

АДАПТАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА В КЛЕТКАХ C2C12 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГОТОВОГО НАБОРА «MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL KIT» (SIGMA-ALDRICH)

Власова Ю. А., Клименко Е. С., Сухарева К. С.,
Гаврилова Л. С., Костарева А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Власова Юлия Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: vlasova_yua@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию 20.12.2023
и принята к печати 15.01.2024.

Резюме

В статье представлены результаты адаптации методики определения изменений митохондриального мембранного потенциала (ММП) в клетках C2C12 с использованием готового набора «Mitochondrial membrane Potential Kit» производства Sigma-Aldrich (каталожный номер MAK159) для исследования на микропланшетном ридере и флуоресцентном микроскопе. Подобраны условия для проведения измерения, необходимые разведения для получения оптимальной концентрации для измерения ММП в клетках мышечных миобластов C2C12. Проведено сравнение правильности выполнения исследования с использованием флуоресцентного красителя TMRE (этилового эфира тетраметилпродамина).

Актуальность. При использовании готового набора «Mitochondrial membrane Potential Kit» (Sigma-Aldrich) мы столкнулись с тем, что в руководстве пользователя производитель не указывает концентрацию JC-10 и дает лишь общие рекомендации по использованию красителя, не учитывающие тип клеток, размер, плотность, разницу во времени инкубации для различных культур клеток.

Цель работы. Адаптировать методику определения ММП (митохондриальный мембранный потенциал) в клетках C2C12 с использованием набора для исследования на микропланшетном ридере и электронном микроскопе.

Материалы и методы. ММП в клетках C2C12 измерялся двумя методами: с помощью флуоресцентной микроскопии (Zeiss, программа Zen) и с использованием планшетного флуориметра (CLARIOstar (BMG LABTECH)). В качестве флуоресцентных зондов использовались красители JC-10, TMRE (Sigma-Aldrich).

Результаты. Были подобраны оптимальные условия для регистрации изменения митохондриального мембранного потенциала в клетках C2C12. Достоверные и воспроизводимые результаты были получены при 100-кратном разведении раствора красителя для загрузки JC-10 (Dye Loading Solution) и замене стандартного буфера производителя на стандартный натрий-фосфатный буфер (pH = 7,4).

Заключение. При использовании готовых наборов для измерения ММП методика, предложенная производителем, может не подходить для выбранной клеточной линии. В нашем случае при исследовании мышечных миобластов линии C2C12 оптимальным оказалось разведение красителя для загрузки в 100 раз по сравнению с рекомендованным производителем.

Ключевые слова: клеточная линия C2C12, митохондриальный мембранный потенциал (MMP), JC-10, TMRE.

Для цитирования: Власова Ю.А., Клименко Е.С., Сухарева К.С. и др. Адаптация методики определения изменения митохондриального мембранного потенциала в клетках C2C12 с использованием готового набора «Mitochondrial membrane Potential Kit» (Sigma-Aldrich). *Трансляционная медицина*. 2024; 11(1): 45-54. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-1-45-54. EDN: AXQBHV

////////////////////////////////////

ADAPTATION OF THE TECHNIQUE OF DETERMINATION OF MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL CHANGE IN C2C12 CELLS USING THE READY SET “MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL KIT” (SIGMA-ALDRICH)

Yulia A. Vlasova, Ekaterina S. Klimenko, Ksenia S. Sukhareva, Lidiya S. Gavrilova, Anna A. Kostareva

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Yulia A. Vlasova,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: vlasova_yua@almazovcentre.ru

Received 20 December 2023; accepted
15 January 2024.

////////////////////////////////////

Abstract

Background. We used the “Mitochondrial Membrane Potential Kit” (Sigma-Aldrich) to detect MMP but encountered difficulties by applying this kit because in manual there not JC-10 concentration and it not allowing for account cell type, size, density, differences in incubation time for different cell cultures. **Objective.** Adaptation of the method for determining MMP (mitochondrial membrane potential) in C2C12 cells using in microplate reader and electron microscope. **Design and methods.** MMP in C2C12 cells was measured by two way, using fluorescence microscopy (Zeiss, Zen program) and using a plate fluorimeter (CLARIOstar (BMG LABTECH)). JC-10 and TMRE dyes (Sigma-Aldrich) were used as fluorescent probes. **Results.** Optimal conditions for detection changes in mitochondrial membrane potential in C2C12 cells were selected. 100- fold dilution of the dye JC-10 (Dye Loading Solution) and replacement of the manufactured buffer to PBS led to repeatability and reproducibility results. **Conclusion.** When using ready-made kits for measuring MMP, the method proposed by the manufacturer may not be suitable for the selected cell line. In our study to mouse myoblasts of the C2C12 line, a dilution of the dye for loading was required 100 times compared to that recommended by the manufacturer.

Key words: cell line C2C12, JC-10, mitochondrial membrane potential (MMP), TMRE.

For citation: Vlasova YuA, Klimenko ES, Sukhareva KS, et al. Adaptation of the technique of determination of mitochondrial membrane potential change in C2C12 cells using the ready set “Mitochondrial membrane Potential Kit” (Sigma-Aldrich). *Translational Medicine*. 2024; 11(1): 45-54. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-1-45-54. EDN: AXQBHV

Измерение митохондриального мембранного потенциала (ММР, $\Delta\psi$) является важным инструментом для мониторинга функционального состояния клеток, так как он напрямую связан со способностью митохондрий генерировать АТФ. Вместе с концентрационной компонентой (ΔpH) $\Delta\psi$ составляет трансмембранный потенциал ионов водорода ($\Delta\mu H^+$), который характеризует энергетическую емкость митохондрий, расходуемую АТР-синтазным комплексом на синтез АТФ [1]. При снижении ММР митохондрии могут убиквитироваться и подвергаться процессу ауто/митофагии. Кроме того, ММР участвует в регуляции уровня активных форм кислорода, как в самой митохондрии, так и в клетке в целом, участвует в транспорте катионов, а также катионных пептидов и белков внутрь митохондрий [1]. Таким образом, ММР может рассматриваться как важный показатель здоровья или повреждения клеток.

Для измерения ММР широко используются различные флуоресцентные красители. Обычно они представляют из себя катионные молекулы, которые накапливаются в матриксе митохондрий, обратно пропорционально ММР. Мы исследовали изменение ММР на клетках линии мышечных миобластов C2C12. Данная линия является классической моделью для изучения процессов функционирования мышечной ткани и моделирования различных патологических состояний, например, миопатий и миодистрофий. Исследование мембранного потенциала митохондрий мышечных клеток важно для понимания механизмов развития нейромышечных заболеваний и других врожденных и приобретенных заболеваний человека, в частности, митохондриальных. Данное исследование также может помочь в разработке новых методов лечения этих патологий, например, путем коррекции нарушений дыхательной цепи или увеличения уровня мембранного потенциала с помощью специальных препаратов.

Для изучения ММР в клетках C2C12 был выбран митохондриальный краситель JC-10, который используется для измерения мембранного потенциала митохондрий *in vivo* и *in vitro*. JC-10 представляет собой флуоресцентный зонд, у которого, в отличие от монохроматических красителей (TMRM, TMRE, Rh123), спектры излучения при его агрегации в митохондриях смещаются от зеленого к красному. Принцип работы JC-10 основан не на эффекте гашения, а на спектральном сдвиге, вызванном агрегацией зонда (флуоресценция в красном свете) в митохондриях при сохранном уровне ММР, а также на формировании пула неагрегированной формы красителя (флуоресценция

в зеленом свете) в митохондриях при деполяризации (рис. 1). При этом нахождение красителя в цитоплазме всегда наблюдается в форме мономеров, давая, соответственно, только зеленую флуоресценцию. Такой принцип работы красителя позволяет проводить двухцветную (зеленый/красный) и логарифмическую полуколичественную оценку степени поляризации митохондриальной мембраны. Однако при использовании JC-10 (как и JC-1) необходимо учитывать, что зонд может быть чувствительным к концентрации и времени загрузки, кроме того, он является светочувствительным. В доступной литературе нам не встретилось данных относительно JC-10, но есть сведения, касающиеся его аналога JC-1, которые свидетельствуют о том, что краситель проникает в митохондрии достаточно медленно. Определенные сложности в интерпретации результатов вызывает и тот факт, что агрегаты, образующиеся внутри митохондрий, не могут быстро уравниваться мономерами [2]. Мономерная (зеленая) форма красителя уравнивается примерно за то же время, что и TMRE (около 15 минут), в то время как для достижения равновесия в кардиомиоцитах агрегатам (красные) необходимо около 90 минут [3].

Предпосылками к проведению данной методической работы являлись наши пилотные исследования с попыткой использовать краситель JC-10 для регистрации ММР в митохондриях клеток мышечных миобластов линии C2C12. Изначально при изучении ММР в данном типе клеток с применением готового набора «Mitochondrial membrane Potential Kit» производства Sigma-Aldrich (каталожный номер MAK159) и рекомендованных производителем концентраций и периодов инкубации мы получили результаты, противоречащие заявленным и ожидаемым. Так, при добавлении FCCP — разобщителя дыхательной цепи — количество митохондриальных агрегатов (флуоресценция в красном цвете) значительно увеличивалось, что должно было бы свидетельствовать об увеличении ММР. Однако FCCP является протонофором, вызывает деполяризацию митохондрий за счет увеличения проницаемости мембраны для протонов, что должно приводить к снижению ММР и, соответственно, преобладанию внутри митохондрий мономерной формы JC-10 с флуоресценцией в зеленом свете. Мы предположили, что данный феномен был связан не с истинным значением ММР, а с тем, что концентрация красителя является слишком высокой, что не позволяет красителю нормально перераспределяться между клеточными компартментами для достижения равновесия. Из-за большой разницы между соотношением площадь/объем

матрикса митохондрии у внутренней мембраны митохондрии по отношению к границе клеточной мембраны с цитоплазмой, краситель мог покидать матрикс митохондрии значительно медленнее, чем покидать цитоплазму (выходить из клетки). Мы предположили, что данный феномен может нарушать внутриклеточное распределение красителя и снижать информативность его использования. Для адаптации данной методики на клетках линии C2C12 нами была проведена серия экспериментов с определением оптимальной концентрации, красителя JC-10 и временных периодов для оценки его флуоресценции в клетках. Целью данной работы было определение необходимого разведения раствора красителя для загрузки JC-10 (Dye Loading Solution, набор «Mitochondrial membrane Potential Kit» производства Sigma-Aldrich (каталожный номер МАК159)) для детекции ММР в клетках мышечных миобластов C2C12 с использованием микропланшетного ридера и электронного микроскопа,

а также сравнение результатов измерения ММР, полученных с использованием JC-10, с результатами измерений, полученных с использованием флуоресцентного красителя TMRE. Мы показали, что рекомендуемые производителем концентрации не являются оптимальными для использования с линией мышечных миобластов C2C12, а также определили наиболее информативные значения концентрации путем титрования имеющегося раствора красителя для загрузки.

Материалы и методы

Культивирование клеток. Клетки линии мышечных миобластов C2C12 были посажены в 96-луночные планшеты, плотность 2000 клеток/луночка. Инкубировались в течение 24 часов в среде ДМЕМ с добавлением 10 % сыворотки плодов коровы, 1 % L-глутамина, 1 % антибиотика (пенициллин/ампициллин) при 37 °С в инкубаторе в атмосфере 5 % CO₂.

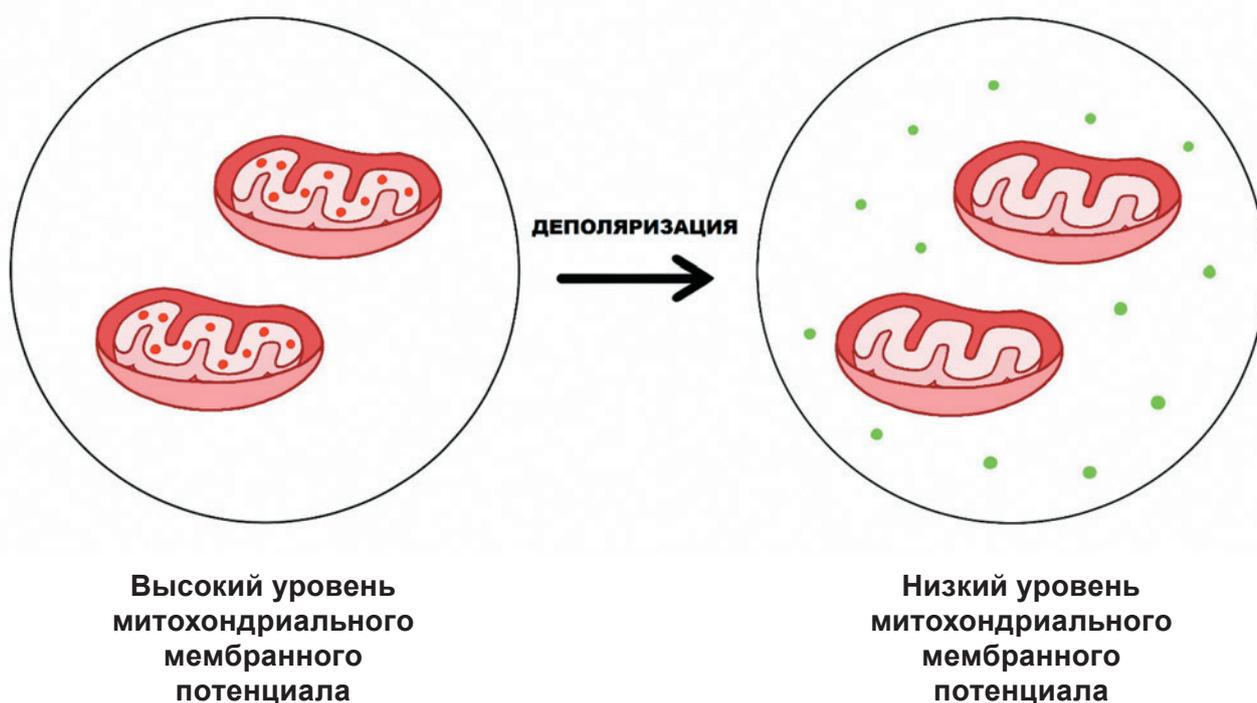


Рис. 1. Распределение красителя JC-10 в митохондриях и цитоплазме, в зависимости от уровня митохондриального мембранного потенциала. Красные агрегаты JC-10 накапливаются в матриксе митохондрий, при падении митохондриального мембранного потенциала краситель выходит из митохондрий и в цитоплазме находится в виде мономеров зеленого цвета.

Figure 1. Distribution of JC-10 dye in mitochondria and cytoplasm, depending on the level of mitochondrial membrane potential. Red aggregates JC-10 accumulate in the mitochondrial matrix, when the mitochondrial membrane potential falls, the dye leaves the mitochondria and in the cytoplasm is in the form of green monomers.

Определение митохондриального мембранного потенциала (ММР)

Краситель TMRE. 1) ММР определялся с использованием красителя TMRE (87917, Sigma-Aldrich) согласно инструкции производителя. Клетки высаживались за 24 часа до начала эксперимента. После дважды промывались фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4), подогретым до 37 °С и инкубировались с 1 мкМ TMRE в течение 45 минут. В качестве контроля в клетки добавлялся 10 мкМ FCCP, инкубация с ним длилась 15 минут. Далее клетки дважды промывались фосфатно-солевым буфером, нагретым до 37 °С. Результаты регистрировались при длине волн 540/590 нм с использованием микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG LABTECH).

2) Клетки высаживались за 24 часа до начала эксперимента. После дважды промывались фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4), подогретым до 37 °С, и инкубировались с 1 мкМ TMRE в течение 45 минут. После этого измерялась флуоресценция на длине волн 540/590 нм с использованием флуоресцентного микроскопа (Zeiss, программа

Zen). После этого добавлялся 10 мкМ FCCP, спустя 15 минут повторно измерялась флуоресценция.

Краситель JC-10. 1) Клетки высаживались за 24 часа до начала эксперимента. После дважды промывались фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4), подогретым до 37 °С, и инкубировались с раствором красителя для загрузки (Dye Loading Solution, набор «Mitochondrial membrane Potential Kit», MAK159, Sigma-Aldrich), приготовленным согласно инструкции производителя и разведенным в 2, 10, 50, 100, 200 раз, в течение 1 часа. В качестве контроля в клетки добавлялся 10 мкМ FCCP, инкубация с ним длилась еще 15 минут. Далее клетки дважды промывались фосфатно-солевым буфером, нагретым до 37 °С. Флуоресценция регистрировалась на длинах волн 490/523 нм и 540/590 нм с использованием микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG LABTECH).

2) Клетки высаживались за 24 часа до начала эксперимента. Затем дважды промывались фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4), подогретым до 37 °С, и инкубировались с раствором краси-

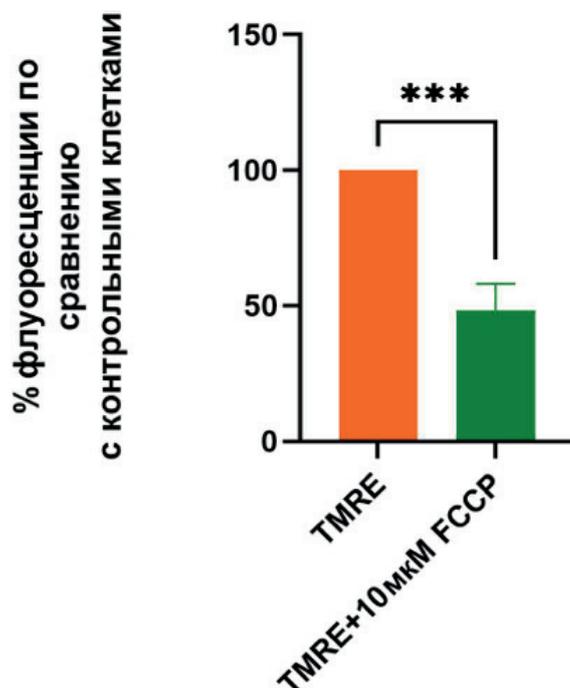


Рис. 2. Инкубация клеток C2C12 с 1 мкМ красителя TMRE. Добавление 10 мкМ FCCP достоверно снижает флуоресценцию. Данные представлены как процент от флуоресценции клеток, не подвергнутых действию FCCP.

***— различия достоверны по t-критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

Figure 2. C2C12 cell incubation with 1 μM of TMRE dye. The addition of 10 μM FCCP reliably reduces fluorescence. The data are presented as a percentage of the fluorescence of cells not affected by FCCP.

***— the differences are valid by the t-criterion of the Student, $p < 0.05$.

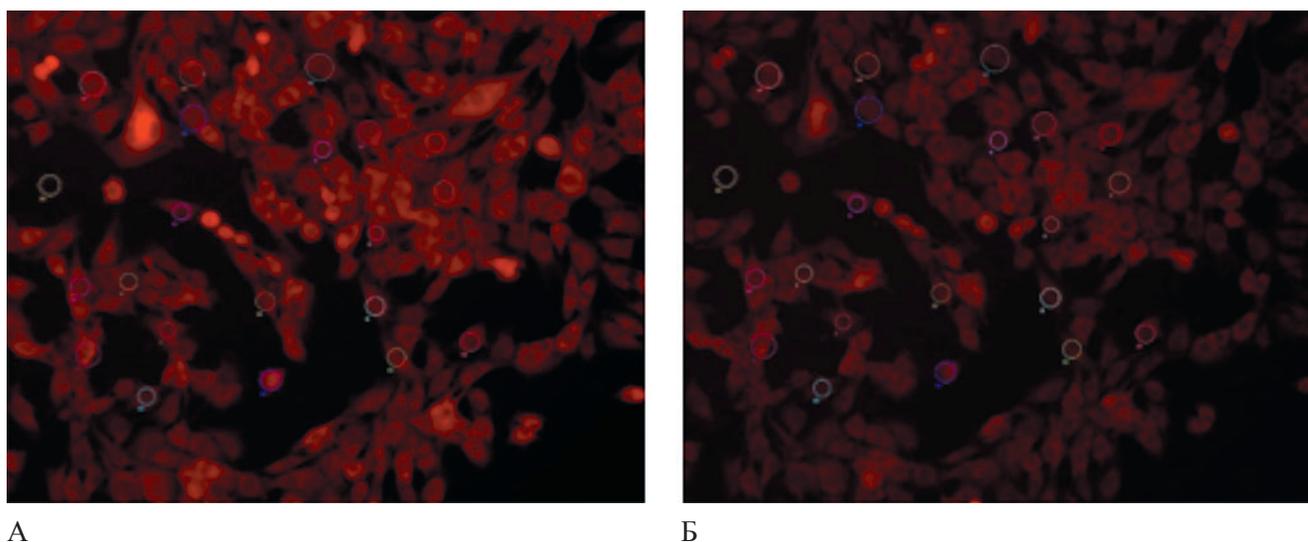


Рис. 3. А — Клетки C2C12 инкубация с 1 мкМ TMRE. Б — После добавления 10 мкМ FCCP наблюдается снижение уровня флуоресценции.

Figure 3. A — C2C12 cells incubate with 1 μM TMRE. B — After adding 10 μM FCCP, fluorescence is reduced.

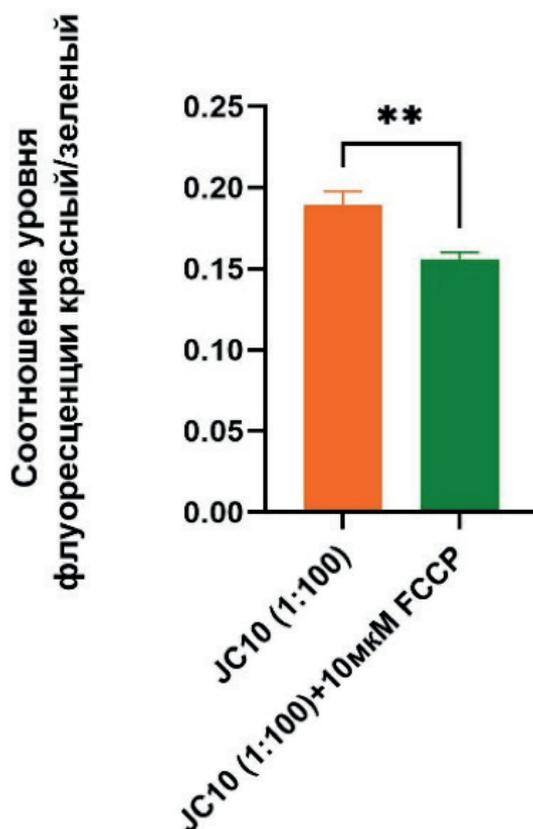


Рис. 4. Разведение в 100 раз раствора красителя JC-10 для загрузки (JC10 (1:100)). При добавлении 10 мкМ FCCP достоверно снижается флуоресценция.

**— различия достоверны по t-критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

Figure 4. Dilution 100 times the JC-10 dye solution for loading (JS10 (1:100)). After adding 10 μM FCCP, fluorescence is authentically reduced.

**— the differences are valid by the t-criterion of the Student, $p < 0.05$.

теля для загрузки (Dye Loading Solution, набор «Mitochondrial membrane Potential Kit», МАК159, Sigma-Aldrich), приготовленным согласно инструкции производителя и разведенным в 2, 10, 50, 100, 200 раз, в течение 1 часа. После этого измерялась флуоресценция на длине волн 490/523 нМ и 540/590 нМ с использованием флуоресцентного микроскопа (Zeiss, программа Zen).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Microsoft Office Excel. Для оценки значимости различия показателей использовался t-критерий Стьюдента. Значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты

Нами было протестировано несколько концентраций раствора для загрузки красителя JC-10 (без разведения, с разведением в 10, 50, 100 и 200 раз).

Для контроля полученных результатов в качестве референтного метода оценки MMP нами был использован монохромный краситель TMRE. На рисунке 2 представлены результаты эксперимента с использованием 1 мкМ TMRE после воздействия FCCP в концентрации 10 мкМ. Данный эксперимент подтвердил информативность и валидность используемой нами методики детекции и клеточной модели для регистрации MMP.

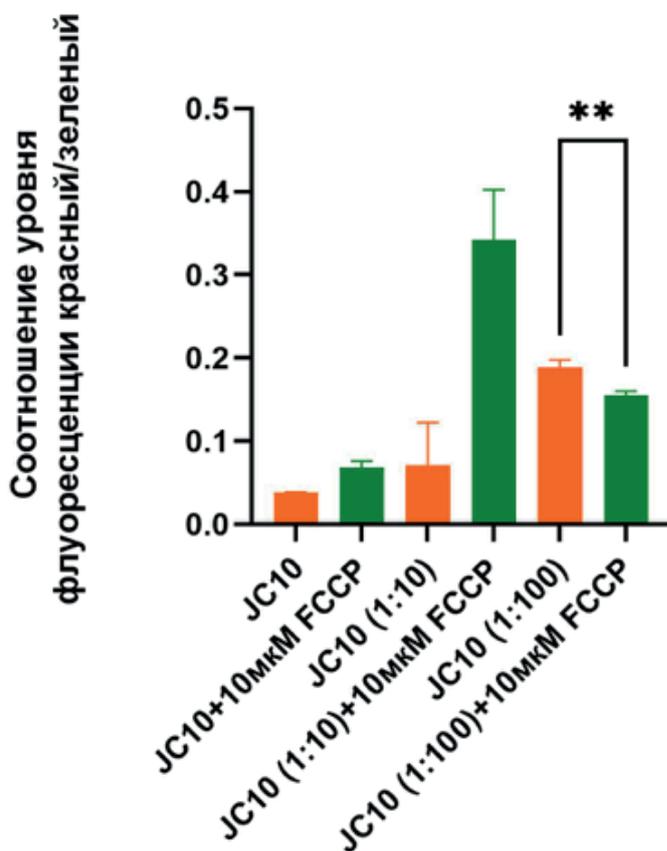


Рис. 5. Раствор красителя JC-10 для загрузки без разведения и с разведением в 10 и 100 раз (JC-10 (1:10) и JC-10 (1:100) соответственно). Данные представлены как соотношение уровня флуоресценции красный (агрегаты)/зеленый (мономеры) при использовании разных разведений JC-10. При добавлении 10 мкМ FCCP флуоресценция достоверно снижается при разведении 1:10, 1:100.

**— различия достоверны по t-критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

Figure 5. Dye solution JC-10 for loading without dilution and diluted 10 and 100 times (JC-10 (1:10) and JC-10 (1:100) respectively). The data are presented as the fluorescence level ratio red (aggregates)/green (monomers) using different dilutions JC-10. When added 10 μM to the FCCP, fluorescence is authentically reduced at 1:10, 1:100.

**— the differences are valid according to the t-criterion of the Student, $p < 0.05$.

При регистрации результатов инкубации клеток с красителем TMRE с использованием флуоресцентного микроскопа Zeiss мы получили следующие результаты: инкубация с монохромным красителем увеличивала флуоресценцию в клетках C2C12 (рис. 3А), добавление FCCP приводило к снижению интенсивности флуоресценции, что соответствует падению ММП (рис. 3Б).

После серии экспериментов нами было показано, что оптимальным является разведение раствора в 100 раз по сравнению с рекомендованным в соответствии с инструкцией производителя (рис. 4). В этом случае нами наблюдалось снижение интенсивности флуоресценции агрегатов красителя красного цвета, образовавшихся в матриксе митохондрий, что означает деполяризацию митохондрий и снижение митохондриального мембранного потенциала. Для сравнения на рисунке 5 представлены результаты экспериментов, в которых использовался раствор красителя для загрузки без разведения и с разведением в 10 и 100 раз.

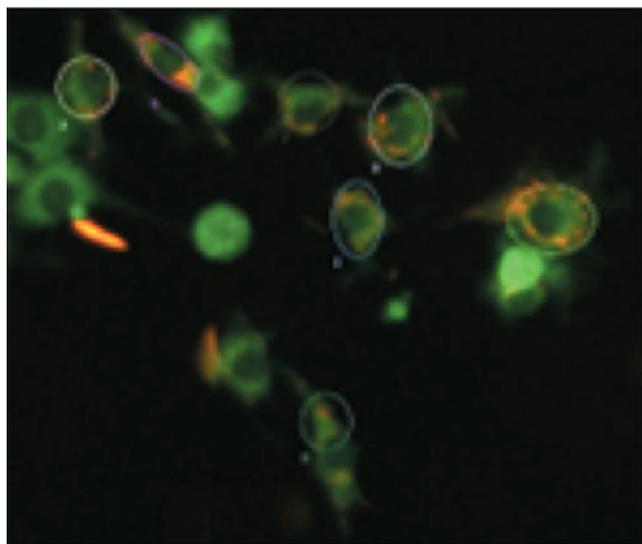
Также мы изучали влияние разных концентраций раствора красителя JC-10 для загрузки с регистрацией изменения флуоресценции с использованием флуоресцентного микроскопа Zeiss и программного обеспечения для обработки ви-

деосигнала Zen. На рисунке 6А представлены результаты эксперимента с разведением красителя в 100 раз и последующим добавлением 10 мкМ FCCP (рис. 6А).

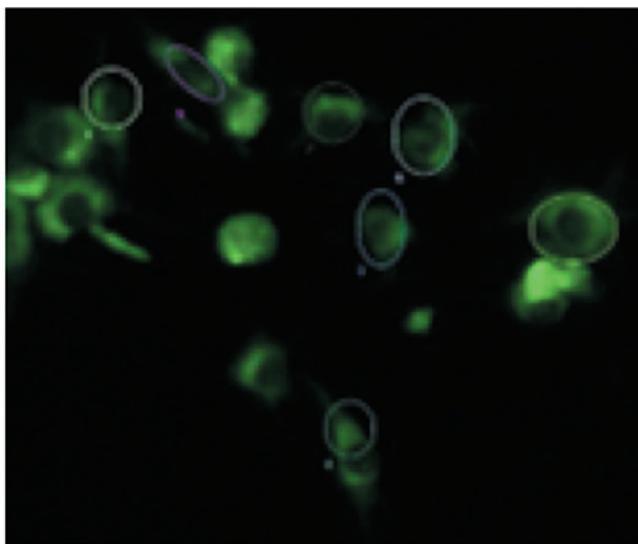
Обсуждение

Для изучения ММП применяются различные методы, в том числе и с использованием флуоресцентных красителей. Среди них наиболее популярными являются метиловый (TMRM) и этиловый (TMRE) эфиры тетраметилродамина, родамин 123 (Rhod123), DiOC6(3) (3,3-дигексилосакарбоцианин йодид) и JC-1 (5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',3,3'-тетраэтилбензимидазолкарбоцианин йодид). Как положительно заряженные молекулы, при условии, что используются соответствующие условия анализа, красители будут накапливаться в митохондриях клеток, что соответствует увеличению уровня флуоресценции красителя. При действии агентов, вызывающих деполяризацию митохондрий, будет снижаться накопление красителя в митохондриях и падать уровень флуоресценции по сравнению с интактными клетками, имеющими поляризованные митохондрии.

У каждого красителя есть определенные достоинства и недостатки. Так, TMRE и TMRM прямо



А



Б

Рис. 6. А — При инкубации клеток C2C12 с 100-кратно разведенным раствором красителя JC-10 для загрузки внутри митохондрий образуются агрегаты красного цвета. **Б** — Добавление 10 мкМ FCCP приводит к деполяризации и дальнейшему выходу красителя из митохондрий, что проявляется как снижение вплоть до полного исчезновения красной флуоресценции.

Figure 6. A — When C2C12 cells are incubated, red aggregates are formed inside the mitochondria with a 100-fold diluted solution of JC-10 dye for loading. **B** — The addition of 10 μ M FCCP results in depolarization and further release of the mitochondrial dye, which manifests as a decrease to the point of total disappearance of red fluorescence.

пропорционально концентрации способны оказывать ингибирующее действие на дыхательную цепь митохондрий, но в их низких концентрациях этим эффектом можно пренебречь. Оба красителя достаточно быстро уравниваются, что делает их достаточно удобными для исследований. При загрузке красителя в инкубационную среду, через какое-то время наблюдается прекращение увеличения флуоресценции. Это состояние рассматривается как достижение равновесия, при котором дальнейшее изменение флуоресценции будет являться следствием и отражать изменение ММР.

Помимо TMRE и TMRM для измерения ММР может быть использован JC-1 или его аналог JC-10. Для данных красителей характерно то, что мономерная (зеленая) форма обычно точно соответствует ММР, в то время как агрегатная (красная) флуоресценция может формироваться и независимо от ММР, например, при действии АФК или неправильно подобранной концентрации красителя. В зависимости от локализованных концентраций красителя в поляризованных митохондриях, можно увидеть как красную, так и зеленые формы красителя, что, с одной стороны, может отражать реальные локальные различия в ММР, а с другой — разные скорости достижения равновесия и, следовательно, разные скорости образования агрегатов. Таким образом, для правильного окрашивания необходимо учитывать несколько важных факторов, которые могут повлиять на загрузку красителя, распределение и достижение равновесия.

Концентрация красителя в митохондриях зависит от: концентрации красителя в среде инкубации, ММР, размера и массы митохондрий, времени загрузки. Если зонд длительное время остается в среде инкубации, то ММР может продолжать увеличиваться со временем, и тогда не будет достигнуто устойчивое равновесие. Это может происходить по нескольким причинам: слишком высокие концентрации красителя, слишком высокая плотность клеток, в результате чего трудно достичь необходимого насыщения зондом. Для устранения этих проблем нужно или снизить концентрацию красителя, как в первом случае, или уменьшить концентрацию клеток. В то же время для некоторых клеточных культур может быть характерна другая ситуация: краситель загружается слишком медленно, не достигая равновесных концентраций. Часто это указывает на наличие переносчиков множественной лекарственной устойчивости, особенно в опухолевых клетках. Используя готовый набор для определения ММР (МАК159, Sigma-Aldrich), мы адаптировали его применение для клеточной линии мышечных миоцитов

C2C12. Количество красителя JC-10 в рекомендуемом производителем растворе для загрузки оказалось высоким для нашего исследования, что не позволяло достичь концентрационного равновесия, необходимого для правильной интерпретации результатов эксперимента, в то время как стократное разведение позволило достичь необходимого эффекта. Достоверность полученных результатов была подтверждена серией экспериментов с красителем TMRE, который, в отличие от JC-10, является мономерным красителем, способным быстро достигнуть равновесной концентрации. В результате нами было показано, что, несмотря на кажущуюся сложность использования JC-10 и влияние многочисленных факторов на достоверность результатов, данный краситель может быть применен и обладает информативностью в клеточной линии C2C12, так как при подобранных концентрациях позволяет получить точные характеристики ММР и отследить его в динамике [4].

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Грант РНФ 20-15-00271П. / RGNF grant 20-15-00271П.

Список литературы / References

1. Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EJ, et al. Functional Significance of the Mitochondrial Membrane Potential. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A.* 2018; (12): 20–26. DOI: 0.1134/S1990747818010129.
2. Perry SW, Norman JP, Barbieri J, et al. Mitochondrial membrane potential probes and the proton gradient: a practical usage guide. *Biotechniques.* 2011;50(2):98–115. DOI: 10.2144/000113610.
3. Mathur A, Hong Y, Kemp BK, et al. Evaluation of fluorescent dyes for the detection of mitochondrial membrane potential changes in cultured cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 2000;46(1):126–38. DOI: 10.1016/S0008-6363(00)00002-X.
4. Buckman JF, Reynolds IJ. Spontaneous changes in mitochondrial membrane potential in cultured neurons. *J Neurosci.* 2001;21(14):5054–65. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-14-05054.2001.

Информация об авторах:

Власова Юлия Александровна, к.б.н., старший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Клименко Екатерина Сергеевна, младший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Сухарева Ксения Сергеевна, PhD, младший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Гаврилова Лидия Сергеевна, магистрант Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, профессор кафедры факультетской терапии с клиникой Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Yulia A. Vlasova, Cand. Sc. (Biology), Senior researcher, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Almazov National Medical Research Centre;

Ekaterina S. Klimenko, Junior Researcher, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Almazov National Medical Research Centre;

Ksenia S. Sukhareva, PhD, Junior Researcher, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Almazov National Medical Research Centre;

Lidiya S. Gavrilova, Master's student at the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre;

Anna A. Kostareva, MD, PhD, Director of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Professor of the Department of Faculty Therapy with the Clinic of the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre.