

Биолошки факултет
Број захтева: 15/208-1
Датум: 06.04.2012.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду («Гласник Универзитета», број 131/06), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата: **Мр Милице Ј. Николић, дипломираног биолога.**

КАНДИДАТ: **Мр Милица Ј. Николић**

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Карактеризација површинских молекула бактеријских ћелија одговорних за потенцијалну пробиотичку активност природних изолата лактобацила“.

из научне области: Биологија, Молекуларна генетика и генетичко инжењерство.

Универзитет је дана 24.11.2011. године, својим актом под бр. 02 број: 06-8096/6 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата која је гласила:

„Карактеризација површинских молекула бактеријских ћелија одговорних за потенцијалну пробиотичку активност природних изолата лактобацила“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата: **Мр Милице Ј. Николић**, образована је на V редовној седници Наставно- научног већа Универзитета у Београду- Биолошког факултета, одржаној 09.03.2012. год, одлуком Факултета под бр.15/134-09.03.2012. год. у саставу:

Име и презиме члана Комисије	Звање	Научна област
1) Др Бранко Јовчић	Доцент Универзитет у Београду- Биолошки факултет	Биохемија и молекуларна биологија
2) Др Наташа Голић	Виши научни сарадник Универзитет у Београду- Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство	Молекуларна генетика и генетичко инжењерство
3) Др Милан Којић	Научни саветник Универзитет у Београду- Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство	Молекуларна генетика и генетичко инжењерство микроорганизама

Наставно-научно веће Биолошког факултета Универзитета у Београду прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата мр Милице Ј. Николић на VI редовној седници одржаној 06. априла 2012. године.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић- Вукчевић

Прилог: 1. Извештај Комисије са предлогом.

2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању извештаја.



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

15/208-06.04.2012.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду- Биолошког факултета, Наставно- научно веће Факултета, на VI редовној седници одржаној 06.04.2012. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Мр Милице Ј. Николић, под насловом:

„Карактеризација површинских молекула бактеријских ћелија одговорних за потенцијалну пробиотичку активност природних изолата лактобацила“.

Универзитет је дана 24.11.2011. године. својим актом под бр. 02 број: 06-8096/6 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја:

Nikolic, M., Jovic, B., Kojic, M., Topisirovic, L. 2010. Surface properties of **M21** *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from homemade cheeses showing auto-aggregation ability. Europ. Food Res. Tech. 231:925-931.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић- Вукчевић

Доставити:

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

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 09.03.2012. године, прихваћен је извештај ментора др Наташе Голић и др Бранка Јовчића о урађеној докторској дисертацији мр Милице Ј. Николић, истраживача сарадника Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду, под насловом **“Карактеризација површинских молекула бактеријских ћелија одговорних за потенцијалну пробиотичку активност природних изолата лактобацила”**, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу др Бранко Јовчић, доцент Биолошког факултета, Универзитет у Београду; др Наташа Голић, виши научни сарадник Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду и др Милан Којић, научни саветник Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Милице Николић написана је на 134 стране које су подељене у поглавља: Увод (24 стране), Циљ рада (1 страна), Материјал и методе (17 страна), Резултати (36 страна), Дискусија (19 страна), Закључци (3 стране), Литература (17 страна) и један Прилог (17 страна). Рад садржи резиме на српском и енглеском језику, 28 слика и 11 табела (1 слика и 1 табела у Уводу, 2 табеле у Материјалу и методама, 27 слика и 8 табела у Резултатима), 220 библиографских јединица као и биографију аутора.

АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод дисертације приказује у више одељака опште карактеристике бактерија млечне киселине (БМК), са нагласком на род *Lactobacillus*, опште карактеристике пробиотика и улогу површинских карактеристика лактобацила, као и карактеристике имуног система човека. Увод почиње одељком где се након општих карактеристика БМК, детаљније описују лактобацили. Наведене су и врсте рода *Lactobacillus* које се са сигурношћу могу увести у ланац исхране (“QPS status”). Поред дефиниције и општих карактеристика пробиотика, дати су и примери примене пробиотика, поготово лактобацила, у ублажавању здравствених тегоба људи. У делу где се описују површинеке карактеристике лактобацила наведени су и описани површински протеини, фактори адхезије лактобацила за гастроинтестинални тракт (ГИТ) човека, способност агрегације и ектополисахариди (ЕПС) лактобацила. ЕПС су додатно детаљно описани: подела, механизам биосинтезе, локализација и организација гена одговорних за биосинтезу као и улога ЕПС молекула. Одељак који се односи на имуни

систем човека почиње прегледом општих карактеристика, а даље се описује улога интеракције микроорганизама са ГИТ-ом у модулацији имуног система. Поглавље Увод се завршава описивањем значаја изучавања карактеристика природних изолата лактобацила.

У поглављу **Циљ** рада наглашено је које су површинске карактеристике одабране за анализу: агрегација и продукција егзополисахарида природних изолата лактобацила. Циљеви анализе особине агрегације (аутоагрегација одабраних сојева лактобацила и коагрегација *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 са другим врстама бактерија) су били брзина и опис типа аутоагрегације, анализа природе фактора ауто- и коагрегације као и анализа нивоа хидрофобности лактобацила који агрегирају у односу на одабране лактобациле који не испољавају ову карактеристику. Сој *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11, произвођач хетерополисахарида за који су добијени Мус⁻ деривати, који не продукују ЕПС-CG11, је одабран за детаљну анализу пробиотичких особина. С тим у вези дефинисани су циљеви праћења *in vitro* преживљавања симулираног проласка кроз ГИТ дивљег соја BGCG11 и Мус⁻ деривата NB1, NB4 и NB16, стабилност пречишћеног EPS-CG11 у условима симулираног проласка кроз ГИТ, адхезија соја BGCG11 и Мус⁻ деривата NB1, NB4 и NB16 на епителијалне интестиналне ћелијске линије (Caco-2, HT29 и HT29-MTX), као и *in vitro* одговор лимфоцита из периферне крви у присуству BGCG11, Мус⁻ деривата (NB1, NB4, NB16) и пречишћеног EPS-CG11 у виду мерења пролиферације лимфоцита и продукције цитокина. Додатни циљеви су обухватили анализу цитотоксичног ефекта и продукције IL-8 у HT29-MTX ћелијској линији након инкубације са патогеним микроорганизмима, као и поређење са ефектом након коинкубације патогена са BGCG11, једним Мус⁻ дериватом (NB1), пробиотиком *Lactobacillus rhamnosus* GG, или коинкубације патогена са пречишћеним EPS-CG11 и ЕПС-ом соја *Lb. rhamnosus* GG (EPS-GG). Као посебни циљеви рада су одређени локализација и карактеризација оперона за EPS-CG11 соја BGCG11.

У поглављу **Материјал и методе** наведени су сојеви и плазмиди коришћени у овом раду као и начини култивације бактерија. У оквиру метода за рад са генетичким материјалом описане су методе за изоловање укупне и плазмидне ДНК, како из лактобацила тако и из *E. coli*, умножавање ДНК фрагмента PCR методом, сечење ДНК рестрикционим ензимима, дефосфорилација и лигација ДНК. Такође, описана је методологија обележавања ДНК молекула биотином и дигоксигенином, као и методе преноса ДНК на најлонске мембране и нерадиоактивне ДНК – ДНК хибридације. Описане су и методе трансформације компетентних ћелија *E. coli* DH5α. Клонирањем и секвенцирањем конструката на коме се налазе генетичке детерминанте оперона за EPS-CG11 добијена је комплетна нуклеотидна секвенца која је анализирана помоћу “BLAST” и “DNA Strider” компјутерских програма. Методе анализе агрегационих способности су обухватале мерење брзине агрегације, одређивање природе агрегационих фактора (интензивно прање ћелија у бидестилованој води или у PBS раствору) и анализу хидрофобности ћелијске површине (адхезијом за неполарни растварач). За карактеризацију соја BGCG11 као потенцијалног пробиотика, коришћене су методе симулираног проласка кроз ГИТ, адхезија соја BGCG11 и Мус⁻ деривата NB1, NB4 и NB16 на Caco-2, HT29 и HT29-MTX епителијалне интестиналне ћелијске линије. Описана је метода изолације и пречишћавања EPS-CG11 и EPS-GG, као и коришћење HPLC анализе за квантификовање промене на нивоу моларне масе и количине EPS-CG11 молекула након проласка кроз симулиране услове ГИТ-а. Описане су и технике мерења пролиферација лимфоцита (“Amersham Cell Proliferation Biotrack ELISA” кит), квантификације цитокина системом за проточну цитометрију, технике праћење нивоа цитотоксичног ефекта (“Cytotoxicity Detection Kit^{PLUS} (LDH)”) и нивоа продукције IL-8 код HT29-MTX ћелија (“Human IL-8 ELISA Ready-SET-Go![®]” кит).

У поглављу **Резултати** кандидат је приказала резултате на јасан и прегледан начин. Прво су одабрани изолати детерминисани молекуларним методама, где је на основу хомологије дела секвенце гена за 16S рРНК утврђено да највећи број тестираних изолата који испољавају аутоагрегацију (8 изолата), као и два изолата који не агрегирају припадају групи *Lactobacillus casei*, док је један изолат (BGDU4-71) детерминсан као *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Сој BGCG11, предходно детерминисан (на основу профила хидролизе шећера) као *Lactobacillus casei*, у овом раду је на основу хомологије дела секвенце гена за 16S рРНК детерминисан као *Lactobacillus plantarum/penthosus* а AFLP методом је коначно детерминисан као *Lactobacillus paraplantarum*. За одабране изолате који показују аутоагрегационе способности су поређени брзина и тип агрегације као и природа фактора који су одговорни за агрегацију. Уочено је да је брзина аутоагрегације варијала, а најбрже су агрегирали сојеви BGSJ2-8, BGDP1-84 и BGNJ1-6. Морфологија агрегата је такође варијала, али је показано да је код свих сојева агрегација била осетљива на третман протеиназом К, прање у PBS пуферу није мењало карактер ове особине, а код већине се аутоагрегација губила интензивним прањем у бидестилованој води (осим код соја BGDP1-84). Показано је да *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 коагрегира са *Listeria innocua* ATCC33090, *Escherichia coli* ATCC25922 и са *Salmonella enterica* ser. Typhimurium TR251 где и ова врста интеракције бива нарушена третманом протеиназом К. Што се тиче резултата анализе адхезије за неполарни растварач, као мерила хидрофобности ћелијске површине, уочено је да сојеви који агрегирају имају високу хидрофобност ћелијске површине, док анализирани сојеви (или деривати) који не агрегирају имају хидрофилну површину. Највећи део резултата обухвата одређивање потенцијалног пробиотског деловања соја *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11. Сој BGCG11 је заједно са своја три деривата која не продукују EPS-CG11 преживљавао симулирани пролазак кроз ГИТ уколико је претходно био ресуспендован у 10% обраном млеку. У том случају желудачни сок би преживело око 80% ћелија, да би финално после симулираног проласка кроз црева преживело око 1-2% ћелија. Утврђено је да није долазило до статистички значајне промене количине и молекулске масе пречишћеног EPS-CG11 молекула након симулираног проласка кроз ГИТ. Тестови *in vitro* адхезије за Сасо-2, HT29 и HT29-MTX ћелије су показали да се BGCG11 везивао слично као и *Lb. rhamnosus* GG, а статистички значајније мање везивао за све три ћелијске линије у односу на Мус⁻ деривате NB1, NB4 и NB16. Сви тестирани лактобацили су се најмање везивали за HT29-MTX ћелије. Резултати промене на лимфоцитима из периферне крви добровољних даваоца су показали да само у присуству мртвих ћелија лактобацила (BGCG11 и Мус⁻ деривати NB1, NB4 и NB16), а не у присуству молекула EPS-CG11 долази до пролиферације лимфоцита. У присуству мртвих ћелија лактобацила (BGCG11 и Мус⁻ деривати) лимфоцити су испољили значајно виши ниво продукције свих тестираних цитокина (IFN γ , TNF α , IL-12, IL-10 и IL-1 β) сем IL-17. Разлика између BGCG11 и Мус⁻ деривата се огледала у нивоу продукције IL-12 који је BGCG11 значајније мање продуковао у односу на деривате. За разлику од лактобацила, пречишћени EPS-CG11 је индуковао само повећање IL-17 кога ћелије лактобацила нису индуковале. Генерално посматрано, уколико су лимфоцити били инкубирани само са BGCG11, или са EPS-CG11 (у концентрацији 100 μ g/ml) јављао се антиинфламаторни одговор, док Мус⁻ деривати изазивају инфламаторни ефекат. Интересантни су резултати добијени кад се пореди ефекат инкубације седам патогена са HT29-MTX ћелијама у односу на ефекат који се добије са истом ћелијском линијом након коинкубације патогена са лактобацилима (BGCG11, NB1 или са *Lb. rhamnosus* GG понаособ) или са EPS-CG11 и EPS-GG. Од свих патогена, једино је *Listeria monocytogenes* LMG13305 изазивала повећан цитотоксични ефекат, а показано је да тај ниво штетног ефекта може да се смањи уколико се поменути патоген коинкубира са EPS-CG11. Резултати индукције IL-8 су били различити након инкубације сваког патогена понаособ са HT29-MTX ћелијама. Када се посматра мерени ниво продукције IL-8 након коинкубације понаособ *Salmonella enterica* ser. Typhimurium

LMG15660, *Shigella sonnei* LMG10473 i *Yersinia enterocolitica* LMG7899 са BGCG11 или са NB1 долази до повећања продукције овог цитокина у односу на инкубацију без присуства лактобацила. Интересантан резултат је добијен по питању продукције IL-8 након коинкубације *L. monocytogenes* LMG13305 са ћелијама или са ЕПС молекулом, где је коинкубација са BGCG11 значајно повећала, а са EPS-CG11 снизила ниво продукције IL-8 у HT29-MTX ћелијама. Оба типа ЕПС молекула (EPS-CG11 и EPS-GG) су значајно смањила ниво продукције IL-8 након коинкубације са *Clostridium difficile* LMG21717. Значајан део резултата је посвећен приказивању поступка клонирања и утврђивања локализације генског оперона за EPS-CG11. Откривено је да се на 26,463 kb секвенце великог плаزمида pCG1, који недостаје Muc⁻ дериватима налази 15 потенцијалних отворених оквира читања ("open reading frame" - ORF) тј. ORF-ова који су укључени у синтезу EPS-CG11. Детаљно су анализирани аминокиселинске секвенце сваког ORF-а са приказом хомологије домена протеина (рађено "BLAST" програмом), као и анализа додатна четири ORF-а који највероватније нису део генског оперона за EPS-CG11.

Поглавље **Дискусија** је подељено у део где се тумаче добијени резултати за агрегационе способности лактобацила и део који анализира карактеризацију соја BGCG11 као потенцијалног пробиотика и истиче значај локализације и карактеризације генског оперона за EPS-CG11. Агрегација је тумачена као један од фактора који учествују у карактеризацији сојева као пробиотика, помажу у адхезији и преживљавању у условима ГИТ-а. С тим у вези, битна је протеинска природа фактора који учествују у агрегацији анализираних лактобацила, као и висока хидрофобност њихових ћелија. Посебно је прокоментарисан сој *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 који је од раније познат као продуцент бактериоцина, а у овом случају коагрегационе способности су га приближиле статусу пробиотика. Што се тиче преживљавања симулираних услова ГИТ-а ЕПС продуцента *Lb. paraplantarum* BGCG11, дискутује се како није редак случај да пробиотици преживљавају само ресуспендовани у различитим матриксама течне хране. Нема пуно литературних података око анализа ефекта симулираног проласка кроз ГИТ за ЕПС молекуле, али EPS-CG11 се показао као изузетно резистентан на дигестију у тестираном систему. Продискутовано је како је нижи ниво адхезије *Lb. paraplantarum* BGCG11 у односу на Muc⁻ деривате на све три ћелијске линије, највероватније последица интерферирања EPS-CG11 молекула што је потврђено и другим литературним подацима. Даље је дискутовано како муцини које продукује HT29-MTX ћелијска линија највероватније интерферирају са адхезијом свих тестираних лактобацила те је зато за ове ћелије детектован најмањи проценат адхезије. Што се тиче имуног одговора лимфоцита, пролиферацију су индуковале неке друге структуре са површине тестираних лактобацила, а не EPS-CG11. Кандидат дискутује како је EPS-CG11 показао, као и сам продуцентски сој BGCG11 антиинфламаторни ефекат, што се сматра као последица непостојања наелектрисања (неутралног карактера) EPS-CG11, јер литературни подаци упућују на проинфламаторни ефекат фосфополисахарида (позитивно наелектрисани ЕПС). Добро је продискутован и део резултата везан за тестирање позитивног ефекта коинкубације патогена са потенцијалним пробиотиком BGCG11 и већ окарактерисаним пробиотиком *Lb. rhamnosus* GG у односу на инкубацију HT29-MTX ћелија само са патогеним сојевима. Истакнут је ефекат EPS-CG11, разлике између ефекта који производи коинкубација патогена само са BGCG11, Muc⁻ дериватом NB1 или са *Lb. rhamnosus* GG. Посебно се истиче значај добијених резултата молекуларне генетике у циљу локализације и карактеризације генског оперона за EPS-CG11. На pCG1 плазмиду су лоцирани гени који учествују у биосинтези EPS-CG11 као што је примарна гликозилтрансфераза (ORF 1), затим друге гликозилтрансферазе (ORF 2, 3, 4, 5 и ORF 8), полисахарид полимеразе (ORF 6 и 7), регулатори дужине ланца (ORF 9, 10 и 11), регулатори биосинтезе ЕПС-а (ORF 10 и 11) као и гени чији производи могу да одреде велики проценат рамнозе у EPS-CG11 (ORF 13, 14, 15 и 16) који су хомологи са *rfbACBD* генима задуженим за биосинтезу dTDP-рамнозе.

У поглављу **Закључци** кандидат сажето износи најважније закључке до којих се може доћи на основу анализе добијених експерименталних резултата. Највећи број анализираних сојева са особином аутоагрегације и два соја који не агрегирају су на основу дела секвенце гена за 16S рРНК детерминисани као припадници групе *Lactobacillus casei*, док је један детерминисан као *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Сој BGCG11 је детерминисан до нивоа врсте AFLP методом као *Lactobacillus paraplantarum*. Наведено је да су брзина и облик агрегата ћелија сојева који аутоагрегирају били различити, а најбрже су формирали агрегате BGSJ2-8, BGDP1-84 и BGNJ1-6. До губитка аутоагрегације је долазило након интензивног прања у бидестилованој води (осим код соја BGDP1-84). Протеиназа К је заустављала формирање аутоагрегата, али и коагрегата соја BGSJ2-8 са *L. innocua* ATCC33090, *E. coli* ATCC25922 или са *S. enterica* ser. Typhimurium TR251. Заједничка карактеристика свих сојева који су аутоагрегирали је била виска хидрофобност ћелијске површине, за разлику од неагрегирајућих који су имали хидрофилну површину. Преживљавање BGCG11 и Muc⁻ деривата NB1, NB4 и NB16 кроз симулирани пролазак кроз ГИТ је био могућ уколико су сојеви били ресуспендовани у 10% обраном млеку, док је EPS-CG11 пролазио дигестију кроз желудачни и цревни сок без промена молекулске масе и количине. Ниво адхезије на све три ћелијске линије је био већи код Muc⁻ деривата NB1, NB4 и NB16 у односу на BGCG11 и *Lb. rhamnosus* GG, а гледано између три ћелијске линије, најмање везивање су сви лактобацили показали за HT29-MTX ћелије. Пролиферација лимфоцита периферне крви је била повећана само у присуству мртвих ћелија лактобацила, док EPS-CG11 није индуковао такав одговор. Продукција различитих цитокина је варијала и генерално посматрано, уколико су лимфоцити били инкубирани само са BGCG11, или са EPS-CG11 (у концентрацији 100 µg/ml) јављао се антиинфламаторни и про-Th17 одговор, док Muc⁻ деривати испољавају инфламаторни ефекат. Ниво цитотоксичног ефекта над HT29-MTX ћелијама изазван са *L. monocytogenes* LMG13305 се смањило након коинкубације са EPS-CG11, а мерени ниво продукције IL-8 код HT29-MTX ћелија је повећаван након коинкубације понаособ *S. enterica* ser. Typhimurium LMG15660, *Sh. sonnei* LMG10473 и *Y. enterocolitica* LMG7899 са BGCG11 или са NB1. Сој BGCG11 је значајно повећао, а EPS-CG11 снижио ниво продукције IL-8 након коинкубације са *L. monocytogenes* LMG13305. Оба типа ЕПС молекула (EPS-CG11 и EPS-GG) су значајно смањила ниво продукције IL-8 након коинкубације са *Cl. difficile* LMG21717. Закључено је да различити молекули са површине патогена и лактобацила модификују неспецифични имуни одговор HT29-MTX ћелија, а ЕПС молекули (EPS-CG11 и EPS-GG) углавном стишавају имуни одговор. Наглашено је да се међусобно разликовао ефекат који су изазивали BGCG11 и *Lb. rhamnosus* GG као и њихови EPS-CG11 и EPS-GG. Посебно је истакнут закључак о локализацији оперона за EPS-CG11 на pCG1 плазмиду који недостаје Muc⁻ дериватима, да се у региону од око 15 kb налази 15 ORF-ова са функцијом гликозилтрансфераза, полисахарид полимеразе, регулатора дужине ланца, регулатора биосинтезе ЕПС-а као и гени *rfbACBD* који могу да буду гледани као засебан оперон заслужан за необично велики проценат рамнозе у EPS-CG11. Необична локализација оперона за EPS-CG11 на плазмидној ДНК као и оригинална организација гена у оквиру оперона, такође и сам податак да до сада није окарактерисан оперон за биосинтезу ЕПС-а код врсте *Lactobacillus paraplantarum* истичу велики научни значај овог рада, док су ови резултати уједно и додатни допринос карактеризацији соја BGCG11 као потенцијалног пробиотика.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

B1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Nikolic, M.**, Jovicic, B., Kojic, M., Topisirovic, L. 2010. Surface properties of **M21** *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from homemade cheeses showing auto-

aggregation ability. Europ. Food Res. Tech. 231:925-931.

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Golic, N., **Nikolic, M.**, López, P., Strahinic, I., Suárez, A., Kojic, M., Ruas Madiedo, P., Topisirovic, L. Role of exopolysaccharides (eps) on probiotic potential of the eps-producing strain *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11. II Symposium Microbes for Health, Paris, France (2011). **M34**
2. **Nikolić, M.**, Golić, N., Kojić, M., Strahinić, I., Begović, J., Tolinački, M., Veljović, K., Ruas-Madiedo, P., Topisirović, L. Uredna analiza adhezije *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11 producenta egzopolisaharida (EPS CG11-1 i EPS CG11-2) i EPS CG11-1` derivata na različite ćelijske linije. Mikromed 2010, VII Kongres mikrobiologa Srbije. **M34**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Комисија сматра да је докторска дисертација мр Милице Николић, под насловом: **“Карактеризација површинских молекула бактеријских ћелија одговорних за потенцијалну пробиотичку активност природних изолата лактобацила”** конципирана на основу добрих и занимљивих научних претпоставки, а да експериментални приступ и интерпретација резултата у потпуности одговарају постављеном циљу. Комисија жели да истакне напредак и зрелост кандидата у свим аспектима научног рада. Кандидат је показала да располаже темељним теоријским предзнањем, а у експерименталном раду показала је зрелост, поузданост и самосталност.

Комисија сматра да докторска дисертација мр Милице Николић по свом приступу и интерпретираним резултатима, представља значајан допринос у разумевању особине агрегације бактерија и продукције егзополисахарида код лактобацила, посебно узимајући у обзир могућу примену лактобацила као пробиотика, а поред тога даје и смернице за будућа истраживања.

На основу изложеног комисија предлаже Наставно – научном већу Биолошког факултета да прихвати овај Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

КОМИСИЈА:

(др Бранко Јовчић, доцент,
Биолошки факултет,
Универзитет у Београду)

(др Наташа Голић, виши научни сарадник
Институт за молекуларну генетику
и генетичко инжењерство,
Универзитет у Београду)

(др Милан Којић, научни саветник,
Институт за молекуларну генетику
и генетичко инжењерство,
Универзитет у Београду)

У Београду, 23. март 2012. године.