

До председателя на Научно жури,  
определено със Заповед ВО38-473/26.07.2019  
на Ректора на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Румяна Донкова Марковска-Давидкова, дм  
Катедра по Медицинска Микробиология  
Медицински факултет, Медицински Университет – София

Относно дисертационен труд на тема

**“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**, редовен докторант в Софийски Университет - „Св. Климент Охридски“ представен за придобиване на образователна и научна степен **“ДОКТОР”** в област на висше образование 4. **„Природни науки, математика и информатика”**, професионално направление: **„4.3 Биологични науки”**, Научна специалност: **„Генетика - биоинформатика”**.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси и общи публикации с докторантката.

Представената дисертация и автореферат от *Николет Илиева Павлова* са структурирани съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България.

### **Автобиографични данни**

*Николет Илиева Павлова* завършва през 2014г бакалаварска степен “Молекулярна биология” в Биологическия факултет, СУ ”К Охридски”, а през 2016г магистърска степен в същата програма, като темата на магистърската теза е сходна с темата на дисертационния труд. През 2016г е зачислена като редовен докторант към катедрата по Генетика на СУ-София.

**Актуалност на темата на дисертацията:** Антибиотичната резистентност е една от

най-големите заплахи в днешно време. Нерационалната антибиотична употреба, недостатъчният контрол на вътреболничните инфекции, както и голямата мобилност на населението води до селекция на резистентни мутанти под повишения антибиотичен натиск в болниците и обществото, както и широко разпространение на детерминантите на резистентност. Появяват се пан-резистентни микроорганизми, които не се повлияват от нито едно антимикубно средство използвано в практиката понастоящем. Това е едно от най-големите предизвикателства при съвременното лечение на инфекциозните заболявания. Карбапенемаза и широкоспектърни бета-лактамази произвеждащи ентеробактерии, карбапенем-резистентни *Pseudomonas* и *Acinetobacter* са включени в приоритетния списък на СЗО за търсене на нови лекарствени средства. В последните години темпа на създаване на нови антимикубни средства се забавя. Необходимо е създаването на нови подходи за антимикубна терапия. Такива подходи могат да бъдат фаговата терапия и използването на нови таргети. Обширни проучвания върху бактериалната иРНК са довели до откриването на нов тип генетични регулаторни елементи, наречени рибопревключватели, които променят експресията на гени, кодиращи важни метаболити за клетката, без които клетката не може да функционира. Те са широко разпространени в бактерии и археи и липсват при човека. Някои от тези рибопревключватели могат да се ползват като таргети за нов тип антимикубна терапия. Тези данни показват актуалността на дисертационния труд.

### **Структура на дисертационния труд**

Дисертационният труд съдържа 151 страници и е структуриран в следните раздели въведение – 4 стр, литературен обзор – 27стр, цел и задачи – 1 стр, материали и методи – 3 стр, резултати – 74 стр, обсъждане – 6стр, заключение – 6 стр, изводи – 2 стр, научни приноси – 2 стр и библиография – 7 стр

Дисертационния труд е онагледен с 43 фигури и 5 таблици и е написан на точен научен език. Изложението се чете лесно, а данните са представени ясно. Цитирани са 158 литературни източници, като 41% са от последните 5 години.

**Основната цел на дисертацията е формулирана ясно.** Поставените три задачи също са формулирани логично и водят до изпълнение на поставената цел.

**Литературния обзор** систематизира познанията върху рибопревключвателите, тяхната структура и функции, както и тяхното разпространение. Представен е кратък преглед на видовете антибактериални средства, като е разгледан проблемът с антибиотичната

резистентност – основните фактори, които водят до възникването и развитието ѝ.

**Задачите**, които си поставя докторантката съответстват на поставените цели и включват анализ на разпространението на 28те основни вида рибопревключватели при патогенните за човека бактерии, на структурата им и видовете лиганди които са разпознавани от рибопревключвателите. В задачите се включва и охарактеризирането на осемте най-чести рибопревключватели в контекста на използването им като мишена за нови антибактериални средства. **Използваните методи** в дисертацията на Николет Илиева Павлова са основно методите на биоинформатичния анализ. Методите включват както използването на утвърдени програми и платформи така и съфтуерни програми разработени от докторантката и доц. Р. Пенчовски.

**Резултати са обособени в отделен раздел.** Докторантката прави пълен, детайлен и широко обхванат биоинформатичен и геномен анализ на 28 класа рибопревключватели. Тя установява, че те се откриват в еукариоти, бактерии и археи, но не се откриват в човешкия геном. Тиамин пирофосфатът и кобаламиновия рибопревключвател са най-разпространените бактериални рибопревключватели. Анализираните рибопревключватели се откриват също така при 49 вида патогенни за човека бактерии, като най-честите са Тиамин пирофосфат (в 48 вида) , Флавинмононуклеотид в 41 вида, Кобаламин в 36 вида, Лизин в 25 вида, Глюкозамин-6-фосфат в 26 вида и S-аденозил метионин в 20 вида, Пурин в 17 вида. Представени са специфичните лиганди, които се разпознават от 28те рибопревключвателя обект на настоящата докторска дисертация и са групирани в 6 категории по тип – коензими , нуклеотидни производни , сигнални молекули , йони, аминокиселини и други метаболити.

На базата на анализа докторантката е избрала 8те най-разпространени рибопревключватели и те са детайлно проучени и анализирани. Направени са 2Д и 3Д модели. 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 8те рибопревключватели. Представена е информация кои ключови метаболити са под контрола им. Седем от 8те рибопревключвателя участват в синтеза на ключови метаболити за бактериите. S-аденозил

хомоцистеин е единственото изключение, защото той регулира не синтез, а разграждане. Рибопревключвателите Флавинмононуклеотид, S-аденозил метионин и Лизин, освен синтез на ключови метаболити, контролират транспортни белтъци, внасящи ключовите метаболити отвън-вътре в клетката. При рибопревключвателите Пурин, Кобаламин и S-аденозил хомоцистеин 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:

Докторантката прави основен извод, че най-подходящите мишени за разработване на антибактериални лекарства от анализирания осем рибопревключвателя са ФМН, Лизин и S-аденозил метионин рибопревключвателите. Много подходящите рибопревключватели са Глюкозамин-6-фосфат и ТПФ. Частично подходящи рибопревключватели са Кобаламин и Пурин. Неподходящ е S-аденозил хомоцистеин рибопревключвателят. За всеки един от цитираните рибопревключватели са предложени стратегии за специфично свързване на конкретен рибопревключвател, което води до блокиране на синтеза на ключовият метаболит и увреждане на бактериалната клетка. 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. Отлично впечатление прави фактът, че проблемът се разработва и в момента и доц. Пенчовски има призната международна заявка за патент, озаглавена "Методи за създаване на нови антибактериални агенти, използващи химерни антисенс олигонуклеотиди" за приложението на АСОи като нови лекарствени мишени Според последните му разработки насочването към тези рибопревключватели на антисенс олигонуклеотиди, свързани с клетъчно проникващи олигопептиди, инхибира клетъчния растеж на много видове патогенни бактерии.

**Обсъждането** е направено адекватно на получените резултати и в съответствие със съвременните литературните данни от използваната библиография.

**Изводите** отразяват основните резултати. Приемам представените научните приноси.

Доказателство за високото качество на представените научните резултати е, че те са публикувани в научни списания с значителен импакт фактор – общо за двете публикации импакт фактора е над 7. И в двете публикации Николет Павлова е първи

автор, което показва водещото участие на докторантката в разработването на дисертационен труд. Наукометричните показатели отговарят на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и изискванията на правилника на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“

**В заключение,** темата на дисертационния труд е много актуална, използваните методи са подходящи и съвременни, получените резултати са с много важни научно-теоретични и приложни приноси. Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и изискванията на правилника на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“ и препоръчам 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: „4.3 Биологически науки”, Научна специалност: „Генетика – биоинформатика”.

24.09.2019г.

**Изготвил становището:**

гр. София

доц. д-р Румяна Донкова Марковска-Давидкова