

Заключение диссертационного совета МГУ.015.9

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «15» октября 2024г. №4

О присуждении Галиакберовой Аделе Альбертовне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Подходы к моделированию нейрогенеза *in vitro* при помощи индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека» по специальности 1.5.22 – Клеточная биология принята к защите диссертационным советом МГУ.015.9 11.06.24г, протокол № 3.

Соискатель Галиакберова Аделя Альбертовна, 1995 года рождения, в 2017 году окончила бакалавриат ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» на кафедре эмбриологии биологического факультета по направлению 06.03.01 – «Биология», в 2019 году окончила магистратуру ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» на кафедре эмбриологии биологического факультета по направлению 06.04.01 – «Биология».

В период подготовки диссертации Галиакберова Аделя Альбертовна обучалась в очной аспирантуре биологического факультета с 01.10.2019 г. по 28.02.2022 г. ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» на кафедре микробиологии, а в период с 28.02.2022 г. по 30.09.2023 г. – на кафедре клеточной биологии и гистологии по направлению подготовки 06.06.01. – «Биологические науки». Свидетельство об окончании аспирантуры (№АС 000209), подтверждающее сдачу кандидатских экзаменов, выдано в 2023г. ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». Справка об обучении №22/147 от 02.06.2022 г., выданная ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», подтверждает сдачу кандидатского экзамена по специальности 1.5.22 – Клеточная биология.

Соискатель работает в центре компетенции по анализу единичных клеток центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России в должности младшего научного сотрудника с 22.01.2020 по настоящее время.

Диссертация выполнена на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова и в центре компетенции по анализу единичных клеток центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Научные руководители – доктор биологических наук **Исаев Николай Константинович**, доцент кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» и кандидат биологических наук **Дашинимаев Эрдэм Баирович**, заведующий центром компетенции по анализу единичных клеток центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Официальные оппоненты:

Новосадова Екатерина Вячеславовна, кандидат биологических наук, начальник лаборатории клеточной дифференцировки, старший научный сотрудник Научно-исследовательского центра «Курчатовский институт»

Малышев Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор РАН, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН»

Рубина Ксения Андреевна, доктор биологических наук, профессор РАН, доцент, заведующая лабораторией морфогенеза и репарации тканей Факультета фундаментальной медицины Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 4 работы, из них все 4 статьи, опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности (в скобках приведен объем публикации в условных печатных листах и вклад автора в условных печатных листах):

1. Galiakberova A. A., Dashinimaev E. B. Neural Stem Cells and Methods for Their Generation From Induced Pluripotent Stem Cells in vitro // *Frontiers in Cell and Developmental Biology* – 2020. – Vol. 8. – P. 815. Q1, IF (SJR) = 5.882 (1,1/0,97)*

2. Galiakberova A.A., Surin A.M., Bakaeva Z.V., Sharipov R.R., Zhang D., Dorovskoy D.A., Shakirova K.M., Fisenko A.P., Dashinimaev E.B. iPSC-Derived Human Neurons with GCaMP6s Expression Allow In Vitro Study of Neurophysiological Responses to Neurochemicals // *Neurochemical Research*. – 2022. – Vol. 47, no 4. P. – 952-966. Q1, IF (SJR)

= 4.529 (0,825/0,74)

3. Galiakberova A. A., Brovkina O. I., Kondratyev N. V., Artyuhov A. S., Momotyuk E. D., Kulmukhametova O. N., Lagunin A. A., Shilov B. V., Zadorozhny A. D., Zakharov I. S., Okorokova L. S., Golimbet V. E., Dashinimaev E. B. Different iPSC-derived neural stem cells shows various spectrums of spontaneous differentiation during long term cultivation // *Frontiers in molecular neuroscience*. – 2023. – Vol. 16. Q2, IF (SJR) = 4.511 (0,99/0,68)

4. Stepanov A. I., Putlyaeva L. V., Didych D. A., Galiakberova A. A., Gurskaya N. G., Lukyanov K. A. ATOH1 factor expression induces rapid differentiation of iPSCs into neurons // *Bulletin of Russian State Medical University*. 2023. №5. Q4, IF (SJR) = 0.387 (0,35/0,33)

На диссертацию и автореферат поступило 5 дополнительных отзывов, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался компетентностью в соответствующей отрасли науки и наличием публикаций в соответствующей сфере исследования.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований показано, что нейральные культуры, спонтанно дифференцированные из НСК, получаемых из ИПСК с помощью метода с DUAL SMAD ингибированием являются гетерогенными на уровне клеточных популяций, помимо нейронов разных типов, в них обнаруживаются нейральные стволовые клетки, глиальные и другие типы не-нейрональных клеток. Было обнаружено, что на соотношение клеточных типов в получаемых таким образом нейральных культурах влияют как количество пассажей НСК, из которых они были дифференцированы, так и исходная линия ИПСК – источник НСК. Интересным результатом является и то, что нейральные культуры, полученные из ИПСК от донора с синдромом Дауна, демонстрируют повышенную дифференцировку в глиальном направлении.

Также было продемонстрировано, что NGN2-индуцированные нейральные культуры, получаемые подходом с гиперэкспрессией транскрипционного фактора *NGN2* и экспрессирующие кальциевый индикатор *GCaMP6s*, являются функционально активными и могут служить в качестве модели для изучения нейрофизиологической кальциевой активности. NGN2-индуцированные нейральные культуры являются достаточно зрелыми и демонстрируют наличие ионотропных рецепторов к глутамату преимущественно NMDA-типа.

Впервые было проведено сравнение нейральных культур, полученных из одной и той же линии ИПСК, но при помощи двух разных подходов: подхода на основе метода с DUAL SMAD ингибированием и подхода на основе экзогенной гиперэкспрессии пронейрального транскрипционного фактора нейрогена 2 (NGN2). Полученные в данном исследовании результаты продемонстрировали значительные различия в клеточном составе и транскрипционном профиле нейральных культур, полученных разными подходами. Подход с экзогенной гиперэкспрессией NGN2 позволяет получать гомогенные культуры более зрелых нейронов, преимущественно глутаматергических, однако не подходит для получения ГАМКергических типов. Подход с дифференцировкой через стадию НСК с помощью метода с DUAL SMAD ингибированием обладает потенциалом к получению широкого спектра типов нейронов, однако культуры являются гетерогенными и содержат НСК и глию. Эти данные важны для понимания, какой протокол получения нейронов человека из ИПСК стоит использовать для конкретных задач.

Также было отмечено, что диссертационная работа Галиакберовой Адели Альбертовны выполнена на высоком методологическом уровне и включает большое число разнообразных современных методов, таких как иммуоцитохимическое окрашивание, количественная ПЦР с обратной транскрипцией, анализ данных общих транскриптомов, секвенирование РНК единичных клеток, кальциевый имиджинг.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

- 1) Спонтанная нейральная дифференцировка НСК, полученных из ИПСК с помощью подхода с DUAL SMAD ингибированием, приводит к получению гетерогенных нейральных культур, состав которых зависит от изначальной линии ИПСК. Клеточный спектр получаемых таким образом нейральных культур достоверно и значимо изменяется с увеличением длительности культивирования НСК.

- 2) Модифицированный протокол дифференцировки ИПСК в нейральном направлении при помощи лентивирусной доставки *NGN2* в составе тетрациклин регулируемой системы TetON позволяет получать функционально зрелые нейральные культуры человека, нейрофизиологическую активность которых можно изучать на модели с кальциевым индикатором GCaMP6s.

- 3) Разные подходы к дифференцировке ИПСК в нейральном направлении имеют свои преимущества и недостатки, что обуславливает их применимость для определенных

научных задач. Подход с DUAL SMAD ингибированием позволяет получать более широкий спектр типов нейронов, а также глии, однако нейроны требуют длительного созревания, а сами культуры являются гетерогенными. Подход с экзогенной гиперэкспрессией *NGN2* при помощи лентивирусной доставки трансгена в составе системы TetON позволяет получать относительно чистые культуры более зрелых нейронов, однако подход является трудоемким, а спектр клеточных типов довольно сильно ограничен.

На заседании 15.10.2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Галиакберовой Аделе Альбертовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 13, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель диссертационного совета
д.б.н., профессор

Онищенко Г.Е.

Ученый секретарь диссертационного совета
к.б.н.

Липина Т. В.

18.10.2024

Печать структурного подразделения МГУ

