

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
государственного  
учреждения  
молекулярной  
академии наук, член-корреспондент РАН

Федерального  
бюджетного  
Института  
науки  
генетики  
Российской  
академии наук



С.В. Костров

«02» июня 2016 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук.

Диссертация «Создание модельной системы для изучения функции генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, с использованием технологии генетического репрограммирования» выполнена в Лаборатории молекулярной генетики соматической клетки Отдела вирусной и клеточной молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук и в Лаборатории генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук.

В период подготовки диссертации Лебедева Ольга Сергеевна обучалась в аспирантуре, после окончания обучения и до настоящего времени работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте молекулярной генетики Российской академии наук. С 2015 года работает также в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении Федеральном научно-клиническом центре физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства.

В 2009 году Лебедева О.С. с отличием окончила Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по специальности «Биохимия» и поступила в очную лицензированную аспирантуру Института молекулярной

генетики РАН по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология», которую окончила в 2012 году.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2015 году Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом молекулярной генетики Российской академии наук.

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор РАН Лагарькова Мария Андреевна - заведующий лабораторией клеточной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства и заведующий лабораторией генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук; доктор биологических наук, профессор Гривенников Игорь Анатольевич – заведующий лабораторией молекулярной генетики соматической клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук.

По итогам обсуждения результатов исследований, включенных в диссертационную работу Лебедевой О.С. на тему: «Создание модельной системы для изучения функции генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, с использованием технологии генетического репрограммирования», принято следующее заключение:

#### **Участие автора в получении научных результатов.**

Экспериментальные результаты работы получены автором лично или при его непосредственном участии.

#### **Степень достоверности результатов исследований.**

Работа Лебедевой О.С. выполнена на высоком методическом уровне, были использованы современные методы молекулярной и клеточной биологии и генетики. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из полученных данных и являются полностью обоснованными. Полученные результаты согласуются с данными мировой научной литературы. Достоверность результатов работы подтверждена публикациями в ведущих российских и международных журналах.

#### **Новизна результатов и их практическая значимость.**

В ходе работы впервые в России были получены линии ИПСК, несущие мутации в генах PARK2 и PARK8, интеграционным и неинтеграционным методами. С помощью

анализа метилирования ДНК линий ИПСК, полученных из материала одного донора интеграционным и неинтеграционным методами, впервые было показано достоверное отсутствие различий между линиями. Эти данные свидетельствуют о том, что способ получения ИПСК не влияет на их свойства на уровне метилирования ДНК.

Разработанный в ходе диссертационного исследования протокол нейрональной дифференцировки ИПСК позволяет получать культуру зрелых нейронов, на 80% состоящую из тирозингидроксилаза - положительных клеток, что соответствует уровню мировых достижений в данной области.

При транскриптомном анализе полученных нейрональных культур были показаны различия между клетками пациентов и здорового донора в уровне экспрессии генов, участвующих в таких процессах, как синтез нейромедиаторов, функционирование фагосом и лизосом, деление клетки и клеточный цикл, функционирование митохондрий, гликолиз.

#### **Специальность, которой соответствует диссертация.**

Тема диссертационной работы Лебедевой О.С., утвержденная на заседании Ученого совета ИМГ РАН 22.03.2010 (протокол № 3) и скорректированная на заседании Ученого совета ИМГ РАН 02.06.2016 (протокол № 8) – «Создание модельной системы для изучения функции генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, с использованием технологии генетического репрограммирования», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а содержание диссертационной работы соответствует специальности 03.02.07 «Генетика» (согласно п.п. 6, 7, 10 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

#### **Перечень работ, в которых отражены основные научные результаты:**

##### **Статьи в рецензируемых журналах**

1. Лебедева О.С., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н., Хаспеков Л.Г., Гривенников И.А. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: новые возможности в нейробиологии и нейротрансплантологии. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2011. - Т. 5. - №4. - С. 37-45.
2. Некрасов Е.Д., Лебедева О.С., Честков И.В., Сюсина М.А., Федотова Е.Ю., Лагарькова М.А., Киселев С.Л., Гривенников И.А., Иллариошкин С.Н. Получение и характеристика индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека из фибробластов кожи пациентов с нейродегенеративными заболеваниями. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2011. - Т. VI. - №4. - С. 82-88.
3. Некрасов Е.Д., Лебедева О.С., Васина Е.М., Богомазова А.Н., Честков И.В., Киселев С.Л., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н., Гривенников И.А. Платформа для изучения болезни Гентингтона на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2012. - Т. 6. - №4. - С. 30-35.



4. Лебедева О.С., Лагарькова М.А., Киселев С.Л., Мухина И.В., Ведунова М.В., Усова О.В., Ставровская А.В., Ямщикова Н.Г., Федотова Е.Ю., Гривенников И.А., Хаспеков Л.Г., Иллариошкин С.Н. Морфофункциональные свойства индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных из фибробластов кожи человека и дифференцированных в дофаминергические нейроны. // Нейрохимия. – 2013. – Т. 3. – С. 233-241.
5. Иллариошкин С.Н., Лагарькова М.А., Хаспеков Л.Г., Гривенников И.А., Лебедева О.С. Применение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в неврологии. // Современные мед. Технологии. – 2013. - №10. - С. 55-59.
6. Богомазова А. Н., Васина Е. М., Киселев С. Л., Лагарькова М. А., Лебедева О. С., Некрасов Е. Д., Панова А. В., Филоненко Е. С., Хомякова Е. А., Цховребова Л. В., Честков И. В., Шутова М. В. Генетическое репрограммирование клеток: новая технология для фундаментальных исследований и практического использования. // Генетика. - 2015. - Т. 51. - №4. - С. 466-478.
7. Nekrasov E.D., Vigont V.A., Klyushnikov S.A., Lebedeva O.S., Vassina E.M., Bogomazova A.N., Chestkov I.V., Semashko T.A., Kiseleva E., Suldina L.A., Bobrovsky P.A., Zimina O.A., Ryazantseva M.A., Skopin A.Yu., Illarioshkin S.N., Kaznacheeva E.V., Lagarkova M.A., Kiselev S.L. Manifestation of Huntington's disease pathology in human induced pluripotent stem cell-derived neurons // Mol. Neurodegener. - 2016. - V. 11. - № 1. - P. 27.

#### **Публикации в других изданиях:**

1. **Лебедева О.С., Гривенников И.А., Лагарькова М.А.** Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: получение и перспективы. // Сборник «Стволовые клетки и регенеративная медицина» / под ред. В.А. Тачука. – Москва. - МАКС Пресс. - 2011.
2. **Лебедева О.С., Сюсина М.А., Иллариошкин С.Н., Киселев С.Л., Лагарькова М.А., Гривенников И.А.** Перспективы и проблемы использования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в исследовании нейродегенеративных заболеваний. // Сборник «Стволовые клетки и регенеративная медицина» / под ред. В.А. Тачука. – Москва. - МАКС Пресс. - 2012.
3. Lagarkova M.A., Kiselev S.L., Grivennikov I.A., **Lebedeva O.S.**, Klyushnikov S.A., Chestkov I.V., Fedotova E.Yu., Zakharova M.N., Illarioshkin S.N. A platform for studies of Huntington's disease and other neurodegenerative disorders on the basis of induced pluripotent stem cells. // J. Huntington's Dis. 2013; 2 (abstracts of WCHD 2013): p. 16-17.
4. **Лебедева О.С., Новосадова Е.В., Мануилова Е.С., Арсеньева Е.Л., Киселев С.Л., Лагарькова М.А., Хаспеков Л.Г., Иллариошкин С.Н., Гривенников И.А.** Получение и характеристика клеточной модели болезни Паркинсона на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. // Сборник «Стволовые клетки и регенеративная медицина» / под ред. В.А. Тачука. – Москва. - МАКС Пресс. - 2014.
5. Holmqvist S., Lehtonen S., Chumarina M., Puttonen K.A., Azevedo C., **Lebedeva O.**, Ruponen M., Oksanen M., Djelloul M., Collin A., Goldwurm S., Meyer M., Lagarkova M., Kiselev S., Koistinaho J., Roybon L. Creation of a library of induced pluripotent stem cells from Parkinsonian patients. // npj Parkinson's disease. – 2016. – V. 2. – online.

#### **Тезисы докладов и материалы конференций:**

1. **Лебедева О.С., Честков И.В., Некрасов Е.Д., Сюсина М.А., Васина Е.М., Иллариошкин С.Н., Киселев С.Л., Лагарькова М.А., Гривенников И.А.** Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от пациентов с нейродегенеративными заболеваниями (болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона). //

VIII Международная конференция “Молекулярная генетика соматических клеток” - Звенигород, Россия; 2011, С. 54.

2. **Lebedeva O. S.**, Lagarkova M.A., Kiselev S.L., Nekrasov E.D., Susina M.A., Chestkov I.V., Vassina E.M., Illarioshkin S.N., Grivennikov I.A. Establishment of iPSC lines from Parkinson’s diseased patients for molecular mechanisms study. // ISSCR 10<sup>th</sup> Annual meeting, Yokohama, Japan; 2012 V. 1, p. 22.
3. Nekrasov E.D., **Lebedeva O.S.**, Chestkov I.V., Susina M.A., Grivennikov I.A., Illarioshkin S.N., Kiselev S.L., Lagarkova M.A. Induced pluripotent stem cells based model system for studying Huntington’s disease. // ISSCR 10th Annual Meeting, Yokohama, Japan; 2012.
4. 6-я Международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам». Россия, Московская область, п. Клязьма, 09-13 ноября 2015 г. И.А. Гривенников, Е.В. Новосадова, Е.С. Мануилова, Е.Л. Арсеньева, В.В. Симонова, С.Н. Иллариошкин, О.С. Лебедева, М.А. Лагарькова, В.З. Тарантул. «Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки: новая веха в развитии нейрофармакологии и нейробиологии».
6. Гривенников И.А., Иллариошкин С.Н., Некрасов Е.Д., **Лебедева О.С.**, Лагарькова М.А. Перспективы и проблемы применения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в неврологии. // Тезисы доклада на III конференции «Биология стволовых клеток: фундаментальные аспекты» - Москва, Россия; 2011, с. 36-37.
7. Гривенников И.А., Антонов С.А., Арсеньева Е.Л., Долотов О.В., Иноземцева Л.С., Кобылянский А.Г., Лагарькова М.А., **Лебедева О.С.**, Мануилова Е.С., Новосадова Е.В. Клеточные технологии для поиска и изучения механизмов действия новых лекарственных препаратов. // Тезисы доклада на V Российском симпозиуме «Белки и пептиды» - Петрозаводск, Россия; 2011, с. 97.
8. **Lebedeva O. S.**, Vassina E.M., Nekrasov E.D., Bogomazova A.N., Chestkov I.V., Illarioshkin S.N., Kiselev S.L., Grivennikov I.A., Lagarkova M.A. Development of Parkinson’s disease cell model based on diseased iPS cells – derived mature neurons. // Stem cell models of Neuronal regeneration and disease – Dresden, Germany, 2016. – P.75.
9. Lehtonen S., Puttonen K., Koskivi M., Kocianova R., **Lebedeva O. S.**, Oksanen M., Gao Y., Maderycova Z., Lagarkova M.A., Kiselev S.L., Koistinaho J. Characterization of LRRK2 mutant iPS-derived dopaminergic neurons and astrocytes. // Stem cell models of Neuronal regeneration and disease – Dresden, Germany, 2016. – P.71.

#### **Патент:**

Патент №2458983. Приоритет от 18.07.2011. Зарегистрирован 20.08.2012. «Способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из фибробластов пациентов с болезнью Хантингтона» / Гривенников И.А., **Лебедева О.С.**, Новосадова Е.В., Киселев С.Л., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н., Ключников С.А.



**На основании вышеизложенного Ученый совет ИМГ РАН постановил:**

Диссертация Лебедевой Ольги Сергеевны на тему: «Создание модельной системы для изучения функции генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, с использованием технологии генетического репрограммирования» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 «Генетика».

Заключение принято на заседании Ученого совета ИМГ РАН 2.06.2016 (протокол № 8).

Присутствовало на заседании 14 человек из 20 входящих в Ученый совет.

Результаты голосования: «за» – 14 человек, «против» – 0, «воздержавшихся» – 0, протокол № 8 заседания Ученого совета ИМГ РАН от 2.06.2016 г.

Ученый секретарь ИМГ РАН,  
кандидат биологических наук



Л.Е. Андреева