

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 19.06.2020. године, на основу молбе ментора др Драгане Матекало, научног сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду и др Тамаре Ракић, ванредног професора Биолошког факултета, Универзитета у Београду одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Неде А. Аничих**, истраживача сарадника на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институту од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду, под насловом „**Метаболизам непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* (Lamiaceae) и његова регулација током дехидратације**“, у саставу:

др Драгана Матекало, научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду; др Тамара Ракић, ванредни професор Биолошког факултета, Универзитета у Београду; др Маријана Скорић, научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду; др Анета Сабовљевић, ванредни професор Биолошког факултета, Универзитета у Београду и др Бобан Анђелковић, научни сарадник Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Неде А. Аничих** под насловом „**Метаболизам непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* (Lamiaceae) и његова регулација током дехидратације**“ написана је на укупно 166 страна и састоји се од следећих поглавља: **Увод** (стр. 1-22), **Циљеви рада** (стр. 23), **Материјал и методе** (стр. 24-54), **Резултати** (стр. 55-89), **Дискусија** (стр. 90-112), **Закључци** (стр. 113), **Литература** (стр. 114-138) и **Прилог** (стр. 139-146). Поред наведеног, докторска дисертација обухвата и биографију аутора (стр. 147), као и следеће целине: насловну страну на српском и енглеском језику, сажетак дисертације на српском и енглеском језику, листу ментора и чланова комисије, захвалницу, листу скраћеница, садржај, изјаву о ауторству, изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјаву о коришћењу.

Докторска дисертација садржи укупно 48 слика (7 у поглављу Увод, 12 у поглављу Материјал и методе, 25 у поглављу Резултати, 2 у поглављу Дискусија и 2 у поглављу Прилог) и 7 табела (1 у поглављу Увод, 2 у поглављу Материјал и методе, 3 у поглављу Резултати и 1 у поглављу Прилог). Поглавље Литература садржи 374 библиографских јединица.

Анализа докторске дисертације

Ова докторска дисертација припада ужој научној области физиологије биљака.

Предмет истраживања докторске дисертације Неде Аничих је испитивање метаболизма непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* током дехидратације, са посебним освртом на функцију иридоид синтезе, ензима који катализује формирање иридоидног прстена.

Поглавље **УВОД** је подељено у 4 целине. У оквиру првог поглавља изложена је научна проблематика, подржана бројним литературним наводима, на основу које је дефинисан предмет истраживања ове докторске дисертације. Потпоглавље „Основне карактеристике рода *Nepeta*“ описује биолошке активности и ботаничке карактеристике одабраних врста овог рода. Биолошке активности врста рода *Nepeta* одређује заступљеност диастереоизомера непеталактона, једињења из групе иридоида које преовлађује у етарским уљима већине врста. У оквиру овог потпоглавља описане су и ботаничке карактеристике врста које су биле предмет истраживања ове дисертације – *N. rtanjensis*, *N. argolica* subsp. *argolica*, *N. ernesti-mayeri*, *N. parnassica*, *N. sibirica* и *N. nervosa*. Друго потпоглавље обухвата преглед досадашњих сазнања о терпенима и њиховој биосинтези, са посебним освртом на биосинтетски пут иридоидног монотерпеноида непеталактона. Ранија истраживања су описала почетни део биосинтетског пута иридоидних монотерпеноида који води до непеталактола код врсте *Catharanthus roseus*. Овај део биосинтетског пута обухвата реакције оксидације, редукције и циклизације. Као продукт ових реакција настаје универзални прекурсор свих биљних иридоида-непеталактола, од кога се код врсте *C. roseus* даље синтетишу монотерпеноидни индолни алкалоиди. Код врста рода *Nepeta* биосинтеза се наставља до непеталактона и његових деривата помоћу ензима из суперпородице кратколанчаних дехидрогеназа/редуктаза, којима је посвећен посебан одељак. Корак редукције линеарног супстрата 8-оксогераниала катализују ензими иридоид синтезе, који заједно са прогестерон-5 β -редуктазама чине групу ензима „*PRISE*“ (eng. *progesterone-5 β -reductase and/or iridoid synthase displaying enzymes*). Истакнуто је да ензими из ове групе испољавају висок афинитет ка широком спектру супстрата. Последњи корак синтезе непеталактона врше NAD-зависни ензими који се назвају кратколанчане-дехидрогеназе/редуктазе везане за непеталактол, скраћено *NEPS* (eng. *nepetalactol-related-short-chain-dehydrogenase/reductase*, *NEPS*). Биосинтеза специјализованих метаболита зависи како од експресије гена који кодирају за ензиме укључене у биосинтетски пут, тако и од саме активности датих ензима. Наведени гени су под контролом транскрипционих фактора који представљају део сигналног пута јасмонске киселине. У трећем потпоглављу описани су glandularни трихоми, као структуре у којима се одвија биосинтеза и складиштење специјализованих метаболита.

Пелтатни гландуларни трихоми породице *Lamiaceae* су посебно добро прилагођени за акумулирање и задржавање испарљивих једињења. У четвртом потпоглављу издвојена су досадашња сазнања о утицају водног дефицита на физиологију биљака и продукцију специјализованих метаболита. У оквиру овог потпоглавља дат је и преглед литературних података о утицају експериментално индукованог стреса различитог интензитета на квантитативне промене у садржају главних конституената етарских уља врста породице *Lamiaceae*. Посебан одељак посвећен је експерименталном моделу дехидратације, у ком је истакнуто је да се водни дефицит може квантификовати одређивањем релативног садржаја воде у биљкама (eng. *relative water content, RWC*), а описане су и предности коришћења непермеабилног осмолита – полиетилен гликола (ПЕГ) за симулирање суше.

У оквиру поглавља **ЦИЉЕВИ РАДА** дефинисани су циљеви истраживања докторске дисертације. Основни циљеви докторске дисертације усмерени су ка расветљавању метаболизма непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta*, молекуларних механизма регулације биосинтезе непеталактона током развића листова и у условима експериментално индуковане дехидратације, као и улоге иридоид синтазе у метаболизму непеталактона код врста рода *Nepeta* које се разликују у погледу квалитативног и квантитативног садржаја непеталактона. Истовремено, анализирана је биолошка активност главних иридоидних и фенолних конституената листова врста *N. rтанјensis* и *N. argolica* subsp. *argolica* с циљем утврђивања значаја стереохемије непеталактона у испољавању биолошке активности.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** садржи укупно 5 потпоглавља која су подељена у неколико одељака. У оквиру првог потпоглавља представљене су процедуре морфолошке и хемијске карактеризације листова *N. rтанјensis*. Овде су описани поступци светлосне и скенирајуће електронске микроскопије, Раманове спектроскопије, као и изолације гландуларних трихома абразијом сувим ледом и екстракције садржаја гландуларних трихома дихлорометаном. Фитохемијска карактеризација метанолних екстраката изведена је коришћењем стандардизованих метода за квалитативну (*UHPLC/Orbitrap-MS/MS/GC-MS*) и квантитативну (*UHPLC/DAD/(+/-)HESI-MS/MS*) метаболомичку анализу. У другом потпоглављу описане су процедуре коришћене за анализу експресије гена биосинтетског пута непеталактона у листовима *N. rтанјensis* различитог развојног стадијума и у изолованим трихомима листова. Детаљно су представљене методе за изолацију и проверу квалитета РНК, синтезу комплементарне ДНК, секвенцирање транскриптома листова *N. rтанјensis*, као и протокол за квантитативни *PCR*. Табеларно су приказане секвенце свих коришћених прајмера, као и услови за извођење *PCR* реакција. Треће потпоглавље описује поступке коришћене за експерименталну дехидратацију *N. rтанјensis* и *N. argolica* subsp. *argolica* коришћењем полиетилен гликола (ПЕГ). Овде су описани поступци за одређивање релативног садржаја воде, методе за *UHPLC/DAD/(+/-)HESI-MS/MS* анализу садржаја непеталактона у метанолним екстрактима, као и протокол за изолацију РНК и квантитативни *PCR*, који су коришћени и за упоредну анализу експресије функционално окарактерисаних иридоид синтаза и профилисање иридоида у различитим органима врста рода *Nepeta*. У оквиру

четвртог потпоглавља описане су процедуре за изолацију секвенце пуне дужине гена кандидата за иридоид синтазу из неколико врста рода *Nepeta*, поступци брзе амплификације комплементарних ДНК крајева, ТА клонирања и клонирања заснованог на рестрикционим ензимима, као и трансформација одабраних сојева *Escherichia coli*. Преглед процедура за изолацију плазида, индукцију експресије, изолацију и детекцију рекомбинантних протеина, као и *in vitro* ензимских есеја, *GC/MS* и *NMR* анализе продуката ензимске реакције и 3D моделовање окарактерисаних иридоид синтаза, такође су описани у оквиру овог потпоглавља. *UHPLC/DAD/(+/-)HESI-MS/MS* метаболичко профилисање иридоида и фенола у метанолним екстрактима *N. rtanjensis* и *N. argolica* subsp. *argolica*, као и процедуре за одређивање антимикуробних (микродилуциона метода) и имуномодулацијских (мерење продукције цитокина, фагоцитозе, реактивних кисеоничних врста и азот монооксида у макрофагима) својстава екстраката и чистих једињења описани су у оквиру петог потпоглавља.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ** организовано је у четири потпоглавља од којих је свако подељено у више одељака. У првом потпоглављу су приказани резултати одређивања места биосинтезе и акумулације непеталактона у листовима *N. rtanjensis* на нивоу ткива. Упоредо са концентрацијама доминантних конституената метанолних екстраката *N. rtanjensis* (*trans,cis*-непеталактона и дехидронепеталактона), количника и збира њихових концентрација, током процеса развића листова смањује се и експресија гена *NrIS1*. Раман спектри пелтатних гландуларних трихома приказују карактеристичне пикове који се запажају у спектрима *cis,trans*-непеталактола и етарског уља *N. rtanjensis*. Концентрације непеталактона и експресије гена кандидата биосинтезе непеталактона и транскрипционих фактора који регулишу овај биосинтетски пут показују значајно више вредности у изолату трихома, у односу на листове након абразије сувим ледом. Садржај *trans,cis*-непеталактона и дехидронепеталактона у екстрактима дихлорометана (*DCM*) повишавао се упоредо са дужином трајања третмана (10, 20, 40, 120 или 360 *s*). Истовремено, концентрација ова два једињења смањивала се у листовима након урањања у *DCM*. На микрографији листа након урањања у *DCM* у трајању од 40 *s* уочава се да је процес екстракције са *DCM* изазвао урушавање субкутикуларног простора гландуларних трихома, док оштећења зида епидермиса нису видљива. Друго потпоглавље описује промене у метаболизму током дехидратације индуковане ПЕГ-ом у листовима *N. rtanjensis* и *N. argolica* subsp. *argolica*. *SEM* микрографије површине листова обе врсте након дехидратације показале су да је дошло до затварања стома, али не и уочљивих морфолошких промена гландуларних трихома. Губитак тургора, смањење свежине масе листа, значајно снижене вредности релативног садржаја воде, као и низак водни потенцијал подлоге (-3МПа) указују на водни стрес јаког интензитета. Током дехидратације садржај *cis,trans*-непеталактона и дехидронепеталактона се значајно снижава у листовима *N. argolica* subsp. *argolica*, док је овај тренд мање изражен у листовима *N. rtanjensis*. Експресије гена кандидата биосинтетског пута непеталактона и транскрипционих фактора *MYC2* и *YABBY5* су у позитивној корелацији и значајно опадају у свим временским тачкама експеримента у листовима обе врсте. У оквиру трећег потпоглавља описани су услови под којима је постигнута

изолација и функционална карактеризација гена који кодирају за иридоид синтазу у листовима рода *Nepeta*. За идентификацију и изолацију ових гена коришћена је стратегија базирана на хомологији генских секвенци пореклом из сродних врста породице *Lamiaceae*. Након изолације фрагмента гена из трихома *N. rтанјensis* помоћу дегенеративних прајмера, откривени су старт и стоп кодон коришћењем *RACE* технике, а потом су помоћу прајмера за изолацију пуне дужине гена изоловане секвенце из шест врста рода *Nepeta*. Овако је добијено седам различитих изоформи иридоид синтаза, а њихови филогенетски односи указали су на висок степен међусобне хомологије. Филогенетска анализа је показала да су ове секвенце подељене у два кластера (фамилија 1 и фамилија 2), као и да су сродније са претпостављеним *P5βR* из породице *Lamiaceae*, него са окарактерисаним иридоид синтазама из других врста. У оквиру овог потпоглавља описан је такође поступак хетерологе експресије ензима иридоид синтазе у организму домаћину (*E. coli*), као и идентификација ензима имунодетекцијом са *anti-His* антителима. Функција три изолована ензима (*NrIS2*, *NsIS* и *NnIS*) потврђена је у ензимским есејима *in vitro* са рекомбинантним протеинима. Структура производа реакција (*cis,trans*-непеталактола) је потврђена помоћу *GC-MS* и *NMR* анализе. Конструисани су 3D модели три окарактерисане иридоид синтазе из врста рода *Nepeta* на основу хомологије са иридоид синтазом из *C. roseus* и упоређена су активна места ових ензима. Нивои експресије гена *NrIS2* код *N. rтанјensis* и *NsIS* код *N. sibirica* прате обрасце концентрација доминантних иридоида у корену, стаблу и листовима ових биљака. Апсолутна квантификација експресије *NnIS* је показала високе вредности експресије у органима *N. nervosa*, код које су иридоиди детектовани само у траговима. У четвртном потпоглављу су приказани резултати антимикробног и имуномодулационог дејства метанолних екстраката *N. rтанјensis* и *N. argolica* subsp. *argolica*, као и доминантних иридоидних и фенолних једињења ових врста. Метанолни екстракти, а нарочито чиста једињења показала су снажно антимикробно дејство на 7 врста бактерија и 8 врста гљива, док имуномодулационо дејство на макрофаге *in vitro* није детектован.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидат уз коришћење литературних извора разматра резултате добијене у оквиру ове дисертације. Кандидаткиња дискутује резултате који издвајају пелтатне гландуларне трихоме као главно место акумулације и биосинтезе непеталактона, као и о факторима који утичу на регулацију метаболизма непеталактона током развића листова *N. rтанјensis*. У оквиру другог потпоглавља посвећена је пажња тумачењу променама у метаболизму непеталактона током дехидратације, посебно узевши у обзир различите стратегије две врсте рода *Nepeta*, које продукују различите стереоизомере непеталактона. Кандидаткиња објашњава снижавање концентрација непеталактона током дехидратације у *N. rтанјensis* и *N. argolica* subsp. *argolica*, пружајући доказе о синхронизованом снижењу експресије гена кандидата биосинтетског пута непеталактона током дехидратације, као и гена који кодирају за транскрипционе факторе *MYC2* и *YABBY5*, који су издвојени као позитивни регулатори. Посебну пажњу кандидаткиња посвећује значају добијених резултата који битно доприносе разумевању улоге иридоид синтазе у метаболизму непеталактона. У оквиру ове дисертације су функционално окарактерисане иридоид синтазе код врста

рода *Nepeta* које производе иридоиде, а по први пут и код врсте која не производи иридоиде. Уз осврт на податке из литературе релевантне за ово истраживање протумачени су оригинални резултати који указују на присуство биосинтетске платформе за производњу непеталактона код врсте *N. nervosa*, али је она неактивна највероватније услед „гашења“ или „стишавања“ функције неког гена који је узводно у биосинтетском путу. У дискусији је посебно наглашен применљиви аспект истраживања и указано је на могућност примене добијених резултата у метаболичком инжењерингу за потребе повећане производње ових важних биоактивних једињења у хетерологим и хомологим домаћинима.

У оквиру поглавља **ЗАКЉУЧЦИ** је прецизно и јасно изнет преглед најзначајнијих закључака изведених на основу добијених резултата који су у складу са постављеним циљевима докторске дисертације. Закључци су изложени кроз десет ставки. Гландуларни трихоми на листовима *Nepeta rtanjensis* Диклић и Милојевић, који се одликују високим садржајем непеталактона (NL), и који су изразито богати транскрипцијама 10 гена кандидата биосинтетског пута непеталактона (*GPPS*, *GES*, *G8O*, *8HGO*, *IS1*, *IS2*, *NEPS1a*, *NEPS1b*, *NEPS2* и *NEPS3*), као и гена 4 транскрипциона фактора (*COII*, *JAZ3*, *MYC2* и *YABBY5*), представљају главно место биосинтезе и акумулације овог иридоида. Метаболизам NL је регулисан током процеса развића листова *N. rtanjensis*, што показују синхронизовани обрасци експресије гена који кодирају иридоид синтазу (*NrIS1*) и садржаја доминантних непеталактона, при чему се метаболичка активност снижава са старошћу листова. Дехидратација изазвана ПЕГ-ом доводи до значајних промена у метаболизму непеталактона у листовима, које се огледају у координисаном снижењу експресије већине гена кандидата који кодирају за ензиме биосинтетског пута NL и за транскрипционе факторе, што доводи до редукованог флукса кроз биосинтетски пут и иницијалног снижења садржаја NL. *N. argolica* subsp. *argolica*, а нарочито *N. rtanjensis*, развиле су механизме који током неповољних услова дехидратације одржавају есенцијалне физиолошке процесе и рационализују свој специјализовани метаболизам тако да чувају садржај непеталактона у ткивима. Ове две врсте се услед тога могу препоручити као погодне за гајење у аридним и полу-аридним подручјима. Транскрипциони фактори *MYC2* и *YABBY5* препознати су као позитивни регулатори биосинтезе NL у условима дехидратације код анализираних врста рода *Nepeta*. Хетерологом експресијом у *E. coli*, пречишћавањем рекомбинантних протеина и анализом њихове активности у ензиматским *in vitro* есејима, функционално су окарактерисане иридоид синтазе из две врсте рода *Nepeta* које продукују NL, *N. rtanjensis* (*NrIS2*) и *N. sibirica* (*NsIS*), као и из врсте *N. nervosa* (*NnIS*) која је карактеристична по томе што не производи NL. Хомолози *NrIS2* из *N. rtanjensis* забележени су и у врстама *N. argolica* subsp. *argolica*, *N. parnassica* и *N. ernesti-mayeri*, што потврђује њихову филогенетску блискост. Број транскрипата функционално окарактерисаних иридоид синтаза *N. rtanjensis* (*NrIS2*) и *N. sibirica* (*NsIS*) прати образац концентрација доминантних иридоида у различитим органима (корен<стабло<листови). Градијент садржаја непеталактона у различитим органима очигледно је условљен њиховом биосинтетском активношћу, а вероватно и бројношћу и типовима glandуларних трихома, које представљају главно место акумулације

иридоида. Чињеница да се функционалне иридоид синтазе експримирају код *N. nervosa* (NnIS), врсте која не продукује иридоиде, указује на присуство биосинтетске платформе за производњу непеталактона, која је неактивна. Највероватнији еволутивни сценарио подразумева губитак способности биосинтезе иридоида услед „гашења” или „стишавања” функције неког гена узводно у биосинтетском путу. Врста *N. nervosa* је услед тога интересантан модел систем за примену метаболичког инжењеринга у циљу продукције жељених стереоизомера непеталактона и других иридоида. Применом метаболичког инжењеринга, који би укључио појачану експресију неких од кључних гена биосинтетског пута непеталактона или гена за транскрипционе факторе MYC2 и YABBY5, може се у будућности обезбедити одржива производња непеталактона и његових деривата из алтернативних извора, у хомологим или хетерологим домаћинима. Оваквим приступом се истовремено може смањити притисак на природне ресурсе, што са становишта конзервационе биологије има велики значај у очувању ендемичних и угрожених врста рода *Nepeta*. Стереозомери непеталактона и њихови деривати, појединачно, или у комплексним смешама као што су метанолни екстракти *N. rtanjensis* и *N. argolica* subsp. *argolica*, показују снажну антибактеријску и антифунгалну активност, и могу се препоручити као ефикасни антимикуробни агенси.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 374 библиографске јединице из међународних и домаћих извора. Наведени извори покривају све области овог истраживања и на адекватан начин су наведени у тексту докторске дисертације.

Поглавље **ПРИЛОГ** садржи табелу и слике са додатним резултатима добијеним током истраживања у оквиру докторске дисертације.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Aničić, N.**, Matekalo, D., Skorić, M., Pećinar, I., Brkušanin, M., Živković, J.N., Dmitrović, S., Stevanović, Z.D., Schulz, H. and Mišić, D., 2018. Trichome-specific and developmentally regulated biosynthesis of nepetalactones in leaves of cultivated *Nepeta rtanjensis* plants. *Industrial Crops and Products*, 117, pp.347-358. **M21a**
2. **Aničić, N.**, Matekalo, D., Skorić, M., Živković, J.N., Petrović, L., Dragičević, M., Dmitrović, S. and Mišić, D., 2020. Alterations in nepetalactone metabolism during polyethylene glycol (PEG)-induced dehydration stress in two *Nepeta* species. *Phytochemistry*, 174, p.112340. **M21**

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Aničić, N.**, Božić, D., Skorić, M., Dmitrović, S., Boljević, J., Nestorović Živković, J., and Mišić, D., 2015. Localization of nepetalactone and dehydronepetalactone biosynthesis and accumulation in *Nepeta rtanjensis* leaves. Joint Meeting of 2nd International Conference on Plant Biology, 21st Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Cost Action FA1106 Qualityfruit Workshop. Petnica, Serbia. Book of abstracts p. 100. **M34**
2. **Aničić, N.**, Nestorović Živković, J., Matekalo, D., Skorić, M., Božunović, J., Milutinović, M., and Mišić, D., 2018. Physiological drought alters nepetalactone metabolism in *Nepeta rtanjensis* leaves. Joint Meeting of 3rd International Conference on Plant Biology,

22nd Symposium of the Serbian Plant Physiology Society. Belgrade, Serbia. Book of abstracts p. 121.

M34

3. **Aničić, N.**, Matekalo, D., Skorić, M., Pećinar, I., Brkušanin, M., Nestorović Živković, J., Dmitrović, S., Božunović, J., Dajić Stevanović, Z., and Mišić, D., 2018. Nepetalactones profiling and putative iridoid synthase expression analysis indicate trichome specific localization and developmental regulation of iridoids biosynthesis in leaves of *Nepeta rtanjensis*. Abstract Book for the Plant Biology Europe Conference in Copenhagen, p 326. ISBN 978-87-996274-1-7

M34

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Aničić, N.**, Matekalo, D., Skorić, M., Nestorović Živković, J., and Mišić, D., 2018. Metabolizam nepetalaktona u listovima rtanjske metvice (*Nepeta rtanjensis* Diklić & Milojević). Drugi kongres biologa Srbije. Kladovo, Srbija. Knjiga sažetaka, 53. ISBN 978-86-81413-08-1

M64

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Неде А. Аничих**, број индекса Е3006/2013, подвргнута је електронској провери обима и садржине подударарања текста са текстовима који су у Универзитетској библиотеци „Светозар Марковић“ доступни за поређење. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментори су добили дана 02.07.2020. године.

Резултати електронске провере ове докторске дисертације показују да **индекс подударности износи 9%**. Детаљним увидом у Извештај утврђено је да су готово сва уочена појединачна подударарања у опсегу мањем од 1%, подударарање са 2 извора је у опсегу од 1%, са једним извором у опсегу од 2% и са једним извором у опсегу од 4%. Највеће поклапање (4%) је уочено у звањима и афилијацији чланова комисије, као и називима поглавља тезе. Преостале уочене подударности текста се највећим делом односе на латинске називе биолошких врста, називе коришћених хемикалија, аналитичких процедура и њихове општепознате скраћенице, називе лабораторијских апарата и њихових произвођача, као и кратке фразе уобичајене у српском језику и области истраживања. Додатно, одређени делови текста код којих је утврђено подударарање нису смислено повезани.

Узимајући у обзир наведено и Правилник о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на универзитету у Београду ("Гласник Универзитета у Београду" број 201/18), извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Неде А. Аничих**, под насловом „**Метаболизам непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* (Lamiaceae) и његова регулација током дехидратације**”, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

На основу изложене анализе докторске дисертације кандидата **Неде А. Аничих** комисија сматра да ова дисертација представља оригиналан научни рад који је у сагласности са постављеним циљевима истраживања наведеним у пријави теме и да испуњава све критеријуме прописане стандардима Универзитета у Београду. Кандидаткиња је добијене резултате адекватно приказала и критички дискутовала применом и анализом релевантних литературних података. Резултати ове докторске дисертације дају важан допринос разумевању метаболизма фармаколошки значајних

специјализованих метаболита непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* током дехидратације. Садржај непеталактона у листовима зависи од координисане регулације биосинтезе и катаболизма, који су под контролом транскрипционих фактора MYC2 i YABBY5, као и од очувања морфологије гландуларних трихома, који представљају главно место биосинтезе и акумулације ових једињења. У оквиру ове дисертације је по први пут потврђена функција иридоид синтаза како у врстама које производе непеталактон (*N. rtanjensis* и *N. sibirica*), тако и у врсти *N. nervosa* која га не производи. Добијени резултати имају вишеструки значај, како у фундаменталном, тако и у апликативном погледу. Резултати дају смернице за будућу примену метаболичког инжењеринга у циљу оптимизације производње непеталактона и његових деривата, док је *N. nervosa* издвојена као интересантан модел за ова истраживања. На основу свега наведеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри кандидату **Неди А. Аничих** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Метаболизам непеталактона у листовима одабраних врста рода *Nepeta* (Lamiaceae) и његова регулација током дехидратације**“.

У Београду, 07.07.2020.

КОМИСИЈА:

др Драгана Матекало, виши научни сарадник
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
Институт од националног значаја за Републику Србију
Универзитет у Београду

др Тамара Ракић, ванредни професор
Биолошки факултет
Универзитет у Београду

др Маријана Скорић, научни сарадник
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
Институт од националног значаја за Републику Србију
Универзитет у Београду

др Анета Сабовљевић, ванредни професор
Биолошки факултет
Универзитет у Београду

др Бобан Анђелковић, научни сарадник
Хемијски факултет
Универзитет у Београду