

Science research project on bioinformatics, funded by BNSF, leads to novel technology for antibiotic discovery

The Principal Investigator of the project, supported by the Bulgarian National Science Fund, is Prof. Robert Penchovsky from the Faculty of Biology at Sofia University “St. Kliment Ohridski”

The work on the project “Design and experimental validation of chimeric antisense oligonucleotides as antibacterial agents” (BNSF grant DN13/14/20.12.2017) is completed successfully. The project aims to design antisense oligonucleotides, directly binding and regulating the functions of riboswitches in bacterial pathogens. The riboswitches are structured RNA domains usually residing at the 5'-untranslated region of messenger RNAs that directly bind specific metabolites. They serve as logic gates regulating gene expression. As a result, riboswitches enable mRNAs to regulate their expression without the need for any regulatory proteins. If the function of riboswitches is inhibited, then the essential metabolites for the bacteria will not be synthesized by the cell or transported into the cell from the extracellular matrix. The result is the death of *Staphylococcus aureus*, for instance. Antisense oligonucleotides show a bacteriostatic effect and can be tested as novel antibacterial agents.

Based on this fundamental knowledge, we have developed antisense oligonucleotides that inhibit the growth of human pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus in vitro*. These results represent a novel technology for antibiotic discovery using new targets and new tools, which is a significant development in times of increasing antibacterial drug resistance. Moreover, 15 bioinformatics applets and one bacterial riboswitch database are developed during the project that are freely available at <https://penchovsky.atwebpages.com/applications.php> .

The research of the project is published in 20 publications (with an impact factor of 56 points and Q1-4 of 254 points, and 86 citations so far), participation in 3 conferences with 2 presentations and 4 posters, made 16 pieces of software, 4 Ph.D. and 1 master students - all graduated have Prof. Robert Penchovsky as a solid supervisor. All publications have Prof. Robert Penchovsky as a corresponding and leading author. This research grant is funded by 61000 EUR. For more details, visit <https://penchovsky.atwebpages.com/research.php?page=13> .

The project leader, Robert Penchovsky is a full professor of molecular genetics, synthetic biology, and bioinformatics at the Faculty of Biology of Sofia University “St. Kliment Ohridski”, Bulgaria, where he obtained his Master’s degree in biochemistry and molecular genetics, and his associate’s degree in applied computer sciences. He earned his Doctoral degree in genetics from Cologne University, Germany, while researching microfluidics and DNA computing for the Fraunhofer Gesellschaft at Schloss Birlinghoven in Sankt Augustin (near Bonn), Germany. Prof. Penchovsky did his postdoctoral study in computational biology and RNA synthetic biology at Yale University, New Haven, CT, USA. In addition to that, he has worked for short periods as a software engineer, a biotech consultant, and a researcher of molecular biology at the Institute of Molecular Biology in Sofia, Bulgaria, and at the former Institute of Molecular Biotechnology in Jena, Germany (now Leibniz Institute on Aging in Jena, Germany). As a research and teaching

faculty at Sofia University since 2010, Prof. Robert Penchovsky pioneered the teaching and research in synthetic biology and bioinformatics in Bulgaria. His publications have over 800 citations, an impact factor of over 140 points, and an h-index of 12 points. He was the supervisor of 15 research projects. In Prof. Penchovsky's laboratory, 16 master's students and 5 doctoral students have successfully defended their theses. He is the head of several master's programs in genetics and genomics in Bulgarian and English. For more details, visit <https://penchovsky.atwebpages.com/index.php?page=16> .



Robert giving a talk on automated DNA selection in cascading microfluidic chambers at the DNA7 conference, USF, Tampa, Florida, the U.S.A.

Научен проект по биоинформатика, подкрепен от ФНИ, разкрива нова технология за откриване на антибиотици

Проектът е с ръководител проф. Роберт Пенчовски от Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“ и е подкрепен от Фонд „Научни изследвания“ към МОН

Успешно завършиха дейностите по проект „Дизайн и експериментално валидиране на химерни антисенс олигонуклеотиди като антибактериални агенти“ (договор ДН13/14/20.12.2017 г. с ФНИ). Проектът има за цел да създаде антисенс олигонуклеотиди, които се свързват директно и регулират функцията на рибопревключватели в бактериален патоген. Рибопревключвателите са структурирани РНК домейни, които обикновено се намират в 5'-нетранслираната област на информационни РНКи, които директно свързват специфични метаболити. Те служат като логически елементи, регулиращи генната експресия. В резултат на това рибопревключвателите позволяват на иРНК да регулират експресията си без нужда от каквито и да е регулаторни протеини. Ако те се инхибират, тогава основни метаболити за бактериите няма да бъдат синтезирани от клетката или транспортирани в клетката от извънклетъчния матрикс. Резултатът е от това е например смъртта на *Staphylococcus aureus*. Антисенс олигонуклеотидите показват бактериостатичен ефект и могат да бъдат тествани като нови антибактериални средства в бактериални изолати.

Въз основа на тези фундаментални познания ние разработихме антисенс олигонуклеотиди, които инхибират растежа на човешки патогенни бактерии като *Staphylococcus aureus in vitro*. Тези резултати представляват нова технология за откриване на антибиотици, използвайки нови молекулни мишени и нови молекулни инструменти, което е значително развитие във времена на нарастваща резистентност към антибактериални лекарства. Освен това по време на проекта са разработени 15 биоинформатични компютърни програми и една база данни за бактериален рибопревключватели, които са свободно достъпни на <https://penchovsky.atwebpages.com/applications.php>.

Резултатите на проекта са публикувани в 20 публикации (с импакт фактор 56 точки и Q1-4 от 254, и 86 цитата до момента), участие в 3 конференции с 2 презентации и 4 постера, изработени 16 бр. на софтуер, 4 д.т.н. и 1 магистър – всички дипломирани са със солиден ръководител проф. Роберт Пенчовски. Всички публикации имат като кореспондент и водещ автор проф. Роберт Пенчовски. Този грант за изследване е финансиран от 61 000 евро. За повече подробности посетете <https://penchovsky.atwebpages.com/research.php?page=13>.

Ръководителят на проекта, Роберт Пенчовски, е професор по молекулярна генетика, синтетична биология и биоинформатика в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, България, където получава магистърска степен по биохимия и молекулярна генетика и квалификационна степен по приложни компютърни науки. Той получава докторска степен по генетика от университета в Кьолн, Германия, докато работи за

Фраунхофен в Санкт Аугустин (близо до Бон), Германия. Прави своето постдокторантско обучение по РНК биология и синтетична биология на РНК в Йейлския университет, Ню Хейвън, Коннектикут, САЩ. Освен това проф. Пенчовски е работил за кратки периоди като софтуерен инженер, биотехнологичен консултант и изследовател по молекулярна биология в Института по молекулярна биология в София, България, и в бившия Институт по молекулярна биотехнология в Йена, Германия (сега Институт Лайбниц за стареене в Джейн, Германия).

Проф. Роберт Пенчовски е пионер в преподаването и изследванията по синтетична биология и биоинформатика в България. Публикациите му имат над 800 цитата, импакт фактор над 140 точки и h-индекс от 12 точки. Бил е ръководител на 15 изследователски проекта. В лабораторията на проф. Роберт Пенчовски са успешно защитили дисертациите си 16 магистри и 5 докторанти. Той е ръководител на няколко магистърски програми по генетика и геномика на български и английски език. За повече подробности посетете <https://penchovsky.atwebpages.com/index.php?page=16> .



Проф. Роберт Пенчовски изнася лекция за автоматизирано селекция на ДНК в каскадни микрофлуидни камери на конференцията DNA7, USF, Тампа, Флорида, САЩ