

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертационной работы Харлампиевой Дарьи Дмитриевны «Получение рекомбинантных фрагилизинов *Bacteroides fragilis* и исследование их биологической активности», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Диссертационная работа Харлампиевой Дарьи Дмитриевны посвящена изучению активности фрагилизина – белка, продуцируемого энтеротоксигенными штаммами *Bacteroides fragilis*. Согласно имеющимся в литературе данным, персистенция таких штаммов в организме человека ассоциирована с развитием воспалительных заболеваний кишечника, а также рака. Таким образом, данное исследование представляется весьма актуальным.

Харлампиевой Д.Д. были впервые получены все три изоформы фрагилизина в гетерологичной системе *E. coli* и продемонстрировано, что они обладают такой же биологической активностью, какая описана для аналогичных белков, секретируемых *B. fragilis*. Автором изучен Е-кадгерин – мембранный белок, обеспечивающий межклеточную адгезию и участвующий в регулировании пролиферации клеток – в качестве потенциального субстрата для фрагилизина. Показано, что происходит расщепление данного белка при обработке фрагилизином интактных клеток линии аденокарциномы толстого кишечника (HT-29), однако полноразмерный рекомбинантный Е-кадгерин не расщепляется при инкубации с фрагилизином. Таким образом, полученные в диссертационной работе данные позволяют предположить, что фрагилизин расщепляет Е-кадгерин не напрямую, как это предполагалось ранее, а более сложным путем. Возможно участие клеточных сигнальных каскадов и протеиназ в данном процессе. Автором также было показано, что после обработки клеток линии HT-29 в среду высвобождаются не только фрагменты Е-кадгерина, но и фрагменты других мембранных белков, которые впервые идентифицированы в ходе данной диссертационной работы. Дальнейшие исследования этих белков помогут получить более полные представления об ответе эпителиальных клеток кишечника на колонизацию энтеротоксигенными *B. fragilis* и механизме ассоциированных заболеваний.

Диссертационная работа Харлампиевой Д.Д. выполнена на высоком методическом уровне. Были использованы современные методы генной инженерии, методы протеомного и биоинформационического анализа. Формулировка цели, постановка задач, подбор методов исследования, интерпретация результатов и выводы свидетельствуют о высокой компетенции автора. Автореферат написан четко и ясно, отлично иллюстрирован. Представленный в автореферате материал позволяет заключить, что работа Харлампиевой

Д.Д. полностью соответствует требованиям, предъявляемым п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Старший научный сотрудник
лаборатории механизмов регуляции иммунитета
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
кандидат биологических наук

Хромых Людмила Менделевна

 «05» август 2016 г.

115478, г. Москва, Каширское шоссе 24

Телефон: +7 (499) 324-55-13

E-mail: lkromykh@list.ru

Подпись старшего научного сотрудника, к.б.н. Хромых Л.М. заверяю

Гудкова М.В.



кандидат биологических наук

ученый секретарь

НИИ канцерогенеза

Федерального государственного бюджетного
учреждения «Российский онкологический
научный центр им. Н. Н. Блохина»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации