

СТАНОВИЩЕ

**от д-р Красимира Николова Идакиева – доцент в Институт по Органична химия
с Център по Фитохимия, БАН**

на материалите, представени за участие в конкурс
за заемане на академичната длъжност „доцент”

в Институт по Органична химия с Център по Фитохимия (ИОХЦФ), БАН

по област на висше образование „Природни науки”, шифър 4.0,
професионално направление „Химически науки”, шифър 4.2,
научна специалност „Биорганична химия, химия на природните и физиологично активни
вещества”

В конкурса за „доцент”, обявен в Държавен вестник, бр. 43 от 31.05.2019 г. и в интернет-страница на ИОХЦФ-БАН, като единствен кандидат участва гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова от лаборатория „Химия и биофизика на протеини и ензими” в ИОХЦФ-БАН.

1. Общо представяне на получените материали

Представеният от гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ, и отговаря на критериите на ИОХЦФ-БАН за заемане на академичната длъжност „доцент”.

В конкурса, гл. ас. д-р Велкова участва с 24 научни публикации, които са извън дисертацията и се отчитат при крайната оценка. Представена е разширена хабилитационна справка за приносите на кандидата. Публикациите, участващи в конкурса, са разделени в две групи, покриващи показатели В и Г, съгласно Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИОХЦФ-БАН. В първата група, показател В - „Хабилитационен труд - научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (WoS или Scopus)“ са представени 8 публикации, които се оценяват на 126 т., при изискуеми 100 т. Разпределението на научните публикации по съответните Q фактори е, както следва: 3 публикации в Q2 област (WoS или Scopus), 2 публикации в Q3, и 3 в Q4, като в 7 от тях гл. ас. д-р Велкова е първи автор и/или автор за кореспонденция. Във втората група са представени 16 публикации, покриващи показател Г, с общо 254 точки при необходими 220 точки. Представен е списък от 152 цитирания в научни издания, реферирани и индексирани в WoS или Scopus, които не са използвани при защита на дисертационния труд (h-индекс 8). Резултатите от научно-изследователската дейност на гл. ас. д-р Велкова са докладвани на 55 международни и национални научни форуми. Приложена е информация за участието на гл. ас. д-р Велкова в 18 национални и 15 международни проекти. Тя е съавтор на университетски учебник и на университетско учебно пособие, както и на 4 национални патента. Приложен е списък с награди, получени от научния колектив, в който участва и гл. ас. д-р Велкова.

Представената от гл. ас. д-р Велкова документация по конкурса е много добре оформена и съдържа необходимата информация.

2. Кратки биографични данни

Людмила Велкова завършва висше образование в Химическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски” през 1988 г., с професионална квалификация „Магистър – органична и аналитична химия”. Постъпва на работа в ИОХЦФ-БАН като специалист-химик през м. април 2003 г. През 2013 г., като докторант на самостоятелна подготовка към ИОХЦФ-БАН, успешно защитава дисертация на тема: “Структура и функция на въглехидратните вериги на хемоцианин, изолиран от морски охлюв *Rapana venosa*”, научен ръководител доц. д-р Павлина Долашка, и придобива образователна и научна степен „Доктор” по биоорганична химия на природните и физиологично активни вещества. От септември 2013 г. е главен асистент в лаборатория „Химия и биофизика на протеини и ензими” на ИОХЦФ-БАН. От съществено значение за нейното научно развитие са и проведените специализации в известни научни центрове в чужбина: Университета в гр. Тюбинген, Германия, Университетите в гр. Гент, Белгия, и гр. Падуа, Италия, както и в Института по вирусология на Украинската академия на науките.

3. Обща характеристика на дейността на кандидата

Научноизследователската дейност на гл. ас. д-р Людмила Велкова е в актуална област на биоорганичната химия, която се занимава с изследване на биологично активни вещества от природни източници, предимно хемоцианини и антимицробни пептиди от мекотели. Интересът към тези природни молекули непрекъснато нараства поради доказаните възможности за приложението им в медицината за лечебни и диагностични цели.

Научните интереси и приноси на гл. ас. д-р Велкова са групирани тематично в следните направления:

- изолиране, пречистване и характеризиране на хемоцианини от мекотели;
- определяне на въглехидратните структури на хемоцианини от мекотели;
- изследване на структурна и конформационна стабилност на хемоцианини от мекотели;

- изолиране и характеризиране на антимицробни пептиди.

Резултатите от изследванията свързани с пречистване и охарактеризиране на хемоцианини от различни моллюсков организми са отразени в *публикации 1-7 (от приложения списък)*. Изолиран и детайлно структурно охарактеризиран е нов хемоцианин от хемолимфата от градински охлюв *Helix lucorum* (НН). Изолирани са структурните субединици и функционални единици, изграждащи хемоцианиновите молекули. Изолирани и пречистени са също хемоцианин от морски охлюв *Rapana venosa* (RvH) и неговите структурни субединици и функционална единица RvH2-e, хемоцианин от градински охлюв *Cornu aspersum* (CaH), структурна субединица HtH1 на хемоцианина от морски охлюв *Haliotis tuberculata*. При тези изследвания гл. ас. д-р Велкова е използвала набор от хроматографски, електрофоретични и спектроскопски методи и техники.

Резултатите от изследванията на гл. ас. д-р Велкова върху определяне на въглехидратните структури на хемоцианини представляват безспорен научен принос

(публикации 2-5). Посредством най-съвременни маспектрометрични техники са определени голям брой и разнообразни въглехидратни структури при хемоцианини от моллюсков организми. Описан е нов клас *N*-гликани при хемоцианина от *R. venosa*, включващ хексууронова киселина и GlcNAc, свързани към вътрешен фукозен остатък. Установена е висока степен на метилиране в олигозахаридните структури на β c-НН. За първи път при хемоцианин са идентифицирани нови структурни мотиви с частично или напълно метилирани крайни хексози (публикация 3). Детайлно са охарактеризирани *N*-гликанови структури в структурната субединица НtН1 на хемоцианина, изолиран от *H. tuberculata* (публикация 4). Тези резултати имат фундаментално значение и обогатяват базата данни за въглехидратни структури на гликопротеини.

Изследванията върху структурната и конформационна стабилност на хемоцианини от мекотели са отразени в публикации 1, 6 и 7. Посредством трансмисионна електронна микроскопия е изследван процеса на дисоциация и реасоциация на хемоцианиновите молекули в зависимост от рН на средата и концентрацията на Ca^{2+} и Mg^{2+} йони. За първи път е изказано предположението, че въглехидратните вериги, разположени на повърхността на декамерите, затрудняват взаимодействието между тях и оттам формирането на дълги мултидекамери и тубули, които се наблюдават при някои хемоцианини (публикация 1). Получени са данни за стабилността на хемоцианини при повишена температура и рН на средата (публикации 6 и 7). За първи път е изследвана конформационната стабилност на нативен СаН в присъствие на различни денатуранти (публикация 6).

Природните антимикробни пептиди (АМП) са надеждна алтернатива на антибиотиците, употребата, на които често причинява дисбактериоза или антимикробна резистентност. Ето защо, изолирането и характеризирането на АМП от слузта на градински охлюв *C. aspersum* представлява несъмнен научно-приложен принос (публикация 8).

Резултатите от научно-изследователската дейност на гл. ас. д-р Велкова са публикувани в авторитетни международни списания в областта: *Comparative Biochemistry and Physiology*, *Journal of Fluorescence*, *Spectrochimica Acta*, *Glycoconjugate Journal*, *Carbohydrate Research*, и др.

Свидетелство за приложния характер на проведените изследвания са патентите, в които гл. ас. д-р Велкова е съавтор, както и наградите за колектива, в който тя участва, получени за експлоатация и комерсиализация на научни резултати.

4. Оценка на личния принос на кандидата

Безспорен е личният принос на гл. ас. д-р Велкова в огромната по обем експерименталната работа, свързана с представените изследвания и получените резултати. Моите впечатления са, че тя е много квалифициран специалист, владеещ голям набор от съвременни методи и техники, необходими при изследванията в областта на протеиновата химия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Документите и материалите, представени от гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова **отговарят на всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН и Правилник на ИОХЦФ-БАН.

Гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова е представила достатъчен брой научни трудове, публикувани след материалите, използвани при защитата на ОНС „доктор”. Публикациите в реномирани международни издания свидетелстват за високото научно ниво на изследователската работа. Научната квалификация на гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова е несъмнена.

Постигнатите от гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова резултати в научно-изследователската дейност, напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилника на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ.

След запознаване с представените в конкурса материали и научни трудове, анализ на тяхната значимост и съдържащи се в тях научни и приложни приноси, както и на очертаните перспективи за бъдеща изследователска дейност, намирам за основателно да дам своята **положителна** оценка и да препоръчам на Научното жури да изготви доклад-предложение до Научния съвет на ИОХЦФ-БАН за избор на гл. ас. д-р Людмила Георгиева Велкова на академичната длъжност „доцент” в ИОХЦФ-БАН по професионално направление „Химически науки”, 4.2, научна специалност „Биорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества”.

12.09. 2019 г.

Изготвил становището:

(доцент д-р Красимира Идакиева)

STANDPOINT

of Assoc. Prof. Dr. Krassimira Nikolova Idakieva, Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences

with respect to the materials, submitted for participation in the competition for occupying the academic position "Associate Professor"

at the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry (IOCCP), BAS

in a field of higher education 4.0. "Natural Sciences",
professional field 4.2. "Chemical Sciences",

scientific specialty „*Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and Physiologically Active Substances*”

In the competition for occupying the academic position "Associate Professor", announced in the Newspaper of State, issue 43/ 31.05.2019 and on the website of IOCCP-BAS, the only candidate is Dr. Lyudmila Georgieva Velkova from the Laboratory "Chemistry and Biophysics of Proteins and Enzymes" at IOCCP-BAS.

1. General presentation of the obtained materials

Presented by Dr. Lyudmila Georgieva Velkova, a set of materials in paper and electronic form, is in accordance with the Regulations for the development of the academic staff of the Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences (IOCCP-BAS), and meets the criteria of IOCCP-BAS for the occupation of the academic position "Assistant Professor".

In the competition, Dr. Velkova participates with 24 scientific publications, which are outside the dissertation and are taken into account in the final evaluation. An extended habilitation report on the applicant's contributions is provided. The publications, participating in the competition, have been divided into two groups, covering indicators C and D, in accordance with the Rules for the conditions and procedures for acquiring scientific degrees and for occupying academic positions at IOCCP-BAS. In the first group, indicator B - "Habilitation work - scientific publications in journals, that have been referenced and indexed in world-famous scientific information databases (WoS or Scopus)", there are 8 publications, which are rated 126 points, with the required 100 points. The distribution of scientific publications by the relevant Q factors is as follows: 13 publications are indexed as Q2 (WoS or Scopus), 2 publications as Q3, and 3 as Q4. In 7 of these publications Dr. Velkova is the first author and / or correspondent author. In the second group, 16 publications covering index D are presented, with a total of 254 points with 220 points required. List of 152 citations in scientific editions, referenced and indexed in WoS or Scopus, not used in the thesis defense, is presented (h-index 8). The results of the research activity of Dr. Velkova have been reported at 55 international and national scientific forums. Information on the participation of Dr. Velkova in 18 national and 15 international projects is provided. She is the co-author of a university schoolbook and university textbook, as well as of 4 national patents. Attached is a list of prizes received by the research team, in which also Dr. Velkova participated.

Presented by Dr. Velkova's documentation for the competition is very well designed and contains the necessary information.

1. Brief biographical data

Lyudmila Velkova graduated from the Faculty of Chemistry at the Sofia University "St. Kliment Ohridski" in 1988, with professional qualification "Master - Organic and Analytical Chemistry". She joined the IOCCP-BAS as a specialist chemist in April 2003. In 2013, as a doctoral student at IOCCP-BAS, she successfully defended her PhD thesis on the topic: "Structure and function of the carbohydrate chains of hemocyanin, isolated from the marine snail *Rapana venosa*", supervisor Assoc. Prof. Dr. Pavlina Dolashka, and obtains educational and scientific degree "Doctor" in bioorganic chemistry of natural and physiologically active substances. Since September 2013 she has been an Assistant at the Laboratory "Chemistry and Biophysics of Proteins and Enzymes" at the IOCCP-BAS. Of special importance for her scientific development are the conducted specializations in well-known scientific centers abroad: the University of Tübingen, Germany, the Universities of Gent, Belgium, and Padua, Italy, as well as the Institute of Virology of the Ukrainian Academy of Sciences.

2. Assessment of the applicant's research activity

The research activity of Dr. Lyudmila Velkova is in a modern field of bioorganic chemistry, which deals with the study of biologically active substances from natural sources, mainly hemocyanins and antimicrobial peptides of molluscs. The interest in these natural molecules is constantly growing due to the proven ability of their application in medicine for therapeutic and diagnostic purposes.

The scientific interests and contributions of Dr. Velkova are thematically grouped in the following areas:

- isolation, purification and characterization of molluscan hemocyanins;
- determination of carbohydrate structures of molluscan hemocyanins;
- study of structural and conformational stability of molluscan hemocyanins;
- isolation and characterization of antimicrobial peptides.

The results of studies related to the purification and characterization of hemocyanins from different molluscs are presented in *publications 1-7* (in the attached list). Hemocyanin from the haemolymph of garden snail *Helix lucorum* (HIH) has been isolated and detailed structural characterized. The structural subunits and functional units, that construct the hemocyanin molecules, have been isolated. Hemocyanin from the haemolymph of marine snail *Rapana venosa* (RvH), its structural subunits and functional unit RvH2-e, hemocyanin from garden snail *Cornu aspersum* (CaH), structural subunit HtH1 of the hemocyanin from marine snail *Haliothis tuberculata*, also have been isolated and purified. In these studies, Dr. Velkova has used a range of chromatographic, electrophoretic and spectroscopic methods and techniques.

The results of the studies of Dr. Velkova on the determination of the carbohydrate structures of hemocyanins represent an indisputable scientific contribution (*publications 2-5*). A large number and a variety of carbohydrate structures of hemocyanins from molluscan organisms have been determined using state-of-the-art mass spectrometric techniques. A novel class of *N*-glycans has been described for *R. venosa* hemocyanin, including hexuronic acid and GlcNAc linked to an internal fucose residue. A high degree of methylation in the oligosaccharide structures of β c-HIH

has been established. New structural motifs with partially or fully methylated terminal hexoses have been identified for the first time in hemocyanin (*publication 3*). *N*-glycan structures in the hemocyanin structural subunit HtH1 of hemocyanin, isolated from *H. tuberculata*, have been characterized in detail (*publication 4*). These results are fundamental and enrich the glycoprotein carbohydrate structure database.

Studies on the structural and conformational stability of molluscan hemocyanins are presented in *publications 1, 6 and 7*. The process of dissociation and reassociation of hemocyanin molecules, depending on the pH of the medium and the concentration of Ca^{2+} and Mg^{2+} ions, has been investigated by means of transmission electron microscopy. It has been suggested, for the first time, that the carbohydrate chains located on the surface of the decamers make interaction between them difficult and hence the formation of long multidecamers and tubules, observed in some hemocyanins (*publication 1*). Data on the stability of hemocyanins at increased temperature and pH of the medium were obtained (*publications 6 and 7*). For the first time, the conformational stability of native CaH, in the presence of different denaturants, has been investigated (*publication 6*).

Natural antimicrobial peptides (AMPs) are a reliable alternative to antibiotics, the use of which often causes dysbiosis or antimicrobial resistance. Therefore, the isolation and characterization of AMP from the mucus of garden snail *C. aspersum* is a definite scientific contribution (*publication 8*).

The results of the research activity of Dr. Velkova have been published in reputable international journals in the field: *Comparative Biochemistry and Physiology, Journal of Fluorescence, Spectrochimica Acta, Glycoconjugate Journal, Carbohydrate Research*, etc.

The patents in which Dr. Velkova is a co-author, as well as the awards for the team in which she participates, obtained for the exploitation and commercialization of scientific results, constitute evidences of the applied character of the conducted studies.

3. Assessment of the applicant's personal contribution

The personal contribution of Dr. Velkova in the extensive experimental work related to the presented research and the results obtained is indisputable. My impression is that she is a very skilled specialist, possessing a large set of modern methods and techniques required in protein chemistry research.

CONCLUSION

The documents and the materials, submitted by Dr. Lyudmila Georgieva Velkova, completely answer to all the requirements of the Law for the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the application of this law, and the respective Regulations of BAS, as well as to the specific requirements, formulated by the IOCCP at BAS.

Dr. Lyudmila Georgieva Velkova has presented a sufficient number of scientific research works, published after the materials, used by her in the PhD thesis defense. Publications in reputable international journals testify to the high scientific level of research. The scientific qualification of Dr. Ludmila Georgieva Velkova is undoubted.

After getting acquainted with the materials and scientific works presented in the competition, an analysis of their importance and their scientific and applied contributions, as well

as the outlined prospects for future research, I convincingly give my **positive assessment** and recommend to the Scientific Jury to prepare a report-proposal to the Scientific Council of IOCCP-BAS to elect of Dr. Ludmila Georgieva Velkova to occupy the academic position of "Associate Professor" at IOCCP-BAS, in the professional field "Chemical Sciences", 4.2, specialty " Bioorganic Chemistry, Chemistry of Natural and Physiologically Active Substances".

Date 12.09.2019

Reviewer:

(Assoc. Prof. Dr Krassimira Idakieva)