

## 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

### **Актуальность темы исследования**

За последние десятилетия значительно расширился спектр исследований роли метаболической активности микробиоты в жизнедеятельности организма-хозяина. Многочисленные исследования убедительно показывают важную роль микробиоты в ожирении, метаболизме лекарств, устойчивости к болезнетворным микроорганизмам и ряде других процессов. Хорошей моделью для изучения взаимодействий «хозяин – микробиота» является комбинированная модель «*Caenorhabditis elegans* – бактерия».

Свободноживущие почвенные нематоды *C. elegans*, геном которых был полностью прочитан в 1998 г., представляют собой перспективный объект для изучения различных биологических процессов и являются традиционным модельным организмом для разнообразных генетических, биохимических, биогеронтологических исследований. В лабораторных условиях нематоды растут на газоне бактериальной культуры, то есть используют активно метаболизирующие бактерии. Таким образом, живые бактерии представляют собой как основной источник пищи, так и комменсальную кишечную микрофлору нематод, и могут существенно влиять на жизнедеятельность организма-хозяина. Одним из главных преимуществ модели «*C. elegans* – бактерия» является наличие большого количества мутантных по различным генам линий *C. elegans* (помимо стандартной линии дикого типа N2 Bristol).

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. посвящена актуальной тематике - изучению генетического контроля и молекулярных механизмов влияния метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с использованием комбинированной модели «*C. elegans* – бактерия».

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. изложена на 117 страницах машинописного текста и включает стандартные для подобных работ разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы». Диссертация содержит 35 рисунков и 12 таблиц. Библиографический указатель включает 254 источника, из которых 243 – на английском языке.



Во введении диссертант четко и подробно обосновывает актуальность проведенного исследования, определяет цели и задачи, научную новизну и практическое значение работы.

Обзор литературы содержит 4 части и дает общее представление о нематодах *C. elegans*, а также их роли в качестве модельных объектов для биогеронтологических исследований, изучения взаимосвязи продолжительности жизни и стрессоустойчивости. Подробно описаны возможности использования модели «*C. elegans* – бактерия» для изучения механизмов взаимодействия «хозяин – микробиота».

В главе «Материалы и методы» подробно описаны используемые в исследовании объекты, этапы экспериментальной работы, программы и методы статистической обработки результатов.

Основная глава диссертационной работы «Результаты и обсуждение» состоит из 5-ти частей и содержит результаты проведенных экспериментов и их анализ.

В первом подразделе представлены данные по изучению влияния метаболизма *Bacillus subtilis* на термотолерантность и продолжительность жизни нематод. Показано, что бактериальный оксид азота оказывает положительное влияние на жизнедеятельность особей.

Второй и третий подразделы посвящены определению влияния антиоксидантов и мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание микробиоты, на жизнедеятельность организма-хозяина. Продемонстрировано, что ограничение потребления диетических тиолов увеличивает продолжительность жизни нематод, а инактивация генов *cyoA* и *cydA* бактерий *E. coli* (контролирующих аэробное дыхание), способствует увеличению продолжительности жизни *C. elegans*.

Четвертый подраздел посвящен изучению механизмов ингибирующего действия глюкозы на продолжительность жизни нематод. На основании полученных данных сделано заключение, что гликоген ответственен за устойчивость к оксидантам и сокращение продолжительности жизни *C. elegans* в условиях высокого потребления глюкозы.

В пятом подразделе представлены данные по изучению влияния добавления препарата АИКАР, а также АИКАР, продуцируемого штаммом *B. subtilis*, на продолжительность жизни *C. elegans*. Проведенные эксперименты дали возможность утверждать, что регуляторный метаболит АИКАР обладает геропротекторным эффектом. В работе также продемонстрировано, что значительно большее увеличение продолжительности жизни особей наблюдалось при их культивировании на газоне штамма-пробиотика *B. subtilis*, продуцирующего АИКАР. Обнаружено, что АИКАР не влияет на жизнедеятельность АМПК-дефицитной мутантной линии нематод (с делецией в гене *aak-2*), что свидетельствует об участии АМПК-зависимого пути в контроле продолжительности жизни особей.

В «Заключении» кратко подведены итоги всех проведенных исследований.



В разделе «Выводы» сформулировано пять выводов, четко отражающих результаты работы, ее масштаб, значимость и новизну.

**Степень достоверности результатов и обоснованности выводов, сделанных автором, научная новизна и практическая значимость исследования**

Исследования данной диссертационной работы выполнены с использованием различных современных методологических подходов, а их результаты обработаны с применением стандартных статистических методов. Представленный в диссертационной работе материал и сделанные на его основе выводы не вызывают сомнений в достоверности. Полученные автором экспериментальные данные представляют научный и практический интерес и могут служить основой для проведения дальнейших исследований. Они позволяют расширить фундаментальные знания о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма и важное значение комменсальных бактерий в жизнедеятельности организма-хозяина. Так, в работе продемонстрирована важная роль бактериального оксида азота в физиологии нематод, впервые экспериментально установлено положительное влияние мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание микробиоты, на продолжительность жизни модельных организмов, очевидно связанное с эффектом митохондриального гормезиса. Обнаружено сокращение продолжительности жизни нематод *C. elegans* в результате постоянного употребления экзогенных антиоксидантных добавок (в том числе полученных естественным путем из микробиоты), что свидетельствует о важной роли наличия сбалансированного уровня антиоксидантов для поддержания нормальной жизнедеятельности особей. В результате проведенной работы впервые показано, что гликоген ответственен за устойчивость к оксидантам и сокращение продолжительности жизни нематод в условиях высокого потребления глюкозы. В процессе выполнения диссертационной работы автором впервые продемонстрировано, что регуляторный метаболит АИКАР увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* и обладает геропротекторным эффектом. Как показано в работе, воздействие АИКАР осуществляется по АМРК-зависимому механизму. Полученный автором штамм-продуцент АИКАР *B. subtilis* обладает свойствами пробиотика и в значительно большей степени чем добавление препарата АИКАР увеличивает продолжительность жизни *C. elegans*. Таким образом, важным практическим результатом является демонстрация преимущества использования пробиотиков для продления жизни хозяина по сравнению с использованием выделенных из них активных метаболитов. Совокупность полученных результатов существенно углубляет знания о роли генетического контроля метаболической активности микробиоты в жизнедеятельности организма-хозяина и способствует пониманию механизмов взаимодействия с микробиотой и других организмов, в частности, человека, что является необходимым для использования микробиоты в целях поддержания здоровья и лечения различных заболеваний.



Результаты и выводы диссертационной работы Катковой-Жукоцкой О.А. полностью отражены в 7-ми научных публикациях, в том числе в 3-х статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований.

### Замечания к работе

Несмотря на общую положительную оценку работы, необходимо сделать некоторые замечания, которые в большинстве своем носят рекомендательный характер:

1. В главе «Обзор литературы» автор диссертации представляет все известные данные по теме исследования, включая и те, которые были получены в ходе рассматриваемой работы, цитируя одновременно как работы других авторов, так и свои публикации по теме диссертации (например, стр. 15, 17, 23). На мой взгляд, в этой главе важно было четче обозначить, что было известно в мировой литературе по теме диссертации до момента начала исследований автором работы, и подчеркнуть, какие нерешенные проблемы делали данную работу актуальной.

2. Часть материалов диссертации не представлена в тексте автореферата, что несколько затрудняет его понимание без прочтения самой диссертации: например, 1) заключение из раздела 1 о развитии определенной транскрипционной реакции нематод в ответ на оксид азота выглядит недоказанным без упоминания результатов соответствующего транскриптомного анализа (о котором идет речь в полном тексте диссертации); 2) раздел 4 в автореферате, содержит только данные о защитном действии глюкозы и гликогена при обработке окислителями, но не содержит данные о влиянии гликогена на продолжительность жизни *C. elegans*.

3. Выдвинутое автором работы предположение о том, что более высокая продолжительность жизни нематод на газоне «мертвых» бактерий связана со сниженным содержанием в таких бактериях тиолов, доказывается в работе данными, показывающими более высокое содержание глутатиона и восстановленных тиолов в клетках живых бактерий. Однако, живые и «мертвые» клетки различаются также по целому ряду других характеристик. Мне представляется более надежным доказательством сравнение продолжительности жизни нематод при росте на газоне «мертвых» бактерий без тиолов и при их добавлении.

Хочу подчеркнуть, что все перечисленные выше замечания не носят принципиального характера и не снижают значимость, достоверность и общую высокую оценку рассматриваемой работы Катковой-Жукоцкой О.А.

В качестве развития данных исследований представляется важным продолжение изучения воздействия штаммов-пробиотиков на физиологию других хозяев, в частности, возможность аппроксимации полученных данных на *Homo sapiens*. В связи с этим хотелось бы задать автору диссертации вопрос:

Какие из результатов, полученных в исследованиях на модели «*C. elegans* – бактерия», с большой долей вероятности могут быть перенесены на модель



«*H. sapiens* – бактерия», а какие нет, и какие различия в метаболизме *C. elegans* и человека могут повлиять на точность такой аппроксимации?

### Заключение

Исходя из изложенного выше, диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. является законченной научно-квалификационной работой, посвященной исследованию влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина. Рассматривая работу, можно заключить, что полученные в диссертационном исследовании данные расширяют представление о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнеспособность организма-хозяина. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

В целом, диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. «Нематоды *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина» по своей актуальности, научной новизне, полноте описания и достоверности полученных результатов полностью соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Каткова-Жукоцкая Ольга Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук специальности 1.5.7 — генетика.

Официальный оппонент,  
кандидат биологических наук, доцент,  
заместитель директора по научной работе,  
заведующий лабораторией №2  
АО Научно исследовательский институт  
«Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»)

Закатаева Наталия Павловна

22.09.2022

Подпись Н.П. Закатаевой заверяю,  
Генеральный директор АО «АГРИ»



Рыбак Константин Вячеславович

Адрес организации: 117545, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, корп. 1  
Тел.: +7 (495) 780-32-66  
E-mail: agri-ofc@agri.ru