

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

**ПРЕДМЕТ:** Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Јелене Михаиловић (рођене Весић), мастер биохемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Хемијског факултета одржаној 12. септембра 2019. године, изабрани смо као чланови Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидаткиње Јелене Михаиловић (рођене Весић), мастер биохемичара, истраживача сарадника Универзитета у Београду - Хемијског факултета, под називом:

**„Протеомика посттранслационих и хемијских модификација протеина и интеракције протеина од значаја у алергији на храну“**

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је, на својој седници одржаној дана 28.02.2019. године, на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (број одлуке: 61206-5725/4-19).

Комисија је докторску дисертацију прегледала и подноси Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета следећи:

## **ИЗВЕШТАЈ**

### **А. Приказ садржаја дисертације**

Докторска дисертација Јелене Михаиловић написана је на 119 страна А4 формата (фонт Times New Roman величине 12 pt, са проредом 1,5). Садржи 34 слике, 14 табела и 6 прилога (у оквиру прилога су 4 слике и 2 табеле). Подељена је на поглавља: 1. Увод (3 стране), 2. Општи део (29 страна), 3. Циљеви (1 страна), 4. Експериментални део (13 страна), 5.

Резултати и дискусија (47 страна), 6. Закључци (4 стране), 7. Прилози (9 страна) и 8. Литература (13 страна). Поред наведеног, дисертација садржи Списак скраћеница (3 стране), Сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страна, односно до 1800 словних знакова с проредом), Садржај (4 стране), Захвалницу (1 страна), Биографију кандидата, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјаву о коришћењу.

У **Уводу** је описан предмет истраживања и укратко је дат преглед проблематике у свету којом се ова дисертација бави. Укратко је описана проблематика алергија на храну у свету, уз осврт на алергију на црвено месо и кикирики. Описан је значај који детаљна карактеризација алергена хране, поготово њихових модификација и интеракција са малим молекулима могу имати у решавању здравственог проблема који представља алергија на храну.

У **Општем делу** је описан механизам алергије на храну са посебним освртом на алергије на кикирики и црвено месо. Описани су фактори попут утицаја термичке обраде и подложности деловању дигестивних ензима који утичу на структурне и функционалне особине алергена хране и доводе се у везу са модулацијом алергености. Дат је приказ хемијских и посттранслационих модификација које се могу наћи на алергенима хране, и које могу утицати на промене њихових особина. Описани су и приступи за њихову детаљну карактеризацију. Такође је описан значај интеракција између алергена хране и биолошки активних фенолних једињења и приступи за изучавање интеракција између алергена хране и имуномодулаторног епигалокатехин-3-галата.

У поглављу **Циљеви** су јасно дефинисани циљеви на основу којих су постављени и описани специфични задаци.

У оквиру **Експерименталног дела** наведен је детаљан опис експерименталних метода и процедура, њихових модификација, као и реагенаса који су коришћени у овој дисертацији. Наведени су извори коришћених хемикалија, китова, опреме, софтверских пакета и алгоритама за обраду података. Јасно и прегледно су написани подаци о методама за детаљну карактеризацију алергена хране и њихових модификација, укључујући релативну

квантификацију. Описане су методе за проучавање интеракција између алергена хране и катехина зеленог чаја.

Поглавље **Резултати и дискусија** подељено је на три целине у којима је кандидаткиња детаљно приказала и продискутовала добијене резултате. Прве две целине се односе на проучавање посттранслационих и хемијских модификација које носе алергени хране. У првој целини је изучена *N*-гликанска посттранслациона модификација – галактозил- $\alpha$ -галактоза ( $\alpha$ -Гал) која је уједно *IgE* епитоп у случају алергије на црвено месо. Приказани су резултати ензимског есеја (пепсинолизе) изведеног на модел протеину за алергије на црвено месо, који на себи носи  $\alpha$ -Гал. Настали пептиди су окарактерисани методама масене спектрометрије и имуноблота (са антителом специфичним за  $\alpha$ -Гал) ради провере присуства  $\alpha$ -Гал након деловања ензима. У другој целини су приказани резултати опсежније карактеризације посттранслационих и хемијских модификација главних алергена кикирикија. Спроведена је детаљна идентификација и компаративна анализа модификација присутних на алергенима пореклом из сировог и печеног кикирикија применом масене спектрометрије у комбинацији са софтверским пакетом специјализованим за релативну квантификацију и анализу протеина и њихових модификација и имуноблота са антителима специфичним за модификоване аминокиселинске остатке. У трећој целини су испитане интеракције и формирање комплекса између два најзначајнија алергена кикирикија и катехина зеленог чаја чија се биолошка активност, између осталог повезује са слабијим алергијским одговором и повећаном подложношћу дејству дигестивних ензима. Приказани су резултати испитивања утицаја везивања катехина на структуру алергена кикирикија применом различитих спектроскопских и метода титрационе калориметрије. У оквиру сваке целине сумирани су добијени резултати, који су дискутовани у односу на шири контекст релевантих података из литературе.

На основу детаљно продискутованих резултата, у поглављу **Закључци** су систематски резимирани закључци који су проистекли из ове дисертације и изнет је њихов значај.

У делу **Литература** (128 цитата) обухваћене су публикације релевантне за област истраживања и покривени су сви делови дисертације.

## Б. Кратак приказ резултата

Применом *in vitro* ензимског есеја је проучена подложност модел протеина за алергије на црвено месо - тироглобулина (ТГ, 270 kDa) дејству пепсина и проверено присуство  $\alpha$ -Гал епитопа на резултујућим пептидима. Показано је да ензимски дегликозилован ТГ није растворан у киселим условима, те тако и не подлеже пепсинолизи. ТГ коме није уклоњена шећерна компонента у првих 5 минута симулиране желудачне дигестије даје електрофоретске траке нижих молекулских маса - 100, 75, 50 и 40 kDa. Током десетог минута постају уочљиве траке на ~15 kDa које опстају и након сат времена дигестије. Применом имуноблота са антителима специфичним за  $\alpha$ -Гал је анализирано и потврђено присуство ове посттранслационе модификације и уједно *IgE* епитопа код алергије на црвено месо на насталим пептидима тироглобулина. Потврђено је да  $\alpha$ -Гал остаје везан за пептиде ТГ читавим током симулиране желудачне дигестије. Масеноспектрометријски је утврђено да *IgE* реактивни пептиди настали дејством пепсина припадају *N*-терминусу и средишњем делу секвенце ТГ. Поређењем добијених резултата са подацима о *N*-гликозилацији доступним у *Uniprot* бази података (<https://www.uniprot.org>) се долази до закључка о позицијама у аминокиселинској секвенци ТГ за које је везан  $\alpha$ -Гал.  $\alpha$ -Гал се на анализираним *IgE* реактивним пептидима налази везан у оквиру *N*-гликана на позицијама *Asn1756*, *Asn1850* и *Asn2231*.

Применом масене спектрометрије, специјализованог софтверског пакета и имуноблота са антителима специфичним на посттранслационе и хемијске модификације је детаљно окарактерисан и упоређен профил модификација четири главна алергена кикирикија (*Ara h 1*, *Ara h 2*, *Ara h 3* и *Ara h 6*) из екстраката сировог и печеног кикирикија. Електрофоретским путем је установљено да постоје разлике у протеинским профилима између екстраката сировог и печеног кикирикија. Поменуте разлике се првенствено огледају у појави трака високих молекулских маса у виду размаза код печеног кикирикија, што се повезује са олигомеризацијом протеина и појавом крајњих производа гликације услед поспешивања Мајарове реакције при повишеној температури. Масеном спектрометријом је детектовано укупно 27 различитих модификација на четири изучавана главна алергена, и међу проучаваним алергенима *Ara h 1* их носи највише (23 различите модификације), док је у односу на дужину аминокиселинске секвенце на највећем броју позиција модификован *Ara*

*h 6* (15% код сировог и 11% код печеног кикирикија). Од пронађених 27 модификација њих 8 се могу наћи на изучаваним алергенима искључиво у сировом (ацеталдехид *Lys*, *His*; левугландинил-лизин анхидролактамски адукт *Lys*, *N*-терминус; оксидација *His*, *Trp*; пироглутамат од *Glu*; пиридон од *Pro*; сулфон *Met*, моноглутамил *Glu* и о-диетилфосфорилација *Tyr*, *Thr*, *Ser*, *His*, *Cys*, *Lys*) и 4 искључиво у печеном кикирикију (дихидроксилација *Arg*, *Trp*; карбоксиметилација *Cys*; ацетилација *Lys*; *N*-ацетил неураминска киселина *Asn*, *Thr*, *Ser*). Међу наведеним модификацијама присуство пироглутамата и ацетил-лизина је имуноблотом потврђено на алергенима кикирикија. Показано је да се профил модификација линеарних епитопа четири изучавана алергена разликује између ектраката сировог и печеног кикирикија. Модификације које су детектоване на истој позицији у оквиру секвенце алергена из сировог и печеног кикирикија су упоређене методом релативне квантификације, на основу површине испод пикова јонских хроматограма пептида који их носе. Међу модификацијама које су заступљеније у печеном кикирикију су карбамоилација *Lys*, *N*-терминуса и хидроксилација *Pro* код *Ara h 1*, замена 2 протона гвожђем код *Ara h 3* и метилација *His*, *Glu* код *Ara h 6*. Међу модификацијама чија је заступљеност поређена на овај начин имуноблотом је потврђено присуство метилације *Lys*, карабамоилације *Lys*, хидроксилације *Pro* и оксидације *Met* (метионин-сулфоксид).

Испитана је могућност успостављања интеракција између два најзначајнија алергена кикирикија (*Ara h 2* и *Ara h 6*) и епигалокатехин-3-галата (ЕГЦГ), катехина зеленог чаја који, поспешује ефикасност дигестије пепсином и утиче на механизме алергијског одговора. Обзиром на присуство флуорофоре *Trp* у секвенци *Ara h 2* примењена је метода гашења флуоресценције овог протеина ЕГЦГ-ом, ради проучавања интеракција између ова два молекула. Применом четири математичка модела (Стерн-Волмеров, Лереров, Лангмјуеров и логаритамски) је утврђено да ЕГЦГ гаси флуоресценцију *Ara h 2* уз формирање комплекса, константу афинитета реда величине  $10^4 \text{ M}^{-1}$  и да *Ara h 2* садржи једно ЕГЦГ везивно место. Обзиром на висок проценат сличности аминокиселинске секвенце и тродимензионалне структуре *Ara h 2* и *Ara h 6* добијен преклапањем (59% и 75% редом) вероватно се ЕГЦГ на сличан начин везује и за *Ara h 6*, који не садржи *Trp*, те испитивање овог типа није било могуће. Изотермална титрацијска микрокалориметријска испитивања су показала да је

везивање ЕГЦГ за *Ara h 2* и *Ara h 6* енергетски повољно, односно праћено егзотермном променом енталпије. Испитивање утицаја везивања ЕГЦГ за оба алергена спектроскопијом циркуларног дихроизма је показало да у оба случаја долази до смањења удела  $\alpha$ -хеликса у корист  $\beta$ -плочица у присуству ЕГЦГ-а. У случају оба протеина формирање комплекса са ЕГЦГ-ом резултује смањењем уређености и то на дозно-завистан начин.

Закључно, резултати испитивања посттранслационих и хемијских модификација алергена хране, као и њихових интеракција са молекулима матрикса хране доприносе продубљивању сазнања о њиховом утицају на функционалне карактеристике протеина које могу покренути алергијску реакцију. Стечена сазнања ће допринети развоју стратегија за превенцију и лечење овог здравственог проблема.

## **В. Упоредна анализа резултата кандидаткиње са резултатима из литературе**

Алергија на црвено месо (говедину, свињетину, јагњетину) је новооткривени тип алергије, код које се симптоми јављају након 3 – 6 сати од уноса поменуте хране [1]. Механизам овог типа алергије није потпуно разјашњен, али се сматра да је посредован специфичним *IgE* антителима која препознају посттранслациону модификацију у виду олигосахаридне компоненте галактозил- $\alpha$ -1,3-галактозе која се налази на самом крају гликана, на гликопротеинима и гликолипидима свих сисара осим примата [2, 3]. До сада није било познато да ли  $\alpha$ -Гал модификација остаје везана након гастричне или гастроинтестиналне дигестије за фрагменте протеина који их садрже. Код протеина који се изучавају као модели за алергију на црвено месо [1] није била позната позиција  $\alpha$ -Гал, нити да ли ова модификација остаје везана за протеин након дигестије. У овој дисертацији је показано да пептиди модел протеина - тироглобулина читавим током симулиране желудачне дигестије на себи носе  $\alpha$ -Гал модификацију. Резултати су показали да када се ензимским путем уклони шећерна компонента тироглобулина, он не подлеже пепсинолизи, услед нерастворљивости у киселим условима. Утврђена је аминокиселинска секвенца имунореактивних пептида тироглобулина насталих након једног сата симулиране желудачне дигестије и претпостављена су три места везивања  $\alpha$ -Гал садржавајућих *N*-гликана. Ови резултати су значајни због тога што дају увид у структуру епитопа, његов

значај за функционалне особине протеина и могу наћи примену у дијагностици алергије на храну и дизајну хипоалергених прехранбених производа.

Печени кикирики има јачи алергени потенцијал од прженог или куваног, што се са једне стране објашњава разликом у растворљивости, односно повећаној екстрактабилности протеина [4]. Са друге стране, зна се да протеини печеног кикирикија на себи носе модификације попут крајњих производа гликације (карбокси-метил-лизин, карбокси-етил-лизин, пиралин и пентозидин) [5], и да долази до олигомеризације протеина током термалног третмана [4]. До сада је окарактерисано преко 200 посттранслационих и хемијских модификација протеина, али не постоји студија свеобухватног, квантитативног, профилисања модификација присутних на алергенима пореклом из сировог или печеног кикирикија. У овом делу дисертације су детаљно окарактерисани профили модификација четири главна алергена кикирикија *Ara h 1*, *Ara h 2*, *Ara h 3* и *Ara h 6* [6] пореклом из екстракта сировог и печеног кикирикија. За сваки од наведених алергена је спроведена упоредна студија између сировог и печеног кикирикија о врсти модификација које носи, деловима секвенце који су модификовани, и модификацијама у оквиру секвенци познатих линеарних *IgE* реактивних епитопа. Поред квалитативне, спроведена је и релативна квантитативна студија којим се пореди затупљеност модификација присутних у оба екстракта. Резултати приказани овде дају увид у ефекте процеса обраде хране на алергене и детаљнију карактеризацију епитопских секвенци. Ови резултати могу допринети разумевању утицаја термичке обраде хране на особине алергена од којих зависи њихова *IgE* реактивност.

2S албумини кикирикија – *Ara h 2* и *Ara h 6* су веома интересантни са аспекта алергеног потенцијала због тога што су заступљени у знатно нижим количинама у кикирикију (у односу на *Ara h 1* и *Ara h 3*), али су изразито резистентни на деловање дигестивних ензима и њиховим уклањањем из екстракта долази до смањења имунореактивности [7]. Полифенолна једињења, између осталих, показују и хипоалергена својства. Формирањем полифенол-протеин интеракција долази до смањења *IgE* везивања за протеине екстракта кикирикија по додатку полифенола пореклом из чаја и сока од бруснице [8]. Епигалокатехин-3-галат је полифенол зеленог чаја који, показало се спешује ефикасност дигестије пепсином [9] и утиче на механизме алергијског одговора [10]. До сада није

испитана могућност интеракција између ЕГЦГ-а и 2S албумина кикирикија. У овој дисертацији је показано да ЕГЦГ формира комплекс са *Ara h 2*, и да је успостављање интеракција са оба 2S албумина енергетски повољан процес. Показано је да додатак ЕГЦГ на дозно зависан начин доводи до измена у секундарним структурама 2S албумина. Својим везивањем ЕГЦГ изазива конформационе промене у *Ara h 2* и *Ara h 6* и могао би имати утицај на способност везивања *IgE* за ове алергене, с обзиром на то да ови алергени поред линеарних садрже и конформационе епитопе. Резултати добијени овде могу наћи примену у прехранбеној индустрији, у дизајну хипоалергених производа који у свом саставу садрже кикирики.

### *Литература*

1. Commins, S.P., et al., *Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- $\beta$ -1,3-galactose*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2009. **123**(2): p. 426-433.e2.
2. Steinke, J.W., T.A. Platts-Mills, and S.P. Commins, *The alpha-gal story: lessons learned from connecting the dots*. J Allergy Clin Immunol, 2015. **135**(3): p. 589-96; quiz 597.
3. Commins, S.P. and T.A.E. Platts-Mills, *Delayed Anaphylaxis to Red Meat in Patients with IgE Specific for Galactose alpha-1,3-Galactose (alpha-gal)*. Current allergy and asthma reports, 2013. **13**(1): p. 72-77.
4. Maleki, S.J., et al., *The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins*. J Allergy Clin Immunol, 2000. **106**(4): p. 763-8.
5. Poulsen, M.W., et al., *Advanced glycation endproducts in food and their effects on health*. Food Chem Toxicol, 2013. **60**: p. 10-37.
6. Zhuang, Y. and S.C. Dreskin, *Redefining the major peanut allergens*. Immunologic Research, 2013. **55**(1): p. 125-134.
7. van der Zee, T., et al., *The eliciting dose of peanut in double-blind, placebo-controlled food challenges decreases with increasing age and specific IgE level in children and young adults*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2011. **128**(5): p. 1031-1036.
8. Plundrich, N.J., et al., *Novel strategy to create hypoallergenic peanut protein-polyphenol edible matrices for oral immunotherapy*. J Agric Food Chem, 2014. **62**(29): p. 7010-21.
9. Tantoush, Z., et al., *Green tea catechins of food supplements facilitate pepsin digestion of major food allergens, but hampers their digestion if oxidized by phenol oxidase*. Journal of Functional Foods, 2012. **4**(3): p. 650-660.
10. Ognjenovic, J., et al., *Interactions of epigallo-catechin 3-gallate and ovalbumin, the major allergen of egg white*. Food Chem, 2014. **164**: p. 36-43.



## Г. Објављени радови и саопштења који чине део дисертације

### 1. Рад у међународном часопису изузетних вредности (M21a):

1. **Jelena Vesic**, Ivan Stambolic, Danijela Apostolovic, Milos Milcic, Dragana Stanic-Vucinic, Tanja Cirkovic Velickovic, Complexes of green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate, and 2S albumins of peanut, Food Chemistry, Elsevier, 185, pp. 309 - 317, 0308-8146, 10,1016/j.foodchem.2015.04.001, 2015. IF<sub>2015</sub> = 4,052, Chemistry, Applied, 7/72. Доступно на URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615005282?via%3Dihub>

### 2. Рад у врхунском међународном часопису (M21):

1. Danijela Apostolović, Maja Krstić, **Jelena Mihailović**, Maria Starkhammar, Tanja Ćirković Veličković, Carl Hamsten, Marianne van Hage. Peptidomics of an in vitro digested  $\alpha$ -Gal carrying protein revealed IgE-reactive peptides, Scientific Reports, Springer Nature, 7, 5201, pp. 1 - 10, 2045-2322, 10,1038/s41598-017-05355-4, 2017. IF<sub>2015</sub> = 5,228, Multidisciplinary Sciences, 7/62. Доступно на URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-05355-4>

### 3. Рад у припреми:

1. **Jelena Mihailovic**, Katarina Smiljanic, Danijela Apostolovic, Teodora Djukic, Ivana Prodic, Tanja Cirkovic Velickovic. Comparative quantitative imunoproteomic study of raw and roasted peanut major allergen modifications, у форми рукописа пред слање

### 4. Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34):

1. **J. Mihailović**, L. Mihajlović, D. Stanić-Vučinić, T. Ćirković-Veličković, Semi-preparative purification and quantification of epigallocatechin-3-gallate from teas, coffee and cocoa, 2nd FCUB ERA Workshop: Food Chemistry and Biotechnology, Beograd, Srbija, Oct. 2011, pp. 46 – 46.
2. **J. Mihailović**, I. Stambolić, D. Apostolović, M. Milčić, Tanja Ćirković-Veličković, Determination and modelling of interactions between EGCG and globular food allergens, First

International Conference on Food Digestion, COST Action FA1005 INFOGEST, Cesena, Italija, Mar. 2012, pp. 116 – 116.

3. **J. Mihailović**, D. Apostolović, I. Prodić, T. Ćirković Veličković, Covalent interactions between epigallocatechin-3-gallate and major globular food allergens, Belgrade Food International Conference - Food, health and well being, Beograd, Srbija, Nov. 2012, pp. 94 – 94.
4. **J. Mihailović**, D. Apostolović, M. Milčić, T. Ćirković Veličković, The effect of epigallocatechin-3-gallate on major peanut allergens' structure, FEBS EMBO 2014 Conference, Paris, France, Sep. 2014, pp. 173 – 173.
5. D. Apostolović, **J. Mihailović**, M. Krstić, M. Starkhammar, T. Ćirković Veličković, C. Hamsten, M. van Hage, Peptidomics of  $\alpha$ -Gal carrying protein – stability and allergenic properties., Food Allergy and Anaphylaxis Meeting (FAAM), Rome, Italy, Oct. 2016.
6. S. Liu, **J. Mihailovic**, K. Smiljanic, M. Epstein, T. Cirkovic Velickovic, Characterisation of peanut allergens and possible post-translational modifications (PTMs), 4th ImpARAS conference Portici, Italy, Jun. 2018, F03, pp 57.

**5. Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M64):**

1. **J. Mihailović**, D. Stanić-Vučinić, T. Ćirković-Veličković, Semi-preparative separation and purification of catechins from green tea extract and and comparison with black tea and cacao extracts, 2nd CEFSEER Workshop, Novi Sad, Serbia, Sep. 2011, pp. 22 – 22.
2. **J. Mihailovic**, D. Apostolovic, K. Smiljanic, T. Cirkovic Velickovic, Posttranslacione modifikacije (PTM) epitopa glavnih alergena kikirikija nastale kao rezultat prečišćavanja, 55. savetovanje Srpskog hemijskog društva, Novi Sad, Srbija, Jun. 2018, BH P01, pp66.
3. **J. Mihailovic**, D. Apostolovic, K. Smiljanic, T. Cirkovic Velickovic, Detection of major peanut allergen epitope post-translational modifications by mass spectrometry. UniFood Conference, October, 5-6, 2018, Belgrade, Serbia, HZP13 / FHP13

**6. Остала саопштења штампана у изводу (Категоризација скупова је у току):**

1. **J. Mihailovic**, I. Prodic, K. Smiljanic, T. Cirkovic Velickovic, Investigation of raw and thermally treated peanut major allergen post-translational modifications (PTMs), 1st

FoodEnTwin Workshop “Food and Environmental -Omics”, June 20 - 21, 2019, Belgrade, Serbia, pp. 10, P3 (*Категоризација скупа за категорију М34 је у току*)

2. **J. Mihailovic**, I. Prodic, K. Smiljanic, T. Cirkovic Velickovic, Comparative study of raw and thermally treated peanut major allergen post-translational modifications (PTMs), V SePA Symposium: Proteomics in the analysis of food, environmental protection and medicinal research, May 31, 2019, Novi Sad, Serbia, L10 (*Категоризација скупа за категорију М64 је у току*)

#### **Д. Провера оригиналности докторске дисертације**

Докторанд Јелена Михаиловић, завршава и брани докторску дисертацију из Биохемије на основу Правилника о докторским академским студијама Универзитета у Београду - Хемијског факултета бр 1557/1 од 12. децембра 2013 године, који не захтева проверу плагијата. Међутим, због добре истраживачке праксе и моралног кодекса, уважен је и Правилник о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду бр. 204/18). Из извештаја генерисаног програмом „iThenticate” којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Протеомика посттранслационих и хемијских модификација протеина и интеракције протеина од значаја у алергији на храну”, аутора Јелене Михаиловић, констатујемо да утврђено подударње текста износи 5 %. Овај степен подударности последица је општих места, личних имена/звања, назива институција/департамана, пуних назива и скраћеница реагенаса/китова, назива и описа коришћених метода, назива протеина, назива појмова на енглеском језику, цитата, као и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Стога сматрамо да је утврђено да је докторска дисертација Јелене Михаиловић у потпуности оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања.

#### **Ђ. Закључак**

Комисија је прегледала докторску дисертацију кандидаткиње Јелене Михаиловић под насловом „Протеомика посттранслационих и хемијских модификација протеина и интеракције протеина од значаја у алергији на храну” и закључила да је дисертација производ самосталног рада кандидаткиње, да су добијени резултати оригинални и да

представљају квалитетан научни допринос у области биохемије, односно у области молекуларних наука о храни. Научно-истраживачки рад кандидаткиње је публикован у оквиру једног научног рада у међународном часопису изузетних вредности (M21a), једног научног рада у врхунском међународном часопису (M21) и једног научног рада у форми рукописа пред слање који су директно проистекли из докторске дисертације. Такође, резултати истраживања проистекли из ове дисертације су представљени у виду шест саопштења на скуповима међународног значаја штампаног у изводу (M34) и три саопштења на скуповима националног значаја штампана у изводу (M64).

У овој дисертацији је по први пут испитана судбина посттранслационе модификације и уједно епитопа  $\alpha$ -Гал у новој форми алергија на храну, алергије на црвено месо, током симултане желудачне дигестије и претпостављена њена позиција на модел протеину. Показано је да ова модификација целим током пепсинолизе остаје везана за резултујуће имунореактивне пептиде. Опсежно су окарактерисани профили посттранслационих и хемијских модификација главних алергена пореклом из сировог и печеног кикирикија. Показано је да постоје квалитативне и квантитативне разлике у модификацијама главних алергена из два екстракта које могу утицати на њихове функционалне особине, а тиме и алергени потенцијал. Ови резултати докторске дисертације отворили су нова поља истраживања, везана за утицај и зависност структурних модификација алергена и њихових функционалних особина. Испитана је могућност везивања имуномодулаторног катехина зеленог чаја за 2S албумине кикирикија. Показано је да се ЕГЦГ везује за оба алергена и да утиче на њихову конформацију, што може модулисати њихова алергени потенцијал. Резултати ове тезе, осим фундаменталног значаја у разумевању ефеката значаја модификација алергена хране и њихових интеракција са имуномодулаторним полифенолима на структуру и функцију протеина, могу имати и директну примену у дијагностици алергија на храну и прехранбеној индустрији, за добијање производа са смањеним алергеним потенцијалом.

На основу свега изложеног, а у складу са Законом о Универзитету и Статутом Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени услови за одбрану докторске дисертације и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета да поднету докторску дисертацију Јелене Михаиловић, мастер биохемичара, под

насловом „Протеомика посттранслационих и хемијских модификација протеина и интеракције протеина од значаја у алергији на храну” прихвати и одобри њену јавну одбрану за стицање академског звања Доктора биохемијских наука.

У Београду, \_\_\_\_\_

---

др Тања Ћирковић Величковић, дописни члан САНУ,  
Редовни професор, Универзитет у Београду – Хемијски факултет (ментор)

---

др Владимир Бешкоски  
Ванредни професор, Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

др Катарина Смиљанић  
Виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

др Јелена Радосављевић  
Доцент, Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

др Данијела Апостоловић,  
Постдокторски истраживач - Postdoctoral researcher,  
Department of Medicine Solna, Karolinska Institutet, Stockholm, S weden