

## ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

Я, Малашичева Анна Борисовна, являюсь научным руководителем Ксении Игоревны Перепелиной. Подготовившей к защите диссертацию Влияние тканеспецифичных мутаций в гене *LMNA* на процесс дифференцировки клеток по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология. Ксения Игоревна выполняла под моим руководством также магистерскую квалификационную работу в лаборатории Молекулярной кардиологии Национального медицинского исследовательского центра им. Алмазова, и в Институте Цитологии РАН в лаборатории Регенеративной биомедицины.

За годы обучения и работы под моим руководством Ксения овладела широким спектром современных молекулярно-биологических методов – культивирование разнообразных типов клеток, работа с белками, РНК и ДНК, молекулярное клонирование, визуализация данных, работа с базами данных и биометрическими программами, различные методики анализа клеток, включая иммуноцитохимические и методы проточной цитометрии. Ксения в совершенстве освоила трудоёмкую методику получения индуцированных плюрипотентных клеток человека, и дифференцировки этих клеток в кардиогенном направлении. В настоящее время Ксения является ведущим специалистом по культивированию индуцированных плюрипотентных клеток человека.

Ксения – очень стабильный сотрудник, который не боится рутинной работы и трудностей, связанных с научным поиском. За 10 лет работы в лаборатории Ксения выросла в надёжного научного сотрудника и методически, и интеллектуально. Ксения неоднократно выступала на конференциях НМИЦ им. Алмазова, а также на других научных мероприятиях, ее работа в 2017 году была отобрана для устного доклада на одной самом авторитетном мероприятии Европейского общества кардиологов – ежегодном конгрессе кардиологов. Ксения входила в число основных исполнителей в грантах РФФИ, РФФИ, а также являлась основным исполнителем гранта, полученного от СПбГУ в рамках мероприятия 1 (ID PURE № 11934817, «Исследование эффекта мутаций в гене *LMNA* на электрофизиологические свойства кардиомиоцитов»).

Считаю, что всё вышесказанное свидетельствует о том, что Ксения Игоревна Перепелина – достойный сотрудник. Ксения успешно работает в области молекулярной и клеточной биологии и завершила свой диссертационный проект «Влияние тканеспецифичных мутаций в гене *LMNA* на процесс дифференцировки клеток» по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Целью исследования было изучение влияния мутаций в гене *LMNA* на процессы дифференцировки клеток. Ламины А типа являются основными структурными белками ядерной оболочки клетки и относятся к классу промежуточных филаментов V типа. Ламиновые филаменты представляют собой упорядоченную структуру, ядерную ламину, которая обеспечивает прочность ядерной мембраны клетки. Первоначально считалось, что ядерные ламины А-типа выполняют исключительно структурную роль, обеспечивая сохранение формы и жесткости ядра. Однако, в настоящее время ламины А-типа известны как важные регуляторы экспрессии генов и ключевые медиаторы детерминации судьбы клеток. Доказано участие ламины А/С в организации хроматина, репликации ДНК, регуляции транскрипции генов, дифференцировке клеток и др. Ламины А-типа выполняют большинство этих функций благодаря взаимодействию с белками внутренней ядерной мембраны, факторами транскрипции и ДНК. Считается, что ламины А-типа регулируют активность важных сигнальных путей в клетках (таких как Rb / E2F, Wnt /  $\beta$ -катенин, TGF $\beta$ , Notch) посредством их прямого или косвенного взаимодействия с другими белками.

В то же время существует группа заболеваний, объединенных общим названием «ламинопатии». Ламинопатии представляют собой широкую группу заболеваний, ассоциированных с мутациями в гене ламины А/С (*LMNA*). Клинические фенотипы ламинопатий крайне разнообразны и включают кардиомиопатии, миопатии и миодистрофии, нарушения ритма, поражение центральной и периферической нервной системы, а также прогериию. Механизмы, посредством которых ядерные ламины вызывают развитие столь различных, на первый взгляд, заболеваний с поражением разных систем и органов, остаются нераскрытыми. Понимание механизмов функционирования ламинов, а также их роли при развитии патологий при мутации в гене *LMNA* представляется крайне актуальным в связи со стремительным ростом описаний новых форм ламино-ассоциированных заболеваний.

Молекулярные механизмы, посредством которых мутации *LMNA* нарушают процессы дифференцировки стволовых клеток, к настоящему моменту подробно не описаны. Известно, что ламины могут взаимодействовать с компонентами различных сигнальных путей в клетке. Одним из основных сигнальных путей, отвечающих за межклеточную сигнализацию и дифференцировку клеток, является сигнальный путь Notch. Роль самого сигнального пути Notch в процессе дифференцировки разных типов клеток остаётся недостаточно изученной, что является отдельной, также актуальной темой для исследований.

В последнее время исследования в основном сосредоточены на изучении молекулярных механизмов развития ламинопатий. Предлагаемые механизмы развития патологии включают нарушение организации хроматина, внутриклеточной передачи сигнала, а также эпигенетические изменения. Вероятно, все эти изменения приводят к нарушению регуляции генов, ответственных за дифференцировку клеток. Участки взаимодействия ламин-хроматин (ламин-ассоциированные домены - LADs), как известно, участвуют в регуляции экспрессии генов. LADs содержат множество генов, связанных с дифференцировкой, которые находятся в активном или неактивном состоянии в зависимости от их ассоциации с хроматином. Активная экспрессия генов связана с высвобождением LAD от ядерной ламины. Напротив, инактивация экспрессии является результатом прикрепления LAD к ламине.

Трудности в изучении роли ламин A/C в дифференцировке клеток связаны, в частности, с отсутствием единой экспериментальной модели. На сегодняшний момент актуальным является использование прогениторных клеток различного происхождения для воссоздания модели ламинопатий. Так, в нашем исследовании мы используем спектр различных клеток, способных дифференцироваться в миогенном, адипогенном, остеогенном направлениях. Для изучения эффекта мутаций *LMNA* на дифференцировку клеток мы применяем методику введения мутантного гена *LMNA* на ленивиральном носителе. Модификация генома клеток с помощью введения экзогенных форм ламин A/C с мутацией, позволяет изучать те изменения в клетках, которые возникают вследствие мутаций, что в конечном счете приводит к развитию ламинопатий. В настоящее время особенно актуальным является изучение механизмов развития ламинопатий с использованием модели индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), полученных от пациентов, несущих мутации в гене *LMNA*. Дифференцировка ИПСК, в частности в кардиомиоцитарном направлении, позволяет воссоздать картину заболевания на клетках, которые несут генотип пациента.

Таким образом раскрытие механизмов влияния ядерных ламин A-типа на дифференцировку клеток является актуальным направлением как с точки зрения фундаментальной биологии, так и с точки зрения практического применения. Применение нескольких клеточных моделей, используемых для воссоздания картины заболевания, вызванных мутациями в гене *LMNA*, позволит ближе приблизиться к механизму развития тканеспецифичных нарушений. Также актуальность исследований в данной области продиктована потенциальной возможностью разработки

терапевтических подходов на основе выяснения основных механизмов патогенеза ламинопатий.

Полученные Ксенией данные вносят существенный вклад в фундаментальные представления о роли белков ламинов А-типа в процесс дифференцировки клеток, а также о молекулярных механизмах, лежащих в основе развития ламинопатий. Результаты исследования демонстрируют индивидуальный клеточный ответ при действии разных мутаций в гене *LMNA* на дифференцировку различных клеток мезенхимного происхождения, тем самым подтверждая тканеспецифичный характер развития ламинопатий. Предлагаемое исследование представляет несомненный интерес и важность для Российской науки и медицины.

По материалам диссертации опубликовано 10 работ: 6 научных статей в журналах, индексируемых системами WoS и/или Scopus, и 4 тезиса в материалах международных и всероссийских конференций.

Основные положения и научные итоги диссертации были изложены в докладах на научных конференциях: European Society of Cardiology (ESC) Congress 2017 (Барселона, Испания. 26-30 Августа 2017); III Национальный конгрессе по регенеративной Медицине (Москва, Россия, 15–18 ноября 2017); 5th Frontiers in CardioVascular Biology 2018 (Вена, Австрия., 20-22 апреля 2018); XXVI Wilhelm Bernhard Workshop on the Cell Nucleus 2019 (Дижон, Франция, 20-23 Мая 2019); The Notch Meeting XI (Афины, Греция, 6–10 Октября 2019); I Всероссийский конгресс с международным участием «Физиология и тканевая инженерия сердца и сосудов: от клеточной биологии до протезирования» (Кемерово, Россия. 3-7 ноября 2019).

Считаю, что Ксения Игоревна Перепелина достойна быть кандидатом биологических наук.

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

15.08.2022

Подпись руки Малашичева А.Б.  
Заверяю Зав. канцелярией

