

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
HEMIJSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Predmet: Izveštaj Komisije za pregled i ocenu doktorske disertacije Simeona L. Minića, master biohemičara

Na redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 12.05.2016. godine, određeni smo za članove Komisije za pregled i ocenu doktorske disertacije Simeona L. Minića, prijavljene pod naslovom:

“Struktura, biološka aktivnost i interakcije sa proteinama fikocijanobilina i hromopeptida C-fikocijanina iz cijanobakterije *Arthrospira platensis*”.

Pošto smo podnetu disertaciju pregledali, podnosimo Nastavno-naučnom veću sledeći

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija Simeona L. Minića, pod gore navedenim naslovom, napisana je na 189 strana A4 formata (prored 1,5). Sadrži 67 slika (od toga 28 u Prilogu), 21 tabelu (od toga 9 u Prilogu). Tekst obuhvata sledeća poglavlja: **1. Uvod** (2 strane), **2. Opšti deo** (46 strana), **3. Eksperimentalni deo** (25 strana), **4. Rezultati** (31 strana), **5. Diskusija** (17 strana), **6. Zaključci** (2 strane), **7. Literatura** (22 strane, 217 citata) i **8. Prilozi** (44 strane). Pored navedenog, disertacija sadrži izvod na srpskom i engleskom jeziku, sadržaj, spisak skraćenica i akronima, kao i zahvalnicu i kratku biografiju kandidata.

U **Uvodu** su navedeni biološki benefiti C-fikocijanina i njegove hromofore, tetrapiralnog fikocijanobilina. Ukazano je na značaj proučavanja strukture i bioaktivnih svojstava hromopeptida nastalih digestijom C-fikocijanina u gastrointestinalnom traktu, kao i ispitivanja vezivanja i posledica vezivanja bioaktivnog fikocijanobilina za albumine iz humanog i goveđeg seruma. Potom su definisani ciljevi i zadaci istraživanja ove doktorske disertacije.

Opšti deo obuhvata pet celina. Prva se bavi strukturom, stabilnošću i fiziološkom ulogom C-fikocijanina. Druga celina daje sveobuhvatan prikaz realizovanih i mogućih primena C-fikocijanina i fikocijanobilina u medicini, industriji hrane i biotehnologiji. Treća celina se bavi

literaturnim podacima o biodostupnošću C-fikocijanina, uključujući značaj proučavanja strukture i bioloških aktivnosti peptida dobijenih digestijom proteina hrane. Četvrta celina daje osnovne podatke o strukturi, funkciji i značaju albumina iz humanog (HSA) i govedeg (BSA) seruma, sa posebnim osvrtom na vezivanje bilirubina, linearne tetrapirrolne hromofore i molekula veoma slične strukture fikocijanobilinu, za proteine seruma. U petoj celini su sažeto prikazani principi i primena uobičajenih biohemijskih metoda za proučavanje protein-ligand interakcija.

Eksperimentalni deo sadrži detaljan opis materijala i procedura korišćenih u okviru ove doktorske disertacije.

U poglavlju **Rezultati** kandidat detaljno iznosi konkretne rezultate svojih istraživanja. Rezultati doktorske disertacije su podeljeni u tri celine. U prvoj su prikazani rezultati određivanja strukture i ispitivanja biološke aktivnosti hromopeptida dobijenih pepsinskom digestijom C-fikocijanina u simuliranoj želudačnoj tečnosti. Druga celina daje rezultate karakterizacije vezivanja fikocijanobilina za HSA, kao i podatke dobijene ispitivanjem uticaja fikocijanobilina na temperaturnu i digestionu stabilnost HSA. Treća celina opisuje rezultate karakterizacije vezivanja fikocijanobilina za BSA, uz isticanje sličnosti i razlika u vezivanju hromofore za ova dva proteina seruma. U ovom odeljku se prikazani i rezultati uticaja vezivanja fikocijanobilina na različite vidove stabilnosti BSA, ali i uticaja ovog proteina na oksidativnu stabilnost hromofore.

Poglavlje **Diskusija** je takođe podeljeno na tri celine. Sve tri celine komentarišu i poredе dobijene rezultate sa literaturnim podacima. Prva celina tumači rezultate dobijene određivanjem strukture i biološke aktivnosti hromopeptida nastalih pepsinskom digestijom C-fikocijanina u simuliranim želudačnim uslovima. Druga celina se bavi diskusijom rezultata dobijenih karakterizacijom vezivanja fikocijanobilina za HSA, kao i ispitivanjem uticaja fikocijanobilina na stabilnost ovog proteina. U trećoj celini su prodiskutovani rezultati karakterizacije vezivanja fikocijanobilina za BSA, kao i uticaja formiranja protein-ligand kompleksa na stabilnost oba interagujuća partnera. Ova celina takođe poredi, odnosno tumači dobijene sličnosti i razlike u vezivanju fikocijanobilina za HSA i BSA.

U poglavlju **Zaključci** kandidat je ukratko sumirao dobijene rezultate i prokomentarisao njihov fundamentalni biohemijski i mogući praktični značaj.

U poglavlju **Literatura** navedeni su radovi iz oblasti istraživanja koji iscrpno pokrivaju sve delove disertacije.

U **Prilogu** su dati dodatni rezultati dobijeni u okviru istraživanja opisanih u poglavljima **Eksperimentalni deo i Rezultati**.

B. Kratak prikaz rezultata disertacije

U ovoj doktorskoj disertaciji je određena struktura i ispitane su neke od bioloških aktivnosti hromopeptida dobijenih pepsinskom digestijom C-fikocijanina u simuliranim želudačnim uslovima. Drugi deo rada se bavio karakterizacijom vezivanja fikocijanobilina za HSA i BSA, kao i ispitivanjem efekata formiranja protein-fikocijanobilin kompleksa na stabilnost navedenih proteina.

Utvrđeno je da je C-fikocijanin izrazito podložan digestiji pepsinom u simuliranoj želudačnoj tečnosti. Pet hromopeptidnih frakcija je izolovano iz digesta, korišćenjem reverzno-fazne tečne hromatografije visokih performansi (RP-HPLC). Korišćenjem manuelnog *de novo* pristupa u tandemskoj masenoj spektrometriji, određena je sekvenca dobijenih hromopeptida: veličina hromopeptida je varirala od 2 do 13 aminokiselinska ostatka. Dobijeni hromopeptidi su pokazali izuzetan antioksidativni potencijal, pri čemu je utvrđeno i da je hromofora najzaslužnija za ove efekte. Hromopeptidi su pokazali i značajnu citotoksičnu aktivnost na dve kancerske ćelijske linije (humani cervikalni adenokarcinom i epitelni kancer kolona). Navedeni rezultati ukazuju da oralnim unosom C-fikocijanina, kao glavne pojedinačne komponente komercijalnih preparata Spiruline, nastaju hromopeptidi sa potentnom biološkom aktivnošću.

Dalje je pokazano da se fikocijanobilin specifično vezuje za HSA (K_a oko $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$). Korišćenjem UV/VIS apsorpcione, fluorescentne i CD (cirkularni dihroizam) spektroskopije utvrđeno je stereoselektivno vezivanje *M* konformera fikocijanobilina za HSA, sa stehiometrijom vezivanja 2:1 (mol liganda/ mol proteina). Korišćenjem navedenih spektroskopskih tehnika i metode molekuskog dokinga pokazano je i da se fikocijanobilin i (strukturni analog) bilirubin vezuju za ista mesta na HSA, za subdomene IB i IIA. Eksperimentima kompeticije sa markerima specifičnim za IB i IIA subdomene, dobijena je potvrda o vezivanju fikocijanobilina za oba navedena mesta na proteinu. Dalje je utvrđeno, uz pomoć CD spektroskopije i infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FT-IR), da vezivanje fikocijanobilina dovodi do diskretnih promena u konformaciji HSA, uz povećanje sadržaja α -heliksa u proteinu. Nađeno je da vezivanje tetrapirolnog liganda povećava temperaturnu stabilnost proteina (CD i fluorescentna spektroskopija), kao i da je HSA manje podložan digestiji tripsinom (SDS-PAG

elektroforeza). Dobijeni rezultati daju važne informacije vezane za transport, distribuciju i stabilnost fikocijanobilina *in vivo*, što može biti od značaja za razumevanja njegovih višestrukih benefita po zdravlje čoveka.

Slično kao kod HSA, sličnim eksperimentalnim pristupom je pokazano da se fikocijanobilin vezuje visokim afinitetom i za BSA (K_a oko $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$), sa stehiometrijom vezivanja 2:1 (mol liganda/ mol proteina). Za razliku od HSA, molekularni doking je pokazao mogućnost BSA da smesti tetrapirolni ligand u međudomensku šupljinu, dok je subdomen IB zajedničko vezivno mesto za fikocijanobilin kod oba proteina seruma. Štaviše, za razliku od HAS, BSA prevashodno vezuje *P* konformer fikocijanobilina. Utvrđeno je i da fikocijanobilin povećava temperaturnu stabilnost BSA, kao i da diskretno povećava otpornost proteina ka digestiji pepsinom. Formiranje BSA-fikocijanobilin kompleksa dovodi do delimičnog maskiranja antioksidativne aktivnosti i proteina i liganda. Međutim, utvrđeno je da formiranje kompleksa uzajamno štiti i protein i ligand od oksidacije izazvane slobodnim radikalima. Uzevši sve navedeno u obzir, BSA bi mogao biti pogodan sistem za isporuku pigmenta, koji se može koristiti za bojenje hrane, i/ili kao bioaktivna komponenta.

C. Uporedna analiza rezultata Kandidata sa rezultatima iz literature

C-fikocijanin, fotosintetski fluorescentni plavi protein cijanobakterija, i dalje privlači veliku pažnju naučne, ali i šire javnosti, pre svega zbog svoje višestruke biološke aktivnosti. U poslednje dve decenije objavljen je veliki broj naučnih studija sa ubedljivim rezultatima u prilog snažne antioksidativne, antikancerske, anti-inflamatorne i imunomodulatorne aktivnosti ovog proteina. Za sve navedene efekte u dobroj meri je zaslužan fikocijanobilin, kovalentno vezana tetrapirolna hromofora C-fikocijanina. U stručnoj literaturi, međutim, gotovo da nema podataka o digestibilnosti i biodostupnosti C-fikocijanina u simuliranim gastro-intestinalnim uslovima. U okviru ove doktorske disertacije je po prvi put pokazano da je C-fikocijanin izrazito podložan digestiji pepsinom u simuliranim želudačnim uslovima, pri čemu se dobijaju manji hromopeptidi (od 2 do 13 aminokiselinskih ostataka) sa odličnim antioksidativnim svojstvima (standardni antioksidativni testovi) i značajnom citotoksičnošću (pri koncentraciji od $90 \mu\text{M}$) na HeLa i Caco 2 kancerskim ćelijskim linijama. Citotoksična aktivnost hromopeptida je uporediva sa ranije određenom aktivnošću fikocijanobilina. U pogledu podataka o citotoksičnosti samog proteina (C-

fikocijanin), u literaturi se mogu naći razlike o koncentracijama potrebnih za izazivanje ćelijske smrti, zavisno od tipa kancerskih ćelijskih linija koje su korišćene za evaluaciju njegove citotoksičnosti. C-fikocijanin je ispoljio citotoksičnu aktivnost na HeLa ćelijskoj liniji pri znatno nižim koncentracijama u poređenju sa koncentracijama hromopeptida koje su bile potrebne za indukovanje ćelijske smrti u našoj studiji, što ukazuje da je i apo-proteinski deo C-PC-a važan za ukupnu antikancersku aktivnost proteina. Bioaktivni peptidi niskih molekulskih masa, dobijeni hidrolizom proteina iz različitih izvora, prema literaturnim podacima pokazuju citotoksične efekte pri koncentracijama koje variraju od nekoliko μM do nekoliko mM. Prema tome, hromopeptidi okarakterisani u ovoj disertaciji, imaju umerenu citotoksičnu aktivnost u poređenju sa drugim proučenim bioaktivnim peptidima niskih molekulskih masa, takođe dobijenih enzimskom hidrolizom proteina hrane. S druge strane, svi hromopeptidi su pokazali odličan antioksidativni potencijal. U poređenju sa drugim bioaktivnim peptidima male molekulske mase, hromopeptidi poreklom iz C-PC-a pokazuju značajno veću antioksidativnu aktivnost, prevashodno zahvaljujući kovalentno vezanoj tetrapirolnoj hromofori.

Sposobnost HSA da vezuje mnogobrojne i međusobno različite ligande čini ovaj protein važnim regulatorom transporta lekova i endogenih supstanci. Bilirubin je tetrapirolni proizvod metabolizma hema, a po strukturi je veoma sličan fikocijanobilinu. On se vezuje visokim afinitetom za HSA, ali se lokalizacija primarnog vezivnog mesta, uprkos mnogobrojnim studijama, ne može sa sigurnošću utvrditi. Kao glavni kandidati za vezivanje bilirubina figuriraju subdomeni IB i IIA na proteinu. Studija molekuskog dokinga u okviru ove disertacije je pokazala da su najverovatnija mesta vezivanja fikocijanobilina, ali i bilirubina, na HSA subdomeni IB i IIA, što je potvrđeno i eksperimentalnim putem, rezultatima eksperimenata kompeticije pomoću markera koji se specifično vezuju za mesta IB i IIA na HSA. Dobijena konstanta vezivanja za HSA-fikocijanobilin sistem je istog reda veličine i samo nešto manja od konstante vezivanja za HSA-bilirubin sistem, koristeći, naravno, isti eksperimentalni pristup za određivanje afiniteta kod oba protein-ligand sistema. U prilog ovome idu i rezultati koji ukazuju na sposobnost oba tetrapirolna molekula da istisnu jedan drugog iz HSA-tetrapirool kompleksa.

Dobro je poznato da vezivanje liganada može izmeniti konformaciju HSA, što može dovesti do promene sadržaja sekundarnih struktura u proteinu, odnosno povećanja ili smanjena stabilnosti proteina. Rezultati Kandidata su pokazali da vezivanje fikocijanobilina dovodi do

diskretnog povećanja sadržaja α -heliksa u HSA, što vodi povećanoj temperaturnoj stabilnosti proteina, kao i većoj otpornosti HSA prema digestiji tripsinom. Interesantno, literaturni podaci ukazuju da bilirubin dovodi do smanjene osetljivosti HSA na hidrolitički napad tripsinom.

Slično kao i kod HSA, pokazano je da fikocijanobilin ima nešto manji afinitet za BSA od bilirubina, sa istom stehiometrijom vezivanja (2:1; mol liganda/ mol proteina). BSA i HSA su homologni proteini sa homologijom u sekvenci od 76%. Oba proteina vezuju fikocijanobilin u subdomenu IB, ali za razliku od HSA (subdomen IIA) drugo vezivno mesto za fikocijanobilin kod BSA je međudomenska šupljina. Analizom dostupnih kristalnih struktura HSA i BSA uočeno je da je distanca između domena I i III (odnosno odgovarajućih bočnih lanaca u njima) kod HSA isuviše mala da bi se molekul fikocijanobilina smestio u međudomensku šupljinu proteina. Ista distanca kod BSA je veća, što za posledicu ima mogućnost vezivanja tetrapiroalne hromofore u međudomensku šupljinu proteina. U ovoj disertaciji je utvrđeno i da se fikocijanobilin za HSA vezuje kao *M* konformer, dok se *P* konformer vezuje za BSA. Literaturni podaci ukazuju da se i bilirubin vezuje za HSA kao *P* konformer, a kao *M* konformer za BSA. Prema tome, i pored sličnosti u sekvenci i 3D strukturi, hiro-optička svojstva HSA i BSA se međusobno razlikuju.

Vezivanje bioaktivnih molekula za proteine hrane može povećati njihovu oksidativnu stabilnost, ali i izmeniti njihovu biološku aktivnost. Pokazano je, na primer, da su polifenoli vezani za proteine hrane zaštićeni od oksidacije. Takođe, BSA štiti vezani bilirubin od oksidacije izazvane slobodnim radikalima, što je u saglasnosti sa rezultatima Kandidata. Dalje, dobro je poznato da vezivanje liganada za proteine može da delimično maskira antioksidativnu aktivnost kako proteina, tako i liganda, što je potvrđeno i u ovoj disertaciji, ispitivanjem antioksidativne aktivnosti fikocijanobilin-BSA kompleksa. Slično kao i kod vezivanja za HSA, interakcije fikocijanobilina sa BSA povećavaju temperaturnu stabilnost proteina, što je uočeno i kod vezivanja nekih drugih bioaktivnih liganada za BSA. Literaturni podaci pokazuju i da vezivanje liganada za proteine hrane (poput β -laktoglobulina) može odložiti pepsinsku digestiju, dok je pronađena negativna veza između afiniteta vezivanja liganda i sklonosti proteina ka digestiji. Ovo je u saglasnosti sa rezultatima kandidata da vezivanje fikocijanobilina za BSA, pri koncentracijama koji zasićuju visoko-afinitetna vezivna mesta na proteinu, dovodi do diskretne stabilizacije proteina na pepsinsku digestiju.

D. Objavljeni radovi i saopštenja koji čine deo disertacije

Radovi u vrhunskim međunarodnim časopisima (M_{21}) koji su u celini deo disertacije:

1. Minić, S.L., Stanić-Vučinić, D., Mihailovic, J., Krstić, M., Nikolić, M. R., & Ćirković Veličković, T. (2016). **Digestion by pepsin releases biologically active chromopeptides from C-phycoyanin, a blue-colored biliprotein of microalga Spirulina.** *Journal of Proteomics*, 147, 132-139. (IF 3,867; Kategorija: Biohemijske metode u istraživanjima: 15/77 u 2015. g.).
2. Minić, S.L., Milčić, M., Stanić-Vučinić, D., Radibratović, M., Sotiroudis, T. G., Nikolić, M. R., & Ćirković Veličković, T. (2015). **Phycocyanobilin, a bioactive tetrapyrrolic compound of blue-green alga Spirulina, binds with high affinity and competes with bilirubin for binding on human serum albumin.** *RSC Advances*, 5(76), 61787-61798. (IF 3,840; Kategorija: Hemija, multidisciplinarna: 33/157 u 2014. g.).

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M_{21}) čiji deo rezultata čini deo disertacije:

1. Radibratović, M., Minić, S.L., Stanić-Vučinić, D., Nikolić, M.R., Milčić, M., & Ćirković Veličković, T. (2016). **Stabilization of human serum albumin by the binding of phycocyanobilin, a bioactive chromophore of blue-green alga Spirulina: molecular dynamics and experimental study.** *PLoS One*, 11(12), e0167973. (IF 3,057; Kategorija: Multidisciplinarnе nauke: 11/62 u 2015. g.).

Rad na recenziji u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M_{21a}):

1. Minić, S.L., Stanić-Vučinić, D., Radomirović, M., Radibratović, M., Milčić, M., Nikolić, M. R., & Ćirković Veličković, T. (2017). Characterization and effects of binding of food-derived bioactive phycocyanobilin to bovine serum albumin. *Food Chemistry*. (IF 4,052; Kategorija: Hemija, primenjena: 7/72 u 2015. g.).

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M_{34})

1. Minić, S.L., Stanić-Vučinić, D., Krstić, M., Nikolić, M.R., & Ćirković Veličković, T. Digestion-released antioxidative chromopeptides of c-phycoyanin, a chromoprotein of blue-green alga spirulina, exert cytotoxic effect in human cervical adenocarcinoma and colonic cancer cells. EuroFoodChem conference, Madrid, Spain, 13th to 16th October, 2015.
2. Minić, S.L., Krstić, M., Apostolović, D., Vesić, J., Stanić-Vučinić D., Nikolić M.R., & Ćirković Veličković, T. Pepsin digestion of C-phycoyanin releases chromopeptides with potent anticancer and antioxidant activities. The FEBS 2015 congress, Berlin, Germany, 4th to 9th July, 2015.
3. Minić, S.L., Stanić-Vučinić D., Ćirković Veličković, T., & Nikolić M.R. The binding of phycocyanobilin to human hemoglobin and serum albumin: comparison with bilirubin. The FEBS EMBO 2014 Conference. Paris, France, 30th August to 4th September, 2014.

Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M₆₄)

1. Minić, S.L. Phycocyanobilin and chromopeptides from C-phycocyanin: structure, biological activity and binding to human serum albumin. 6th Conference of the Serbian Biochemical Society: Biochemistry and Interdisciplinarity: Transcending the Limits of Field. Belgrade, Serbia, 18th November, 2016.
2. Minić, S.L., Stanić-Vučinić, D., Krstić, M., Mihailović, J., Nikolić M.R., & Ćirković Veličković, T. Structure determination of chromopeptides obtained by pepsin digestion of C-phycocyanin from microalga *Arthrospira platensis*. 53rd Meeting of the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia, 10th to 11th June, 2016.
3. Minić S.L., Milčić M., Stanić-Vučinić D., Radibratović M., Sotirudis, T., Nikolić M.R., & Ćirković Veličković, T. Binding of phycocyanobilin to human serum albumin. 52nd Meeting of the Serbian Chemical Society, Novi Sad, Serbia, 29th to 30th May, 2015.

E. Zaključak

Na osnovu pregleda i ocene podnete doktorske disertacije: **“Struktura, biološka aktivnost i interakcije sa proteinama fikocijanobilina i hromopeptida C-fikocijanina iz cijanobakterije *Arthrospira platensis*”**, kandidata master biohemičara Simeona L. Minića, Komisija je mišljenja da je disertacija rezultat samostalnog istraživačkog rada i da dobijeni rezultati sadrže kvalitetan naučni doprinos u oblasti biohemije hrane.

U ovoj disertaciji je po prvi put ispitana digestibilnost C-fikocijanina, kao jedne od najvrednijih bioaktivnih komponenti modrozelenih algi (cijanobakterija), pod simuliranim želudačnim uslovima. Određena je struktura i procenjena biološka (antioksidativna i citotoksična) aktivnost izolovanih hromopeptida, malih peptida sa kovalentno vezanim fikocijanobilinom, plavom tetrapirolnom hromoforom. Po prvi put je pokazano i detaljno okarakterisano vezivanje fikocijanobilina za esencijalne proteine seruma, humani i goveđi albumin, pri čemu je potonji i protein hrane. Ispitani su i efekti vezivanja hromofore na temperaturnu i proteoličku stabilnost oba proteina, kao i uticaj formiranja kompleksa na antioksidativna svojstva oba interagujuća partnera. Metodološki gledano, disertacija je kompleksna: kandidat je najpre optimizovao postojeće protokole za izolovanje C-fikocijanina i njegove hromofore fikocijanobilina iz komercijalnog dijetetskog preparata Spiruline; korišćene su najsavremenije metode za karakterizaciju strukture hromopeptida, kao i uobičajene metode za ispitivanja protein-ligand interakcija i procenu bioloških aktivnosti ispitivanih jedinjenja.

Dobijeni rezultati koji, između ostalog, pokazuju snažnu antioksidativnu i citotoksičnu aktivnost hromopeptida, te razlike u stereospecifičnom vezivanju hromofore za serum albumine,

uz stabilizaciju proteina i uzajamnu zaštitu komponenata kompleksa od oksidacije slobodnim radikalima, osim fundamentalnog biohemijskog, mogli bi da imaju i primenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, kao i u medicini, za bolje razumevanje efekata primene i delovanja bioaktivnih supstanci i kompleksa koji sadrže vezene tetrapirojne hromofore.

Rezultati istraživanja proistekli iz ove doktorske disertacije do sada su objavljeni u okviru tri rada štampana u vrhunskim međunarodnim naučnim časopisima iz kategorije M₂₁ (Journal of Proteomics, RSC Advances i PLoS One), kao i većeg broja saopštenja predstavljenih na skupovima međunarodnog i nacionalnih značaja, štampanih u izvodu.

Na osnovu svega izloženog, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati podnetu doktorsku disertaciju Simeona L. Minića, master biohemičara, za sticanje zvanja doktora biohemijskih nauka, kao i da odobri njenu javnu odbranu.

U Beogradu, 5. maj 2017. godine

Komisija:

dr Tanja Ćirković Veličković, redovni profesor (mentor)
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Milan Nikolić, docent (mentor)
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Dragana Stanić-Vučinić, naučni savetnik (član)
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Miloš Milčić, vanredni profesor (član)
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Mihajlo B. Spasić, naučni savetnik (član)
Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Univerzitet u Beogradu