

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Катковой-Жукоцкой О.А.
«Нематоды *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - «Генетика».

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О.А. посвящена изучению влияния метаболизма бактерий, поступающих в желудочно-кишечный тракт, на продолжительность жизни хозяина с использованием комбинированной межвидовой модели «*C. elegans* – бактерия», сочетающей в себе преимущества нематод и бактерий как модельных систем. Она представляет собой пример исследования межвидовой сигнализации с помощью небольших молекул и иллюстрирует её значение для организма-хозяина.

В последние годы различные аспекты взаимосвязи бактериального метаболизма и жизнедеятельности *C. elegans*, являются предметом активного изучения. В частности, исследуется влияние контролируемого генетического изменения метаболизма потребляемых бактерий на продолжительность жизни этой нематоды. С другой стороны, важным достоинством модели «*C. elegans* – бактерии» является наличие большого количества штаммов нематоды, мутантных по различным генам, влияющих на указанное явление. В связи с изложенным, работа Катковой-Жукоцкой, несомненно, является актуальной.

Раздел автореферата «Материалы и методы» содержит таблицу, где приведены использованные в работе штаммы бактерий и нематод *C. elegans*, описаны манипуляции с ДНК, получение штаммов *E. coli* с мутациями в генах, контролирующих аэробное дыхание, и штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего АИКАР, приведены методы культивирования и определения продолжительности жизни *C. elegans*, программы и методы статистической обработки результатов. Таким образом, для решения поставленных задач автор использует широкий арсенал классических и современных методов исследования, что явилось предпосылкой достоверности полученных данных.

Результаты проведенного исследования и их обсуждение представлены в пяти частях соответствующего раздела.

В первой части впервые представлены данные, свидетельствующие о том, что продуцируемая бактериями *Bacillus subtilis* окись азота (NO) увеличивает среднюю продолжительность жизни и термотолерантность *C. elegans*. Это позитивное влияние NO на жизнеспособность нематод зависит от активности глобальных регуляторов DAF-16 и HSF-1 и устраняется при их нарушении. Проведенный транскриптомный анализ выявили группу генов, характеризующихся повышенной экспрессией в присутствии NO, и включал гены, которые, согласно литературным данным, вовлечены в контроль долгожительства.

Во второй части изучалось влияние мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание в *E. coli*, используемой для питания *C. elegans*, на продолжительность жизни нематоды. Было показано, что потребление мутантов, дефектных по генам *cyoA* (оксидаза *bo'*) и *cydA* (оксидаза *bd-I*), и имеющих повышенный уровень генерации АФК, положительно влияет на продолжительность жизни нематод. Автор интерпретирует эти данные в рамках концепции, согласно которой умеренные дозы АФК приводят к индукции защитных механизмов организма от окислительного стресса и, в конечном счете, к увеличению продолжительности жизни.

В третьей части изучалось влияние антиоксидантов на продолжительность жизни *C. elegans*. В качестве антиоксидантов применяли глутатион и N-ацетилцистеин. Было обнаружено, что обработка нематод этими соединениями не приводила к увеличению жизнеспособности особей, а напротив – вызывала ее снижение. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что, хотя антиоксиданты и защищают организмы от действия экзогенных активных форм кислорода, их добавление, очевидно, в избыточных концентрациях сокращает продолжительность жизни *C. elegans*.

В четвертой части изучались механизмы ингибирующего действия глюкозы на продолжительность жизни нематод. Как известно, глюкоза играет

важную роль в жизнедеятельности всех организмов, однако ее избыток приводит к патологиям и сокращению продолжительности жизни. Это было вновь продемонстрировано в проведенных опытах с *C. elegans*. С одной стороны, глюкоза обеспечивала устойчивость *C. elegans* к окислительному стрессу, а с другой - существенно сокращала продолжительность жизни нематод. Модулируя активность генов, кодирующих гликогенсинтазу и гликогенфосфорилазу, удалось показать, что именно эндогенное накопление глюкозы в форме гликогена играет принципиальную роль в сокращении продолжительности жизни в условиях высокого потребления глюкозы. При этом происходит подавление транскрипции глобального регулятора DAF-16 и активности АМРК.

Наконец, пятая часть раздела посвящена изучению влияния АИКАР на продолжительность жизни *C. elegans*. АИКАР-Р (нуклеотид) является мощным активатором АМРК. Будучи аналогом АМФ, он имитирует его накопление и провоцирует перестройку энергетических процессов, направленную на преодоление мнимого энергетического стресса, который при умеренной выраженности увеличивает продолжительность жизни различных организмов.

Действительно, при добавлении препарата АИКАР, наблюдалось слабо выраженное увеличение продолжительности жизни особей нематоды, т.е. экзогенный АИКАР оказывает небольшое геропротекторное действие, причем, только при концентрации не выше 0.1 мМ.

Далее, генетическими методами был сконструирован штамм *B.subtilis* – продуцент АИКАР. Полученный штамм, используемый в качестве пищи для *C. elegans*, как на среде с глюкозой, так и без неё увеличил среднюю продолжительность их жизни. Причём, на среде с глюкозой она увеличилась ~ 62% по сравнению с нематодами, которым в тех же условиях скармливали исходный штамм *B.subtilis*, т.е. не продуцирующий АИКАР. Было показано, что действие штамма-продуцента АИКАР зависит от активности гена *aak-2*, кодирующего одну из субъединиц АМРК нематод: мутация в этом гене препятствует проявлению позитивного эффекта.

Полученный штамм-продуцент *B. subtilis* AM2020 АИКАР↑ можно применять в качестве пробиотика. И хотя как его жизнеспособность, так и продукция АИКАР в кишечнике *C. elegans* требуют дальнейшего изучения, он служит примером перспективности использования искусственно созданных бактерий для коррекции метаболических нарушений и замедления процесса старения организма хозяина.

В качестве положительного момента можно отметить, что каждая часть раздела «Результаты и обсуждения» заканчивался заключением по поводу полученных результатов, а в конце приведено общее «Заключение» по работе.

Таким образом, судя по автореферату, диссертантом Катковой-Жукоцкой О.А. проведено большое и интересное исследование, выполненное на хорошем уровне и, открывающее новые научные и практические перспективы.

Вместе с тем, у меня имеется ряд замечаний. Не все мутанты *C. elegans*, используемые в опытах, представлены в Таблице 1. Смысл представленных на рисунках 4.2 и 4.3 схем, несмотря на многословные подписи к ним, не просто понять читателю, так же, как и конструирование штамма AM2020 АИКАР↑ на рисунке 5.2. Кроме того, на мой взгляд, некоторые термины автор использует не вполне адекватно установившемуся их значению. Так, говорится о том, что для *C. elegans* «живые бактерии представляют собой как основной источник пищи, так и комменсальную кишечную микрофлору». Как известно, микроорганизмы-комменсалы, (буквально – сотрапезники) являются **симбионтами**, которые получают одностороннюю выгоду от симбиоза, не нанося ущерба организму хозяина. В данном случае совершенно ясно, что выгоду получает только поедающая бактерии нематода, в кишечнике которой они разрушаются. В связи с этим у меня возникает вопрос: что известно о действительно симбионтных бактериях нематоды и возможен ли какой-либо метаболизм *B. subtilis* в условиях её кишечника, к тому же, очевидно, анаэробных? Кроме того, под микробиотой понимают всю совокупность симбионтных микроорганизмов той или иной экологической ниши, в данном случае, кишечника *C. elegans*. Поэтому не совсем уместно говорить и микробиоте, когда речь идёт об одной известной бактерии,

которая используется нематодой в качестве пищи. Однако указанные замечания никак не умаляют общей положительной оценки диссертационной работы.

Представленная диссертантом работа является актуальным научным исследованием, отличающимся новизной, теоретической и практической значимостью и полностью соответствует критериям, определенным в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 11.09.2021), а ее автор, Каткова-Жукоцкая Ольга Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации Катковой-Жукоцкой Ольгой Александровной, исходя из нормативных документов Правительства РФ, Минобрнауки РФ и ВАК при Минобрнауки РФ, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте ИОГен РАН, на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Профессор Геномного Центра (ГосНИИГенетика)
НИЦ «Курчатовский институт»
доктор биологических наук по специальности 1.5.7 - Генетика, профессор,

«10» октября 2022 г



Лившиц Виталий Аркадьевич

Подпись д.б.н., профессора Лившица В.А. «Заверяю»:

Главный Ученый Секретарь
НИЦ «Курчатовский институт»



Сергунова Кристина Анатольевна

Адрес организации:
123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова д.1
Тел.: +7(499) 196-95-39
www.nrcki.ru

Вампи (Захрещено Го.)

12/10/2022