

Универзитет у Београду- Хемијски факултет

Наставно-научно веће

Предмет: Молба за пријаву теме докторске дисертације Јоване Н. Терзић, мастер биохемичара, студента Хемијског факултета

Молим Научно-наставно веће Универзитета у Београду, Хемијског факултета, да одобри издразу докторске дисертације из области биохемије на Универзитету у Београду, Хемијском факултету, под радним насловом:

„Развој и карактеризација функционализованих чврстих фаза за афинитетну изолацију екстрацелуларних везикула“

За оцену научне заснованости приложене теме докторске дисертације предлагем комисију:

1. Др Тамара Тодоровић, редовни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет
2. Др Лидија Филиповић, научни сарадник, Универзитет у Београду, Биолошки факултет
3. Др Радивоје Продановић, редовни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет
4. Др Дејан Опсеница, научни саветник, Универзитет у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију
5. Др Милица Поповић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Хемијски факултет

У прилогу достављам:

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

У Београду,
2.2.2026.

Подносилац молбе

Јована Терзић
Истраживач-приправник
Универзитет у Београду, Хемијски факултет

1. Биографски подаци и научно-истраживачки рад кандидата

Јована Н. Терзић рођена је 17. октобра 1998. године у Пљевљима. Средње образовање завршила је у Гимназији „Танасије Пејатовић“ у Пљевљима 2017. године. Основне академске студије уписала је школске 2017/2018. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Хемија. Основне академске студије завршила је 2022. године са просечном оценом 8,03 (осам и 03/100). Завршни рад под насловом „Испитивање реакције 1,2-адиције 3-хидроксibenзоеве киселине и њених деривата на фулерен у присуству FeCl_3 “ одбранила је са оценом 10 (десет). Мастер академске студије уписала је школске 2022/2023. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Биохемија, које је завршила 2023. године са просечном оценом 9,33 (девет и 33/100). Завршни мастер рад под насловом „Испитивање термалне стабилности конструктора Н6-GFP, Н6-YFP и Н6-mCherry флуоресцентном спектроскопијом“ је одбранила са оценом 10 (десет). Докторске академске студије уписала је 2023. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Биохемија.

Од 2023. године запослена је на Институту за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду. Од 2024. године ангажована је као сарадник у настави на предмету *Хемија природних производа* на студијском програму Биохемија. До сада је положила 5/6 испита предвиђених планом и програмом докторских академских студија, са оценом 10 (десет).

У досадашњем научно-истраживачком раду кандидат је радио на оптимизацији синтезе порозног криогела као чврсте за имобилизацију рекомбинантних наноантитела, која се користе за имуноафинитетну изолацију екстрацелуларних везикула из плазме здравих донора. Присуство екстрацелуларних везикула у добијеним изолатима потврђено је применом стандардних биохемијских метода, проточне цитометрије, анализе кретања наночестица (NTA), као и микроскопских техника (SEM и AFM). Извршена је и детаљна карактеризација синтетисаног макропорозног криогела, која је обухватила испитивање порозности, транспортних својстава и морфологије материјала.

Јована Терзић је ангажована на реализацији европског пројекта EXPAND-EV, у оквиру кога је учествовала у програмима стручног усавршавања. У оквиру пројекта боравила је месец дана у Атини (Грчка) и месец ипо у Загребу (Хрватска), где је радила на активностима повезаним са истраживањима у области екстрацелуларних везикула.

Резултате свог истраживања Јована Терзић је представила у оквиру постер секције на међународној конференцији *3rd MOVE – International Meeting of Extracellular Vesicle Societies*, одржаној 2025. године у Тартуу, Естонија, под насловом „Application of VHH-immobilized cryogel-based immunoaffinity chromatography for isolation of extracellular vesicles“.

Кандидат је члан Биохемијског друштва Србије од 2024. године, као и Српског друштва за екстрацелуларне везикуле од 2024. године.

Саопштења са међународних научних скупова штампана у изводу (M34)

Terzić, J., Filipović, L., Mitić, N., Stevanović, S., de Marco, A., Zoidakis, I., Popović, M., *Application of VHH-immobilized cryogel-based immunoaffinity chromatography for isolation of extracellular vesicles* – Book of Abstracts of the **3rd MOVE – International Meeting of Extracellular Vesicle Societies**, p. 222, October 2025, Tartu, Estonia

ИЗЈАВА

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

**„Развој и карактеризација функционализованих чврстих фаза за афинитетну
изолацију екстрацелуларних везикула“**

Није пријављена на другим високошколским установама у земљи или иностранству.

У Београду,
2.2.2026.

Подносилац молбе

Јована Терзић
Истраживач-приправник
Универзитет у Београду, Хемијски факултет

Универзитет у Београду- Хемијски факултет

Наставно-научном већу

Предмет: Образложење теме докторске дисертације кандидаткиње Јоване Н. Терзић, мастер биохемичара, пријављене под насловом „Развој и карактеризација функционализованих чврстих фаза за афинитетну изолацију екстрацелуларних везикула“

1. Научна област

Хемијске науке

Ужа област: Биохемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет научног истраживања ове докторске дисертације је развој, функционализација и карактеризација различитих чврстих фаза за креирање афинитетне методе за изолацију екстрацелуларних везикула. Истраживање обухвата синтезу и модификацију порозних и честичних материјала, као и њихову функционализацију наноантителима. Поред тога, биће спроведена оптимизација и упоредна анализа њихове ефикасности у изолацији екстрацелуларних везикула из биолошких узорака.

Први део докторске дисертације обухватиће синтезу и карактеризацију порозног криогела који ће бити коришћен као чврста фаза за афинитетну изолацију екстрацелуларних везикула. Биће испитиване физичко-хемијске особине криогела, укључујући порозност, механичку стабилност, проточна својства и могућност хемијске модификације. Криогел ће бити функционализован наноантителима, а стабилност и ефикасност имобилизације биће анализиране одговарајућим аналитичким методама.

Други део докторске дисертације подразумеваће развој и испитивање других чврстих фаза са фокусом на честичне и/или порозне носаче различитих физичко-хемијских својстава. Биће испитиване могућности њихове функционализације, као и њихова примена у изолацији екстрацелуларних везикула.

Функционализоване чврсте фазе биће примењене за изолацију екстрацелуларних везикула из плазме добровољних здравих донора. Ефикасност изолације биће процењена колориметријским есејима за одређивање присуства протеина и липида. Даља карактеризација изолованих екстрацелуларних везикула обухватиће одређивање величине, морфологије, хомогености и површинских својстава применом одговарајућих аналитичких и микроскопских техника, као и испитивање површинских маркера.

Трећи део докторске дисертације обухватиће оптимизацију и упоредну анализу свих развијених чврстих фаза. Анализа ће бити спроведена у погледу капацитета, селективности и стабилности. Такође ће бити размотрена применљивост развијених система у даљим аналитичким и биолошким истраживањима.

3. Основне хипотезе

Екстрацелуларне везикуле (EV) представљају хетерогену групу мембраном окружених честица које ћелије активно ослобађају у ванћелијски простор и које имају значајну улогу у физиолошким и патолошким процесима. [1] Ћелије путем ових везикула размењују биолошке сигнале и молекуле, чиме утичу на функцију суседних и удаљених ћелија. Због тога су екстрацелуларне везикуле последњих година у фокусу бројних истраживања у области биомедицине и молекуларних наука.[2] Обухватају хетерогену популацију честица које се разликују по величини, пореклу, молекуларном саставу и биолошкој функцији. Екстрацелуларне везикуле пореклом из еукариотских ћелија најчешће се категоришу у три главне групе: егзозоме, микровезикуле и апоптотска тела, на основу њиховог ћелијског порекла и механизма биогенезе. Егзозоме представљају најмање везикуле, са пречником приближно од 30 до 150 nm, микровезикуле имају шири опсег величина, приближно од 100 nm до 1 μ m, док су апоптотска тела највећа, са димензијама које могу достићи неколико микрометара.[3] Ова подела, иако поједностављена, илуструје структурну и функционалну разноликост екстрацелуларних везикула.

Хетерогеност екстрацелуларних везикула, иако биолошки значајна, представља један од главних изазова у њиховој експерименталној обради. Посебно је сложен процес њихове изолације из биолошких течности.[4] Добијање изолата задовољавајуће чистоће и репродуктивности остаје један од кључних проблема у области истраживања екстрацелуларних везикула.

Методе које се најчешће користе за изолацију екстрацелуларних везикула заснивају се на њиховим физичким и биофизичким својствима, пре свега на величини и густини. У пракси се најчешће примењују методе засноване на ултрацентрифугирању, ултрафилтрацији, преципитацији полиетиленгликолом, гел-филтрацији (size-exclusion chromatography), као и различите комбинације наведених техника.[5] Иако су ови приступи широко заступљени, они су често временски захтевни, тешко стандардизовани и подложни варијацијама у квалитету добијених препарата. Поред тога, оне не омогућавају селективно раздвајање различитих популација екстрацелуларних везикула и често доводе до коизолације протеинских агрегата и липопротеинских честица.[6]

Имуноафинитетне технике представљају ефикасну алтернативу за селективну изолацију екстрацелуларних везикула, јер се заснивају на специфичним интеракцијама између површинских молекула везикула и одговарајућих антитела.[7] У том контексту, једнодоменска антитела (VHH, наноантитела) представљају добру алтернативу конвенционалним IgG антителима, због мање величине, добре стабилности и ниже цене производње. Ови системи омогућавају селективно везивање везикула путем специфичних интеракција са афинитетним лигандима, чиме се превазилазе ограничења метода заснованих искључиво на физичким параметрима.[8]

Имајући у виду наведене карактеристике екстрацелуларних везикула и ограничења постојећих метода њихове изолације, избор приступа и услова изолације може утицати на састав и својства добијених изолата. Поред избора афинитетног лиганда, значајан аспект представљају и својства чврсте фазе која служи као носач, укључујући њену структуру, површинске карактеристике и стабилност. Разматрање ових параметара

пружа шири контекст за анализу различитих приступа изолацији екстрацелуларних везикула.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Научни циљеви су дефинисани кроз следеће фазе:

- Развој и синтеза порозних криогелних материјала као чврстих фаза погодних за афинитетну изолацију екстрацелуларних везикула
- Функционализација криогелних материјала афинитетним лигандима и испитивање стабилности и ефикасности имобилизације
- Развој и испитивање других чврстих фаза за афинитетну изолацију екстрацелуларних везикула
- Оптимизација услова афинитетне изолације екстрацелуларних везикула применом развијених чврстих фаза
- Изоловање екстрацелуларних везикула из плазме добровољних здравих донора
- Карактеризација изолованих екстрацелуларних везикула у погледу величине, морфологије, хомогености и присуства површинских маркера применом одговарајућих биохемијских и аналитичких техника
- Упоредна анализа развијених чврстих фаза у погледу капацитета, селективности, стабилности и могућности скалирања процеса изолације

5. Методе истраживања

У истраживању ће бити примењене методе синтезе и карактеризације чврстих фаза.

Чврсте фазе биће синтетисане применом одговарајућих хемијских поступака, уз испитивање њихових структурних и физичко-хемијских својстава.

Функционализација чврстих фаза спроводиће се применом хемијских метода које омогућавају имобилизацију наноантитела.

Ефикасност и стабилност имобилизације пратиће се стандардним биохемијским методама за одређивање садржаја протеина и липида.

Афинитетна изолација екстрацелуларних везикула спроводиће се применом функционализованих чврстих фаза. Везикуле ће бити изоловане из различитих биолошких течности.

Морфологија изолованих екстрацелуларних везикула биће анализирана применом скенирајуће електронске микроскопије, као и техника атомске микроскопије.

Величина и дистрибуција екстрацелуларних везикула биће одређене применом анализе кретања наночестица (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA).

Присуство и експресија површинских маркера екстрацелуларних везикула биће испитивани применом техника заснованих на флуоресценцији, укључујући проточну цитометрију.

Упоредна анализа развијених система вршиће се на основу ефикасности изолације, репродуктивности поступка и стабилности функционализованих чврстих фаза. Поред тога, разматраће се брзина поступка и једноставност његове примене у практичним условима.

6. Литература:

- [1] W. Phillips, E. Willms, and A. F. Hill, "Understanding extracellular vesicle and nanoparticle heterogeneity: Novel methods and considerations," *PROTEOMICS*, vol. 21, no. 13–14, p. 2000118, Jul. 2021, doi: 10.1002/pmic.202000118.
- [2] M. Zarà *et al.*, "Biology and Role of Extracellular Vesicles (EVs) in the Pathogenesis of Thrombosis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 11, p. 2840, Jun. 2019, doi: 10.3390/ijms20112840.
- [3] Y. Matsuzaka and R. Yashiro, "Extracellular Vesicles as Novel Drug-Delivery Systems through Intracellular Communications," *Membranes*, vol. 12, no. 6, p. 550, May 2022, doi: 10.3390/membranes12060550.
- [4] S. Gandham *et al.*, "Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles," *Trends Biotechnol.*, vol. 38, no. 10, pp. 1066–1098, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.tibtech.2020.05.012.
- [5] D. D. Taylor and S. Shah, "Methods of isolating extracellular vesicles impact down-stream analyses of their cargoes," *Methods*, vol. 87, pp. 3–10, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.ymeth.2015.02.019.
- [6] W. Nakai *et al.*, "A novel affinity-based method for the isolation of highly purified extracellular vesicles," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 33935, Sep. 2016, doi: 10.1038/srep33935.
- [7] L. Filipović *et al.*, "Affinity-based isolation of extracellular vesicles by means of single-domain antibodies bound to macroporous methacrylate-based copolymer," *New Biotechnol.*, vol. 69, pp. 36–48, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.nbt.2022.03.001.
- [8] M. Popovic, E. Mazzega, B. Toffoletto, and A. De Marco, "Isolation of anti-extra-cellular vesicle single-domain antibodies by direct panning on vesicle-enriched fractions," *Microb. Cell Factories*, vol. 17, no. 1, p. 6, Dec. 2018, doi: 10.1186/s12934-017-0856-9.