

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Елена Иванова Георгиева, член на научно жури назначено със заповед на Ректора на СУ "Св. Климент Охридски" № РД38-58/20.01.2020г., по провеждане на конкурс за заемане на академичната длъжност „Професор“, професионално направление **4.3. Биологически науки** (Генетика – молекулярна генетика, биоинформатика и синтетична биология) обявен в ДВ, бр. 93 от 26.11.2019г., за нуждите на Катедра „Генетика“ при Биологическия факултет на СУ "Свети Климент Охридски".

Процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена и документите са подготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение.

1. Общи данни за кариерното и тематичното развитие на кандидата.

В конкурса единствен кандидат е доцент, доктор Роберт Димитров Пенчовски, Ръководител на лаборатория по молекулярна биология, център по компетентност "Чисти технологии и околна среда", СУ „Св. Климент Охридски“. Кандидатът е роден през 1971г. в гр. София. След защитена дипломна работа на тема: “Експресия на протоонкогените DFRA и DJRA при туморната супресорна мутация I(2)gd”, през 1994г. придобива магистърска степен по Биохимия и микробиология, със специализация Генетика в БФ на СУ. През 1995г. завършва двугодишен курс по „Молекулярна и функционална биология“ и след отлично защитена дипломна работа на тема „Компютърен анализ на генетични текстове“ в Свободен Факултет при СУ „Св. Климент Охридски“ придобива допълнителна квалификация по Приложна информатика. След като отбива задължителна военна служба, в ШЗО гр. Плевен през 1996 г., доц. Пенчовски постъпва на работа като научен работник в ИМБ-БАН. От 1997г. до 1998г. работи като програмист за чуждестранни компании. Една година по-късно (1998/1999) е назначен като научен работник в Института по Молекулярна Биотехнология (понастоящем Институт за Научни изследвания на стареенето), гр. Йена, Германия, а от 1999 до 2002 е научен работник в Фраунхофер Гезелшафт, замъкът Бирлингхофен, гр. Санкт Аугустин, Германия. В периода 2000 – 2003г. е докторант в Института по Генетика при Университета в гр. Кьолн, Германия, където през 2003г. защитава дисертация на тема „Интегрирана ДНК селекция в микро-реактори като метод за молекулярно смятане и диагностика“ и придобива образователната и научна степен „Доктор“, призната с удостоверение №1847/21.12.2009г. от Висшата Атестационна Комисия по научна специалност Генетика (шифър 01.06.06). След успешно защитената докторска теза, в разстояние на три години (2003-2006), доц. Пенчовски работи като пост докторант в Йелския университет, Департамент по Молекулярна, Клетъчна Биология и Биология на развитието, гр. Ню Хейвън, САЩ, а от 2007-2010 г. е научен консултант на чуждестранни биотехнологични компании. От 2010г. е главен асистент по генетика в катедра „Генетика“ на БФ, СУ „Св. Климент Охридски“. След успешно приключил конкурс през 2013 кандидатът придобива академичната длъжност „Доцент“ по генетика, синтетична биология и молекулярна еволюция към катедра „Генетика“, БФ, СУ „Св. Климент Охридски“.

За над 14 годишния си общ трудов стаж, от които 13 години и 3 три месеца по специалността, доц. д-р Пенчовски се представя със забележително високи наукометрични показатели. Научната продукция на кандидата напълно съответства на направлението на обявения конкурс. Доц. д-р Роберт Пенчовски представя списък от общо **48** броя научни труда, с впечатляващ общ импакт фактор (**IF**) **126,49**, сред които на **46** е водещ автор

(първи или последен). Публикационната му дейност е намерила международен израз в над **349 цитирания** (без самоцитирания; по Scopus). Съгласно данните от Scopus, **Хирш** индексът на доц. д-р Пенчовски е **10**. От тези **48 труда 27** са публикации във високо специализирани и индексирани научни списания, **1 е книга, 7 са глави от книги, 8 са публикации от научни конференции, 4 са патенти, 1 е докторска дисертация и 27 доклади и постери** представени на национални и международни конгреси. В настоящия конкурс, съгласно представения списък, доц. д-р Роберт Пенчовски се представя с **25** публикации с **IF 39** (според Scimago Journal Rank (SJR); от тях с квантил **Q1-7**, а от **Q4-3**), публикувани след придобиване на академичната длъжност „Доцент“ и са разпределени както следва: **14 научни статии** (две приети за печат с документи от редакциите), **4 глави от книги** (две приети за печат и една под печат с документи от редакциите), **4 публикации от научни конференции, 2 приети патента** - един публикуван в България (112506-17.05.2017г) и един международен (WO 2018/197926). Всички свързани с конкурса трудове са публикувани в рефериращи се списания, а **10** от тях са във високо престижни издания с IF като: *Biotechnology Advances, Biosensors and Bioelectronics, Expert Opinion on Therapeutic Expert Opinion on Drug Discovery* и др. В списъка е и **1 книга, публикувана в пълен текст на интернет страницата на кандидата**, която няма да бъде рецензирана, тъй като по същество това е дисертационният труд на доц. д-р Пенчовски за придобиване на научната степен „Доктор“ и вече е преминала рецензия. Няма да бъдат рецензирани и 4-те публикации от научни конференции, но ще бъдат взети предвид в общата ми оценка.

За периода 2012-2014г. в областта на синтетичната биология, биоинформатика, молекулна еволюция, молекулярна генетика и откриване на нови антибиотици доц. Пенчовски е удостоен с престижна награда за високи научни постижения от Съюза на учените в България.

Справката за изпълнение на минималните национални изисквания за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „професор“ в съответната област на висшето образование показва, че доц. д-р Пенчовски покрива критериите за всички групи, а именно: в **група А** (Дисертационен труд за ОНС „доктор“ - 50т.), в **група В** - 100т., в **група Г** от изискуеми 200т. - 229т., в група Д от изискуеми 200т. впечатляващите 638т. и в група Е от изискуеми 150т. - 265т.

Доц. д-р Пенчовски владее седем езици за компютърно програмиране C/C++, HTML, PHP, Perl, SQL, JavaScript, CSS.

2. Основни направления в изследователската работа на кандидатката и най-важни научни приноси

Прегледът на научноизследователската дейност на доц. д-р Роберт Пенчовски показва, че до хабилитирането му за доцент, а и след това той се развива и усъвършенства в нови, трудни, приоритетни и стратегически важни за науката и страната ни направления. Съгласно представената справка и на базата на публикационната дейност, кандидатът групира научните си постижения в 4 взаимосвързани научноизследователски области, които напълно съответстват на обявения конкурс, а именно:

- Синтетична биология
- Биоинформатика и молекулна еволюция
- Молекулярна генетика на бактерии
- Микрореактори и тяхното приложение в геномиката

Приемам и одобрявам тази квалификация за постиженията от научноизследователската му дейност, болшинството от които са пионерни, с оригинален характер и добавят нови факти към негови предишни изследвания.

Най-динамично изследвано от кандидата научно направление е „Синтетична биология“ (№3, №4, №7, №8, №10, №12, №13, №14, №19). Голяма част от научните разработки в тези статии са насочени към създаване на високо производителни биохимични тестове за откриване на нови антибиотици, преодоляващи антибактериалната резистентност като се свързват специфично с рибопревключватели при много човешки патогенни бактерии резистентни към голям брой антибиотици. Представена е нова стратегия и многообещаващ подход за дизайн и приложение на антисенс олигонуклеотиди (АСОи), като нови антибактериални агенти, прикрепени към проникващи в клетката пептиди, които се целят в специфични бактериални иРНКи и инхибират бактериалния растеж на много патогенни бактериални видове. Разширявайки изследванията си доц. Пенчовски тества антибактериалния ефект на 10-те АСО-и срещу различни човешки патогенни бактерии, чрез наблюдение на клетъчния растеж и в резултат е определена минималната концентрация на АСО-ите, при която има инхибиране на растежа на изследваните бактерии. Проведени са и изпитания за оценка общата токсичност на АСО-ите с използване на човешки клетъчни линии - НЕК293 (бъбречни клетки от човешки ембрион) и е създаден интернет базиран биоинформатичен софтуер. Последният включва 15 програми със свободен достъп, откриващи база данни за бактериалните рибопревключватели като антибактериални мишени за лекарства наречена RSwitch. АСО-ите са свързани с проникващи в клетката олигопептиди, които ги пренасят в клетката и инхибират на 100% бактериалния растеж, включително на *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и *Escherichia coli*. Инженирането на нови синтетични антибактериални агенти, базиран на АСОи, е приложим на бързото развитие на нови класове антибиотици.

В този раздел са обсъдени различни приложения на нанотехнологиите, базирани на нуклеинови киселини използвани в биомедицински и фармацевтични изследвания. Областите включват изграждане на наноструктури, използващи ДНК олигонуклеотиди, самостоятелно свързване на интегрирани РНК-базирани наноприспособления за молекулни изчисления и диагностика, откриване на антибактериални лекарства, екзогенен контрол на генната експресия и заглушаване на гените.

Важно практическо постижение установено от доц. д-р Пенчовски е че докато синтетичните ДНКи обикновено се използват за самостоятелно свързване на наноструктури и устройства *in vitro*, то функционалните РНКи, като рибозими, се използват както *in vitro*, така и *in vivo*. Програмираният дизайн на алостерични рибозими, като молекулярни биосензори, са намерили приложения в молекулярните изчисления, биосензорите, екзогенния контрол на генната експресия и др. Доц. Пенчовски представя приложими изчислителни методи за проектиране на алостерични рибозими с различни логически функции, които определят олигонуклеотиди или малки молекули. Предимството на тези методи е че дават желаните рибозимни последователности за минути, за разлика от методите за селекция *in vitro*, които изискват много по-дълго време. Обсъдени са също методите за синтез и биохимично изследване на рибозимите. Представени са различни приложения на дизайнерски рибозими и различни подходи, базирани на РНК в медицинската геномика. Обсъжданите области включват РНК базирани подходи за молекулярно наблюдение и диагностика, откриване на антибактериални лекарства, екзогенен контрол на генната експресия и заглушаване на гените. Тези подходи станаха възможни поради усъвършенстването на различни методи за инженерни функционални

РНКи, както и откритията, направени в биологията на РНК. Доц. Пенчовски дискутира новите революционни методи от синтетичната биология, които позволяват инженеране на мрежи за генетичен контрол, редактиране на геноми и създаване *de novo* на цели геноми, следователно създаване на нови биологични видове притежаващи предифенирани комбинации от свойства различни от наблюдаваните в природата (**№19**). Редактираните геномни технологии, които бяха развити през последните няколко години, основани на CRISPR-Cas системата също са дискутирани. Представени са и РНК базирани методи за дизайн на генетичен контрол в прокариоти и еукариоти, включително и човек.

Подчертан интерес представляват данните описани в статия **№7** показващи че семейството на NC гените идентифицирани в генома на *Arabidopsis thaliana*, чрез хомология на човешката лецитин-ретиалната ацилна трансфераза (LRAT) и протеина на пикорнавирус 2A, са възможен субстрат за разработване на нови ракови лекарства. Протеините на *Arabidopsis* съдържат два мотива, H-Vox и NC идентифицирани в огромно разнообразие от организми. Човешките хомолози включват HRAS-подобни туморни супресори, индуцирани от Tazarotene ген 3 (TIG3) и десумоилираща изопептидаза (PNAS-4), която индуцира апоптоза в раковите клетки на белия дроб. Запазване на двата наблюдавани мотива в протеините на *Arabidopsis* в хомология с туморни супресори и запазването на остатъците, важни за функцията на LRAT сред хомолозите на *Arabidopsis*, може да разкрие нова група за проектиране на разработване на лекарства, насочени към растителни тумори.

Резултатите от научните изследвания на доц. Роберт Пенчовски са перспективни и с практическо значение за диагностика и терапия на тежки заболявания. Тази информация е задълбочено представена в глава от книга (**№8**) описваща клинични тествания на функционални нуклеинови киселини: антисенс олигонуклеотиди и аптамери и е обсъдено настоящото състояние и перспективни варианти за използване на АСО и аптамери като лекарства. Дадената и задълбочено обсъдена информация показва как функционалните нуклеинови киселини като аптамери, антисенс олигонуклеотиди, малки интерфериращи (si) РНК и рибозими се считат от някои изследователи като възможност за разработване на терапевтични средства.

Особено място заемат изследванията на доц. Пенчовски имащи за цел да се идентифицират съединения, получени от генетично модифицирани растителни клетки и тяхната потенциална роля в развитието на лекарства (**№ 10**). Те дават възможност да се проследи развитието на растителните биотехнологии като сравнително евтин източник за създаването на рекомбинантни фармацевтични продукти, използвани за лечение на различни заболявания, тествани за лечение на няколко вида рак, заболявания на централната нервна система, като подобрители по време на химиотерапия и др. Показано е, че микроРНКи, имитиращи растителните, имат способността да инхибират тумори при бозайници. Приложен е метод за интегрирана селекция на ДНК в реактори с микропоток, като подход за молекулно изчисляване и диагностика.

В следващото направление „**Биоинформатика и молекулна еволюция**“ (**№1, №5 и №9**) доц. Пенчовски е представил изчерпателен биоинформатичен анализ на осем рибопревключватели като антибактериални лекарствени цели в целия геном в различни патогенни бактерии. Показани са данни кои от 8-те рибопревключватели са подходящи за антибиотични мишени. Открити и изследвани са техните секвенции. Проучено е наличието на активни транспортни белтъци, чиято експресия се контролира от някои от осемте рибопревключватели. Въз основа на *in silico* анализи, рибопревключвателите са класифицирани в четири групи въз основа на тяхната годност да бъдат използвани като

антибактериални лекарствени цели. Изчислено е, че FMN, SAM-I, glmS, TPP и лизинов рибопревключватели са обещаващи цели за откриване на антибактериални лекарства. Тези данни са възможност следващите изследвания да се насочат към откриване на антибактериални лекарства върху рибопревключватели, чието инхибиране ще доведе до потискане на растежа на определени патогенни бактерии. Създадена е нова база данни за биоинформатика на рибопревключвателите /RSwitch/, която също предоставя различни полезни инструменти за анализи на ДНК, РНК и протеинови последователности, използвайки удобен за потребителя интерфейс. В момента RSwitch съдържа информация и пояснения за 215 бактериални рибопревключватели от 16 различни типа, открити в 50 човешки патогенни бактерии. Класовете рибопревключватели включват ФМН, glmS, кобаламин, лизин, SAH, SAM, пурин, TPP, c-di-GMP, c-diGMP, Moco, PreQ1, флуорид, глицин, Mg²⁺ и Mn²⁺ тип бактериални рибопревключватели. Тази биоинформатична база данни предоставя цялата информация необходима за оценка на годността на представените рибопревключватели като антибактериални лекарствени мишени.

Проява на високите компютърни познания на доц. Пенчовски са внедрените от него на нов сървър основни биоинформатични услуги (EBWS), девет веб базирани приложения, предоставящи полезни инструменти за анализ на ДНК, РНК и протеинови последователности. Този удобен компютърен интерфейс осигурява за потребителя бърз и евтин подход за създаване на алостерични рибозими, реагиращи на специфични олигонуклеотиди и на синтетични елементи за контрол върху генната експресия в клетките. Всички програми без ограничения са постоянно достъпни онлайн на <http://penchovsky.atwebpages.com/>.

„Молекулярна генетика на бактерии“ е следващото добре обосновано научно направление застъпено в изследванията на доц. д-р Пенчовски (**№6, №11, №16, №17, №18 и изобретение 112506-17.05.2017г.**). Кандидатът обсъжда общото разпределение, структура и функция на 28 различни класа рибопревключватели като фокусира вниманието си на рибопревключвателите при бактериите регулиращи експресията на ограничен брой гени повечето от които са отговорни за синтеза на основни метаболити, без които клетката не може да функционира. Следователно, разпределението на рибопревключвателите също е важно за разработването на антибактериални лекарства. В обзорна статия д-р Пенчовски фокусира вниманието си върху РНК като ефикасна цел за откриване на антибактериални лекарства. РНК е най-нееднозначният биополимер в клетката, който носи много различни функции. Например, тРНК, рРНК и иРНК са от съществено значение за генната експресия както в про-, така и в еу- кариоти. Въпреки това, всички тези видове РНК имат последователности и 3D структури, които могат да се използват за спиране на основните биохимични процеси само в бактериите. Всички тези характеристики правят РНК много мощна мишена за развитие на антибактериални лекарства. Обсъдени са и ключови механизми на антибактериалното действие на лекарствата, развитието и разпространението на антибактериална резистентност, и най-спешните за преборване бактериални щамове с множествена устойчивост. Особен успех представлява обобщената дискусия на всички важни стратегии за превенция и удържане на антимикробната резистентност, която е нарастващ проблем за здравната система по света, както и рисковите фактори и механизми за развитие и начини на разпространение на антимикробна резистентност. Задълбочен анализ е направен върху разнообразните стратегии за превенция на появилата се антимикробна резистентност чрез редукция на селективния натиск на патогенните бактерии. Представени са и различни стратегии за удържане на широко разпространени инфекции с бактерии, устойчиви на антибиотици, включително международно признати

указания за прилагане на антибиотици. Представената широка научна област от превенция за ограничаване на антимикробната резистентност би била в интерес и за учени и за лекари, работещи или интересувачи се от тези сфери.

Друга група изследвания са посветени върху „**Микрореактори и тяхното приложение в геномиката**“ (№2, №8). Установен е автоматизиран трансфер на хибридизация на ДНК с подвижни супер парамагнитни микропчета в микрофлуиден реактор. Представената микрофлуидна платформа е продаваема и приложима в много области на съвременната биотехнология, като микрочипове за ДНК хибридизация, молекулярно изчисляване, подбор върху чиповете на функционални нуклеинови киселини, скрининг на химически библиотеки за откриване на лекарства и амплификация и секвениране на ДНК. Описани са клинични тествания на функционални нуклеинови киселини: антисенс олигонуклеотиди и аптамери и е показано как функционалните нуклеинови киселини като аптамери, антисенс олигонуклеотиди (АСОи), малки интерфериращи (si) РНК и рибозими се считат от някои изследователи за ценни инструменти за разработване на лекарства за лечение.

3. Подготовка на кадри и учебно-педагогическа дейност

Високата квалификация, богат опит и отлична подготовка на доц. д-р Пенчовски е видна от сериозните му отговорности като учен и преподавател. От 2012 и досега той е ръководител, автор и титуляр на курсове за бакалаври и магистри по Биоинформатика и молекулярна еволюция, Синтетична биология, Геномика, Генетика и Геномика, Молекулярна генетика и биология, Биоинформатика и Агробиотехнологии на български и английски език, за специалисти и неспециалисти, редовно и задочно обучение. В рамките на последните три години е Ръководител на лаборатория по Молекулярна биология, център по компетентност "Чисти технологии и околна среда", СУ „Св. Климент Охридски“ и Ръководител на следдипломна квалификация (СДК) по „Съвременни аспекти на биологията: биоинформатика, геномика и синтетична биология“ за специалисти и неспециалисти на български и английски език. Под неговото ръководство успешно са защитили 2 докторанти, 2 докторанти са отчислени с право на защита и в момента е ръководител на 3 редовни докторанти. Ръководител е на 4-ма защитили студенти по СДК и на 16 магистри от 5 различни националности (България, Ирак, Македония и Латвия) в МП „Генетика и Геномика“ и „Генно и клетъчно инженерство“. Административната справка показва, че доц. Пенчовски провежда и интензивна учебно-педагогическа дейност на практически и семинарни занятия със студенти бакалаври и магистри. През годините, средната годишна натовареност на доц. Пенчовски в БФ на СУ като преподавател е висока и разнообразна - над 500 часа годишна учебна и аудиторна заетост. Тези данни определят доц. Пенчовски като изграден преподавател, утвърден и международно разпознат учен.

4. Участие в научни проекти и други дейности на кандидата

Успешната научноизследователска дейност на доц. Роберт Пенчовски е видна от впечатляващия брой национални и международни колаборативни проекти, общо 14, като на 8 е ръководител, а в 6 е член на колектива. Това е показател за висок научен капацитет, способности и умения на доц. д-р Пенчовски да ръководи и работи с групи от национални и международни изследователи и специалисти. Член е на 4 престижни научни организации: Съюза на Учените в България, Yale Alumni Association - Yale University, American Chemical Society, Köln Alumni - Cologne University. Рецензент е на 21 проектни предложения от ФНИ при МОН; на 15 научни публикации изпратени за публикуване в научни списания като *Biomacromolecules*, *ACS Synthetic Biology*, *Lab on a Chip*, *EC Microbiology*; участвал е в

журитата в 2 конкурса за главен асасистент и 2 за доцент; член е на редакторския борд на списание *EC Microbiology*.

5. Заключение

Трудовете на доц. д-р Роберт Пенчовски се простират върху фундаментални и приложни изследвания в биоинформатиката и молекулната еволюция, синтетичната биология и молекулярната генетика. Те са пионерни, иновативни и без съмнение могат да бъдат отнесени към най-сложните и с голямо значение съвременни перспективни познания за живота, предлагащи друг подход за оценка и създаване на лекарствени средства, потенциални възможности за терапия на злокачествени болести, създаване на нови стратегии за преодоляване и удържане на антимикробната резистентност към антибиотици и др. Проблематиката на неговите изследвания попада напълно в областта на обявения конкурс. Като учен и университетски преподавател доц. д-р Роберт Пенчовски е инициатор и един от първите изследователи в България в областта на синтетичната биология и биоинформатика в научните изследвания и при обучението на студенти. Доказателство за високото качество, голямото значение и безспорните успехи на неговите научни постижения са спечелването на множество високо конкурентни и успешно разработени проекти, публикациите му в списания с престижен импакт индекс, високата им цитируемост, интензивна педагогическа активност, участие в научни организации, ръководство на успешно защитили дипломанти и докторанти и др. Владеенето на голям брой компютърни езици демонстрира задълбочени научни познания позволяващи на кандидата да публикува оригинални научни резултати. За първи път той създава алгоритми за компютърен дизайн на алостерични рибозими които са подкрепени с приети патенти. Доц. Пенчовски успява да създаде и приложи интернет базиран биоинформатичен софтуер включващ 15 програми със свободен достъп. Високите научни постижения на кандидата запълват една празнота в синтетичната биология и биоинформатиката. Те са високо оценени и от публикации посветени на негови научни статии и оригинални приноси определени от известни учени като **“ground-breaking”**, т.е. значими и поставящи нови, позитивни идеи пред науката и обществото. Всички тези дейности правят д-р Пенчовски утвърден и перспективен учен на национално и международно ниво и заслужават най-високата оценка.

Високите наукометрични показатели на доц. д-р Роберт Димитров Пенчовски напълно удовлетворяват и дори надхвърлят препоръчителните критерии на Закона за академичното развитие в РБ, Правилника за неговото приложение и вътрешните Правилници на Биологическия факултет на СУ ”Св. Климент Охридски” за заемане на академичната длъжност „Професор”. От направения цялостен анализ си позволявам напълно убедено да дам висока положителна оценка и убедено да препоръчам на уважаемото Научно жури и на Научния съвет на БФ на СУ да присъдят на доц. Роберт Димитров Пенчовски академичната длъжност „Професор“.

27.03.2020 г.

Гр. София

Рецензент:

/проф. д-р Елена Георгиева/