

СТАНОВИЩЕ

Относно дисертационния труд на редовния докторант Николет Илиева Павлова 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“ за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР” в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление: „Биологични науки”, шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика” и научен ръководител доц. д-р Роберт Пенчовски, Катедра по генетика към Биологически факултет при СУ 'Св. Климент Охридски'.

от чл.-кор. проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн, Ръководител Катедра по медицинска микробиология при Медицински факултет, МУ-София

Наред с ваксините, антибиотиците и химиотерапевтиците са основните лекарствени средства в профилактиката и лечението на инфекциозните заболявания. Високата пластичност на микроорганизмите за приспособяването им към неблагоприятните условия на околната среда чрез мутации и рекомбинации, селекцията на резистентните щамове чрез прекомерно широката, неконтролирана и нерационална употреба на антибиотиците доведе до тревожните изводи на СЗО за загуба ефективността на този клас лекарства в недалечно бъдеще. Ежедневие е в диагностичната практика изолирането на множество резистентни бактерии. Проблемът се усложнява и от липсата на нови антибиотици, получени по класически път от природни биопродуценти или лабораторно синтезирани химиотерапевтици. Всичко това обуславя високата актуалност на дисертационния труд – анализ на рибопревключватели и свързани с тях биохимични пътища и използването им като мишени за създаване на нови антибактериални агенти. Трябва да се отбележи, че това е пореден труд на колектива на доц. Пенчовски насочен в едно ново и перспективно направление в антимикробната терапия – блокиране метаболизма

на патогенни бактерии по генетичен път с помощта на олигонуклеотидни препарати като антисен олигонуклеотиди към широко разпространени рибопревключватели. В тази връзка избраната тема на дисертационния труд има важно теоретично, а в перспектива и практическо значение в опитите за нови подходи в антимикробната терапия на инфекциите.

Трудът е написан на 151 страници и структуриран съгласно Закона за развитие на академичния състав. Заглавието отразява точно същността на работата. Изложението е съразмерно разпределено в общоприетите раздели за списване на дисертационен труд: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, заключение, изводи, научни приноси и библиография. Онагледен е с 43 много добре изработени фигури и 5 таблици. Литературна справка за това ново научно направление е изчерпателна и включва 168 източника.

Обзорът на литературата отразява обстойно съвременното състояние на проблема антибиотична резистентност и постиженията в опитите за създаване на нови антибактериални средства на базата на последните достижения на генетиката и молекулярната биология. Подробно са разгледани механизмите на лекарствената резистентност на бактериите и необходимостта от разработване на нови стратегии за получаване на ефективни антибактериални средства. Представена е структурата и функцията на рибопревключвателите като участъци от иРНК, регулиращи експресията на гени, респ. клетъчния метаболизъм. Надлежно са изброени рибопревключвателите, които блокират метаболитни пътища при широко разпространени 59 патогенни и опортюнистични бактерии. Представени са изследванията върху известните бактериални рибопревключватели и оттук е изведена основната цел на труда: да се изследват чрез биоинформатичен и генетичен анализ рибопревключватели, перспективни като мишени за изпитване и създаване на нови антибактериални лекарствени препарати.

Представеният в обзора технологичен напредък в областта на генетиката и биохимията, създаването и достъпността на големи бази данни в това направление обуславя прецизно формулираните **задачи** - чрез биоинформатичен и геномен анализ да се събере информация за разпространението на известните 28 рибопревключватели в отделните видове бактерии, да се проучи структурата на най-разпространените със съответните им лиганди и подробно да се анализират 8 от най-разпространените от тях.

В изследванията са използвани множество бази данни с отворен достъп (Rfam 14.1; NCBI GeneBank data base; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes ExPASy и Bioinformatic Resource Portal, BioCyc data base, Protein Data Bank) и програми (Blast алгоритъм за търсене, Cluster W/Cluster X; Vienna RNAfold web server и др.). За целта са разработени и собствени приложения (Motif Searcher и Prokaryotic ORF-Openreading frame), което е съществен методичен принос на дисертанта и неговия научен ръководител.

Извършена е значителна по обем *in silico* работа, в резултат на което са постигнати съществени **резултати и приноси**.

- За първи път е направен е детайлен биоинформатичен и геномен анализ на 28 класа рибопревключватели и разпространението им в еукариоти, прокариоти и археи. Получени са данни за разпространението на рибопревключвателите в 49 вида човешки патогенни и опортюнистични бактерии.
- Определени са и групирани 26 метаболита, които се регулират специфично от изследваните рибопревключватели.
- Избрани са осем от най-разпространените в бактериите рибопревключватели. Определена е консервативността на аптамерната част, вторичната и третичната им структура, както и специфичния метаболит, който той разпознават и свързват.

- Представени са механизмите на регулация на генната експресия – терминация на транскрипцията, превенция на трансляцията и дестабилизиране на иРНК.
- Анализирани са биохимичните пътища, в които участват осемте рибопревключватели и съответните метаболити, които са под контрола на рибопревключвател-регулираната генна експресия.
- В резултат на направените анализи са определени като най-подходящи мишени за антибактериални лекарствени средства ФМН, Лизин и САМ рибопревключвателите.
- Получените резултати дават основание за последващи лабораторни изпитания в това ново направление и са основателна надежда за създаване на нови антимикробни лекарства на базата на хомоложни антисенс олигонуклеотиди.

Приемам направените 10 **изводи**, които съответстват напълно на получените резултати.

Съществена част от труда на Нилочет Павлова са публикувани в 4 статии в престижни списания с висок импакт фактор като Gene, Expert Opinion on Therapeutic Targets и др. Резултати са представени и на национален микробиологичен конгрес.

Заключение. Дисертационният труд на Николет Павлова представлява задълбочено иновативно изследване като важен етап от създаването на нов клас антибактериални средства на базата на широко разпространени бактерии, причиняващи инфекции при човека. Резултатите от изследванията са публикувани в престижни списания с висок импакт фактор, с което изпълнява критериите на Биологическия факултет при СУ “Св. Климент Охридски” и на ЗРАС за защита на дисертационен труд. Всичко това ми дава основание да препоръчам на научното жури да гласува положително за присъждане научно-

образователната и научна степен “ДОКТОР” на Николет Илиева Павлова в областта на висше образование: „Природни науки, математика и информатика”, професионално направление: „Биологически науки”, Шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика – биоинформатика”.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(Чл.-кор. проф. д-р И. Митов, дмн)

19.09.2019 г.