

## Увеличение открытия митохондриальной поры переходной проницаемости в клетках C2C12 с нокаутом филамина С

Власова Юлия Александровна,<sup>1\*</sup> Фомичева Юлия Васильевна,<sup>1</sup>  
Муравьев Алексей Сергеевич,<sup>1</sup> Чухно Александр Сергеевич,<sup>2+</sup>  
Костарева Анна Александровна<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной молекулярной биологии и генетики НИЛ молекулярной кардиологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. ул. Аккуратова, 2. Главный клинический комплекс, 18 этаж. г. Санкт-Петербург, 197341. Россия.

Тел.: +7 (812) 702-37-77. E-mail: vlasovayu@rambler.ru

<sup>2</sup> Кафедра клинической лабораторной диагностики, биологической и общей химии им. В.В. Соколовского. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова. Пискаревский пр., д.47, нав.26. г. Санкт-Петербург, 195067. Россия.

Тел.: +7 (812) 303-50-00 (8213). E-mail: alex-chuhno@yandex.ru

\*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

**Ключевые слова:** митохондриальная переходная проницаемость, mPTP, филамин С, FLNC, C2C12, кальцеин-АМ, митохондриальная дисфункция, миопатия.

### Аннотация

Митохондриальная пора переходной проницаемости (mPTP) играет ключевую роль в регуляции гибели клеток и энергетического метаболизма. Филамин С (FLNC) – актинсвязывающий белок, экспрессируемый преимущественно в скелетных и сердечных мышцах. Мутации в гене FLNC связаны с различными миопатиями и кардиомиопатиями, включая дистальную миопатию и гипертрофическую кардиомиопатию. Однако роль FLNC в регуляции митохондриальной функции и, в частности, открытия mPTP, остается малоизученной. Настоящая работа направлена на изучение влияния нокаута филамина С на открытие mPTP в миобластах C2C12 с использованием метода кальцеин-АМ с кобальтом. Для количественной оценки открытия mPTP в клетках C2C12 дикого типа и с нокаутом FLNC, полученным методом CRISPR/Cas9, использовали метод кальцеин-АМ с кобальтом. Флуоресценцию измеряли на планшетном ридере при длинах волн возбуждения/эмиссии 485/530 нм. Было показано, что в клетках с нокаутом FLNC наблюдалось значительное увеличение открытия mPTP по сравнению с клетками дикого типа. Изменение флуоресценции ( $\Delta F$ ) составило  $383.7 \pm 56.4$  у.е. в клетках с нокаутом FLNC по сравнению со  $119.3 \pm 27.7$  у.е. в клетках дикого типа, что соответствует трёхкратному увеличению ( $p = 0.0103$ ). Процент открытия mPTP увеличился с  $2.32 \pm 0.54\%$  до  $7.11 \pm 0.97\%$ . Величина эффекта (Cohen's  $d = 5.947$ ) указывает на биологически значимое различие между группами. Таким образом, отсутствие филамина С приводит к увеличению открытия mPTP по сравнению с диким типом, что свидетельствует о важной роли FLNC в поддержании стабильности митохондрий и регулировании проницаемости митохондриальных мембран. Митохондриальная дисфункция может быть ключевым патогенетическим механизмом мышечных заболеваний, связанных с FLNC, что открывает новые терапевтические возможности.

### Выходные данные для цитирования русскоязычной печатной версии статьи:

Власова Ю.А., Фомичева Ю.В., Муравьев А.С., Чухно А.С., Костарева А.А. Увеличение открытия митохондриальной поры переходной проницаемости в клетках C2C12 с нокаутом филамина С. *Бутлеровские сообщения*. 2026. Т.85. №2. С.81-86. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/26-85-2-81

### Выходные данные для цитирования русскоязычной электронной версии статьи:

Власова Ю.А., Фомичева Ю.В., Муравьев А.С., Чухно А.С., Костарева А.А. Увеличение открытия митохондриальной поры переходной проницаемости в клетках C2C12 с нокаутом филамина С. *Бутлеровские сообщения* С. 2026. Т.12. №1. Id.10. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/26-85-2-81/ROI-jbc-RC/26-12-1-10

### The output for citing the English online version of the article:

Yulia A. Vlasova, Yulia V. Fomicheva, Alexey S. Muravyev, Alexandr S. Chukhno, Anna A. Kostareva. Increased opening of the mitochondrial permeability transition pore in filamin c knockout C2C12 cells. *Butlerov Communications* С. 2026. Vol.12. No.1. Id.10. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/26-85-2-81/ROI-jbc-C/26-12-1-10

## Литература

- [1] P. Bernardi, C. Gerle, A.P. Halestrap, E. A. Jonas, J. Karch, N. Mnatsakanyan, E. Pavlov, S.-S. Sheu, A.A. Soukas. Identity, structure, and function of the mitochondrial permeability transition pore: controversies, consensus, recent advances, and future directions. *Cell Death and Differentiation*. **2023**. Vol.30. P.1869-1885. DOI: 10.1038/s41418-023-01187-0
- [2] R. Endlicher, Z. Drahota, K. Štefková, Z. Červinková, O. Kučera. The Mitochondrial Permeability Transition Pore-Current Knowledge of Its Structure, Function, and Regulation, and Optimized Methods for Evaluating Its Functional State. *Cells*. **2023**. Vol.12. No.9. P.1273. DOI: 10.3390/cells12091273
- [3] M. Carraro, P. Bernardi. The mitochondrial permeability transition pore in Ca<sup>2+</sup> homeostasis. *Cell Calcium*. **2023**. Vol.111. P.102719. DOI: 10.1016/j.ceca.2023.102719
- [4] D.V. Goliusova, M.Yu. Sharikova, K.A. Lavrenteva, O.S. Lebedeva, L.K. Muranova, N.B. Gusev, A. Bogomazova, M. Lagarkova. Role of filamin C in muscle cells. *Biochemistry (Moscow)*. **2024**. Vol.89. No.9. P.1546-1557. DOI: 10.1134/S0006297924090025
- [5] R.A. Kley, Y. Leber, B. Schrank, H. Zhuge, Z. Orfanos, J. Kostan, A. Onipe, D. Sellung, A.K. Guttsches, B. Eggers, F. Jacobsen, W. Kress, K. Marcus, K. Djinovic-Carudo, P. van der Ven, D. Furst, M. Vorgerd. FLNC-associated myofibrillar myopathy: new clinical, functional, and pathological data. *Neurology Genetics*. **2021**. Vol.7. P.e590. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000590
- [6] Y.S. Taleb, F. Alabdullah, A. Al Garni, M. Al Taweel, Z.J.M. Iqbal. Cardiac Filaminopathy: Prevalence, Clinical Features, and Genetic Insights in Saudi Arabia. *International Journal of Biomedicine*. **2025**. Vol.15. P.239-246. DOI:10.21103/Article15(2)\_RA1
- [7] R. Nakayama, T.D. Tanaka, S. Inoue, J. Yoshida, J. Hasegawa, T. Nagoshi, S. Nomura, H. Morita, M. Yoshimura. Familial restrictive cardiomyopathy with novel missense variant of uncertain significance in the FLNC gene. *ESC Heart Failure*. **2025**. Vol.12. P.2367-2370. DOI: 10.1002/ehf2.15233
- [8] M. Onnée, A. Bénézit, S. Bastu, A. Nadaj-Pakleza, B. Lannes, F. Ader, C. Thèze, P. Sintas, S. Cances, R. Carlier, C. Metay, M. Cossée, E. Malfatti. The FLNC Ala1186Val variant linked to cytoplasmic body myopathy and cardiomyopathy causes protein instability. *International Journal of Molecular Sciences*. **2024**. Vol.12. No.2. Article 1772. DOI: 10.3390/biomedicines12020322
- [9] G. Bhosale, M.R. Duchon. Investigating the mitochondrial permeability transition pore in disease phenotypes and drug screening. *Current Protocols in Pharmacology*. **2019**. Vol.85. No.1. e59. DOI: 10.1002/cpph.59
- [10] C. Duan, L. Kuang, C. Hong, X. Xiang, J. Liu, Q. Li, X. Peng, Y. Zhou, H. Wang, L. Liu, T. Li. Mitochondrial Drp1 recognizes and induces excessive mPTP opening after hypoxia through BAX-PiC and LRRK2-HK2. *Cell Death and Diseases*. **2021**. Vol.12. No.11. P.1050 DOI: 10.1038/s41419-021-04343-x
- [11] A.Y. Baev, A.Y. Vinokurov, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, P.R. Angelova, A.Y. Abramov. Mitochondrial permeability transition, cell death and neurodegeneration. *Cells*. **2024**. Vol.13. №7. P.648. DOI:10.3390/cells13070648
- [12] S. Nesci, S. Rubattu. Mitochondrial permeability transition pore: the cardiovascular disease's molecular achilles heel. *Biomedicines*. **2025**. Vol.13. P.3014. DOI: 10.1038/s41419-021-04343-x
- [13] M. Bonora, C. Morganti, G. Morciano, C. Giorgi, M. Wieckowski, P. Pinton. Comprehensive analysis of mitochondrial permeability transition pore activity in living cells using fluorescence-imaging-based techniques. *Nature Protocols*. **2016**. Vol.11. P.1067-1080. DOI:10.1038/nprot.2016.064
- [14] G. Morciano, N. Naumova, P. Koprowski, S. Valente, V. A. Sardão, Y. Potes, A. Rimessi, M. Wieckowski, P. Oliveira. The mitochondrial permeability transition pore: an evolving concept critical for cell life and death. *Biological Reviews*. **2022**. Vol.96. No.6. P.2489-2521. DOI: 10.1111/brv.12764
- [15] D.B. Zorov, M. Juhaszova, Y. Yaniv, H.B. Nuss, S. Wang, S.J. Sollott. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovascular Research*. **2009**. Vol.83. No.2. P.213-225. DOI:10.1093/CVR/CVP151
- [16] C. Lonobile, A. Di Nubila, R. Simone, M. Hushi, S.S. Barbieri. The mitochondrial permeability transition pore in platelets: mechanisms, physiological roles, and therapeutic perspectives. *Antioxidants*. **2025**. Vol.14. P.923. DOI:10.3390/antiox14080923
- [17] A.C. Kent, K.B.Y. Baradie, M.W. Hamrick. Targeting the mitochondrial permeability transition pore to prevent age-associated cell damage and neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2021**. e6626484. DOI: 10.1155/2021/6626484
- [18] S. Song, A. Shi, H. Lian, S. Hu, Y. Nie. Filamin C in cardiomyopathy: from physiological roles to DNA variants. *Heart Failure Reviews*. **2022**. Vol.27. P.1373-1385. DOI: 10.1007/s10741-021-10172-z
- [19] Yulia A. Vlasova, Yulia V. Fomicheva, Alexey S. Muravyev, Alexandr S. Chukhno, Anna A. Kostareva. Increased opening of the mitochondrial permeability transition pore in filamin c knockout C2C12 cells.

- [20] Власова Ю.А., Фомичева Ю.В., Муравьев А.С., Чухно А.С., Костарева А.А. Увеличение открытия митохондриальной поры переходной проницаемости в клетках C2C12 с нокаутом филamina C. *Бутлеровские сообщения C*. 2026. Т.12. №1. Id.10. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/26-85-2-81/ROI-jbc-RC/26-12-1-10

English version of the article have been published in the international edition of the journal

### ***Butlerov Communications C***

*Advances in Biochemistry & Technologies*

The Reference Object Identifier – ROI: jbc-C/26-12-1-10

The Digital Object Identifier – DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/26-85-2-81/ROI-jbc-C/26-12-1-10

## **Increased opening of the mitochondrial permeability transition pore in filamin c knockout C2C12 cells**

**Yulia A. Vlasova,<sup>1\*</sup> Yulia V. Fomicheva,<sup>1</sup> Alexey S. Muravyev,<sup>1</sup>  
Alexandr S. Chukhno,<sup>2+</sup> Anna A. Kostareva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Molecular Biology and Genetics, Research Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Almazov National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation. Akkuratov St., 2. Main Clinical Complex, 18th Floor. St. Petersburg, 197341. Russia.  
Phone: + 7 (812) 702-37-77. E-mail: vlasovayu@rambler.ru*

<sup>2</sup> *Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Biological and General Chemistry Named after V.V. Sokolovsky. North-Western State Medical University Named after I.I. Mechnikov. Piskarevsky Ave., Bldg.47, Pav.26. St. Petersburg, 195067. Russia.  
Phone: +7 (812) 303-50-00 (8213). E-mail: alex-chuhno@yandex.ru*

\*Supervising author; <sup>+</sup>Corresponding author

**Keywords:** mitochondrial permeability transition, mPTP, filamin C, FLNC, C2C12, calcein-AM, mitochondrial dysfunction, myopathy.

### **Abstract**

The mitochondrial permeability transition pore (mPTP) is instrumental in the modulation of cellular apoptosis and the regulation of energy metabolism. Filamin C (FLNC) is an actin-associated protein that is predominantly expressed in skeletal and cardiac musculature. Genetic mutations within the FLNC gene have been linked to a spectrum of myopathies and cardiomyopathies, such as distal myopathy and hypertrophic cardiomyopathy. Nevertheless, the specific function of FLNC in the regulation of mitochondrial activity and, more specifically, in the facilitation of mPTP opening, remains inadequately elucidated. This study is designed to explore the impact of filamin C knockout on mPTP opening in C2C12 myoblasts through the utilization of the calcein-AM with cobalt methodology. To quantitatively evaluate mPTP opening in both wild-type and FLNC knockout C2C12 cells generated via the CRISPR/Cas9 technique, the calcein-AM with cobalt method was employed. Fluorescence measurements were conducted using a plate reader at excitation/emission wavelengths of 485/530 nm. The findings indicate that FLNC knockout cells demonstrated a marked increase in mPTP opening when juxtaposed with wild-type cells. The alteration in fluorescence ( $\Delta F$ ) was quantified as  $383.7 \pm 56.4$  a.u. in FLNC knockout cells, in contrast to  $119.3 \pm 27.7$  a.u. in wild-type cells, reflecting a three-fold escalation ( $p = 0.0103$ ). The proportion of mPTP opening elevated from  $2.32 \pm 0.54\%$  to  $7.11 \pm 0.97\%$ . The effect size (Cohen's  $d = 5.947$ ) signifies a biologically meaningful distinction between the groups. Consequently, the absence of filamin C results in an augmented mPTP opening relative to wild type, underscoring the critical role of FLNC in sustaining mitochondrial integrity and modulating mitochondrial membrane permeability. Mitochondrial dysfunction may represent a pivotal pathogenic mechanism underlying FLNC-associated muscle disorders, thereby elucidating new avenues for therapeutic intervention.