

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Катковой-Жукоцкой Ольги Александровны  
**«НЕМАТОДЫ *CAENORHABDITIS ELEGANS* КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ  
ВЛИЯНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ МЕТАБОЛИЗМА МИКРОБИОТЫ  
НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ХОЗЯИНА»,**

представленную на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. — генетика

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой Ольги Александровны посвящена исследованию влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с целью расширения знаний о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнедеятельность организма-хозяина. Используемая комбинированная межвидовая модель «*Caenorhabditis elegans* – бактерия» сочетает в себе преимущества нематод и бактерий как модельных систем. Важным преимуществом данной модели является наличие большого количества мутантных по различным генам линий нематод. В лабораторных условиях нематоды растут, питаясь газоном бактериальной культуры, представляющей собой как основной источник пищи, так и комменсальную кишечную микрофлору нематод, и существенно влияющей на жизнедеятельность организма-хозяина. Спектр исследований влияния бактериальных метаболических процессов на жизнедеятельность *C. elegans* значительно расширился за последние десятилетия. Выявлена высокая степень гомологии генов нематод с генами человека. Таким образом, настоящая работа, направленная на изучение влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина, представляется весьма актуальной, что достаточно четко и полно сформулировано автором во введении диссертации.

Диссертационная работа построена по традиционному плану: состоит из введения и глав, посвященных обзору литературы по проблеме, описанию материалов и методов, изложению результатов работы и их обсуждению, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа изложена на 117 страницах машинописного текста. Иллюстративный материал диссертации содержит 12 таблиц и 35 рисунков. Приложение включает объемную таблицу, содержащую сведения об эффектах воздействия различных бактериальных штаммов на жизнедеятельность нематод. Библиографический список представлен 254-мя литературными источниками (из которых 243 – на английском языке).

Во введении автором обоснована актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость работы. Обзор литературы написан на основе глубокого анализа большого числа публикаций, среди которых достаточно широко представлены работы последних лет, что подчеркивает актуальность и значительный

научный интерес к проблеме. Рассмотрен широкий круг вопросов, имеющих непосредственное отношение к диссертационной работе. Обзор литературы содержит четыре подглавы, посвященные общей характеристике нематод *C. elegans*, а также их роли в качестве модельного объекта для биогеронтологических исследований, изучения взаимосвязи продолжительности жизни и стрессоустойчивости. Особое внимание автор уделил рассмотрению возможностей и перспектив использования межвидовой комбинированной биологической модели «*C. elegans* – бактерия» для изучения механизмов взаимодействия «хозяин – микробиота», тем самым предваряя описание исследований в этом направлении, изложенные далее в диссертационной работе.

В главе «Материалы и методы» описаны объекты исследования, приводится таблица использованных в работе штаммов бактерий и нематод *C. elegans* с их генетическими характеристиками. В работе были применены классические и современные методы исследования. Отдельные разделы посвящены описанию получения мутантных штаммов бактерий и культивирования нематод на различных бактериальных подложках, а также методам статистической обработки результатов.

Глава «Результаты и обсуждение» содержит результаты собственных исследований, представленных в 5-ти разделах и включающих значительный объем практической лабораторной работы с модельными организмами. В первой подглаве представлены данные по изучению влияния метаболизма *Bacillus subtilis* на термотолерантность и продолжительность жизни нематод и продемонстрирована важная роль бактериального оксида азота (как сигнальной молекулы) в жизнедеятельности нематод, тем самым подчеркивая большое значение комменсальных бактерий для организма-хозяина. Во второй подглаве описано влияние мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание микробиоты, на жизнедеятельность организма-хозяина. Диссертантом впервые установлено положительное влияние инактивации генов *cyoA* и *cydA* бактерий *Escherichia coli* на продолжительность жизни нематод, связанное с эффектом митохондриального горемезиса. В третьей подглаве продемонстрировано, что ограничение потребления диетических тиолов (включая тиолы, полученные естественным путем из микробиоты) увеличивает продолжительность жизни нематод, что подтверждает важную роль наличия сбалансированного уровня антиоксидантов для поддержания нормальной жизнедеятельности организма. Четвертая подглава посвящена изучению механизмов ингибирующего действия глюкозы на продолжительность жизни особей. В результате проведенной работы впервые показано, что гликоген ответственен за устойчивость к оксидантам и сокращение продолжительности жизни нематод в условиях высокого потребления глюкозы. Большая часть работы посвящена изучению влияния экзогенного АИКАР и эндогенного АИКАР (продуцируемого штаммом *B. subtilis*) на продолжительность жизни *C. elegans*. Впервые продемонстрировано, что регуляторный метаболит АИКАР увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* и обладает геропротекторным

эффектом. Главной удачей автора следует признать конструирование штамма-продуцента АИКАР *B. subtilis*, обладающего свойствами пробиотика, который значительно увеличивает продолжительность жизни *C. elegans*. Продемонстрировано, что добавление экзогенного или эндогенного АИКАР не влияет на жизнедеятельность АМПК-дефицитной мутантной линии нематод *aak-2*, что свидетельствует об участии АМПК-зависимого пути в контроле продолжительности жизни особей. Таким образом, принципиально важным практическим результатом является демонстрация преимущества использования пробиотиков для продления жизни хозяина по сравнению с использованием выделенных из них активных метаболитов, тем самым доказывая перспективность использования искусственно сконструированных бактерий для коррекции различных метаболических нарушений и осуществления положительного влияния на жизнедеятельность особей.

В главе «Заключение» автор кратко резюмирует итоги всех исследований, в разделе «Выводы» формулирует пять выводов, отражающих результаты работы, ее значимость и новизну, и логично вытекающих из полученных результатов.

Представленный в диссертационной работе материал не вызывает сомнений в достоверности сделанных выводов. Совокупность полученных результатов существенно расширяет представление о роли генетического контроля метаболической активности микробиоты в жизнедеятельности организма-хозяина. Результаты работы имеют междисциплинарное значение, представляя интерес для специалистов в области генетики, микробиологии, геронтологии, медицины. Полученные данные представляют научный и практический интерес и могут служить основой для проведения дальнейших исследований. Диссертация хорошо оформлена, выводы полностью подкреплены полученными результатами, и работа оставляет впечатление качественно выполненной и законченной.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Результаты работы опубликованы в виде 3-х статей в высокорейтинговых журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК Минобрнауки РФ, представлены в виде докладов на конференциях, получен 1 патент.

Диссертационная работа изложена логично и последовательно, оформлена в соответствии с принятыми стандартами и правилами. Серьезных замечаний к данной работе нет. Имеются некоторые опечатки, по несколько раз встречаются полные родовые названия в тексте, дважды одними и теми же словами написан рассказ о горизонтальном переносе гена NOS.

Из обзора осталось не ясно увеличивает ли продолжительность жизни увеличение генно-инженерным путём экспрессии *aak-2* (АМПК) в *C. elegans*.

Высказанные замечания не являются принципиальными и не уменьшают научную и практическую значимость работы.

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. представляет собой самостоятельный научный труд, в котором содержится решение проблем в области исследования влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина, что способствует расширению представлений о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнеспособность организма-хозяина. По актуальности, достоверности и новизне исследования и полученных результатов, значимости выводов диссертация имеет важное фундаментальное значение и отвечает требованиям пп. 9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 г. «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней» и постановлений Правительства РФ №1024 от 28 августа 2017 г., №1168 от 1 октября 2018 г. и №426 от 20 марта 2021 г.), а ее автор, Каткова-Жукоцкая О. А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук специальности 1.5.7 — генетика.

Манухов Илья Владимирович  
доктор биологических наук,  
главный научный сотрудник,  
заведующий лабораторией молекулярной  
генетики, заместитель заведующего кафедры  
биофизики ФГАОУ ВО «Московского  
физико-технического института  
(национального исследовательского университета)»

09.10.22

Подпись доктора биологических наук,  
заведующего лабораторией молекулярной генетики  
Манухова Ильи Владимировича удостоверяю:  
Учёный секретарь МФТИ



Евсеев Евгений Григорьевич

141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9.  
Юридический адрес: 117303, г. Москва, ул. Керченская, д.1 А, корп. 1  
Телефон: +7 (905) 562-29-24; +7 (495) 408-45-54  
E-mail: manukhovi@mail.ru; info@phystech.edu; info@mipt.ru  
Сайт: www:mipt.ru