

## СТАНОВИЩЕ

ОТ

проф. д-р Роберт Димитров Пенчовски от катедра Генетика, Биологически факултет, Софийски Университет „Свети Климент Охридски“

*Относно дисертационен труд със заглавие “ДИЗАЙН И ПРИЛОЖЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛНИ НУКЛЕИНОВИ КИСЕЛИНИ ЗА КОНТРОЛ НА ГЕННА ЕКСПРЕСИЯ И СЪЗДАВАНЕ НА НОВИ ТЕРАПЕВТИЧНИ АГЕНТИ” с автор Катя Бисерова Попова за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР” в областта на „Природни науки, математика и информатика”, професионално направление: „Биологични науки”, шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика - Биоинформатика” с научен ръководител проф. д-р Роберт Димитров Пенчовски.*

Като научен ръководител на *Катя Бисерова Попова* мога да убедено да заявя, че нейната дисертация е структурирана съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България. Представеният дисертационен труд съдържа 156 страници, 50 фигури, 5 таблици, като са цитирани 189 литературни източника.

Дисертацията на *Катя Бисерова Попова* съдържа следните части: състав на научното жури, списък на публикациите и научни проекти на които се основава, благодарности, използвани съкращения, съдържание, въведение, литературен обзор, цели и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи и научни приноси.

Дисертацията е много добре организирана и ясно написана, което улеснява нейното разбиране и оценяване. Литературния обзор обхваща всички важни теми свързани с целите и задачите на дисертацията. Всички 50 фигури са оригинални и са направени с висока резолюция. Целите и задачите, изводите и научните приноси са ясно и убедително формулирани. Резултатите са представени с необходимия доказателствен материал.

**Основната цел** на дисертацията на *Катя Бисерова Попова* е създаването на нови химерни антисенс олигонуклеотиди с антибактериална активност при патогенни бактерии, които се свързват специфично с glmS рибопревключвателя

или с бактериалните иРНК-и, кодиращи ензимите N-ацетилглюкозамин-6-фосфат деацетилаза и гуанилат киназа, както и тестване за цитотоксичност в човешки клетъчни линии.

**Актуалност, значимост и оригиналност на темата на дисертацията:** Проблемът с възникването и разпространението на нови щамове бактериални патогенни, които притежават резистентност към съществуващи антибиотици е едно от най-големите предизвикателства при съвременното лечение на инфекциозни заболявания предизвикани от бактериални. Това е признато от Световната здравна организация като едно от най-големите предизвикателства в съвременната медицина водещо до смъртта на все повече хора в световен мащаб. Това потиква все повече изследователи и фармацевтични компании да разработват нови антибактериални средства за преодоляване на множествената антибактериална резистентност. За съжаление, нови антибиотици не се създават достатъчно бързо за да осигурят ефективно лечение срещу новите бактериални щамове, развили устойчивост към съществуващите антибиотици. Необходимо е да се развият и използват нови стратегии за бързо създаване на антибактериални агенти, чрез които да се води успешна борба с резистентните патогенни бактерии. В този контекст тема на дисертацията е много актуална, както от чисто научна гледна точка така и от научно-приложно естество.

**Използваните методи** в дисертацията на *Катя Бисерова Попова* са не само разнообразни но и интердисциплинарни. Те напълно съответстват на поставените цели и задачи и включват: 1) биоинформатични анализи на консервативни секвенции с glmS рибопревключвателя и с бактериалните иРНК-и, кодиращи ензимите N-ацетилглюкозамин-6-фосфат деацетилаза и гуанилат киназа; 2) биоинформатични анализи на вторични структури на тези РНКи; 3) Дизайн на АСОи хибридиращи с тези таргетни РНК; 4) Измерване кинетиката на растеж на бактерии в присъствието и в отсъствието на АСОи; 5) Тестване на токсичност на АСОи в клетъчни линии *in vitro*.

**Резултати:** 1. Според проведените биоинформатични анализи като подходящи мишени за широкоспектърни антибиотици са установени:

1.1. glmS рибопревключвателят, отговарящ за кодирането на глюкозамин-6-фосфат синтетаза в геномите на 26 патогенни за човека бактерии;

1.2. *pagA* генът, кодиращ ензима N-ацетилглюкозамин-6-фосфат деацетилаза в геномите на 106 патогенни за човека бактерии;

1.3. *gmk* генът, кодиращ ензима гуанилат киназа в 109 патогенни за човека бактерии.

2. Според проведените биоинформатични анализи на биохимичните пътища за синтез на ключови метаболити в патогенната бактерия *S. aureus* е установено, че липсват функционални алтернативни пътища за синтез на пептидогликан и гуанин в бактериалните клетки, освен тези с участието на избраните мишени.

3. Създадени са общо 7 нови химерни антисенс олигонуклеотиди, сред които четири са строго специфични за патогенната бактерия *S. aureus* (ACO1-ACO4), два не са специфични за определена мишена (ACO5, ACO6) и един не притежава мишена (ACO7).

4. Доказано е силно инхибиращо действие на ACO1, който при комбинирано приложение с ACO2 *in vitro* блокира синтезата на пептидогликан и постига бактерициден ефект в патогена *S. aureus* (МИК80=800nM ACO1 и МИК80=800nM ACO2).

5. Доказан е силен синергичен инхибиращ ефект при комбинирано приложение на ACO3 и ACO4 *in vitro* в патогена *S. aureus* (МИК50=875nM ACO3 и МИК50=875nM ACO4).

6. Доказано е, че неспецифичните последователности на ACO5 и ACO6 предизвикат силен цитотоксичен ефект в здрави и ракови човешки клетъчни линии, което демонстрира важноста при проектирането на ACO от строго специфичен и предварително анализиран биоинформатично дизайн.

7. Доказано е, че ACO7 със своята уникална последователност, която не притежава нито напълно комплементарна, нито дори сходна мишена в никой

144

секвениран организъм, не предизвиква цитотоксичност в бактерията *S. aureus* и в човешка клетъчна линия Hep3, но проявява антитуморна активност спрямо ракова клетъчна линия MDA-MB-231.

**Обсъждането** е направено точно на получените резултати и в съответствие с литературните данни от използваната библиография. Изводите и научните

приноси съответстват пълно на получените резултати.

**Публикации:** Дисертационният труд е базиран на 3 научни публикации с участието на докторанта. Между тези публикации има една публикувана в списанието Environmental Chemistry Letters с импакт фактор от 5.922 за 2019г.

1. Katya B Popova and Robert Penchovsky. "Why Some Functional RNAs Such as Bacterial Riboswitches are Versatile Targets for Antibacterial Drug Discovery?", EC Microbiology 16.11 (2020): 54-55

2. Katya B Popova, A.Valsamatzi-Panagiotou, R. Penchovsky "New drug discovery strategies for targeting drug-resistant bacteria: a review", Environmental Chemistry Letters, (2021)

3. Katya B Popova and Robert Penchovsky "Current Activators of the glmS Riboswitch", Biomed J Sci & Tech Res, (2021)

**В заключение** като се вземе предвид значимостта, актуалността и иновативността на темата на дисертационния труд, използваните съвременни методи, получените резултати с важен научен и научно-приложен принос за използване на АСОи като антибактериални агенти, аз определям дисертационният труд като успешно разработен и научно обоснован, отговарящ на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и специфичните изисквания на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“.

Във връзка с гореизложеното, аз оценявам високо постигнатите иновативни резултати в дисертацията на **Катя Бисерова Попова** и препоръчам напълно убедено на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на **Катя Бисерова Попова** образователна и научна степен "ДОКТОР" в областта на „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление: „Биологически науки“, Шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика – биоинформатика“.

30.03.2021

гр. София

**Изготвил становището:** ...../подпис/

*проф. д-р Роберт Димитров Пенчовски*

катедра Генетика, Биологически факултет,

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“