

J Alzheimers Dis . 2021;83(3):1211-1220. doi: 10.3233/JAD-210577.

New Galantamine Derivatives with Inhibitory Effect on Acetylcholinesterase Activity

Maria I Lazarova ¹ , Daniela S Tsekova ² , Lyubka P Tancheva ¹ , Kiril T Kirilov ³ , Diamara N Uzunova ¹ , Lyubomir T Vezenkov ² , Elina R Tsvetanova ¹ , Albena V Alexandrova ¹ , Almira P Georgieva ¹ , Petja T Gavriloa ¹ , Stela T Dragomanova ¹ , Maria G Papazova ¹ , Yordan S Handzhiyski ³ , Reni E Kalfin ¹
Affiliations PMID: 34420968 DOI: 10.3233/JAD-210577

Abstract

Background: Inhibitors of acetylcholinesterase (AChE) are used to treat many disorders, among which are neurodegenerative upsets, like Alzheimer's disease (AD). One of the limited licensed AChE inhibitors (AChEIs) used as drugs is the natural compound galantamine (Gal).

Objective: As Gal is a toxic compound, here we expose data about its four derivatives in hybrid peptide-norgalantamine molecules, which have shown 100 times lower toxicity.

Methods: Four newly synthesized galantamine derivatives have been involved in docking analysis made by Molegro Virtual Docker. Biological assessments were performed on ICR male mice. The change in short and long-term memory performance was evaluated by passive avoidance test. AChE activity and levels of main oxidative stress parameters: lipid peroxidation, total glutathione (GSH), enzyme activities of catalase (CAT), superoxide dismutase, and glutathione peroxidase were measured in brain homogenates.

Results: Our experimental data revealed that the new hybrid molecules did not impair memory performance in healthy mice. Two of the compounds demonstrated better than Gal AChE inhibitory activity in the brain. None of them changed the level of lipid peroxidation products, one of the compounds increased GSH levels, and all of them increased CAT enzyme activity.

Conclusion: The new galantamine-peptide hybrids demonstrated a potential for inhibition of AChE and antioxidant activity and deserve further attention.

Въведение: Инхибиторите на ацетилхолинестеразата (AChE) се използват за лечение на различни заболявания, сред които са и невродегенеративни разстройства като болестта на Алцхаймер (AD). Един от малкото лицензирани инхибитори на AChE, прилагани като лекарство, е естественото съединение галантамин (Gal).

Цел: Поради токсичността на Gal тук представяме данни за четири негови хибридни производни (пептид-норгалантаминови молекули), които показват 100 пъти по-ниска токсичност.

Методи: Четири новосинтезирани производни на галантамин бяха подложени на молекулно докинг проучване с Molegro Virtual Docker. Биологичните изследвания се проведоха върху мъжки мишки от щам ICR. Промените в краткосрочната и дългосрочната памет бяха оценени чрез тест за пасивно избягване. В хомогенати от мозък се измериха активността на AChE и основни показатели за оксидативен стрес: липидна пероксидация, общ глутатион (GSH) и ензимните активности на каталаза (CAT), супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза.

Резултати: Експерименталните данни показаха, че новите хибридни молекули не влошават паметта при здрави мишки. Две от съединенията проявиха по-силна инхибиторна активност към AChE в мозъка в сравнение с Gal. Нито едно от тях не промени нивото на продуктите на липидната пероксидация; едно съединение повиши нивата на GSH, а всички увеличили активността на CAT.

Заключение: Новите галантаминово-пептидни хибриди демонстрират потенциал за инхибиране на AChE и антиоксидантна активност и заслужават по-нататъшно изследване.

B.2.Nikolay T Tzvetkov, Kiril Kirilov, Maima Matin, Atanas G Atanasov, Natural product drug discovery and drug design: two approaches shaping new pharmaceutical development, *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 39, Issue 3, March 2024, Pages 375–378, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfad208>

<https://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=20021&tip=sid&clean=0>

INTRODUCTION From a historical point of view, natural products (NPs) have a crucial role in promoting modern drug discovery, serving as an ‘inexhaustible’ source of new ideas for drug design and as inspiration for the development of a large number of the currently prescribed drugs. Over the last decade, the NPs-based drugs have led to a significant improvement in the treatment of several human diseases, especially infectious (e.g. diverse antibiotics) and cardiovascular diseases (e.g. statins), but also cancer (e.g. NPs-based antibody–drug conjugates) and multiple sclerosis (e.g. fingolimod) [1, 2]. Due to the increasing challenges related to an ascending focus on complex diseases with not fully understood pathophysiology (for example, neurodegenerative diseases) or ‘chimeric’ causal biology (e.g. infections like COVID-19), many pharmaceutical companies have chosen to partially shift their R&D investment from ‘classical’ synthetic chemistry approaches towards novel biotechnological methodologies in order to quickly develop the needed medicines [3]. Despite these new aspects in the drug discovery and development process, especially in the past few years, scientists must identify and select one (single-targeting concept) or more than one (multi-targeting concept) biological target of relevance to a human disease and further find ‘the only’ therapeutic molecule that is able effectively and safely to modulate the respective target(s) of interest [3, 4]. The use of target-oriented drug design and discovery in combination with several computer-assisted methods to guide synthetic chemistry, including biocatalytic, bio-orthogonal and combinatorial chemistry, and high-throughput screening is nowadays an indispensable technology platform in modern bio-pharmaceutical industry. Although the development and further implementation of novel technologies for drug discovery can be advantageous, the generation of novel chemical entities that are unique from a structural point of view still remains a great challenge. Therefore, NPs-based drug design and development still appears to be a very useful and successful approach for (i) searching for NPs-based bioactive pure compounds, (ii) exploring the chemical space via modifications of NPs (semisynthetic drugs) and (iii) improving the biochemical stability and physico-chemical profile of NPs (for example, prodrugs), usually via introduction of one functional group that can be easily cleaved in vivo into the desired bioactive molecule. The combination of both, the NPs-based drug discovery and synthetic chemistry methods, represent a powerful approach in drug design and development process, leading to very significant

advances in the treatment of several human diseases when considering the specific advantages of these methodologies in terms of costs and time. It should be mentioned that many medicines that are actually used are not only NPs or only synthetic drugs (SDs), there are also semisynthetic compounds, as well as synthetically created molecules using structural motifs originated from NPs. In all these cases, the NPs structures continue to play an essential role in the drug discovery and development process, being the richest source of biologically active compounds and having enormous structural diversity. Thus, many of today's clinically used drugs are either isolated directly from NPs, including plants and microbial secondary metabolites as well as complex molecules from marine sources, or were developed from a naturally occurring lead compound.

Увод

От историческа гледна точка природните продукти (NPs) имат решаваща роля за стимулирането на съвременното откриване на лекарства, служейки като „неизчерпаем“ източник на нови идеи за лекарствен дизайн и като вдъхновение за разработването на голяма част от понастоящем предписваните медикаменти. През последното десетилетие лекарствата, базирани на природни продукти, доведоха до значително подобрене в лечението на редица човешки заболявания – особено инфекциозни (напр. разнообразни антибиотици) и сърдечно-съдови (напр. статини), но също така рак (напр. конюгати антитяло-лекарство, получени от NPs) и множествена склероза (напр. финголимод) [1, 2].

Поради нарастващите предизвикателства, породени от все по-силния интерес към комплексни заболявания с неясна патофизиология (например невродегенеративни заболявания) или „химерна“ причинно-следствена биология (напр. инфекции като COVID-19), много фармацевтични компании частично пренасочиха инвестициите си в НИРД от „класическите“ подходи на синтетичната химия към нови биотехнологични методологии, за да разработят по-бързо необходимите лекарства [3].

Въпреки тези нови аспекти в процеса на откриване и разработване на лекарства – особено през последните няколко години – учените трябва да идентифицират и изберат една (концепция за едноцелево таргетиране) или повече (концепция за многоцелево таргетиране) биологични мишени, релевантни за дадено човешко заболяване, и след това да намерят „единствената“ терапевтична молекула, която може ефективно и безопасно да модулира съответната(ите) мишена(и) [3, 4]. Днес използването на ориентиран към мишената лекарствен дизайн, в комбинация с редица компютърно подпомагани методи за насочване на синтетичната химия – включително биокаталитична, биоортогонална и комбинаторна химия, както и високопродуктивен скрининг – представлява незаменима технологична платформа в съвременната биофармацевтична индустрия. Макар разработването и внедряването на нови технологии за откриване на лекарства да носят предимства,

създаването на нови химични съединения с уникална структура все още остава сериозно предизвикателство.

Затова дизайнът и разработването на лекарства, базирани на природни продукти, все още са много полезен и успешен подход за

- (i) търсене на биоактивни чисти съединения от природни продукти,
- (ii) изследване на химичното пространство чрез модификации на природни продукти (полусинтетични лекарства) и
- (iii) подобряване на биохимичната стабилност и физикохимичния профил на природните продукти (напр. пролекарства), обикновено чрез въвеждане на функционална група, която лесно се отцепва *in vivo* до желаната биоактивна молекула.

Комбинацията от откриване на лекарства, базирани на природни продукти, и методите на синтетичната химия представлява мощен подход в лекарствения дизайн и разработка, който води до значителни постижения в лечението на множество човешки заболявания, отчитайки специфичните предимства на тези методологии по отношение на разходи и време. Следва да се подчертае, че много от използваните днес медикаменти не са само природни продукти или само синтетични лекарства (SDs); съществуват и полусинтетични съединения, както и синтетично създадени молекули, чиито структурни мотиви произхождат от природни продукти. Във всички тези случаи структурите на природните продукти продължават да играят съществена роля в процеса на откриване и разработване на лекарства, тъй като представляват най-богатия източник на биологично активни съединения и се отличават с огромно структурно разнообразие. Затова много от клинично използваните днес лекарства или се изолират директно от природни източници – растения, микробни вторични метаболити и сложни молекули от морски организми – или са разработени въз основа на естествено срещащ се водещ компонент.

Teodor Kirilov, Anastas Gospodinov & Kiril Kirilov. An algorithm and application to efficiently analyse DNA fibre data, (2023) Biotechnology & Biotechnological Equipment, 37:1, DOI: 10.1080/13102818.2023.2206488

ABSTRACT

The duplication of genetic information (DNA replication) is central to life. Numerous control mechanisms ensure the exact course of the process during each cell division. Disturbances of DNA replication have severe consequences for the affected cell, and current models link them to cancer development. One of the most accurate methods for studying DNA replication is labelling newly synthesised DNA molecules with halogenated nucleotides, followed by immunofluorescence and microscopy detection, known as DNA fibre labelling. The method allows the registration of the activity of single replication complexes by measuring the length of the “trace” left by each of them. The major difficulty of the method is the labor-intensive analysis, which requires measuring the lengths of a large number of labelled fragments. Recently, the interest in this kind of image analysis has grown rapidly. In this project we have developed an algorithm and a lightweight Java application to automatically analyse single DNA molecule images that we have named “DNA size finder”. DNA size finder significantly simplified the analysis of the experimental data while increasing reliability by the standardised measurement of a greater number of DNA molecules. It is freely available and does not require any paid platforms or services to be used. We hope that the application will facilitate both the study of DNA replication control and the effects of various compounds used in human activity on the process of DNA replication.

Резюме

Дублирането на генетичната информация (репликация на ДНК) е в основата на живота. Множество механизми за контрол гарантират точния ход на този процес при всяко клетъчно делене. Нарушенията в репликацията на ДНК имат сериозни последици за засегнатата клетка, а съвременните модели ги свързват с

развитието на рак. Един от най-прецизните методи за изследване на репликацията на ДНК е маркирането на наскоро синтезирани ДНК-молекули с халогенирани нуклеотиди, последвано от имунофлуоресценция и микроскопско откриване, известно като маркиране на ДНК-фибри. Този метод позволява регистрирането на активността на отделни репликационни комплекси чрез измерване дължината на „следата“, оставен от всеки от тях. Основната трудност при този метод е трудоемкият анализ, който изисква измерване на дължините на голям брой маркирани фрагменти. Наскоро интересът към този вид образен анализ рязко нарасна. В този проект разработихме алгоритъм и лека Java програма за автоматичен анализ на изображенията на отделни ДНК-молекули, която нарекохме „DNA size finder“. „DNA size finder“ значително опрости анализа на експерименталните данни, като повиши надеждността чрез стандартизирано измерване на по-голям брой ДНК-молекули. Софтуерът е безплатен и не изисква използването на платени платформи или услуги. Надяваме се, че приложението ще улесни както изследването на контрола върху репликацията на ДНК, така и изучаването на ефектите от различни съединения, прилагани в човешката дейност, върху процеса на репликация на ДНК.

B.4. Q1, Scopus, 25т.

Kühl, T., Georgieva, M.G., Hübner, H., Imhof, D., Kirilov, K Tzvetkov, N.T.
Neurotensin(8–13) analogs as dual NTS1 and NTS2 receptor ligands with enhanced effects on a mouse model of Parkinson's disease, European Journal of Medicinal Chemistry 2023, 254, 115386

The modulatory interactions between neurotensin (NT) and the dopaminergic neurotransmitter system in the brain suggest that NT may be associated with the progression of Parkinson's disease (PD). NT exerts its neurophysiological effects by interactions with the human NT receptors type 1 (hNTS1) and 2 (hNTS2). Therefore, both receptor subtypes are promising targets for the development of novel NT-based analogs for the treatment of PD. In this study, we used a virtually guided molecular modeling approach to predict the activity of NT(8–13) analogs by investigating the docking models of ligands designed for binding to the human NTS1 and NTS2 receptors. The importance of the residues at positions 8 and/or 9 for hNTS1 and hNTS2 receptor binding affinity was experimentally confirmed by radioligand binding assays. Further in vitro ADME profiling and in vivo studies revealed that, compared to the parent peptide NT(8–13), compound 10 exhibited improved stability and BBB permeability combined with a significant enhancement of the motor function and memory in a mouse model of PD. The herein reported NTS1/NTS2 dual-specific NT(8–13) analogs represent an attractive tool for the development of therapeutic strategies against PD and potentially other CNS disorders.

Модулиращите взаимодействия между нейротензина (NT) и допаминергичната невротрансмитерна система в мозъка предполагат, че NT може да бъде свързан с прогресията на болестта на Паркинсон (БП). NT упражнява нейните физиологични ефекти чрез взаимодействие с човешките NT-рецептори тип 1 (hNTS1) и тип 2 (hNTS2). Поради това и двата субтипа рецептори представляват обещаващи мишени за разработването на нови NT-базирани аналози за лечение на БП.

В това изследване използвахме виртуално насочен молекулен моделиращ подход за прогнозиране на активността на аналози на NT(8–13), като изследвахме докинг моделите на лигандите, проектирани за свързване с човешките рецептори NTS1 и NTS2. Значението на остатъците на позиции 8 и/или 9 за афинитета на свързване с hNTS1 и hNTS2 рецепторите бе експериментално потвърдено чрез радиолигандни свиващи анализи.

Допълнителен „in vitro“ ADME–профил и „in vivo“ проучвания разкриха, че в сравнение с родителския пептид NT(8–13), съединение 10 притежава подобрена стабилност и проникване през кръвно–мозъчната бариера, съчетани със значително подобряване на моторните функции и паметта в миши модел на БП. Докладваните тук двойно специфични за NTS1/NTS2 аналози на NT(8–13) представляват атрактивен инструмент за разработване на терапевтични стратегии срещу БП и потенциално други централни нервни разстройства.

K Kirilov, P Borovska, Conceptual model of integrated approach for in silico knowledge data discovery for breast cancer diagnostics and precision therapy, AIP Conference Proceedings 2172 (1), 020003

Abstract.

Breast cancer (BC) has the highest rate of cancer in women and causes the highest number of deaths, approximately 15% of all female cancer deaths. High incidence and mortality make it a leading socially significant disease. In practice, different specialists in different clinics carry out the different stages - screening, diagnosis, treatment and rehabilitation. With advances in medicine and the emergence of innovative precision medicine technologies, digital technology is gaining momentum. We propose conceptual model of integrated approach for combining and analyzing digital data from all stages using modern methods based on Knowledge Data Discovery. Collecting the data from all stages will facilitate early and accurate diagnosis, complex risk assessment, and will allow analysis of the significance of the various diagnostic and prognostic factors. The perspective is to design and implement scientific analytics workflow system for in silico knowledge data discovery and intelligent decision making based on the suggested integrated approach for breast cancer diagnostics and precision therapy recommendation.

Резюме

Ракът на гърдата (РГ) е с най-висока честота сред жените и причинява най-голям брой смъртни случаи — приблизително 15 % от всички онкологични смъртни случаи при жени. Високата честота и смъртност го превръщат в водещо обществено значимо заболяване. На практика различни специалисти в различни клиники извършват отделните етапи от грижата — скрининг, диагностика, лечение и рехабилитация.

С напредъка на медицината и появата на иновативни технологии за прецизна медицина, дигиталните технологии добиват все по-голямо значение. Предлагаме концептуален модел на интегриран подход за комбиниране и анализ на дигитални данни от всички етапи, използвайки съвременни методи, базирани на Knowledge Data Discovery. Събирането на данни от всички фази ще улесни ранната и точна диагностика, комплексната оценка на риска и ще позволи анализ на значимостта на различните диагностични и прогностични фактори.

Перспективата е да се проектира и реализира научно-аналитична система за работни потоци (workflow) за in silico Knowledge Data Discovery и интелигентно вземане на решения, базирано на предложеното интегрирано решение за диагностика на рак на гърдата и препоръка на прецизна терапия.

Elitsa Boteva, Konstantin Doychev, Kiril Kirilov, Yordan Handzhiyski, Rositsa Tsekovska, Evan Gatev, Roumyana Mironova, Deglycation activity of the *Escherichia coli* glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 257, Part 1, 2024, 128541, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128541>.

ABSTRACT

Glycation is a spontaneous chemical reaction, which affects the structure and function of proteins under normal physiological conditions. Therefore, organisms have evolved diverse mechanisms to combat glycation. In this study, we show that the *Escherichia coli* glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase (Pgi) exhibits deglycation activity. We found that *E. coli* Pgi catalyzes the breakdown of glucose 6-phosphate (G6P)-derived Amadori products (APs) in chicken lysozyme. The affinity of Pgi to the glycated lysozyme (K_m , 1.1 mM) was ten times lower than the affinity to its native substrate, fructose 6-phosphate (K_m , 0.1 mM). However, the high kinetic constants of the enzyme with the glycated lysozyme (k_{cat} , 396 s⁻¹ and k_{cat}/K_m , 3.6×10^5 M⁻¹ s⁻¹) indicated that the Pgi amadoriase activity may have physiological implications. Indeed, when using total *E. coli* protein (20 mg/ mL) as a substrate in the deglycation reaction, we observed a release of G6P from the bacterial protein at a Pgi specific activity of 33 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$. Further, we detected 11.4 % lower APs concentration in protein extracts from Pgi-proficient vs. deficient cells ($p = 0.0006$) under conditions where the G6P concentration in Pgi-proficient cells was four times higher than in Pgi-deficient cells ($p = 0.0001$). Altogether, these data point to physiological relevance of the Pgi deglycation activity.

Резюме

Глюкозилирането е спонтанна химична реакция, която засяга структурата и функцията на белтъците при нормални физиологични условия. Следователно организмите са развили разнообразни механизми за борба с гликацията. В това проучване показваме, че гликолитичният ензим фосфоглюкозоизомераза (Pgi) от *Escherichia coli* проявява дейност на дегликация.

Установихме, че Pgi от *E. coli* каталитично разгражда Amadori продукти (APs), произхождащи от глюкозо-6-фосфат (G6P), в пилешкия лизозим. Афинитетът на Pgi към гликозириания лизозим ($K_m = 1,1$ mM) е десет пъти по-нисък от афинитета към неговия натурален субстрат фруктозо-6-фосфат ($K_m = 0,1$ mM). Въпреки това високите кинетични константи на ензима с гликозириания лизозим ($k_{cat} = 396$ s⁻¹ и $k_{cat}/K_m = 3,6 \times 10^5$ M⁻¹ s⁻¹) показват, че амадориазната активност на Pgi може да има физиологично значение.

Действително, при използване на общ протеин от *E. coli* (20 mg/mL) като субстрат в реакцията на дегликация наблюдавахме освобождаване на G6P от бактериалния

протеин с Pgi-специфична активност 33 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$. Освен това в протеинови екстракти от клетки, съдържащи функционален Pgi, се установи 11,4 % по-ниска концентрация на APs спрямо клетки с дефицит на Pgi ($p = 0,0006$), при условия, при които концентрацията на G6P в Pgi-профициентните клетки беше четири пъти по-висока в сравнение с дефицитните ($p = 0,0001$).

Всички тези данни сочат за физиологично значимо дегликационно действие на ензима Pgi.

Г.7.2 Q2 Scopus, 20т.,

Nikolay T. Tzvetkov, Martina I. Peeva, Maya G. Georgieva, Vera Deneva, Aneliya A. Balacheva, Ivan P. Bogdanov, Maria Ponticelli, Luigi Milella, Kiril Kirilov, Maima Matin, Hans-Georg Stammer, Atanas G. Atanasov, Liudmil Antonov, Favipiravir vs. Deferiprone: Tautomeric, photophysical, in vitro biological studies, and binding interactions with SARS-Cov-2-MPro/ACE2, Current Research in Biotechnology, Volume 7, 2024, 100176, ISSN 2590-2628, <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2024.100176>.

A B S T R A C T Coronavirus disease 2019 (COVID-19) still remains the most disastrous infection continuously affecting millions of people worldwide. Herein, we performed a comparative study between the anti-influenza drug favipiravir (FAV) and the anti-thalassemia drug deferiprone (DFP) in order to examine their potential as basic scaffolds for the generation of most effective and structurally novel antivirals. To conduct the initial molecular modelling and virtual screening steps, our recently proposed single crystal X-ray diffraction (SCXRD)/HYdrogen DEssolvation (HYDE) technology platform has been used. This platform allows molecular design, interactive prioritization and virtual evaluation of newly designed molecules, simultaneously affecting two COVID-related targets, including angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a host-cellular receptor (host-based approach) and the main protease (Mpro) enzyme of the spike glycoprotein of SARS-Cov-2 (virus-based approach). Based on the molecular docking results, DFP has shown higher binding affinity (K_i HYDE values) over FAV towards both biological targets. The tautomeric, physicochemical, and biological properties of FAV and DFP have been studied both experimentally and theoretically using molecular spectroscopy (UV–VIS absorption), parallel artificial membrane permeability assay, and cell biology (PAMPA and MTT assay), as well as DFT quantum chemical calculations. According to the obtained results, the enol tautomers of both compounds are considerably more stable in different organic solvents. However, the keto tautomer of FAV was estimated to be most preferable under physiological conditions, which is in good agreement with the molecular docking studies. The isolated crystal structure of DFP is in an excellent agreement with the computation in respect of the most stable tautomer. Combined single X-ray/molecular modeling studies including HYDE analyses provided not only insights into the protein–ligand interactions within the binding site of SARS-Cov-2-ACE2 and SARS-Cov-2-Mpro, but also a valuable information regarding the most stable enol tautomeric form of DFP that contributes to its estimated higher potency against these targets.

Резюме

Коронавирусната болест 2019 (COVID-19) все още остава най-катастрофалната инфекция, която непрекъснато засяга милиони хора по целия свят. В настоящото проучване проведохме сравнително проучване между противогрипното лекарство фавипиравир (FAV) и противоталасемичното лекарство деферипрон (DFP), за да изследваме техния потенциал като основни скелета за генериране на най-ефективните и структурно нови антивирусни средства. За провеждане на първоначалните стъпки на молекулярно моделиране и виртуален скрининг е

използвана нашата наскоро предложена технологична платформа за рентгенова дифракция на монокристали (SCXRD)/водородна десолватация (HYDE). Тази платформа позволява молекулярен дизайн, интерактивно приоритизиране и виртуална оценка на новоразработени молекули, едновременно засягащи две цели, свързани с COVID, включително ангиотензин-конвертиращия ензим 2 (ACE2) като рецептор на клетката гостоприемник (подход, базиран на гостоприемника) и основния протеазен (Mpro) ензим на шиповия гликопротеин на SARS-Cov-2 (подход, базиран на вируса). Въз основа на резултатите от молекулярния докинг, DFP показва по-висок афинитет на свързване (стойности на K_i HYDE) в сравнение с FAV и към двете биологични мишени. Тавтомерните, физикохимичните и биологичните свойства на FAV и DFP са изследвани както експериментално, така и теоретично, използвайки молекулярна спектроскопия (UV-VIS абсорбция), паралелен анализ на пропускливостта на изкуствени мембрани и клетъчна биология (PAMPA и MTT анализ), както и квантовохимични изчисления на DFT. Според получените резултати, енолните тавтомери на двете съединения са значително по-стабилни в различни органични разтворители. Въпреки това, кето тавтомерът на FAV е оценен като най-предпочитан при физиологични условия, което е в добро съответствие с изследванията на молекулярния докинг. Изолираната кристална структура на DFP е в отлично съответствие с изчисленията по отношение на най-стабилния тавтомер. Комбинирани изследвания с единично рентгеново/молекулярно моделиране, включително HYDE анализи, предоставиха не само прозрения за взаимодействията протеин-лиганд в мястото на свързване на SARS-Cov-2-ACE2 и SARS-Cov-2-Mpro, но и ценна информация относно най-стабилната енолна тавтомерна форма на DFP, която допринася за очакваната му по-висока ефикасност срещу тези мишени.

Г.7.3. Q3 Scopus 15т

Popov M., Petrov S., Kirilov K., Nacheva G., Ivanov I.. Segregational instability in *E. coli* of expression plasmids carrying human interferon gamma gene and its 3'-end truncated variants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23, 2, Taylor & Francis, 2009, ISSN:1310-2818 (Print), 1314-3530 (Online), 840-843. ISI

Resume

Segregation of the expression plasmids under non-selective conditions is due to the irregular distribution of the plasmid molecules between the daughter cells during cell division. Thus a heterogeneous population of cells appears in which the non-productive plasmid-free cells overgrow the plasmid-bearing ones. The main factors that influence plasmid segregational instability are: plasmid structure, plasmid copy number, host cell genotype, level of protein expression, fermentation conditions, etc. The aim of this work is to investigate the effect of recombinant gene structure and level of expression on the segregation of expression plasmids based on pBR322. To this end the wild type human interferon gamma (hIFN γ) gene and a series of seven derivative genes obtained by systemic 3'-end deletion were inserted into an expression plasmid under a strong constitutive promoter. The segregational instability was studied under batch fermentation conditions in non-selective Luria Bertani medium, where the cell cultures were maintained at an exponential growth phase. To describe the population dynamics, a mathematical model proposed by Stewart & Levin was used and the parameters Δ (difference in specific growth rate between plasmid-free and plasmid-harboring cells) and θ (relative plasmid loss rate) were determined for each plasmid. The obtained results showed that any variation in the 3'-end of the hIFN γ -gene strongly affected plasmid instability. We also found that the relative plasmid loss rate θ was proportional to the hIFN γ -mRNA content in the cell. Based on these results, we conclude that the structure of the constitutively expressed gene is of great importance for the segregational plasmid instability.

Резюме

Сегрегацията на експресионните плазмиди при неселективни условия се дължи на неравномерното разпределение на плазмидните молекули между дъщерните клетки по време на клетъчното делене. По този начин се появява хетерогенна популация от клетки, в която непродуктивните клетки без плазмиди надвишават клетките, носещи плазмиди. Основните фактори, които влияят върху сегрегационната нестабилност на плазмидите, са: структура на плазмид, брой копия на плазмид, генотип на клетката-гостоприемник, ниво на експресия на протеини, условия на ферментация и др. Целта на тази работа е да се изследва ефектът от структурата на рекомбинантния ген и нивото на експресия върху сегрегацията на експресионни плазмиди, базирани на pBR322. За тази цел генът за

човешки интерферон гама от див тип (hIFN γ) и серия от седем производни гена, получени чрез системна 3'-крайна делеция, бяха вмъкнати в експресионен плазмид под силен конститутивен промотор. Сегрегационната нестабилност беше изследвана при условия на периодична ферментация в неселективна среда Luria Bertani, където клетъчните култури бяха поддържани в експоненциална фаза на растеж. За да се опише динамиката на популацията, е използван математически модел, предложен от Stewart & Levin, и за всеки плазмид са определени параметрите Δ (разлика в специфичната скорост на растеж между клетки без плазмиди и клетки, съдържащи плазмиди) и θ (относителна скорост на загуба на плазмиди). Получените резултати показват, че всяка вариация в 3'-края на hIFN γ -гена силно влияе върху нестабилността на плазмида. Установихме също, че относителната скорост на загуба на плазмиди θ е пропорционална на съдържанието на hIFN γ -mRNA в клетката. Въз основа на тези резултати заключаваме, че структурата на конститутивно експресирания ген е от голямо значение за сегрегационната нестабилност на плазмида.

Г.7.4. Q3 Scopus 15т.

B. Bachvarov, K. Kirilov, I. Ivanov. Codon usage in prokaryotes. Biotechnology Biotechnological Equipment, Taylor Francis, 2008, DOI: 10.1080/13102818.2008.10817533.

ABSTRACT

Advances in DNA sequencing led to accumulation of genomic data of a great number of prokaryotes belonging to different taxons. In this study we have analyzed 158 prokaryotic genomes for codon usage specificity. The latter is studied not only on the level of the whole genome (all genes) but also for three gene subsets: highly expressed genes, ribosomal protein genes and low expressed genes, using our own programs written in Visual Basic Studio (VBS), Visual Basic for Applications (VBA) and Perl. The local databases thus created were explored to compare the codon usage specificity of: a) different strains of one bacterial species; b) different subsets of genes in one species c) different bacterial genomes and d) to identify missing and atypical initiation codons. Finally, using correlation analysis we have also checked the correspondence between the formal bacterial taxonomy and Genome Theory, which is based on the codon usage pattern in bacteria. Our results revealed a great deviation in codon usage pattern between bacteria belonging to different taxons. They demonstrated also that this deviation was not randomly spread over the different codon groups (20 groups of synonymous codons). Comparing different subset of genes we show that the codon usage pattern of the low expressed genes is very similar to that of the all genes, whereas the patterns of the highly expressed, and particularly of the ribosomal protein genes, are highly distinguished. All these data are available at www.bio21.bas.bg/imb/codonusage and they can be used for optimization of codon composition of genes designed for heterologous expression in bacteria. The correlation analysis demonstrates that in many cases the formal bacterial taxonomy does not correspond to the Genome Theory.

РЕЗЮМЕ

Напредъкът в ДНК секвенирането доведе до натрупване на геномни данни на голям брой прокариоти, принадлежащи към различни таксони. В това проучване анализирахме 158 прокариотни генома за специфичност на използване на кодони. Последното е изследвано не само на нивото на целия геном (всички гени), но и за три генни подмножества: силно експресирани гени, гени на рибозомни протеини и ниско експресирани гени, използвайки наши собствени програми, написани на Visual Basic Studio (VBS), Visual Basic for Applications (VBA) и Perl. Създадените по този начин локални бази данни бяха изследвани, за да се сравни специфичността на използване на кодони на: а) различни щамове от един бактериален вид; б) различни подмножества от гени в един вид; в) различни бактериални геноми и г) за да се идентифицират липсващи и атипични инициационни кодони. Накрая, използвайки корелационен анализ, проверихме и съответствието между

формалната бактериална таксономия и Теорията на генома, която се основава на модела на използване на кодони при бактериите. Нашите резултати разкриха голямо отклонение в модела на използване на кодони между бактерии, принадлежащи към различни таксони. Те демонстрираха също, че това отклонение не е произволно разпределено в различните групи кодони (20 групи синонимни кодони). Сравнявайки различни подмножества гени, показваме, че моделът на използване на кодони на ниско експресирани гени е много подобен на този на всички гени, докато моделите на силно експресирани, и по-специално на гените за рибозомни протеини, са силно разграничени. Всички тези данни са достъпни на www.bio21.bas.bg/imb/codonusage и могат да бъдат използвани за оптимизиране на кодонния състав на гени, предназначени за хетероложна експресия в бактерии. Корелационният анализ показва, че в много случаи формалната бактериална таксономия не съответства на Геномната теория.

Г.7.5. Q3 Scopus 15т

Tsekovska R, Kirilov K, Gatev E, Mironova R, Handzhyiski Y. Investigation of purine compounds for anti-glycation activity in vitro. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 57, 1, 2022, ISSN:1314-7471 (print), 1314-7978 (on line), 19-24.

Resume

Non-enzymatic glycosylation (glycation) is a common process for all living organisms. It is associated with the accumulation of glycation products in proteins, amino lipids and DNA, potentially leading to disruption of their biological functions. Therefore, different substances have been interrogated for any anti-glycation activity. Some of these substances, like aminoguanidine, were found to be potent glycation inhibitors in vitro/ex vivo and in animal models. However, due to side effects of aminoguanidine, phase II clinical trials of this drug have been canceled. In this study, we investigated the impact of six purine compounds (theobromine, theophylline, caffeine, xanthine, hypoxanthine and uric acid) on the formation of fluorescent glycation products, as well as on the covalent aggregation of bovine serum albumin (BSA) glycated with D-ribose in vitro. Maximum inhibitory activity (ca. 50% inhibition) was achieved with theophylline and xanthine, followed by theobromine and hypoxanthine. Caffeine had neutral effect on glycation, whereas uric acid exhibited clear pro-glycation activity. It enhanced the formation of fluorescent adducts in BSA up to 125 % of baseline control and enhanced the covalent aggregation of that protein.

Non-enzymatic glycosylation (glycation) is a common process for all living organisms. It is associated with the accumulation of glycation products in proteins, amino lipids and DNA, potentially leading to disruption of their biological functions. Therefore, different substances have been interrogated for any anti-glycation activity. Some of these substances, like aminoguanidine, were found to be potent glycation inhibitors in vitro/ex vivo and in animal models. However, due to side effects of aminoguanidine, phase II clinical trials of this drug have been canceled. In this study, we investigated the impact of six purine compounds (theobromine, theophylline, caffeine, xanthine, hypoxanthine and uric acid) on the formation of fluorescent glycation products, as well as on the covalent aggregation of bovine serum albumin (BSA) glycated with D-ribose in vitro. Maximum inhibitory activity (ca. 50% inhibition) was achieved with theophylline and xanthine, followed by theobromine and hypoxanthine. Caffeine had neutral effect on glycation, whereas uric acid exhibited clear pro-glycation activity. It enhanced the formation of fluorescent adducts in BSA up to 125 % of baseline control and enhanced the covalent aggregation of that protein.

Г7.6. Q3 Scopus 15т.

Engibarov S, Tsekovska R, Kirilov K, Gatev E, Ivanov I, Mironova R, Handzhyiski Y. Deoxyribonuclease activity of allenic acids. Journal of chemical technology and Metallurgy, 2021, ISSN:1314-7471 (print), 1314-7978 (on line),

Resume Non-enzymatic cleavage of nucleic acids (DNA or RNA) is essential for developing novel antibiotics and chemo- therapeutics, as well as new gene manipulation techniques. In this study, we investigated for deoxyribonuclease activity the allenic acids 2-methyl-4-phenylhexa-2,3-dienoic acid (racemic mixture, AK-1), S-2-methyl-4-phenylbuta-2,3-dienoic acid (AK-2) and R-2-methyl-4-phenylbuta-2,3-dienoic acid (AK-3) using supercoiled plasmid pUC18 DNA as a substrate. All three allenic acids demonstrated single strand deoxyribonuclease activity in the order $AK2 \geq AK3 > AK1$. Increasing concentrations of potassium-phosphate buffer (pH 7.5) in the reaction mixture completely inhibited the relaxation of the supercoiled pUC18 DNA, thus implying that the phosphodiester bond in DNA is the vulnerable site of attack by the al- lenic acids. When plasmid pUC18 DNA nicked with allenic acids was treated with T4 DNA ligase, it failed to regain its covalently closed circular form. This indicates that the allenic acids act as either hydrolytic agents producing 3'-PO₄ and 5'-OH termini, or oxidizers, damaging DNA by free radical mechanism.

Резюме

Неензимното разкъсване на нуклеинови киселини (ДНК или РНК) играе ключова роля както за разработката на нови антибиотици и химиотерапевтични средства, така и за усъвършенстване на генните технологии. В настоящото изследване оценихме дезоксирибонуклеазната активност на следните алинови киселини, използвайки суперспирализирана плазмида pUC18 като субстрат: двумерен рацемичен 2-метил-4-фенилхекса-2,3-диеноична киселина (AK-1), както и енантиомерите S-2-метил-4-фенилбута-2,3-диеноична киселина (AK-2) и R-2-метил-4-фенилбута-2,3-диеноична киселина (AK-3). Всички три съединения проявиха единичноверижна дезоксирибонуклеазна активност в реда $AK-2 \geq AK-3 > AK-1$.

Увеличаването на концентрацията на фосфатен буфер (pH 7,5) напълно потисна релаксацията на суперспирализирана pUC18 ДНК, което насочва към това, че фосфодиестерната връзка в ДНК е уязвимата мишена на атаката от алиновите киселини. При последваща обработка на „надупчена“ с алинови киселини плазмида с T4 ДНК лиаза не бе наблюдавано възстановяване на затворената кръгова форма. Това потвърждава, че алиновите киселини действат или като хидролитични агенти, генериращи 3'-PO₄ и 5'-ОН терминали, или като окислители, увреждащи ДНК чрез свободнорадикални механизми.

В перспектива тези резултати откриват нови възможности за селективно модифициране и разкъсване на нуклеинови киселини без участие на ензими. Понататъшни структурно-биоинформатични анализи и оптимизация на алиновите

рамки могат да доведат до дизайн на мощни химически „ножици“ за приложение в молекулярната биология и терапевтичната синтетна биология.

Г7.7. Q2 Scopus 20г.

Yeung, A.W.K., Choudhary, N., Tewari, D., Horbańczuk, J.O., Kirilov, K., Atanasov, A.G... Lycopene: total-scale literature landscape analysis of a valuable nutraceutical with numerous potential applications in the promotion of human and animal health, *Animal Science Papers and Reports* this, 2022, 40(2), pp. 119–134

Resume

Lycopene intake from tomatoes and other food sources has multiple potential health benefits. This report aimed to evaluate the current research literature on lycopene concerning human and animal health. The electronic Web of Science Core Collection database was searched with (lycopene*) AND (health* OR illness* OR disease* OR medic* OR pharma* OR drug* OR therap*). The resulted 3972 papers were analyzed with the aid of bibliometric software. Besides the United States, the lycopene papers received global contributions, particularly from China, Italy, India, and Spain. Examples of frequently mentioned chemicals/chemical classes were carotenoid, beta carotene, alpha carotene, beta cryptoxanthin, and alpha tocopherol. Examples of frequently mentioned medical conditions were prostate cancer, cardiovascular disease, and obesity. Published scientific articles reveal the diverse potential of lycopene in prompting human and animal health, and the knowledge on the bioactivities of this phytochemical is expected to further grow in the future.

Резюме

Приемът на ликопен от домати и други хранителни източници има множество потенциални ползи за здравето. Този доклад имаше за цел да оцени настоящата изследователска литература за ликопена, свързана със здравето на хората и животните. Електронната база данни Web of Science Core Collection беше претърсена с (ликопен*) И (здраве* ИЛИ болест* ИЛИ болест* ИЛИ медицина* ИЛИ фармацевтика* ИЛИ лекарство* ИЛИ терапия*). Получените 3972 статии бяха анализирани с помощта на библиометричен софтуер. Освен Съединените щати, статиите за ликопен получиха глобален принос, особено от Китай, Италия, Индия и Испания. Примери за често споменавани химикали/химически класове бяха каротеноиди, бета-каротин, алфа-каротин, бета-криптоксантин и алфа-токоферол. Примери за често споменавани медицински състояния бяха рак на простатата, сърдечно-съдови заболявания и затлъстяване. Публикуваните научни статии разкриват разнообразния потенциал на ликопена за подобряване на здравето на хората и животните и се очаква знанията за биоактивността на този фитохимикал да нараснат допълнително в бъдеще.

Г.8.1 Book Chapter, Scopus, 15т.

Handzhiyski Y, Tsekovska R, Kirilov K, Niwa T, Ivanov I, Mironova R. Enhancing effect of L-lysine on glycation of histone H1 and bovine serum albumin in vitro. A Closer Look at Glycation: A Potential Hotspot for Age-related Complications and Diseases, Nova Science Publishers., Inc, NY, USA, 2021, ISBN:978-1-53619-176-9, 19, 79-98

ABSTRACT

Glycation is a non-enzymatic post-translational reaction between primary amino groups in proteins and reducing sugars resulting in the formation of advanced glycation end products (AGEs). This reaction contributes to many complications in diabetic patients and to other pathophysiological processes in humans. Therefore, a number of low molecular weight amino and carbonyl compounds have been tested thus far for inhibitory effect on glycation. Data obtained with L-lysine are controversial and it is not yet clear whether L-lysine is an inhibitor or enhancer of glycation. Glycation is a multistage reaction and therefore L-lysine may exert various effects on the different stages of the glycation reaction. With this in mind, we focused particularly on the effect of L-lysine on the advanced stage of glycation. We found that L-lysine enhances the formation of fluorescent AGEs in rat histone H1 and bovine serum albumin glycated with glucose 6-phosphate and D-ribose, respectively. Histone H1 also underwent accelerated covalent aggregation and proteolysis in the presence of L-lysine. Resveratrol was further found to suppress the enhancing effect of L-lysine on AGEs-formation in BSA, which implies that this effect is oxidation-dependent. In conclusion, L-lysine appears inappropriate for inhibition of glycation *in vivo*, where over-dosages might accelerate glycation associated pathophysiological processes.

Резюме.

Неензимното посттранслационно гликиране представлява реакция между първични амини в протеини и редуциращи захари, водеща до образуването на напреднали продукти на гликация (AGEs). Този процес допринася за множество усложнения при диабетици и участва в различни патофизиологични състояния при хората. В търсене на ефективни инхибитори на гликацията са тествани редица нискомолекулни аминокислотни и карбонилни съединения, но за L-лизина данните остават противоречиви: не е ясно дали той потиска или, напротив, усилва гликацията.

За да изясним влиянието на L-лизина върху късния етап на гликацията, анализирахме образуването на флуоресцентни AGEs върху ратин хистон H1 и бикобов серумен албумин (BSA), подложени на гликация с глюкозо-6-фосфат и D-рибоза. Установихме, че присъствието на L-лизин значително повишава нивото на флуоресцентни AGEs, ускорява ковалентната агрегация и протеолизата на хистон H1. Допълнителни експерименти показаха, че ресвератрол потиска този „усилващ“

ефект на L-лизина върху BSA, което насочва към механизъм, зависещ от окислителни реакции.

В заключение, L-лизин не изглежда подходящ за инхибиране на гликацията *in vivo*, тъй като предозирането му може да ускори патофизиологичните процеси, свързани с AGEs. В перспектива следва да се проведат по-задълбочени изследвания на молекулярните механизми, чрез които L-лизин взаимодейства с различните етапи на гликационния каскад, както и оценка на потенциала на комбинации с антиоксиданти като ресвератрол за разработване на целенасочени стратегии за защита срещу AGEs-асоциирани заболявания.

Rositsa Tsekovska, Yordan Handzhiyski, Elitsa Boteva, Kiril Kirilov, Toshimitsu Niwa, Ivan Ivanov, Roumyana Mironova. Advanced Glycation End Products in *Escherichia coli* KR12 – a Sign of Aging. In: Advanced Glycation End Products (AGEs): Regulation, Function and Role in Health and Disease. Nova Publishers, Inc. NY, USA, 2017

ABSTRACT

Recent studies have challenged the paradigm that bacteria do not age and are immortal. Stewart et al. (PLoS Biology, 2005, 3(2), e45) provided an intriguing evidence that during division *Escherichia coli* K-12 exhibits functional asymmetry, leaving behind a mother cell with delayed growth and survival rate and a younger daughter cell, empowered to successfully perpetuate the species over time. In view of this new finding, bacteria, and in particular *E. coli*, emerged as a promising model for exploration of basic mechanisms of aging. It is not yet clear to what extent pro- and eukaryotic cells age similarly but at least some features of aging, especially at the molecular level, should be common. Spontaneous chemical reactions including hydrolysis, oxidation and glycation (the Maillard reaction) are well known to deteriorate macromolecular structure and function. The Maillard reaction, yielding the so-called Advanced Glycation End Products (AGEs) on proteins, DNA and amino- lipids, has been long associated with diseases (diabetes, Alzheimer's and Parkinson's diseases) and aging in humans. We have demonstrated that despite the short life span of *E. coli* of tens of minutes to hours, its chromosomal DNA accumulates AGEs under normal growth conditions (Mironova et al., Mol. Microbiol., 2005, 55(6), p1801). Such progressive modification of a key biological molecule provides an independent line of evidence for *E. coli* aging. This article reviews data on the Maillard reaction as a cause of stochastic damage in *E. coli*, and subsequently, of *E. coli* aging.

Резюме.

До неотдавна се считаше, че бактериите са „безсмъртни“ — без признаци на остаряване — но работата на Стюарт и колеги (PLoS Biology, 2005) показва, че при деленето на *Escherichia coli* K-12 възниква функционална асиметрия: „майчинската“ клетка, поела остарелия полюс, расте и оцелява по-бавно, докато „дъщерната“ — с „младия“ полюс — запазва висока жизнеспособност и размножителен капацитет. Това превръща *E. coli* в атрактивен модел за изследване на основните молекулярни механизми на стареенето. В еукариотите процесите на хидролиза, окисление и гликация (Майлардова реакция) водят до натрупване на необратими увреждания в макромолекулите, свързани с възрастови изменения и заболявания като диабет, Алцхаймер и Паркинсон. Ние и колегите ни демонстрирахме, че въпреки краткия жизнен цикъл на *E. coli* (от десетки минути до няколко часа), при нормални условия на растеж в нейната хромозомна ДНК се натрупват напреднали продукти на гликация (AGEs) (Mironova et al., Mol. Microbiol., 2005). Това постепенно

модифициране на ключов биомолекул предлага независима линия от доказателства за процес на стареене и при прокариотите. Обзорът в настоящата статия обобщава данните за ролята на Майлардовата реакция като източник на стохастични увреждания в *E. coli* и проследява нейното значение за „бактериалното стареене“.

Bachvarov, K. Kirilov, I. Ivanov "Codon and codon pairs usage in bacteria". In: Bacterial DNA, Chapter 1 (Knudsen, W.D. and Bruns, S.S., eds.), Nova Science Publishers, NY, USA (2010), pp. 3R49. ISBN 978R1R60741R094R2.

ABSTRACT

The new generation of fast and low-cost DNA sequencing methods led to a rapid accumulation of genomic data in the DNA databases after the year 2000. Hundreds of bacterial genomes have been sequenced during the last decade, however, in rare cases they were profoundly analyzed. Apparently it is much easier today to generate raw DNA sequencing data rather than to decipher their biological meaning. This study aims to shed light on the relationship between codon usage and gene expression in 158 prokaryotes belonging to the two major classes: Archaea and Bacteria. Archaea includes 2 families (Crenarchaeota and Euryarchaeota) and Bacteria 13 families (Actinobacteria, Aquificae, Bacteroidetes, Chlamydiae, Chlorobi, Cyanobacteria, Deinococcus-Thermus, Firmicutes, Fusobacteria, Planctomycetes, Proteobacteria, Spirochaetes and Thermotogae) and the total number of genera was 9 for Archaea and 22 for Bacteria. In order to study the link between codon usage and gene expression four local DNA databases were created containing respectively: a) all protein coding sequences of each organism; b) highly expressed genes; c) ribosomal proteins genes and d) low expressed genes. These databases were used to compare codon usage patterns of: a) different strains of one bacterial species; b) different subsets of genes in one species and c) different bacterial genomes. They were also employed to identify missing and atypical codons as well as to search for correlation between codon usage and the formal prokaryotic taxonomy. The obtained results indicate that the formal taxonomy of many bacterial species does not fit their codon usage pattern (as predicted by the "Genome Theory"). On the other hand there are obvious similarities in the codon usage pattern of distant (according to the formal taxonomy) organisms. The latter suggests that either the Genome Theory or the official taxonomy of microorganisms need revisions. Taking into consideration that at least two tRNAs occupy the two (A and P) functional ribosomal sites during the translation elongation step, we have also studied the effect of neighbor codons (codon pairs) on gene expression. Aiming to identify preferential and rare codon pairs, we have developed own criteria for determining their frequency of occurrence and for evaluation of their possible effect on translation. This approach was applied to analyze the distribution of all (3904) codon pairs in the *Escherichia coli* genome and we found that their frequency of occurrence varied from zero to 4913 times. The predicted effect of some (particularly 3'-terminal) codon pairs on gene expression is confirmed experimentally.

Резюме

Новото поколение бързи и евтини методи за ДНК-секвениране доведе до бързо натрупване на геномни данни в ДНК-базите след 2000 г. През последното

десетилетие са секвенирани стотици бактериални геноми, но в малко случаи те са били задълбочено анализирани. Явно днес е много по-лесно да се генерират сурови данни от ДНК-секвениране, отколкото да се дешифрира тяхното биологично значение. Целта на това изследване е да хвърли светлина върху връзката между употребата на кодони и експресията на гените при 158 прокариоти от двата основни класа: Archaea и Bacteria. Archaea включва 2 фамилии (Crenarchaeota и Euryarchaeota), а Bacteria – 13 фамилии (Actinobacteria, Aquificae, Bacteroidetes, Chlamydiae, Chlorobi, Cyanobacteria, Deinococcus-Thermus, Firmicutes, Fusobacteria, Planctomycetes, Proteobacteria, Spirochaetes и Thermotogae); общият брой родове е 9 за Archaea и 22 за Bacteria. За да се проучи връзката между употребата на кодони и експресията на гените, бяха създадени четири локални ДНК-бази данни, съдържащи съответно: а) всички протеиново-кодиращи последователности на всеки организъм; б) гени с висока експресия; в) гени за рибозомни протеини; и г) гени с ниска експресия. Тези бази данни бяха използвани за сравнение на модели на употреба на кодони при: а) различни щамове на един бактериален вид; б) различни подмножества от гени в един вид; и в) различни бактериални геноми. Също така те бяха използвани за идентифициране на липсващи и атипични кодони, както и за търсене на корелация между употребата на кодони и формалната прокариотна таксономия. Получените резултати показват, че формалната таксономия на много бактериални видове не съвпада с техния модел на употреба на кодони (както е предсказано от „Геномната теория“). От друга страна, има очевидни сходства в моделите на употреба на кодони при отдалечени (според формалната таксономия) организми. Последното подсказва, че или Геномната теория, или официалната таксономия на микроорганизмите се нуждаят от преразглеждане. Имайки предвид, че по време на стъпката по елонгация на транслацията в рибозомата едновременно заемат мястото А и мястото Р поне два тРНК, ние изследвахме и ефекта на съседните кодони (кодонни двойки) върху експресията на гените. С цел идентифициране на преобладаващи и редки кодонни двойки разработихме собствени критерии за определяне на тяхната честота на срещане и за оценка на евентуалния им ефект върху транслацията. Този подход беше приложен за анализ на разпределението на всички (3904) кодонни двойки в генома на *Escherichia coli* и установихме, че тяхната честота на срещане варира от нула до 4913 пъти. Предсказаният ефект на някои (особено 3'-терминални) кодонни двойки върху експресията на гените е експериментално потвърден.

Г7.9.1. Патент 25т

K. Kirilov and I. Ivanov "A set of practical training in chemistry and environmental protection (VIII and IX course)" Patent No. BG 2017/2560 (25.07.2017). Учебни помагала и пособия по химия за средните училища

Abstract

The utility model relates to a practical training kit for chemistry and environmental protection, specifically designed for hands-on instruction in chemistry and environmental protection in the eighth and ninth grades of Bulgarian schools. Its purpose is to streamline the teaching process, enhance instructional quality, and spark students' interest in this discipline, which is vital for technological progress. The kit comprises a set of chemical reagents, a set of laboratory apparatus, and an operations manual. It is available in versions tailored both to basic experiments, which are mandatory for all students, and to advanced experiments intended for students with a pronounced interest in chemistry and environmental protection.

Реферат

Полезният модел се отнася до набор за практическо обучение по химия и опазване на околната среда, по-специално за практическото обучение по химия и опазване на околната среда в осми и девети клас на българските училища, който да облекчи учебния процес, да подобри качеството на обучението и да събуди интереса на учениците към тази важна за техническия прогрес учебна дисциплина. Наборът включва комплект от химически реактиви, комплект от лабораторни принадлежности и ръководство за работа и е разработен във варианти, предназначени за базови експерименти, които са задължителни за всички ученици, както и за ученици с подчертан интерес към химия и опазване на околната среда

Г7.9.2. Патент 25т

.K. Kirilov and I. Ivanov "A set of practical training in chemistry and environmental protection (X and XI course)" Patent No. BG 2017/2566 (25.07.2017). Учебни помагала и пособия по химия за средните училища

Abstract

The utility model relates to a practical training kit for chemistry and environmental protection, specifically designed for hands-on instruction in chemistry and environmental protection in the tenth and eleventh grades of Bulgarian schools. Its purpose is to streamline the teaching process, enhance the quality of education, and ignite students' interest in this discipline, which is crucial for technological progress. The kit comprises a set of chemical reagents, a set of laboratory apparatus, and a user's manual. It is offered in versions tailored both to the basic experiments mandatory for all students and to advanced experiments for those with a pronounced interest in chemistry and environmental protection.

Реферат

Полезният модел се отнася до набор за практическо обучение по химия и опазване на околната среда, поспециално за практическото обучение по химия и опазване на околната среда в десети и единадесети клас на българските училища, който да облекчи учебния процес, да подобри качеството на обучението и да събуди интереса на учениците към тази важна за техническия прогрес учебна дисциплина. Наборът включва комплект от химически реактиви, комплект от лабораторни принадлежности и ръководство за работа и е разработен във варианти, предназначени за базови експерименти, които са задължителни за всички ученици, както и за ученици с подчертан интерес към химия и опазване на околната среда