

в процесс дифференцировки и отвечают за экспрессию генов, специфичных для миотуб (Bentzinger et al., 2012). Соответственно, *MyoG* начинает экспрессироваться уже в ходе дальнейшей дифференцировки клеток после активации *MyoD*. Именно такую картину мы и наблюдаем в наших культурах: значительное увеличение уровня экспрессии *MyoG* наблюдается на вторые сутки культивирования накануне появления первых миотуб. Известно, что *MyoG* принимает участие в регуляции экспрессии *Mymk*, отвечающего за процесс слияния миоцитов, и их экспрессия происходит синхронно (Millay et al., 2013; Chen et al., 2020).

Как показали наши исследования, активация *Mymk* так же, как и *MyoG* отмечается на вторые сутки (рис. 3б). Однако если для *MyoG* мы видим пик уровня экспрессии, а затем снижение, то для *Mymk* наблюдается постепенное увеличение уровня экспрессии, коррелирующее с увеличением числа миотуб в культуре. Следует отметить, что участие *Mymk* в процессе дифференцировки было обнаружено относительно недавно (Millay et al., 2013), поэтому в литературе сложно найти данные по особенностям профиля его экспрессии в различных культурах. Тем не менее есть данные, что, с одной стороны, в культуре C2C12 экспрессия *Mymk* имеет выраженный пик на третьи сутки, и ее уровень выше по сравнению с уровнем экспрессии *MyoD* и *MyoG* (Millay et al., 2013). С другой стороны, на культуре миобластов цыпленка показано постепенное увеличение уровня экспрессии *Mymk* (Luo et al., 2015), сходное с профилем экспрессии, обнаруженным нами. В работе Комаровой с соавторами (Комарова et al., 2022) на миоблестах крыс, полученных из взрослых животных, уровень экспрессии *Mymk* через 1 сут после высаживания культуры тоже находится

на относительно низком уровне. Можно предположить, что обнаруженные отличия обусловлены особенностями роста первичной и иммортализованной культур.

В последнее время интерес исследователей вызывает влияние нейротрансмиттеров на процесс формирования мышечной ткани. Так, показано (Uehara, Hokazono, 2022), что внесение ГАМК в среду культивирования линии C2C12 в концентрации 1 или 10 мМоль вызывает увеличение уровня экспрессии *MyoD* и усиливает пролиферацию. В настоящей работе нами впервые показано влияние ГАМК на уровень экспрессии *Mymk*. При этом ГАМК в концентрации 10 мМоль не оказывала статистически значимого влияния на уровень экспрессии *Mymk*. При этом обнаруженная нами стимуляция экспрессии *Mymk* наномолярными концентрациями ГАМК не приводит к активации процесса слияния. Процесс формирования миотуб включает в себя большое число событий, таких как миграция миобластов, распознавание и адгезия, реорганизация актинового цитоскелета (Abmayr, Pavlath, 2012; Sampath, Millay, 2018; Koubek, Santy, 2022). В реализацию этих событий вовлечено большое количество разнообразных сигнальных и регуляторных молекул. Например, важными являются такие белки как м-кадгерин и NCAM (Шевелева и др., 2012). Следовательно, можно предположить, что добавление ГАМК в среду культивирования не приводит к активации достаточного количества факторов, запускающих процесс слияния, а ГАМК-индуцированное увеличение экспрессии только *Mymk* не является достаточным условием для формирования миотуб. В связи с этим представляет интерес проведение дальнейших исследований влияния ГАМК на экспрессию генов, принимающих участие в миогенезе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балан О. В., Озернюк Н. Д. 2011. Экспрессия генов *MyoD* и м-кадгерина в культурах миогенных клеток-предшественников, выделенных из мышц крыс на разных стадиях онтогенеза. Известия Российской академии наук. Серия биологическая. Т. 2. С. 145 (Balan O. V., Ozernuk N. D. 2011. Expression of the gene *MyoD* and m-cadherin in the myogenic precursor cell culture isolated from muscles of rats at different stages of ontogenesis. Biology Bulletin. V. 38. № 2. P. 109). <https://doi.org/10.1007/s10525-008-2005-9>
2. Козырева А. А., Злотина А. М., Головкин А. С., Калинина О. В., Костарева А. А. 2021. Конструирование праймеров для ПЦР в программе Primer-BLAST. Трансляционная медицина. Т. 8. № 3. С. 37 (Kozyreva A. A., Zlotina A. M., Golovkin A. S., Kalinina O. V., Kostareva A. A. 2021. Primer designing in Primer-Blast. Translational Med. V. 8. No. 3. P. 37). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2021-8-3-37-52>
3. Лопатина Е. В., Гавриченко А. В., Пасатецкая Н. А. 2023. Участие ацетилхолина и Na^+ , K^+ -АТФазы в регуляции роста скелетных мышц куриного эмбриона. Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. Т. 109. № 2. С. 229 (Lopatina E. V., Gavrichenko A. V., Pasatetskaya N. A. The involvement of acetylcholine and Na^+ , K^+ -ATPase in the regulation of skeletal muscle growth. 2023. Rus. J. Physiol. V. 109. No. 2. P. 229). <https://doi.org/10.31857/S0869813923020073>
4. Суслов М. А., Сибгатуллина Г. В., Самигуллин Д. В. 2022. Простой регулятор подачи CO_2 для лабораторного инкубатора клеток из доступных компонентов. Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. Т. 108. № 12. С. 1725 (Suslov M. A., Sibgatullina G. V., Samigullin D. V. 2022. Simple CO_2 regulator for laboratory cell incubator from available components. Russ. J. Physiol. V. 108. No. 12. P. 1725). <https://doi.org/10.31857/S0869813922120135>

5. Токмакова А. Р., Сибгатуллина Г. В., Гилизждинова К. Р., Маломуж А. И. 2023. Исследование механизма угнетающего действия гамма-аминомасляной кислоты на процесс образования миотрубок в культуре. Биологические мембраны. Т. 40. № 5. С. 388 (Tokmakova A. R., Sibgatullina G. V., Gilizhdinova K. R., Malomouzh A. I. 2023. The Study of the mechanism of gamma-aminobutyric acid inhibitory effect on the myotube formation process in cell culture. Membrane Cell Biol. V. 40. No. 5. P. 388).
<https://doi.org/10.31857/S0233475523050134>
6. Шевелева О. Н., Паюшина О. В., Старостин В. И. 2012. Клеточные и молекулярные основы гистогенеза скелетных мышц. Известия РАН. Серия биологическая. № 6. С. 579 (Sheveleva O. N., Payushina O. V., Starostin V. I. 2012. Cellular and molecular basis of skeletal muscle hystogenesis. Biology Bull. V. 39. No. 6. P. 495).
7. Abmayr S. M., Pavlath G. K. 2012. Myoblast fusion: lessons from flies and mice. Development. V. 139. P. 641.
<https://doi.org/10.1242/dev.068353>
8. Awad K., Ahuja N., Fiedler M., Peper S., Wang Z., Aswath P., Brotto M., Varanasi V. 2021. Ionic silicon protects oxidative damage and promotes skeletal muscle cell regeneration. Int. J. Mol. Sci. V. 22. P. 497.
<https://doi.org/10.3390/ijms22020497>
9. Bentzinger C. F., Wang Y. X., Rudnicki M. A. 2012. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. V. 4. No. 2. Art. ID: a008342.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008342>
10. Chen B., You W., Wang Y., Shan T. 2020. The regulatory role of myomaker and myomixer–myomerger–minion in muscle development and regeneration. Cell. Mol. Life Sci. V. 77. P. 1551.
<https://doi.org/10.1007/s00018-019-03341-9>
11. Der Vartanian A., Quélin M., Michineau S., Auradé F., Hayashi S., Dubois C., Rocancourt D., Drayton-Libotte B., Szegedi A., Buckingham M., Conway S. J. 2019. PAX3 confers functional heterogeneity in skeletal muscle stem cell responses to environmental stress. Cell Stem Cell. V. 24. P. 958.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.03.019>
12. Ferri P., Barbieri E., Burattini S., Guescini M., D'Emilio A., Biagiotti L., Del Grande P., De Luca A., Stocchi V., Falcieri E. 2009. Expression and subcellular localization of myogenic regulatory factors during the differentiation of skeletal muscle C2C12 myoblasts. J. Cell. Biochem. V. 108. P. 1302.
<https://doi.org/10.1002/jcb.22360>
13. Furukawa T., Tanimoto K., Fukazawa T., Imura T., Kawahara Y., Yuge L. 2018. Simulated microgravity attenuates myogenic differentiation via epigenetic regulations. NPJ Microgravity. V. 4. P. 11.
<https://doi.org/10.1038/s41526-018-0045-0>
14. Gamage D. G., Leikina E., Quinn M. E., Ratinov A., Chernomordik L. V., Millay D. P. 2017. Insights into the localization and function of myomaker during myoblast fusion. J. Biol. Chem. V. 292. P. 17272.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M117.811372>
15. Hyatt J. P., McCall G. E., Kander E. M., Zhong H., Roy R. R., Huey K. A. 2008. PAX3/7 expression coincides with MyoD during chronic skeletal muscle overload. Muscle Nerve. V. 38. P. 861.
<https://doi.org/10.1002/mus.21006>
16. Koubek E. J., Santy L. C. 2022. Actin Up: an overview of the Rac GEF Dock1/Dock180 and its role in cytoskeleton rearrangement. Cells. V. 11. № 11. P. 3565.
<https://doi.org/10.3390/cells11223565>
17. Komarova M. Y., Rozhkov S. V., Ivanova O. A., Turtikova O. V., Mirzoev T. M., Dmitrieva R. I., Shenkman B. S., Vilchinskaya N. A. 2022. Cultured myoblasts derived from rat soleus muscle show altered regulation of proliferation and myogenesis during the course of mechanical unloading. Int J. Mol. Sci. V. 23. Art. ID: 9150.
<https://doi.org/10.3390/ijms23169150>
18. Lawson M. A., Purslow P. P. 2000. Differentiation of myoblasts in serum-free media: effects of modified media are cell line-specific. Cells Tissues Organs. V. 167. № 2-3. P. 130.
<https://doi.org/10.1159/000016776>
19. Lee I. J., Lee C. W., Lee J. H. 2015. CaMKK β -AMPK α 2 signaling contributes to mitotic Golgi fragmentation and the G₂/M transition in mammalian cells. Cell Cycle. V. 16. P. 598.
<https://doi.org/10.4161/15384101.2014.991557>
20. Liu Y., Chen S., Li W., Du H., Zhu W. 2012. Isolation and characterization of primary skeletal muscle satellite cells from rats. Toxicol. Mech. Methods. V. 22. P. 721.
<https://doi.org/10.3109/15376516.2012.720302>

21. Luo W., Li E., Nie Q., Zhang X. 2015. Myomaker, regulated by MYOD, MYOG and miR-140-3p, promotes chicken myoblast fusion. *Int. J. Mol. Sci.* V. 2. P. 26186.
<https://doi.org/10.3390/ijms161125946>
22. Mastroiannopoulos N. P., Nicolaou P., Anayasa M., Uney J. B., Phylactou L. A. 2012. Down-regulation of myogenin can reverse terminal muscle cell differentiation. *PloS ONE*. V. 7. № 1. Art. ID: e29896.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029896>
23. Millay D. P., O'Rourke J. R., Sutherland L. B., Bezprozvannaya S., Shelton J. M., Bassel-Duby R., Olson E. N. 2013. Myomaker is a membrane activator of myoblast fusion and muscle formation. *Nature*. V. 499. P. 301.
<https://doi.org/10.1038/nature12343>
24. Ribas F., Villarroya J., Hondares E., Giralte M., Villarroya F. 2014. FGF21 expression and release in muscle cells: involvement of MyoD and regulation by mitochondria-driven signalling. *Biochem. J.* V. 463. P. 191.
<https://doi.org/10.1042/BJ20140403>
25. Sampath S. C., Sampath S. C., Millay D. P. 2018. Myoblast fusion confusion: the resolution begins. *Skeletal Muscle*. V. 31. P. 3.
<https://doi.org/10.1186/s13395-017-0149-3>
26. Sibgatullina G., Al Ebrahim R., Gilizhdinova K., Tokmakova A. R., Malomouzh A. I. 2024. Differentiation of myoblasts in culture: focus on serum and gamma-aminobutyric acid. *Cells Tissues Organs*. V. 213. P. 203.
<https://doi.org/10.1159/000529839>
27. Tian Z. L., Wang R. L., Yang Q. F., Qin Z. Q., Dong H. W., Zou D. H., Li Z. D., Wang J. M., Guan D. W., Zhang J. H., Liu N. G. 2023. Detection of multiple biomarkers associated with satellite cell fate in the contused skeletal muscle of rats for wound age estimation. *Int. J. Legal Med.* V. 137. P. 875.
<https://doi.org/10.1007/s00414-023-02971-w>
28. Trajano L. A. S. N., Trajano E. T. L., Thomé A. M. C., Sergio L. P. S., Mencalha A. L., Stumbo A. C., Fonseca A. S. 2017. Pulsed low-level infrared laser alters mRNA levels from muscle repair genes dependent on power output in Wistar rats. *Laser Phys. Letters*. V. 14. P. 105603.
<https://doi.org/10.1088/1612-202X/aa829f>
29. Uehara E., Hokazono H. 2022. GABA (γ -aminobutyric acid) promotes cell proliferation, increases MyoD and PGC-1 α expression, and decreases myostatin expression in C2C12 myoblasts. *Int. J. Food Sci. Nutr.* V. 7. P. 8.
30. Yamanouchi K., Nakamura K., Takeuchi S., Hosoyama T., Matsuwaki T., Nishihara M. 2021. Suppression of MyoD induces spontaneous adipogenesis in skeletal muscle progenitor cell culture. *Animal Sci. J.* V. 92. Art. ID: e13573.
<https://doi.org/10.1111/asj.13573>