

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Извештај о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације **Теодоре Ђукић**, мастер биохемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 9. септембра 2021. године, изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидата Теодоре Ђукић, мастер биохемичара, пријављене под насловом: „**Примена различитих имунохемијских и инструменталних метода за квалитативну и семиквантитативну карактеризацију посттранслационих и хемијских модификација главних алергена печеног и сировог кикирикија (*Arachis hypogaea* L.)**“.

На основу поднете и прикупљене документације, као и увида у досадашњи рад кандидаткиње, подносимо Наставно-научном Већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографски подаци о кандидату

Кандидаткиња Теодора Ђукић рођена је 28. новембра 1994. године у Београду. Основну школу „Краљ Александар I” завршила је у Београду као одличан ученик. Средњу школу „Пету београдску гимназију” (природно-математички смер) завршила је, такође у родном граду. Универзитет у Београду-Хемијски факултет (УБХФ), студијски програм Хемија животне средине уписала је 2013. године, а завршила 2017. године са просечном оценом 8,85 и оценом 10 на завршном раду под насловом „Утицај масних киселина на везивање Co^{2+} јона при одређивању исхемијом модификованог хуманог-серум албумина”. Септембра 2015. године присуствовала је школи „Хроматографије и масене спектрометрије” која је одржана у Истраживачкој станици Петница у сарадњи са УБХФ. Октобра 2016. године присуствовала је школи „молекуларне биологије – PCR у клиничкој дијагностици” која је одржана у Истраживачкој станици Петница у сарадњи са Биолошким факултетом, Универзитета у Београду. Јула 2017. године присуствовала је летњој школи „Summer School Towards sustainable energy future: the role of catalysis” која је одржана на Универзитету у Лајдену, Холандија (Leiden University). Мастер академске студије је уписала школске 2017/2018. године на УБХФ, на студијском програму Биохемија. Мастер академске студије је завршила 2018. године са просечном оценом 9,60 (девет и 60/100), завршни мастер рад под насловом „Утицај масних киселина и Cu_2S_4 тиолне групе на везивање Co^{2+} јона при одређивању исхемијом модификованог хуманог-серум албумина” одбранила је са оценом 10 (десет). Докторске академске студије је уписала 2018. године на УБХФ, на студијском програму Биохемија. До сада је положила пет од шест испита предвиђених планом и програмом докторских академских студија, сваки са оценом 10, и остварила 135 ЕСПБ поена. На Катедри за биохемију је од фебруара 2019. године до данас запослена као истраживач-приправник. Током 2019. године као гостујући истраживач, провела је три месеца на Факултету за инжењерство у бионаукама Универзитета у Генту у Белгији, где се бавила анализом метала у узорцима хране.

Кандидат Теодора Ђукић се бавим респираторним алергенима и алергенима хране, проучавајући ефекте термичке обраде хране на биодоступност и модификације протеина. Такође, као истраживач-приправник је ангажована на пројектима: „Твининг истраживачких активности у граничним 'омикс истраживањима у областима хране, исхране и животне средине“ (Horizon 2020, FoodEnTwin, No. 810752), Европска комисија (Брисел, Белгија); Развој тестова за детекцију капсидних протеина вируса SARS-CoV-2 у биолошким течностима пацијената са COVID-19“ (CAPSIDO пројекат 7542203), Фонд за науку Републике Србије (Београд); „Иновативна аналитичка платформа за истраживање ефекта и токсичности микро и нано пластика у комбинацији са загађивачима животне средине на ризик од алергијске болести у претклиничкој и клиничкој студији“ (IMPTOX пројекат No. 965173), Европска комисија (Брисел, Белгија); „Превенција и одговор на COVID-19 у угроженим подручјима - одржива производња серолошког IgG теста за SARS CoV-2 у Србији“ (LVP-BPA UNDP пројекат), USAID (Београд). Члан је Српског удружења за протеомику од 2018. године и члан Биохемијског друштва Србије од 2021. године.

Б. Објављени научни радови и саопштења

Кандидат Теодора Ђукић је први аутор рада објављеног у истакнутом међународном часопису (M22), другог рада под ревизијом у часопису изузетних вредности (M21a) и коаутор једног поглавља у књизи (M14). Кандидаткиња је коаутор и аутор десет саопштења на више научних међународних скупова (M34) и једног саопштења скупа националног значаја (M64). Библиографија докторанда, категорисана према Правилнику о стицању истраживачких и научних звања (Сл. гласник РС, бр. 159/2020-82), дата је у **Прилогу 1** овог извештаја.

В. Образложење теме

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Биохемија

2. Предмет рада

Предмет истраживања ове докторске дисертације је утицај термичке обраде на протеинске профиле кикирикија са фокусом на алергене у растворним/биодоступним и нерастворним фракцијама сировог и печеног кикирикија (*Arachis hypogaea* L.), добијених стандардним методама екстракције за изоловање алергена у дијагностичке сврхе, као и физиолошки симулираном орално-гастроинтестиналном дигестијом помоћу статичког INFOGEST протокола. Како би се свеобухватније сагледао ефекат термичке обраде печењем на алергеност и дигестибилност кикирикија, поред анализе протеинских и алергених профила, биће анализирани и профили посттранслационих и хемијских модификација (ПТМ) алергена Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 и Ara h 6. У даљем тексту ће се ПТМ односити на све врсте модификација (посттранслационе, котранслационе и хемијске модификације изазване нпр. обрадом хране). Биће квантитативно упоређени како протеински профили растворних и нерастворних протеинских фракција сировог и печеног кикирикија, тако и њихових ПТМ профила, протеомичким приступом. Недостаје увид у постојање и врсту разлика у ПТМ профилима између сировог и термички обрађеног кикирикија, обзиром да модификације јесу још увек занемарен структурно-функционални аспект протеина, посебно њихово свеобухватно испитивање. Резултати карактеризације ПТМ профила код сировог и термички обрађеног

кикирикија, добијени протеомичким приступом, биће делимично валидирани имунохемијским техникама са применом специфичних антитела уперених против појединих ПТМ.

Предмет ове тезе је и утицај ПТМ на подложност алергена кикирикија дигестији трипсином. Испитаће се да ли евентуалне ПТМ позициониране на лизину и аргинину алергена кикирикија, утичу на протеолитичку ефикасност трипсина. За овај корак је планиран развој новог метода у оквиру биоинформатичке платформе PEAKS посвећеној идентификацији и квантификацији протеина и њихових модификација и мутација.

3. Научни циљ истраживања

Циљ истраживања је квантитативно поређење како протеинских профила биодоступне (растворне) и нерастворне фракције сировог и печеног кикирикија, тако и њихових ПТМ профила, ради релевантнијег сагледавања утицаја термичке обраде кикирикија на његову алергеност. Иако постоје десетина научних радова, није још једнозначно и детаљно разјашњено да ли је алергени потенцијал печеног кикиркија мањи или већи у односу на сирови, као ни које су све промене у печеном кикиркију су одговорне за такве разлике. Посебно се у овом аспекту занемарује утицај термичке обраде хране на промене у профилима ПТМ.

Такође, циљ ове тезе јесте и разоткривање евентуалног утицаја модификација на подложност трипсинској дигестији, која ће се проучити како кроз класичне поставке “bottom-up” протокола протеомике, тако и анализом пептида након физиолошки симулиране дигестије. Уколико се покаже да поједине ПТМ отежавају процес трипсинске дигестије, то би позитивно корелисало са повећаним алергеним потенцијалом, тј. капацитетом сензитизације пептида алергена кикиркија. Значај ПТМ је огроман јер су свеprisутне у свим облицима живота и често модулирају структуру и критичне функције протеина. Због њихове сложености и немогућности да их истовремено квантификујемо кроз цео протеом или неку његову фракцију, оне су до скоро углавном биле занемарене. Свеобухватни приступ њиховог истраживања планиран у овој тези, моћи ће да се примени и на друга истраживачка и научна поља у потрази за непознатим и неразјашњеним феноменима. Стога је један од циљева такође и промоција “преносивости“ свеукупног приступа у проучавању ПТМ на друге области биохемијских и медицинских наука. Као и у здрављу, тако и код болести, овим приступом могуће ће бити поређење протеома здравог и туморског ткива појединца, и њихових профила ПТМ.

4. Методе истраживања

Сирови и печени узорци кикиркија, тј њихове растворне и нерастворне фракције ће бити анализирани електрофоретски, имуноблотовима помоћу антитела на специфичне модификације, као и масеном спектрометријом високе резолуције. Такође ће узорци сировог и печеног кикиркија бити подвргнути физиолошки симулираној дигестији према “INFOGEST” протоколу. У оквиру израде предложене докторске дисертације биће коришћени следећи експериментални поступци, методе и технике:

- Део сировог кикиркија набављеног из локалне здраве хране биће подвргнут печењу 20 минута на 170°C. Након печења сирови и печени кикиркии ће бити самлевени до конзистенције пасте.
- Одмашћивање самлевог печеног и сировог кикиркија хексаном, изоловање протеинског екстракта сировог и печеног кикиркија из одмашћеног брашна. Након екстракције биодоступне/растворне фракције биће урађена и екстракција из пелета како би се анализирао и нерастворна фракција протеина.

- Једнодимензионална електрофореза на полиакриламидном гелу у редукујућим условима растворних и нерастворних фракција ради упоређивања њихових профила.
- Изоелектрофокусирање, дводимензионална електрофореза на полиакриламидном гелу растворне, нерастворне фракције као и производа физиолошки симулиране дигестије сировог и печеног кикирикија ради упоређења њихових профила.
- Имунохемијске методе Western Blot за квалитативну потврду ПТМ уз помоћ антитела уперених против појединих, специфичних модификација.
- Једнодимензионални и дводимензионални имуноблот за семиквантитативну анализу афинитета везивања имуноглобулина Е из серума пацијената са алергијом на кикирики за протеине екстракта сировог и печеног кикирикија из растворних и нерастворних фракција као и из узорака подвргнутих физиолошки симулираној дигестији.
- ELISA тест како би се испитале разлике у афинитета везивања имуноглобулина Е пацијената са алергијом на кикирики између растворних фракција сировог и печеног кикирикија.
- Протокол “INFOGEST” ће бити примењен на узорке печеног и сировог кикирикија ради испитивања разлике у подложности орално-гастроинтестиналној дигестији.
- Протеомичке методе масене спектрометрије високе резолуције:
 - Испитаће се протеински профили и квантитативно упоредити растворне/биодоступне и нерастворне фракције сировог и печеног кикирикија “in solution” и “in-gel” приступом трипсинке дигестије
 - Испитаће се да ли постоји промена у ефикасности трипсинске хидролизе пептидних веза, које на аминокиселинама лизину и аргинину поседују ПТМ које се могу јавити услед термичке обраде. Промена ефикасности биће праћена у односу на исте немодификоване секвенце алергена кикирикија (Ara h 1, 2, 3 и 6).
 - Биће развијен нови мануелни биоинформатички приступ за решавање овог изазова, који би могао послужити даљем развоју алгорита у области машинског учења (“deep machine learning”), би додатно била омогућена обрада огромне количине података похрањених у јавне протеомичке репозиторијуме а који се тичу алергена и протеина хране.

-Биоинформатички алати (PEAKS софтвера, његовог PTM и LFQ алгорита и UniProt за протеинске базе *Arachis* и *Arachis hypogaea*) за детекцију протеина и њихових ПТМ као и за њихову “label-free” релативну квантификацију.

5. Актуелност проблематике

Кикирики (*Arachis hypogaea* L.) је једна од хипералергијских намирница која изазива озбиљне алергијске реакције као што је анафилактички шок. Приближно 5% деце је алергично на кикирики. Главни и значајни алергени кикирикија су Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 и Ara h 6. Ara h 1 је одговоран за 35 – 95 % реакција, док је Ara h 2 одговоран за 95 % реакција пацијената алергичних на кикирики [1]. ПТМ су промене на бочним ланцима аминокиселина које настају као последица деловања ензима након биосинтезе или спонтано кроз реакције оксидације, нуклеофилне или електрофилне супституције. Такође могу настати утицајем спољних фактора као и прерадом хране [2]. ПТМ на бочним ланцима аминокиселина могу да утичу на структуру протеина као и на његову функционалност што би могло да изазове промене у протеин – протеин интеракцијама, дигестабилности и алергијском потенцијалу. Један од примера је одсуство хидроксилације пролина на линеарном епитопу Ara h 2. У случају одсуства хидроксилације пролина долази до мањег везивања IgE антитела за алерген [3]. Упркос поменутом резултату [3], истраживања везана за утицај ПТМ на функционалне аспекте протеина су ретка и занемарена, а свеобухватна и опсежна испитивања профилисања модификација

обрађене и сирове хране не постоје. То важи и за сирови и печени кикирики, при чему су бројне мањкавости у дизајну студија, као и несагледавање целовите слике, довеле до тога да и поред великог броја студија се још увек води дебата да ли термичка обрада печењем смањује или повећава алергени потенцијал кикирикија, и који су механизми за то одговорни [1,4].

У скоријим истраживањима рађеним на животињским моделима (мишеви) се помиње већа алергеност печеног кикирикија у односу на сирови [4] док друга истраживања помињу слабији имуни одговор након термичке обраде печењем [1]. Битно је да се ПТМ анализирају у оквиру водено растворне (биодоступне) и нерастворне протеинске фракције да би се стекла потпуна слика о ПТМ профилу алергена сировог и печеног кикирикија. Електрофоретски је прелиминарно испитана и нерастворна фракција сировог и печеног кикирикија након гастричне дигестије, где се може уочити да код оба узорка, већа количина алергена заостаје у нерастворним фракцијама, али је остало непознато који су то тачно алергени као и квантитативне и квантитативне разлике међу њиховим профилима услед одсуства карактеризације масеном спектрометријом протеина [5]. Стога је од изузетне важности у потпуности испитати протеинске и ПТМ профиле ових нерастворених фракција [5]. Хипотеза је да постоје разлике у ПТМ профилима између сировог и термички обрађеног кикирикија а први корак је детекција тих разлика. Истовремена идентификација и квантификација свих ПТМ у оквиру протеома до скоро је била неизводљива. Међутим са развојем масене спектрометрије и нових софтвера и овај аспект доживљава научни пробој [6].

Већина експеримената у протеомици користи трипсин за дигестију протеина која је обавезан део у припреми узорака за “bottom-up” протеомички приступ. Трипсин поседује селективну моћ сечења пептидне везе на Ц – терминалном крају лизина и аргинина осим ако их не прати пролин, и овај феномен је познат као Кејлово правило (“Keil rule”) [7]. Током термичке обраде хране, у овом случају кикирикија, бочни ланци лизина и аргинина могу подлећи оксидацији, карбамилацији, карбонилацији као и смањењу и обогаћењу других ПТМ [8]. Анализом модификованих и немодификованих пептида исте примарне структуре помоћу масене спектрометрије, хипотетички је могуће искористити трипсин као пробу у разоткривању утицаја ПТМ на ефикасност хидролизе пептидне везе, као и какву би то имало рефлексију и значај код *in vivo* интестиналне дигестије, где је трипсин главна ендопептидаза код човека. Нити један алгоритам или софтвер данашњице не може да испита и сходне томе предвиди ефикасност са којом ће трипсин хидролизовати пептидну везу у зависности од присуства или одсуства модификација на лизину и аргинину. Стога је потребно прво развити модел алгоритма (помоћу посвећених протеомичких софтвера за анализу ПТМ као што је PEAKS Studio, Онтарио, Канада). Такав протокол може да послужи за развој алгоритма заснованог на машинском учењу, способног да поред предвиђања степена трипсинског „сечења“ пептидне везе у зависности од контекста секвенце аминокиселинског окружења као што је Deep Digest [9], уважи и постојање ПТМ на како аминокиселинама пептидне везе, тако и оних у њеном ближем окружењу. Мануелни приступ претраге хидролизованих пептида, који ће бити развијен у истраживању током израде ове дисертације, може допринети управо развоју поменутих нових алгоритама који ће процес претраге убзати и тиме омогућити недређе нових знања у виду предикционих модела ефикасности хидролизе разних протеаза, а не само трипсина. Овде би у сврхе тренинга алгоритма могло бити искоришћено богатство протеомичких података ускладиштених у јавне протеомичке репозиторијуме, уколико поседују релевантну, свеопсежну ПТМ претрагу (“PTM profiling”).

Корак даље у испитивању утицаја ПТМ на дигестију протеина и њихову алергеност код узорака сировог и печеног кикирикија, је примена INFOGEST протокола симулиране физиолошке орално-гастроинтестиналне дигестије [10], након чега ће бити анализирани

профили протеина, пептида и њихових ПТМ, масеном спектрометријом протеина високе резолуције. Посебан аспект који ће бити обрађен, је утицај ПТМ позиционираних на аргинину и лизину на ефикасност трипсинске дигестије, помоћу претходно развијеног новог протеомичког метода, који ће омогућити квантификацију трипсинског сечења и прескока сечења пептидне везе, у зависности од постојања, односно одсуства модификација.

6. Очекивани резултати

Очекује се да теза пружи податке везане за разлике у профилима ПТМ између печеног и сировог кикирикија, утицај разлика протеинских профила на алергени потенцијал, као и на могућност утицаја евентуалних разлика у ПТМ профилима на дигестибилност биодоступне фракције трипсином. Обзиром на коинциденцију употребе трипсина као главне протеомичке алатке за дигестију протеина и његове улоге као главне интестиналне ендопроотеазе, резултати настали путем новоразвијеног мануелног метода за проверу ефикасности трипсинске дигестије у зависности од присуства/одсуства појединих ПТМ присутних на лизину или аргинину, послужиће за развој алгорита машинског учења. Користећи овакав потенцијалан приступ биће могуће анализирати и сагледати огромне базе протеомичких података везаних за алергене и протеине хране. Такође свеобухватним приступом анализе односа биодоступне и нерастворне фракције протеина код сировог и печеног кикирикија, очекујемо валидније и релевантније резултате и закључке у вези разлика алергеног потенцијала сировог и печеног кикирикија, где и поред бројних радова, влада још увек подељено мишљење око тога који кикирики поседује већи алергени потенцијал. Релевантне потврде сазнања очекују се применом физиолошки симулиране дигестије INFOGEST, помоћу којег ће добити „физиолошки“ ПТМ профили алергена пре и након дигестије и какав и колики утицај имају ПТМ настале након термичке обраде кикирикија на алергени потенцијал и дигестабилност алергена.

7. Литература

- [1] Zhou, Y.; Wang, J.S.; Yang, X.J.; Lin, D.H.; Gao, Y.F.; Su, Y.J.; Yang, S.; Zhang, Y.J.; Zheng, J.J. (2013). Peanut Allergy, Allergen Composition, and Methods of Reducing Allergenicity: A Review. *Int. J. Food Sci*, 909140. <https://doi.org/10.1155/2013/909140>
- [2] Feeney E. R., Yamasaki B.R. and Geoghegan F. K. (1982). Chemical modification of protein: An Overview. *Advances in Chemistry*, 198, 3 – 55.
- [3] Bernard H., Guillon B., Drumare M., Paty E., Dreskin C. S., Wal J., Adel-Patient K. and Hazebrouck S. (2000). Allergenicity of peanut component Ara h 2: Contribution of conformational versus linear hydroxyproline-containing epitopes. *J Allergy Clin Immunol*, 135(5), 1267 – 1274. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.10.025>
- [4] Zhang T., Shi Y., Zhao Y., Wang J., Wang M., Niu B., Chen Q. (2019). Different thermal processing effects on peanut allergenicity. *J Sci Food Agric*, 99(5):2321-2328. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9430>
- [5] Prodić I., Smiljanić K., Simovic A., Radosavljevi. J., Cirković Veličković T. (2019). Thermal processing of peanut grains impairs their mimicked gastrointestinal digestion while downstream defatting treatments affect digestomic profiles. *Foods*, 8, 463. <https://doi.org/10.3390/foods81004>
- [6] Smiljanić K., Prodić I., Apostolovic D., Cvetković A., Veljović Đ., Mutić J., van Hage M., Burazer L., Cirković Veličković T. (2019). In-depth quantitative profiling of post-translational modifications of Timothy grass pollen allergome in relation to environmental oxidative stress. *Environment International*, 126, 644-658. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.001>
- [7] Fannes, T., Vandermarliere E., Schietgat L., Degroev S., Martens L., and Ramon J. (2013). Predicting tryptic cleavage from proteomics data using decision tree ensembles. *J Proteome Res*, 12 (5), 2253-9. <https://doi.org/10.1021/pr4001114>
- [8] Johnson K.L., Williams J.G., Maleki S.J., Hurlburt B.K., London R.E., Mueller G.A. (2016). Enhanced Approaches for Identifying Amadori Products: Application to Peanut Allergens. *J Agric Food Chem*, 64(6), 1406-13. <https://dx.doi.org/10.1021%2Facs.jafc.5b05492>
- [9] Yang J., Gao Z., Ren X., Sheng J., Xu P., Chang C., Fu Y. (2021). Deep digest: prediction of protein proteolytic digestion with deep learning. *Anal.Chem*, 93, 6094-6103. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04704>
- [10] Brodkorb A., Egger L., Alminger M. et al. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc*, 14(4), 991-1014, <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

Г. ЗАКЉУЧАК

На основу свега изложеног, Комисија сматра да је предложена тема актуелна и научно заснована, као и да очекивани резултати представљају напредак и научни допринос у области протеинске биохемије. У складу са Законом о високом образовању и Статутом Хемијског факултета у Београду, сматрамо да кандидаткиња испуњава све предвиђене услове за одобрење израде докторске дисертације. Комисија зато предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета да кандидаткињи Теодори Ђукић, мастеру биохемије, одобри израду докторске дисертације под измењеним насловом:

„Примена имунохемијских и протеомичких метода за квалитативно и квантитативно поређење алергена сировог и печеног кикирикија (*Arachis hypogaea* L.) и њихових профила посттранслационих модификација ради испитивања утицаја на дигестибилност и алергеност”

Комисија предлаже за менторе др Тању Ђирковић Величковић, Редовног професора Универзитета у Београду – Хемијског Факултета и дописног члана САНУ и др Катарину Смиљанић, Вишег научног сарадника Универзитета у Београду – Хемијског Факултета. Списак радова предложених ментора објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе, који квалификују менторе за вођење докторске дисертације кандидаткиње, дати су у Прилогу 2 овог извештаја.

У Београду, 30 септембар 2021 год.

Комисија:

Др Тања Ђирковић Величковић (ментор), редовни професор
Универзитет у Београду – Хемијски Факултет
Дописни члан САНУ

Др Катарина Смиљанић (ментор), Виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Хемијски Факултет

Др Јелена Радосављевић (члан), Доцент
Универзитет у Београду – Хемијски Факултет

Др Милан Николић (члан), Доцент
Универзитет у Београду – Хемијски Факултет

Др Никола Глигоријевић (члан), Научни сарадник
Универзитет у Београду – Институт за примену нуклеарне енергије

Прилог 1

Библиографија кандидаткиње, категорисана према Правилнику о стицању истраживачких и научних звања (Сл. Гласник РС, бр 169/2020-82).

Поглавља у књизи (M14)

[1] Smiljanić K., Mihailović J., Prodić I., **Đukić T.**, Vasović T., Jovanović V., Ćirković Veličković T. (2020). Trypsin as a Proteomic Probe for Assessment of Food Protein Digestibility in Relation to Chemical and Post-translational Modifications. In J. Radosavljević (Ed.), *A Closer Look at Proteolysis*. NY. USA: Nova Science Publishers, Inc.

Радови објављени у истакнутом међународном часопису (M22)

[1] **Đukić T.**, Mladenović M., Stanić-Vučinić D., Radosavljević J., Smiljanić K., Sabljčić Lj., Dević M., Ćujić D., Vasović T., Simović A., Radomirović M., Ćirković Veličković T. (2020). Expression, purification and immunological characterization of recombinant nucleocapsid protein fragment from SARS-CoV-2. *Virology*, 557: 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.01.004>

Радови саопштени на скуповима међународног значаја штампани у изводу (M34)

[1] **Đukić T.**, Mladenović M., Stanić-Vučinić D., Radosavljević J., Smiljanić K., Sabljčić Lj., Gnjatović M., Ćujić D., Vasović T., Simović A., Radomirović M., Ćirković Veličković T. Proteomic and immunological characterization of recombinantly expressed nucleocapsid SARS-CoV2 protein fragment in *E. Coli*, Book of abstracts, ItPA, HPS and SePA XV International Congress „Proteomics and metabolomics for personalized medicine”, poster session P7, pp 50, Rome, Italy 8-10 September 2021.

[2] Smiljanić K., **Đukić T.**, Vasović T., Prodić I., Jovanović V., Ćirković Veličković T. Effects of lysine’s and arginine’s modifications on trypsin proteolytic efficacy imposed before and after peanut roasting, Book of abstracts, ItPA, HPS and SePA XV International Congress „Proteomics and metabolomics for personalized medicine”, poster session P 28, pp 71-71 , Rome, Italy 8-10 September 2021.

[3] Jovanović V., Smiljanić K., Lujčić T., **Djukic T.**, Ćirković Veličković T. Effects of extraction conditions on proteins’ profiles of *Tenebrio molitor*, Book of abstracts, ItPA, HPS and SePA XV International Congress „Proteomics and metabolomics for personalized medicine”, poster session P10, pp 53-53, Rome, Italy 8-10 September 2021.

[4] Gnjatović M., **Đukić T.**, Stanić-Vučinić D., Ćujić D., Vasović D., Simović a., Todorović A., Mladenović M., Radomirović M., Ćirković Veličković T. Serological ELISA test development at the INEP Institute, Book of abstracts Methods development for protein modifications profiling, Book of abstracts, FoodEnTwin Symposium „Novel analytical approaches in food and environmental sciences”, session 4, oral presentation Belgrade, Serbia, 16-18 June 2021.

[5] Mladenović M., **Đukić T.**, Vasović T., Stanić-Vučinić D., Smiljanić K., Radosavljević J., Sabljčić Lj., Gnjatović M., Ćujić D., Ćirković Veličković T. Expression, purification and immunological characterization of recombinant N-protein fragment from SARS-CoV-2, Book of Abstracts, FoodEnTwin Symposium, „ Novel analytical approaches in food and environmental sciences”, P6, pp 33-33, Belgrade, Serbia, 16-18 June 2021.

[6] Smiljanić K., **Đukić T.**, Vasović T, Prodić I., Jovanović V., Ćirković Veličković T. Methods development for protein modifications profiling, Book of abstracts, FoodEnTwin Symposium „ Novel analytical approaches in food and environmental sciences”, session 2 pp 11-11, Belgrade, Serbia, 16-18 June 2021.

[7] Smiljanić K., Prodić I., **Đukić T.**, Vasović T., Jovanović V., Ćirković Veličković T. Trypsin as a proteomic probe to assess food protein digestibility in relation to post- translational modifications, Book of Abstracts, „Virtual international conference on Food Digestion”, oral presentation, O2, pp 18-18, 6-7 May 2021.

[8] Mihailović J., Apostolović D., Smiljanić K., **Đukić T.**, Prodić I., Ćirković Veličković T., Immunoproteomic study of raw and roasted peanut major allergen post-translational modifications, Book of Abstracts, 2nd FoodEnTwin Workshop „Experimental animal models for food and environment”, pp. O2 - O2, Vienna, Austria, 3. - 4. Feb, 2020

[9] Smiljanić K., Mihailović J., **Đukić T.**, Ćirković Veličković T., Impact of Oxidative Stress on plant proteins modifications: relevance for plant allergens, Book of Abstracts, „4th Edition of Global Conference on Plant Science and Molecular Biology”, pp 134 London, UK, 19.-21. September 2019.

[10] Mladenović M., **Đukić T.**, Ćirković Veličković T., Polysaccharides-induced coacervation of camel milk proteins - A proteomic approach, Book of Abstracts, 1st FoodEnTwin Workshop, „Food and environmental -Omics”, pp. 28 - 28, Belgrade, Serbia, 20. - 21. Jun, 2019

Саопштења са скупа националног значаја штампано у изводу (M64)

[1] Mladenović M., **Đukić T.**, Vasović T., Jovanović V., Smiljanić K., Radosavljević J., Stanić-Vučinić D., Ćirković Veličković T. Optimization of expression, purification and high resolution-mass spectrometry characterization of recombinant N-protein fragment from SARS-CoV-2“, Book of abstracts, Serbian Biochemical Society X Conference „Biochemical insights into molecular mechanisms”, poster session P61, Kragujevac, Serbia, 24. September 2021.

Прилог 2

Спискови радова предложених ментора објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе који квалификују менторе за вођење докторске дисертације.

Име и презиме ментора: **др Тања Ћирковић Величковић**

Звање: **Редовни професор**

Изабрани радови предложеног ментора:

1. Sara Benedé, Daniel Lozano-Ojalvo, Susana Cristobal, Joana Costa, Enza D’Auria, **Tanja Ćirkovic Velickovic**, María Garrido-Arandia, Sibel Karakaya, Isabel Mafra, Gabriel Mazzucchelli, Gianluca Picariello, Alejandro Romero-Sahagun, Caterina Villa, Paola Roncada & Elena Molina. (2021). New applications of advanced instrumental techniques for the

- characterization of food allergenic proteins, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1931806>
2. Prodić I., Stanić-Vučinić D., Apostolović D., Mihailović J., Radibratović M., Radosavljević J., Burazer L., Milčić M., Smiljanić K., van Hage M., **Ćirković Veličković T.** (2018). 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 & Experimental Allergy*, 48, 6, 731-740. <https://doi.org/10.1111/cea.13113>
 3. Vesic, J., Stambolic, I., Apostolovic, D., Milcic, M., Stanic-Vucinic, D., & Cirkovic Velickovic, T. (2015). Complexes of green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate, and 2S albumins of peanut. *Food Chemistry*, 185, 309-317. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.001>
 4. Radosavljevic, J., Nordlund, E., Mihajlovic, L., Krstic, M., Bohn, T., Buchert, J., **Velickovic, T.C.** and Smit, J. (2014). Sensitizing potential of enzymatically cross-linked peanut proteins in a mouse model of peanut allergy. *Mol. Nutr. Food Res.*, 58: 635-646. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300403>
 5. Apostolović D., Luykx D., Warmenhoven H., Verbart D. Stanić-Vučinić D., de Jong G., **Ćirković Veličković T.**, Koppelman S. (2013). Reduction and alkylation of peanut allergen isoforms Ara h 2 and Ara h 6; characterization of intermediate- and end products. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834, 2832-2842, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.10.004>

Име и презиме ментора: **др Катарина Смљанић**

Звање: **Виши научни сарадник**

Изабрани радови предложеног ментора:

1. Krstić Ristivojević, M., Apostolović, D. and **Smiljanić, K.** (2021). Enterocytes in Food Hypersensitivity Reactions. *Animals*, 11, 2713. <https://doi.org/10.3390/ani11092713>
2. Ivana Prodić, **Katarina Smiljanić** and Jelena Radosavljević. (2020). Food Allergens' Susceptibility to Proteolysis. In J. Radosavljevic (Ed.), *A Closer Look at Proteolysis*, chapter 6., pp.219-252, NY, USA: Nova Science Publishers, Inc., ISBN 978-1-53618-677-2, ISBN: 978-1-53618-743-4, (eBook).
3. **Smiljanić K.**, Prodić I., Apostolović D., Cvetković A., Veljović Đ., Mutić J., van Hage M., Burazer L., Ćirković Veličković T. (2019). In-depth quantitative profiling of post-translational modifications of Timothy grass pollen allergome in relation to environmental oxidative stress. *Environment International*, 126, 644-658. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.001>
4. Prodić I*, **Smiljanić K***, Simovic A., Radosavljevic. J., Cirković Veličković T. (2019). Thermal processing of peanut grains impairs their mimicked gastrointestinal digestion while downstream defatting treatments affect digestomic profiles. *Foods*, 8, 463. <https://doi.org/10.3390/foods8100463>. *equally contributing authors
5. Zivanovic M, Atanasković-Marković M, Medjo B, Gavrović-Jankulović M, **Smiljanić K**, Tmušić V, Djurić V. (2017). Evaluation of Food Allergy in Children by Skin Prick Tests with Commercial Extracts and Fresh Foods, Specific IgE and, Open Oral Food Challenge-Our Five Years Experience in Food Allergy Work-up. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology* 16(2): 127-132.



Универзитет у Београду
ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ
Бр. 795/13
29-09-2021 год.
БЕОГРАД

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Студентски трг 12-16 * П. фах 51 * 11158 Београд 118 * ПАК: 105305 * Тел/факс: 011-2184330 * <http://helix.chem.bg.ac.rs/>

Решење број 3-9/21

ЕТИЧКА КОМИСИЈА ЗА УПОТРЕБУ ХУМАНОГ БИОЛОШКОГ МАТЕРИЈАЛА ЗА ИСТРАЖИВАЊЕ

Универзитет у Београду – Хемијски факултет

На online седници Етичке комисије за употребу хуманог биолошког материјала за истраживање, одржаној 27. септембра 2021. године, разматран је захтев др Тање Ђирковић Величковић, редовног професора Хемијског факултета у Београду и дописног члана САНУ, о давању сагласности за употребу хуманог биолошког материјала у истраживачке сврхе, за потребе научно-истраживачке студије: "Примена различитих имунохемијских и инструменталних метода за квалитативну и семиквантитативну карактеризацију посттранслационих и хемијских модификација главних алергена печеног и сировог кикирикија (*Arachis hypogaea* L.)", која ће бити реализована у сарадњи Каролинска института (Краљевина Шведска) и Хемијског факултета у Београду, под руководством колегице Ђирковић Величковић. Део резултата ове студије био би искоришћен у оквиру докторске дисертације **Теодоре Ђукић**, дипломираног биохемичара - мастера, студента докторских студија на Катедри за биохемију, Универзитета у Београду - Хемијског факултета.

На основу анализе приспеле документације [Захтев за одобрење спровођења научно-истраживачке студије; Образац са подацима о одговорном истраживачу; Образац обавештења за испитаника; Образац за добијање писане сагласности за учешће у научно-истраживачкој студији; дозволе Регионалне етичке комисије у Стокхолму (бр. 2011/2085-31/4 и 2013/485-32)] и непосредног увида у стање, Етичка комисија Хемијског факултета донела је следећу

ОДЛУКУ

Одобрава се коришћење биолошког материјала који ће бити узоркован на Каролинска института, Стокхолм, Краљевина Шведска: пуна периферна венска крв, 30 mL по испитанику у хепарином обложеном епрувету - 10 испитаника са знацима алергије на кикирики, за академску студију: "Примена различитих имунохемијских и инструменталних метода за квалитативну и семиквантитативну карактеризацију посттранслационих и хемијских модификација главних алергена печеног и сировог кикирикија (*Arachis hypogaea* L.)", чији је експериментални протокол у складу са прописаним етичким нормама.

Београд, 28.9.2021. године

Председник Етичке комисије:


др Наталија Половић, в. професор