

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 експериментално тестване на химерни антисенс олигонуклеотиди като антибактериални агенти“ с автор Лозена Адриянова Отчева 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 - Генно инженерство“ с научен ръководител проф. д-р Роберт Димитров Пенчовски.

Като научен ръководител на *Лозена Адриянова Отчева* мога да уверя, че нейната дисертация е структурирана съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България. Дисертационният труд съдържа 139 страници, 39 фигури, 14 таблици, като са цитирани 327 литературни източника. Дисертацията съдържа следните части: увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусии, изводи, научни приноси, използвани съкращения; литература, списък на публикации, върху които е основана дисертацията.

Дисертацията е добре написана, което улеснява нейното четене, разбиране и оценяване. Литературния обзор обхваща всички теми свързани с целите и задачите на дисертацията. 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.

Дисертацията прилага методите на антисенс технологията за създаване на нови антибактериални агенти, които използват като мишени мРНК, съдържащи бактериалния рибопревключател (РП) за тиаминпирофосфат (ТПФ) и мРНК, кодираща ензима аденилат киназа (АДК). В литературния обзор са много добре обяснени основните теми на дисертацията, включително антисенс технологията, структурата и функцията на бактериални рибопревключателни,

видове антибиотици и механизми на тяхното действие, причини и механизми за възникване на антибактериална резистентност.

Основната цел на дисертацията на *Лозена Адриянова Отчева* е създаването на нови антибактериални агенти базирани на антисенс олигонуклеотиди, които специфично да се свързват с две различни мРНКи и да инхибират растежа на определени *S. aureus in vitro*.

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 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. Създаването на синтетични антисенс олигонуклеотиди (АСОи), насочени срещу специфични мРНКи с жизнено-важни регулаторни функции в бактериите, има голям потенциал за използването им като нови антибактериални агенти. Този потенциал е разкрит за първи път в дисертацията на *Лозена Адриянова Отчева*. Тук за първи път е доказано инхибирането на бактериален растеж в резултат на действието на АСОи, които изпулват като мишени бактериални ТПФ рибопревключвател или мРНК, кодираща ензима аденилат киназа (АДК). Поради това, тези дисертация заслужава да се възприеме като иноваторска и напълно оригинална в своята същност.

Използваните методи в дисертацията на *Лозена Адриянова Отчева* 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 на ТПФ и аденин/гуанин при бактерии; 2) биоинформатични анализи на консервативни секвенции при бактериални ТПФ рибопревключвател и на мРНК на ензима аденилат киназа (АДК); 3) биоинформатични анализи на вторични структури на мРНКи; 4) Дизайн на АСОи; 5) Измерване кинетиката на растеж на бактерии;

Резултати: Използваните АСОи са свързани с рVЕС, които е клетъчно проникващ олигопептид. Проведените прецизни експерименти доказват убедително инхибиторен ефект на АСО1 и АСО3 върху бактериалния растеж на безусловно патогенна бактерия при *Staphylococcus aureus*. Чрез получените резултати от експериментите *in vitro* е доказахме, че по-силното антибактериално действие на АСО1 се дължи на по-добрата способност на Изчислин е MIC80 от 650nM за АСО1 срещу мРНК на ензима аденилат киназа (АДК). Всички експерименти с АСОи са повторени пет пъти, като резултатите са осреднени. Този ензим разпознава ДНК/РНК хибридни участъци. Срещу ТПФ РП-я на бактерия е получен MIC80 от 750nM за АСО4.

Тези резултати имат важно научно-приложно значение, тъй като доказват че тези АСОи могат да се използват по този начин като антибактериални агенти с бактериостатичен ефект и бактерициден ефект. Важно е да се подчертае, че всички АСОи работиха успешно и не се правени никакви допълнителни дизайни на АСОи. Това говори много добре за ефективността на създадения метод.

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.

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“, включващи две публикации в западни списания с импакт фактор.

Във връзка с гореизложеното, аз оценявам високо постигнатите иновативни резултати в дисертацията на Лозена Адриянова Отчева и препоръчам напълно убедено на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на Лозена Адриянова Отчева 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 – генно инженерство”.

25.01.2021

гр. София

Изготвил становището:/подпис/

проф. д-р Роберт Димитров Пенчовски

катедра Генетика, Биологически факултет,

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“