

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Универзитет у Београду
ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ
Београд, 27.06.2024. год.
386/3
27 06 24
БЕОГРАД

Предмет: Извештај о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације **Наталије С. Андрејевић**, мастера биохемичара.

На редовној седници Наставног-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 11.04.2024. године, изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидаткиње **Наталије С. Андрејевић**, мастера биохемије, пријављене под насловом: „**Везивање органских загађујућих супстанци за амилоидне фибриле овалбумина**“.

На основу поднете и прикупљене документације, као и увида у досадашњи рад кандидаткиње, подносимо Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографски подаци о кандидаткињи

Наталија С. Андрејевић је рођена 05.06.1997. године у Београду. Основну школу, „Вук Караџић“ у Београду, завршава 2012. године као носилац дипломе „Вук Караџић“ и ђак генерације. Исте године завршава нижу музичку школу „Др Војислав Вучковић“ у Београду, са одличним успехом. Године 2016. завршава „Пету београдску гимназију“ као носилац дипломе „Вук Караџић“, након чега уписује основне академске студије на Хемијском факултету Универзитета у Београду, студијски програм Хемија. Основне академске студије је завршила у року, 2020. године, са просечном оценом 9,89 (9 и 89/100), одбранивши завршни рад под насловом „Синтеза и испитивање биолошке активности алкиламино деривата 2-терцбутил-1,4-бензохинона и аварона“ са оценом 10 (десет). Добитник је стипендије Министарства просвете, науке и технолошког развоја за 2017. и 2018. годину, као и Доситејево стипендије за 2019. и 2020. годину. Мастер академске студије је уписала школске 2020/2021. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду, студијски програм Биохемија. Мастер академске студије је завршила 2021. године са просечном оценом 9,83 (девет и 83/100), одбранивши мастер рад под насловом „Карактеризација протеолитичког профила латекса домаће зелене смокве (*Ficus carica*)“ са оценом 10 (десет) и стиче звање мастер биохемичар. Докторске академске студије је уписала 2021. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Биохемија. Исте године добија Специјално признање Српског хемијског друштва за најбоље студенте у 2021. години. У периоду од 2021. до

2024. године, Наталија Андрејевић је била ангажована као асистент на предметима основних студија „Биохемија протеина и нуклеинских киселина (401Б2)“, „Биохемија (409Х2)“, „Конформациони прелази протеина (437Б2)“, као и на предмету мастер студија „Биохемија и биофизика макромолекула (453Б2)“. Наталија Андрејевић се бави научно-истраживачким радом у области протеинске биохемије и биофизике, при Катедри за биохемију Хемијског факултета у Београду. Године 2023. је добила стипендију за учешће на 47. ФЕБС конгресу у Туру, Француској. У септембру исте године, учествовала је на XII конференцији Биохемијског друштва Србије у Београду, на којој осваја Награду за најбољу оралну презентацију. До сада је објавила један рад у врхунском међународном часопису (М21) и саопштила је два рада на скуповима међународног значаја (М34). Говори течно енглески језик и служи се француским језиком.

Б. Објављени научни радови и саопштења

Наталија Андрејевић је до сада објавила један рад у врхунском међународном часопису (М21) и 2 рада на скуповима међународног значаја штампана у изводу (М34).

Библиографија кандидаткиње, категорисана према Правилнику о стицању истраживачких и научних звања (Сл. гласник РС, бр. 169/2020-82):

Научни радови објављени у врхунским међународним часописима – М21

Marković, S., Andrejević, N., Milošević, J., Polović, N. (2023) Structural Transitions of Papain-like Cysteine Proteases: Implications for Sensor Development, *Biomimetics*, 8(3), 281. IF2022 4.5, Engineering, Multidisciplinary 22/91

Научна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у изводу – М34

Andrejević, N., Polović, N. (2023). The effect of free thiol content and the presence of ligands on human serum albumin amyloid fibrillation, *FEBS Open Bio*, 13: P-06.3-02: doi:10.1002/2211-5463.13646

Andrejević, N., Stevanović, F., Polović, N. Amyloid fibrillation of egg-white proteins and its tendency to bind synthetic dye from water solutions, *The XII Conference of Serbian Biochemical Society: Biochemistry in Biotechnology*, 21-23. септембар 2023, Београд, Србија. ISBN 978-86-7220-140-6

В. Образложење теме

1. Научна област: Хемијске науке

Ужа научна област: Биохемија

2. Предмет рада

Предмет истраживања ове докторске дисертације је испитивање везивања пестицида, синтетичких боја и осталих органских загађујућих једињења за амилоидне фибриле албумина као модел система. Кандидаткиња ће спровести истраживање у оквиру две целине.

Први део ће обухватати припрему полазних препарата албумина и то: хуманог албумина серума из комерцијалног раствора за инфузију, и изоловање и пречишћавање овалбумина кокошјег јајета стандардним биохемијским техникама. Биће испитивани и оптимизовани услови за припрему амилоидних фибрила оба наведена албумина. Фибрилација ће бити праћена спектрофлуориметријски, применом тиофлавина-Т (енгл. скраћеница ThT) и структурно окарактерисана применом микроскопије атомских сила (енгл. скраћеница AFM), динамичког расејавања светлости (енгл. скраћеница DLS) и инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом (енгл. скраћеница FTIR).

У оквиру другог дела истраживања, биће испитано везивање органских загађујућих једињења за амилоидне фибриле албумина из синтетичких отпадних вода, под различитим условима – у различитим рН вредностима раствора и под различитим концентрацијама загађујућих једињења. Биће анализирани добијени агрегата и испитиван тип интеракција који доводи до везивања употребљених органских загађујућих једињења за амилоиде. Одређиваће се капацитет и селективност везивања применом спектрофотометријских/спектрофлуориметријских метода, као и течном хроматографијом високих перформанси куплованом са масеном спектроскопијом (енгл. скраћеница HPLC-MS).

3. Научни циљ истраживања

Најбитнији циљеви предложене дисертације били би: испитивање везивања органских загађујућих једињења за амилоидне фибриле албумина, као и анализа добијених агрегата.

- Одабир и припрема полазног материјала богатог албуминима применом стандардних биохемијских поступака
- Формирање амилоидних фибрила албумина
- Везивање органских загађујућих једињења из водених раствора за фибриле албумина
- Одређивање типа интеракција који доводи до везивања органских загађујућих једињења за амилоиде
- Испитивање ефекта киселости раствора на везивање
- Испитивање утицаја концентрације органских загађујућих једињења на везивање
- Одређивање капацитета и селективности везивања

4. Методе истраживања

У току израде предложене докторске дисертације предвиђено је коришћење следећих техника и метода:

- стандардне биохемијске методе за изоловање и карактерисање протеина
- спектрофлуориметрија за праћење формирања амилоидних фибрила
- FTIR спектроскопија ради испитивања структурних карактеристика нативних албумина и њихових амилоидних форми
- Микроскопија атомских сила за структурну карактеризацију и морфологију амилоидних фибрила
- Динамичко расејавање светлости за одређивање величине формираних агрегата
- Спектрофотометрија за квантификацију невезаних синтетичких боја
- HPLC-MS за квантификацију невезаних молекула пестицида, антибиотика и осталих органских загађујућих супстанци

5. Актуелност проблематике у свету

Маргинална стабилност протеина у воденим растворима омогућава њихову олакшану денатурацију променом услова, попут температуре и рН вредности раствора. Приликом денатурације, најчешће се формирају протеински агрегати који могу бити аморфни или високо структурирани, попут амилоидних фибрила. Теоријски, сви протеини могу формирати амилоидне фибриле под одређеним условима, имајући у виду да амилоидна форма протеина представља његово термодинамичко најстабилније стање.⁽¹⁾ Амилоидни фибрили су најчешће повезивани са неуродегенеративним обољењима.⁽²⁾ Међутим, како се амилоидни фибрили одликују изразитом механичком, хемијском и температурном отпорношћу и великим диверзитетом функционалних група по површини фибрила, научна заједница је препознала њихов нови употребни потенцијал.⁽³⁾ Композитне мембране и аерогелови на бази амилоидних фибрила се могу користити у пречишћавању водених раствора од јона тешких метала^(4,5), лекова⁽⁶⁾ итд.

Загађење вода представља један од водећих фактора за повећање стопе морталитета и појаве патолошких обољења.⁽⁷⁾ Синтетичке боје су нашироко примењиване у кожној, текстилној и папириној индустрији, при чему је показано да многе од њих имају негативан утицај на људско здравље.⁽⁸⁾ С друге стране, велика употреба пестицида у пољопривреди и њихово задржавање у земљишту и водама има утицај на целокупан екосистем и ланац исхране.⁽⁹⁾ Такође, прекомерна употреба антибиотика у лечењу хуманих и животињских обољења доводи до пораста загађења воде и земљишта антибиотикима, што последично повећава ризик од развијања бактерија резистентних на антибиотике, представљајући глобалну опасност по људско и животињско здравље.⁽¹⁰⁾ Из наведеног, јасна је потреба за испитивањем нових материјала за уклањање пестицида, синтетичких боја, антибиотика и других органских загађујућих једињења из водених раствора.

6. Очекивани резултати

У предложеној дисертацији очекивано је постизање следећих резултата:

- Оптимизација поступака добијања амилоидних фибрила из извора богатог албуминима и њихова структурна карактеризација
- Успешно уклањање испитиваних органских загађујућих једињења из водених раствора и одређивање капацитета и селективности везивања
- Напредак у разумевању и идентификацији интеракција које доводе до везивања органских молекула за амилоидне фибриле, кроз испитивање утицаја киселости раствора и концентрације загађујућих једињења на везивање за амилоидне фибриле албумина
- Испитивање потенцијала амилоидних фибрила албумина за примену у пречишћавању синтетичких отпадних вода кроз свеобухватну анализу добијених резултата.

7. Литература

1. Chiti, F. *et al.* Designing conditions for in vitro formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**, 3590–3594 (1999).
2. Salahuddin, P. *et al.* The role of amyloids in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Int J Biol Macromol* **190**, 44–55 (2021).
3. Abdelrahman, S. *et al.* "What Doesn't Kill You Makes You Stronger": Future Applications of Amyloid Aggregates in Biomedicine. *Molecules* **25**, 5245 (2020).
4. Bolisetty, S., Reinhold, N., Zeder, C., Orozco, M. N. & Mezzenga, R. Efficient purification of arsenic-contaminated water using amyloid-carbon hybrid membranes. *Chemical Communications* **53**, 5714–5717 (2017).
5. Jia, X., Peydayesh, M., Huang, Q. & Mezzenga, R. Amyloid Fibril Templated MOF Aerogels for Water Purification. *Small* **18**, (2022).
6. Peydayesh, M. *et al.* Amyloid Fibrils Aerogel for Sustainable Removal of Organic Contaminants from Water. *Advanced Materials* **32**, (2020).
7. Bolisetty, S. & Mezzenga, R. Amyloid-carbon hybrid membranes for universal water purification. *Nat Nanotechnol* **11**, 365–371 (2016).
8. Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M. & Quevedo-Hidalgo, B. E. A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. *Molecules* **26**, 3813 (2021).
9. de Souza, R. M. *et al.* Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection* **135**, 22–37 (2020).
10. Grenni, P., Ancona, V. & Caracciolo, A. B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal* **136**, 25-39 (2018).

Г. Закључак

На основу свега изложеног, Комисија сматра да је предложена тема докторске дисертације научно заснована и актуелна, као и да очекивани резултати представљају научни допринос у области протеинске биохемије. У складу са Законом о високом образовању и Статутом Хемијског факултета у Београду, сматрамо да кандидаткиња испуњава све предвиђене услове за одобрење израде докторске дисертације. Комисија зато предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета да кандидаткињи Наталији Андрејевић, мастеру биохемије, одобри израду докторске дисертације под насловом „Везивање органских загађујућих једињења за амилоидне фибриле албумина“.

Комисија предлаже ментора др Наталију Половић, редовног професора Универзитета у Београду – Хемијског факултета. Спискови радова предложеног ментора објављених у научним часописима Science Citation Index (SCI) листе, који ментора квалификују за вођење докторске дисертације кандидата, дати су у Прилогу 1 овог извештаја.

Београд, 26.6.2024. године

Комисија:



др Наталија Половић (ментор), редовни професор
Универзитет у Београду – Хемијски факултет



др Александар Лолић, редовни професор
Универзитет у Београду – Хемијски факултет



др Јелица Милошевић, научни сарадник
Универзитет у Београду – Хемијски факултет



др Бранко Јовчић, редовни професор
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

Прилог 1

Списак радова предложеног ментора објављених у научним часописима са SCI листе који ментора квалификују за вођење докторске дисертације.

Име и презиме ментора: **др Наталија Половић**

Звање: **Редовни професор**

Изабрани радови предложеног ментора:

1. Mijin N, Milošević J, Stevanović S, Petrović P, Lolić A, Urbic T, **Polović N.** (2023) Amyloid-like aggregation influenced by lead(II) and cadmium(II) ions in hen egg white ovalbumin. *Food Hydrocoll.* 2023; 136(B), 108292. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108292>
2. Milošević J, Prodanović R, **Polović N.** On the Protein Fibrillation Pathway: Oligomer Intermediates Detection Using ATR-FTIR Spectroscopy. *Molecules* 2021; 26(4), 970. <https://doi.org/10.3390/molecules26040970>
3. Milošević J, Vrhovac L, Đurković F, Janković B, Malkov S, Lah J, **Polović NĐ.** Isolation, identification, and stability of Ficin 1c isoform from fig latex. *New J Chem.* 2020; 44 (36), 15716-15723- <https://doi.org/10.1039/D0NJ02938F>
4. Milošević J, Petrić J, Jovčić B, Janković B, **Polović N.** Exploring the potential of infrared spectroscopy in qualitative and quantitative monitoring of ovalbumin amyloid fibrillation. *Spectrochim Acta A Mol Biol Spectrosc.* 2020; 229:117882. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117882>
5. Milošević J, Janković B, Prodanović R, **Polović N.** Comparative stability of ficin and papain in acidic conditions and the presence of ethanol. *Amino Acids* 2019; 51, 829-838. <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02724-3>