

СТАНОВИЩЕ

от

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

Относно дисертационен труд със заглавие “Биоинформатичен и геномен анализ на рибопревключватели и свързани с тях биохимични пътища при човешки патогенни бактерии и използването им като мишени за създаване на нови антибактериални агенти“ с автор Николет Илиева Павлова 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”.

Представената дисертация от *Николет Илиева Павлова* е структурирана съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България. Дисертацията съдържа следните основни части: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, заключение, изводи, научни приноси и библиография. Освен това тя съдържа и използвани съкращения и автобиография на докторанта. Дисертационният труд съдържа 151 страници, 43 фигури, 5 таблици, като са цитирани 168 литературни източника.

Дисертацията е много добре написана и структурирана, което улеснява нейното четене, разбиране и оценяване. Всички фигури са оригинални и прегледно направени с висока резолюция. Целите и задачите, изводите и научните приноси са ясно и убедително формулирани. Резултатите са представени с необходимия доказателствен материал.

Основна цел на дисертацията: Дисертацията прилага методите на биоинформатиката и системната биология за анализ на използването на различни класове бактериални рибопревключватели като мишени за създаване на нови антибактериални агенти.

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 бактериални инфекциозни заболявания. 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 развиват и използват нови стратегии за бързо създаване на антибактериални агенти, чрез които да се води успешна борба с резистентните патогенни бактерии.

В този контекст темата на дисертацията е много актуална, както от чисто научна гледна точка така и от научно-приложно естество. Тук за първи път е направен пълен биоинформатичен и системно биологичен анализ на степента на приложимост на различни класове рибопревключватели като мишени за създаване на нови антибактериални агенти.

Използваните методи в дисертацията на Николет Илиева Павлова са не само разнообразни но и интердисциплинарни. Те напълно съответстват на поставените цели и задачи и включват: 1) биоинформатични анализи на биохимични пътища за синтеза няколко основни видове рибопревключватели при бактерии; 2) биоинформатични анализи на консервативни секвенции при бактериални рибопревключватели; 3) биоинформатични анализи на вторични структури на мРНКи на бактериални рибопревключватели; 6) Анализ на алтернативни биосинтетични пътища, които не се контролират от рибопревключватели.

Резултати: Направен е първият пълен, детайлен и широко обхванат биоинформатичен и геномен анализ на 28 класа рибопревключватели, обхващащ гените на видове организми, предоставящ данни за разпространението на рибопревключвателите в еукариоти, бактерии и археи. Получени са данни за разпространението на рибопревключвателите в 49 вида човешки патогенни бактерии.

Представени са на едно място всички 26 метаболита, които се разпознават специфично от откритите рибопревключватели и са групирани в 6 категории по тип – коензими (9), нуклеотидни производни (4), сигнални молекули (4), йони (4), аминокиселини (3) и други метаболити (2).

Направена е селекция на 8 от най-разпространените рибопревключватели, които след това са детайлно проучени и анализирани. За всеки един от тях е направен геномен

анализ, който предоставя информация за консервативността на аптамерната част, вторичната и третичната структура на рибопревключвателя, както и специфичния метаболит, който той разпознават и свързва. Представена е онагледена информация за механизмите на регулация на генната експресия – терминация на транскрипцията, превенция на трансляцията и дестабилизиране на иРНК.

Анализирани са биохимичните пътища, в които участват ФМН, Пурин, ТПФ, Глюкозамин-6-фосфат, Кобаламин, Лизин, САМ и САХ рибопревключвателите. Представена е информация кои ключови метаболити са под контрола на рибопревключвател-регулираната генна експресия. Рибопревключвателите ФМН, САМ-I и Лизин, освен синтез на ключови метаболити, контролират транспортни белтъци, внасящи ключовите метаболити отвън-вътре в клетката. При рибопревключвателите Пурин, Кобаламин и САХ се наблюдават алтернативни биосинтетични пътища за ключови бактериални метаболити, които не са под техен контрол.

За първи път е представена класификация за пригодността на осемте гореспоменати рибопревключвателя в използването им като антибактериални лекарствени мишени, базирана на постулирани критерии:

Най-подходящите мишени за разработване на антибактериални лекарства от анализираниите осем рибопревключвателя са ФМН, Лизин и САМ рибопревключвателите. Много подходящите рибопревключватели са Глюкозамин-6-фосфат и ТПФ. Частично подходящи рибопревключватели са Кобаламин и Пурин. Неподходящ е САХ рибопревключвателят. За всеки един от цитираните рибопревключватели са предложени стратегии за специфично свързване на конкретен рибопревключвател, което води до невъзможност да се синтезира ключовият метаболит и последващ бактериостатичен ефект или дори бактерициден ефект. Те могат да се използват като мишени за създаване на тясноспектърни и широкоспектърни антибактериални лекарства, в зависимост от това каква част от аптамерния им домен се прицели.

Всички анализи и получени резултати послужиха в нашата лаборатория да започнем тестването на 4 рибопревключвателя – ФМН, GlnS, ТПФ и САМ-I като антибактериални лекарствени цели при различни видове патогенни бактерии. Доказахме, че прицелването на всички тези рибопревключватели с АСОи, свързани с клетъчно проникващи олигопептиди, инхибира клетъчния растеж на много видове

патогенни бактерии.

Обсъждането е направено адекватно на получените резултати и в съответствие с литературните данни от използваната библиография. Изводите и научните приноси съответстват пълно на получените резултати.

Доказателство за високото качество на научните резултати на представени в докторската дисертация е, че те са публикувани във високо реномирани научни списания с значителен импакт фактор:

1. Nikolet Pavlova, Dimitrios Kaloudas & Robert Penchovsky, Riboswitch distribution, structure, and function in bacteria, *Gene*, 8, 38-48 (2019), IF: 2.62, Q1 (Scopus – 25т.) <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.036>

2. Nikolet Pavlova & Robert Penchovsky, Genome-wide bioinformatics analysis of FMN, SAM-I, glmS, TPP, lysine, purine, cobalamin, and SAH riboswitches for their applications as allosteric antibacterial drug targets in human pathogenic bacteria, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 23, 631-643, (2019) IF: 4.6, Q1 (Scopus – 25т.) <https://doi.org/10.1080/14728222.2019.1618274>

Освен това Николет съавтор на още една публикация в индексирано в Scopus и Web of Science списание с IF: 4.6, Q1 (Web of Science) и още една публикация прета за публикуване.

3. Nikolet Pavlova, Dimitrios Kaloudas & Robert Penchovsky, EBWS: Essential Bioinformatics Web Services for Sequence Analyses, *IEEE Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 16, 942-953 (2019), IF: 2.4, Q1 (Web of Science – 25т.) DOI: 10.1109/TCBB.2018.2816645.

4. Robert Penchovsky, Nikolet Pavlova and Dimitrios Kaloudas, ExBWS: Extended Bioinformatics Web Services for Sequence Analyses, *International Journal of Bioinformatics Research and Applications*, (2019) in press, IF; 0.85, Q4 (Scopus – 12т.)

Николет Павлова също така има втора награда за постер 14th Congress of Microbiologists in Bulgaria with International Participation.

Всички тези публикации демонстрират, че Николет Павлова е многообещаващ млад учен.

В заключение като се вземе предвид значимостта, актуалността и иновативността на темата на дисертационния труд, използваните съвременни методи, получените

результати с важен научен и научно-приложен принос за използване на различни класове рибопревключватели като молекулни мишени за създаването на нови 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“, включващи две публикации, които са реферирани в научната база данни SCOPUS с общ импакт фактор от 7.22 единици. Освен това и двете публикации са в списания (Gene и Expert Opinion on Therapeutic Targets) с ранг Q1 според научната база данни SCOPUS и носят общо 50 точки, което е много високо постижение за докторска дисертация. И в двете публикации докторанта Николет Илиева Павлова е първи автор и няма други докторанти сред съавторите на тези публикации. Това е доказателство, че основната научно-следователска работа включена в тези публикации е дело на докторанта Николет Павлова.

Във връзка с гореизложеното, аз оценявам много високо постигнатите иновативни резултати и публикации в дисертацията на *Николет Илиева Павлова* и препоръчам напълно убедено на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на Николет Илиева Павлова образователна и научна степен “ДОКТОР” в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика”, професионално направление: „Биологически науки”, Шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика – биоинформатика”.

13.09.2019г.

гр. София

Изготвил становището:/подпис/

доц. д-р Роберт Димитров Пенчовски

катедра Генетика, Биологически факултет,

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“