *p53*, като мутации в *p53* са намерени в 26% от извадката. Идентифицираните промени в *p53* гена са класифицирани като *pop-sense*, *mis-sense* и *frame-shift* мутации, както и интронни полиморфизми. Относително niskият процент от необичайни *p53* мутации вероятно е индикация за различия в мутационния товар при този вид рак в България в сравнение с други популации. Три от доказаните *p53* мутации са нови за България и са включени в международна база данни.

Една друга голяма група изследвания са насочени към сравнителен анализ на молекулярно генетични и клинични данни, приложими за установяване на корелативни връзки между мутационната честота и развитието на рак на млечната жлеза (РМЖ) при спорадични и фамилни случаи на това заболяване. Ракът на млечната жлеза заема ключово място в съвременната онкология тъй като представлява много значим диагностичен, терапевтичен и прогностичен проблем не само за България, но и в световен мащаб. Изследванията върху РМЖ в България, провеждани до неотдавна, са се свеждали главно до клинични, морфологични и епидемиологични аспекти на заболяването. Основна цел в изследванията на д-р Георгиева и съавтори е да се проучат функционалните връзки между мутационния товар, клиничното състояние на пациентите и развитието на РМЖ. За тази цел са проведени комплексни проучвания на мутационните спектри на гените *p53*, *BRCA1*, *ATM*, и *PIK3CA*, както и на профила на експресия на прото-онкогена *HER2* в група от 145 пациенти с РМЖ в представителни ДНК проби посредством оптимизиран PCR-SSCP-Секвениращ анализ. Чрез съпоставяне на генетичния статус със стандартните прогностични показатели е направена оценка на клиничното значение на тези гени, като са установени статически значими зависимости. Получени са оригинални данни за връзката между мутационните честоти и спектри на туморно-супресорните гени *p53*, *BRCA1* и *ATM* и прото-онкогените *PIK3CA* и *HER2* и клиничния статус при български пациенти с РМЖ. Установени са делеции, водещи до изместване рамката на четене, мутации, спиращи транслацията на иРНК и променящи състава на белтъка, както и полиморфизми в кодиращи и не кодиращи ДНК участъци, като установеният мутационен профил е специфичен за българската популация, като справка в международната база данни показва, че някои от тези мутации са установени за първи път. В тази връзка интерес представляват и данните за честотата и типа на мутациите в туморно супресорния ген *p53* в група от 100 болни с хистологично доказан инвазивен дуктален карцином на млечната жлеза и с фамилна обремененост. Установена е корелация между клиничната характеристика, хистологичната находка, хормоналния и възрастов статус при болни с и без мутация в *p53* гена. Като цяло

получените резултати са пионерни за България и могат да допринесат за изясняване на влиянието на геномната нестабилност върху патогенезата на рака на гърдата и за профилактиката и терапията на това социално-значимо заболяване.

Обстойният преглед на научно-изследователската дейност на доц. д-р Елена Георгиева ми дава основание да направя заключението, че тя е признат от международната общност учен с ясно обособен профил в областта на структурната и функционална геномика на еукариотите. Основните акценти на този профил са свързани с молекулярните механизми за регулация на генната експресия на различни нива на организация на еукариотния хроматин и генетичните и епигенетични механизми, участващи в регулацията на канцерогенезата. Признание заслужават и изследванията, посветени на разработване на молекулярни маркери за селекция на линии пипер, устойчиви на икономически важни болести и притежаващи ценни хранителни качества, както и на биотехнологични подходи за култивиране и размножаване на растителен материал.

Изследванията на д-р Георгиева са намерили трибуна в редица международни авторитетни издания, като листата на списанията с импакт фактор (сумарно над 80), представени в конкурса за професор, включва такива високо-импактни авторитетни издания като JBC, Planta и Plant Cell. В почти всички публикации доцент Е. Георгиева е първи, втори или последен автор, което е показател за нейния неоспорим принос при поставянето и разработването на съответния проблем, както и интерпретацията на получените резултати. В тази връзка искам да подчертая отново, че една съществена част от публикациите са плод на успешно сътрудничество с изявени институции и лаборатории от Европа и САЩ. Умението на д-р Георгиева да работи и ръководи колективни разработки е намерило потвърждение и в трудовете, публикувани у нас, където са осъществени плодотворни контакти с колективи от Медицинска академия. В този контекст е впечатляващо и осъщественото през годините от д-р Георгиева ръководство на значими международни проекти по линия главно на рамковите програми на ЕС и сътрудничество с университета във Валенсия, както и ръководството и участието в значителен брой национални проекти, главно с Фонда за научни изследвания, като привлечените средства надхвърлят 350 000 лв. Трябва да се отбележи и значимият брой млади учени и студенти, защитили или разработващи дисертации или дипломни работи под нейно ръководство. Всичко това убедително доказва способността на д-р Георгиева да организира и ръководи теми и тематични

направления от проблематиката на секция Молекулярна генетика при Институт по физиология на растенията и генетика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Познавам работата и развитието на доц. д-р Елена Георгиева от нейното постъпване в секция Молекулярна генетика на бившия Институт по генетика “Акад. Д. Костов” преди близо 30 години. Представените от доц. д-р Елена Георгиева материали за конкурса в тяхната съвкупност са убедително доказателство, че тя е доказан и авторитетен изследовател в областта на молекулярната биология и генетика на еукариотите. Тя участва в конкурса общо с 34 стойности научни труда, изработени през последните 20 години. Забелязани са 406 цитата на публикации от нейните изследвания. Значителна е активността и ангажираността и при обучение на докторанти и дипломанти, както и лекционната и дейност в България и в чужбина, като трябва да се отбележи и ръководството и участието в редица международни и национални проекти със солидно финансиране. Всичко това напълно съответства, а в много компоненти и значително надвишава критериите за заемане на длъжността професор, залегнали в ЗРАС и правилника към него, като и на съответните правилници на БАН и на Института по физиология на растенията и генетика. Въз основа на това убедено препоръчвам на Уважаемото Научно жури и на Уважаемия Научен съвет на Института по физиология на растенията и генетика да присъди академичната длъжност „ПРОФЕСОР” по научната специалност “Генетика” за нуждите на Секция „Молекулярна генетика” в Институт по физиология на растенията и генетика - БАН на доц. д-р. Елена Иванова Георгиева.

София, 23.11.2011 г.

Рецензент:

/доц. д-р Любомир Стоилов/