

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Мариела Константинова Оджакова-Байтошева,

СУ „Св.Климент Охридски“

на материалите, представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност **“Професор”** в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; научна специалност „Генетика“ (молекулярна генетика, биоинформатика и синтетична биология)

Обща част

Конкурсът за “Професор” е в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност „Генетика“ (молекулярна генетика, биоинформатика и синтетична биология) и е обявен за нуждите на Катедра ”Генетика” , БФ на СУ „Св. Кл. Охридски“ в ДВ бр. 93/26.11.2019 г. Единствен кандидат е доц. д-р Роберт Димитров Пенчовски от същата катедра. Прегледът на документите показва, че процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена. Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител са изготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение и вътрешните правилници на СУ „Св. Кл. Охридски“, и отговарят на критериите за придобиване на академичната длъжност „професор“.

Кратки биографични данни

д-р Роберт Димитров Пенчовски завършва специалност „Биохимия и Микробиология” (специализация Генетика) в БФ на СУ „Св. Климент Охридски” през 1995 г. Преминал е и двугодишен курс за допълнителна квалификация по приложна информатика в Свободен факултет, СУ. През 1996 г. постъпва на работа като научен сътрудник в Института по Молекулярна Биология към БАН. В периода 1998-1999 г. работи в Института по Молекулярна Биотехнология гр. Йена, Федерална Република Германия, а в периода 1999 - 2002 е изследовател в Фраунхофер Гезелшафт, гр. Санкт Аугустин, Федерална Република Германия. През 2003 г. получава научната и образователна степен „Доктор“ от Кьолнския Университет, Федерална Република Германия, призната от ВАК. От 2003 до 2006 г. работи в Департамента по Молекулярна, Клетъчна Биология и Биология на Развитието, Йейлски Университет, гр. Ню Хейвън, САЩ (Postdoctoral Fellow), а в периода 2007-2010 г. е научен консултант на чуждестранни биотехнологични компании. От 2010 до 2013 г. е гл. асистент в катедра „Генетика“, БФ, СУ, а през 2013 г. е избран за доцент по „Генетика, синтетична биология и молекулярна еволюция“. От 2018 г. е ръководител на „Лаборатория по молекулярна биология“ към центъра по компетентност при СУ "Чисти технологии и околна среда".

Общо представяне на научните трудове

Доц. Пенчовски е публикувал **общо 48** научни труда в областта на конкурса. В 46 от тях, той е водещ автор. **27** от публикациите са в престижни списания с **ИФ** и имат **общ ИФ 126.49**. Данните от Scopus показват, че трудовете му са **цитирани 349** пъти, с **h-index – 10**. Участвал е в **27** национални и международни научни форуми.

В настоящия конкурс, извън дисертационния труд и конкурса за доцент, д-р Пенчовски е представил **25** научни труда (**14** публикации в реферирани списания, **1** книга, **4** глави от книги в престижни издателства като Springer и Elsevier, **4** публикации от научни форуми и **2** патента - **1** български и **1** международен). Във всички трудовете той е водещ автор. В предствения списък на публикациите (I. Публикации в научни списания - № 3 и IV. Публикации от конференции - № 20,21, 22 и 23) фигурират абстракти или постери от научни форуми и не могат да бъдат отчетени като научни публикации. Представената под №15 книга е докторската дисертация на доц. Пенчовски и не подлежи на рецензиране, тъй като вече е била рецензирана, но е призната от НАЦИД като легитимна съгласно приложена кореспонденция и ще бъде отразена в точковата система. Представените за конкурса публикации имат общ **IF 39** и са цитирани 319 пъти по данни от Scopus. Доц. Пенчовски е участвал в 17 научни форума, след заемане на академичната длъжност „Доцент

От представените публикации , **4** (№ 1, 4, 6, 9) са обособени като хабилитационен труд. Според кварталите, в които *Journal Citation Reports (JCR)* на *Web of Science* групира научните списания с импакт-фактор (IF) и четирите са с Q1, с което доц. Пенчовски покрива изискуемите **100 т.** по показател В от Правилника за прилагане на ЗРАСРБ. Показателите от група Г са както следва: 3 публ. с Q1 = 75 т.; 2 публ. с Q4 = 24 т.; издадена книга въз основа на дисертационния труд = 20 т.; 4 глави от книги = 60 т. и 2 патента = 50 т., като общо събира **229 т.** (изискуем минимум 200 т). По показател цитирания има **638 т.** (изискуем минимум 100 т).

Научни приноси

Основните приноси на научните изследвания на доц Пенчовски са областите на синтетичната биология, биоинформатиката и молекулната еволюция и молекулярна генетика на бактерии.

Синтетична биология

През последното десетилетие антибактериалната резистентност към лекарства се проявява като голямо предизвикателство в модерната медицина, поради увеличението на бактериални патогенни щамове, които са резистентни към много антибиотици. Доц. Пенчовски се е насочил към създаване на високо производителни биохимични тестове за откриване на нови антибиотици, които се свързват специфично с рибопревключватели при много човешки патогенни бактерии.

Доц. Пенчовски представя нова стратегия за дизайн и приложение на антисенс олигонуклеотиди (АСОи) като нови антибактериални агенти, които се целят в специфични бактериални иРНК, отговорни за функцията на различни биосинтетични пътища, които

синтезират есенциални метаболити в бактериите. Демонстрирано е инхибиране на растежа в множество патогенни бактерии, включително *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и *Escherichia coli*. (3)

Създадени са 6 уеб базирани платформи, включващи ДНК/РНК транслиране, AminoCODE трансформатор, виртуален PCR анализатор, генериращ фрагменти със или без ДНК стърчащи крайща, хидрофобност на протеинови секвенции, обратен транслятор на протеини и търсач на отворени рамки на четене в еукариотни организми.(4). Докато синтетичните ДНК-и обикновено се използват за самостоятелно свързване на наноструктури и устройства *in vitro*, функционалните РНКи, като рибозими, се използват както *in vitro*, така и *in vivo*. Алостеричните рибозими имат приложения в молекулярните изчисления, биосензорите, скрининговите масиви с висока пропускателна способност, екзогенния контрол на генната експресия и други. Те включват и изключват своята каталитична функция в резултат на конформационна промяна, индуцирана от свързване на лиганда. Предложени са изчислителни методи за проектиране на алостерични рибозими , които да реагират на различни ефектори чрез *in vitro* подбор. Тези методи дават желаните рибозимни последователности за минути, за разлика от методите за селекция *in vitro*, които изискват седмици. (13)

Обсъдени са различни приложения на дизайнерски рибозими и РНК базирани подходи за молекулярно наблюдение и диагностика, откриване на антибактериални лекарства, екзогенен контрол на генната експресия и заглушаване на гените (14). Разгледани са специфични характеристики при клинични изпитания на антисенс олигонуклеотиди, аптамери, малки интерфериращи si-РНК и рибозими. Обсъдено е настоящото състояние и са изброени перспективни варианти за използване на антисенс олигонуклеотиди и аптамери като лекарства (8). Разгледани са и конкретни РНК молекули с антибактериална активност, механизмите на антибиотичната резистентност и механизмите за предотвратяването ѝ (11,12,18).

Нанобиотехнологиите и синтетичната биология могат да интегрират нучните постижения и технологиите за създаване на организми с нови желани свойства. Доц. Панчовски представя нови революционни методи от синтетичната биология за създаване на нови геноми, дискутирайки техническите аспекти за създаването им и техните настоящи ограничения. Разгледани са технологиите за редакция на геноми, базирани на CRISPR- Cas системата, както и използването на големи РНК-базирани методи за дизайн на мрежи за генетичен контрол. както в прокариоти, така и в еукариоти, включително хора (19)

Интересен подход е идентифицирането на NC гените в в генома на *Arabidopsis thaliana* (*Arabidopsis*) чрез хомология на човешката Лецитин-ретиална ацилна трансфераза (LRAT) и протеина на пикорнавирус 2А. Белтъците на *Arabidopsis* съдържат два мотива (H-Vox и NC), идентифицирани в огромно разнообразие от организми. Сред сродните протеини са EGL-26 от *C. elegans*, регулаторен протеин на клетъчната морфогенеза във вулвата и човешки протеини, които могат да бъдат свързани с клетъчна пролиферация или развитие. Човешките хомолози включват HRAS-подобни туморни супресори, индуцирани от

Tazarotene ген 3 (TIG3) и изопептидаза (PNAS-4), която индуцира апоптоза в раковите клетки на белия дроб. Запазване на двата наблюдавани мотива в протеините на Arabidopsis в хомология с туморни супресори и запазването на остатъците, важни за функцията на LRAT сред хомолозите на Arabidopsis, може да бъде показателно не само за значението на тези домени за функцията на растителните протеини, но също така може да разкрие нова група за проектиране и разработване на лекарства, насочени към тумори. (7)

Биоинформатика и молекулна еволюция“

Основно направление, в което доц. Пенчовски работи е дизайн, синтеза и биохимично тестване на алостерични рибозими които се активират или деактивират при специфично свързване на определени ДНК, РНК олигомери или малки молекули.

Представени са *in silico* анализи на бактериални рибопревключватели, които могат да бъдат подходящи като мишени. Показано е, че FMN, SAM-I, glmS, TPP и лизинов рибопревключватели са обещаващи места за откриване на антибактериални лекарства, тъй като тяхното инхибиране довежда до потискане антибактериални лекарствени мишени. Представен е пълен и изчерпателен биоинформатичен анализ в целия геном за използването на осем рибопревключватели като антибактериални лекарствени мишени в различни патогенни бактерии. Въз основа на *in silico* анализите, рибопревключвателите са класифицирани в четири различни групи на базата на възможността им да бъдат използвани като антибактериални лекарствени растежа на определени патогенни бактерии(5). Тези постижения са признати с един международен патент(25) и решение за издаване на български патент (24).

Основните биоинформатични уеб услуги (EBWS) са внедрени на нов сървър, базиран на PHP, който предоставя полезни инструменти за анализ на ДНК, РНК и протеинови последователности чрез прилагане на удобен за потребителя интерфейс. В момента има девет уеб базирани аплета достъпни на уеб сървъра. Те включват обратна комплементарна ДНК и произволни ДНК/РНК/пептидни олигомерни генератори, търсачка за мотивни секвенции, рязане с ДНК рестриктаза, прокариотна ORF (отворена рамка на четене) търсачка и произволен ДНК/РНК мутационен генератор. Той също така включва калкулатора на температура на топене (Т_m) на ДНК /ДНК, РНК/РНК и ДНК/РНК хибриди, генератор за водеща РНК (gRNA) за CRISPR / Cas9 системата и калкулатор за температурата на свързване за мултиплексна PCR. Аpletът за търсене на модели няма ограничения в броя на мотивните входове и прилага кутия с инструменти Regex, които могат да бъдат използвани за дефиниране на сложни заявки за последователност на РНК, ДНК и протеинови последователности. Програмата за усвояване на ДНК ензимите използва голяма база данни от 1502 рестрикционни ензими. Генераторът за водеща РНК има база данни с 25 бактериални генома, които могат да се търсят за gRNA целеви последователности и има опция за търсене във всяка последователност на генома, зададени от потребителя. Всички програми са постоянно достъпни онлайн на <http://penchovsky.atwebsites.com/> без ограничения. (9)

Доц. Пенчовски е автор на методична разработка, касаеща дизайн и създаване на микрореактори, които работят като ДНК-базирани компютри. Той демонстрира автоматизиран трансфер на хибридизация на ДНК в микрофлоу реактор чрез преместване на парамагнитни топчета между два пространствено отделени разтвора с различни стойности на рН. Тази разработка може да намери приложение при изработка на ДНК микрочипове, функционален скрининг на нуклеинови киселини, нови методи за ДНК секвениране, молекулна диагностика. (2).

Молекулната еволюция и молекулярна генетика на бактерии.

Част от разработките на доц. Пенчовски са насочени към изследване на рибопревключватели, които са обещаващи за разработването на нови антибактериални лекарства. Целта е да се улесни бързото откриване и разработване на антибактериални лекарства, базирани на съединения, атакуващи бактериални рибопревключватели чрез употребата на съвременни техники като високо производителен скрининг. Затова доц. Пенчовски се занимава с общото разпределение, структурата и функцията на 28 различни класове рибопревключватели, които регулират генната експресия чрез четири различни механизма. В допълнение, той тества тяхната роля чрез нов подход в молекулярната генетика, а именно антисенс технологията. Тя включва употребата на дизайнерски антисенс олигонуклеотиди, които той разработва и в последствие тества върху бактериални клетки, които са патогенни за човешкия организъм . Изобретение 112506-17.05.2017г., публикувано на 02.01/15.02.2019 и одобрено на 22.01.2020 г. (24) е насочено към развитие на антибактериални агенти чрез употребата на химерни антисенс олигонуклеотиди, заедно с пептиди, проникващи в клетката, които се свързват със специфични бактериални РНК и инхибират техните функции.

Разработването на нови антибиотици е изключително актуално поради нарастващия брой резистентни патогенни бактерии. Това може да бъде постигнато чрез използване на нови мишени за откриване на антибактериални лекарства. В обзорна статия (11) се разглеждат няколко различни типа молекули РНК, използвани като антибактериални лекарствени цели. РНК е най-нееднозначният биополимер в клетката, който носи много различни функции. Например, тРНК, рРНК и иРНК са от съществено значение за генната експресия както в про-, така и в еукариотите. Въпреки това, всички тези видове РНК имат последователности и 3D структури, които са специфични само за бактериите и могат да се използват за спиране на основните биохимични процеси само в бактериите. Всички тези характеристики правят РНК много мощна мишена за развитие на антибактериални лекарства. Дискутирани са ключови механизми на антибактериалното действие на лекарства, развитието и разпространението на антибактериална резистентност, и най-спешните мерки за третиране на бактериални щамове с множествена устойчивост (16, 17, 18).

Като показател за научната стойност на дейността на доц. Пенчовски, освен високия ИФ на публикуваните статии и цитируемостта на трудовете му, е и получената награда от

българския национален конкурс за високи научни постижения за учени от всички области над 35 годишна възраст, организиран от Съюза на учените в България за периода от 2012 до 2014 г за работата му в областта на синтетичната биология, биоинформатика, молекулярна еволюция, молекулярна генетика и откриване на нови антибиотици.

Проектна дейност

Според попълнената справка за изпълнение на минимални национални изисквания, Доц. Пенчовски е участник в разработването на 4 научни проекта финансирани от МОН и ЕС и е ръководител на 3 проекта, финансирани от МОН. Общата стойност на привлечените средства от проектите под негово ръководство възлиза на 326 000 лв., което по показател Е му носи общо **165.2 т.**

Педгогическа дейност

Доц. Пенчовски е титуляр и автор на програми на редица лекционни курсове в бакалавърски и магистърски програми за редовни и задочни студенти в БФ на СУ: Биоинформатика и молекулярна еволюция – задължителен курс за магистратури „Генетика и Геномика“ и „Генно и Клетъчно Инженерство“; Синтетична биология – задължителен курс за магистратура „Генно и Клетъчно Инженерство“ и свободно избираем за магистратури „Генетика и Геномика“ ; Геномика – задължителен курс за магистратура „Генно и Клетъчно Инженерство“ „Генетика и Геномика“; Молекулярна Генетика - задължителен курс за студенти бакалаври IV курс от специалност Молекулярна Биология ; Биоинформатика - задължителен курс за студенти бакалаври IV курс от специалност Агробиотехнологии. Бил е ръководител на 16 успешно защитили магистри от „Генетика и Геномика“ и „Генно и клетъчно инженерство“ и 4 студента по СДК „Съвременни аспекти на биологията: Биоинформатика, Геномика и Синтетична биология“ . Под негово ръководство са защитени две докторски дисертации, двама докторанти са отчислени с право на защита и трима са текущи, което по показател Е му носи **100 т.**

Експертна дейност

Доц. Р. Пенчовски е член на редакционната колегия на международното научно списание *ES Microbiology*. Бил е рецензент на научни статии и проектни предложения. . Участвал е в състава на научни журитата за гл. ас. и за доцент.

Заклучение:

Документите и материалите, представени от д-р Пенчовски отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в РБ (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение и вътрешните правилници на СУ „Св. Кл. Охридски“, и надхвърлят критериите за придобиване на академичната длъжност „професор“. Представените материали и личните впечатления ми дават основание да изразя убедено положителното си становище по отношение на кандидатурата на доц. д-р Роберт Димитров Пенчовки за академичната длъжност “професор”. Той е утвърден специалист и преподавател, ползващ

се с авторитет в научните среди и сред студентската общност. Като член на Научното жури по обявения конкурс давам положителна оценка и препоръчвам на членовете на почитаемия Факултетен съвет на Биологически Факултет да гласуват положително за избирането доц. д-р Роберт Димитров Пенчовки на академична длъжност “ професор ” по професионално направление 4.3. Биологични науки, специалност Генетика (молекулярна генетика, биоинформатика и синтетична биология).

29 март 2020 г.

/проф.. д-р Мариела Оджакова/