

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На IX редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 14.07.2023. године, на основу молбе ментора, Гордане Тимотијевић, вишег научног сарадника, Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Иване П. Николић, истраживача сарадника, Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду, под насловом: „**Функционална карактеризација гена *DSS1(I)* и *DSS1(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес**“, у саставу: др Анета Сабовљевић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, др Јелена Самарџић, виши научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду и др Мира Милисављевић, виши научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата/кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Иване П. Николић** под називом “Функционална карактеризација гена *DSS1(I)* и *DSS1(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес“, написана је на 115 страна и садржи 54 слике и 31 табелу. Основне целине ове дисертације су Увод (13 страна), Циљеви (1 страна), Материјал и методе (31 страна), Резултати (46 страна), Дискусија (12 страна), Закључци (2 стране), Литература (10 страна; 174 референце). Дисертација садржи и сажетке на српском и енглеском језику.

Анализа докторске дисертације

Експериментални део рада у оквиру докторске дисертације урађен је у Лабораторији за молекуларну биологију биљака Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду. Предмет ове докторске дисертације је био испитивање улоге малог природно неуређеног протеина *DSS1* у одговору биљака на оксидативни стрес. Резултати истраживања које је кандидаткиња Ивана Николић приказала у овој дисертацији пружају нова сазнања о различитом доприносу два високо хомологна гена *DSS1 A.thaliana* у одржавању протеинске хомеостазе у условима оксидативног стреса. Такође, расветљавање учешћа ова два протеина у биљним механизмима одбране од стреса пружају значајан допринос за пољопривреду имајући у виду штетне последице климатских промена и оксидативног стреса који је заједнички садржалац свих абиотичких стресова.

У поглављу **Увод** на систематичан начин су представљена досадашња сазнања о механизмима деловања оксидативног стреса и молекуларним основама одбране биљака од овог типа стреса. Посебна пажња је посвећена детаљном приказу карактеристика природно неуређеног протеина *DSS1*, његових познатих улога у другим организмима, као и његовим интеракцијама са различитим протеинским партнерима са којима формира протеинске комплексе. У Уводу су такође врло студиозно презентована досадашња научна достигнућа и напредак у пољу биљне мутагенезе која представља незаменљив алат за испитивања биолошких функција биљних гена. Финално је описана биљка *Arabidopsis thaliana*, детаљно су приказане њене главне карактеристике, животни циклус као и биолошке и лабораторијске предности које је чине добрим експерименталним модел системом за истраживање приказано у раду.

Циљеви рада су засновани на пажљиво проученој литератури, као и прелиминарним резултатима добијеним приликом израде мастер рада студенткиње Иване Николић и јасно су формулисани у оквиру пет тачака:

1. генотипизација и фенотипска карактеризација комерцијално доступних Т-ДНК инсерционих мутаната *dss1* за оба хомологна гена, као и анализа њихове осетљивости на оксидативни стрес;
2. успостављање линија мутаната *dss1*, применом прецизне и ефикасне CRISPR/Cas9 технологије, због постојања могућности да расположиви Т-ДНК инсерциони мутанти немају жељену смањену или укинуту експресију гена од интереса;
3. анализа *knockout* и/или *knockdown* појединачних и дуплих мутаната *dss1* у погледу њихове сензитивности на оксидативни стрес, као и додатно поређење њихових карактеристика са биљкама у којима су оверекспримирани гени *DSS1*;
4. испитивање нивоа оксидованих протеина у биљкама дивљег типа (WT) и линијама мутаната са измењеном експресијом гена *DSS1*;
5. анализа преживљавања $\Delta dss1$ мутанта *Ustilago maydis*, комплементираног појединачним биљним генима *DSS1* под дејством генотоксичних агенса.

Поглавље **Материјал и методе** је написано прегледно са свим детаљима неопходним за репродуковање великог броја експерименталних процедура и омогућава читаоцу да и сам изведе експерименте приказане у овој дисертацији. Детаљно је приказана употреба различитих биоинформатичких алата, након чега следе детаљи о коришћеном биљном материјалу и процедурама за различито гајење *Arabidopsis thaliana* како у нормалним, тако и у условима стреса, затим су приказани и детаљи о методама рада са различитим бактеријским сојевима и патогеном гљивом кукуруза *Ustilago maydis* као модел системом. У овом поглављу су приказани принципи рада са ДНК, РНК и протеинима, затим прецизни поступци за генерисање мутираних биљака применом CRISPR/Cas9 технологије, методе за трансформацију биљака и идентификовање мутираних линија. У овом поглављу налази се и опис процедура рада са експресионим системима, *U. maydis* и *E. coli*, као и поступци засновани на Gateway технологији који су примењивани за генерисање трансгених линија које прекомерно експримирају *DSS1* протеине. Коначно, приказани су адекватни статистички тестови који су коришћени за обраду резултата у оквиру програма *GrafPadPrism8.0*.

У делу **Резултати**, кандидаткиња је јасно и прегледно приказала резултате својих истраживања у оквиру 8 поглавља. Свако од поглавља је целина у којој је прецизно уведен предмет истраживања, у којој су описани поступци који су коришћени, резултати који су добијени и конкретни закључци о добијеним резултатима. Ова поглавља су јасно логички повезана и читаоцу је лако да прати ток истраживања. Такође, поглавља у потпуности одговарају постављеним циљевима, и из њих се изводе закључци дисертације.

У првом поглављу описана је филогенетска анализа протеина *DSS1* у биљном свету, као и компаративна *in silico* анализа протеина *DSS1(I)* и *DSS1(V)* и предикција њихових специфичних интеракција са другим протеинима. Следећи део посвећен је анализи експресије гена *DSS1* у *A. thaliana* током развића, и експресији гена и протеина у нормалним физиолошким условима, као и у условима оксидативног стреса изазваног водоник-пероксидом или метил-виологеном. Потом је уследило поглавље у коме су приказани резултати теста функционалне комплементације $\Delta dss1$

мутанта *U. maydis* хетерологом експресијом сваке од две варијанте *DSS1* гена пореклом из генома *A. thaliana*. Уследила је анализа Т-ДНК инсерционих *dss1* мутаната биљке *A. thaliana*, која је подразумевала генотипизацију *t-dss1(V)* мутираних линија, анализу профила експресије транскрипата и протеина за ген *DSS1(V)*, фенотипску карактеризацију мутаната, као и анализу њихове осетљивости на оксидативни стрес. Седмо поглавље посвећено је генерисању, скринингу и фенотипској карактеризацији CRISPR/Cas9 мутаната за хомологне гене *DSS1*. У овом поглављу су представљени и резултати анализе осетљивости одабраних линија са разореним генима *DSS1(I)* или *DSS1(V)* на оксидативни стрес изазван пероксидом и ултраљубичастим зрачењем, а који су се односили на детектовање нивоа липидне пероксидације, оксидованих протеина, као и других параметара релевантних за конкретне стресове. У овом поглављу представљени су и резултати анализе транскриптома клијанаца мутираних линија који су излагани водоник-пероксиду. У последњем поглављу приказан је поступак конструисања линија *A. thaliana* у којима се прекомерно експримирају протеини *DSS1(I)*, односно *DSS1(V)* и приказани су резултати њихове фенотипске карактеризације, као и анализа осетљивости ових биљака на оксидативни стрес индукован водоник-пероксидом.

У поглављу **Дискусија** добијени резултати су критички сагледани и дискутовани у светлу досадашњих научних сазнања. Очигледно је да је кандидаткиња детаљно упозната са релевантном литературом и да је своје резултате логично и одмерено интерпретирала. На почетку овог поглавља се истиче важност идентификација нових фактора укључених у одбрамбене механизме биљака којима се одржава ћелијска хомеостаза и који доприносе превазилажењу негативних утицаја спољашње средине. На основу литературних података, али и раније добијених прелиминарних резултата у овом поглављу се хипотетише да би *DSS1* протеин могао доприносити регулацији ћелијске протеостазе, а самим тим и одбрани од оксидативног стреса. Затим се дискутује о присуству генских паралога, насталих услед еволуционих притисака у биљном свету, као и о могућности да генски паралоги еволуирају под смањеним селективним притиском, што резултује појавом нових функција гена које доприносе адаптацији. Анализирајући резултате *in silico* анализе, кандидаткиња претпоставља функционалну комплементарност два *DSS1* протеина *A. thaliana* у већини функција и указује и на постојање малих, али значајних разлика у примарној структури ова два протеина које могу доприносити појави нове, јединствене функције једне од две изоформе протеина. У делу дискусије који се односи на експресиону анализу кандидаткиња износи и повезује литературне податке којима објашњава занимљив резултат појаве изузетно високе експресије *DSS1* гена у имбибованом семену непосредно пре почетка клијања, и то кроз учешће *DSS1* протеина у изградњи протеазома чиме овај протеин може доприносити селективној и интезивној деградацији протеина што је неопходно за сам процес клијања. У каснијем делу дискусије кандидаткиња објашњава резултате експресионе анализе *DSS1* гена у условима оксидативног стреса, указујући посебно на већу респонзивност *DSS1(V)* гена као и на разлике уочене у профилима експресије које настају под дејством различитих стресора, што поткрепљује детаљним приказом разлика у механизмима којима водоник-пероксид и метил-виологен делују на ћелију. У наредном поглављу детаљно је продискутован тест функционалне комплементације у којим је показано да *DSS1(I)* протеин *A. thaliana* реконституише WT фенотип *dss1* мутанта *U. maydis* осетљивог на генотоксичне агенсе и указано је на различите улоге ова две варијанте протеина у рекомбинационој поправци ДНК лезија. Следећи део дискусије био је посвећен анализи *dss1* Т-ДНК инсерционих мутаната где су детаљно образложене разлике уочене у динамици развића између *dss1(V)* мутираних линија и биљака дивљег соја, а посебно је дискутована улога РОС молекула као сигнала за покретање процеса клијања оксидовањем протеина, чијим нагомилавањем у мутираним биљкама може бити иницирана ранија индукција клијања семена. У овом делу разматрани су и недостаци функционалне анализе интронских инсерционих мутаната, као што је *dss1(V)* мутант, коришћен у овом раду. Наводи се да ови мутанти не само да имају делимично искључену експресију гена од интереса, већ вероватно и нарушену регулацију експресије других гена услед дисрупције интрона у којима могу лежати

секвенце које кодирају мале регулаторне микроПНК. Након овога уследио је део у коме су разматране предности CRISPR/Cas9 технологије која се примењује за прецизно едитовање гена, као и потешкоће у генерисању и потрази за оваквим мутантима у случају *DSS1* гена. У овом делу дискусије такође су разматране фенотипске карактеристике *dss1* мутаната током развића, у нормалним физиолошким, али и условима оксидативног стреса, при чему су јасно наглашене и тумачене разлике међу фенотиповима Т-ДНК и CRISPR/Cas9 *dss1(V)* мутаната. Уследила је анализа транскриптома клијанаца *dss1(I)* и *dss1(V)* мутираних линија излаганих оксидативном стресу, као и њихово поређење са WT линијама. Детаљно су тумачени могући разлози диференцијалне експресије гена укључених у различите метаболичке путеве или друге виталне ћелијске процесе који се уочавају између две мутиранане линије, али и између појединачних мутираних линија и биљака дивљег соја. Последњи део дискусије посвећен је тумачењу резултата фенотипске карактеризације линија које прекомерно експримирају *DSS1(V)* протеин, као и представљању низа претпоставки о могућим улогама *DSS1* протеина у ћелији.

У секцији **Закључци**, у складу са постављеним циљевима, јасно су резимирани резултати:

1. Биоинформатичка предикција филогенетског стабла еволутивно сродних биљних протеина *DSS1* упућује на то да је резултат дупликације биљног гена *DSS1* током еволуције настанак новог *DSS1(V)* гена.
2. *In silico* анализом поређења секвенци протеина *DSS1* је забележен висок ниво хомологије у аминокиселинској секвенци између *DSS1(I)* и *DSS1(V)*. Идентификована је супституција из поларног глутаминског остатка на неполярни леуцин на позицији 44 у протеину *DSS1(V)*, која указује на потенцијално различиту просторну организацију протеина.
3. Квантитативном ПЦР анализом показано је да су највеће промене у релативној експресији гена *DSS1* детектоване у кореновима одраслих биљака дивљег соја које су третиране 10 mM H₂O₂ након једног дана од почетка излагања стресору. Ген *DSS1(V)* показује већу респонзивност на услове примењеног стреса у односу на ген *DSS1(I)*, јер је пет пута више транскрипта *DSS1(V)* детектовано у односу на контролне биљке, док је експресија *DSS1(I)* само три пута повишена у третману 10 mM H₂O₂.
4. Имуноблот анализом је показано да је профил експресије укупних *DSS1* протеина синхронизован са анализираним профилима експресије *DSS1* гена и да је најдраматичнији пораст од 20 пута детектован у корену биљака изложених 10 mM H₂O₂.
5. Оксидативни стрес изазван 200 μM метил-виологеном изазива делимично измењени профил експресије *DSS1(I)* и *DCC1(V)* гена у односу на стрес изазван H₂O₂, и то пре свега у листовима третираних биљака дивљег соја у односу на контролне биљке, што је последица различитих ефеката које ови стресори изазивају у биљним ћелијама.
6. Семиквантитативним приступом, кроз тест функционалне комплементације је показано да оверекспримирани *DSS1(I)* протеин *A. thaliana* реконструира WT фенотип *Δdss1* мутанта *U. maydis*, обезбеђујући му делимичну резистентност на сублеталне дозе примењених генотоксичних агенаса у доносу на сој *Δdss1*. Биљни *AtDSS1(V)* није показао могућност да комплементира недостатак *U. maydis* *Dss1*, сугеришући на то да ове две варијанте *DSS1* протеина *A. thaliana* могу имати различите улоге у рекомбинационој поправци ДНК лезија.
7. Чиста хомозиготна Т-ДНА инсерциона линија која је садржавала инсерцију у оквиру интрона гена *DSS1(V)* показала је 75% снижен ниво експресије гена *DSS1(V)*, као и 48% редукован ниво укупних *DSS1* протеина, што указује на то да је овим поступком генерисана *knockdown* мутирана линија *t-dss1(V)*.
8. Морфолошка карактеризација показује да *t-dss1(V)* имају плејотропни дефект у расту на различитим нивоима развића, имају брже клијање и раније издуживање радикула, а затим заостајање у расту у каснијим фазама. Ранија индукција клијања семена сугерише да у *t-dss1(V)* мутантима долази до акумулације оштећених протеина који могу бити сигнал за клијање.
9. Анализа осетљивости Т-ДНК инсерционих мутаната *t-dss1(V)* је показала повишен ниво оксидованих протеина и липидне пероксидације, као и значајно смањену стопу преживљавања у

оксидативном стресу изазваним водоник-пероксидом и метил-виологеном. Највећи ниво оксидованих протеина је детектован при третману 10 mM H₂O₂ и био је пет пута већи у *t-dss1(V)* у поређењу са контролним биљкама указујући на то да је DSS1(V) један од значајних учесника у ћелијској детоксификацији и процесима одржавања протеостазе.

10. CRISPR/Cas9 технологијом су генерисане мутирана линија са делецијом од 25 нуклеотида у секвенци DSS1(I) и инсерцијом од 18 нуклеотида у секвенци DSS1(V). ПЦП методом је потврђено одсуство специфичних DSS1 транскрипата у добијеним CRISPR/Cas9 линијама мутаната, а анализом изведених аминокиселинских секвенци је показано да индуковане мутације у одабраним линијама резултују формирањем преурањених стоп кодона.

11. Зреле *dss1(I)* мутиране биљке су биле ситнијег раста, мањих розета, са мањим бројем грана и продуковаале су силеке са малим бројем развијених семена у поређењу са WT биљкама. Појава абортивних семена, указује на нарушене функције BRCA2 комплекса и 26S протеазома услед изостанка протеина DSS1(I) што доводи до леталног исхода.

12. Фенотипска анализа мутираних *dss1(V)* биљака показује да су у почетним фазама њиховог развића котиледони затворени и са израженом апикалном куком, док је у каснијим фазама динамика њиховог развића бржа у односу на WT биљке. Овакав фенотип се може објаснити хиперсензитивним одговором на етилен услед нарушене функције протеина EEP5 као негативног регулатора одговора на етилен услед изостанка DSS1(V).

13. Испитивањем оксидативног стреса у клијанцима CRISPR/Cas9 мутаната при третману пероксидом и УВ-зрачењем уочена је висока сензитивност *dss1(V)* клијанца на оксидативни стрес у поређењу са *dss1(I)* и WT биљкама. При третману водоник-пероксидом, детектована је 61% смањена стопа преживљавања и 60% веће присуство оксидованих протеина у *dss1(V)* биљкама у компарацији са WT биљкама, што додатно потврђује улогу протеина DSS1(V) у механизму одговора на оксидативни стрес.

14. Методом традиционалног укрштања је извршено реципрочно укрштање мушких и женских гаметофита између линија мутаната *dss1(I)* и *dss1(V)* у циљу генерисања дуплих мутаната *dss1(I)dss1(V)*. Тестирањем укупно 152 биљке није детектовано присуство *dss1(I)dss1(V)* генотипа тј. дуплих *dss1* мутаната, што сугерише да мутације оба генска паралога DSS1 доводи до леталног исхода.

15. Резултати анализе морфолошких особина и осетљивости на оксидативни стрес линија *A. thaliana* у којима је оверекспримиран ген DSS1(V) нису показале видљиве и статистички значајне разлике између линије биљака OE DSS1(V) и WT биљака.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Ivana Nikolić I**, Sofija Nešić, Jelena Samardžić, Gordana Timotijević (2021) Intrinsically disordered protein AtDSS1(V) participates in plant defense response to oxidative stress. *Protoplasma* 258(4):779-792, **M21**, IF₂₀₁₉= 2.751, Plant sciences 60/234, <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01598-7>
2. **Ivana Nikolić**, Jelena Samardžić, Strahinja Stevanović, Jovanka Miljuš-Đukić, Mira Milisavljević, Gordana Timotijević (2023) CRISPR/Cas9-Targeted Disruption of Two Highly Homologous Arabidopsis thaliana DSS1 Genes with Roles in Development and the Oxidative Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences* 24(3):2442, **M21**, IF₂₀₂₁=6.628, Biochemistry and Molecular Biology 69/297, <https://doi.org/10.3390/ijms24032442>

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Ivana Nikolic**, Gordana Timotijevic, Jelena Samardzic, Mira Milisavljevic. Transcriptome analysis of Atdss1 mutants in response to oxidative stress, Abstract book of Plant Biology Europe 2023 and the 14th International Conference of the French Society of Plant Biology, 3.-6. July 2023, Marseille, France, pp. 172, **M34**
2. **Ivana P. Nikolić**, Jelena T. Samardžić, Gordana S. Timotijević. Efficient generation of CRISPR/Cas9-Mediated Knockouts of Two Highly Homologous Intrinsically Disordered Proteins AtDSS1(I) and DSS1(V) and their partial characterization, Book of Abstracts of 4th International Conference on Plant Biology and 23rd SPPS Meeting, ISBN: 978-86-912591-6-7 (SPPS), 6.-8. October 2022, Belgrade, Serbia, pp. 54, **M34**
3. **Ivana Nikolić**, Strahinja Stevanović, Ivan Radin, Gordana Timotijević. Overexpression of DSS1 protein in Arabidopsis thaliana, Book of Abstracts of 4th International Conference on Plant Biology and 23rd SPPS Meeting, ISBN: 978-86-912591-6-7 (SPPS), 6.-8. October 2022, Belgrade, Serbia, pp.70, **M34**
4. Gordana Timotijević, **Ivana Nikolić**, Sofija Nešić, Jelena Samardžić. CRISPR/Cas9 mutagenesis as a tool to gain insight into the roles of highly homologous plant DSS1 genes. 6th CONGRESS OF THE SERBIAN GENETIC SOCIETY, 13. - 17. Oct, 2019., Vrnjačka Banja, Serbia, isbn: 978-86-87109-15-5 pp. 269 – 269, **M34**
5. **Ivana Nikolić**, Sofija Nešić, Jelena Samardžić, Gordana Timotijević. Arabidopsis DSS1(V) protein as potential participant in response to oxidative stress. 6th CONGRESS OF THE SERBIAN GENETIC SOCIETY, 13. - 17. Oct, 2019., Vrnjačka Banja, Serbia, isbn: 978-86-87109-15-5, pp. 277 – 277, **M34**
6. **Ivana Nikolić**, Sofija Nešić, Jelena Samardžić, Gordana Timotijević. Generation of stabile Arabidopsis dss1 mutants using CRISPR-Cas9 technology. 1st Congress of Geneticists in Bosnia and Herzegovina with International Participation, Genetics & Applications, 2. - 4. Oct, 2019., Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, issn: 2566-2937 pp. 94 – 94, **M34**
7. **Nikolic Ivana P**, Bosnic Dragana, Nikolic Dragana B, Samardzic Jelena T, Timotijevic Gordana S. Analysis of Arabidopsis Intrinsically Disordered DSS1(V) Protein Mutants exposed to oxidative stress. In Serbian Biochemical Society Eight Conference-Coordination in Biochemistry and Life, 16. Nov, 2018., Novi Sad, Serbia, Proceedings, pp. 163 – 164, **M34**
8. **Nikolic Ivana P**, Bosnic Dragana, Nikolic Dragana B, Samardzic Jelena T, Timotijevic Gordana S. Potential role of plant DSS1(V) gene in defense against oxidative stress. Irland, Dablin 19.-24. Aug, 2018. Meeting Abstract u IN VITRO CELL DEV-PL. (ISSN: 1054-5476); 54 (1), S14-S14, **M34**
9. **Nikolić I**, Bosnić D, Nikolić D, Samardžić J, Maksimović V, Timotijević G. expression analysis of a the gene encoding DSS1 protein in arabidopsis under oxidative stress. First Congress of Molecular Biologists of Serbia with international participation, 20-22 Sep, 2017., Belgrade, Serbia, Abstract book 2017, p.631, **M34**

B3. Kongresna saopšteња na skupovima domaћeg znaĉaja

1. **Ivana Nikolić**, Jelena Samardžić, Gordana Timotijević. Gen DSS1(I) kao uĉesnik u odgovoru na oksidativni stress. DRUGI KONGRES BIOLOGA SRBIJE, Osnovna i primenjena istraŹivanja metodika nastave 25.-30.09.2018 Kladovo, Srbija, str. 270, **M64**

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Иване П. Николић М3009/2016, послата је дана 27.06.2023. на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио истог дана.

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације “Функционална карактеризација гена *DSSI(I)* и *DSSI(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес”, аутора Иване П. Николић, констатујем да утврђено подударане текста износи укупно 12%. Овај степен подударности последица је навођења личних имена ментора и комисије, афилијација комисије и аутора, библиографских података о коришћеној литератури, а пре свега општих ревијских радова и кандидаткињиних радова из којих је проистекла теза и који се често цитирају. Подударност такође проистиче из општих места и података као што су скраћенице или пуни називи молекула, гена, организама, затим из наслова у поглављу Материјал и методе који се односе на методолошке приступе често примењиване у групи у којој ауторка ради, као и уобичајених израза карактеристичних за тематику докторске дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Иване П. Николић, под насловом ” Функционална карактеризација гена *DSSI(I)* и *DSSI(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

На основу увида у докторску дисертацију **Иване П. Николић**, чији смо приказ дали у овом извештају, као и на основу библиографских података кандидата и непосредног увида у њен рад током експерименталног извођења тезе у Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду, имамо следеће мишљење о овој дисертацији и самом кандидату:

Докторска дисертација **Иване. П. Николић** под насловом „**Функционална карактеризација гена *DSSI(I)* и *DSSI(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес**“ урађена је у складу са принципима доброг научног рада, уз поштовање основних етичких и научних норми за извођење експеримената и представљање добијених резултата. Анализа докторске дисертације кандидата **Иване П. Николић** показује да је она у својој докторској тези успешно реализовала постављене циљеве истраживања кроз свеобухватан и одлично конципиран експериментални рад. Такође, докторска дисертација представља оригиналан научни рад у области молекуларне биологије биљака који истражује значај DSS1 протеина у одржавању протеинске хомеостазе у биљкама и пружа значајан допринос разумевању улоге овог протеина у одговору на оксидативни стрес, чиме се отварају нова поља истраживања. Самосталност у планирању и експерименталној реализацији истраживања, као и у тумачењу и критичком разматрању резултата које је кандидаткиња показала у раду, говоре о добром познавању научне области којој обрађена проблематика припада. Као резултат, истраживања приказана у овој дисертацији су публикована у два научна рада.

Комисија са задовољством констатује да је имала прилику да анализира вредан и оригиналан научни допринос докторске дисертације кандидата **Иване П. Николић** под називом „**Функционална карактеризација гена *DSSI(I)* и *DSSI(V)* у одговору *Arabidopsis thaliana* на оксидативни стрес**“ и предлаже Наставно-научном Већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај реферат и одобри јавну одбрану докторске дисертације **Иване. П. Николић** у складу са важећим прописима.

КОМИСИЈА:

У Београду, 17.07.2023. године

др Анета Сабовљевић, редовни професор
Биолошког факултета Универзитета у Београду

др Јелена Самарџић, виши научни сарадник
Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство
Универзитета у Београду

др Мира Миљисављевић, виши научни сарадник
Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство
Универзитета у Београду