

**УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ  
ФАКУЛТЕТ НАСТАВНО-НАУЧНО ВЕЋЕ**

**ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Луке В. Драгачевић, дипломираног молекуларног биолога и физиолога**

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Хемијског факултета, одржаној 12. 12. 2019. године, именовани смо у Комисију за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације **Луке В. Драгачевића**, дипломираног молекуларног биолога и физиолога, под насловом:

**„Профилисање површинског гликозиловања микроорганизама биљним лектинима“**

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на својој седници одржаној дана 26. децембра 2019. године, на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације.

Комисија је завршену докторску дисертацију прегледала и подноси Наставно-научном већу Хемијског факултета следећи:

## **ИЗВЕШТАЈ**

### **А. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Докторска дисертација **Луке В. Драгачевића** написана је на 120 страна А4 формата (фонт „Times New Roman“, величина 12 pt, са проредом 1, маргине 2,5 cm) и садржи 37 слика и 17 табела. Дисертација се састоји из 7 поглавља: Увод (две стране), Општи део (24 страна), Циљеви истраживања (две стране), Наши радови (37 страна), Закључак (две стране), Експериментални рад (21 страна), Литература (18 страна, 215 цитата). Поред тога, дисертација садржи Захвалницу (једна страна), Сажетак на српском и енглеском језику (на по две стране), Листу скраћеница и акронима (две стране), Садржај (три стране), Биографију кандидата (две стране), Списак објављених радова и саопштења проистеклих из дисертације (једна страна), Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу (четири стране).

У **Уводу** су образложени предмет и циљ истраживања ове докторске дисертације и истакнут је значај и актуелност проблематике која је била предмет истраживања. Наведено је да је гликозилација протеина не само најзаступљенија посттранслациона модификација у природи, већ и једна од најбитнијих за функционисање организма као целине. Наведено је и да постоји потреба да се микроорганизми са којима долазимо у контакт идентификују и окарактеришу, ради бољег разумевања природе контаката који остварују микроорганизми међу собом, као

и контаката који микроорганизми остварују са домаћином. Како је површина микроорганизма прекривена бројним гликанима, олиго- или полисахаридним молекулима, везаним за протеине или липиде на ћелијској мембрани појавила се и потреба за карактеризацијом ових молекула који представљају посреднике у интеракцији микроорганизма са домаћином.

Поглавље **Општи део** обухвата три дела. У првом делу су описане структуре бактеријског ћелијског зида и фунгалног ћелијског зида, као видови гликозилације и гликанских структура на површини микроорганизма. На овај начин аутор нас упознаје са молекулским структурама које су биле детектоване током ове студије. Следећа целина подразумева опис лектинских молекула, укључујући специфичност, структуру, разне врсте класификација и опис карактеристика лектинских молекула коришћених у овој докторској дисертацији и у последњој целини је дат опис метода које се данас користе за детекцију патогена.

У поглављу **Циљеви истраживања** дефинисани су циљеви истраживања и фазе израде докторске дисертације. Циљ истраживања ове докторске дисертације је да се, кроз испитивање интеракција биљних лектина са полисахаридним структурама на површини различитих микроорганизма, профилишу површинске сахаридне структуре микроорганизма, утврде специфичне интеракције, дефинише и валидира ензим везујући лектин сорбент есеј, (енг.: *Enzyme-linked lectin sorbent assay* - ELLSA), као метода за брзу идентификацију интеракција између лектина и микроорганизма. Дефинисано је седам фаза које би требало да доведу до остваривања наведених циљева: 1) Успостављање ELLSA методе са имобилисаним микроорганизмима; 2) Валидација ELLSA методе; 3) Типизација површински доступних полисахаридних структура; 4) Потврђивање интеракција површинских полисахарида микроорганизма и лектина проточном цитометријом; 5) Поређење резултата добијених ELLSA методом и проточном цитометријом; 6) Испитивање интеракције лектина са бактеријским полисахаридима помоћу технологије аутоматизоване микроваге на кристалу кварца (енг.: *Quartz crystal microbalance* - QCM); 7) Испитивање практичне примене наведених метода.

У поглављу **Наши радови** приказани су експериментални резултати добијени током израде ове докторске дисертације, њихова анализа и дискусија. Поглавље Наши радови садржи следећа подпоглавља: Ефикасност биотиниловања и анализа чисте лектина; Одређивање оптималне концентрације лектина у ELLSA; Анализа везивања лектина и микроорганизма; Визуелизација везивања лектина; Титрација везивања лектина за микроорганизме; Испитивање везивања лектина банане (BanLec) за  $\beta$ -D-гlukan; Инхибиција везивања BanLec за  $\beta$ -D-гlukan; Валидација ELLSA методе; Специфичност везивања лектина за микроорганизме; Тачност ELLSA и проточне цитометрије; Линеарност ELLSA и проточне цитометрија; Прецизност ELLSA и проточне цитометрије; Међусобно поређење везивања коришћених лектина за микроорганизме; Испитивање интеракција лектина са површинским бактеријским сахаридима помоћу QCM технологије; Поређење везивања серумских имуноглобулина (IgG и IgA) са везивањем лектина за микроорганизме; и Испитивање гликозилације вирусних вакцина.

У Поглављу **Експериментални део** је дат преглед коришћених хемикалија, реагенаса, биљних лектина и микроорганизма (бактерија и гљива) коришћених у изради ове дисертације. За анализу експресије сахараида на површини микроорганизма коришћени су биљни лектини *Maackia amurensis* аглутинин (MAA), сојин аглутинин (SBA), *Lens culinaris* аглутинин (LCA), *Wheat germ* аглутинин (WGA), *Ricinus communis* аглутинин (RCA<sub>120</sub>), *Canavalia ensiformis* лектин (Con A) и *Sambucus nigra* аглутинин (SNA I) и рекомбинантни BanLec (*Musa acuminata*) пречишћен из ћелија *Escherichia*

*coli*. Затим је дат преглед примењених техника и инструмената са детаљним приказом услова рада, као и преглед математичких/статистичких метода које су коришћене у анализи података добијених у овој докторској дисертацији, са кратким освртом на основне принципе оптимизације, валидације и стандардизације аналитичке методе.

Поглавље **Закључак** садржи закључке изведене на основу резултата ове тезе. У овом поглављу дефинисан је и научни допринос ове дисертације.

У поглављу **Литература** наведени су радови из области истраживања који покривају све делове дисертације. Наведено је укупно 215 референци према презименима првих аутора.

## **Б. КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА**

Резултати ове докторске дисертације сумирани су у закључима проистеклим из експерименталног рада. Кандидат је успоставио и валидирао ELLSA методу, која служи за одређивање интеракције између сахаридних структура и лектина у микротитарским плочама.

Показано је да се ELLSA може са великом поузданошћу користити за одређивање присуства сахарада на површини микроорганизама. Показано је да микроорганизми представљају лако доступан и репродуцибилан извор сахаридних структура, односно да могу служити као самообнављајући извор гликанских проба, које се могу користити за анализу специфичности различитих лектина. Идентификовани су специфични микроорганизми који се могу користити као стабилан извор  $\beta$ -глюкана, манозе и галактозе, па самим тим као стандарди за анализу лектина специфичних за ове сахараде. Показано је да се ELLSA метода може користити за међусобно поређење специфичности различитих лектина.

Такође, показано је да неки од лектина који су коришћени у изради ове дисертације испољавају велику међусобну сличност у везивању за микроорганизме. И док је оваква реактивност за неке лектине била очекивана, као на пример за LCA и ConA, сличност у везивању SBA са LCA није очекивана и може бити последица изабране групе микроорганизама. Наиме, лектини SBA и LCA, иако потпуно другачије специфичности, показали су висок ниво корелације приликом везивања за површинске гликане нарочито због интензивног везивања за *Lactobacillus helveticus* LAFTI и *Lactobacillus acidophilus* ViVag. Избор две бактеријске врсте које на својој површини, изгледа, имају више различитих сахарада теоретски је могао произвести овакав резултат. Сличност је регистрована у сигнаlima добијеним и приликом везивања WGA и LCA за тестиране микроорганизме, а разлог томе је највероватније широк спектар специфичности ових лектина, и/или истовремено присуство истих сахаридних структура на различитим микроорганизмима. N-ацетилглюкозамин који везује WGA налази се на ћелијском зиду Грам позитивних и Грам негативних бактерија. Значајна сличност добијена међу различитим лектинима представља управо ограничавајући фактор за употребу лектина у аналитичке и дијагностичке сврхе, и вероватно је један од разлога зашто та врста дијагностичких метода није и не може бити у широј употреби. Специфичности VanLec (рекомбинантног лектина банане) и RCA<sub>120</sub> (нетоксичног лектина рицинуса) нису значајно корелирале са осталим тестираним лектинима, па се за њих може рећи да имају јединствену специфичност, барем у оквиру методологије приказане у овој тези.

Поређењем ELLSA са проточном цитометријом установљено је да се предности ELLSA у односу на проточну цитометрију састоје од веће прецизности и употребе значајно мањих количина реагенса. Иако у овој тези нису директно поређени

результати ELLSA и аглутинационих техника, ипак се може закључити да ELLSA има велику предност и у односу на аглутинационе методе. Наиме, познато је да је за извођење аглутинационих метода потребна велика количина реагенса, и што је много важније, да се резултати углавном визуелно процењују, што може довести до погрешне интерпретације добијених резултата, и код веома искусних истраживача.

Поред података о специфичности везивања лектина за површинске гликане микроорганизама добијених ELLSA, детаљније информације о кинетици везивања лектина за целе микроорганизме могуће је добити без коришћења обележивача, коришћењем QCM бактеријских чипова. QCM метода је потврдила резултате добијене ELLSA и потврдила податке из литературе о ниском афинитету лектинских интеракција, чија су се константе асоцијације за све испитиване интеракције кретале у опсегу од  $10^3$  до  $10^5$ . Резултати добијени у овој дисертацији показују да када се упоредно користе, обе методе омогућавају темељно испитивање површинских гликана микроорганизама али и рецептора домаћина који везују те гликане. ELLSA пружа могућност анализирања великог броја лектина и микроорганизама, док QCM пружа увид у кинетику интеракција између лектина и микроорганизама.

Упоредна анализа везивања лектина и серумских антитела показала је да су серумска антитела, која се везују за микроорганизме, а за које је у већем броју студија показано да делом представљају и природна антитела, махом знатно већег афинитета од лектинских, што је у сагласности са подацима из литературе.

Практични смисао тестирања површинске гликозилације микроорганизама различитим лектинима потврђен је резултатом који је добијен тестирањем и међусобним поређењем гликозилације вирусних вакцина. Установљено је да, како вирус преузима синтетску машинерију домаћина, тако је и његова површинска гликозилација директно зависна од те синтетске машинерије домаћина, па се на основу гликанских структура не може разликовати од сопствених структура, што вирусима пружа својеврстан вид заштите, а може представљати и проблем при дизајнирању ефикасних вирусних вакцина.

У овој тези је показано да, иако су лектинске интеракције ниског афинитета, и постоје преклапања у специфичностима различитих лектина, пажљивим одабиром комбинација лектина и анализата могуће је успоставити различите ефикасне системе за детекцију полисахарида на микроорганизмима и за мерење специфичности и афинитета лектина.

## **В. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА КАНДИДАТА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ**

Микроорганизми на својој површини експримирају различите врсте угљених хидрата. Да би извршили типизацију и/или идентификацију површински доступних микробних полисахарида помоћу лектина истраживачи су раније користили аглутинационе/преципитационе методе<sup>1</sup>, док се данас користе осетљивије методе које захтевају мање количине реагенса, нпр. метода лектинских микрочипова<sup>2</sup> која је слична методи примењеној у овој докторској дисертацији. Наиме, кандидат је поставио аналитички тест за испитивање везивања биотинилованих лектина за микроорганизме у микротитарским плочама. Овим тестом прво је анализирао везивање VanLec-а за 27 различитих микроорганизама, упоредо са везивањем 7 других лектина: SBA, LCA, WGA, RCA<sub>120</sub>, Con A, SNA I и MAA. Кандидат је показао да се од свих тестираних лектина једино VanLec везивао за све гљиве коришћене у изради ове тезе. Познато да је кључни структурни полисахарид унутрашњег ћелијског зида *Candida albicans*,  $\beta$ -(1,3)-

глюкан, а да спољни ћелијски зид гљива може бити прекривен манозилованим протеинима који су умрежени  $\beta$ -(1,6)-глюканом, на основу чега је кандидат претпоставио да се VanLec везивао за  $\beta$ -глюкан. То је и потврђено инхибицијом везивања са  $\beta$ -глюканом за *Saccharomyces boulardii* (IC<sub>50</sub> 1.81  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) и *Penicillium roqueforti* (IC<sub>50</sub> 1.10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Подаци из литературе говоре да нативни VanLec показује широку специфичност, па се тако везује за манозу, глукозу, 3-O- $\alpha$ -d-глукозу као и терминалну глукозу у  $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,6-глюкозил олигосахаридима<sup>1,3</sup>, што је у сагласности са добијеним резултатима. Добијени резултати показују да се тестирање са VanLec, може прелиминарно користити за детектовање присуства  $\beta$ -1,3/1,6-везаних полисахарида који постоје на површини гљива, али да се добијени резултати морају потврдити и другом методом, због афинитета који VanLec поседује ка манози, јер је даљим тестирањем установљено и везивање VanLec за различите *Salmonella enterica* серотипове. Ова интеракција до сада у литератури није описана, тј. није описано везивање VanLec-а за *S. enterica* серотипове, док је рецимо познато да *S. enterica* садржи липополисахарид (LPS) богат манозом и показано је везивање маноза везујућег лектина (енг.: *mannose binding lectin*; MBL) за овај LPS<sup>4</sup>.

Такође, Yasuda и сарадници су показали, коришћењем лектинског микроесеја, присуство полисахарида који садрже галактозу на површини *L. casei*<sup>2</sup>. Кандидат је коришћењем ELLSA методе регистровао везивање RCA<sub>120</sub> и галактозних резидуа на површини *Lactobacillus casei* DG. Ова интеракција је била врло специфична, у смислу да се RCA<sub>120</sub> од анализирана 32 микроорганизама везивао искључиво за *L. casei* DG.

Процес валидације ELLSA-а методе спроведен је у складу са смерницама европске медицинске агенције (енг.: *European Medicines Agency, Guideline on bioanalytical method validation*, 2011), дефинишући већину наведених карактеристика у складу са специфичностима наведеног теста. Као контролну методу за детекцију интеракција лектина са површинским полисахаридним структурама микроорганизама кандидат је одабрао проточну цитометрију. С обзиром на претходно добијене резултате који су у складу са постојећим литературним подацима, кандидат је за процес валидације одабрао рекомбинантно произведени VanLec и комерцијално доступан RCA<sub>120</sub>.

Резултати везивања VanLec-а добијени ELLSA и проточном цитометријом показали су нижи коефицијент корелације од очекиваног (Пирсонов коефицијент  $r=0.80$ ), мада су исти микроорганизми показали позитивност/негативност у оба теста, интензитети сигнала су били другачији, што највероватније зависи од техничких специфичности метода, где на сигнал у проточној цитометрији више утиче величина анализираних честица и сигнал не бива умножен ензимском реакцијом. За лектин RCA<sub>120</sub> установљена је висока корелација ( $r=0.95$ ) између вредности сигнала добијених након везивања лектина за микроорганизме ELLSA методом и проточном цитометријом. Разлог томе је афинитет RCA<sub>120</sub> за галактозне резидуе *L. casei* DG, што је на изабраном скупу микроорганизама представљало јединствен случај, и што је у сагласности са резултатима које су објавили Balzaretти и сарадници, 2017 године<sup>5</sup>. Ова дисертација показује да *L. casei* DG има галактозу на површини и да је управо то чини јединственом у односу на све остале тестиране сојеве *Lactobacillus*-а.

Коефицијент варијације добијен тестирањем ELLSA методе за репетитивност био је нижи од 5%, док је коефицијент репродукцибилности био нижи од 10% па се према литературним подацима метода сматра високо прецизном и репродукцибилном<sup>6</sup>. С обзиром да је коефицијент детерминанције проточне цитометрије био нижи, а вредности стандардне девијације и коефицијента варијације виши у односу на ELLSA методу, резултати ове дисертације показују да је ELLSA метода поузданија.

Употребом QCM методе, кандидат је показао да је промена интензитета фреквенције у случају везивања испитиваних лектина слична или већа од интензитета који су наведени у литератури, а који су били резултат везивања лектина за чип за који су директно везани сахаридни остаци<sup>7</sup>.

Кандидат је поредио и везивање лектина за микроорганизме са везивањем укупног серумског IgG и IgA, као и са везивањем појединачних поткласа IgG и IgA. Интересантно је да ни један од коришћених лектина није показао сличност са везивањем укупног IgG, док је Con A показао значајну сличност са везивањем IgG1, IgG3 и IgG4, што може бити веома битан резултат, с обзиром на то да патолошки механизам модела Con A индукованог хепатитиса миша још увек није у потпуности расветљен<sup>8</sup>.

Добијена је и значајна подударност везивања серумског IgA са везивањем VanLec, из чега произилази да би везивање  $\beta$ -глюкана могла бити доминантна специфичност серумског IgA, док афинитет за везивање манозних структура, присутаних на *S. enterica* серотиповима није показан. Такође је интересантно да је везивање серумског IgA за микроорганизме могуће у великој мери инхибирати комбинацијом моносахарида. Везивање, саливарног IgA за декстране описано је у литератури<sup>9</sup>. Међутим иако  $\beta$ -глюкани постоје и на другим врстама квасаца, серумски IgA није показао везивање за *S. cerevisiae* ни *S. boulardii*, као и чињеница да декстрини поседују  $\alpha$ -1,6 гликозидну везу овакав резултат отвара нова научна питања, на које треба дати одговоре у наредним студијама.

У последњој фази рада, кандидат је тестирао везивање лектина за вирусне вакцине адсорбоване на пластику са циљем да установи вид гликозилације који је присутан на вирусним партикулама. На основу добијених података, показана је велика сагласност у везивању лектина за две вакцине против вируса грипа, као и значајна сагласност у везивању лектина за вакцине произведене у сисарским ћелијама из чега је произашао закључак да вируси углавном преузимају синтетску машинерију ћелија домаћина и да на тестираним вакцинама није нађена за вирус специфична гликозилација, што је било складу са подацима из литературе<sup>10</sup>.

## Литература:

1. Mo H, Winter HC, Van Damme EJM, Peumans WJ, Misaki A, Goldstein IJ. Carbohydrate binding properties of banana ( *Musa acuminata* ) lectin. *Eur J Biochem.* 2001;268(9):2609-2615. doi:10.1046/j.1432-1327.2001.02148.x
2. Yasuda E, Tateno H, Hirabayashi J, Iinob T, Sako T. Lectin microarray reveals binding profiles of *Lactobacillus casei* strains in a comprehensive analysis of bacterial cell wall polysaccharides. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011;77(13). doi:10.1128/AEM.00240-11
3. Goldstein IJ, Winter HC, Mo H, Misaki A, Van Damme EJM, Peumans WJ. Carbohydrate binding properties of banana ( *Musa acuminata* ) lectin. *Eur J Biochem.* 2001; 268(9):2616-2619. doi:10.1046/j.1432-1327.2001.02149.x
4. Kuhlman M, Joiner K, Ezekowitz RA. The human mannose-binding protein functions as an opsonin. *J Exp Med.* 1989; 169(5):1733-1745. doi: 10.1084/jem.169.5.1733.
5. Balzaretto S, Taverniti V, Guglielmetti S, Fiore W, Minuzzo M, Ngo HN, Ngere JB, Sadiq S, Humphreys PN, Laws AP. A Novel Rhamnose-Rich Hetero-exopolysaccharide Isolated from *Lactobacillus paracasei* DG Activates THP-1 Human Monocytic Cells. *Appl Environ Microbiol.* 2017 Jan 17;83(3):e02702-16. doi: 10.1128/AEM.02702-16.
6. Biddlecombe RA, Law B. Immunoassay: a Practical Guide. Taylor & Francis Group, London, UK, 1996.

7. Shang K, Song S, Cheng Y, Guo L, Pei Y, Lv X, Aastrup T, Pei Z. Fabrication of Carbohydrate Chips Based on Polydopamine for Real-Time Determination of Carbohydrate-Lectin Interactions by QC Biosensor. *Polymers*. 2018; 10(11):1275. doi: 10.3390/polym10111275
8. Hao J, Sun W, Xu H. Pathogenesis of Concanavalin A induced autoimmune hepatitis in mice. *Int Immunopharmacol*. 2022; 102:108411. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108411.
9. Brown TA, Mestecky J. Immunoglobulin A subclass distribution of naturally occurring salivary antibodies to microbial antigens. *Infect Immun*. 1985; 49(2):459-462. doi: 10.1128/iai.49.2.459-462.1985
10. Lin G, Simmons G, Pöhlmann S, Baribaud F, Ni H, Leslie GJ, Haggarty BS, Bates P, Weissman D, Hoxie JA, Doms RW. Differential N-linked glycosylation of human immunodeficiency virus and Ebola virus envelope glycoproteins modulates interactions with DC-SIGN and DC-SIGNR. *J Virol*. 2003; 77(2):1337-1346. doi: 10.1128/jvi.77.2.1337-1346.2003.

## Г. РАДОВИ И САОПШТЕЊА КОЈИ СУ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Резултати испитивања у оквиру ове докторске дисертације објављени су у три научна рада. Један научни рад објављен је у врхунском међународном часопису (M21) и два рада у истакнутим међународним часописима (M22).

### Рад објављен у врхунском међународном часопису (M21):

1. Lopadic Z, **Dragacevic L**, Popovic D, Andjelkovic U, Minic R, Gavrovic-Jankulovic M. BanLec-eGFP chimera as a tool for evaluation of lectin binding to high-mannose glycans on microorganisms. *Biomolecules* 2021 Jan; 11(2), 180; doi: [10.3390/biom11020180](https://doi.org/10.3390/biom11020180)

### Радови објављени у истакнутим међународним часописима (M22):

1. **Dragacevic L**, Djordjevic B, Gavrovic-Jankulovic M, Ilic V, Kanazir D, Minic R. ELLSA based profiling of surface glycosylation in microorganisms reveals that  $\beta$ -glucan rich yeasts' surfaces are selectively recognized with recombinant banana lectin. *Glycoconj J*. 2020 Feb;37(1):95-105. doi: [10.1007/s10719-019-09898-8](https://doi.org/10.1007/s10719-019-09898-8)
2. **Dragacevic L**, Lopadic Z, Gavrovic-Jankulovic M, Živkovic I, Blagojevic V, Popovic N, Minic R. Comparison of Enzyme-Linked Lectin Sorbent Assay and Flow Cytometry for Profiling Microbial Glycans. *Appl Biochem Biotechnol*. 2022 Jan; 11; doi: [10.1007/s12010-021-03772-w](https://doi.org/10.1007/s12010-021-03772-w)

### Саопштење са међународног научног скупа штампано у изводу (M34):

1. **Dragacevic L**, Djordjevic B, Gavrovic-Jankulovic M, Ilic V, Minic R. Typing of surface glycosylation of microorganisms by lectins with in house ELISA. Abstract book, page 107. *X Probiotics, prebiotics and New Foods*, 8.-10. September 2019. Universita Urbaniana, Rome, Italy
2. Minić R, **Dragačević L**, Živković I. Glycan structures found in viral vaccines are largely dependent on the cell type in which viruses are cultivated. *6th European Congress of Immunology* (6th ECI 2021) virtually held September 1-4, 2021

## **Д. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Оригиналност ове докторске дисертације проверена је на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду, бр. 204/22. 06. 2018). Помоћу програма iThenticate, утврђено је да количина подударарања текста износи 26%. Највеће подударарање са појединачним извором било је 2%. Комисија је утврдила да је у питању је извор који се бавио прегледом аналитичких метода које укључују употребну лектина, такође је утврђено је да подударарање засновано на стручним терминима и да је извор у делу у коме се прекалапа са тезом прописно цитиран, пре свега у уводном делу дисертације. Подударност са другим изворима је била  $\leq 1\%$  и тај степен подударности последица је цитираних протокола, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места у вези са темом дисертације, као и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из дисертације, што је у складу са чланом 9. горе поменутог Правилника. На основу свега изнетог, Комисија сматра да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

## **Ђ. ЗАКЉУЧАК КОМИСИЈЕ**

На основу свега изложеног, Комисија закључује да је кандидат Лука В. Драгачевић успешно одговорио на све постављене задатке који се тичу профилисања површинских гликанских структура различитих микроорганизама, као и дефинисање успешне методологије за испитивање површинских гликана микроорганизама употребом биљних лектина. Кандидат је показао да ELLSA метода даје резултате који одговарају резултатима добијеним традиционалним методама попут проточне цитометрије, али и да се савремене методе попут технологије аутоматизоване микроваге на кристалу кварца заједно са напредним статистичким методама могу успешно применити у испитивању интеракција гликанских структура и лектина, а самим тим и у идентификацији и профилисању површинских структура микроорганизама. Добијени резултати прате савремене правце у анализи површинских гликана на један приступачан начин и осим што продубљују фундаменталних сазнања о саставу гликана, дају и информације о афинитету лектинских молекула, и могу се применити и у пракси за анализу гликозилације вирусних вакцина.

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у форми три научна рада штампана у целини. Један научни рад објављен је у врхунском међународном часопису (M21) а два рада су објављена у истакнутим међународним часописима (M22). Резултати ове дисертације су објављени у и форми саопштења штампана штампаних у изводу две међународне научне конференције (M34).

Комисија сматра да резултати приказани у оквиру ове докторске дисертације представљају оригиналан и значајан научни допринос области биохемије и позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Луке В. Драгачевића, дипломираног молекуларног биолога и физиолога.

На основу свега наведеног, а у складу са Законом о високом образовању и Статутом Универзитета у Београду – Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета да поднеу



докторску дисертацију **Луке В. Драгачевић**, дипломираног молекуларног биолога и физиолога, под насловом: **„Профилисање површинског гликозиловања микроорганизама биљним лектинима“** прихвати и одобри његову јавну одбрану за стицање академског звања доктора биохемијских наука.

Београд, 27.10. 2022. године

**Комисија**

---

др Наталија Половић, редовни професор  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

др Рајна Минић, научни саветник  
Универзитет у Београду  
Институт за медицинска истраживања

---

др Марија Гавровић-Јанкуловић, редовни професор  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

др Весна Илић, научни саветник  
Универзитет у Београду  
Институт за медицинска истраживања

---

др Милица Поповић, ванредни професор  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет