

ВЕЋУ ЗА СТУДИЈЕ ПРИ УНИВЕРЗИТЕТУ У БЕОГРАДУ

Извештај о завршеној докторској дисертацији кандидата Јелене Гузине, мастер биолога

Одлуком Већа за студије при Универзитету у Београду, на седници одржаној 24. априла 2017. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, под називом: **"Биоинформатичка анализа транскрипционе иницијације код бактеријских ECF σ фактора"**, кандидата Јелене Гузине, мастер биолога.

На основу прегледа достављене дисертације, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Докторска дисертација кандидата Јелене Гузине, под називом **"Биоинформатичка анализа транскрипционе иницијације код бактеријских ECF σ фактора"**, написана је на 111 страна, које укључују 6 табела и 19 слика. Дисертација је подељена на 7 поглавља.

1. Увод

Уводно поглавље почиње излагањем модела регулације генске експресије, где централну улогу обављају σ фактори. Потом су дате главне структурне и функционалне карактеристике протеинских секвенци σ^{70} фактора, као и промоторских елемената са којима они интерагују, уз пратећу класификацију чланова фамилије на четири групе. Увод се затим фокусира на групу алтернативних ECF σ фактора, који су и главни предмет истраживања у тези, при чему се истиче бројност, разноврсност и физиолошки значај ове групе. Посебан акценат се ставља на неопходност утврђивања њиховог промоторског специфичитета, што представља и најкраћи пут ка функционалној карактеризацији нових ECF σ фактора. Истакнута је и чињеница да група ECF, сразмерно величини, има најмањи број изучених представника у фамилији σ^{70} , што намеће потребу за систематском анализом интеракција са промоторским секвенцама, које се остварују у овој групи σ фактора, што је и један од главних циљева докторске дисертације. Кандидаткиња додатно наводи да оваква систематска анализа може и да укаже на начин којим се структурне разлике у фамилији σ^{70} испољавају на функционалном нивоу, што уједно значи и преусмеравање фокуса са добро проучених примарних, на механизме транскрипционе иницијације важних, али слабо проучених, алтернативних σ фактора.

У наставку *Увода* изложена су тренутна сазнања о механизмима транскрипционе иницијације у σ^{70} фамилији, са посебним нагласком на особености овог процеса у групама примарних и алтернативних σ^{70} фактора и опсежним излагањем механизма иницирања транскрипције од стране примарних σ фактора, као једине детаљно проучене групе у σ^{70} фамилији. Истакнуто је да из биофизичке перспективе кинетика иницијационог процеса кључно зависи од енергија интеракције различитих промоторских елемената и σ фактора. Ова зависност је у природној вези са функционалном комплементацијом ових интеракција

у промоторима примарних σ фактора, познатој као "mix-and-match" механизам, за који драстичан пример представља компензација одсуства -35 елемента продуженим -10 елементом. Наведено је да се "mix-and-match" механизам сматра одсутним у групама алтернативних σ фактора, услед интуитивних претпоставки о повезаности степена плејотропије (промоторске варијабилности) σ фактора и опсега могуће функционалне комплементације елемената кроз "mix-and-match", што, међутим, није подржано ни за једну групу одговарајућом квантитативном анализом. Посебан осврт у овом контексту дат је на групу ECF, у којој тренутна сазнања о функционисању ове врло хетерогене и бројне групе, проистичу из информација о врло малом броју изучених представника.

Наводно одсуство механизма "mix-and-match" у групама алтернативних σ фактора кандидаткиња даље преиспитује у контексту чињенице да се у целокупној σ^{70} фамилији, без обзира на постојеће структурно-функционалне разлике, транскрипција иницира кроз исте биофизичке кораке, што сугерише постојање обједињујућег биофизичког механизма иницијације транскрипције. Кандидаткиња даље наводи да "mix-and-match" такође представља ефикасну платформу за компензовање дејства штетних мутација у промоторским елементима, које је кључно за одржавање транскрипционих веза у регулонима σ фактора (нарочито алтернативних, који регулишу бактеријски одговор на стрес). Будући да група ECF окупља σ^{70} факторе најразличитије у односу на примарне, њени чланови препознати су као подесан модел за изучавање присуства механизма "mix-and-match" у целокупној фамилији σ^{70} , при чему је као неоспоран значај овакве анализе истакнуто проширивање увида у механизме транскрипционе иницијације у најбројнијој групи алтернативних σ^{70} фактора. Кандидаткиња у наставку даје оквир за спровођење овакве анализе, где као важан предуслов наново истиче систематску (биоинформатичку) анализу промоторског специфичитета у групи ECF. У том оквиру кандидаткиња такође предлаже бактериофаге као погодне модел системе за почетак независне анализе промоторског специфичитета у групи ECF, будући да се код бактериофага контрола животног циклуса најчешће спроводи посредством сопствених σ фактора, који могу припадати ECF групи. Као значајно различити у односу на бактеријске чланове σ^{70} фамилије, наведено је да фагни σ фактори захтевају независну, *de novo* анализу специфичитета, која је додатно олакшана мањом дужином бактериофагних генома.

У наставку поглавља, детаљно су изложени основни концепти на којима се заснивају биоинформатичке методе за изучавање специфичитета транскрипционих (а међу њима и σ) фактора, са основном поделом на надгледану и ненадгледану претрагу регулаторних елемената у геномској секвенци. При овоме је такође указано на ограничења ових метода, као и на опсег у ком су дата ограничења битна за планиране истраживачке задатке. Детаљано је описана надгледана претрага помоћу матрица тежине, при чему је посебна пажња посвећена биофизичкој интерпретацији параметризације ових матрица. Посебно поглавље у уводу је посвећено ненадгледаној претрази регулаторних елемената, при чему кандидаткиња као два основна концепта истиче алгоритам *EM* и Гибсову претрагу, при чему даје предност Гибсовој претрази због веће ефикасности, т.ј. вероватноће конвергенције претраге ка близини глобалног максимума функције, која се користи као мера сличности мотива. У наставку следи детаљнији увид у рад алгоритма за предвиђање регулаторних ДНК елемената, који се заснива на Гибсовој претрази, на шта се надовезује навођење истраживачких задатака, у оквиру којих је примена методе планирана, с нарочитим освртом на проблематику предвиђања промоторског специфичитета за фагне σ факторе. На крају је описано глобално поравнавање већег броја

секвенци, које омогућава паралелну анализу функционалних целина различитих размера (од домена до кратких конзервираних мотива).

Након основног прегледа о биоинформатичким методама, које се најчешће користе за изучавање специфичитета σ фактора, кандидаткиња *Увод* закључује поглављем о кинетици транскрипционе иницијације, истичући да побољшање ефикасности дискутованих метода треба да нађе упориште у подробнијем биофизичком разумевању изучаваних процеса, што је испраћено излагањем биофизичког модела транскрипционе иницијације код бактерија. Кандидаткиња даље истиче да директна веза између матрица тежина и кинетичких параметара иницијационог процеса омогућава тестирање механизма "mix-and-match" у оквиру изложеног биофизичког модела, јер омогућава уочавање функционалне комплементације међу испитиваним промоторским елементима, као и уочавање кинетичког параметра ка ком је дата комплементација усмерена.

2. Хипотеза и циљеви

У поглављу *Хипотеза и циљеви* јасно је дефинисана хипотеза, која се надовезује на излагање у уводном делу дисертације (а нарочито на биофизички модел транскрипционе иницијације), која претпоставља да механизам "mix-and-match", доказан у групи примарних σ фактора, може да се прошири и на остале представнике σ^{70} фамилије. При томе је основна претпоставка да се различита структурно-функционална ограничења у фамилији одражавају на нивоу кинетичког профила иницијационог процеса. На основу постављене хипотезе, дефинисани су следећи циљеви истраживања:

- 1) Систематско биоинформатичко проучавање протеинских и ДНК мотива, путем којих ECF σ фактори интерагују са промоторима приликом иницирања транскрипције, у оквиру чега су дефинисани следећи циљеви:
 - a. изучавање промоторског специфичитета бактериофагних ECF σ фактора, које омогућава независно полазиште у анализи, чиме се повећава могућност уочавања нових регулаторних парадигми у групи ECF;
 - b. повезано са претходним, развој биоинформатичких метода за предвиђање фагних промотора, као ефикасну алтернативу стандардним методама за ненадгледано предвиђање регулаторних елемената, са чим је повезано и приближно предвиђање инфективне стратегије бактериофага директно из геномске секвенце;
 - c. систематска анализа интеракција различитих бактеријских ECF σ фактора са промоторским секвенцама, са посебним нагласком на случајеве који сведоче о допуњавању канонских и присуству "неканонских" интеракција са промотором, као могућим показатељима флексибилности у функционисању ECF σ фактора;
- 2) Утврђивање негативних корелација између енергија интеракције различитих промоторских елемената са σ фактором за добро проучене (канонске) ECF представнике, са доступним већим бројем (експериментално предвиђених) промоторских секвенци, у оквиру чега:
 - a. поређење корелационих константи за групе ECF и примарних (RpoD) σ фактора треба да пружи увид у испољавање различитих структурно-функционалних ограничења у σ^{70} фамилији на кинетички профил механизма "mix-and-match";
 - b. уочени опсег испољавања "mix-and-match" ефекта (квантификованог одговарајућим корелационим константама) у групама ECF и RpoD треба да се објасни са

становишта величине одговарајућих регулона, ради провере заснованости тренутне претпоставке о одсутву овог механизма код алтернативних σ фактора.

3. Методе

У овом поглављу кандидаткиња наводи све скупове анализираних секвенци и метода, који су коришћени при изради дисертације. При навођењу скупа анализираних секвенци ДНК кандидаткиња даје преглед коришћених промоторских секвенци ECF и RpoD σ фактора, као и критеријуме за одабир интергенских региона (како бактеријских, тако и бактериофагних), у којима су предвиђени до тада непознати ECF и RpoD промотори. Даље су дефинисани скупови (и извори) анализираних протеинских секвенци ECF (и RpoD) σ фактора, при чему су посебно дефинисане групе бактеријских ECF σ фактора, које су биле предмет детаљније биоинформатичке анализе. У наставку поглавља описује се процедура за издвајање интергенских региона из бактериофагних геномских секвенци, на шта се даље надовезује опис методологије за поравнавање секвенци ДНК. У оквиру тога, дефинисано је: поравнавање већег броја секвенци, предвиђање фагних промотора стандардним методама за ненадгледану претрагу, предвиђање фагних промотора поравнавањем интергенских региона у паровима, прављење логоа секвенци ДНК, предвиђање узводних промоторских елемената у бактериофагним ECF промоторима, као и предвиђање промотора у специфичним подгрупама бактеријских ECF σ фактора, глобално поравнање секвенци, и претрага домена, као и процедура за конструисање матрица тежине. На крају поглавља, представљена је процедура за корелациону анализу снага промоторских елемената за канонске ECF σ факторе.

4. Резултати

Ово поглавље садржи три целине. У првој целини изложени су резултати анализе промоторског специфичитета фагних ECF σ фактора у контексту биоинформатичке анализе транскрипционе стратегије бактериофага 7-11. У другој целини изложени су резултати систематске биоинформатичке анализе промоторског специфичитета у групи ECF. Трећа целина обухвата резултате корелационе анализе, т.ј. испитивања присуства механизма "mix-and-match" у промоторским секвенцама ECF σ фактора. Значајан резултат анализе специфичитета фагних ECF σ фактора, сем предвиђања самих промотора у секвенци бактериофага 7-11, представља и чињеница да је ово предвиђање резултат алтернативно конципиране процедуре за претрагу, која се заснива на поравнавању фагних интергенских региона у паровима, а будући да стандардни методи за ненадгледану претрагу регулаторних елемената нису довели до успешног препознавања жељених мотива. Кандидаткиња описује структуру и локализацију предвиђених мотива у геномској секвенци анализираниог бактериофага, уз нагласак да предвиђени мотиви највероватније одговарају двома засебним класама промотора, који регулишу експресију средње и касне класе фагних гена. У наставку су изложени резултати предвиђања и RpoD промотора у геному 7-11, уз уочавање распореда добијених предвиђања, који су карактеристични за експресију раних фагних гена, а који се код великог броја бактериофага експримирају транскрипционом машинеријом бактерије домаћина (т.ј. управо са RpoD промотора). Предвиђени промоторски специфичитет за ECF σ фактор бактериофага 7-11 у наставку је потврђен кроз поређење са (очигледно високо сличним) експериментално утврђеним специфичитетом ECF σ фактора бактериофага phiEco32, као и уочавањем аналогне

локализације обе класе промотора (ECF и RpoD) у геномским секвенцама 7-11 и phiEco32. Сем за проверу специфичитета ECF σ фактора 7-11, бактериофаг phiEco32 послужио је и за потврду алтернативне процедуре за предвиђање фагних промотора, будући да су њоме успешно предвиђени (претходно експериментално предвиђени) ECF промотори у геномској секвенци phiEco32.

Резултати систематске анализе промоторског специфичитета у групи ECF почињу уочавањем дугих продужетака -10 елемента у фагним ECF промоторима, кроз компаративну анализу са канонским ECF и RpoD промоторима, уз напомену да је структура фагних -10 елемената сличнија структури одговарајућег елемента у групи RpoD. Поређење протеинских секвенци σ фактора, који препознају упоређиване промоторе, указало је, међутим, на већу сличност фагних са канонским ECF представницима. Ове резултате кандидаткиња потврђује и широм компаративном анализом фагних ECF σ фактора са познатим представницима група ECF и RpoD, наводећи да је као најсличнија бактеријска подгрупа идентификована подгрупа ECF28, док поређења са RpoD секвенцама конзистентно дају лоша поравнања. Даље се наводе резултати претраге -35 елемента у фагним промоторима, узводно од -10 елемената, т.ј. његово предвиђање у промоторима 7-11 и одсуство у промоторима phiEco32 (за које се наводи да је уместо -35 елемента предвиђен конзервирани мотив другачијег специфичитета). У наставку, кандидаткиња излаже резултате детаљније компаративне анализе фагног 7-11 ECF σ фактора са представницима најсличније (ECF28) подгрупе, т.ј. предвиђање конзервираног мотива С-терминално од границе домена σ_2 , за који претпоставља функцију у препознавању продужетка -10 елемента. Паралелно је приказано и одсуство датог мотива у ECF подгрупи, за чије промоторе продужеци -10 елемента нису карактеристични (ECF01). Даље следе резултати детаљне анализе промоторског специфичитета у добро изученим ECF подгрупама (ECF01 и ECF02), т.ј. приказ неканонских интеракција између ECF σ фактора и промоторских секвенци, будући да су конзервирани мотиви предвиђени у нивоу секвенце спејсера (т.ј. удаљени од граница -10 елемента и домена σ_2). У наставку су изложени резултати потраге за оваквим интеракцијама у преосталим ECF подгрупама, при чему је група ECF32 издвојена као пример у којем се неканонске интеракције јављају чак са обрнутим поларитетом, т.ј. ближе границама -35 елемента и домена σ_4 . У последњој целини, изложени су резултати корелационе анализе у групи ECF, почевши од корелација добијених на *in vitro* активним промоторским секвенцама σ^E , за које је уочена врло јака комплементација снага дволанчаних промоторских елемената. Резултати корелационе анализе приказани су и за секвенце неактивне *in vitro*, скуп промотора коме припадају и *in vitro* активне и неактивне секвенце, уз поређење са корелационим константама у групи RpoD. Ово је омогућило уочавање кинетичког профила са којим се механизам "mix-and-match" јавља у наведеним групама σ фактора, при чему је посебно наглашено да преласком од *in vitro* активних ка неактивним σ^E промоторима може да се уочи слабљење корелација између дволанчаних елемената, а јачање корелација које упућују на комплементацију ка укупној транскрипционој активности, што одговара кинетици на RpoD промоторима. На крају, кандидаткиња приказује резултате корелационе анализе наведених категорија σ^E промотора са укљученим елементом у спејсеру (предвиђеним у оквиру анализе специфичитета), наглашавајући да дати елемент испољава најјачи функционални значај у неактивним *in vitro* секвенцама, што додатно потврђује карактеристичан кинетички профил транскрипционог одговора са ECF промотора.

5. Дискусија

Поглавље је организовано у складу са *Резултатима*. У првој целини кандидаткиња дискутује транскрипциону стратегију бактериофага 7-11, излажући реконструкцију карактеристичног временског обрасца генске експресије на основу распореда промотора у геному и познате функционалне анотације бактериофагних гена. У складу са наведеним, као највероватнији сценарио изложено је да бактеријски холоензим РНКП (са сопственим σ фактором) транскрибује тзв. функционални генски кластер на почетку инфекције, након чега долази до синтезе фактора, који блокира његову активност, као и до синтезе фагног ECF σ фактора. Кандидаткиња излаже да у овој фази највероватније долази до промене промоторског специфичитета РНКП, што резултује појавом средње генске класе, која се експримира са предвиђених ECF промотора у низводном делу функционалног кластера. Финално, ECF промотори нешто другачијег специфичитета преузимају транскрипциону машинерију, наводећи је на структурне гене у каснијим фазама инфекције, чиме се омогућава завршетак инфективног циклуса. У наставку кандидаткиња наводи да је један од кључних корака за ефикасно упознавање вирусне инфективне стратегије директно из геномске секвенце, могућност предвиђања фагних промотора унапред непознатог специфичитета, те у овом контексту наглашава значај нове процедуре за ненадгледану претрагу фагних промотора, која је успешно тестирана на експериментално изученим бактериофазима. Овде је додатно наглашен и значај потврде предвиђених мотива за ECF σ фактор 7-11, јер је сама процедура довела до још једног значајног открића, а то је предвиђање присуства продужених -10 елемената у ECF групи и првог примера механизма "mix-and-match" (будући да су ови продужеци у промоторима ρ HEC32 повезани са одсуством -35 елемента).

Кандидаткиња у наставку примећује да су фагни продужеци -10 елемента значајно дужи у односу на познате примере из групе ρ OD, као и да присуство конзервираног мотива у промоторима ρ HEC32 (уместо стандардног -35 елемента) може да укаже на појаву спољашње регулације активности на ECF промоторима. Ово се свеукупно тумачи као назнака знатно веће флексибилности у функционисању ECF σ фактора, у односу на тренутна сазнања. Као врло важну потпору овог становишта кандидаткиња наводи предвиђање продужетка домена σ_2 у фагним и делу бактеријских ECF σ фактора, за који претпоставља улогу у препознавању продужетака -10 елемента у фагним промоторима. Као врло битан резултат у анализи промоторског специфичитета групе ECF, кандидаткиња наглашава предвиђање тзв. неканонских интеракција са промоторским секвенцама које се протежу дуж читавог региона спејсера, наводећи да су у групи ρ OD овакве интеракције ограничене искључиво на продужетке домена σ_2 и -10 елемента, услед чега дати резултат тумачи као потврду претходно претпостављене, врло изражене флексибилности у функционисању ECF σ фактора.

Резултате анализе специфичитета, који су указали на значајну флексибилност функционисања ECF σ фактора, кандидаткиња повезује са већим потенцијалом за испољавање механизма "mix-and-match", услед разноврснијег репертоара различитих елемената у ECF промоторима који могу да се функционално допуњују, у односу на групу ρ OD. Ово тумачење поткрепљено је значајно већим корелацијама у ECF, у односу на ρ OD промоторе, за које кандидаткиња наглашава да су у супротности са тренутним становиштем, према коме степен испољавања механизма "mix-and-match" зависи од

плејотропије (величине регулона) датог σ фактора. За овај, наизглед неочекиван, резултат кандидаткиња нуди тумачење у виду једноставног модела, који се заснива на чињеници да се промоторске секвенце, које препознаје одређени σ фактор, могу начелно поделити на два региона - са високим и ниским афинитетом везивања, при чему високо специфични σ фактори (попут алтернативних ECF) садрже већу фракцију промотора ниског афинитета, услед јаче израженог негативног дејства мутација на промоторе високо специфичних, у односу на мање специфичне σ факторе. Кандидаткиња наводи да управо у овој категорији промотора "mix-and-match" ефекат постаје битан за одржавање транскрипционе активности изнад критичног нивоа, услед чега јаче корелације треба очекивати за промоторе високо специфичних σ фактора, премда их одликује мањи степен апсолутне варијабилности.

Кандидаткиња у наставку наводи да поређење корелација добијених у групама ECF и RpoD пружа важан увид у то како различита структурно-функционална ограничења за σ^{70} факторе утичу на кинетички профил промоторског одговора. Као главну карактеристику промоторске активности ECF групе истиче висок афинитет везивања ових σ фактора за промоторске секвенце, што је усклађено са врстом физиолошких процеса које ECF σ фактори регулишу, т.ј. брзим и ефикасним одговором на сигнале стреса из ванћелијске средине бактерија. Као механистичку подлогу за остваривање различитих кинетичких профила иницијационог процеса у различитим групама σ^{70} фактора, кандидаткиња предлаже функционално допуњавање различитих комбинација промоторских елемената, што адекватно поткрепљује анализом добијених корелација у групама ECF и RpoD.

На крају, посебан осврт направљен је на резултат да се смањивањем транскрипционе *in vitro* активности на ECF промоторима уочава наизглед другачији кинетички профил иницијације, што кандидаткиња тумачи могућим суделовањем спољашњих регулатора у активности ECF σ фактора и додатно потврђује чињеницом да у *in vitro* неактивним промоторима, новооткривени спејсерски елемент значајно допуњује снаге дволанчаних канонских елемената. Кандидаткиња наглашава да је тиме додатно потврђен карактеристичан кинетички профил иницијационог процеса од стране ECF σ фактора, као и значајна флексибилност интеракција и регулаторних парадигми које се у овој групи јављају, а које су до сада биле у потпуности непрепознате.

6. Закључак

У оквиру докторске дисертације, кандидаткиња је проучила механизам транскрипционе иницијације код ECF σ фактора - најбројнијих, али слабо проучених алтернативних σ фактора - који су нужни за преживљавање бактеријске ћелије у стресним условима. Комбиновањем биоинформатичких метода и биофизичке анализе, кандидаткиња је систематски проучила секвенце ECF σ фактора и њихових промотора, што је довело до ревизије тренутне парадигме о њиховом функционисању. Насупрот становишту које постулира ригидност у интеракцијама ECF σ фактора са промоторским секвенцама, резултати анализе су указали на значајан ниво флексибилности, како квалитативне (разноврсност протеин-ДНК мотива, који учествују у иницирању транскрипције), тако и квантитативне (опсег међусобне комплементације - "mix-and-match"-а - промоторских елемената), у функционисању ECF σ фактора. Добијени резултати промовишу "mix-and-match" као потенцијални заједнички механизам препознавања промотора у целокупној σ^{70} фамилији.

7. Референце

Кандидат Јелена Гузина је, у својој докторској дисертацији, цитирала укупно 123 референце, што показује да је кандидаткиња детаљно приступила истраживању и избором релевантне литературе успешно испунила задате циљеве. Резултате докторске дисертације је објавила у три оригинална научна рада и једном ревијалном раду по позиву. На сваком раду је била први аутор, а листа ових радова је наведена испод. Радови под ставкама 1 и 3 су објављени у врхунским међународним часописима (M21), а рад под ставком 2 је објављен у истакнутом међународном часопису (M22). *За рад објављен у Journal of Bacteriology (ставка 2 испод) је, од стране Биолошког факултета, добила 2016. "Награду за најбољи научни рад младог истраживача"*.

1. **Guzina J.** and Djordjevic M. "Mix-and-matching as a promoter recognition mechanism by ECF σ factors." *BMC Evolutionary Biology* **17**:12, 2017. (M21, IF 3.8)
2. **Guzina J.** and Djordjevic M. "Promoter recognition by ECF σ factors: analyzing DNA and protein interaction motifs." *Journal of Bacteriology* **198**:1927, 2016. (M22, IF 3.2)
3. **Guzina J.** and Djordjevic M. "Inferring bacteriophage infection strategies from genome sequence: analysis of bacteriophage 7-11 and related phages." *BMC Evolutionary Biology* **15**:S1, 2015. (M21, IF 3.8)
4. **Guzina J.** and Djordjevic M. "Bioinformatics as a first-line approach for understanding bacteriophage transcription." *Bacteriophage* **5**:e1062588, 2015. (invited review paper).

Резултате докторске дисертације је презентовала и на више међународних скупова, која су штампана у изводу (листа наведена испод). Ставке 1, 3, 4, 7 и 9 су усмене презентације, при чему је презентација под ставком 1 одабрана за "long talk" (предавање од 30 мин.) на конференцији BGRS/SB' 2016, које је кандидат одржала као прво у секцији (конференција је једна од најпрестижнијих у биоинформатици са више од 500 учесника у 2016. години).

- 1) **Guzina J.**, Djordjevic M. *Transcription initiation by alternative σ factors: revising the rigidity paradigm* (усмено излагање), BGRS 2016, Новосибирск, Русија, август 2016, штампао Federal Research Center - Institute of Cytology and Genetics SB RAS.
- 2) Stankovic T, **Guzina J.**, Djordjevic M. *Predicting small RNAs from bacterial genome* (постер), BGRS 2016, Новосибирск, Русија, август 2016, штампао Federal Research Center - Institute of Cytology and Genetics SB RAS.
- 3) **Guzina J.**, Djordjevic M. *Computational approach to analyze bacteriophage transcription strategies* (усмено излагање), SBB 2016, Новосибирск, Русија, август 2016, штампао Federal Research Center - Institute of Cytology and Genetics SB RAS.
- 4) **Guzina J.**, Djordjevic M. *Transcription initiation by alternative σ factors* (усмено излагање), BelBi 2016, Београд, Србија, јун 2016, штампао Математички факултет Универзитета у Београду.
- 5) Stankovic T, **Guzina J.**, Djordjevic M. *Search for small RNAs associated with CRISPR/Cas* (постер), BelBi 2016, Београд, Србија, јун 2016, штампао Математички факултет Универзитета у Београду.
- 6) **Guzina J.**, Djordjevic M. *ECF σ factors: from stringency paradigm to significant mix-and-matching* (постер), PROKAGenomics 2015, Гетинген, Немачка, октобар 2015, штампао Kern GmbH DE.

- 7) **Guzina J**, Djordjevic M. *Inferring bacteriophage infection strategies from genome sequence: analysis of bacteriophage 7-11 and related phages* (усмено излагање), Bacteriophages 2015, Лондон, УК, јануар 2015, штампао Euroscicon Ltd UK.
- 8) **Guzina J**, Djordjevic M. *Biophysics based approach for inferring bacteriophage infection strategies* (постер), RBC 2014, Смоленице, Словачка, мај 2014, штампао Slovak Biophysical Society.
- 9) **Guzina J**, Djordjevic M. *Bioinformatics analysis of gene expression strategies of bacterial viruses* (усмено излагање), TABIS 2013, Београд, Србија, септембар 2013, штампао Институт за физику у Београду.

Напомињемо и да је истраживање на докторској дисертацији реализовано у оквиру једног међународног пројекта (Swiss National Science Foundation SCOPES project, IZ73Z0_152297, 2014-2017), и једног националног пројекта (O1173052, 2011-2017) на којима је кандидат ангажован као истраживач сарадник. Резултатима досадашњих истраживања, које је објавила у наведеним радовима, Јелена Гузина је верификовала научне поставке своје докторске дисертације.

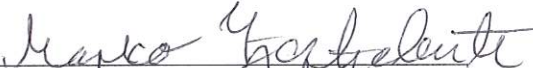
МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Анализа докторске дисертације кандидаткиње **Јелене Гузине** указује да су сви постављени циљеви истраживања успешно испуњени. Кандидаткиња је показала добро познавање научне области коју задата тема обухвата, самосталност у планирању и спровођењу анализе, критичко разматрање резултата у контексту познатих литературних података, као и способност доношења адекватних закључака. Истраживање спроведено у оквиру докторске дисертације комбинује методе рачунске анализе биолошких секвенци и биофизичког моделовања са интерпретацијом резултата према биолошким хипотезама о механизму иницијације транскрипције. Мултидисциплинарност истраживања се зато огледа, не само у биоинформатичком приступу, који обједињује рачунске методе и молекуларну биологију, већ и у биофизичком приступу биоинформатичкој анализи. Докторска дисертација Јелене Гузине представља оригиналан научни рад који даје значајан допринос разумевању механизма иницијације транскрипције бактеријским ECF σ факторима, који су, са стране физиологије бактерија врло значајна, али слабо проучена група σ фактора. Истичемо и да резултати представљају одличну полазну тачку за будућа истраживања, нарочито тиме што указују на могућност деловања заједничког механизма иницијације транскрипције у оквиру читаве σ^{70} фамилије.

Имајући у виду наведено, Комисија предлаже Већу за студије при Универзитету у Београду да прихвати овај реферат и одобри јавну одбрану докторске дисертације кандидаткиње **Јелене Гузине**, под називом: "**Биоинформатичка анализа транскрипционе иницијације код бактеријских ECF σ фактора**".

У Београду, 15.05.2017. године

КОМИСИЈА:



др **Марко Ђорђевић**, ментор

ванредни професор Биолошког факултета, Универзитета у Београду



др **Магдалена Ђорђевић**, ментор Универзитета у Београду

научни саветник Института за физику,



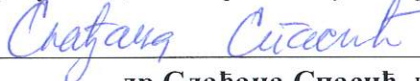
др **Мирослав Живић**, члан

ванредни професор Биолошког факултета, Универзитета у Београду



др **Гордана Павловић-Лажетић**, члан

редовни професор Математичког факултета, Универзитета у Београду



др **Слађана Спасић**, члан

виши научни сарадник Института за мултидисциплинарна истраживања, У. у Београду