



Република Србија
МИНИСТАРСТВО ПРОСВЕТЕ,
НАУКЕ И ТЕХНОЛОШКОГ РАЗВОЈА

Сектор за високо образовање

Број:451-02-00077/2019-06

Датум:18.02.2019. год.

Немањина 22-26

Београд

дпд

КОНФЕРЕНЦИЈА УНИВЕРЗИТЕТА СРБИЈЕ

11000 Београд
Студентски трг 1

Предмет: предлог за стручно усавршавање на Универзитету у Отави

Овом министарству обратила се Амбасада Републике Србије у Отави у вези са молбом др Зорана Минића да у циљу успостављања ефикасније сарадње, неко од стручњака са Медицинског факултета у Србији борави на стручном усавршавању на Универзитету Отава. Обука кандидата би трајала 3 месеца, а њен циљ је припрема узорак и рад на инструментима који се користе у лабораторији Универзитета Отава. Средства за финансирање стручног усавршавања предвиђена су буџетом наведеног универзитета. За све додатне информације можете се обратити Зорану Минићу на мејл адресу: zminic@uottawa.ca.

Сходно наведеном, молимо вас да обавестите медицинске факултете у Републици Србији. У прилогу достављамо тражене квалификације кандидата и кратак резиме пројекта.

Прилог:1

С поштовањем,

МИНИСТАР
Младен Шарчевић



Rezime Projekta: „Metabolički odgovor soja *Pseudomonas aeruginosa* san ai u toku biodegradacije različitih aromatičnih jedinjenja i derivata nafte“

Prof. dr Ivanka Karadžić

Institut za hemiju Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, Beograd, SRBIJA

Zagađenje životne sredine organskim supstancama, posebno u zemljama u razvoju, kao što je Republika Srbija, je ozbiljan i težak problem i izazov ne samo u smislu očuvanja ekosistema već i u smislu očuvanju zdravlja stanovništva, budući da su ovo polutanti sa dugim vremenom poluživota, a procesom bioakumulacije (u biljkama, ribi i morskim plodovima) mogu ući u lanac ishrane, i izazvati u živim organizmima niz toksičnih efekata.

Mikroorganizmi, a posebno bakterije, kao što su vrste roda *Pseudomonas*, su široko rasprostranjeni u vodi i zemljištu i imaju izuzetnu adaptivnu toleranciju na različite zagađivače koji se mogu pojaviti u okruženju. Nedavno razvijeni, novi pristupi u analitici biomolekula («omics»), omogućavaju detekciju veoma niskih koncentracija biomolekula koji predstavljaju viskospecifični odgovor na promene u okruženju. Konačno, zajedno sa razvojem «omics» tehnologija, razvijan je ekotoksiproteomiks sa ciljem pronalaženja biomarkera korisnih u monitoringu zagađenja životne sredine.

Tehnološka platforma proučavanja proteina (proteomiks), bottom up pristupa, bazirana na kompleksnoj metodologiji, se sastoji u sledećem: pojedinačni protein ili smeša proteina se hidrolizuju proteolitičkim enzimom, najčešće tripsinom, dobijena smeša peptida se razdvaja tečnom hromatografijom visokih performansi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC), a pojedinačni peptid analizira tandem masenom spektrometrijom (tandem MS). Dobijeni maseni spektri peptida se dalje analiziraju pomoću bioinformatičkih softvera za identifikaciju proteina, na osnovu dobijenih peptida. Postojanje sekvenciranih genoma, čini vrstu *P. aeruginosa* odličnim model organizmom za proučavanje odgovora na različite zagađivače u okruženju, korišćenjem novih "cutting edge" tehnologija, što daje niz izvanrednih mogućnosti: 1. razumevanja adaptivnih mehanizama bakterije, 2. primene bakterije u procesima bioremedijacije, 3. identifikaciju biomarkera, kao specifičnog odgovora na kontaminant u okruženju.

Veliki potencijal soja *Pseudomonas aeruginosa* za degradaciju različitih organskih jedinjenja čini ovaj soj pogodnim za bioremedijaciju kontaminiranih područja. *P. aeruginosa* san ai je ekološki izolat koji je korišćen u našoj laboratoriji u brojnim ispitivanjima: ramnolipida, egzopolisaharida, ekstracelularnih enzima, lipaze i proteaze, kao i u studijama koje su vezan za kapacitet soja za uklanjanje teških metala (reference u prilogu).

U ovom Projektu se prvi put ispituju metaboličke putanje soja *P. aeruginosa* san ai za degradaciju različitih aromatičnih jedinjenja kao i derivata nafte. Projekat anticipira mogućnost primene modernih metoda ekotoksikoproteomiksa u monitoringu zagađenja životne okoline visokotoksičnim organskim jedinjenjima kao i različitim derivatima nafte. Analitička platforma proteomiksa daje mogućnost identifikovanja biomarkera zagađenja, ali i indikatora postojanja, na polutante rezistentnih mikroorganizama koji se mogu primeniti u postupcima bioremedijacije kontaminiranog okruženja. Proteomiks pristup koji bismo mi primenili se sastoji od generisanja diferencijalnih proteoma ekološkog izolata *P. aeruginosa* san ai prilikom izlaganja različitim polutantima, a zatim komparacije proteoma i selekcije onih proteina koji se javljaju kao specifični odgovor na određeni polutant. Kvalitet dobjenih rezultata je određen performansama instrumenata, veštinom njihovog korišćenje i sofisticiranim poznavanjem bioinformatike. U Srbiji postoji svega nekoliko aparata realativno pogodnih za ovu vrstu analiza, medju kojima je i oprema na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Medjutim, postojeća oprema omogućava samo delimičnu realizaciju Projekata, što je određeno performansama instrumenta kojim raspolažemo (maseni spektrometar -Amazon Speed, tečni hromtograf- Nano Advance, Bruker), kao nedostatkom ekspertize u oblasti bioinformatike proteina. Saradnja sa laboratorijom Dr Maxima Berezovskog i Dr Zorana Minića sa University of Ottawa, John L. Holmes Mass Spectrometry Facility, Canada, bi nam omogućila pristup instrumentima najnovije generacije masenih spektrometara visokih performansi, kao što su Orbitrap Fusion i Q Exactive Plus, i pomogla u sticanju znanja u oblasti proteomiksa i bioinformatike, koje poseduje Dr Maxim Berezovski i Dr Zoran Minić i njegova laboratorija. U stvari, za nas je najvažnija ekspertiza dr Zorana Minića u radu na robusnim aparatima kao što su Orbitrap Fusion i Q Exactive Plus, kao i posledična obrada podataka.

Dakle, navedena Proteomiks metodologija koju bismo razvili kroz kolaboraciju sa Dr Maxima Berezovskog i Dr Zoranom Minićem sa University of Ottawa, bi primarno, omogućila realizaciju definisanog projekta i identifikaciju proteina koji mogu da posluže kao: 1. indikatori za postojanje rezistentnih sojeva i 2. ekotoksikološki biomarkeri zagađenja, što vodi boljem razumevanju biološkog odgovora sredine na kontaminante i inovativnih pristupa u monitoringu zagađenja. Ovim projektom bi u ekotoksiološku analitiku, na našim prostorima bila uvedena potpuno nova tehnologija proučavanja, za koju bi asistent Ana Medić bila obučena u toku svog boravka u laboratorji Dr Zorana Minića. Njen rad i obuka na University of Ottawa bi značajno doprineo, ne samo podizanju nivoa njenog ličnog znanja, već bi, s obzorom na njenu poziciju na fakultetu, omogućilo dalje širenje znanja o mogućnostima primene proteomiksa, što je važno studentima Medicinskog fakulteta jer im daje realni priključak na savremene metode u proučavanju bioloških uzoraka. Za Medicinski fakultet bi realizacija Projekta: „Metabolički odgovor soja *Pseudomonas aeruginose* san ai u toku biodegradacije različitih aromatičnih jedinjenja i derivata nafte“, kroz kolaboraciju sa laboratorijom Dr Zorana Minića, pokazala da postoji mogućnost

ranog uključivanja naših mladih saradnika u savremene tokove istraživanja u oblasti bioloških nauka, sa posebnim akcentom na ekološke aspekte zdravlja.

Publikacije koje su povezane sa *Pseudomonas aeruginosa* san ai i proteomiksom

1. Izrael Živković L. I., Rikalović M., Gojgić-Cvijović G., Kazazić S., Vrvic M., Lončarević B., Gopčević K., Karadžić I. M., Cadmium specific proteomic responses of a highly resistant *Pseudomonas aeruginosa* san ai, RSC Adv., 2018,8,10549- 10560.
2. Rikalovic M. G., Avramovic N. S., Karadzic I. M., Structure-function relationships of rhamnolipid and Exopolysaccharide Biosurfactants of *Pseudomonas aeruginosa* as Therapeutic Targets in Cystic Fibrosis Lung Infections, In "Progress in Understanding Cystic Fibrosis", (Editor Dinesh Sriramulu), chapter 6, pp 127-158, IntechOpen, 2017.
3. Grbavčić S., Bezbradica D., Karadzic I., Knežević-Jugović Z., Development of an environmentally acceptable detergent formulation for fatty soils based on the lipase from the indigenous extremophile *Pseudomonas aeruginosa* strain, J. Surfact. Deterg., 18 (2015) 383-395.
4. Rikalovic, M., Vrvic, M., Karadzic, I., Rhamnolipid biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* – from discovery to application in contemporary technology, J. Serb. Chem. Soc., 80 (2015) 279-304.
5. Rikalovic M., Abdel-Mawgoud A.M., Déziel E., Gojgic-Cvijovic G., Zorica Z., Vrvic M., Karadzic I., Comparative analysis of rhamnolipids from novel environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, J. Surfact. Deterg., 16 (2013) 673-682.
6. Avramović, N., Nikolić-Mandić, S., Karadžić, I., Influence of rhamnolipids, produced by *Pseudomonas aeruginosa* NCAIM(P), B001380 on Cr(VI) removal capacity in liquid medium, J. Serb. Chem. Soc., 78 (2013) 639-652.
7. Rikalovic, M., Vrvic, M., Karadzic, I., Bioremediation by Rhamnolipids Produced by Environmental Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*; in Bioremediation Processes, Challenges and Future Prospects, Ed. Jesus Bernardino Velazquez-Fernandez, Sae Muniz-Hernandez, Nova Science Publishers, New York, 2013, p. 299-333, ISBN: 978-1-62948-513-3.
8. Maupin-Furlow J., Karadžić I., Goodlett D., Structural mass spectrometry of halophilic proteasomal nanomachines using chemical cross-linking, In "Recent Advances in Proteomics Research",

chapter 7, pp-175-20, Nova Science Pub. Inc., New York, 2013 (Ming D., M.D. Li, Editors), ISBN: 978-1-62948-221-7.

9. S. Jakovetić, Z. Knežević-Jugović, S. Grbavčić, D. Bezbradica, N. Avramović, I. Karadžić, Rhamnolipid and lipase production by *Pseudomonas aeruginosa* san-ai: The process comparison analysis by statistical approach, *Hemijska industrija (Chemical Industry)* 67 (2013), 677-685.

10. Karadzic I., Maupin-Furlow J., Humbard M., Prunetti L., Singh P., Goodlett D., Chemical cross-linking, mass spectrometry, and *in silico* modeling of proteasomal 20S core particles of the haloarchaeon *Haloferax volcanii*, *Proteomics*, 12 (2012) 1806-1814. 11. Rikalovic, M., Gojgic-Cvijovic G., Vrvic M., Karadzic I., Production and characterization of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* san ai, *J. Ser. Chem. Soc.*, 77 (2012) 27-42.

12. Grbavčić S., Bezbradica D., Izrael-Živković L., Avramović N., Milosavić N., Karadzic I., Knežević-Jugović Z., Production of lipase and protease from an indigenous *Pseudomonas aeruginosa* strain and their evaluation as detergent additives: Compatibility study with detergent ingredients and washing performance, *Biores. Technol.*, 102 (2011) 11226-11233.

13. Dimitrijevic, A., Velickovic, D., Rikalovic, M., Avramovic, N., Milosavic, N., Jankov, R., Karadzic, I., Simultaneous production of exopolysaccharide and lipase from extremophylic *Pseudomonas aeruginosa* san-ai strain: a novel approach for lipase immobilization and purification, *Carbohydrate Polymers*, 83 (2011) 1397-1401.

14. L. Izrael-Zivkovic, G. Gojgic-Cvijovic, I. Karadzic, Isolation and partial characterization of protease from *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *J. Serb. Chem. Soc.*, 75 (2010) 1041-1062.

15. Izrael-Zivkovic L., Gojgic-Cvijovic G., Gopcevic K., Vrvic M., Karadzic I., Enzymatic characterization of 30 kDa lipase from *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *J. Basic Microbiol.*, 49 (2009), 452-462.

16. P. A. Kirkland, M.A.Gil, I.Karadzic, J. Maupin- Furlow, Genetic and Proteomic Analyses of the Proteasome-Activating Nucleotidase A Mutant of the Haloarchaeon *Haloferax volcanii*, *J.Bacteriol.*, 190 (2008) 195-203.

17. I. Karadzic, A. Masui, L. Izrael-Zivkovic, N. Fujiwara, Purification and characterization of an alkaline lipase from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from putrid mineral cutting oil as metal working fluid, *J. Biosc. Bioeng.*, 102 (2006) 82-89.

18. I. Karadzic, J. Maupin-Furlow, Improvement of two-dimensional gel electrophoresis proteom maps of the haloarhaeon *Haloferax volcanii*, *Proteomics*, 5 (2005) 354-359.

19. J. Maupin-Furlow, M. A. Gil, I. Karadzic, P. Kirkland, C. Reuter, Proteasomes: perspectives from the archaea, review, *Frontiers in Bioscience*, 9 (2004) 1743-1758.

20. I. Karadzic, A. Masui, N. Fujiwara, Purification and Characterization of a Protease from *Pseudomonas aeruginosa* Grown in Cutting Oil, J. Biosci. Bioeng., 98 (2004), 145-152.