

Биолошки факултет
Број захтева:15/223-1
Датум: 06.04.2012.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 46. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду («Гласник Универзитета», број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Структура тополошки затворене *ori* секвенце дихидрофолатредуктазног локуса у интеракцији са иницијационим протеином ORC“.

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биологија, Молекуларна биологија.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Бранко В. Томић

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао високо образовање:

Биолошки факултет Универзитета у Београду.

3. Година дипломирања: 2005.

4. Назив магистарске тезе кандидата: /

5. Назив факултета на коме је магистарска теза одбрањена: /

6. Година одбране магистарске тезе: /

7. Година и назив факултета на коме је кандидат уписао докторске студије:

2006- Биолошки факултет, докторски програм/модул: Молекуларна биологија.

Обавештамо Вас да је Наставно- научно веће Биолошког факултета Универзитета у Београду, на V редовној седници одржаној 09.03.2012. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације. На основу закључака са седнице Већа научних области природних наука, одржане 29.03.2012. године и дописа 02 Број: 06-17892/15-12, достављамо Вам коригован назив теме докторске дисертације.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић- Вукчевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.

2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

15/223-06.04.2012.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 12. Статута Биолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно-научно веће Факултета, на V редовној седници одржаној 09.03.2012. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за оцену испуњености услова и научне заснованости теме докторске дисертације кандидата:

Бранка В. Томића, дипломираног молекуларног биолога и физиолога, студента студијског програма Молекуларна биологија, под насловом:

„Структура тополошки затворене *ori* секвенце дихидрофолатредуктазног локуса у интеракцији са иницијационим протеином ORC“.

За менторе се именују:

1. Др Јелена Кушић- Тишма, научни сарадник, Универзитет у Београду- Институт за молекуларну генетику и генетички инжењерство;
2. Др Горан Брајушковић, доцент, Универзитет у Београду- Биолошки факултет.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић- Вукчевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- ментору;
- Стручној служби Факултета.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата: **Бранка В. Томића**

А. Име и презиме ментора: **др Јелена Кушић-Тишма**

Звање: **научни сарадник, Универзитет у Београду- ИМГГИ**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. **Kusic J**, Tomic B, Divac A, Kojic S. Human initiation protein Orc4 prefers triple stranded DNA. *Mol Biol Rep*. 2010 Jun;37(5):2317-22.
2. **Kusić-Tisma J.** and Stefanović D. (2011) in *DNA Replication-Current Advances* (Herve Seligmann Ed.) publish by InTech ISBN 978-953-307-593-8
3. Stankovic M, Nikolic A, Divac A, Tomovic A, Petrovic-Stanojevic N, Andjelic M, Dopudja-Pantic V, Surlan M, Vujicic I, Ponomarev D, Mitic-Milikic M, **Kusic J**, Radojkovic D. The CFTR M470V gene variant as a potential modifier of COPD severity: study of Serbian population. *Genet Test*. 2008 Sep;12(3):357-62.
4. Stefanovic D, **Kusic J**, Divac A, Tomic B. Formation of noncanonical DNA structures mediated by human ORC4, a protein component of the origin recognition complex. *Biochemistry*. 2008 Aug 19;47(33):8760-7.
5. Dinić J, **Kusić J**, Nikolić A, Divac A, Ristanović M, Radojković D. Analysis of Y chromosome microdeletions and CFTR gene mutations as genetic markers of infertility in Serbian men. *Vojnosanit Pregl*. 2007 Apr;64(4):253-6.
6. Kusic J, **Kojic S**, Divac A, Stefanovic D. Noncanonical DNA elements in the lamin B2 origin of DNA replication. *J Biol Chem*. 2005 Mar 18;280(11):9848-54.

Б. Име и презиме ментора: **др Горан Брајушковић**

Звање: **доцент, Универзитет у Београду- Биолошки факултет**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. **Brajušković G**, Strnad M, Cerović S, Romac S. The programmed cell death proteins and chronic leukemias. *Arch Biol. Sci. Belgrade* 2011; 63(3):527-35.
2. Dimitrijević R, Čadež I, Keckarević-Marković M, Keckarević D, Kecmanović M, Dobričić V, Savić-Pavićević D, **Brajušković G**, Romac S. Polymorphisms of the Prion Protein Gene (PRNP) in a Serbian Population. *International Journal of Neuroscience* 2010; 120(7):495-501.
3. Šijačić Nikolić M, Milovanović J, Bobinac M, Savić Pavićević D, **Brajušković G**, Diklić M. Variability of the Chloroplast DNA of Seddle Oak (*Quercus Petraea* Agg, *Enrendorfer, 1967*) in Serbia. *Arch Biol. Sci. Belgrade* 2009; 61(3):459-65
4. Strnad M, **Brajušković G**, Strelić N, Todorić-Živanović B, Stamatović D, Tatomirović Ž, Magić Z. Expression of programmed cell death proteins in patients with chronic myeloid leukemia. *J BUON* 2008, 13(3):403-8.
5. Pavlica Lj, Nikolić D, Magić Z, **Brajušković G**, Strelić N, Miličić B, Jovelić A. Successful Treatment of Postvenereal Reactive Arthritis With Synovectomy and 3' Months' Azithromycin. *J Clin Rheumatol* 2005; 11(5): 257-63.

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В, или Г):

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

Б) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релеватне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа, коју ће на предлог Универзитета донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41, и M51.)

В) У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односне дисертације.

Г) У случају да у ужуј научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

Декан Биолошког факултета

Датум: 06.04.2012.

Проф. др Јелена Кнежевић- Вукчевић

НАСТАВНО–НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На IV редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 27. јануара 2012. године, одређени смо у Комисију за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме за израду докторске дисертације Бранка В. Томића, под насловом: „Структура тополошки затворене *ori* секвенце дихидрофолатредуктазног локуса у интеракцији са иницијационим протеином ORC“.

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад Бранка В. Томића, Комисија подноси Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографија:

Општи подаци:

Име, средње слово и презиме: Бранко В. Томић
Датум и место рођења: 21.10.1980., Београд, Србија

Образовање:

- 2006. Уписао I годину докторских студије на Биолошком факултету Универзитета у Београду
- 2005. Дипломирани молекуларни биолог и физиолог, Биолошки факултет, Универзитет у Београду

Запослење:

- од 01.07.2005. Истраживач - приправник у ИМГГИ, Београд
- од 05.02.2007. Истраживач - сарадник у ИМГГИ, Београд

Курсеви:

- 2009. EMBO Practical course "Single-molecule manipulation and analysis of DNA-protein interactions" Париз, од 5. до 18. јула 2009. године, учесник
- 2010. P-CUBE Workshop и 1st P-CUBE User Meeting "Advance Protein Expression and Crystalization Methods" Гренобл, од 8. до 9. септембра 2010, учесник

Пројекти:

Национални пројекти:

Година	Назив
2005	Мутирани ген у контексту других гена, основни пројекат МНТРС (1417)
2006-2010	Структурални елементи генома у модулатији фенотипа, основни пројекат МНЗЖС (143051)
2009-2011	Мала школа ДНКлогије, програм популаризације науке МНТРС
2011-2014	Комплексне болести као модел систем за проучавање модулатије фенотипа-структурна и функционална анализа молекуларних биомаркера основни пројекат МНТРС (173008)

Међународни пројекти:

Година	Назив
2005-2006	Creation and use of the library of aptamers highly specific for HsORC4 (ICGEB, CRP/YUG03-01)
2009-2011	Structural alterations of DNA induced by initiator protein (ICGEB, CRP/YUG08-01)
2011	Researchers' Night Fever "RENIFEVER" (EU, CSA-SA, FP7-PEOPLE-2011-NIGHT- 287432, 2011)

Чланство у научним друштвима:

Страни језици:

Енглески, Француски, Немачки језик

Посебне активности и награде:

Б. Библиографија:

Радови и конгресна саопштења из уже научне области:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Nikolic A, Divac A, Stankovic M, Dinic J, **Tomic B**, Ljubic M (2006) Analysis of common CFTR polymorphisms 5T, M470V, and R75Q in healthy Serbian population *Russ J Genet* 42(7): 821-823 **M23**
2. Stefanovic D, Kusic J, Divac A, **Tomic B** (2008) Formation of noncanonical DNA structures mediated by human ORC4, a protein component of the origin recognition complex *Biochemistry* 47(33):8760-8767 **M22**
3. Radojkovic M, Ristic S, Divac A, **Tomic B**, Nestorovic A, Radojkovic D (2009) Novel ORC4L gene mutation in B-cell lymphoproliferative disorders – a report of 3 cases *Am J Med Sci* 338(6):527-529 **M22**
4. Divac A, **Tomic B**, Kusic J (2010) The role of ATP in human ORC4 protein function *Journal of the Serbian Chemical Society* 75(3):317-322 **M23**

5. Kusic J, **Tomic B**, Divac A, Kojic S. Human initiation protein Orc4 prefers triple stranded DNA. Mol Biol Rep (2010) 37: 2317-2322 **M23**

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Kusic J, **Tomic B**, Divac A, Stefanovic D HsORC4 promotes remodeling in constrained DNA Chromatin Replication and Chromosomal Stability Conference Copenhagen, Denmark, 2009 **M34**
2. Nikolic A, Divac A, **Tomic B**, Stankovic M, Nackaerts K, Cuppens H, Radojkovic D. "R75Q variant of CFTR gene in COPD patients" 28th European Cystic Fibrosis Conference, Hersonissos Crete, Greece; 22-26 June 2005 **M34**
3. Djordjevic V, Rakicevic L, **Tomic B**, Miljic P, Mikovic D, Kovac M, Antonijevic N, Radojkovic D, Recurrent miscarriages and maternal thrombophilia in Serbian population. 7th Balkan Meeting on Human Genetics, Skopje August 31st-September 2st, 2006 **M34**
4. Djordjevic V, Nestorovic A, **Tomic B**, Miljic P, Mikovic D, Kovac M, Antonijevic N, Rakicevic L, Radojkovic D. The 3'UTR prothrombin gene polymorphisms in thrombotic serbian population. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Geneva, July 6-12, 2007 **M34**
5. Djordjevic V, Nestorovic A, **Tomic B**, Miljic P, Mikovic D, Kovac M, Antonijevic N, Rakicevic L, Radojkovic D. FIIA19911G and FII C20211T polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss. 20th International Congress on Thrombosis, Athens, June 25-28, 2008 **M34**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. Ђорђевић В, Ракићевић Ј, Несторовић А, **Томић Б**, Миљевић П, Миковић Д, Ковач М, Антонијевић Н, Радојковић Д. Учесталост хомозиготних носилаца FV Leiden и FII G20210А мутација код пацијената са тромбофилијом. 3. Конгрес трансфузиолога Србије и Црне Горе, Београд, 8-11. новембар, 2006 **M64**
2. Ђорђевић В, Несторовић А, **Томић Б**, Миљевић П, Ковач М, Миковић Д, Антонијевић Н, Ракићевић Ј, Радојковић Д. Учесталост FII A19911G и FII C20211T полиморфизама код пацијената са тромбофилијом. IV Конгрес генетичара Србије, Тара, 1-5. јун, 2009. **M64**
3. Ђорђевић В., Несторовић А., **Томић Б.**, Прунер И., Миљевић П., Миковић Д., Ковач М., Антонијевић Н, Ракићевић Ј, Радојковић Д. Учесталост полиморфизама у 3' крају гена за протромбин код пацијената са тромбозама дубоких вена. 4. Конгрес трансфузиолога Србије са међународним учешћем. Београд, 10-12. новембар 2010. **M64**

В. Тема докторске дисертације:

Наслов дисертације:

„Структура тополошки затворене *ori* секвенце дихидрофолатредуктазног локуса у интеракцији са иницијационим протеином ORC“

Полазне основе:

Репликација ДНК код еукариота започиње везивањем иницијационог протеина ORC за оригине репликације (*ori* секвенце), чиме се одређује место формирања пререпликационог комплекса (pre-RC). По активацији pre-RC, у току С фазе, долази до одвијања дволанчане завојнице и настанка репликационог окцета. Иако су протеини укључени у процес иницијације репликације ДНК идентификовани и њихови хомолози детектовани код свих до сада испитиваних еукариота, механизам препознавања и интеракције иницијационих протеина са *ori* секвенцама још увек је неразјашњен.

Иницијациони протеини припадају AAA+ суперфамилији протеина чије везивање и/или хидролиза АТФ-а условљава конформационе промене у њима самима или интерагујућим партнерима. Код прокариота, иницијациони протеин DnaA формира мултипротеински комплекс на орицину репликације промовишући денатурацију ДНК у суседном, АТ богатом региону, док код *Archaea* везивање иницијационог протеина ORC/Cdc6 деформише дволанчану структуру *ori* секвенце. Ови подаци указују да иницијациони протеини, поред улоге у препознавању и одређивању места иницијације репликације, могу активно учествовати и у његовом ремоделовању.

Предмет докторске дисертације:

Предмет докторске дисертације је анализа ДНК структуре коју *ori* секвенце заузимају под тополошким притиском и током њихове интеракције са иницијационим протеином HsOrc4. У предходним истраживањима испитивана је структура различитих фрагмената изолованих из *ori* секвенци, везивање протеина за одабране фрагменте и утицај иницијационог протеина Orc на структуру ДНК. Истраживања су рађена на линеарним фрагментима ДНК, односно оригина репликације и показала су постојање неортодоксних структура у оквиру ње. Истраживања су такође показала да се хумани протеин Orc преференцијално везује за негативно суперспирализовану ДНК и да има способност формирања троланчаних ДНК структура. На основу ових резултата предпостављено је да Orc катализује формирање нестандартних интрамолекулских структура које би могле да буду значајне за расплитање дволанчане завојнице.

Научни циљ докторске дисертације:

Ово истраживање има за циљ да идентификује структуру ДНК у функционално значајним регионима *ori* секвенце и механизам њихове интеракције са иницијационим протеином. За анализу је одабран орицин репликације у дихидрофолатредуктазном локусу (DHFR origin of replication), јер је у предходним радовима других аутора

утврђено који региони имају значаја за иницијацију репликације *in vivo*. Постоје назнаке да ови региони формирају нестандартне структуре ДНК. Показано је да Orc интерагује са овим доменима ДНК што подржава хипотезу да он има и одређену улогу у препознавању или ремоделовању ових структура. Није јасно на који начин до овог препознавања долази и ово истраживање би разјаснило неке битне аспекте функционисања орицина репликације и везивања протеина Orc за орицин, као и улогу овог протеина у његовом ремоделовању.

Материјал и методе:

У експерименталном делу рада користиће се следеће методе: нуклеазни и топоизомеразни есеј, дводимензионална електрофореза нуклеинских киселина, PCR, RT-PCR, есеј смањење електрофоретске покретљивости (EMSA), секвенцирање ДНК, клонирање, трансформација бактерија, трансфекција, рад са перманентним ћелијским линијама, експресија и пречишћавање протеина у прокариотском и еукариотском експресионом систему, SDS-PAGE, денатуришућа-PAGE, Western blot анализа, обележавање ДНК радиоактивним изотопом.

5. Најважнији литературни подаци који подржавају тему (до 10 референци)

1. Stefanovic D, Kusic J, Divac A, Tomic B (2008) Formation of noncanonical DNA structures mediated by human ORC4, a protein component of the origin recognition complex *Biochemistry* 47(33):8760-8767
2. Gray SJ, Liu G, Altman AL, Small LE, Fanning E. (2007) Discrete functional elements required for initiation activity of the Chinese hamster dihydrofolate reductase origin beta at ectopic chromosomal sites *Exp Cell Res.* 313(1):109-20
3. Altman AL, Fanning E. (2004) Defined Sequence Modules and an Architectural Element Cooperate To Promote Initiation at an Ectopic Mammalian Chromosomal Replication Origin *Mol Cell Biol.* 24(10):4138-50
4. Altman AL, Fanning E. (2001) The Chinese hamster dihydrofolate reductase replication origin beta is active at multiple ectopic chromosomal locations and requires specific DNA sequence elements for activity *Mol Cell Biol.* 21(4):1098-110
5. Masai H, Matsumoto S, You Z, Yoshizawa-Sugata N, Oda M. (2010) Eukaryotic chromosome DNA replication: where, when, and how? *Annu Rev Biochem.* 79:89-130
6. Abdurashidova G, Radulescu S, Sandoval O, Zahariev S, Danailov MB, Demidovich A, Santamaria L, Biamonti G, Riva S, Falaschi A. (2007) Functional interactions of DNA topoisomerases with a human replication origin. *EMBO J.* 26(4):998-1009
7. Méchali M. (2010) Eukaryotic DNA replication origins: many choices for appropriate answers *Nat Rev Mol Cell Biol.* 11(10):728-38

Г. Закључак и предлог:

Означавање места иницијације репликације (*ori* секвенце или оридини репликације) код еукариота започиње везивањем протеинског комплекса ORC за ДНК. Испитивање структуре одабране *ori* секвенце под тополошки затвореним условима најприближније одговара условима који владају у ћелији где се ДНК налази у оквиру хроматинских петљи између којих изостаје преношење торзионог притиска. Карактеризација интеракције иницијационог протеина са оваквим структурама расветлила би молекулске трансакције на *ori* секвенцама приликом иницијације репликације и указала на потенцијалну улогу иницијационог протеина ORC током селекције и активације места иницијације репликације. Истраживања су показала да су број и квалитет активираних места иницијације битни за одржање стабилности генетичке информације, а да њихов дисбаланс може довести до развитка неконтролисане пролиферације, односно тумора. Сазнања о овим процесима су релативно скромна стога ова теза доприноси расветљавању ове веома битне, али недовољно проучене одлике животног циклуса ћелије.

Тема коју предлаже кандидат, њена актуелност, значај и савремени приступ, одговарају законским и научним захтевима који се постављају за докторску дисертацију. Због тога сматрамо да је пријављена тема прихватљива као основ за израду докторске дисертације и предлажемо Наставно-научном већу Биолошког факултета да прихвати пријављену тему докторске дисертације Бранка В. Томића под насловом „Структура тополошки затворене *ori* секвенце дихидрофолатредуктазног локуса у интеракцији са иницијационим протеином ORC“.

Београд, 14.02. 2012 године

Комисија:

др Јелена Кушић-Тишма, научни сарадник ИМГГИ

др Горан Брајушковић, доцент
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

др Драгица Радојковић, научни саветник ИМГГИ

