

**УТВЕРЖДАЮ:**

Директор  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения  
Институт молекулярной генетики  
Национального исследовательского  
центра «Курчатовский институт»  
Диссертационный корреспондент РАН,  
профессор

Костров С.В.

2022 г.



## **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федерального государственного бюджетного учреждения  
Институт молекулярной генетики Национального  
исследовательского центра «Курчатовский институт»  
(НИЦ «Курчатовский институт» - ИИМГ)**

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

Работа выполнена в Лаборатории генетической регуляции метаболических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук; научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Миронов Александр Сергеевич.

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. посвящена исследованию различных путей влияния метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с использованием комбинированной межвидовой модели «*Caenorhabditis elegans* – бактерия», сочетающей в себе преимущества нематод и бактерий как модельных систем.

### Актуальность темы исследования

Свободноживущие почвенные нематоды *C. elegans* являются традиционным модельным организмом для разнообразных генетических, медицинских, биохимических и биогеронтологических исследований. Выявлена высокая степень гомологии генов нематод с генами человека. Помимо стандартной линии *C. elegans* дикого типа N2 Bristol существует большое количество мутантных по различным генам линий. Нематоды *C. elegans* представляют собой перспективную модель для изучения различных биологических процессов, включая энергетический метаболизм, иммунитет и старение. В природных условиях *C. elegans* обитают в почве, богатой бактериями, которыми они питаются. В лабораторных условиях нематоды растут, питаясь газоном бактериальной культуры. Таким образом, живые бактерии представляют собой как основной источник пищи, так и комменсальную кишечную микрофлору нематод, и могут существенно влиять на жизнедеятельность организма-хозяина. За последние десятилетия значительно расширился спектр исследований влияния бактериальных метаболических процессов на жизнедеятельность *C. elegans*.

Настоящая работа посвящена изучению различных аспектов влияния метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с использованием межвидовой модели «*C. elegans* – бактерия». Актуальность исследования достаточно полно, четко и подробно сформулирована автором во введении диссертации.

### Структура и содержание работы

Диссертационная работа построена по стандартному плану и содержит разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы», «Благодарности» и «Приложение». Основная часть работы занимает 111 страниц, приложение – 6 страниц. Работа иллюстрирована 35-ю рисунками и дополнена 12-ю таблицами, список литературы содержит 254 источника (из них – 243 на английском языке). Общий объем работы составляет 117 страниц.

Введение полностью отвечает названию диссертации, в нем ясно сформулированы актуальность и степень разработанности темы исследования, теоретическая значимость и научная новизна работы, а также сведения, необходимые для понимания рассматриваемых вопросов. Ставится цель исследования и задачи.

Раздел «Обзор литературы» содержит 4 части, в которых рассмотрены общие сведения о нематодах *C. elegans*, а также их роли в качестве модельных объектов для биогеронтологических исследований, для изучения взаимосвязи продолжительности жизни и стрессоустойчивости. Рассмотрены возможности использования межвидовой биологической модели «*C. elegans* – бактерия» для изучения механизмов взаимодействия «хозяин – микробиота». Хочется отметить хороший стиль написания этого раздела и глубокую проработку литературных источников с упоминанием как современных, так и самых первых публикаций по исследуемой теме.

Раздел «Материалы и методы» содержит информацию об используемых в исследовании классических и современных методах и включает разделы, с описанием объектов исследования, этапов практической работы, программ и методов статистической обработки результатов. Производит впечатление большой объем экспериментальной работы, проделанной автором.

В разделе «Результаты и обсуждение», который состоит из 5-ти частей, приведены и проанализированы результаты исследований. В первой части представлены данные по изучению влияния метаболизма *Bacillus subtilis* на продолжительность жизни и термотолерантность *C. elegans* и показано, что оксид азота, продуцируемый бактериями, оказывает положительное влияние на жизнедеятельность особей. Вторая и третья части посвящены определению влияния антиоксидантов и мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание микробиоты, на жизнедеятельность организма-хозяина. Продемонстрировано, что ограничение потребления диетических тиолов, включая те, которые получены естественным путем из микробиоты, увеличивает продолжительность жизни особей, а инактивация генов *cyoA* и *cydA* бактерий *E. coli*, способствует увеличению продолжительности жизни *C. elegans*. В четвертой части были изучены механизмы ингибирующего действия глюкозы на продолжительность жизни нематод. На основании полученных в работе данных сделано заключение, что гликоген ответственен за устойчивость к оксидантам и сокращение продолжительности жизни нематод в условиях высокого потребления глюкозы. Пятая часть посвящена исследованию влияния экзогенного АИКАР и эндогенного АИКАР, продуцируемого штаммом *B. subtilis*, на продолжительность жизни *C. elegans*. Показано, что регуляторный экзогенный метаболит АИКАР обладает геропротекторным эффектом. Значительно большее увеличение продолжительности жизни нематод наблюдалось при их культивировании на газоне штамма-пробиотика *B. subtilis*, продуцирующего АИКАР.

Продемонстрировано, что добавление экзогенного или эндогенного АИКАР не влияет на жизнедеятельность мутантной линии нематод с инактивированным геном *aak-2*, что свидетельствует об участии АМРК-зависимого пути в контроле продолжительности жизни.

В разделе «Заключение» в краткой форме подведены итоги всех проведенных исследований. Сформулировано пять выводов, четко отражающих результаты работы, ее масштаб, значимость и новизну. Положения, выносимые на защиту, обоснованы и убедительно подтверждаются полученными данными. В раздел «Приложение» вынесена объемная таблица, содержащая сведения об эффектах воздействия различных бактериальных штаммов на жизнедеятельность нематод *C. elegans*.

### Новизна и научно-практическая значимость, обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Основной целью работы являлось изучение различных аспектов влияния метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с использованием межвидовой модели «*C. elegans* – бактерия». Задачи работы четко сформулированы и обозначены. Исследования выполнены с использованием различных современных методов. Полученные результаты обладают высоким уровнем научной значимости. Они позволяют расширить знания о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнедеятельность организма-хозяина. Полученные основные научные результаты полноценны, достоверны и воспроизводимы. Выводы диссертационной работы полностью обоснованы и соответствуют полученным результатам и заявленным целям.

В результате проведенных исследований продемонстрирована важная роль бактериального оксида азота в физиологии нематод, что представляет собой пример межвидовой сигнализации, а также подчеркивает большое значение комменсальных бактерий для организма-хозяина. Впервые установлено положительное влияние мутаций в генах, контролирующих аэробное дыхание микробиоты, на продолжительность жизни модельных организмов (связанное с эффектом митохондриального гормезиса). Показано, что постоянное употребление экзогенных антиоксидантных добавок, в том числе полученных естественным путем из микробиоты, приводит к сокращению продолжительности жизни нематод *C. elegans*, подтверждая важную роль наличия сбалансированного уровня антиоксидантов для поддержания нормальной жизнедеятельности организма.

Продemonстрировано, что наряду с сокращением продолжительности жизни, глюкоза обуславливает устойчивость нематод к действию таких оксидантов, как диамид и паракват. В результате проведенной работы впервые показано, что гликоген ответственен за сокращение продолжительности жизни нематод. Сделано заключение, что именно гликоген является ответственным за быстрое восстановление глутатиона и детоксикацию активных форм кислорода в присутствии высокой концентрации глюкозы. Полученные данные свидетельствуют о том, что умеренный окислительный стресс способствует мобилизации защитных сил организма, не функционирующих в обычных условиях. Исследована роль АМФ-зависимой протеинкиназы в регуляции продолжительности жизни *C. elegans*. Впервые продемонстрировано, что регуляторный метаболит АИКАР увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* и обладает геропротекторным эффектом. Полученный штамм-продуцент АИКАР *B. subtilis*, обладающий свойствами пробиотика, значительно увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* АМРК-зависимым образом. Важным практическим результатом является демонстрация преимущества использования пробиотиков по сравнению с использованием выделенных из них активных метаболитов для продления жизни хозяина. Полученный штамм-продуцент АИКАР доказывает перспективность использования искусственно сконструированных бактерий для коррекции различных метаболических нарушений и осуществления положительного влияния на жизнедеятельность особей. Таким образом, совокупность полученных результатов существенно углубляет знания о роли метаболической активности микробиоты в жизнедеятельности организма-хозяина. Результаты работы имеют междисциплинарное значение, представляя интерес для специалистов в области генетики, микробиологии и геронтологии.

Основные результаты и выводы диссертационной работы Катковой-Жукоцкой О.А. представлены в 7-ми научных публикациях: 3-х статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований, 1-й патентной заявке и 3-х тезисах научных конференций.

#### **Практическая ценность результатов:**

Практическая значимость работы не вызывает сомнения. Продemonстрированные в работе преимущества использования штаммов-продуцентов (по сравнению с использованием выделенных из них активных метаболитов) подчеркивают важное значение комменсальных бактерий для

организма-хозяина и демонстрируют перспективность использования искусственно сконструированных штаммов-продуцентов регуляторных метаболитов. Полученные результаты могут служить основой для дальнейших исследований, направленных на углубление фундаментальных знаний о механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнедеятельность организма-хозяина.

### **Замечания по диссертационной работе**

В качестве замечаний и предложений для дальнейших исследований можно выделить следующее:

1. Дублирование расшифровки аббревиатур, которые есть в списке сокращений (в том числе, общепринятых); незначительные стилистические погрешности.

2. Для более полного понимания значимости данной работы было бы целесообразно кратко упомянуть, предполагаются ли другие исследования по идентификации условий, способствующих усилению геропротекторного эффекта штамм-продуцента АИКАР, в каком направлении будет развиваться работа.

Приведенные замечания не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой работы, не снижают ее научной и научно-практической значимости.

### **Значимость результатов для науки и производства:**

Полученные в результате работы результаты представляют научный и практический интерес и обладают высокой значимостью для науки и производства. В частности, полученный и изученный в результате работы штамм-продуцент *Bacillus subtilis* АИКАР АМ2020 АИКАР↑ может рассматриваться как перспективный кандидат для разработки эффективных препаратов с целью коррекции различных метаболических нарушений и осуществления положительного влияния на жизнедеятельность организмов.

### **Заключение**

В заключение следует отметить, что диссертант успешно справился с поставленными задачами, а диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне.

Диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. «Нематоды *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения влияния генетического

контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, является законченным научным исследованием, посвященным исследованию различных путей влияния метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина с использованием комбинированной модели «*C. elegans* – бактерия». В диссертации представлены новые данные, расширяющие представление о молекулярных механизмах влияния бактериального метаболизма на жизнеспособность организма-хозяина. Работа выполнена на высоком методическом уровне, снабжена значительным количеством иллюстративного материала, что обуславливает достоверность представленных результатов и обоснованность положений, выносимых на защиту. Нет никаких сомнений в том, что полученных данных более чем достаточно для предоставления к защите кандидатской диссертации. Их значимость подтверждается также и тем, что большая часть результатов была опубликована автором в высокорейтинговых международных научных журналах.

Содержание диссертации в полной мере соответствует специальности 1.5.7 — генетика.

Предоставленный автореферат соответствует содержанию диссертации, все основные методы, результаты и выводы представлены в полной мере. Автореферат иллюстрирован достаточным количеством рисунков, хорошо изложен.

В целом, представленная на рассмотрение диссертационная работа Катковой-Жукоцкой О. А. по своей актуальности, научной новизне и практической значимости, 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 О. А. – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук специальности 1.5.7 — генетика.

Отзыв на диссертационную работу Катковой-Жукоцкой О. А. «Нематоды *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения влияния генетического контроля метаболизма микробиоты на продолжительность жизни хозяина» рассмотрен, обсужден и утвержден на семинаре отдела молекулярно-генетических основ биотехнологии и белковой инженерии (протокол № 1 от 21 сентября 2022 г.). На заседании присутствовало 11 человек, в том числе 2 д.х.н и 3 к.б.н.

Отзыв составлен заведующим лабораторией функциональной энзимологии (НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ), доктором химических наук, доцентом (03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)), профессором РАН Демидюком Ильей Валерьевичем.

Заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией функциональной энзимологии Федерального государственного бюджетного учреждения Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ), профессор РАН



Демидюк Илья Валерьевич

Подпись И.В. Демидюка удостоверено  
Ученый секретарь  
НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ, к.б.н.



Андреева Л.Е.

30.09.2022

Адрес ведущей организации:

123182 г. Москва,  
площадь Академика И.В. Курчатова, д. 2  
Тел.: +7(499)196-0006  
Электронная почта: [img@img.ras.ru](mailto:img@img.ras.ru)  
Сайт: <https://img.ras.ru>