

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета Александрова Александра Алексеевича
на диссертацию Католиковой Наталии Викторовны

на тему: «Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*: изучение роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, и модуляции сигнального пути Notch», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология

Актуальность. Представленная работа посвящена изучению роли следовых аминов и связанных с ними рецепторов (TAARs) в нейрогенезе дофаминергических нейронов и в дифференцировке плюрипотентных стволовых клеток человека. Эта тема чрезвычайно актуальна, поскольку непосредственно связана с попытками применить клеточную заместительную терапию в лечении болезни Паркинсона и с поиском методов, позволяющих повысить эффективность трансплантации предшественников дофаминергических нейронов. Кроме того, в задачи исследования входил анализ эффектов модуляции сигнального пути Notch на ранних этапах дифференцировки для оптимизации протоколов получения дофаминергических нейронов и их предшественников из плюрипотентных стволовых клеток человека. Таким образом, помимо большого теоретического значения работа важна с практической точки зрения.

Диссертационную работу характеризует высокая степень новизны, получен большой объем новых данных. Впервые были получены данные об эффекте нокаута двух разных типов TAARs на экспрессию нейрогенных факторов и нейрогенез дофаминергических нейронов. Описана экспрессия TAARs в нейрогенных зонах, в частности в гиппокампе. Впервые сделан анализ динамики экспрессии TAARs на разных этапах дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны. В работе дана оценка эффектов модулирования сигнального пути Notch на ранние этапы дифференцировки iPSC человека в дофаминергические нейроны, проанализированы эффекты ингибирования сигнального пути Notch а также впервые оценены эффекты активации Notch за счет оверэкспрессии внутриклеточного домена Notch (NICD).

Диссертация представляет собой рукопись из 193-х страниц текста, включая приложения и перевод на английский язык. Состоит из введения, 3-х глав - литературный

PK №33-06-840 от 03.07.2023

обзор, материалы и методы, результаты. Далее следуют заключение, выводы и приводятся сведения о публикациях автора и апробации работы. В библиографии приводится список из 125 публикаций. Завершает работу раздел «Приложения».

Экспериментальная работа состоит из трех разделов. В первой части была продемонстрирована эффективная дифференцировка и ПСК человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro* при применении модифицированного протокола. Во второй части исследования изучалось влияние нокаутирования по генам TAAR2 и TAAR5 на дифференцировку дофаминергических нейронов *in vitro*, а также проведен анализ экспрессии TAARs, выполненный по данным РНК секвенирования, полученным из открытых баз данных. Показано, что TAARs экспрессируются в нейрогенных зонах, в частности в гиппокампе мыши, и их экспрессия обнаруживается в разных типах клеток. В третьей части работы исследовалось влияние модуляции сигнального пути Notch на начальные этапы дифференцировки и ПСК человека в дофаминергические нейроны.

Полученные автором результаты достоверны, статистическая обработка и анализ данных проведены на высоком уровне, исследование выполнено корректно, выводы и заключения обоснованы.

Вопросы и замечания.

1. В разделе «2.2. Взаимосвязь системы TAARs, нейрогенеза и дифференцировки дофаминергических нейронов *in vitro*» – не сказано, какая статистика применялась для оценки различий.
2. Рис.12, Г. «fMB 2 месяца после трансплантации. Данные показывают, что как до, так и после трансплатации клетки обеих линий имеют значимую экспрессию TAAR5 и TAAR8.»
На самом деле на рис 12. Г видно, что экспрессия TAAR8 после трансплантации отсутствует
3. Рис.12 в общей части подписи указано, что приводятся данные через 6 мес. после трансплантации, в тексте статьи (стр. 50) приводится та же цифра - 6 мес. , а на самом рисунке 12 и в подписи к пунктам Б) и Г) фигурирует уже другая цифра- 2 месяца.
4. На стр.59 упоминается рецептор гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) типа А (GABRP), «который является ионным каналом для хлорида и играет важную роль в ингибирующей синаптической передаче». Рецептор (ГАМК) типа А конечно играет роль в тормозной синаптической передаче, но субъединица GABRP экспрессируется в не-нейрональных тканях (пищевод, матка и яичники), не совсем понятно какое она может иметь отношение к синаптической передаче.

Замечания по стилю и орфографии.

К сожалению, местами текст недостаточно выправлен и попадаются опечатки или стилистические погрешности, не все аббревиатуры приведены в списке сокращений: SMAD, SHH, FGF, DAPT, и др.

Заключение.

Диссертационная работа Католиковой Наталии Викторовны представляет собой законченное научное исследование, выполненное на актуальную тему, полученные результаты имеют большое теоретическое и практическое значение.

По материалам диссертации опубликовано 7 научных статей в международных журналах, индексируемых в WoS и/или Scopus, результаты работы были представлены на 7-ми международных научных конференциях.

Диссертация Католиковой Наталии Викторовны на тему: «Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в дофаминергические нейроны в условиях *in vitro*: изучение роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, и модуляции сигнального пути Notch» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Католикова Наталия Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Председатель диссертационного совета

д. биол. наук, профессор,

заведующий кафедрой высшей нервной деятельности

и психофизиологии СПбГУ



Александров А.А.

Дата

25.06.2023