

**Оценка влияния мутации с.7416\_7418delGAA в гене филамина С (FLNC), ассоциированной с развитием рестриктивной кардиомиопатии, на протеостаз кардиомиоцитов.**

**Научный руководитель – Голиусова Дарья Владимировна**

**Шарикова Маргарита Юрьевна**

*Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

*E-mail: margo.sharikova@vk.com*

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) часто связана с мутациями в гене филамина С (*FLNC*). Мутации по типу *pop-LOF* в гене *FLNC*, возможно, вызывают агрегацию дефектного филамина С и перегрузку системы поддержания протеостаза [2]. Удобной моделью РКМП *in vitro* являются пациент-специфичные кардиомиоциты, дифференцированные из ИПСК (ИПСК-КМ). Для более достоверного воспроизведения фенотипа патологии в клеточной модели применяется созревание культур кардиомиоцитов [1]. В нашей работе были использованы и дифференцированы в кардиомиоциты ИПСК пациента с гетерозиготной мутацией с.7416\_7418delGAA в *FLNC* и ИПСК здорового донора. Целью исследования была оценка влияния мутации с.7416\_7418delGAA в гене *FLNC* на протеостаз ИПСК-КМ после ингибирования протеасом относительно условий без воздействия в пациент-специфичной клеточной модели РКМП.

Анализ экспрессии фетальной и взрослой изоформ тропонина И в полученных кардиомиоцитах показал, что культуры содержали преимущественно фетальные (ssTnI+) и в меньшем количестве зрелые (сTnI+) кардиомиоциты. Мы детектировали ожидаемое повышение экспрессии *BAG3*, опосредующего деградацию дефектного филамина С, в условиях ингибирования протеасом во всех кардиомиоцитах вне зависимости от присутствия исследуемой мутации. Мы неожиданно обнаружили повышение экспрессии *FLNC* в здоровых кардиомиоцитах после ингибирования протеасом, чего не наблюдали в кардиомиоцитах пациента. Это может свидетельствовать в пользу вклада исследуемой мутации с.7416\_7418delGAA в *FLNC* в нарушение его компенсаторной экспрессии в кардиомиоцитах при повышении нагрузки на систему аутофагии. По результатам ИЦХ окрашивания мы детектировали *BAG3* и *FLNC* во всех исследуемых культурах и не наблюдали явной агрегации филамина С в кардиомиоцитах пациента по сравнению с контролем. Ввиду трудностей окрашивания саркомерных антигенов в ИПСК-КМ сравнительная оценка экспрессии *BAG3* и *FLNC* на уровне белка затруднительна, поэтому в дальнейшем мы планируем провести полуколичественный анализ содержания *BAG3* и *FLNC* в исследуемых культурах методом вестерн-блоттинга.

Таким образом, использованный нами протокол дифференцировки позволил получить клеточную модель *FLNC*-РКМП, содержащую как фетальные, так и зрелые кардиомиоциты. Мутация с.7416\_7418delGAA в гене *FLNC*, вероятно, приводит к нарушению компенсаторной экспрессии *FLNC* в кардиомиоцитах при увеличении нагрузки на систему аутофагии.

**Источники и литература**

- 1) Feyen, D. A. M., McKeithan, W. L., Bruyneel, A. A. N., Spiering, S., Hörmann, L., Ulmer, B., Zhang, H., Briganti, F., Schweizer, M., Hegyi, B., Liao, Z., Pölönen, R. P., Ginsburg,

- K.S., Lam, C. K., Serrano, R., Wahlquist, C., Kreymerman, A., Vu, M., Amatya, P. L., Behrens, C. S., , M. (2020) Metabolic maturation media improve physiological function of human iPSC-derived cardiomyocytes, *Cell Rep.*, 32(3), 107925.
- 2) Song, S., Shi, A., Lian, H., Hu, S., and Nie, Y. (2022) Filamin C in cardiomyopathy: from physiological roles to DNA variants, *Heart Fail. Rev.*, 27(4), 1373–1385.