

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Наставно-научном већу

Предмет: Извештај о оцени испуњености услова кандидата и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације Милице В. Радибратовић, истраживача сарадника Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду.

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета, Универзитета у Београду одржаној 13. децембра 2018. године изабрани смо за чланове Комисије за оцену испуњености услова кандидата и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације Милице В. Радибратовић, истраживача сарадника Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду, под насловом:

„Конформационе промене албумина током везивања биоактивних лиганда из хране“

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад Милице В. Радибратовић, мастер хемичара, Комисија подноси Наставно-научном већу Хемијског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографски подаци о кандидаткињи

Милица Радибратовић рођена је 29.11.1982. године у Београду. Хемијски факултет Универзитета у Београду, смер дипломирани хемичар, уписала је 2001. године, а дипломирала је 2008. године са просечном оценом 8,27 и оценом 10 на дипломском раду. Мастер студије на Хемијском факултету Универзитета у Београду, смер дипломирани хемичар - мастер, уписала је 2008. године и завршила са просечном оценом 9,75. Мастер рад под називом: „Молекулско динамичка симулација протеинског комплекса eEF-2/ETA“ одбранила је са оценом 10 и стекла звање дипломирани хемичар - мастер. Од 01.02.2011. године запослена је као истраживач приправник, након чега је изабрана у звање истраживач сарадник на Институту за хемију, технологију и металургију, Универзитета у Београду. Докторске студије на Хемијском факултету Универзитета у Београду, смер доктор хемијских наука, уписала је у октобру 2010. године. Учествовала је у извођењу наставе на Хемијском, Пољопривредном и Физичком факултету Универзитета у Београду, као и на Гент Универзитету у Јужној Кореји из следећих предмета:

- Основи примене рачунара у хемији (Хемијски факултет)

- Основи хемије (Физички факултет)
- Општа хемија (Пољопривредни факултет)
- Аналитичка хемија (Пољопривредни факултет)
- Општа и неорганска хемија (Гент, Јужна Кореја)
- Аналитичка хемија (Гент, Јужна Кореја)

Током последипломских студија, као добитник DAAD стипендије, у јулу 2009. године боравила је на стручном усавршавању на Max Planck Институту у Дрездену, Немачка. Такође, била је ангажована као гостујући истраживач и асистент у настави од септембра до децембра (три месеца) 2017. године на Гент Универзитету (Ghent University Global Campus), Инчон, Јужна Кореја, испостави Гент Универзитета, Гент, Белгија.

Б. Објављени научни радови и саопштења

Кандидаткиња је до сада објавила 9 научних радова, од чега 5 у међународним часописима изузетних вредности (M21a), 3 у врхунским међународним часописима (M21), и 1 рад у водећем међународном часопису (M22). Кандидаткиња је први аутор на два рада, једном раду категорије M21a и једном раду категорије M21. Коаутор је и 13 саопштења на скуповима међународног и националног значаја. Библиографија кандидата дата је у **Прилогу**.

В. Образложење теме

1. Научна област:

Научна област: Хемија

Ужа научна област: Примењена хемија

2. Предмет рада:

Предмет рада је теоријско испитивање стабилности и конформационих промена глобуларних протеина албуминског типа при везивању биоактивних хетероцикличних лиганда пореклом из хране методама рачунарске хемије. Први део рада биће посвећен проучавању интеракција фикоцијанобилина (PCB), биоактивног, тетрапиролног молекула плаво-зелене алге Спирулина, при везивању за хумани серум албумин (HSA) на два различита места, испитивању утицаја везаног PCB на структурну стабилност HSA и конформацију самог лиганда, као и испитивање везивања физиолошки релевантних лиганда за HSA у комплексу са PCB. Предмет другог дела ове докторске дисертације биће теоријско испитивање структурних промена и стабилности алфа-лакталбумина (ALA) при уклањању калцијумовог јона, као и везивање и конформациона стабилност ALA у холо и апо форми при везивању најзаступљенијег катехина из зеленог чаја, епигалокатехин-3-галата (EGCG). Најсавременијим методама рачунарске хемије биће детаљно проучене протеин-лиганд интеракције и утицај везивања лиганда на конформационе промене протеина. За успешну симулацију протеин-лиганд система потребно је развити одговарајуће поље сила за лиганд, тако да ће у овој дисертацији бити испитане и развијене методе за брзо и поуздано одређивање параметара поља сила за хетероцикличне лиганде.

3. Научни циљ истраживања:

У оквиру ове дисертације формулисано је неколико циљева:

- 1) Одређивање најповољнијег везивног места лиганда у протеину;
- 2) Прецизно одређивање протеин-лиганд везивне енергије, уз узимање у обзир динамичке природе ових интеракција;
- 3) Одређивање нових параметара поља сила за хетероцикличне лиганде;
- 4) Испитивање типа интеракција између лиганда и протеина и декомпозиција ових интеракција на електростатички и дисперзион допринос;
- 5) Динамичка анализа утицаја везивања хетероцикличних лиганда на конформацију и стабилност глобуларних протеина.

4. Методе истраживања

С обзиром на захтеве исказане у циљевима, у току израде докторске дисертације биће коришћене следеће методе рачунарске хемије:

- I. Квантно-хемијски прорачуни: одређивање геометрије лиганда и вибрационих параметара потребних за одређивање параметара поља сила и прецизно одређивање енергија протеин-лиганд интеракција;

- II. Молекулски докинг: одређивање најповољнијег места везивања лиганда у протеину и анализирање интеракција између протеина и лиганда;
- III. Молекулска динамика:
 - а) симулација конформационих и структурних промена протеина након везивања лиганда
 - б) напредна анализа резултата добијених молекулско-динамичким симулацијама коришћењем РМСФ вредности за сваки аминокиселински остатак
 - в) анализа 2Д-РМСД дијаграма
 - г) кластеровање протеинских конформација и одређивање радијуса жирације
 - д) временски РМСД профили специфичних аминокиселинских остатака
 - ђ) растојања соних мостова, јона и лобова кључних за одржање структуре протеина;
- IV. Биоинформатичке методе: софтверско претраживање протеинских база података у циљу идентификације протеина.

5. Актуелност проблематике у свету

Протеини су комплексни макромолекули укључени у готово све биолошке/биохемијске процесе захваљујући различитим величинама и конформацијама које могу заузети. Неопходни су за структуру, функцију и регулацију ткива и органа. Познавање структуре протеина је први корак за разумевање његове функције и механизма деловања на молекулском нивоу. Методе рачунарске хемије се све чешће користе при одређивању делова структуре протеина, као и за симулацију понашања протеина у реалним системима [1]. Напредним методама молекулског моделовања упареним са молекуско-динамичким симулацијама може се са великом сигурношћу одредити конформација покретљивих делова протеина, који због своје покретљивости нису могли бити одређени експерименталним техникама [2, 3]. Молекулски докинг је најуспешнија и тренутно најкоришћенија метода рачунарске хемије за одређивање најповољнијег места везивања лиганда у протеину [4], док је молекулска динамика метода која се данас искључиво користи за симулацију понашања протеина у различитим растворима [5]. Једна од главних примена молекулског докинга је виртуални скрининг у циљу идентификације нових, активних једињења за специфични протеин. Иако се не користи као самостална техника, већ се укључују и друге теоријске методе као што је молекулска динамика и разне експерименталне технике, показала се веома успешном [6]. Међутим, резултати

молекулског докинга и молекулске динамике у многоме зависе од параметара лиганда и протеина који се користе у симулацији, као и од међусобне усклађености тих параметара.

Интеракције између лиганда и протеина, као и стабилност протеин-лиганд комплекса се широко примењују у области хемије хране и медицине [4]. Поред значаја за фундаменталну науку, ове интеракције имају и велику примену у синтези нових, ефикаснијих и безбеднијих лекова за различите болести, као и у бољем искоришћењу биоактивних лиганда из хране [7, 8]. Стога, у овом раду је посебан акценат стављен на испитивање понашања, промене конформације и стабилности протеина у присуству различитих лиганда.

6. Очекивани резултати

У оквиру предложених истраживања, у овој докторској дисертацији биће испитан утицај везивања различитих хетероцикличних лиганда из хране на глобуларне протеине албуминског типа. Резултати ове докторске дисертације ће дати оригиналан научни допринос испитивању нековалентних интеракција протеин-лиганд комплекса, укључујући водоничне везе, интеракције између ароматичних прстенова, формирање сонних мостова, као и дисперзионе силе. Очекује се да ће конформационе промене протеина након везивања одговарајућег лиганда, бити детаљно анализирани и објашњени у циљу испитивања стабилности протеина након везивања малих молекула. Такође, очекују се и резултати који би пружили објашњење конформационих промена протеина које би могле имати значајан утицај на афинитет везивања других важних биоактивних молекула, метаболита и лекова. Поред тога, добијени резултати требало би да пруже увид у структурни механизам стабилизације протеина лигандом и на тај начин објасне експериментално добијене резултате. Добијени резултати ће бити објављени у врхунским научним часописима који су од значаја за ову научну област.

Г. Закључак Комисије

На основу свега изложеног, Комисија је мишљења да је предложена тема докторске дисертације научно заснована и веома актуелна у свету и да ће добијени резултати дати значајан допринос испитивању интеракција и конформационих промена протеина насталих након додатка лиганда. Стога, предлажемо Наставно-научном већу Хемијског факултета у Београду да одобри Милици В. Радибратовић, мастер-хемичару, израду докторске дисертације под измењеним насловом: „Теоријско проучавање конформационих промена албумина током везивања биоактивних лиганда из хране“.

За ментора предлагемо др Милоша Милчића, ванредног професора Хемијског факултета и др Тању Ћирковић Величковић, редовног професора Хемијског факултета, дописног члана САНУ и редовног професора Универзитета у Генту, Јужна Кореја.

Београд, 30.05.2019. године

Чланови Комисије:

др Милош Милчић, ванредни професор
Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Тања Ћирковић Величковић, редовни професор
Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Драгана Станић-Вучинић, научни саветник
Хемијског факултета Универзитета у Београду

Др Милан Николић, доцент
Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Горан Јањић, научни-сарадник
ИХТМ Универзитета у Београду

Прилог

Радови објављени у часописима од међународног значаја (M20)

Радови објављени у међународним часописима изузетних вредности (M21a)

1. **Radibratović Milica**, Al-Hanish Ayah, Minić Simeon L, Radomirović Mirjana, Milčić Miloš K, Stanić-Vučinić Dragana J, Ćirković Veličković Tanja D *Stabilization of apo α -lactalbumin by binding of epigallocatechin-3-gallate: Experimental and molecular dynamics study*, FOOD CHEMISTRY, (2019), vol. 278, str. 388-395. Импакт фактор(2017)=4,946.
2. Minić Simeon L, Radomirović Mirjana, Savković Nina, **Radibratović Milica**, Mihailović Jelena, Vasović Tamara, Nikolic Milan R, Milčić Miloš K, Stanić-Vučinić Dragana J, Ćirković Veličković Tanja D *Covalent binding of food-derived blue pigment phycocyanobilin to bovine beta-lactoglobulin under physiological conditions*, FOOD CHEMISTRY, (2018), vol. 269, str. 43-52. Импакт фактор(2017)=4,946.
3. Minić Simeon L, Stanić-Vučinić Dragana J, Radomirović Mirjana, Radibratović Milica, Milčić Miloš K, Nikolić Milan R, Ćirković Veličković Tanja D *Characterization and effects of binding of food-derived bioactive phycocyanobilin to bovine serum albumin* FOOD CHEMISTRY, (2018), vol. 239, str. 1090-1099. Импакт фактор(2017)=4,946.
4. Al-Hanish Ayah, Stanić-Vučinić Dragana J, Mihailović Jelena, Prodić Ivana, Minić Simeon L, Stojadinović Marija M, Radibratović Milica, Milčić Miloš K, Ćirković Veličković Tanja D *Noncovalent interactions of bovine alpha-lactalbumin with green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate* FOOD HYDROCOLLOIDS, (2016), vol. 61, str. 241-250. Импакт фактор(2016)=4,747.
5. Apostolović Danijela, Stanić-Vučinić Dragana J, de Jongh Harmen HJ, de Jong Govardus AH, Mihailović Jelena, Radosavljević Jelena, Radibratović Milica, Nordlee Julie A, Baumert Joseph L, Milčić Miloš K, Taylor Steve L, Clua Nuria Garrido, Ćirković Veličković Tanja D, Koppelman Stef J *Conformational stability of digestion-resistant peptides of peanut conglutins reveals the molecular basis of their allergenicity* SCIENTIFIC REPORTS, (2016), vol. 6, Article number: 29249. Импакт фактор(2014)=5,578.

Радови објављени у врхунским међународним часописима (M21)

6. Prodić Ivana, Stanić-Vučinić Dragana J, Apostolović Danijela, Mihailović Jelena, **Radibratović Milica**, Radosavljević Jelena, Burazer Lidija M, Milčić Miloš K, Smiljanić Katarina T, van Hage M, Ćirković Veličković Tanja D *Influence of peanut matrix on stability of allergens in gastric-simulated digesta: 2S albumins are main contributors to the IgE reactivity of short digestion-resistant peptides* CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, (2018), vol. 48 br. 6, str. 731-740. Импакт фактор(2017)=5,158.

7. **Radibratović Milica**, Minić Simeon L, Stanic-Vučinić Dragana J, Nikolić Milan R, Milčić Miloš K, Ćirković Veličković Tanja D *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, (2016), vol. 11 br. 12, Article number: e0167973. . Импакт фактор(2014)=3,234.

8. Minić Simeon L, Milčić Miloš K, Stanić-Vučinić Dragana J, **Radibratović Milica**, Sotiroidis Theodore G, Nikolić Milan R, Ćirković-Veličković Tanja D *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, (2015), vol. 5 br. 76, str. 61787-61798. Импакт фактор(2014)=3,840.

Радови објављени у водећим међународним часописима (M22)

1. Zarić Bozidarka L, Bukorović Milica V, Stojanović Srdjan D *Strong and Weak Hydrogen Bonds in Sm/Lsm Oligomeric Assemblies: a Comparison of Intra- and Interchain Interaction* DIGEST JOURNAL OF NANOMATERIALS AND BIOSTRUCTURES, (2013) vol. 8 br. 2, str. 639-654. Импакт фактор(2011)=1,200.

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

1. I. Milovanović, **M. Bukorović**, G. Janjić, A. Kapor, Study of stacking interactions between bipyridyl ligands in crystal structures of octahedral metal complexes, 1st Humboldt Conference on noncovalent interactions, 15-18 November 2007 Vrsac, Serbia, Zbornik radova str. 75.

2. **M. Bukorović**, B. Zarić, S. Zarić, M. Milčić, Theoretical studies of interactions in Hfq protein from E. Coli, 2nd Conference on Drug Development for the Third World: From Computational Molecular Biology to Experimental Approaches, 1-6 June 2009, ICTP, Trieste, Italy, Zbornik radova str. 2.

3. **M. Bukorović**, B. Zarić, M. Milčić, Noncovalent interactions between chains in Hfq protein from E. Coli, 2nd Humboldt Conference on noncovalent interactions, 22-25 October 2009, Vrsac, Serbia, Zbornik radova str. 74.

4. **M. Radibratović**, M. Senćanski, V. Šukalović, S. Kostić – Rajačić, Ab initio calculations of aromatic protein-ligand interactions inside the binding pocket of Dopamine D2 receptor, 8th International Conference of the South-East European Countries, 27-29 June, 2013, Belgrade, Serbia, Zbornik radova str 112.

5. S.D. Tošić, **M. Radibratović**, M. Milčić, P. Bolognesi, L. Avaldi, R. Richter, M. Coreno, B.P. Marinković, The photofragmentation of the core excited halothane molecule, 7th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems, CEPAS, 3-6 September, 2017, Průhonice, Czech Republic, Zbornik radova str 57.

6. **M. Radibratović**, M. Milčić, T. Ćirković Veličković Binding of glycosylated flavonoids to mammalian and plant lipocalins, ACS Asia-Pacific International Chapters Conference, 5-8 November, 2017, Jeju, South Korea, Zbornik radova str 74.

Саопштења са националних скупова штампана у изводу (M64)

7. I. Milovanović, **M. Bukorović**, G. Janjić, S. Zarić, Study of crystal packing in crystal structures of octahedral metal complexes with bipyridyl, 21 Februar 2008, 46th Meeting of Serbian Chemical Society, Beograd, Srbija, Zbornik radova str 71.

8. I. Milovanović, **M. Bukorović**, G. Janjić, S. Zarić, Noncovalent Interactions Between Bipyridyl Ligands in Crystal Structures in Square-planar, Tetrahedral and Octahedral Metal Complexes, 15th Conference of Serbian Crystallographic Society, Jul 2008, Donji Milanovac, Srbija, Zbornik radova str 70.

9. **M. Bukorović**, S. Zarić, M. Milčić, Teorijsko proučavanje katalitički aktivne petlje L1 enzima ETA metodama molekulske dinamike, 21 Mart 2009, 47th Meeting of Serbian Chemical Society, Beograd, Srbija, Zbornik radova str 82.

10. B. Zarić, **M. Bukorović**, S. Stojanović, Strong and weak hydrogen bonds in Sm/LSm oligomeric assemblies: a comparison of intra- and interchain interactions, Bioxen Seminar "Novel approaches for environmental protection, 8-10 September 2011, Novi Sad, Serbia, Zbornik radova str 34.

11. G. V. Janjić, S. Jelić, **M. Radibratović**, M. Milčić, The application of crystallographic data for study of interactions of fluorine atom in the crystal structure of small molecules, XXII Conference of the Serbian crystallographic society, 11-13 June 2015, Smederevo, Serbia, Zbornik radova str 45.

12. **M. Radibratović**, S. Pušara, G. V. Janjić, M. Milčić, The application of crystallographic data obtained from the Protein Data Bank in the study of Na⁺/K⁺-ATPase, XXII Conference of the Serbian crystallographic society, 11-13 June 2015, Smederevo, Serbia, Zbornik radova str 47.

13. **M. Radibratović**, A. al-Hanish, S. Minić, M. Radomirović, M. Milčić, D. Stanić-Vucinić, T. Ćirković Veličković Stabilization of apo-alpha-lactalbumin by binding of epigallocatechin-3-gallate: experimental and molecular dynamics study, UNIFood Conference, 5-6 October, 2018, Belgrade, Serbia, Zbornik radova str 268.

Литература

1. Essen, L.-O., *Structural Bioinformatics. Edited by Philip E. Bourne and Helge Weissig.* Angewandte Chemie International Edition, 2003. **42**(41): p. 4993-4993.
2. Karplus, M. and J.A. McCammon, *Molecular dynamics simulations of biomolecules.* Nature Structural Biology, 2002. **9**: p. 646.
3. Lindorff-Larsen, K., et al., *Simultaneous determination of protein structure and dynamics.* 2005(1476-4687 (Electronic)).
4. Meng, X.-Y., et al., *Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery.* Current computer-aided drug design, 2011. **7**(2): p. 146-157.
5. Bandyopadhyay, D., et al., *Molecular Dynamics Simulation of Aqueous Urea Solution: Is Urea a Structure Breaker?* The Journal of Physical Chemistry B, 2014. **118**(40): p. 11757-11768.
6. Kellogg, G.E., *Computer Applications in Pharmaceutical Research and Development Edited by Sean Ekins. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ. 2006. xix + 805 pp. 16 × 24 cm. ISBN 0-471-73779-8. \$125.00.* Journal of Medicinal Chemistry, 2006. **49**(26): p. 7923-7923.
7. Dai, T., et al., *Protein–polyphenol interactions enhance the antioxidant capacity of phenolics: analysis of rice glutelin–procyanidin dimer interactions.* Food & Function, 2019.
8. Zhao, H. and A. Caflisch, *Molecular dynamics in drug design.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2015. **91**: p. 4-14.