

# УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

## НАСТАВНО-НАУЧНО ВЕЋЕ

**Предмет:** Образложење предлога теме докторске дисертације

Молим Наставно-Научно веће Универзитета у Београду – Хемијског факултета да одобри израду докторске дисертације под насловом:

**„Везивање органских загађујућих супстанци за амилоидне фибриле овалбумина”**

**1. Научна област:** Биохемија

**2. Предмет научног истраживања**

Предмет истраживања ове докторске дисертације је испитивање везивања пестицида, синтетичких боја и осталих органских загађујућих супстанци за амилоидне фибриле овалбумина као модел система. Кандидаткиња ће спровести истраживање у оквиру две целине. Први део ће обухватати припрему амилоидних фибрила овалбумина. У оквиру другог дела истраживања, амилоидни фибрили овалбумина ће бити третирани воденим растворима органских загађујућих супстанци, под различитим условима – рН вредност раствора и концентрација загађујућих супстанци. Након везивања, вршиће се анализа добијених протеин-молекула адукта, одређивати капацитет и селективност везивања и испитивати тип интеракција који доводи до везивања употребљених органских загађујућих супстанци за амилоиде.

### 3. Основе хипотезе

Маргинална стабилност протеина у воденим растворима омогућава њихову олакшану денатурацију променом услова, попут температуре и рН вредности раствора. Приликом денатурације, најчешће се формирају протеински агрегати који могу бити аморфни, и високо структурирани, попут амилоидних фибрила. Теоријски, сви протеини могу формирати амилоидне фибриле под одређеним условима, имајући у виду да амилоидна форма протеина представља његово термодинамичко најстабилније стање.<sup>(1)</sup> Амилоидни фибрили су најчешће повезивани са неуродегенеративним обољењима.<sup>(2)</sup> Међутим, како се амилоидни фибрили одликују изразитом механичком, хемијском и температурном отпорношћу и великим диверзитетом функционалних група по површини фибрила, научна заједница је препознала њихов нови употребни потенцијал.<sup>(3)</sup> Композитне мембране и аерогелови на бази амилоидних фибрила се могу користити у пречишћавању водених раствора од јона тешких метала<sup>(4,5)</sup>, лекова<sup>(6)</sup> итд.

Загађење вода представља један од већих фактора за повећање стопе морталитета и патологија код људи.<sup>(7)</sup> Синтетичке боје су нашироко примењиване у кожној, текстилној и папириној индустрији, при чему је показано да многе од њих имају токсичан утицај на људско здравље.<sup>(8)</sup> С друге стране, велика употреба пестицида у пољопривреди и њихово задржавање у земљишту и водама има утицај на целокупан екосистем и ланац исхране.<sup>(9)</sup> Из наведеног, јасна је потреба за испитивањем нових материјала за уклањање пестицида, синтетичких боја и других органских загађујућих супстанци из водених раствора.

Коришћењем овалбумина из кокошијег јајета, као материјала из природног извора, подржани су принципи зелене хемије. Процес амилоидне фибрилације овалбумина је једноставан, брз и јефтин, стога представља добар модел систем за представљено истраживање.<sup>(10)</sup>

#### **4. Циљеви истраживања и очекивани резултати**

Циљеви истраживања су:

- 1) Одабир и припрема полазног материјала богатог овалбумином применом стандардних биохемијских поступака,
- 2) Формирање амилоидних фибрила овалбумина,
- 3) Везивање органских загађујућих супстанци из водених раствора за фибриле овалбумина и одређивање капацитета и селективности везивања, и
- 4) Анализа добијених протеин-молекула адукта и испитивање врсте интеракција које доводе до везивања органских молекула за фибриле овалбумина.

#### **5. Методе истраживања**

Полазни материјал протеина ће бити пречишћен стандардним биохемијским техникама. Степен пречишћења ће бити праћен применом натријум-додецил-сулфат-полиакриламидне гел електрофорезе (SDS-PAGE). Концентрација изолованог протеина биће одређена коришћењем Бредфордовога есеја. Фибрили ће бити формирани применом високе температуре на киселе растворе овалбумина. Степен фибрилације биће праћен применом Тиофлавин-Т есеја (ThT), стандардног есеја за детекцију амилоидних фибрила. Промене секундарних структура током формирања фибрила ће бити праћене инфрацрвеном спектроскопијом (ATR FTIR). Крајње амилоидне форме биће структурно окарактерисне микроскопијом атомских сила (AFM). Капацитет везивања органских молекула за амилоиде биће одређен спектрофотометријским/спектрофлуориметријским методама и применом течне хроматографије високих перформанси (HPLC) купловане са масеном спектрометријом.

## 6. Литература

1. Chiti, F. *et al.* Designing conditions for *in vitro* formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**, 3590–3594 (1999).
2. Salahuddin, P. *et al.* The role of amyloids in Alzheimer’s and Parkinson’s diseases. *Int J Biol Macromol* **190**, 44–55 (2021).
3. Abdelrahman, S. *et al.* “What Doesn’t Kill You Makes You Stronger”: Future Applications of Amyloid Aggregates in Biomedicine. *Molecules* **25**, 5245 (2020).
4. Bolisetty, S., Reinhold, N., Zeder, C., Orozco, M. N. & Mezzenga, R. Efficient purification of arsenic-contaminated water using amyloid–carbon hybrid membranes. *Chemical Communications* **53**, 5714–5717 (2017).
5. Jia, X., Peydayesh, M., Huang, Q. & Mezzenga, R. Amyloid Fibril Templated MOF Aerogels for Water Purification. *Small* **18**, (2022).
6. Peydayesh, M. *et al.* Amyloid Fibrils Aerogel for Sustainable Removal of Organic Contaminants from Water. *Advanced Materials* **32**, (2020).
7. Bolisetty, S. & Mezzenga, R. Amyloid–carbon hybrid membranes for universal water purification. *Nat Nanotechnol* **11**, 365–371 (2016).
8. Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M. & Quevedo-Hidalgo, B. E. A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. *Molecules* **26**, 3813 (2021).
9. de Souza, R. M. *et al.* Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection* **135**, 22–37 (2020).
10. Milošević, J., Petrić, J., Jovčić, B., Janković, B. & Polović, N. Exploring the potential of infrared spectroscopy in qualitative and quantitative monitoring of ovalbumin amyloid fibrillation. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **229**, 117882 (2020).