

UNIVERZITET CRNE GORE

VIJEĆU PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA

**PREDMET:** Izvještaj Komisije o podobnosti teme za izradu magistarskog rada, pod nazivom „*Ispitivanje potencijalno novih protein-protein interakcija u molekulskom kompleksu kondenzina kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*)*” kandidata Saše Perovića, spec. sci. eksperimentalne biologije i biotehnologije.

Na osnovu člana 40 Statuta Univerziteta Crne Gore, a u vezi sa članom 11 Pravilnika o studiranju na postdiplomskim studijama, na sjednici Vijeća Prirodnno-matematičkog fakulteta održanoj 09.07.2019.godine imenovali smo članove komisije za ocjenu teme magistarskog rada, pod nazivom „*Ispitivanje potencijalno novih protein-protein interakcija u molekulskom kompleksu kondenzina kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*)*” kandidata Saše Perovića, spec. sci. eksperimentalne biologije i biotehnologije.

Na osnovu uvida u dostavljenu dokumentaciju podnosimo sledeći

## IZVJEŠTAJ

### *Podaci o kandidatu*

Saša Perović, rođen je 31.03.1995. u Podgorici. Osnovnu i srednju školu, (gimnazija, opšti smjer) završio je u Gacku (BiH). Osnovne akademske studije završio je 2017. godine na Prirodnno-matematičkom fakultetu, studijski program Biologija. Specijalističke akademske studije, studijski program Eksperimentalna Biologija i Biotehnologija, završio 2018. godine. Tokom osnovnih i specijalističkih studija dobio je dvije nagrade za najboljeg studenta u oblasti prirodnih nauka (Devetnaestodecemarska nagrada grada Podgorice i Nagrada za najbolje studente Opštine Nikšić).

Završio je pripravnički staž 2018. godine u Forenzičkom centru Crne Gore, na grupi za DNK analize.

Bio je dio crnogorske delegacije u prvoj posjeti EMBL-u, nakon pristupanja Crne Gore ovoj instituciji.

U periodu april-jun 2019. godine, boravio je u laboratoriji za strukturu i dinamiku hromozoma u Evropskoj laboratoriji za molekularnu biologiju (EMBL) u Hajdelbergu, Njemačka, gdje je učestvovao u istraživačkom projektu u oblasti molekularne biologije (strukturalna biologija i biohemija i genetika kvasca), koji predstavlja eksperimentalni dio magistarskog rada.

Učestvovao je na nekoliko seminara u oblasti molekularne biologije i mikrobiologije u EMBL-u. Bio je student promoter na "D anima nauke" u organizaciji Ministarstva nauke.

#### ***Obrazloženje teme***

#### ***Naučna oblast***

Predložena tema istraživanja obuhvata širu oblast molekularne biologije (biohemija i genetika kvasca)

#### ***Predmet rada***

Ovo istraživanje predstavlja doprinos razjašnjavanju složene strukture i funkcije molekula kao što su kondenzin i kohezin i sl. U ovom istraživanju pokušali smo da ispitamo da li postoje međusobne proteinske interakcije dvaju subjedinica molekula kondenzina kvasca, sa dr. subjedinicama u okviru toga kompleksa. Pokušali smo ispitati određene konzervativne regije, za koje se (zahvaljujući rezultatima sekvenciranja genoma većeg broja vrsta), smatra da su imale značajnu ulogu tokom evolucije i da su od vitalnog značaja za funkcionisanje holokompleksa.

### **Naučni cilj rada**

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati potencijalnu interakciju unutar molekula kondenzina, te ukoliko takva interakcija postoji, pokušati definisati “partnera u vezivanju”, pomoću za mjesto specifičnog foto kroslinkinga. U istraživanju su korišćeni specijalno konstruisani sojevi kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*), koji predstavlja “zlatni standard” u ovakvim istraživanjima, imajući u vidu da je on eukariotski organizam. Kao dodatni dio istraživanja ispitana je i sposobnost subkompleksa (dvije subjedinice od interesa) da vezuje DNK.

### **Naučne metode**

Ovaj rad je realizovan u laboratoriji za strukturu i dinamiku hromozoma, u Evropskoj laboratoriji za molekularnu biologiju (EMBL).

Obuhvaćen je veći broj naučnih metoda. Rad je uključivao ispitivanje *in vivo* arhitekture multi-subjediničnog kondenzinskog proteina kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*), pomoću UV kroslinking metode, u živim ćelijama kvasca. Klonirani su sojevi u koje je introdukovana specifična, sintetička aminokiselina p-benzoil-fenilalanin (bpa), u različitim pozicijama, u jednu od subjedinica kondenzina, koristeći metodu “In-fusion mutageneze”.

Identifikacija potencijalnih partnera u vezivanju izvršena je pomoću imunoblotinga ćelijskog ekstrakta, primjenom Western blot metode (“metoda zapadne mrlje”).

Drugi dio eksperimenta obuhvatao je *in vitro* analizu proteina (transformacija *E. coli* vektorom sa genom za određene subjedinice kondenzina), pri čemu se ispitivala interakcija (vezivanje) subjedinica pomoću elektroforeze (SDS Page). Takođe je izvršeno i ispitivanje protein-DNK interakcije koristeći EMSA test (Electrophoretic Mobility Shift Assay) metodu.

## **Aktuelnost problematike**

Imajući u vidu važnost adekvatnog prenošenja nasljednog materijala sa roditelja na potomstvo, te značaj razumijevanja eventualnih odstupanja od ovog procesa, jasno je da istraživanja ovog tipa, koja nastoje da odgonetnu čitavu paletu događaja tokom ćelijskog ciklusa, predstavljaju jedno od najaktuelnijih i uvijek "svježih" istraživanja na polju eksperimentalnih bioloških nauka. Poznato je da je proces "pakovanja" genetičkog materijala u štapićastu strukturu- kondenzovani "metafazni" hromozom, krucijalan proces u svim ovim događajima. Ovakva istraživanja upravo idu u korist jasnog definisanja svih činilaca (kompartmenata, subjedinica), te njihovih pojedinačnih važnosti i doprinosa, kao i čitavog procesa kao cjeline, jer samo ukoliko poznajemo strukturu nekog složenog biomolekula, kao i intramolekulske veze i interakcije njegovih subjedinica, možemo govoriti o funkciji i njegovom značaju za normalan ontogenetski razvoj.

Kada se potpuno bude razumjela struktura i funkcija složenog molekulskog kompleksa kondenzina, moći će da se u sveobuhvatno razumije i proces ćelijske diobe, kao i određena odstupanja od normalnih događaja tokom ćelijskog ciklusa, kao što su neformiranje kondenzovane strukture, pa kasnije i neadekvatna podjela genetičkog materijala u čerke ćelije tokom ćelijske diobe, što za posljedicu ima razvoj određenih malformacija ili smrt takve jedinke.

## **Zaključak**

Uvidom u dostavljeni materijal, Komisija je utvrdila da predložena tema kandidata, Saše Perovića, spec. sci. eksperimentalne biologije i biotehnologije ima jasno definisane ciljeve, metode istraživanja i očekivane rezultate. Stoga sugeriramo Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta, da odobri izradu magistarskog rada „*Ispitivanje potencijalno novih protein-protein interakcija u molekulskom kompleksu kondenzina kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*)*“

Komisija:

Savica Vujovic, docent

S. Vujovic

Svetlana Perovic, vanr.prof.

S. Perovic

Andjelka Scepanovic, docent

A. Scepanovic