

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ-ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Молба за пријаву теме докторске дисертације Марије Е. Турсуновић, мастер биохемичара, студента докторских академских студија Универзитета у Београду - Хемијског факултета

Молим Наставно-научно веће Универзитета у Београду - Хемијског факултета, да ми одобри израду докторске дисертације из области биохемије на Универзитету у Београду - Хемијском факултету, под радним насловом:

„Испитивање стабилности екстрацелуларних везикула пречишћених имуноафинитетним приступом заснованим на наноантителима“

За оцену научне заснованости предложене теме докторске дисертације предлажем Комисију у саставу:

1. Др Марија Гавровић-Јанкуловић, редовни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет
2. Др Горан Брајушковић, редовни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет
3. Др Радивоје Продановић, редовни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет
4. Др Милица Поповић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет
5. Др Лидија Филиповић, научни сарадник, Универзитет у Београду, Иновациони центар Хемијског факултета

У прилогу достављам:

1. Образложење теме
2. Биографију
3. Библиографију
4. Изјаву да предложена тема није пријављена на другој високошколској установи у земљи или иностранству

У Београду,

2.2.2026. године

Подносилац молбе

Марија Турсуновић
Истраживач-приправник
Универзитет у Београду, Иновациони центар Хемијског факултета

Биографија

Марија (Енвер) Турсуновић

Марија Е. Турсуновић рођена је 23.8.1999. у Нишу. Основну школу "Љуба Нешић" и природно-математички смер Гимназије Зајечар завршила је са одличним успехом.

Хемијски факултет Универзитета у Београду уписала је 2018/19. године на студијском програму Биохемија. Током 2022. године боравила је два месеца на Универзитету у Новој Горици у Словенији где је под менторством проф. др Милице Поповић одрадила експериментални део дипломског рада са називом „Клонирање, производња и пречишћавање Н6SpyTag наноантитела за употребу SpyTag/SpyCatcher система”. Основне академске студије завршила је са просечном оценом 9,31 (девет и 31/100) и оценом 10 на завршном раду.

Мастер академске студије Биохемије уписала је 2022/23. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду под менторством проф. др Милице Поповић. Мастер рад „Изоловање и карактеризација наноантитела NA8, ND10-1 и ND10-2 добијених селекцијом наивне библиотеке на екстрацелуларним везикулама” одбранила је 2023. године са оценом 10 и тиме стекла звање мастер биохемичар.

Докторске академске студије на студијском програму Биохемија на Хемијском факултету Универзитета у Београду уписала је 2023/24. године на Катедри за Биохемију под менторством проф. др Милице Поповић. До сада је положила пет од шест испита предвиђених планом и програмом са просечном оценом 10 (десет) и остварила 110 ЕСПБ бодова.

Запослена је на Иновационом центру Хемијског факултета у Београду од 2024. године у звању истраживач-приправник. Током 2023/24. г. била је ангажована као сарадник у настави на курсу Биохемија (409Н2). Од 2024/25. г. ангажована је као сарадник у настави на курсу Протеински терапеутици са основама биоинформатике (433В2).

Током лета 2023. године као добитник стипендије летње школе за студенте Хелмхолц-Истраживачког центра провела је два месеца у истраживачкој групи за Физичку хемију биомолекулских кондензата у оквиру Хелмхолц-центра и Биотехнолошког центра

Техничког универзитета у Дрездену. Учесник је међународног EXPAND-EV пројекта (EXPANDing the value of Extracellular vesicles as carriers of biomarker and therapy in precision healthcare, MSCA Staff Exchange). У оквиру пројекта боравила је у Генос д.о.о. истраживачкој лабораторији (Хрватска) од јула до септембра 2025. године. Учествовала је на радионици „Nanoparticle Tracking Analysis of EVs” одржаној 30. октобра у Атини у оквиру пројекта.

Члан је Биохемијског друштва Србије, Српског друштва за екстрацелуларне везикуле и Српског друштва истраживача рака.

Библиографија

Научни радови у међународним часописима:

Радови објављени у истакнутим међународним часописима (M22)

1. Czajkowski, A., Udayabanu, A., Raj, M., Pulibandla, L., **Tursunović, M.**, Jahnel, M., & Adams, E. (2025). Protein modifications and ionic strength show the difference between protein-mediated and solvent-mediated regulation of biomolecular condensation. *Frontiers in Nanotechnology*, 7.

Саопштења са међународног скупа штампана у изводу (M34)

1. **Tursunović, M.**, Filipović, L., Kosanović, M., Grozdanić, M., Popović, M., & Podolski-Renić, A. (2024). Implementation of single-domain antibodies-based approach for isolation of extracellular vesicles from human plasma. In *Abstract Book: 2nd MOVE Symposium*, 2024, 8–11 October Belgrade, Serbia (pp. P-N-9), Serbian Society for Extracellular Vesicles, SrbEVs.
2. Filipović, L., **Tursunović, M.**, Kosanović, M., Grozdanić, M., Podolski-Renić, A., Pešić, M., & Popović, M. (2024). Isolation of extracellular vesicles from resistant tumor cells using nanobodies-based immunoaffinity approach. In *Abstract Book: 2nd MOVE Symposium*, 2024, 8–11 October Belgrade, Serbia (pp. ON-4), Serbian Society for Extracellular Vesicles, SrbEVs.

ИЗЈАВА

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Испитивање стабилности екстрацелуларних везикула пречишћених имуноафинитетним приступом заснованим на наноантителима“

није пријављена на другим високошколским установама у земљи или иностранству.

У Београду,

2.2.2026. године

Марија Турсуновић
Истраживач-приправник
Универзитет у Београду, Иновациони центар Хемијског факултета

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ-ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Образложење теме докторске дисертације кандидаткиње Марије Турсуновић, мастер биохемичара, пријављене под насловом

„Испитивање стабилности екстрацелуларних везикула пречишћених имуноафинитетним приступом заснованим на наноантителима“

1. Научна област: Хемијске науке

Ужа научна област: Биохемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања ове докторске дисертације обухвата примену имуноафинитетног приступа заснованог на рекомбинантним наноантителима за пречишћавање екстрацелуларних везикула из хумане плазме здравог донора, као и испитивање физичко-хемијске стабилности изолованих везикула. Први део дисертације обухватаће биоинформатичку карактеризацију, производњу и пречишћавање три наноантитела специфичних за површинске маркере екстрацелуларних везикула. Наноантитела ће се пречишћавати метал-афинитетном хроматографијом, а електрофоретским методама потврдиће се њихова чистоћа. Појединачна наноантитела биће имобилизована на чврсту стационарну фазу са циљем испитивања њихове способности да селективно изолују екстрацелуларне везикуле из хумане плазме. Присуство везикула у добијеним препаратима биће потврђено применом биохемијских, микроскопских и спектроскопских метода. Други део дисертације бавиће се праћењем промена у структури и молекулском саставу везикула изолованих имуноафинитетним приступом у зависности од услова складиштења и присуства потенцијалних стабилизатора. Утврђивање оптималних услова чувања везикула је од посебног значаја будући да промене у њиховој структури и саставу директно могу утицати на даљу примену у истраживањима и потенцијалним клиничким приступима.

3. Основне хипотезе

Екстрацелуларне везикуле (ЕВ) обухватају хетерогену популацију мембранских везикула које ћелије ослобађају у ванћелијски простор и које имају значајну улогу у међућелијској комуникацији[1]. Могу се поделити према више критеријума, али је у литератури најчешћа подела према биогенези на егзозоме, микровезикуле и апоптотска тела. Егзозоме су интралуминалне везикуле величине до око 150 nm и настају фузијом мултивезикуларних тела са ћелијском мембраном, док су микровезикуле величине од 100 до 1000 nm и настају пупљењем и одвајањем од ћелијске мембране[2]. ЕВ у својој унутрашњости носе бројне протеине, нуклеинске киселине и друге биолошки активне молекуле који одражавају тренутно физиолошко стање ћелија од којих су потекле. Последњих година препознате су као битни учесници у различитим физиолошким и патолошким процесима попут регулације имуног одговора, инфламације, коагулације, прогресије тумора и метастаза[3]. Услед чињенице да се могу наћи у свим телесним течностима, ЕВ се интензивно истражују као потенцијални неинвазивни биомаркери болести [4], али и као носачи терапеутика за циљану доставу лекова[5]. Међутим, поуздана примена у клиници зависи од одабира адекватне методе изоловања и очувања њихових изворних структурних и молекулских карактеристика.

Изоловање екстрацелуларних везикула из различитих телесних течности тренутно представља велики изазов. Конвенционалне методе често дају недовољно чисте и репродуктивне препарате. Са друге стране, имуноафинитетни приступи нуде перспективну алтернативу јер омогућавају селективно издвајање одређених популација везикула на основу антиген-антитело интеракција[6]. За разлику од моноклонских антитела, наноантитела могу бити погоднија у ове сврхе с обзиром на њихову малу молекулску масу, бољу растворљивост и структурну стабилност, као и јефтинију производњу у једноставним експресионим системима. Развој наивних, синтетичких и семи-синтетичких библиотека наноантитела такође омогућава лаку селекцију и изоловање нових нанотела специфичних за жељене антигене[7].

Познато је да поједине методе изоловања везикула, попут ултрацентрифугирања или метода заснованих на преципитацији, могу довести до агрегирања везикула, промене морфологије и коизолације нежељених компонентни[8]. Насупрот томе, имуноафинитетни приступи захтевају селективније услове изоловања, те могу представљати погоднији систем за

постизање структурно очуваних препарата везикула. Показано је да на стабилност екстрацелуларних везикула утичу бројни фактори као што су температура и време чувања, број циклуса одмрзавања и замрзавања, као и присуство/одсуство појединих стабилизатора. Варијације у овим параметрима могу индуковати агрегирање, делимичну лизу и измене у молекулском саставу везикула[9]. Сходно томе, систематско утврђивање услова складиштења и додатка стабилизатора може допринети дефинисању услова који омогућавају очување интегритета препарата везикула. Осим метода које пружају информације о величини и морфологији честица, спектроскопске методе такође могу дати увид у укупне промене у молекулском саставу препарата везикула[10]. Комбинованом применом комплементарних техника могла би се омогућити поузданија евалуација стабилности екстрацелуларних везикула. На овај начин би се допринело стандардизацији приступа њихове анализе и чувања, као и унапређењу њихове примене у биомедицинским истраживањима и клиничким условима.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Општи циљ ове дисертације је примена новог сета рекомбинантних наноантитела за изоловање екстрацелуларних везикула и испитивање стабилности овако изолованих везикула.

Специфични циљеви су:

- Биоинформатичка и структурна анализа три наноантитела (NA8-eGFP, ND10₁-eGFP и ND10₂-eGFP), добијених селекцијом наивне библиотеке директно на екстрацелуларним везикулама пореклом из хуманих ћелијских линија;
- Оптимизација производње и пречишћавања наведених конструката наноантитела;
- Имобилизација наноантитела на чврсту стационарну фазу и процена њихове могућности да се примене за изоловање екстрацелуларних везикула из хумане плазме;
- Карактеризација изолованих везикула;

- Испитивање утицаја услова чувања и присуства одабраних стабилизатора на структурни интегритет и молекулски састав екстрацелуларних везикула изолованих имуноафинитетном методом;
- Испитивање примене инструменталних аналитичких метода за праћење потенцијалних промена у препаратима екстрацелуларних везикула.

5. Методе истраживања

У току израде ове докторске дисертације користиће се следеће методе:

- Биоинформатичке методе за теоријско поређење три коришћена наноантитела.
- Класичне микробиолошке методе биће коришћене за гајење бактеријских сојева. За умножавање плазмида користиће се сој *Escherichia coli* DH5α, а за производњу наноантитела сој *Escherichia coli* BL21(DE3) SOX.
- Хроматографским методама (Метал-афинитетна хроматографија) пречишћавање се наноантитела након успешне производње.
- Електрофоретске технике (SDS-PAGE) ће се користити за процену чистоће пречишћених наноантитела, као и за евалуацију протеинског профила изолованих екстрацелуларних везикула.
- Површински маркери екстрацелуларних везикула биће потврђени флуоресцентном проточном цитометријом.
- Анализом кретања наночестица („Nanoparticle Tracking Analysis-NTA“) квантификоваће се везикуле и одређиваће се опсег њиховог дијаметра, као и присуство потенцијалних агрегата.
- Морфологија екстрацелуларних везикула биће испитивана микроскопским методама (скенирајућа електронска микроскопија и микроскопија атомских сила).
- За праћење молекулског садржаја екстрацелуларних везикула користиће се стандардне биохемијске методе за одређивање протеина и липида, као и ATR-FTIR спектроскопија.

6. Литература

1. Iraci, N., et al., *Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signalling Properties of Extracellular Membrane Vesicles*. Int J Mol Sci, 2016. **17**(2): p. 171.
2. Yu, J., et al., *Biogenesis and delivery of extracellular vesicles: harnessing the power of EVs for diagnostics and therapeutics*. Front Mol Biosci, 2023. **10**: p. 1330400.
3. Yanez-Mo, M., et al., *Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions*. J Extracell Vesicles, 2015. **4**: p. 27066.
4. Lin, J., et al., *Exosomes: novel biomarkers for clinical diagnosis*. ScientificWorldJournal, 2015. **2015**: p. 657086.
5. Dimik, M., et al., *The exosome: a review of current therapeutic roles and capabilities in human reproduction*. Drug Deliv Transl Res, 2023. **13**(2): p. 473–502.
6. Konoshenko, M.Y., et al., *Isolation of Extracellular Vesicles: General Methodologies and Latest Trends*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 8545347.
7. Jin, B.K., et al., *NANOBODIES®: A Review of Diagnostic and Therapeutic Applications*. Int J Mol Sci, 2023. **24**(6).
8. Taylor, D.D. and S. Shah, *Methods of isolating extracellular vesicles impact down-stream analyses of their cargoes*. Methods, 2015. **87**: p. 3–10.
9. Jeyaram, A. and S.M. Jay, *Preservation and Storage Stability of Extracellular Vesicles for Therapeutic Applications*. Aaps j, 2017. **20**(1): p. 1.
10. Mihály, J., et al., *Characterization of extracellular vesicles by IR spectroscopy: Fast and simple classification based on amide and CH stretching vibrations*. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2017. **1859**(3): p. 459–466.