

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

Я, Малашичева Анна Борисовна, являюсь научным руководителем Католиковой Натальи Викторовны, подготовившей к защите диссертацию 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» по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология.

За время работы под моим руководством Наталия расширила свои навыки по работе с индуцированными плюрипотентными стволовыми клеткам (иПСК) человека, освоила новые методы и протоколы дифференцировки иПСК человека в направлении дофаминергических нейронов, отработала методы упаковки и проверки лентивирусных конструкций, трансдукцию иПСК человека, метод проточной цитометрии, методы подготовки проб, РНК секвенирования и анализа полученных данных.

Наталия – самостоятельный, вдумчивый и трудоспособный ученый. За время работы над совместным проектом, она показала себя как человек, который способен анализировать литературу, формулировать научную идею, продумывать план экспериментов, отрабатывать новые методы, оценивать полученные данные и делать выводы, а также публиковать полученные результаты в международных журналах, индексируемых в наукометрических базах Web of Science Core Collection, Scopus, РИНЦ. Наталия неоднократно представляла полученные данные на авторитетных международных конференциях, таких как Ежегодная конференция Международного общества стволовых клеток (ISSCR Annual Meeting), Конгресс Европейского колледжа нейробиофармакологии (ECNP Congress) и Конференция Европейской сети трансплантации и восстановления ЦНС (Nectar Meeting).

Наталия являлась руководителем двух грантов РФФИ – «mol_a» в 2016-2017 годах, и «Экспансия» в 2019 году, а с 2021 года является основным исполнителем по гранту РФ по теме: «Клеточная заместительная терапия болезни Паркинсона: роль рецепторов следовых аминов в дифференцировке и трансплантации дофаминергических нейронов».

Диссертационная работа, подготовленная Наталией, посвящена изучению дифференцировки иПСК человека в дофаминергические нейроны и состоит из двух частей: первой, посвященной изучению роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, в регуляции нейрогенеза дофаминергических нейронов, и второй,

связанной с анализом эффектов модуляции сигнального пути Notch на ранние этапы дифференцировки и ПСК человека в дофаминергические нейроны. Я была руководителем Наталии при выполнении второй части работы, посвященной изучению роль сигнального каскада Notch.

Создание и оптимизация методов клеточной заместительной терапии болезни Паркинсона являются в настоящий момент крайне современными задачами. Болезнь Паркинсона – это тяжелое заболевание, и актуальность исследования причин и методов лечения нейродегенеративных заболеваний увеличивается с каждым годом. Протоколы для получения дофаминергических нейронов и их предшественников из плюрипотентных стволовых клеток человека активно разрабатываются и данный вариант лечения болезни Паркинсона стал основой для проведения уже нескольких клинических испытаний, часть из которых закончена, а часть идет в данный момент. Однако существует еще целый ряд задач в данной области, которые требуют решения и отработки.

Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, являются относительно недавно открытым классом рецепторов и их функции до конца не изучены. Изначально предполагалось, что рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, являются обонятельными, однако позже было показано, что они принимают участие в регуляции таких процессов, как внимание, питание, движение, настроение и других. Последнее время появилось предположение, что рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, могут играть роль в регуляции нейрогенеза и нейрогенеза дофаминергических нейронов, в частности.

В представленной работе проведен анализ состояния дофаминергической системы у животных дикого типа и нокаутных по рецепторам, ассоциированным со следовыми аминами, 2 и 5 типа (TAAR2 и TAAR5). При помощи гистологического анализа с окраской на тирозин гидроксилазу (маркер дофаминергических нейронов) показано, что TAAR5-КО мыши имеют повышенное число дофаминергических нейронов в черной субстанции среднего мозга. Помимо этого был также сделан анализ экспрессии основных нейрональных факторов, и показано, что мыши, нокаутные по TAAR5 имеют повышенную экспрессию глиального нейротрофического фактора в стриатуме, а мыши, нокаутные по TAAR2 имеют повышенную экспрессию нейротрофического фактора мозга в стриатуме. Эти данные подтверждают, что рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, оказывают влияние на регуляцию нейрогенеза дофаминергических нейронов, что является крайне важным

как для изучения функций рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, так и для изучения дофаминергической системы в целом.

Также в представленной работе изучена экспрессия рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, в нейрогенных зонах и показано, что разные типы TAARs экспрессируются как в нейрональных так и в глиальных клетках гиппокампа мыши, и на разных этапах дифференцировки иПСК человека в дофаминергические нейроны, и показано, что экспрессия нескольких типов TAARs, в частности TAAR5, появляется на более поздних этапах дифференцировки.

Вторая часть представленной работы посвящена изучению эффектов ингибирования и активации сигнального пути Notch на ранних этапах дифференцировки иПСК человека в дофаминергические нейроны.

Сигнальный путь Notch – это консервативный путь межклеточной сигнализации и он играет крайне важную роль в формировании нервной системы во время эмбрионального развития и постнатально. Notch принимает участие в регуляции пролиферации, миграции, апоптоза, дифференцировки, необходим для поддержания нейрональных предшественников в недифференцированном состоянии и поддерживает пул стволовых клеток мозга. Ингибирование сигнального пути Notch в астроцитах достаточно для запуска латентной нейрогенной программы. Однако эффекты модуляции передачи сигналов Notch чрезвычайно зависят от окружения. Поэтому изучение ингибирования и активации сигнального пути Notch применительно к конкретным условиям дифференцировки имеет важное значение.

В представленной работе модуляция сигнального пути Notch на ранних этапах дифференцировки иПСК человека в дофаминергические нейроны была выполнена для ингибирования Notch при помощи трансдукции лентивиральных конструкций, несущих короткую шпилечную РНК к гену белка RBPJ, обеспечивающего передачу сигналов от всех четырех рецепторов Notch, и Notch внутриклеточный домен для активации Notch. Также было выполнено сравнение двух вариантов ингибирования сигнального пути Notch: наиболее часто применяемого ингибирования Notch с помощью ингибитора γ -секретазы DAPT и более специфичного с помощью короткой шпилечной РНК к гену RBPJ.

Полученные данные показывают, что ингибирование сигнального пути Notch, независимо от метода ингибирования не оказывает существенного влияния на ранние стадии дифференцировки иПСК человека в дофаминергические нейроны, а наоборот

активация Notch имеет выраженное влияние на спецификацию и структурную организацию получаемых нейрональных прогениторов.

Полученные Наталией данные имеют с одной стороны фундаментальное значение, так как они расширяют представления о функциях рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, их роли в регуляции нейрогенеза, а также расширяют знания о роли сигнального пути Notch на ранних этапах дифференцировки и ПСК человека в дофаминергические нейроны. С другой стороны полученные результаты имеют прикладное значение, поскольку потенциально могут внести вклад в развитие методов клеточной заместительной терапии болезни Паркинсона. Предлагаемое исследование представляет несомненный интерес и важность для Российской науки и медицины.

По материалам диссертации опубликовано 15 работ: 6 научных статей и 1 обзор в журналах, индексируемых системами WoS и/или Scopus, 1 глава в книге и 7 тезисов в материалах международных конференций.

Основные положения и научные итоги диссертации были изложены в докладах на научных конференциях: V Национальный конгресс по регенеративной медицине, Москва, Россия, 23 – 25 ноября 2022; Nectar2022 32nd Annual meeting of the Network for European CNS Transplantation and Restoration, Афины, Греция, 24 – 26 октября 2022; ISSCR 2022 Annual Meeting, Сан-Франциско, США, 15 – 18 июня 2022 (онлайн); 33st ECNP Congress Hybrid, Лиссабон, Португалия, 2 - 5 октября 2021 (онлайн); 32st ECNP Congress, Копенгаген, Дания, 7 - 10 сентября 2019.

Считаю, что Наталия Викторовна Католикова достойна быть кандидатом биологических наук.

Доктор биологических наук, зав. лабораторией
Регенеративной биомедицины ИНЦ РАН
Малашичева Анна Борисовна

Малашичева 03.03.2023



Малашичевой А.Б.
03.03.2023
Секретариат
канцелярии

Малашичева