

**Програма за ръководство на**  
**Лаборатория по репродуктивни ОМИКС технологии към Институт по Биология и**  
**Имунология на Размножаването – Българска Академия на Науките**

*Проф. дбн Красимира Тодорова*

На 26.01.2015г. след решение на НС при ИБИР, БАН и заповед на Директора, бе създадено самостоятелното научно звено „Лаборатория по репродуктивни ОМИКС технологии“. През януари 2017г. с избор на НС бе избран за ръководител на лабораторията проф. Красимира Тодорова-Хайрабедян. В състава на лабораторията влизат 4-ма хабилитирани учени, 1 главен асистент, 1 асистент и 3-ма докторанти (1 редовна форма на обучение и 2 задочна форма на обучение), 4-ма докторанти са отчислени с право на защита.

Състав на лабораторията:

Ръководител: проф. Красимира Тодорова, дбн

Сътрудници:

проф. д-р Сорен Хайрабедян, дбн;  
доц. Диана Зашева, дб  
доц. д-р Велислава Терзиева, дб;  
гл. ас. Андрей Величков, дб;  
ас. и докторант Илка Цветкова;  
докторант Габриел Елмаджиян;  
докторант Радослав Иванов

Докторанти, отчислени с право на защита:

Радостина Цветанкова;  
Лейля Сезер;  
Албена Памукова;  
Елина Аврамска

Основните научни направления, по които се работи в лабораторията са свързани с туморната биология и имунология, вроден имунитет и изследвания на преимплантационни фактори със значение за асистираните репродуктивни технологии.

През изминалият период в лабораторията бяха извършени фундаментални изследвания, които бяха публикувани в реферирани списания (38 бр./25 бр. с участието на проф. К Тодорова),

издадени в 2 монографии и бяха докладвани на международни научни форуми (над 25 съобщения), както и бяха основа за спечелването на COST акции, проекти финансирани от ФНИ, инфраструктурни проекти. В същият период бяха извършени изследвания с приложен характер, които бяха включени в 2 патента (1 национален и 1 международен).

## I. Научни изследвания

Научно-изследователска дейност в областта на репродуктивната имунология и туморната биология:

- Роля на вродена имунна клетъчна сигнализация (NOD1, NOD2, TLR4, TLR2) в клетките на Сертоли, инфламазомни мрежи в неимунни клетки, активирани патологични и регулаторни Т-субпопулации с роля за мъжкия инфертилитет – ръководител: проф. С. Хайрабемян.
- Omics методи за определяне на генно-регулаторните мрежи в клетки на Сертоли и простатна канцерогенеза – биоинформатичен анализ на протеомни и транскриптомни данни, структурното моделиране на молекули; Микро РНКи, транскрипционни фактори и онкофузионни протеини в простатната канцерогенеза с диагностично и терапевтично значение - ръководител проф. К. Тодорова-Хайрабемян.
- Изследване на молекулни механизми на действие на пре-имплантационен фактор (PIFTM) (научна колаборация с BioIncept LLC., US) с методи за рекомбинантна ДНК и директна пептидна експресия, анализ и валидиране на рецептор-лигандни взаимодействия (*in silico* mutagenesis & docking, TSA), функционално валидиране на калиев флукс под действие на PIF (FluxOR), протеомен анализ на PIF реактом и др. Ръководители: проф. Сорен Хайрабемян и проф. Красимира Тодорова.
- Сравняване на протеомния профил на растенията от групата на възкръсващите *Haberlea rhodopensis*, *Boea hygrometrica* (възкръсващо растение, обитаващо определени области в Китай) и *Ramonda serbica* (възкръсващо растение, разпространено предимно в Сърбия и с ограничени местообитания в Стара планина) в условия на засушаване. Ръководител: доц. Диана Зашева.
- Изследване процесите на изход от митоза при дрожди *Saccharomyces cerevisiae* Изследван е ефектът на свръхекспресия на рибоозмалния протеин Rps27Bp върху различни мутации в NUD1 гена на дрожди. NUD1 генът е хомолог на човешкия ген за центриолин. Мутации в този ген водят до арест на митозата в клетките поради неправилна ориентация на делителното вретено. Изследване на процесите на изход от митоза при дрожди е моделна система за изясняване механизмите на клетъчното деление при висши еукариотни организми. Ръководител: доц. Диана Зашева.
- Изследвания, свързани с ефекта на 5 молекулни комплекси на о-нитрофенантролина върху метастатични карциномни клетъчни линии PC3 (простатна метастатична карциномна клетъчна линия) и MCF7 (матастатична клетъчна линия от плеврален ефузат от рак на гърдата). През настоящия период беше установен ефектът на молекулните комплекси на о-нитрофенантролина върху бактерии, както и хаплоидни и диплоидни дрожди и върху дрожди, носещи мутация в гена NUD1 (ген от системата

за изход от митоза). Тези изследвания са проведени в ИМБ, БАН. Ръководител: доц. Диана Зашева.

- Изследване на нарушенията в кръвно-газовата бариера и кръвоносните съдове, предизвикани от специфични генни продукти на SarsCov2, активиращи инфламазомите, чрез използване за първи път в страната на модел "organ on chip". Ръководител: проф. Сорен Хайрабдян.
- Системно биологично идентифициране на сигнални пътища подпомагащи избягването от имунния надзор, в карциномни клетки със стволови характеристики. Ръководител: проф. Красимира Тодорова.

#### Научни интересни

- вроден имунен сигналинг в репродуктивната система
- пептидни медиатори със значение за имплантацията
- туморна биология, ракови стволови и прогениторни клетки
- количествени и статистически подходи за разкриване на сложни взаимовръзки между мултифакторни биологични процеси; биоимиджинг, геномика, протемика – като подходи за генериране на мултидименсионални данни с биологично значение; медицинска информатика и биоинформатика

#### II. Проектна дейност:

1. COST Action CA15138, TRANSAUTOPHAGY (2017-2019) – Членове на Управителния комитет на COST Акция проф. Сорен Хайрабедян и проф. Красимира Тодорова. Организиране и провеждане на годишна среща на всички участници в акцията в София.
2. Съфинансиране към програма КОСТ за срок 3 години (2018-2021), предоставено от ФНИ. Ръководител: проф. д-р Сорен Хайрабедян, участници: проф. Красимира Тодорова, докторанти Елина Аврамска-Васева, Албена Апостолова, Илка Цветкова, Радостина Цветанкова, Габриел Елмаджиян
3. Консорциумен проект със СУ „Св. Климент Охридски“ и ИБФБМИ – БАН за изграждане на Научна инфраструктура за „Клетъчни технологии в биомедицината“ (НИ КТБ) и интеграция с Европейската изследователска инфраструктура за транслационна медицина EATRIS, по програма за Национална пътна карта за научна инфраструктура, Финансиран от МОН (2019-2022), Ръководител за ИБИР: Проф. С. Хайрабедян
4. Консорциумен проект с ИБФБМИ – БАН за изграждане на Научна инфраструктура за „Национален център по биомедицинска фотоника“ (НЦ БМФ) по програма за

Национална пътна карта за научна инфраструктура, Финансиран от МОН, 2017-2021, Ръководител за ИБИР: Проф. С. Хайрабедян

5. Национална научна програма „Репробиотех“ (2019-2021), Финансиран от Фонд Научни Изследвания към МОН, с участници проф. С. Хайрабедян, проф. К. Тодорова, доц. Диана Зашева, ас. Илка Цветкова
6. Национална научна програма „Интеживо“ (2021-2023), Финансиран от Фонд Научни Изследвания към МОН, с участници проф. С. Хайрабедян, проф. К. Тодорова
7. По проект N BG 051PO001-3.3.06-0059, Развитие на докторанти, постдокторанти, специализанти и млади учени, финансиран от Европейски социален фонд, Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” с ръководител доц. Милена Мурджева през 2015 година са проведени цикъл лекции и упражнения на тема „Апотоза и тумори” от доц. Диана Зашева
8. Тема на проекта: “Епигенетичен анализ и изследване експресията на гени в процеса на диференциация на човешки мезенхимни стволови клетки”; Млад учен ръководител на проекта: гл. ас. Елена Христова; Научен консултант: проф. д-р Сорен Хайрабедян, дбн
9. Тема на проекта: "Изследване ролята на микро - РНК-141 и промяната в профила на дългите некодиращи РНКи и клетъчния транскриптом в простатната карциногенеза за целите на персонализираната медицина" с научен консултант на проект финансиран по „Програма за подпомагане на млади учени и докторанти в БАН“ – проф. Красимира Тодорова и ръководител Албена Памукова.
10. Тема на проекта: „Изследване на неканоничната инфламазомна вродена имунна сигнализация в епителни клетки, имащи значение за развитие на автоимунна патология, в това число и имунологично обусловен мъжки инфертилитет, с помощта на транскриптомика (RNA-seq) и епигенетика (5 meC-seq), чрез директно молекулно секвениране от 3-то поколение“; ДФНП-17-141/01.08.2017; консултант проф. Сорен Хайрабедян, ръководител д-р Елина Аврамска.
11. Програма „Студентски практики“ (BG051PO001-3.3.07-0002) с ръководители проф. Красимира Тодорова, проф. Сорен Хайрабедян, доц. Диана Зашева

12. Проект: „Потенциращ ефект на екстракт от *Haberlea rhodopensis* върху антигуморното действие на Бауман-Бърк протеазен инхибитор на моделна система метастатични клетъчни линии-карцином на гърдата“. Ръководител: доц. Диана Зашева

### **III. Патенти:**

1. Publication number US20160263186 A1 Publication date Sep 15, 2016, Inventors: Eytan R. Barnea, Soren Bohos HAYRABEDYAN, Pif-transfected cells and methods of use.
2. Издаден от Национално патентно бюро „МЕТОД И КИТ ЗА ОТКРИВАНЕ НА ОНКОФУЗИОНЕН ПРОТЕИН“, Заявител: ИБИР-БАН, Красимира Тодорова, Сорен Хайрабедян, Изобретатели: Красимира Тодорова, Сорен Хайрабедян, 2020

Спечелена награда за „Изобретател на годината 2021г.“ в категория „Химия и биотехнологии“. Проф. К. Тодорова-Хайрабедян бе наградена от Патентно ведомство и Съюза на изобретателите.

### **IV. Преподавателска и рецензентска дейност:**

Проф. Сорен Хайрабедян и проф. Красимира Тодорова бяха поканени като външни экзаминатори към Университетът в Есекс, Великобритания. Бяха проведени общо 3 публични защиты. Проф. С. Хайрабедян бе изпитващ за докторантите Палави Джейн (2015г.), Хюсеин Алсадах (2016 г.). проф. К. Тодорова бе изпитваща за Уалиид Абдул (2016г.).

През 2015г. и 2016г. са защитени 2 дипломни работи в СУ „Св. Климент Охридски“ с ръководител доц. Диана Зашева.

През 2017г. е защитена дипломна работа в СУ „Св. Климент Охридски“ с ръководител доц. Велислава Терзиева.

През 2017г. и 2018г. са защитени 2 дипломни работи в СУ „Св. Климент Охридски“ с ръководител проф. Красимира Тодорова.

През 2018г. е защитена дипломна работа в СУ „Св. Климент Охридски“ с ръководител проф. Сорен Хайрабедян.

Осъществени са множество рецензии за: конкурси за заемане на академична длъжност „Доцент“ и „Професор“ към ИБИР и други институти на БАН, рецензии на дисертации за ОНС „доктор“ и НС „доктор на науките“ към Медицински Университет в Пловдив, МА – София, БФ на СУ и рецензии към реферирани списания.

### **V. Научни сътрудничества:**

Национални научни сътрудничества:

СБАЛХЗ, София;

АгроБиоИнститут, София;

Биологически Факултет, СУ;

Институт по молекулярна биология, БАН;

Катедра „Органична химия” на ХТМУ;

Международни научни колаборации:

Университетът в Есекс, Великобритания (проф. Н. Фернандез, д-р М. Методиев);

Университетът в Милано, Италия (доц. Франческо Риа);

БиоИнсепт компания САЩ (д-р Игън Барнеа);

Бейкър Институт, Мелбърн, Австралия (проф. Питър Каралхайнц);

Университетът Корнел, Итака Ню Йорк, САЩ (проф. Робърт Жилберт);

Болница Хенри Форд, Мичиган, САЩ и Институт Бар и Лан, Израел (проф. Чая Броди);

#### **VI. Кариерно развитие:**

1. Защита на две дисертации за научна степен “доктор на науките” през 2015г. и 2016 г. – проф. Красимира Тодорова и проф. Сорен Хайрабемян
2. Придобиване на академична степен “Доцент” през 2015г. - д-р Диана Зашева
3. Защитена докторска дисертация през 2021г. – Андрей Величков с ръководител доц. Велислава Терзиева
4. Успешно проведен конкурс за главен асистент през 2021г.
5. Успешно проведени два конкурса за академична степен “Професор” (през декември 2016г., и през януари 2017г.)

#### **VII. Бъдещи изследвания и развитите на лабораторията:**

От проект за съфинансиране на работни групи по програма COST към ФНИ е закупен секвенатор от ново нанопорово поколение, който е внедрен в лабораторията. Проведени са изследвания за секвениране на цял транскриптом на кДНК и директно на РНК. С помощта на новата технология ще бъдат изследвани дълги некодиращи РНКи, всички транскриптомни изоформи, резултат на алтернативно снаждане, и свързаните промени в епигенома и

епитранскриптома, при различни физиологични и патологични състояния в репродукцията и простатната биология и патология. За целта ще се разработват нови методи и протоколи за директен анализ на метилирането и други модификации на базите на ДНК, както и директен анализ на базите на РНК. Тези методи намират приложение и при охарактеризиране на качеството и оплодителните способности на спермата в АРТ и биотехнологиите за репродукция, като в тази посока ще се работи по подходи за обогатяване на епигенетично модифицирана ДНК, в съчетание с достъпност на секвенирането.

Лабораторията е активен участник в инициативата на консорциума за изграждане Научна Инфраструктура за Клетъчни технологии в биомедицината, по която се изграждат няколко технологични платформи, включително платформа за секвениране на транскриптом на единични клетки. По проект финансиран от ФНИ с Ръководител проф. К. Тодорова се разработва ценово достъпна методология за scRNA-seq, в която се комбинира микрофлуидно клетъчно баркодиране с нанопораво секвениране на цели транскриптоми с дълги прочети. В новите непосредствени планове на Лабораторията са разработката на други подходи за scRNA-seq, основавани на баркодиране с наноямкови чипове, както и в 384 ямкови плаки. Последните са приложими при характеризирането на редки клетъчни субпопулации.

Друго основно направление е свързано с разработката на физиологично релевантни модели на основата на биопринтиране или посредством отглеждане на клетъчни ко-култури в микрофлуидни чипове, означени като „*орган в чип*“ - ОoС. По последното направление Лабораторията има спечелен проект по програмата за Обществени предизвикателства за КОВИД-19, по който се разработват модели на съдова и ендотелна увреда, опосредствана от инфламазомна активация от гени на вируса SARS-COV-2. Разработва се модел на кръвно - газова бариера в специален чип.

Трето основно направление е свързано с индустриални колаборация и транслационни изследвания с приложение в персонализираната медицина. Първата ни индустриална колаборация беше с американската компания „BioIncept LLC.“, за която разработихме вектори за еукариотна експресия на Преимплантационен фактор (PIF<sup>TM</sup>) и комбинирана платформа за *ин силико* пептиден дизайн и докинг с биофизично и клетъчно биологично валидиране. По-голяма част от резултатите са патентовани и публикувани. Такъв е и разработения от проф. Тодорова и проф. Хайрабемян метод и кит за детекция на протеиновите продукти на генната фузия TMPRSS2:ERG, за който проф. Тодорова бе наградена през 2021 год. с приза "Изобретател на годината", в категория Химия и биотехнологии. Планира се разработка на подобрена версия на метода, както и извеждане и валидиране на нови прицелни молекули, имащи роля в избягването на туморните клетки от имунния надзор.

Предстоят защити на дисертационни трудове на всички докторанти, с ръководители проф. Красимира Тодорова и проф. Сорен хайрабедян и на дипломант Елена Койчева с ръководител проф. К. Тодорова.

Бъдещите изследвания на проф. К. Тодорова са свързани с разширяване на проучванията относно ролята на микроРНКи и дълги некодиращи РНКи в туморната патогенеза. В тези изследвания ще работят и младите учени в лабораторията.

Лабораторията е активен участник и в момента към проект Студентски практики с ръководител проф. Красимира Тодорова.

Бъдещите изследвания на доц. Диана Зашева ще бъдат свързани с ефект на протеазни инхибитори от растителен произход върху клетъчни линии с произход от карцином на гърдата. Тази тема ще бъде осъществявана съвместно с учени от Институт по физиология на растенията и генетика към БАН и Агробиоинститут от Селско-стопанска академия, по проект „Потенциращ ефект на екстракт от *Haberlea rhodopensis* върху антитуморното действие на Бауман-Бърк протеазен инхибитор на моделна система метастатични клетъчни линии-карцином на гърдата“.

От 2020 г. към лабораторията се присъединиха доц. Велислава Терзиева и гл. ас. Андрей Величков. Те разработват тематика, свързани с ролята на регулаторните Т-клетки и репродуктивните проблеми по проект ДН 03/4, „Молекулярни механизми на имунния толеранс – значение на ендокринната среда за функцията на регулаторните Т-клетки“, както и ролята на SARS-CoV-2 в патогенезата на дълъг КОВИД-19.

Лабораторията участва в две Национални научни програми, като едната приключи успешно, а другата е в ход. По ННП „ИнтеЖиво“ настоящите и планираните бъдещи изследвания са провеждани в колаборация с колеги от секция „Имуноневроендокринология“. По проекта са предвидени разработки в областта на приложение на машинно зрение и машинно обучение/изкуствен интелект за разпознаване на „репродуктивно качествени“ гамети само по морфологичен образ, чрез машинно обучение посредством флуоресцентни маркери за виталност, митохондриален потенциал, апоптоза, нуклеарен интегритет. Друго направление по програмата е разработването на икономически достъпен метод за секвениране на острови на ДНК метилиране („репродуктивно качествени“ гамети).

Така посочените факти и планове са предпоставка за успешното развитие на лабораторията в следващите 5 години.