



## Информация за изпълнение на етап на проект

<b>Наименование на конкурса:</b>
Конкурс за финансиране на научни изследвания - 2017
<b>Основна научна област:</b>
Биологически науки
<b>№ на договор:</b>
ДН 11/15
<b>Начална и крайна дата на проекта:</b>
18.12.2017- 18.12.2020
<b>Заглавие на проекта:</b>
<b>„ИЗСЛЕДВАНЕ НА НОВИ ПРИЦЕЛНИ МОЛЕКУЛИ ЗА ТЕРАПИЯ НА ПРЕЖДЕВРЕМНО СТАРЕЕНЕ И БОЛЕСТИ, СВЪРЗАНИ СЪС СТАРЕЕНЕТО“</b>
<b>Базова организация:</b>
Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“
<b>Партньорски организации:</b>
Медицински Университет - Пловдив
<b>Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):</b>
Професор, д-р, Георги Ангелов Милошев
<b>Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:</b>
60 000 лв.
<b>Интернет страница на проекта (ако има такава):</b>
<b>Научни публикации по проекта:</b>
<b>Публикации:</b>
<b>1.</b> Krasteva, N., Keremidarska-Markova, M., Hristova-Panusheva, K., Andreeva, T., Speranza, G., Wang, D., Draganova-Filipova, M., Miloshev, G. and Georgieva, M. (2019). Aminated graphene oxide as a potential new therapy for colorectal cancer, <i>Oxidative Medicine and Cellular Longevity</i> Volume 2019, Article ID 3738980, 15 pages, <a href="https://doi.org/10.1155/2019/3738980">https://doi.org/10.1155/2019/3738980</a> IF=3.603; Q1
<b>2.</b> Miloshev, G., Staneva, D., Uzunova, K., Vasileva, B., M., Draganova-Filipova, Zagorchev, P., Georgieva, M. (2019). Linker histones and chromatin remodeling complexes maintain genome stability and control cellular ageing, <i>Mechanisms of Ageing and Development</i> (177): 55 – 65; pii: S0047-6374(18)30051-4. doi: 10.1016/j.mad.2018.07.002 IF=4.868; Q1
<b>3.</b> Basu, P.; Saha, N.; Alexandrova, R.; Andonova-Lilova, B.; Georgieva, M.; Miloshev, G.; Saha, P. Biocompatibility and Biological Efficiency of Inorganic Calcium Filled Bacterial Cellulose Based Hydrogel Scaffolds for Bone Bioengineering. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2018, 19, 3980. <a href="https://doi.org/10.3390/ijms19123980">https://doi.org/10.3390/ijms19123980</a>



IF=4.183; Q1

**Доклади и постери на научни форуми:**

1. 7th International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, May 08-10, 2019, Science Faculty of the University of Granada | Granada, Spain

**Talk:** ▪ A novel approach for evaluation of potential candidates for cancer therapy

2. Second Young Scientists Seminar on Genetics with International Participation – 3<sup>rd</sup> – 5<sup>th</sup> October, 2018, Sofia, Bulgaria

**Talk:** ▪ *H. rhodopensis* extracts influence genome activity of cell aiding it to cope with damaging effects

3. 22ND INTERNATIONAL CHROMOSOME CONFERENCE - September 2–5, 2018, Czech Republic

**Talk:** ▪ Linker histones and chromatin remodeling complexes maintain genome stability and control cellular aging

4. 22ND INTERNATIONAL CHROMOSOME CONFERENCE - September 2–5, 2018, Czech Republic

**Poster:** ▪ *Kluyveromyces Lactis* Harbors an Intact and Functional Linker Histone Gene Encoding an Important Chromatin Component

5. COST Action CA15214 Work Group Meeting: “Epigenetic Significance of Higher-order Chromatin Structures and Their Dynamics in Norm and Pathology” — 21<sup>st</sup> – 22<sup>nd</sup> June, 2018, Sofia, Bulgaria

**Talk:** ▪ The linker histones in higher-order chromatin structures and their involvement in cellular normality and pathology

6. COST Action CA15214 Work Group Meeting: “Epigenetic Significance of Higher-order Chromatin Structures and Their Dynamics in Norm and Pathology” — 21<sup>st</sup> – 22<sup>nd</sup> June, 2018, Sofia, Bulgaria

**Talk:** ▪ Linker histones and chromatin remodeling complexes as regulators of cellular ageing

7. Biomaterials International 2018 – 22<sup>nd</sup> – 25<sup>th</sup> July, 2018, Tokyo, Japan

**Poster:** ▪ An intelligent “ready-to-use” system for field-employable genotoxicity surveillance

8. Biomaterials International 2018 – 22<sup>nd</sup> – 25<sup>th</sup> July, 2018, Tokyo, Japan

**Poster:** ▪ Cytotoxicity and genotoxicity effect of ammonia-functionalized graphene oxide nanoparticles in a colon adenocarcinoma cell line

9. Cell Symposia: Aging and Metabolism 2018 – 23<sup>rd</sup> - 25<sup>th</sup> Sept., Sitges, Barcelona, Spain

**Poster:** ▪ UVA/B stress differently influences cells during their ageing



**Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):**

Очакваните резултати от изпълнението на настоящето проектопредложение са в три основни направления:

**Първо**, Предвижда се създаване на моделни клетъчни системи за изследване на остаряването в норма и патология. Тези модели ще включват дрождени култури, мутанти по различни хроматинови протеини и човешки еукариотни клетъчни култури (фибробласти с нормален и ускорен пролиферативен потенциал). Така с помощта на най-съвременни техники за редакция и манипулиране на генома ще се създадат и в последствие ще се култивират клетъчни системи, които остаряват преждевременно. Това ще позволи проследяване на молекулно и клетъчно ниво на процесите, които водят до объркването на генетичната програма на клетките и в крайна сметка до ранно остаряване. Моделните системи на стареенето, които се предвижда да бъдат създадени, ще се базират на данни за клетъчната морфология, способността на клетките да се справят с различни видове стресови условия, данни за хроматиновата структура, нейната динамика, обусловена от участието на хроматин модифициращи ензими и взаимодействието им с линкерните хистони. Конкретно ще бъде търсена връзката между линкерните хистони, които изграждат общата хроматинова компактизация и специфичните хистондеметилази на хистон H3 K27, които модифицират хроматина и удължават живота на клетките. Така, за първи път ще бъде разработена и анализирана връзка между епигенетичните механизми - структурните протеини, които поддържат хроматиновата организация и специфичните ензими, които контролират активността на генома.

**Второ**, стресовите условия (репликативен, геномен и оксидативен стрес), с които се предвижда третиране на клетките в хода на остаряването, ще покажат промените, които настъпват при сблъсък им с условията на средата. Така ще бъдат маркирани тези стресови условия, които драстично ускоряват проявлението на патологичните промени в клетките и са свързани с преждевременно остаряване. Уточняването на молекулярно-биологичните фактори и процеси, които се променят в клетките по време на стрес, ще се систематизират и като евентуални таргети при разработване на терапия, насочена към забавяне на процесите на стареене.

**Трето**, разкриването на молекулни механизми и техните взаимодействия в процесите на остаряването на клетките ще даде възможност за разработването на протоколи за забавяне и дори предотвратяване на процесите в преждевременно остаряващите клетки и ще осигури възможности за бъдещи терапевтични мерки за забавяне стареенето на организма. Очаква се опознаването в дълбочина на морфологичните, биохимични и молекулярно-биологични проявления на остаряването в изследваните моделни обекти да позволи създаване на терапия за борба с остаряването. Суплементирането на остаряващите култури с биологичноактивни съединения и изясняването на механизма, по който действат на клетъчното стареене, са предпоставка за разработване на протоколи за терапия на стареенето и свързаните с него патологични проявления.



## Членове на научния колектив

<i>Организации/участници<sup>1</sup></i>	<i>Бележка<sup>2</sup></i>
<b><i>Базова организация:</i></b>	
Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“	
<b><i>Ръководител на научния колектив</i></b>	
Професор, д-р, Георги Ангелов Милошев	
<b><i>Участници:</i></b>	
Доц., д-р Милена Георгиева Кирилова Гл. ас., д-р Десислава Николаева Станева Борислава Иванова Кукурина, ДО Бела Йонкова Василева, бакалавър, ДО	
<b><i>Партньорска организация:</i></b>	
Медицински Университет - Пловдив	
<b><i>Участници:</i></b>	
Проф., дм, дмн Виктория Степан Сарафян Проф., дб Пламен Иванов Загорчев, Гл. ас., дб Милена Ненкова Драганова-Филипова Ванина Иванова Божилова, СТ	
<b><i>Партньорска организация:</i></b>	
<b><i>Участници:</i></b>	
<b><i>Партньорска организация:</i></b>	
<b><i>Участници:</i></b>	

<sup>1</sup> Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

<sup>2</sup> Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



***Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)***

Резултатите от изпълнението на Първия етап на настоящето проектопредложение са в две от предвидените три основни направления:

**Първо:**

Създадени са моделни клетъчни системи за изследване на остаряването в норма и патология. Тези модели засега включват дрождени култури, мутанти по различни хроматинови протеини. С помощта на манипулиране на дрождения геном се създадоха и култивираха клетки, които остаряват преждевременно. Доказахме, че това позволява проследяване на молекулно и клетъчно ниво на процесите, които водят до объркването на генетичната програма на клетките и в крайна сметка до ранно остаряване. Тези клетъчни моделни системи на стареенето се базират на данни за клетъчната морфология, способността на клетките да се справят с различни видове стресови условия, данни за хроматиновата структура, нейната динамика, обусловена от участието на хроматин модифициращи ензими и взаимодействието им с линкерните хистони.

**Второ:**

Третирането на клетките в хода на остаряването чрез поставянето им в различни стресови условия (репликативен, геномен и оксидативен стрес) показва множество промени, които настъпват при сблъсъка им с условията на средата. Маркирани са тези стресови условия, които драстично ускоряват проявлението на патологичните промени в клетките и са свързани с преждевременно остаряване. Уточняването на молекулярно-биологичните фактори и процеси, които се променят в клетките по време на стрес, дава възможност за набелязване на евентуалните таргетни молекули при разработване на терапия, насочена към забавяне на процесите на стареене.

Резултати по **Третото** предвидено направление от нашите изследвания ще бъдат получавани през Втория етап на Проекта. Някои от резултатите в този, Втори етап ще допълват, доуточняват и разглеждат в детайли Първото и Второто направление на проекта.

***Анализ на приложимостта на резултатите, получени през Първия етап на проекта:***

Макар, че по средата на изпълнението на Проекта е рано да се предвидят пълните приложни възможности на резултатите, все-пак някои предположения могат да бъдат направени.

Най-важното достижение на етапа е създаването на клетъчен модел, подходящ за изследване на преждевременно стареене. Много важен аспект на това постижение е, че това са клетки мутанти по структурата, организацията и динамиката на хроматина. Тъй като хроматинът е основен носител на епигенетичната информация нашите резултати показват колко важна е тази информация за живота на клетките и тяхното стареене. В допълнение стресовите условия, които сме изследвали и особено УВ-светлина, показват драстични промени в динамиката на епигенетичната информация. Тъй като сме използвали дължини на вълната и интензитет, използвани в солариумите нашите резултати показва колко вредни за епигенетичната регулация могат да бъдат тези излъчвания. Нашите резултати могат да подпомогнат детайлизирането на програмите за облъчване в соларните центрове.