

**Резюмета на публикациите на доц. Сашка Крумова за участие в конкурса
за заемане на академичната длъжност „професор“**

1. Todinova S. J., **Krumova S. B.**, Radoeva R., Gartcheva L., Taneva S. G., Calorimetric markers of Bence Jones and nonsecretory multiple myeloma serum proteome. *Analytical Chemistry* (2014) 86, 24, 12355-12361, DOI:10.1021/ac503677d. ISI IF:5.636, Q1/Q1

На български език:

Тодинова С.Ж., **Крумова С.Б.**, Радоева Р., Гърчева Л., Танева С.Г. Калориметрични маркери в серумния протеом за диагностика на Бенс Джоунс и несекреторен миелом

Настоящата работа изследва термодинамичното поведение на кръвния серум от пациенти, диагностицирани с мултиплен миелом тип Бенс Джоунс (ВJMM) и несекреторен миелом (NSMM) посредством диференциална сканираща калориметрия (DSC), серумна белтъчна електрофореза и тест за свободни леки вериги. Установени са специфични промени в термодинамичните характеристики на серумния протеом на ВJMM и NSMM. На база на температурите на денатурация на основните преходи в калориметричните профили и критерия за подобие във формата, са дефинирани ВJMM и NSMM групи/подгрупи от термограми с подобни термодинамични характеристики. Показано е, че някои от ВJMM и NSMM подгрупите корелират с групи, дефинирани от нас за секреторен миелом в предишна наша работа (Todinova et al. *Anal. Chem.* 2011, 83, 7992). Установените аналогии дават силно основание да се счита, че общи молекулни маркери допринасят за калориметричните профили на различните секреторни и несекреторни типове миелом; нашите данни предполагат, че това са лиганди стабилизиращи основните серумни белтъци. Демонстрирано е, че калориметричният подход може да бъде изключително полезен особено за NSMM пациенти, тъй като характеристикните модификации на DSC профилите могат да служат като калориметрични маркери, в случаите когато моноклонални белтъци не могат да бъдат детектирани в кръвния поток и диагнозата се основава на инвазивни методи.

2. Danailova A., Dzhonova D., Todinova S., Gartcheva L., Taneva S., **Krumova S.** Serum NAD(P)H fluorescence vs. serum proteome calorimetry for IgM multiple myeloma discrimination. *J. BioSci. Biotechnol.* (2015), SE/ONLINE: 49-53

На български език:

Данаилова А., Джонова Д., Тодинова С., Гърчева Л., Танева С., **Крумова С.** Сравнение на флуоресценцията на серумния НАДФ(Н) и калориметричните профили на серумния протеом при пациенти с IgM мултиплен миелом

Мултипленият миелом (ММ) е все по-често срещано хематологично заболяване. Благодарение на разработването на нови средства за диагностика и мониториране на ефекта на лечение, се наблюдава значително подобрене по отношение на оцеляването на пациентите, но все още метод за пълно лечение не е разработен и природата на заболяването остава ненапълно изяснена. Наши предишни изследвания демонстрираха потенциала на диференциалната сканираща калориметрия (ДСК) за класифицирането на различни ММ типове в специфични калориметрични групи, с цел разграничаването им от здрави контроли. В настоящата работа

изследваме потенциала на друга биофизична техника, базирана на флуоресцентните свойства на НАДФ(Н), за която се твърди, че детектира метаболитна дисфункция при ракови заболявания. За целта изследвахме група от пациенти, диагностицирани с ММ със секреция на моноклонален имуноглобулин М (IgM), които са характеризирани по базисни клинични критерии. Нашите данни разкриват, че само около половината от изследваните пациенти могат да бъдат дискриминирани на база флуоресценция на НАДФ(Н) и показват, че способността на флуоресцентния подход за детекция на ракови заболявания е много по-ниска от тази на ДСК.

3. **Krumova S. B.**, Todinova S. J., Danailova A., Petkova V., Dimitrova K., Gartcheva L., Taneva S. G., Calorimetric features of IgM gammopathies. Implication for patient's diagnosis and monitoring. *Thermochimica Acta* (2015) 615, 23-29, DOI:10.1016/j.tca.2015.07.002. ISI IF:2.184, Q1/Q2

На български език:

Кримова С.Б., Тодинова С.Ж., Данаилова А., Петкова П., Димитрова К., Гърчева Л., Танева С.Г. Калориметрични характеристики на IgM гамопатии. Приложение за диагностика и мониториране на пациенти

Серумният протеом на пациенти с гамопатия със секреция на моноклонален имуноглобулин М (IgM) и доагностицирани с мултиплен миелом или макроглобулинемия на Валденстрьом бе характеризирани с диференциална сканираща калориметрия и тест HevyLite™. Термодинамичните характеристики на термограмите и тяхното отклонение от типичните профили за здрави индивиди корелираха с концентрацията на моноклоналните белтъци и нивото на моноклонални IgM тежки/леки вериги. Мониторирането на пациентите в хода на тяхното лечение показва, че вариациите във формата на калориметричните профили съответстват на флуктоациите в нивата на IgM тежки/леки вериги, валидирайки двата параметъра като неинвазивни маркери за прогресия на заболяването.

4. Todinova S., **Krumova S.**, Andreeva T., Dimitrova K., Gartcheva L., Taneva S. G., Unusual thermal transition in the serum calorimetric profile of a patient diagnosed with multiple myeloma with secretion of monoclonal κ free light chains: a case report. *Cancer Research Frontiers* (2016) 2, 3, 416-426, DOI:doi: 10.17980/2016.416.

На български език:

Тодинова С., **Кримова С.**, Андреева Т., Димитрова К., Гърчева Л., Танева С.Г. Уникален случай на необикновен температурен преход в калориметричния профил на кръвен серумен на пациент, диагностициран с мултиплен миелом със секреция на моноклонални κ свободни леки вериги

Диференциалната сканираща калориметрия (DSC) се развива успешно в последните години в посока на характеризирани на кръвна плазма и серум. Значителен брой публикации разкриват потенциала на тази техника да идентифицира калориметрични маркери, специфични за различни заболявания и отделните им стадии. В наши предишни изследвания ние ясно демонстрирахме, че DSC може да се използва за класифициране на случаи на мултиплен миелом в различни калориметрични групи, чиито термодинамични параметри са силно повлияни от нивото и изотипа на секретирани моноклонални имуноглобулини или свободни леки вериги (FLC). В настоящата работа изследваме уникален случай на мултиплен миелом със секреция на моноклонални κ FLC (стадий III според ISS класификацията). Отчетени са високи серумни нива на FLC (около 20% от общото белтъчно съдържание), които остават постоянни за

периода на проследяване от 1 година. Калориметричният профил на серума разкри наличието на необикновен калориметричен преход при 46-47 °С, уникален сред близо 500 случаи на мултиплен миелом, изследвани от нас до този момент. Преходът беше приписан на нестабилни моноклонални леки вериги, които водят и до формирането на аморфни агрегати (визуализирани с атомно силова микроскопия) в серума на пациента. Допълнителни изследвания на пациенти с подобни калориметрични характеристики са необходими, за да се изследва до каква степен появата на преход при 47 °С и агрегацията на белтъци са свързани с агресивността на болестта и/или с друга патология.

5. Danailova A., Todinova S. J., Dimitrova K., Petkova V., Guenova M., Mihaylov G., Gartcheva L., **Krumova S.**, Taneva S. G., Effect of autologous stem-cells transplantation of patients with multiple myeloma on the calorimetric markers of the serum proteome. Correlation with the immunological markers. *Thermochimica Acta* (2017) 655, 351-357, DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2017.08.001>. ISI IF:2.189, Q2/Q2

На български език:

Данаилова А., Тодинова С., Димитрова К., Петкова В., Генова М., Михайлов Г., Гърчева Л., **Кримова С.**, Танева С. Ефект на автоложна трансплантация на стволови клетки при пациенти с мултиплен миелом върху калориметричните маркери на серумния протеом. Корелация с имунологичните маркери

Термодинамичната стабилност на биологични течности се изследва интензивно посредством диференциална сканираща калориметрия (ДСК) - биофизична техника, която измерва температурно-индуцираните конформационни преходи в биомолекули в разтвор. В настоящата работа използваме калориметричния подход за мониториране на пациенти с мултиплен миелом, претърпяли автоложна трансплантация на стволови клетки. Термодинамичните параметри, определени от калориметричните профили на кръвни серуми, получени преди и по време на различни периоди от време след трансплантацията, са сравнени с промените в нивата на секретиранияте парапротеини, моноклонални леки и тежки вериги, с цел да се търсят корелации между калориметричните маркери и имунологичните индикатори за прогностика и мониториране на отговора към лечение. Установено е, че промяната в нивата на парапротеините и следователно в клиничния статус на пациентите, е ясно отразена в серумните термограми. Нашето изследване доказва потенциала на микрокалориметрията като неинвазивно средство за мониториране на пациенти, претърпяли автоложна трансплантация на стволови клетки.

6. **Krumova S.**, Todinova S., Mavrov D., Marinov P., Atanassova V., Atanasov K., Taneva S. G., Intercriteria analysis of calorimetric data of blood serum proteome. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (2017) 1861, 409-417, DOI:dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.10.012. ISI IF:3.679, Q1/Q1

На български език:

Кримова С., Тодинова С., Мавров Д., Маринов П., Атанасова В., Атанасов К., Танева С.Г. Интеркритериален анализ на калориметрични данни, получени за протеом на кръвен серум

АКТУАЛНОСТ: Биологичната калориметрия навлезе в нова фаза на развитие, където потенциала за диагностика на заболявания е ясно осъзнат. Голямо разнообразие от ракови и имунологични заболявания са характеризирани на базата на диференциална сканираща калориметрия (ДСК) и са представени типичните за тях термодинамични профили.

Понастоящем основното предизвикателство пред ДСК не е натрупването на експериментални данни, а развитието на аналитични протоколи за надеждно стратифициране/класифициране на данните и идентифициране на специфични за дадено заболяване характеристики (калориметрични маркери).

МЕТОДИ: В тази работа прилагаме ИнтерКритериален Анализ (ИКА), комбиниран с корелационен анализ по Пиърсън и Спийрман, към голяма база данни от калориметрични и биохимични параметри, получени за серумния протеом на пациенти, диагностицирани с мултиплен миелом (ММ).

РЕЗУЛТАТИ: Идентифицирани са интеркритериални зависимости, които са общи за различните типове ММ и следователно могат да бъдат считани за характерни за това силно хетерогенно заболяване: силен принос на концентрацията на моноклоналните (М) белтъци към топлинния капацитет на температурния преход, приписван на имуноглобулини; отместване на прехода, асоцииран с албумин и припокриването му с този на глобулините; силно отместване на прехода на глобулините, дължащо се на конформационни промени в М белтъците.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ: Нашите данни дават основание да се счита, че ИКА може да бъде приложен за дешифриране на комплексното термодинамично поведение на серумния протеом при ММ пациенти.

ГЕНЕРАЛНО ЗНАЧЕНИЕ: Приложеният подход е подходящ за широко приложение в анализа на биокалориметрични данни, тъй като може да спомогне за идентифицирането на термодинамични характеристики на различни заболявания.

7. Todinova S., **Krumova S.**, Danailova A., Petkova V., Guenova M., Mihaylov G., Gartcheva L., Taneva S. G., Calorimetric markers for monitoring of multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia patients. European Biophysics Journal with Biophysics Letters (2018) 47, 5, 549-559, DOI:10.1007/s00249-018-1277-3, ISI IF:1.472, Q2/Q3

На български език:

Тодинова С., **Кримова С.**, Данаилова А., Петкова В., Генова М., Михайлов Г., Гърчева Л., Танева С.Г. Калориметрични маркери за мониториране на пациенти с мултиплен миелом и макроглобулинемия на Валденстрьом

Кръвният протеом се изследва интензивно с цел идентифициране на нови и достоверни биомаркери за различни заболявания. В последните години диференциалната сканираща калориметрия се разглежда като ново средство за характеризирането на термодинамичните свойства на основните серумни/плазмени белтъци и за установяването на калориметрични маркери за различни заболявания. В настоящата работа прилагаме калориметрия за мониториране на ефекта на лечение на пациенти, диагностицирани с мултиплен миелом и макроглобулинемия на Валденстрьом, върху калориметричните профили на кръвния серум на пациентите. Параметрите, получени от калориметричните профили, са сравнени с основните серумни биомаркери, концентрацията на моноклонален имуноглобулин (М белтък), и отношението на κ/λ свободни леки вериги. За секреторните случаи, калориметричните параметри подобие във формата на термограмите и център на тежестта на термограмите силно зависят от нивата на М белтъците, но имат по-ниска чувствителност и специфичност. За несекреторните случаи обаче, калориметричните параметри не зависят от отношението на κ/λ

свободни леки вериги и показват значително по-голяма чувствителност и специфичност от нивата на М белтъците. Комбинирането на имунологичните и калориметричните тестове доведе до силно подобряване на чувствителността и специфичността на оценката на клиничния статус. Отчетливите разлики в термограмите на кръвен серум, преди и по време на периода на мониториране, отразяват индивидуалния отговор към приложеното лечение и показват запазване на хетерогенността по време на развитието на болестта.

8. Todinova S., **Krumova S.**, Gartcheva L., Dimitrova K., Petkova V., Taneva S.G., Calorimetric manifestation of IgA monoclonal immunoglobulins in multiple myeloma sera. *Thermochimica Acta* (2018) 666, 208-211. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2018.07.005>, ISI IF:2.189, Q2/Q2

На български език:

Тодинова С., **Крумова С.**, Гърчева Л., Димитрова К., Петкова В., Танева С.Г. Калориметрични характеристики на IgA моноклонални имуноглобулини в кръвен серум на пациенти с мултиплен миелом

Мултиплен миелом (ММ) със секрция на моноклонален имуноглобулин А (IgA) е сред често срещаните типове миелом. Диагнозата на IgA ММ се базира на набор от клинични и параклинични маркери, основният от които е нивото на IgA парапротеин. Един от недостатъците на диагностицирането и мониторирането на IgA ММ, особено при ниски нива на IgA белтък, е мигрирането на моноклоналния IgA в ивицата на β -глобулините в профила на серумна белтъчна електрофореза, където се припокрива с нормалните β -глобулини (продуцирани при здрави индивиди) и следователно не е ясно различим. Настоящата работа изследва ефекта на IgA моноклонални имуноглобулини върху термограмите на кръвен серум от пациенти с мултиплен миелом. Показано е, че електрофоретичната подвижност на IgA парапротеините е свързана с променени междумолекулни взаимодействия, вероятно в резултат от формиране на IgA олигомери и/или комплекси на IgA с албумин. Демонстрирано е, че високите нива на IgA водят до специфични калориметрични характеристики, които отличават IgA ММ от другите подтипове ММ.

9. **Krumova S. B.**, Rukova B., Todinova S. J., Gartcheva L., Milanova V., Toncheva D., Taneva S. G., Calorimetric monitoring of the serum proteome in schizophrenia patients. *Thermochimica Acta* (2013) 572, 59-64, <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.09.015>, IF:2.105, Q2/Q2

На български език:

Крумова С.Б., Рукова Б., Тодинова С.Ж., Гърчева Л., Миланова В., Тончева Д., Танева С. Г. Калориметрично мониториране на серумния протеом при пациенти с шизофрения

Шизофренията е многофакторно психично разстройство с висока честота. Поради хроничната си и повтаряща се природа е необходимо да се идентифицират маркери за ранна детекция на психоза и обективна оценка на ефекта на приложеното лечение (обикновено с антипсихотични средства). В настоящата работа прилагаме диференциална сканираща калориметрия (ДСК) за термодинамично характеризирани на серумния протеом на пациенти с параноидна шизофрения, подложени на рутинно антипсихотично лечение, в сравнение със здрави контроли. ДСК разкри значителни модификации в термодинамичното поведение на кръвен серум от пациенти с шизофрения, като цялостния термодинамичен профил беше променен при

всички изследвани случаи. Калориметричните профили са класифицирани в четири различни групи, отразяващи различната температурна стабилизация на представителите на серумния протеом с най-голяма концентрация. Установена беше корелация между наблюдаваните позитивни (водещи до доближаване на калориметричния профил до този на здрави индивиди) или негативни (водещи до отдалечаване на калориметричния профил от този на здрави индивиди) промени в температурната стабилност на калориметричните преходи при пациенти с шизофрения, наблюдавани по време на проследяване на ефекта от приложеното лечение и клиничния статус на пациентите.

10. Dobrikova A., Vladkova R., Rashkov G., Todinova S. J., **Krumova S. B.**, Apostolova E., Effects of exogenous 24-epibrassinolide on the photosynthetic membranes under non-stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* (2014) 80, 75 - 82. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.022, IF:2.756, Q1/Q1

На български език:

Добрикова А., Владкова Р., Рашков Г., Тодинова С. Ж., **Кримова С. Б.**, Апостолова Е. Ефект на екзогенно третиране с 24-епибрасинолид върху фотосинтетични мембрани при нестресови условия

В настоящата работа изследваме ефекта на екзогенно приложен 24-епибрасинолид (EBR) върху функционалните и структурни характеристики на тилакоидни мембрани при нестресови условия, 48 ч. след пръскане на грахови растения с различни концентрации на EBR (0.01, 0.1 and 1.0 mg.L⁻¹). Резултатите показват, че приложението на 0.1 mg.L⁻¹ EBR има най-съществен ефект върху изследваните характеристики на фотосинтетичните мембрани. Наблюдаваните промени в светоразсейването при 540 nm и в калориметричните преходи предполагат промени в структурната организация на тилакоидните мембрани след третиране с EBR, което от своя страна повлиява кинетиката на кислородно отделяне, увеличава скоростта на електронния транспорт, ефективния квантов добив на фотосистема II и фотохимичното гасене. Промените във фотосинтетичните мембрани, индуцирани от EBR, са най-вероятно част от адаптационния отговор на растенията към стресови условия.

11. **Krumova S. B.**, Varkonyi Zs., Lambrev P. H., Kovacs L., Todinova S. J., Busheva M., Taneva S. G., Garab, G., Heat- and light-induced detachment of the light-harvesting antenna complexes of photosystem I in isolated stroma thylakoid membranes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B* (2014), 137, 4 - 12. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.04.029>, IF:2.96, Q1/Q2

На български език:

Кримова С.Б., Варкони Ж., Ламбрев П.Х., Ковач Л., Тодинова С.Ж., Бушева М., Танева С.Г., Гараб Г. Топлинно- и светлинно индуцирано отделяне на светосъбиращата антена на фотосистема I в изолирани стромални тилакоидни мембрани

Мултикомпонентния пигмент-белтъчен комплекс на фотосистема I (ФСI) се състои от корола и светосъбираща антена (ССAI). Счита се, че ФСI е ригидна система и много малко се знае за нейната структурна и функционална флексибилност. Нови данни, обаче, сочат за отделяне на ССАI от ФСI суперкомплекса при топлинно и светлинно третиране. Още повече, беше предположено, че отделянето на ССАI служи като предпазна мярка против фотоинхибиране на ФСI (Alboresi et al., 2009). В настоящата работа анализираме топлинно- и светлинно индуцираните реорганизации в изолирани ФСI везикули (стромални мембрани, обогатени на ФСI). Прилагайки диференциална сканираща калориметрия, разкрихме стъпаловидно

разпадане на ФСІ суперкомплекса при температури над 50 °С. Експерименти с кръгов дихроизъм, центрофугиране при захарозен градиент и флуоресценция при 77 К позволиха да идентифицираме поредицата от процеси на ФСІ дестабилизация: нагряване за 3 мин при 60 °С или осветяване за 40 мин с бяла светлина при 25 °С води до значително отделяне на Lhca1/4 от ФСІ суперкомплекса, което е последвано от деградация на Lhca2/3. Подобие то в основните структурни ефекти, дължащи се на третиране с топлина или светлина, поддържа хипотезата за термо-оптичен механизъм, т.е. структурни промени, индуцирани чрез ултрабързи локални температурни междинни състояния. Това вече е демонстрирано за антенната система на фотосистема II, а в настоящата работа ние показваме, че този механизъм може да регулира и структурирането и функционирането на антената на ФСІ.

12. Andreeva T., **Krumova S. B.**, Minkov I. L., Busheva M., Lalchev Z., Taneva S. G., Protonation-induced changes in the macroorganization of LHCII monolayers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* (2014) 460, 196 - 203. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.044>, IF:2.752, Q2/Q2

На български език:

Андреева Т., **Кримова С.Б.**, Минков И.Л., Бушева М., Лалчев З., Танева С.Г. Промени в макроорганизацията на ССК2 монослое, индуцирани от протониране на комплекса

Основният светосъбиращ комплекс на фотосистема II (ССКII) е важен регулаторен белтък във фотосинтетичните мембрани. In vivo ССКII формира стабилни тримери и може да бъде асоцииран с фотосистема II или да е разположен в мембранни домени, съдържащи само ССКII комплекси. Счита се, че в нативната тилакоидна мембрана ССКII променя своята конформация и макроорганизация при превключването между светосъбиращо и фотозащитно състояние. В настоящата работа анализираме Лангмюрови слоеве от ССКII при различно съдържание на соли във водната субфаза и в две различни функционални състояния – частично депротонирано (ССКII), с рН 7.8, и силно протонирано (р-ССКII), при рН 5.2, имитирайки съответно светосъбиращото и фотозащитното състояние на белтъка. Установихме силна разлика в супрамолекулната организация на белтъка в тези две функционални състояния, като протонираният монослой показва по-висок порядък на организация и значително по-висока стабилност в сравнение с частично депротонирания. Както ССКII, така и р-ССКII монослоеве бяха изградени от тримери, асоциирани в агрегати с различна плътност на опаковане – рехаво опаковани агрегати, изграждащи хомогенни, добре подредени области и плътно опаковани агрегати, формиращи хетерогенна неорганизирана фаза. Тези два типа макроорганизация се откриват в различни пропорции в протонираните и частично депротонираните ССКII монослоеве, като протонираният монослой показва много по-висока хетерогенност от депротонирания.

13. Stoichev S., **Krumova S. B.**, Andreeva T., Busto J. V., Todinova S., Balashev K., Busheva M., Goni F. M., Taneva S. G., Low pH modulates the macroorganization and thermal stability of PSII supercomplexes in grana membranes. *Biophysical Journal* (2015) 108, 4, 844 - 853. doi: 10.1016/j.bpj.2014.12.042, IF:3.632, Q1/Q1

На български език:

Стойчев С., **Кримова С.Б.**, Андреева Т., Бусто Х.В., Годинова С., Балашев К., Бушева М., Гони Ф. М., Танева С.Г. Ниско рН модулира макроорганизацията и температурната стабилност на ФСII суперкомплекси в гранални мембрани

Протонирането на изложените към лумена аминокиселинни остатъци на някои фотосинтетични комплекси в граналните мембрани се извършва при условия на висок светлинен интензитет и стартира важен фотозащитен механизъм, познат като енергетично-зависимо нефотохимично гасене. В настоящата работа изследваме ролята на протонирането за структурната организация и температурната стабилност на изолирани гранални мембрани. Макроорганизацията на граналните мембранни фрагменти, в протонирано и депротонирано състояние, е изследвана посредством атомно силова микроскопия. Установено е, че протонирането на фотосинтетичните комплекси индуцира значително структурно ремоделиране на граналните мембрани — формиране на обширни домени от основния светосъбиращ комплекс на фотосистема II и клъстериране на фотосистема II суперкомплекси с намалена антена, изтъняване на мембраната, и редуциране на размера ѝ. Тези процеси са съпроводени от значително температурно дестабилизиране на фотосинтетичните комплекси, установено чрез кръгов дихроизъм и диференциална сканираща калориметрия. Нашите данни разкриват детайлна наноскопична картина на първоначалните стъпки от процеса нефотохимично гасене.

14. Andreeva T., Castano S., **Krumova S.**, Lecomte S., Taneva S., Effect of protonation on the secondary structure and orientation of plant light harvesting complex II studied by PM-IRRAS, *Langmuir* (2015), 31, 42, 11583 - 11590. doi: 10.1021/acs.langmuir.5b02653, IF:3.993, Q1/Q1

На български език:

Андреева Т., Кастано С., **Кримова С.**, Леконт С., Танева С. Ефект на протонирането върху вторичната структура и ориентацията на светосъбиращия комплекс II при висши растения, изследван посредством PM-IRRAS

Основният светосъбиращ комплекс на фотосистема II, ССКII, играе главна роля при разпределянето на светлинната енергия между двете фотосистеми, ефективното улавяне на светлинната енергия и защитата на реакционните центрове от превъзбуждане. В настоящата работа е получена директна структурна информация за ефекта на протониране на ССКII, което имитира превключването от светосъбиращо във фотопротективно състояние на белтъка, посредством поляризационно-модулирана инфрачервена рефлексивно-абсорбционна спектроскопия (PM-IRRAS). Приложението на PM-IRRAS на ССКII монослое доказва, че нативната спирална структура на белтъка се запазва както в частично депротонираното (pH 7.8, ССКII), така и в протонираното (pH 5.2, p-ССКII) състояние. При ниско повърхностно налягане, 10 mN/m, ориентацията на α -спиралите в тези две състояния на ССКII е различна – наклонена ($\theta \approx 40^\circ$) при ССКII и почти вертикална ($\theta \approx 90^\circ$) при p-ССКII монослое; частично протонираният комплекс е по-хидрофилен от протонирания и проявява по-силни взаимодействия между тримерите. При по-високо повърхностно налягане, 30 mN/m, което е типично за биологични мембрани, протонирането не повлиява нито вторичната структура, нито ориентацията на трансмембранните α -спирали (наклонени $\sim 45^\circ$ спрямо мембранната повърхност и при двете ССКII състояния), но отслабва взаимодействията между и в рамките на ССКII тримерите.

15. **Krumova S.**, Todinova S., Tileva M., Bouzahir-Sima L., Vos M.H., Liebl U., Taneva S G., Thermal stability and binding energetics of thymidylate synthase ThyX, *International Journal of Biological Macromolecules* (2016) 91, 560-567. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.05.083, IF:3.671, Q2/Q1

На български език:

Кримова С., Годинова С., Тилева М., Бузир-Шима Л., Вош М.Х., Либл У., Танева С.Г. Температурна стабилност и енергетика на свързване на тимидилат синтаза ThyX.

Бактериалната тимидилат синтаза ThyX е мулти-субстратен флавоензим, който участва в синтеза на тимидилат в различни микроорганизми. В настоящата работа е изследван ефектът на свързване на флавин аденин динуклеотид (FAD) и дезоксиуридин монофосфат (dUMP) върху температурната стабилност на див тип ThyX от мезофила *Paramecium bursaria chlorella virus-1* (PBCV-1) и термофилната бактерия *Thermotoga maritima* (TmThyX), както и от два варианта на TmThyX, Y91F и S88W, посредством диференциална сканираща калориметрия. Енергетиката на тези процеси е характеризирани с изотермална титрационна калориметрия. Белтъкът, изолиран от PBCV-1, е значително по-нестабилен при нагряване отколкото дивия тип TmThyX. FAD оказва по-голям стабилизиращ ефект при свързване с белтъка, изолиран от PBCV-1, отколкото от TmThyX и двата мутанта, докато свързването на dUMP към белтъци, натоварени с FAD, стабилизира допълнително само TmThyX. Свързването на FAD към див тип ThyX белтъка се характеризира с различни термодинамични параметри. Докато TmThyX свързва FAD с нисък афинитет в процес, характеризиращ се с благоприятен принос на ентропията, взаимодействието на PBCV-1 с FAD е задвижено от голяма благоприятна промяна на енталпията, и противодействаща неблагоприятна промяна на ентропията, което води до относително силно nM свързване. Наблюдава се формиране на третичен комплекс ThyX/FAD/dUMP с висок афинитет задвижено от енталпията само за TmThyX.

16. Danova K., Motyka V., Todorova M., Trendafilova A., **Krumova S.**, Dobrev P., Andreeva T., Oreshkova T., Taneva S., Evstatieva L., Effect of cytokinin and auxin treatments on morphogenesis, terpenoid biosynthesis, photosystem structural organization, and endogenous isoprenoid cytokinin profile in *Artemisia alba* Turra in vitro. *Journal of Plant Growth Regulation* (2017) 37, 2, 403-418, doi: 10.1007/s00344-017-9738-y, IF:2.073, Q1/Q2

На български език:

Данова К., Мотика В., Годорова М., Трендафилова А., **Кримова С.**, Добрев П., Андреева Т., Орешкова Т., Танева С., Евстатиева Л. Ефект на третиране с цитокин и ауксин върху морфогенезата, терпеноидния биосинтез, структурната организация на фотосистемите, и ендегенния изопреноиден цитокинен профил при *Artemisia alba* Turra in vitro

Развитието на маслодайното растение *Artemisia alba* Turra беше модифицирано чрез екзогенно третиране с растителни растежни регулатори (PPP) in vitro. Увеличеното коренообразуване (при нетретирани и ауксин третирани растения) доведе до увеличаване на отношението монотерпеноиди/сескитерпеноиди в надземните части. От друга страна, инхибирането на коренообразуването и интензивния калусогенезиз (при комбинирано третиране с цитокинин и ауксин) доведе до редуциране на това отношение повече от два пъти и значително увеличаване на продукцията на сескитерпеноиди. И двата морфогенни типа проявиха доминиране на сескитерпеноидите в подземните тъкани, които обаче качествено се различаваха от сескитерпеноидите в надземните части. Това дава основание да се изключи хипотезата за транслокацията им от корените към надземните части и показва предполагаемата роля на друг сигнален фактор, влияещ на терпеноидния биосинтез. Инхибираното коренообразуване също доведе до значително намаляване на ендегенните изопреноидни СК биоактивни свободни бази и рибозиди, както и на СК *N*-глицоконюгати и до намалено отношение на *trans*-зеатин

(*transZ*):*cis*-заетин (*cisZ*) в надземните части. Наблюдавано е и значително нарушаване на структурната организация на фотосинтетичния апарат и хлоропластната архитектура в проби с подтиснато коренообразуване. Добре известно е, че биогенеза на монотерпеноиди и *transZ*-тип СК са ограничени пространствено в пластидите, докато сескитерпеноидите и *cisZ* са продуцирани в цитозола. В настоящата работа е изказана хипотеза за взаимовръзка между биосинтеза на терпеноиди и СК биоактивни свободни бази и рибозиди в *A. alba* *in vitro* посредством вероятно модериране на хлоропластната структура.

17. Todinova S., Stoyanova E., **Krumova S.**, Iliev I., Taneva S.G., Calorimetric signatures of human cancer cells and their nuclei, *Thermochimica Acta* (2016) 623, 95-101, <https://doi.org/10.1016/j.tca.2015.11.002>, IF: 2.236, Q2/Q2

На български език:

Тодинова С., Стоянова Е., **Кримова С.**, Илиев И., Танева С.Г. Калориметрични характеристики на човешки ракови клетки и техните ядра

Човешките ракови линии HeLa, JEG-3, Hep G2, SSC-9, PC-3, HT-29, MCF7 и изолирани от тях ядра са характеризирани чрез диференциална сканираща калориметрия. Калориметричните профили се различават от тези на нормални човешки фибробласти (BJ) в двете ясно дефинирани температурни области — високотемпературна (H_T , дължаща се на ДНК-съдържащи структури) и нискотемпературна (L_T , приписана на белтъците на ядрения матрикс). Енталпията на L_T областта и съответно отношението на енталпиите на L_T и H_T областите, $\Delta H_L/\Delta H_H$, е силно редуцирано за всички ракови клетки в сравнение с нормалните фибробласти. От друга страна, за повечето от ядрата на изследваните ракови клетки това отношение е по-високо в сравнение с нормалните ядра. Клетките и ядрата на HT-29 линия на човешки колоректален карцином се различават най-значително от нормалните човешки фибробласти и техните ядра. Нашите данни показват, че третирането на HT-29 ракови клетки с цитостатици повлиява не само репликацията на ДНК, но и клетъчния протеом.

18. Dinarelli S, Longo G., **Krumova S.**, Todinova S., Danailova A., Taneva S., Lenzi E., Mussi V., Girasole M., Insights into the morphological pattern of erythrocytes' aging: Coupling quantitative AFM data to microcalorimetry and Raman spectroscopy. *Journal of Molecular Recognition* (2018) 31, 11, e2732, DOI:10.1002/jmr.2732, ISI IF:1.868, Q3/Q3

На български език:

Динарели С, Лонго Г., **Кримова С.**, Тодинова С., Данаилова А., Танева С., Ленци Е., Муси В., Джирасоле М. Разкриване на детайли от морфологичния модел на стареене на еритроцити: комбиниране на количествен АСМ анализ с микрокалориметрия и Раманова спектроскопия

Еритроцитите представляват много интересен клас от клетки, заради техните физиологични функции и специфични особености. Поради тяхната изключително силна връзка с обкръжението им, морфологията и наноскопичните характеристики на тези клетки могат да разкрият техния биохимичен статус и структурна цялост. Стареенето на еритроцитите е сред най-важните аспекти на изследване, свързани с тези клетки. Това е фундаментален процес, който при физиологични условия стартира процеси за премахване на еритроцитите от кръвообръщението и осигурява кръвната хомеостаза. В последните години ние представихме методология, базирана на атомно-силова микроскопия, за характеризирането на механизмите

на стареене на еритроцити от морфологична гледна точка. В настоящата работа използваме протокол, по-близък до физиологичните условия и прилагаме диференциална сканираща калориметрия и атомно силова микроскопия с цел установяване на корелация между важни структурни и функционални протеини. Също така изследваме и ролята на фундаментални структурни и мембранни протеини за развитието на основните морфологии на клетките, наблюдавани по време на стареенето. В допълнение, корелираме морфологичните характеристики с (био)химичните промени, регистрирани с Раманова спектроскопия. Това позволи идентифицирането на последователността от характерични клетъчни морфологии и метаболитните пътища, най-пряко свързани с тяхното развитие. Настоящата работа дава базата за корелирането на специфични молекулни промени с развитието на структурни аномалии и ефекта им върху функционалния статус на еритроцитите.

19. Petrova N., Todinova S., Paunov M., Kovacs L., Taneva S., **Krumova S.**, Thylakoid membrane unstacking increases LHCP thermal stability and lipid phase fluidity. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2018, 50, 6, 425-435, DOI:<https://doi.org/10.1007/s10863-018-9783-7>, ISI IF:2.914, Q2/Q2

На български език:

Петрова Н., Годинова С., Паунов М., Ковач Л., Танева С., **Крумова С.** Разстикването на тилакоидни мембрани увеличава температурната стабилност на СККII и флуидитета на липидната фаза

Тилакоидите са мембрани, силно обогатени на белтъци и служат като матрикс за структурната организация на многокомпонентните фотосинтетични комплекси. Подобно на други биологични мембрани, белтъчните компоненти са хетерогенно разположени в плоскостта на мембраната, но специфичното сегрегиране на стиковани (гранални мембрани) и разстиковани (стромални ламели) мембранни области е уникална характеристика на тилакоидите. Счита се, че както латералната, така и вертикалната организация на интегралните мембранни протеини в триизмерната тилакоидна ултраструктура имат важна физиологична функция. В настоящата работа изследваме ролята на мембранното стиковане за температурната стабилност на фотосинтетичните комплекси в тилакоидните мембрани. Посредством кръгов дихроизъм и диференциална сканираща калориметрия, демонстрирахме че температурната стабилност на мономерните и тримерни форми на главния светосъбиращ комплекс на фотосистема II (ССКII) се увеличава при разстикване. Предполагаме, че този ефект се дължи на отделяне на ССКII от фотосистема II и последващо прикачане към субединици на фотосистема I и/или флуидизиране на липидния матрикс при разстикване. Промените във физичните свойства на белтъчните и липидните компоненти при разстикване водят до силно редуцирано използване на енергията на възбуждане от фотосистема II.

20. Petrova N., Todinova S., Laczko-Dobos H., Zakar T., Vajravel S., Taneva S. G., Gombos Z., **Krumova S.**, Structural integrity of *Synechocystis* sp. PCC 6803 phycobilisomes evaluated by means of differential scanning calorimetry. *Photosynthesis Research* (2018) 137, 1, 95-104, DOI:<https://doi.org/10.1007/s11120-018-0481-4>. ISI IF:3.091, Q1/Q1

На български език:

Петрова Н., Годинова С., Лацко-Добош Х., Закар Т., Вайравел С., Танева С.Г., Гомбош З., **Крумова С.** Структурна цялост на фикобилизоми от *Synechocystis* sp. PCC 6803, оценена посредством диференциална сканираща калориметрия

Фикобилизомите са супрамолекулни пигмент-белтъчни комплекси, които служат като светосъбираща антена при цианобактерии. Те са изградени от фикобилипротеини, структурирани в алофикоцианинов коров комплекс (осигуряващ физическото взаимодействие с фотосистемите) и фикоцианинови „пръчици“ (свързани с алофикоцианиновия коров комплекс и имащи светосъбираща функция), като цялостната фикобилизомна структура се поддържа от линкерни белтъци. Фикобилизомите играят главна роля в оптимизирането на светосъбирането при цианобактерии; ето защо характеризирането на тяхната структурна цялост в интактни клетки е от голямо значение. В настоящата работа прилагаме диференциална сканираща калориметрия и спектроскопски техники, за да изследваме за пръв път термодинамичната стабилност на фикобилизоми от интактни клетки на *Synechocystis* sp. PCC 6803, и да определим зависимостта ѝ от наличието на мутации или от промени в условията на култивиране. Като първа стъпка характеризираме термодинамичното поведение на интактни и разрушени фикобилизоми, изолирани от див тип клетки (с напълно структурирани фикобилизоми) и от мутанта СК (при който липсват фикоцианинови „пръчици“ и съдържащ само алофикоцианинови корови комплекси), и идентифицираме температурните преходи на структурните единици на фикоцианин и алофикоцианин *in vitro*. Като следваща стъпка демонстрираме, че в интактни клетки фикобилизомите се характеризират с остър, високо амплитуден температурен преход при около 63 °C, който силно зависи от структурната цялост на фикобилизомния суперкомплекс. Представените данни показват, че калориметрията може да предложи ценен подход за определяне на влиянието на различни фактори, повлияващи стабилността и структурната организация на фикобилизомите в интактни клетки на цианобактерии.

21. Petrova N., Koleva P., Velikova V., Tsonev T., Andreeva T., Taneva S., **Krumova S.**, Danova K., Relations between photosynthetic performance and polyphenolics productivity of *Artemisia alba* Turra in *in vitro* tissue cultures. *International Journal of Bioautomation* (2018) 1, 73-82, DOI:10.7546/ijba.2018.22.1.73-82. SJR:0.23, Q3

На български език:

Петрова Н., Колева П., Великова В., Цонев Ц., Андреева Т., Танева С., **Крумова С.**, Данова К. Връзка между фотосинтетичната активност и полифенолната продуктивност при *in vitro* тъканни култури от *Artemisia alba* Turra

Установяването на оптимални условия за растеж, с цел продуцирането на вторични метаболити *in vitro*, е изключително важно за биотехнологичното развитие на медицински растения. В настоящата работа изследваме връзката между снабдяването с растителни растежни регулатори (бензил аденин и индол-3-бутирова киселина) на *in vitro* култури от медицинското растение *Artemisia alba* Turra, продуктивността на антиоксидантните полифенолни съединения и структурните и функционални характеристики на фотосинтетичния апарат. Характеризирани са структурните особености на изолирани тилакоидни мембрани от надземните части на растенията чрез кръгов дихроизъм и атомно силова микроскопия, а фотосинтетичната активност - чрез визуализация на импулсно модулирана флуоресценция.

Въпреки че беше установена сложна връзка между третирането с бензил аденин и индол-3-бутирова киселина, полифенолните нива и архитектурата и функционалността на фотосинтетичните тилакоидни мембрани, ясно се открие корелация между концентрацията на продуцираните полифенолни съединения и квантовия добив на фотосистема II. Нашите данни демонстрират, че има оптимална комбинация от двата вида растежни регулатори, която води до ефективна фотосинтеза и висока фенолна продукция.