

Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta

Univerzitet u Beogradu

Dekanu, profesoru dr Ivanu Gržetiću

Na sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta, održanoj 10.04.2014. godine, određeni smo u Komisiju za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije (koja je prema članu 17 Pravilnika o doktorskim studijama i Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije) Milice Sentić, master hemičara, prijavljene pod naslovom:

''Elektrogenerisana hemiluminiscencija: ispitivanje mehanizma i njena primena u bioanalitici''

Pošto smo podnetu disertaciju pregledali, podnosimo sledeći

IZVEŠTAJ

1. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija **Milice Sentić**, pod naslovom ***''Elektrogenerisana hemiluminiscencija: ispitivanje mehanizma i njena primena u bioanalitici''***, napisana je na 123 strane i sadrži 59 slika, 67 jednačina (izraza), 6 shema, 2 tabele i 179 literaturnih navoda. Teza sadrži sledeća poglavlja: 1. Uvod, 2. Opšti deo, 3. Rezultati i diskusija, 4. Eksperimentalni deo, 5. Zaključak, 6. Predlog za nastavak istraživanja, 7. Literatura. Pored navedenog, disertacija sadrži: Sadržaj, Listu skraćenica i Biografiju kandidata.

U *Opštem delu* opisani su principi dobijanja elektrogenerisane hemiluminiscencije (eng. electrogenerated chemiluminescence - ECL). Dva različita mehanizma za generisanje ECL-a (anihilacija i ECL pomoću koreaktanata su objašnjeni do detalja. Najčešće korišćene ECL luminofore, bazirane na kompleksima rutenijuma, kao i sve vrste korektanata, su takođe opisane. Na kraju su ukratko prikazane glavne primene elektrohemijske luminiscencije.

U *Našim radovima* kandidat opisuje rezultate svojih istraživanja u tri celine. U prvom delu studija proučavani su ECL mehanizmi zastupljeni u imunotestovima u kojima su platforme za ECL detekciju bazirane na česticama mikrometarskih dimenzija. Ispitan je

učinak različitih ECL mehanizama na ukupan intenzitet emitovanog ECL signala. Spektroelektrohemija i ECL snimanje su kombinovani za posmatranje generisanja ECL na nivou jedne mikrosfere, funkcionalizovane kompleksom rutenijuma sa dva koreaktanta, pomoću prostornog mapiranja ECL reaktivnosti. Ovaj novi pristup snimanja ECL signala pruža uvid u ECL mehanističke puteve koji omogućavaju izuzetno visoku osetljivost komercijalizovanim biotestovima baziranim na korišćenju mikrosfera/mikroperli.

Drugi deo istraživanja obuhvata razvoj nasumično uređenih nanoelektrodnih grupa od zlata (*eng. nanoelectrode ensembles* - NEEs) za primenu u bioelektroanalitičkoj hemiji. Elektrohemijske osobine koje čine NEEs veoma korisnim u razvoju hemijskih nanosenzora ogledaju se u dramatičnom smanjenju kondenzatorske struje (koje predstavljaju glavnu komponentu pozadinskog signala koje se neminovno javlja pri voltametrijskim merenjima) omogućavajući na taj način visoku osetljivost analitičkog određivanja. Ispitana je primena NEEs od zlata kao platforme za razvijanje nanoimunosenzora uz generisanje ECL signala na niskom oksidacionom potencijalu za dijagnostiku celijakije (*eng. coeliac disease* CD).

U trećem delu istraživanja kandidat se bavio primenom bipolarne elektrohemije za efikasnu kontrolu kretanja nezavisnih mikročestica, nazvanih „mikro-plivači”, (*eng. ’micro-swimmers’*). Primenom ove elektrohemijske metode omogućeno je da se istovremeno odigraju reakcije oksidacije i redukcije na suprotnim polovima čestica. Strategija za stvaranje pogonske sile za pokretanje „plivača” (za translaciju, rotaciju i levitaciju) oslanja se na proizvodnju i oslobađanje gasa (mehurova vodonika) koji se generiše na katodno polarizovanom delu „mikro-plivača”. Kandidat je pokazao integraciju procesa ECL generisane emisije svetlosti tokom kretanja „plivača”. Ovaj koncept je zatim proširen za razvoj detektujućih „plivača” koristeći ECL kao analitički signal.

U *Eksperimentalnom delu* kandidat daje detaljan opis procedura za snimanje ECL korišćenjem epifluorescentnog mikroskopa. Dati su i analitički protokoli za imunotestove bazirane na mikrosferama i za detekciju antitela protiv tkivne transglutaminaze. Opisan je proces proizvodnje nanoelektroda bezelektrodom depozicijom.

. U *Zaključku* su sumirani rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije.

Literatura sadrži 179 citata i obuhvata radove koji su relevantni za problematiku istraživanja kandidata.

2. KRATAK OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

U prvom delu doktorske disertacije prikazani su rezultati ispitivanja mehanizama $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /koreaktant sistema na nivou jedne perle, sa TPrA ili DBAE, respektivno, tehnikom snimanja koja daje trodimenzionalni prikaz, skraćeno 3D prikaz, distribucije inteziteta svetlosti ECL. U drugom delu teze opisan je dizajn imunosenzora za dijagnostiku autoimunog oboljenja koje se naziva celijakija kombinujući svojstva ECL tehnike i nanoelektroda. U trećem delu disertacije dat je originalan pristup prvog primera pogonskog mehanizma za pokretanje plivača tokom kojeg dolazi do istovremene emisije svetlosti zahvaljujući sinergetskom delovanju bipolarne elektrohemije i ECL. Osim toga koncept plivača je proširen razvijanjem ECL-emisionih bioplivača za enzimsko određivanje glukoze prisutne u sistemu.

1. Uvid u mehanizme ECL za model sisteme ECL imunotestova putem prostornog mapiranja distribucije svetlosti u prostoru

ECL snimanje na nivou pojedinačne sfere dalo je opšti opis ECL fenomena koji se javlja u ECL biotestovima zasnovanim na perlama. Primenom ove metode snimanja omogućeno je dešifrovanje mehanističkog puta, testiranje efikasnosti koreaktanata i pokazani su povezani propratni optički efekti koji vode do povećanja osetljivosti imunotestova. Mapiranje reaktivnosti demonstrira mehanističku putanju koja vodi do ECL emisije. Maksimalan ECL intenzitet se javlja u mikrometarskom regionu gde su koncentracije $\text{TPrA}^{\bullet+}$ i $\text{TPrA}^{\bullet}$ radikala na lokalnom nivou najveće. Samo luminofores koje se nalaze 3 μm do elektrode doprinose ECL signalu i ovaj konačni reakcioni sloj definiše optimalnu veličinu funkcionalizovanih perli za biotestove. U poređenju sa situacijom u balku (npr. $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ je prisutan u rastvoru), dodatne termodinamičke i kinetičke kriterijume treba uzeti u obzir da bi se izabrali efikasni koreaktanti u biotestovima zasnovanim na perlama: adekvatni redoks potencijali i odgovarajuće konstante brzine deprotonovanja kako bi se formirali koncentracioni gradijenti oba radikala koji mogu simultano da difunduju preko dovoljno velike razdaljine sa ciljem da pobude $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ - markere koji su udaljeni od elektrode. Takođe, je pokazan efekat sočiva sfere koji koncentruje ECL emisiju i tako daje mogućnost odabira novih koreaktanata sa poboljšanom osetljivošću i doprinosi razvoju novih analitičkih strategija.

2. Imunoanalize i mapiranje generisanja ECL sa nasumičnim nanoelektrodnim grupama

Razvijen je novi senzitivni i specifični ECL imunosenzor za detekciju antitela protiv kompleksa glijadin–tkivna transglutaminaza sa limitom detekcije nižim od 1 ng/ml, koristeći novu analitičku strategiju. Iskoristili smo revidiranu ECL putanju sa TPrA kao koreaktantom, koji omogućuje generisanje ECL na mikrometarskoj udaljenosti sa površine elektrode na niskom oksidacionom potencijalu. Koristeći ovaj pristup, lokalizacija početnog elektrohemijskog koraka (tj. oksidacija TPrA) je odvojena od bioprepoznavajućeg lanca i ECL markera koji su imobilizovani na elektro-neprovodnoj površini NEE. Takođe, rad na niskom oksidacionom potencijalu dozvoljava redukciju mogućih interferencija od strane sporednih reakcija koje se mogu javiti prilikom rada sa kompleksnim uzorcima kao što je krv, čineći ovu metodu veoma pogodnom za serološko skeniranje.

3. Elektrogenerisani hemiluminiscentni plivači pokretani pomoću bipolarne elektrohemije

Mikro-plivači predstavljaju uređaje mikrometarskih dimenzija čiji dizajn omogućava izvršavanje određenih mehaničkih operacija (rotacija, kotrljanje, prebacivanje, isporučivanje) kao odgovor na zadati stimulus. Ovaj rad prezentuje prvo kuplovanje bipolarne elektrohemije uz simultano generisanja ECL, što vodi prvom primeru plivača koji je u suštinskoj sprezi sa hemijskim izvorom svetlosti. ECL omogućava direktan monitoring kretanja bipolarnih elektroda, što je veoma važno kod autonomnih plivača. Generisanje H_2 razlaganjem vode na katodnom polu plivača predstavlja pogonsku silu za njegovo kretanje. Pažljivom kontrolom primenjenog napona, koncentracije surfaktanata i kapaciteta korišćenog pufera, može se izbeći oksidacija vode na anodnom polu i kontrolisati ECL intenzitet i oblik ECL-emitujuće zone, upotrebom kompleksa rutenijuma. Radeći sa 100 i 200 mM fosfatnim puferom uticali smo na promenu ECL zone iz hemisfernog u prstenasti oblik. Nadalje koncept plivača je proširen razvijanjem ECL-emisionih bioplivača za enzimsko određivanje glukoze prisutne u sistemu. Uzročno-posledična oksidacija luminofore i enzimsko stvaranje nikotinamid-adenin-dinukleotida (NADH) dovodi do ECL emisije putem klasičnog koreaktantskog puta. U ovom sistemu je pokazano da je koncentracija glukoze proporcionalna intenzitetu emitovane

svetlosti. Zbog zavisnosti ECL intenziteta od koncentracije glukoze, ovaj pristup je takođe odgovarajući za praćenje prostorno-promenljive glukozne koncentracije.

4. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA KANDIDATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Glavne karakteristike i prednosti ECL-a kao analitičke metode se ogledaju u njenoj primeni za određivanje mnogobrojnih bioloških, odnosno medicinskih uzoraka. U odgovarajućoj hemijskoj sredini ECL markeri emituju svetlost nakon elektrohemijske stimulacije. Emitovana svetlost dobijena na ovaj način, kao analitički signal je našla primenu u biotestovima, nakon otkrića reagenasa koji omogućavaju detekciju u vodenim sredinama i koji se nazivaju ECL koreaktanti. Sistem koji čine $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ kompleks i tri-n-propilamin (TPrA) kao koreaktant, ima najveću ECL efikasnost. 2-(dibutilamino)etanol (DBAE) se pokazao kao efikasniji, bolje rastvoran, manje toksičan i manje isparljiv koreaktant od TPrA. $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /TPrA Sistem, ipak ostaje ECL standard koji se eksploatiše u komercijalizovanim uređajima u dijagnostičke svrhe, kao što su imunotestovi i DNK analize. Trenutno se u upotrebi koristi više od 30 000 „ORIGEN“ analizatora, komercijalno dostupnih od strane vodeće farmaceutske kompanije „Roche Diagnostic“. „ORIGEN“ tehnologija koristi paramagnetične perle u ECL imunotestovima. Međutim, izuzetno visoka osetljivost ECL testova baziranih na perlama i dalje ostaje nerazjašnjena. Broj instrumenata i testova koji koriste ECL kao analitički signal, jasno ukazuju na potrebu za dešifrovanjem ECL mehanizama. Nakon otkrivanja reakcije između $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ i TPrA, koja dovodi do ECL, predlagani su različiti kompetivni mehanizmi kako bi se objasnila ECL emisija. Mehanizmi se mogu podeliti u dve glavne grupe zavisno od načina na koji se odigrava oksidacija $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ kompleksa. U prvu grupu svrstani su mehanizmi koji dovode do emitovanja ECL isključivo nakon direkne oksidacije pomenutog kompleksa na površini elektrode. Međutim, ovi mehanistički putevi ne mogu da objasne visoku osetljivost imunotestova zasnovanih na perlama. Miao i saradnici su tokom daljeg istraživanja predložili drugi, „revidirani put“, po kojem je $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ kompleks indirektno oksidovan od strane katjon-radikala tripropilamina, $\text{TPrA}^{\bullet+}$. Sa druge strane DBAE kao koreaktant ima blaži uticaj na zagađenje životne sredine i stoga mogućnost primene u biotestovima kao što je dokazano od strane Giubao Xu. Intenzitet ECL-a je takođe veći pri korišćenju DBAE u odnosu na TPrA kada se $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ nalazi u

rastvoru, što nije slučaj u imunotestovima zasnovanim na perlama. Naime, u imunotestovima ECL luminofora je imobilizovana na paramagnetičnim perlama. Prostorno mapiranje reaktivnosti pomoću ECL slikanja je otkrilo način na koji rutenijumski centri pozicionirani na mikrometarskoj udaljenosti od površine elektrode mogu da generišu ECL samo putem oksidacije molekula koreaktanata. Takođe, ukazuje na važnost samog doprinosa tzv. „revidiranog” puta u ukupnom ECL odgovoru.

Sa druge strane sve veće korišćenje uređaja nano veličine omogućuje dalji napredak same tehnike za njenu primenu u analitičke svhe. Napredak u primeni nanostrukturiranih elektroda npr. nasumičnih (eng. nanoelectrode ensembles -NEE) i regularno (eng. nanoelectrode arrays, NEA) uređenih nanoelektrodnih grupa na polju bioelektroanalitičke hemije, omogućio je poboljšanje osetljivosti ECL metoda zbog pojedinih prednosti takvih sistema kao što je, poboljšan transport elektroaktivnih vrsta iz ukupne zapremine rastvora (eng. bulk) ka površini NAA i NEA. To dovodi do značajnog povećanja odnosa signal/šum. Grupa profesora Paola Ugo-a je razvila imunosenzore za određivanje koncentracije kancerskih biomarkera HER2 (receptor za ljudski epidermalni faktor rasta) i DNK hibridizaciju. Princip rada ovih imunosenzora se zasniva na imobilizaciji bio-prepoznavajućeg (eng. biorecognition) sloja u blizini nanoelektroda, preciznije na površini izolatorskog dela elektroda. Poboljšani transport mase tipičan za nanoelektrode je u potpunosti iskoristiv. Nasuprot klasičnom konceptu bioelektrosenzora, u ECL baziranim biosenzorima imobilizacija biomolekula obeleženih luminoforama na maloj udaljenosti od aktivne površine nanoelektrode omogućava da se ECL generiše na niskom oksidacionom potencijalu. Primenom tako niskih elektrodnih potencijala dobijaju se sledeće prednosti: izbegava se hemijsko i strukturno oštećenje osetljivih molekula kao što su proteini i oligonukleotidi; smanjuje se interferencija sporednih proizvoda posebno u realnim uzorcima kompleksnih matriksa (npr. krv); sprečava se formiranje površinskog oksidnog sloja u slučaju upotrebe elektroda od platine i zlata. Sve ovo inače može imati uticaj na slabu reproduktivnost rezultata. Kombinujući gore navedena svojstva ECL tehnike i NEEs, u ovoj oblasti dat je veliki doprinos dizajniranju novih imunoeseja za dijagnostiku autoimunog oboljenja koje se naziva celijakija. Pacijenti oboleli od celijakije su netolerantni na protein žitarica, gluten (ima ga u pšenici, ječmu, ovsu). Enzim koji bi trebalo da razlaže gluten, tkivna transglutaminaza, tačnije deo njegovog lanca koji se zove gliadin je defektan i stoga nefunkcionalan. Čitavi molekuli glijadina prodiru u ćelije tankog creva i potom započinje imunološka – autoimuna reakcija u kojoj organizam stvara antitela protiv kompleksa gliadin–tkivna transglutaminaza. To za posledicu ima destrukciju ćelija tankog

creva i teško oštećenje sluzokože tankog creva u strukturalnom i funkcionalnom smislu. Iako biopsija tkiva još uvek predstavlja „zlatni standard” za pouzdanu dijagnozu ove autoimmune bolesti, mnogi naponi su učinjeni u cilju razvijanja različitih elektrohemisjskih metoda, ali do sada nijedna nije prihvaćena za praktičnu upotrebu. Serološki testovi su kao i slučaju našeg biosenzora bazirani na detekciji autoantitela protiv tkivne transglutaminaze (tTG).

Nedavno je demonstrirana mogućnost korišćenja bipolarne elektrohemije za efikasnu kontrolu kretanja nezavisnih mikročestica, nazvanih „mikro-plivači”, rušeći simetriju ovih provodnih čestica na bežičan (*eng. wireless manner*) način tj. bez direktnog električnog kontakta sa površinom elektrode. Na taj način omogućeno je da se istovremeno odigraju reakcije oksidacije i redukcije na suprotnim polovima čestica. Strategija za stvaranje pogonske sile za pokretanje „plivača” (za translaciju, rotaciju i levitaciju) oslanja se na proizvodnju i oslobađanje gasa (mehurova vodonika) koji se generiše na katodno polarizovanom delu „mikro-plivača”. Ipak, posmatranje ovakvih plivača generalno predstavlja izazov zbog njihovih neretko malih dimenzija i zahteva upotrebu veoma efikasnih mikroskopskih tehnika ili plivače označene fluorescentnim reagensom koji svojim prisustvom olakšava praćenje kretanja mikro-plivača. U tom kontekstu se nameće zaključak da bi bilo korisno konstruisanje plivača koji bi u isto vreme bio i izvor svetlosti i čija bi emisija mogla da se posmatra kao putanja njegovog kretanja. Široko korišćeni optičko-elektrohemijski proces koji ima prednost da ne zahteva postojanje pobudnog izvora svetlosti, ECL predstavlja obećavajućeg kandidata za kuplovanje sa BE. Kombinacija ECL i bipolarne elektrohemije je pronašla svoju primenu u analitičke svrhe. Ovde je dat originalni pristup, prvi primer pogonskog mehanizma za pokretanje plivača tokom koje dolazi do istovremene emisije svetlosti zahvaljujući sinergetskom delovanju BE i ECL. Osim toga koncept plivača je proširen razvijanjem ECL-emisionih bioplivača za enzimsko određivanje glukoze prisutne u sistemu. ECL kuplovana sa BE predstavlja jedinstven analitički pristup koji se bazira na dizajnu „pametnih“ dinamičkih sistema (*eng. smart dinamic systems*) za direktno vizuelno očitavanje.

4. OBJAVLJENI RADOVI KOJI ČINE DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

Radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima, M21:

- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic. *Light-emitting Electrochemical 'Swimmers'*. Angewandte Chemie International Edition, 51 (2012) 11284–11288 (IF 13.560, Kategorija: Chemistry, Multidisciplinary 8/152).
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Frédéric Kanoufi, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Mapping the Electrogenenerated Chemiluminescence Reactivity in Space: Mechanistic Insight into Model Systems Used in Immunoassays*. Chemical Science, 2014, 5, 2568-2572 (IF 8.314, kategorija : Chemistry, Multidisciplinary 13/152).
- **Milica Sentić**, Stéphane Arbault, Bertrand Goudeau, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Laurent Bouffier, Neso Sojic, *Light emitting swimmers for dynamic enzymatic glucose sensing*. Chemical Communication, 2014, 50, 10161-10328, HOT paper, Inside Cover Article (IF 6.83, kategorija : Chemistry, Multidisciplinary)
- Henok Habtamu, **Milica Sentić**, Morena Silvestrini, Luigina De Leo, Tarcisio Not, Stéphane Arbault, Dragan Manojlović, Neso Sojic, Paolo Ugo, *A Sensitive Electrochemiluminescence Immunosensor for Celiac Disease Diagnosis Based on Nanoelectrode Ensembles*. Analytical Chemistry 2015, 87, 12080-12087 (IF 5.636, kategorija : Chemistry, Analytical).
- **Milica Sentić**, Stéphane Arbault, Laurent Bouffier, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *3D Electrogenenerated Chemiluminescence: from Surface-Confined Reactions to Homogeneous Bulk Emission*. Chemical Science 2015, 6, 4433-4437, Back Cover Article, (IF 8.314, kategorija : Chemistry, Multidisciplinary 13/152)

Radovi saopšteni na skupu međunarodnog značaja štampani u izvodu, M34:

- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *Light-Emitting Electrochemical "Swimmers"*, Eurotrode XII, Atina, Grčka, 2014
- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Stéphane Arbault, Laurent Bouffier, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *3D ECL: a change of paradigm*, International Meeting on Electrogenenerated Chemiluminescence, Bertinoro, Italija, Septembar 07-10, 2014, TU.O5
- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Stéphane Arbault, Laurent Bouffier, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *Autonomous Light-Emitting Systems at Different Scales Triggered by Bipolar Electrochemistry*, 65th ISE Annual Meeting, Lozana, Švajcarska, 31 Avgust - 5 Septembar, 2014, s12-008
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Frédéric Kanoufi, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Mapping the Electrogenenerated Chemiluminescence Reactivity in Space: Mechanistic Insight into Model Systems Used in Immunoassays*, 65th ISE Annual Meeting, Lozana, Švajcarska, 31 Avgust - 5 Septembar, 2014, s12-050
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Electrochemiluminescence Imaging at the Single Bead Level: New Approach to Investigate the ECL Mechanism*, Journée Scientifique de l'Institut des Sciences Moléculaires, Bordo, Francuska, Jul 05, 2013, CA-27
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Electrochemiluminescence Imaging at the Single Bead Level: New Approach to Investigate the ECL Mechanism*, ElecNano 5, Bordo, Francuska, Maj 15-17, 2013, pp 90
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Electrochemiluminescence Imaging at the Single Bead Level: New Approach to Investigate the ECL Mechanism*, 12th Topical Meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE), Bohum, Nemačka, Mart 17-21, 2013, pp 165

- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *Light-Emitting Electrochemical "Swimmers"*, 12th Topical Meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE), Bohum, Nemačka, Mart 17-21, 2013, pp 196
- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *Light-Emitting Electrochemical "Swimmers"*, XXII Journée Chimie Grand Sud-Ouest (GSO), Bordeaux, France, Novembar 30, 2012, Abstrakt CO-07
- **Milica Sentić**, Gabriel Loget, Dragan Manojlović, Alexander Kuhn, Neso Sojic, *Light-Emitting Electrochemical "Swimmers"*, XII Colloque du Groupe Français de Bioélectrochimie, Lacanau, Francuska, Septembar 24-28, 2012, pp 81
- **Milica Sentić**, Milena Milutinović, Dragan Manojlović, Stéphane Arbault, Neso Sojic, *Electrochemiluminescence Imaging at the Single Bead Level: New Approach to Investigate the ECL Mechanism*, Journée Scientifique de l'Institut des Sciences Moléculaires, Bordo, Francuska, Jul 03, 2012, apstrakt CA-19

5. ZAKLJUČAK

Komisija je na osnovu detaljnog pregleda doktorske teze **Milice Sentić** pod naslovom **„Elektrogenerisana hemiluminiscencija: ispitivanje mehanizma i njena primena u bioanalitici”**, zaključila da je kandidat sistematičnim i detaljnim proučavanjem mehanizama dejstva i razvojem novih ECL sistema za bioanalitičku primenu dao značajan doprinos daljem razvoju ove oblasti. Najznačajniji rezultati ovog rada ogledaju se u ispitivanju mehanizama $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /koreaktant sistema na nivou jedne perle, sa tri-n-propilamin ili 2-(dibutilamino)etanol, respektivno, tehnikom snimanja koja daje trodimenzionalni prikaz distribucije inteziteta svetlosti ECL. Kandidat je takođe razvio imunosenzor za dijagnostiku autoimunog oboljenja celijakija kombinujući svojstva ECL tehnike i nanoelektroda. Kandidat je zatim uspešno kombinovao ECL metodu sa bipolarnom elektrohemijom što predstavlja jedinstven analitički pristup koji se bazira na dizajnu „pametnih“ dinamičkih sistema (*eng. smart dynamic systems*) za direktno vizuelno očitavanje.

Iz ove doktorske disertacije proisteklo je pet radova u vrhunskim časopisima međunarodnog značaja (M21) i jedanaest saopštenja na skupovima međunarodnog značaja, sa šest usmenih izlaganja. Na osnovu svega izloženog, Komisija smatra da su ispunjeni svi

uslovi da se ovaj rad **Milice Sentić** pod naslovom: ***''Elektrogenerisana hemiluminiscencija: ispitivanje mehanizma i njena primena u bioanalitici''***, prihvati kao doktorska teza, čime se stiču uslovi za sticanje akademskog stepena i zvanja doktora hemijskih nauka. Na osnovu toga, predlažemo Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta da se kandidatu **Milici Sentić** odobri odbrana doktorske teze pod navedenim naslovom.

U Beogradu, 14.03.2016. godine

Komisija:

dr Dragan Manojlović, vanredni profesor (mentor)

Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Nešo Šojić, redovni profesor (mentor)

Institut za Molekularne nauke,

Univerzitet u Bordou, Francuska

dr Goran Roglić, vanredni profesor

Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu