

РОЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ І ЦИКЛІН-ЗАЛЕЖНИХ КІНАЗ У КОНТРОЛІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ КЛІТИН

І. Стадник

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

В огляді розглянуто основні механізми переключення між процесами проліферації та диференціації у клітинах різних видів живих організмів. Зосереджено увагу на генетичних системах контролю процесів проліферації та диференціації, а також на ролі зміни мембранного потенціалу клітини у можливості її переходу зі стану проліферації у стан диференціації.

Ключові слова: проліферація, диференціація, генетичні системи контролю, трансмембранний потенціал.

Усі клітини зазнають важливого переключення у процесі свого життя, змінюючись із неспеціалізованих клітин, які зазнають швидкого росту, на специфічні типи клітин, які виконують свої функції у спеціалізованих тканинах чи органах; цей процес має назву диференціація. Багато дослідників почали вивчати процеси, що ведуть до цієї важливої фази. Клітинна диференціація є популярною темою дослідження серед науковців різних галузей біології. У процесі розвитку багато клітин спочатку зазнають швидкого росту перед виконанням специфічної функції. Розуміння цього процесу може сприяти розвиткові потенційної терапії стовбуровими клітинами. МікроРНК розглядають як можливий шлях до зміни диференційованих клітин у плюрипотентні стовбурові клітини, які згодом можна буде використати у терапевтичних цілях, включаючи зцілення ран і тканинну регенерацію. Іншою галуззю, для якої важлива клітинна диференціація, є біологія раку, де стрімкий ріст клітин спричиняє хворобу. Детальне розуміння диференціації може сприяти ефективнішому лікуванню раку [18].

Генетичний контроль проліферації та диференціації клітин є складним процесом, у якому задіяні низка генів, білків, у тому числі і транскрипційних факторів. У даному огляді розглянуто механізми контролю проліферації та диференціації клітин на генному, хромосомному і клітинному рівнях.

І. Гени та їхні продукти, задіяні у контролі проліферації та диференціації клітин

У кожній клітині існує близько 2000 видів транскрипційних факторів, і специфічні транскрипційні фактори є активними лише в певний проміжок часу, залежно від стану, в якому перебуває клітина. Транскрипційні фактори не діють поодиночі. Вони часто формують сітки, які впливають на активність одна одної, тим самим ускладнюючи їхнє вивчення.

Дослідники зі Сан-Дієго [67] наблизилися до розгадки таємниці того, як клітини людини переключаються зі стану проліферації у стан диференціації. У своєму дослідженні вони використали серію комп'ютерних і біологічних інтегративних підходів для того, щоб побачити, як змінюється з плином часу активність сіток транскрипційних факторів у міелоїдних клітинних лініях. Ними було започатковане дослідження з використанням біоінформативних технологій для аналізу всієї транскрипційної активності, яка проходить у клітинних лініях лейкемії протягом усього часу, і для визначення того, які транскрипційні фактори задіяні під час різних етапів розвитку клітин. Під час лабораторної стадії проекту

авторами був знайдений компонент, який зупиняє проліферацію клітин у мієлоїдних клітинних лініях. Потім вони зібрали інформацію про активність сіток транскрипційних факторів під час процесу диференціації та дозрівання моноцитів і макрофагів. Математичні підрахунки лабораторних даних дали змогу виявити специфічні підсітки транскрипційних факторів, які були активовані у конкретні проміжки часу. Моніторинг активності транскрипційних сіток через одну годину після настання диференціації допоміг виявити ген, який, імовірно, відіграє важливу роль у клітинній диференціації лейкоцитів. У цьому ж дослідженні, з використанням глибокого секвенування, було виміряно всегеномну динаміку транскрипційних подій у клітинних ліній THP-1 моноцитів людини упродовж арешту клітинного циклу та диференціації. Моделюючи динаміку експресії в межах передбачуваних цис-регуляторних сайтів, виявили ключові транскрипційні регулятори, їхню залежну від часу активність і гени-мішені [67].

Надалі авторами був здійснений почерговий нокаут 52 транскрипційних факторів для того, щоб вивчити їхню індивідуальну роль у межах сіток. Більшість поодиноких нокаутів не призвела до зміни клітинної диференціації чи форми клітин. Систематичні si-РНК нокаути 52 транскрипційних факторів підтвердили роль окремих факторів у регуляторних сітках. Результати показали, що стани клітини обмежуються складними сітками, які включають як позитивні, так і негативні регуляторні взаємодії між великою кількістю транскрипційних факторів, а також що немає єдиного транскрипційного фактора, який би був необхідним і ефективним для запуску процесу диференціації. Використовуючи ці дані, дослідники визначили специфічні гени і транскрипційні фактори, задіяні під час різних етапів розвитку клітин [67].

Дослідження [18] показують, що гени, які контролюють переключення з проліферації на спеціалізацію, можуть бути зведені лише до кількох генів. У ході дослідження розглядали мікроРНК – малі ланцюги РНК, які знижують концентрацію транскрипційних факторів, та білки, що приєднуються до ДНК і включають чи виключають гени. Ці мікроРНК блокують три специфічні гени і запобігають диференціації клітини у специфічні типи клітин.

Проліферація клітин в онтогенезі контролюється складною сіткою сигнальних шляхів, що інтегрують інформацію з позаклітинного та внутрішньоклітинного середовищ для регулювання циклін-залежних кіназ (Cdk) у комплексі з цикліном. Точна регуляція клітинного циклу під час розвитку є критичною для визначення розміру клітини, розміру і форми кожної тканини та подій, що ведуть до правильної клітинної диференціації. Більшість клітин виходять з клітинного циклу для диференціації під час фази G_1 . Тому молекули, що інгібують G_1 прогресію, розглядаються як чудові кандидати для контролю клітинного циклу у тканинах, що розвиваються [101].

Активність Cdk-циклінових комплексів може інгібуватися шляхом зв'язування Cdk інгібіторів (СКІ). СКІ можуть належати до родин СІР/КІР чи ІНК4 на основі їхньої структури і відрізняються за способом інгібування Cdk, субклітинною локалізацією, субстратною специфічністю та відповіддю на стимуляцію мітогеном [60, 74]. Члени СІР/КІР родини (p21, p27, p57 та p53) інгібують усі Cdk-циклінові комплекси G_1 фази, в той час як члени ІНК4 родини (p16, p115, p18 та p19) зв'язують та інгібують лише Cdk4-циклінові та Cdk6-циклінові комплекси. Те, що СІР/КІР білки виконують функцію регуляторів у багатьох тканинах, які диференціюються, передбачає, що ці білки можуть відігравати роль у виході з циклу проліферації та настанні диференціації.

Нещодавнє дослідження на *Drosophila* виявили єдиний СІР/КІР гомолог – білок Да-саро [21, 48]. Було показано, що він здатний зв'язувати і специфічно інгібувати у *Drosophila* Cdk2-циклін Е комплекс і вхід клітин до G_1 фази у разі його надекспресії.

Багато досліджень на клітинних культурах показали роль білка p27 як ключового регулятора припинення росту у відповідь на дію трансформуючого фактора росту β (TGF- β) [65], рапаміцин [62], контактне інгібування [65] і дефіцит факторів росту [17]. Але p27 не є постійним компонентом арешту клітинного циклу у відповідь на ці умови інгібування росту.

Блок p57 є найбільш структурно складним СКІ з консервативним аміно-термінальним Cdk-циклін-інгібіторним доменом, наявним у всіх CIP/KIP, та центральним пролін-збагаченим доменом [50, 57]. p57 експресується у свіжодиференційованих і в багатьох дорослих тканинах [57, 99]. Таким чином, p57 відіграє ключову роль у запобіганні клітинному поділові у диференційованих постмітотичних тканинах.

p107 і p130 зв'язують та інгібують різні підмножини родини E2F транскрипційних факторів і таким чином знижують експресію генів, необхідних для входу в G_1 фази [101].

У більшості біологічних систем зниження проліферації є необхідним для ініціації ключових кроків у процесах диференціації. Було розглянуто регуляторні механізми, що контролюють експресію залежних від клітинного циклу генів гістонів, які є функціонально поєднаними зі синтезом ДНК у проліферуючих клітинах, та під час настання диференціації у кількох типах клітин, включаючи адипоцити [78]. У проліферуючих клітинах транскрипція генів гістонів збільшується з настанням S фази. Було виявлено [78] проксимальний промоторний елемент гена гістона H4, позначений як Site II, який опосередковує транскрипційний контроль клітинного циклу. Фактор, що взаємодіє з Site II, включає в себе cdc2, циклін A, RB – регульований білок та інтерферон – регуляторні фактори (IRFs). Мутаційний аналіз показав, що дистальна частина Site II є критичною для регуляції клітинного циклу. Не менш важливим для розвитку транскрипційного контролю є те, що експресія генів гістонів репресується, коли ініціюється диференціація. *In vivo* не було встановлено приєднання регуляторних білків до Site II. *In vitro* фактор, що зв'язується з Site II, є відсутнім під час проліферації. Делеційний аналіз показав, що проксимальний Site II опосередковує диференційну відповідь транскрипції H4 гена у адипоцитах [78].

В іншому дослідженні був розглянутий білковий комплекс BAF і те, як він контролює скручування ДНК довкола гістонового комплексу хромосом [36]. Оскільки BAF змінює структуру спіралі ДНК, то він контролює доступ транскрипційних факторів до цих генів. АТФ-залежні хроматинремодуючі комплекси ссавців (BAF) є необхідними для формування тотипотентних і плюрипотентних клітин раннього ембріона. Протеомні дослідження [36] показують, що в ембріональних стовбурових клітинах експресуються відмінні комплекси (esBAF), які визначаються наявністю генів *Brg*, *BAF155* і *BAF60A* і відсутністю генів *Brm*, *BAF170* і *BAF60C*. Було показано [36], що такий склад цього комплексу є необхідним для підтримки ембріональних стовбурових клітин та їхньої плюрипотентності. Протеомний аналіз [36] також показав, що комплекси esBAF безпосередньо взаємодіють з ключовими регуляторами плюрипотентності, тим самим автори припускають, що комплекси esBAF є спеціалізованими для взаємодії з специфічними регуляторами ембріональних стовбурових клітин, і дають можливе пояснення необхідності комплексів esBAF у підтримці плюрипотентності [36].

Зменшення кількості популяції висококонсервативних основних ядерних білків корелює з втратою проліферативного потенціалу в асоціації з процесом кінцевої диференціації мезенхімних стовбурових клітин миші та кератиноцитів людини [58]. Ці білки, позначені як P²Ps для білків проліферативного потенціалу, мають приблизну молекулярну масу 30-40 кД, є асоційовані з 30-40S субодинамиці ядерного рибонуклеопротеїнового комплексу і “впізнаються” антитілами проти корових білків рибонуклеопротеїнових частинок. Вони

також мають спільний епітоп з білком теплового шоку-90 і “впізнаються” двома антитілами проти білка теплового шоку-90. Двовимірний електрофорез у поєднанні з Вестерн-блот аналізом показують, що P²Ps належать до популяції білків рибонуклеопротеїнового комплексу. Клітини, які володіють цими білками, мають потенціал до проліферації, а також це клітини, які швидко ростуть, і нетермінально диференційовані клітини. На противагу, клітини, які незворотно втратили свій проліферативний потенціал, такі як термінально диференційовані клітини, характеризуються значним зниженням кількості P²Ps, як було виявлено за допомогою імунодетекції на Вестерн-блотах. Існує кореляція між наявністю цієї популяції ядерних білків і проліферативним потенціалом у двох типів клітин. Ці результати [58] показують здатність P²Ps опосередковувати посттранскрипційний контроль процесингу специфічних РНК, які необхідні для клітинної проліферації.

Диференціація клітин ссавців визначається складними молекулярними змінами, включно з активацією і репресією великої кількості генів [75, 77]. Одним із важливих біологічних процесів, асоційованих із диференціацією, є незворотна втрата проліферативного потенціалу, яка трапляється під час специфічної кінцевої події під час диференціації [70, 94]. Багато типів клітин, включно з гематопоетичними клітинами, клітинами м'язів, нейронами, зазнають кінцевої диференціації, аналогічно адипоцитам і епітеліальним клітинам [37, 94, 95]. Для кращого розуміння феномена втрати проліферативного потенціалу, асоційованого з диференціацією, цей процес вивчали на мезенхімних клітинах миші 3Т3 [70, 93, 94] і нормальних кератиноцитах людини [71, 95]. У клітинах 3Т3 були виявлені некінцеві та кінцеві стани диференціації, і перехід із некінцевого у кінцевий стан був експериментально охарактеризований [16, 46, 70, 92]. На додачу, біохімічні зміни специфічно асоційовані з втратою проліферативного потенціалу під час кінцевої диференціації були чітко виокремлені від тих, які беруть участь у некінцевій диференціації [93]. Започатковано вивчення змін в експресії різних антигенів під час процесу некінцевої та кінцевої диференціації у клітин миші 3Т3 і нормальних кератиноцитів людини методом Вестерн-блот аналізу. Ці дослідження [58] показали, що кількість 30-40 кД білків, визначена моноклональними антитілами проти обох гетерогенних рибонуклеарних корових білків і білка теплового шоку-90, були селективно знижені, коли клітини втрачали свій проліферативний потенціал в асоціації з термінальною диференціацією. На противагу цьому, білки, позначені як P²Ps для білків проліферативного потенціалу, наявні у відносно великих кількостях у клітинах, які зберегли свою здатність до росту. Додаткові біохімічні дослідження підтверджують висновки, що P²Ps відображають популяцію рибонуклеопротеїнів, які можуть виконувати регуляторну роль у процесингу РНК, які є важливими у визначенні проліферативного потенціалу клітини [58].

Переключення між проліферацією і диференціацією є важливим рішенням, яке має прийняти клітина, і цей процес контролюється низкою генів. Це переключення призводить до виходу клітини з клітинного циклу і початку складної програми експресії генів, яка утворює відповідний білок у відповідний час. Помилки в цьому процесі можуть призвести до ембріональної летальності чи деяких захворювань, включно з раком.

У дослідженні [49] було розглянуто мейоз клітин дріжджів як модель диференціації, увага була сфокусована на зрозумінні епігенетичного перемикування, що веде клітину дріжджів до зупинки проліферації та початку диференціації. Мейотична диференціація потребує трьох тимчасових хвиль транскрипції, загалом названих як рання, середня і пізня. Робота була сконцентрована на негативному регуляторі ранніх мейотичних генів, білку Утебр, який взаємодіє з ДНК сиквенс-специфічним шляхом із промотором ранніх мейо-

тичних генів. Тут він приєднує гістон деацетилазу, відому як Rpd3p, яка зберігає хроматин у деацетильованому стані, і внаслідок чого відбувається репресія генів. Нещодавно було виявлено, що коли клітини входять у мейоз, індукція ранніх мейотичних генів потребує деградації Umebr. Це відкриття змінило уявлення про те, що мейотична індукція ранніх мейотичних генів потребує транзиції Umebr із репресора генів на активатора генів. Коли Umebr є зруйнованим, Rpd3p дисоціює з промоторів ранніх мейотичних генів, що полегшує ацетилювання гістонів та індукцію генів. Це дає клітинам змогу прогресувати через програму мейотичної диференціації. Важливість руйнування Umebr і ацетилювання гістонів для мейотичної диференціації є найкраще висвітленим у дріжджових штамів-мутантів. У дріжджів, які мають стабілізовану форму Umebr, мейоз є відмінним. На додачу, руйнування Umebr контролюється системою, котра здатна сприймати мейоз-специфічні сигнали, які вказують на те, що клітина припинила проліферацію і диференціює. Використовуючи Umebr як відправну точку, намагаються виявити сигнальний шлях, який контролює переключення між проліферацією і диференціацією у дріжджів [49].

Гени *PASTICCINO (PAS)* необхідні для координованої клітинної проліферації та диференціації під час розвитку рослини. Проліферація та диференціація клітин рослин контролюється багатьма чинниками і, зокрема, гормонами ауксином і цитокініном. Декілька цитокінін сигнальних генів і генів ранньої відповіді були виявлені як такі, що задіяні в контролі клітинної проліферації та диференціації [32]. Приєднання цитокіну здійснюється трьома мембраноасоційованими рецепторами (AtHK2, AtHK3, і AtHK4/CRE1/WOL), схожими до двокомпонентної системи нижчих еукаріотів. На додаток, ген *CKII*, який структурно є подібним до *CRE1*, також здатний активувати цитокінін сигнальний шлях, але не зв'язує цитокінів, принаймні у фізіологічних концентраціях [38].

Гени *PAS* є негативними регуляторами проліферації клітин шляхом репресії клітинного поділу або індукування клітинної диференціації. Негативна регуляція експресії *KNAT* генами *PAS* є ймовірно задіяна у підтримці клітин у диференційованому стані, уникаючи неконтрольованої проліферації клітин і розвитку пухлин. Здатність до поділу клітин залежить від клітинної відповіді на цитокіни й ауксин. Гени *PAS* контролюють амплітуду відповідей цитокінів і ауксину, відображаючи таким чином відповідь нових регуляторів гормональної природи на контроль поділу та диференціації клітин [34].

Дослідження генетичного контролю клітинної проліферації та диференціації у процесі сперматогенезу *Drosophila* [26] показують, що припинення мітотичної проліферації та настання мейотичної програми регулюється генами *bam* і *bagn*, що функціонують у межах чоловічих гермінальних клітин та сигнального каскаду TGF- β в оточуючих соматичних клітинах. Настання сперматидної диференціації регулюється тканиноспецифічною транскрипційною програмою, що контролюється генами *aly*, *can*, *mia* і *sa* [26].

Нещодавно дослідниками з Китаю було ідентифіковано пару транскрипційно обернено-пропорційних модулів, кожен із яких складається зі сотень генів у багато-клітинних взаємодіючих генних сітках у межах різних організмів і популяцій [40]. Два модулі асоційовані з клітинною проліферацією та диференціацією, відповідно. Модуль проліферації є консервативним в еукаріотичних організмів, тоді як модуль диференціації є специфічним для багатоклітинних організмів. Розглядаючи диференціацію у різних тканинах і клітинних лініях різних організмів, ці дослідники встановили, що експресія модуля проліферації є більш загально супресована, тоді як модуль диференціації регулюється тканино- чи видоспецифічно.

Ці результати показують, що навіть на тканинному і організмовому рівнях модулі проліферації / диференціації можуть відповідати за два альтернативні стани молекулярних

сіток і відбивати універсальні симбіотичні взаємозв'язки в багатоклітинному організмі. Авторами передбачається, що білки, які опосередковують взаємодії між цими модулями, можуть слугувати модуляторами переключення проліферації/диференціації [40].

Також вищезазначені автори вважають, що переключення, яке тимчасово розподіляє модулі проліферації чи диференціації, може також бути виявлене у мозку дорослої людини та у дорослої плодової мушки. Експресія двох модулів є добре скоординована на системному рівні. Через перевірку динаміки сіток, які взаємодіють між собою, автори виявили дві великі сітки – модулі «П» (проліферація) та «Д» (диференціація), які є транскрипційно обернено-пропорційні у дорослому організмі, як у мозку людини, так і у плодової мушки. Ці модулі наповнені генами проліферації та диференціації, відповідно, і відображають альтернативно низьку або високу експресію переключення клітинної проліферації/диференціації. Більшість генів «П» модуля є консервативні в межах вищих організмів та одноклітинних організмів, таких як дріжджі, проте більшість генів «Д» модуля відсутні в одноклітинних організмів. Таким чином, ці модулі можуть відповідати за характеристики альтернативних клітинних станів вищих організмів.

Кластер «Д» збагачений сітками циркуляції/ангіогенезу, апоптозу та іонними і нейротрансмітерними каналами, які є характерною ознакою нервової диференціації, регуляторами клітинного циклу, поверхневими клітинними рецепторами та стероїдними рецепторами. Кластер «П» збагачений генами транскрипції, ядерного та внутрішньоклітинного транспорту, клітинного циклу і клітинної рухливості. Інтерфейс «П» збагачений транскрипційними факторами, а інтерфейс «Д» збагачений генами контролю клітинного циклу, репарації ДНК, рецепторів. Усі ці процеси є важливими регуляторними механізмами в переключенні проліферації/диференціації. Частково «Д» білки включають у себе багато відомих генів-супресорів онкогенезу, таких як *BRCA-1* і *p53*, і багато рецепторів і транскрипційних регуляторів, таких, що відповідають за диференціацію нейронів (*MYC*, *TOP2B*, інтегрин, естроген, *FGF*, *PDGF*, і *TSH* рецептори). «П» інтерфейс містить гени, що стимулюють клітинну проліферацію, такі як *K-RAS*, *HDACs*, *SRF*, *CREB*, *CREBBP*, *IL4R*, і *INSR*. Він також містить гени, що інгібують функції *p53* і *BRCA-1*, такі як *PARC* і *LMO4*. Унаслідок цього авторами припускається, що модулі «П» і «Д» можуть бути асоційовані з процесами клітинної проліферації та диференціації, відповідно [40].

Перемикання між диференціацією та проліферацією було показане на мишачих міобластах C2C12 [40]. Інгібування «П-Д» поверхневого білка HDAC4 призвело до пришвидшення диференціації та інгібування проліферації, в той час як інгібування іншого поверхневого білка, SRF, мало обернений ефект. Обидва HDAC4 і SRF білки пригнічуються в ході диференціації конкурентним збільшенням диференційних маркерів і їхніми антагоністами мікроРНК. Рівні $\alpha_5\beta_1$ інтегрину, зв'язаного з фібронектином, також контролюють переключення між проліферацією та диференціацією клітин C2C12. Переключення проліферації/диференціації також спостерігається у клітинах-попередниках нейронів, а PI3K, цАМФ, raf і MAPK-шлях, які всі задіяні у білкових взаємодіях «П/Д», є також задіяними у регуляції переключення. Ці та інші відкриття вказують на наявність переключення між проліферацією та диференціацією на клітинному рівні [40].

Спостерігається зниження «П» експресії та збільшення «Д» експресії, коли різні типи клітин мушки, щура, миші чи людини переключаються зі стану проліферації у стан диференціації внаслідок індукції різного роду зовнішніми чинниками. У цьому аналізі [40] використано попередньо опубліковані дані з диференціації клітин стромы ендометрію людини, індукованої цАМФ; міобласти C2C12 миші, гладком'язових клітин миші, індукованої ретиноїдною кислотою; інгібування проліферації та індукції диференціації

трансформуючим фактором росту з хондроцитів щура та диференціації попередників нейронів плодової мушки. Відповідно до консервативності модуля «П», «П» є більш консервативно пригнічений у процесі диференціації в різних тканинах різних організмів. Наприклад, експресія генів «П» плодової мушки супресується у всіх типах клітин. На противагу цьому, експресія модуля «Д» у мозку людини є сильно індукована в ході диференціації клітин строми ендометрію, і меншою мірою, під час диференціації клітин миші та плодової мушки, експресія генів «Д» мушки є лише сильно індукована у клітинах мушки, але меншою мірою у клітинах інших організмів. Невідомо, чи переключення клітинної проліферації/диференціації є скоординованим на тканинному й організменому рівнях, особливо в постмітотичних тканинах або серед дорослих організмів [40].

Автори також виявили, що в той час як будова модуля «П» є здебільшого однаковою і в мозку людини, і у плодової мушки, будова модуля «Д» значно відрізняється між цими двома видами. Зокрема, шляхи апоптозу містяться лише в модулі «Д» мозку людини. Маркери диференціації у модулях «Д» також відрізняються. Був проаналізований відсоток ортологів генів людини, які виявлені у дріжджів, черв'яків, мушок та мишей. Було виявлено, що 60% генів «Д» є специфічними для миші та людини і лише 8% мають дріжджове походження, в той час як 35% генів «П» мають дріжджових гомологів і менш ніж 30% є специфічними для ссавців.

Вищенаведені спостереження зазначають, що модуль «П» є більш консервативним і у одноклітинного організму – дріжджів, і у багатоклітинних організмів *C. elegans*, *Drosophila*, миші, людини, в той час як модуль «Д» є багатоклітинно-специфічним і піддається видо-специфічним, чи й, можливо, також тканинспецифічним модифікаціям.

Функціональна незалежність і різні еволюційні походження двох модулів передбачають, що модулі «П» та «Д» є два “симбіотичних колеги”, що потребують строгого контролю і координації на клітинному, тканинному та організменому рівнях, шляхом тимчасового переключення між двома фазами – проліферації та диференціації. Модулі «П» та «Д», ймовірно, є асоційовані з клітинною проліферацією та диференціацією, і супресуються чи індукуються переключенням клітинної проліферації чи диференціації, відповідаючи на альтернативні стани клітинної сітки. Можливим сценарієм антикореляції може бути тимчасове розділення біологічних функцій у клітинних сітках [40].

За допомогою статистичного аналізу було виявлено 629 послідовностей нуклеотидів у геномі, які по-різному регулювалися у проліферуючих і диференціюючих міобластах [59]. Ці гени авторами були згруповані у кластери, щоб виявити набори корегульованих генів, і були призначені функціональним категоріям, які аналізували за внеском у експресію генних кластерів. Кластери були ідентифіковані за статистично значимим внеском у категорії, які включали в себе м'язове скорочення, клітинну адгезію, функціонування позаклітинного матриксу, клітинний метаболізм, мітохондріальний транспорт, реплікацію ДНК, контроль клітинного циклу, транскрипцію мРНК та імунну відповідь [59].

Міогенна програма складається з двох розділених у часі процесів: проліферації та диференціації міобластів. Проліферуючі одноядерні міобласти, які експресують MyoD і Myf5, продовжують проліферацію за наявності мітогенів в умовах високої концентрації сироватки *in vitro*. В умовах позбавлення сироватки міобласти активують транскрипцію Міогеніну і зазнають незворотного арешту клітинного циклу, за яким іде транскрипція інгібітора циклін-залежної кінази, p21, і дефосфорилування pRb [5, 89]. Диференціація скелетних м'язів потім продовжується через індукцію експресії м'язо-специфічних генів і злиття міобластів у м'язові волокна [5, 31, 33, 63, 90].

Багато з генів, які були виявлені як диференційно регульовані транскрипти, були попередньо охарактеризовані в клітинах C2C12 або інших клітинних лініях скелетних м'язів завдяки методам транскрипції мРНК і функціонального аналізу *Igf2* [22], $p21^{Cip1}$ (*Cdkn1a*) [33], *Bin1* [55], кавеоліну 3 (*Cav3*) [27, 84], М-кадгерину (*Cdh15*) [47, 102], *FasL* [69], декорину (*Dcn*) [68], *Idb1* [39], *Idb3* [6, 13], і ДНК метилтрансферази (*Dnmt1*) [52, 82]. Також висвітлено гени, які відіграють потенційну роль у диференціації скелетних м'язів: транскрипційний фактор *Osf2* та інші білки матриксу остеобластів, остеомодулін/остеоадгерин (*Omd*) і остеогліцин (*Ogn*). Експресія мРНК *Osf2* є збільшена внаслідок БМК лікування C2C12 клітин, що спричиняє трансформацію з міогенної до остеобластної диференціації [51]. Також виявлено високий рівень експресії генів, які задіяні в різних клітинних процесах: ангіогенезу (*MCP1*), ремоделювання тканин (*Plaur*, *Fmod*, *Col3a1*), сигнальної трансдукції (*Sgk*), хромосомної сегрегації (*Ranbp1*). Гени, які регулюють клітинний цикл фібробластів, також по-різному регулюються під час диференціації C2C12, і до них входять гени, які задіяні в контролі клітинного циклу (*Ccna2*, *Ccnb1*, *Cdc2*, *Cdkn1a*), проліферації та диференціації (*Notch3*, *Inhbb*, *Gadd45a*, *Gro1*), та гени позаклітинного матриксу (*Matn2*, *Nid2*, *Plaur*, *Hmnr*, *Tm4sf1*) [14].

При диференціації сателітних клітин можна виділити окремі фази, які характеризуються експресією різних транскрипційних факторів. Транскрипційний фактор Pax7, маркер, який широко використовують для ідентифікації сателітних клітин, експресується в сателітних клітинах у стані спокою [72]. Активовані сателітні клітини також підтримують експресію Pax7 і, крім того, експресують MyoD, члена родини міогенних регуляторних факторів. Експресія MyoD зберігається під час проліферації та ранньої диференціації [25, 30, 97, 98, 100]. Настання диференціації характеризується початком експресії Міогеніну, іншого члена родини міогенних регуляторних факторів [25, 30, 97, 98, 100]. Під час кінцевої диференціації постмітотичні нащадки сателітних клітин зливаються у м'язові волокна і починають експресувати структурні білки м'язів, такі як міозин. Грунтуючись на експресії цих транскрипційних факторів, регенеративний біогенез дорослих особин дуже нагадує ембріональну програму диференціації м'язів [51].

Фактор росту гепатоцитів (ФРГ) є одним із ключових регуляторів під час активації сателітних клітин у стані спокою. Різні дослідження показують, що ФРГ, виділений з позаклітинного м'язового матриксу негайно після поранення, сигналізує рецептору ФРГ c-met, який експресується в сателітних клітинах у стані спокою [2, 85, 86]. Експансія пулу сателітних клітин позитивно регулюється фактором росту фібробластів (ФРФ), який активує проліферацію синергічно з ФРГ [73]. Було повідомлено, що експресія рецептора 4 ФРФ перебуває на високому рівні під час активації сателітних клітин [41]. Окрім потенційної ролі під час активації сателітних клітин, ФРФ контролює проліферацію сателітних клітин *in vitro* та *in vivo* [23, 98].

Іншою важливою групою сигнальних чинників, які регулюють диференціацію сателітних клітин, є члени родини трансформуючого фактора росту β (TGF β). Tgf β 1, найбільш охарактеризований член родини під час морфогенезу у дорослих особин, як було показано, інгібує проліферацію та диференціацію сателітних клітин *in vitro* та негативно регулює ріст і регенерацію м'язів *in vivo* [2]. Сигналізація (TGF β) потребує зв'язування ліганда до рецепторів I і II типу, що призводить до утворення гетеротетрамерного рецепторного комплексу. Фосфорилування молекул рецепторів типу I і II призводить до фосфорилування рецептор-регульованих SMAD білків, які утворюють гетеродимери зі спільним коактиватором Smad 4. Ці комплекси транслокуються до ядра, де вони функціонують як транскрипційні фактори, які регулюють експресію генів-мішеней TGF β [56].

Білки морфогенезу кісток (БМК) утворюють підгрупу родини факторів росту TGF β . БМК регулюють експресію генів-мішеней шляхом фосфорилування Smad 1, 5 і 8. Активність БМК негативно регулюється секретованими БМК інгібіторами, такими як Ноггін і Хордин, які інгібують зв'язування факторів росту з їхніми рецепторами [11]. БМК були початково виявлені за їхньою здатністю індукувати утворення кісток, коли були введені у м'язи дорослих щурів [87]. Остеогенний ефект БМК інтенсивно досліджувався на клітинах C2C12, клітинна лінія, одержана з регенеруючих м'язів миші. Клітини C2C12 утворюють багатоядерні м'язові волокна під час голодування за сироваткою, але диференціюються в остеобласти внаслідок стимулювання БМК [9, 42, 43]. З огляду на ці дослідження, сигналізація БМК не вивчалася інтенсивно в контексті біогенезу дорослих особин. На противагу цим дослідженням на клітинних лініях, деякі дослідження виявили БМК як регуляторів ембріогенезу курчат [3, 4, 91].

Ґрунтуючись на цих відкриттях, інша група дослідників [51] проаналізувала роль БМК сигналізації під час диференціації сателітних клітин, використовуючи клітини C2C12 і первинні сателітні клітини дорослої миші. Було встановлено, що важливу роль під час диференціації сателітних клітин м'язів відіграють білки морфогенезу кісток (БМК). На відміну від біогенної клітинної лінії C2C12, первинні сателітні клітини не диференціюються в остеобласти через сигналізацію БМК. Натомість сигналізація БМК інгібує міогенну диференціацію первинних сателітних клітин *ex vivo*. На противагу цьому, інгібування БМК сигналізації призводить до виходу з клітинного циклу і подальшої диференціації міобластів і утворення м'язових волокон. Виявлено [51] інгібітор БМК – Хордин – у культурах сателітних клітин і в регенеруючих м'язах. В обох системах експресія Хордину переважає експресії Міогеніну, маркера клітин у стані диференціації. Таким чином БМК сигналізація відіграє критичну роль у балансі між проліферацією та диференціацією активованих сателітних клітин і їхніх нащадків [23]. Початково БМК сигнали підтримують нащадків сателітних клітин у стані проліферації, збільшуючи кількість клітин. Після того, як клітини вступають у процес диференціації, у них збільшується експресія БМК інгібітору Хордину, спонукаючи кінцеву диференціацію й утворення м'язових волокон за механізмом негативного зворотного зв'язку. Таким чином, було виявлено, що БМК підтримують нащадків сателітних клітин у стані проліферації, в той час як вихід із клітинного циклу і утворення м'язових волокон індукуються інгібуванням БМК сигналізації [51].

Активізація мутацій генів, що кодуєть трансмембранні тирозин кіназні рецептори 1-3 фактора росту фібробластів і гаплонедостатність транскрипційного фактора TWIST, спричиняє у людини синдром черепного синостозу, що зазвичай вражає і вінцевий шов. Баланс проліферації-диференціації при нормальному розвитку шва включає в себе градієнт позаклітинного фактора росту фібробластів із району диференціації, в якому експресується *Fgfr1*, до мезенхіми шва, у якій низькі концентрації фактора росту фібробластів є асоційованими з експресією *Fgfr2* у остеогенних стовбурових клітинах. Експериментальне збільшення рівнів фактора росту фібробластів у шві призводить до зниження рівня експресії *Fgfr2*, підвищення експресії *Fgfr1* та остеогенного гена диференціації Остеопонтину і відміни проліферації. TWIST експресується у підшовній мезенхімі та частково експресується разом з *Fgfr2* і допомагає у збереженні проліферації через регуляцію транскрипції *Fgfr2* [47].

Клітини стегнової кістки зародка людини 12-го тижня розвитку були порівняні з мезенхімними стовбуровими клітинами кісткового мозку людини стосовно їхньої здатності проліферувати і диференціюватися в остеобласти у різних умовах культивування [69]. Коли вони культивувалися при стандартних умовах середнього α MEM, PDGF і FGF-2, спостерігалася збільшена клітинна проліферація в обох типах клітин. Дослідження

їхньої здатності до диференціювання у звичайних умовах культивування показали, що клітини стегнової кістки зародка людини мали вищі рівні експресії RUNX2, OSX та інших остеогенних маркерів, порівняно з мезенхімними стовбуровими клітинами кісткового мозку людини, в той час як SOX9 експресувався на низькому рівні у обох типах клітин [69].

Сигналізація за участю білка Wnt контролює проліферацію та диференціацію клітин [64]. Використовуючи клітини C2C12, проаналізували внутрішньоклітинну сигналізацію і транскрипцію генів під час проліферації та диференціації міобластів [52]. Було підтверджено, що деякі компоненти сигналізації Wnt, включно з *Wnt9a*, *Sfrp2* і *porcupine*, були експресовані у диференційованих клітинах C2C12. FH535, інгібітор утворення комплексу β -катенін/Tcf, знижував базальний рівень β -катеніну в цитоплазмі та знижував рівень проліферації міобластів. K 252a, інгібітор протеїнкінази, підвищував рівні як цитозольного, так і мембранозв'язаного β -катеніну і пришвидшував злиття міобластів. Ці результати передбачають, що різні ліганди Wnt контролюють локалізацію субклітинного β -катеніну, який регулює проліферацію міобластів і утворення м'язових волокон. Wnt сигналізація через β -катенін, імовірно, є молекулярним перемикачем, який визначає перехід із проліферації клітин у міогенну диференціацію [64].

Інтегрин-опосередкована клітинна адгезія до позаклітинних матриць забезпечує сигнали, необхідні для проходження клітинного циклу та диференціації. Було показано, що субстрат-залежні зміни у конформації адсорбованого фібронектину регулювали зв'язування інтегрину та контролювали переключення між проліферацією та диференціацією [39]. Переключення між проліферацією та диференціацією контролювалося рівнями $\alpha 5\beta 1$, інтегрину зв'язаного з фібронектином, і диференціація інгібувалася анти- $\alpha 5\beta 1$ -інтегрином, завдяки чому автори припускають відмінність інтегрин-опосередкованих сигнальних шляхів. Контроль клітинної проліферації та диференціації через конформаційні зміни білків позаклітинного матриксу відображає гнучкий механізм для виявлення специфічних клітинних відповідей для біологічних і біотехнологічних застосувань [39].

II. Вплив мембранного потенціалу на проліферацію та диференціацію

Потоки іонів є потужними сигналами, завдяки яким регулюється клітинна проліферація, диференціація та міграція у регенераційному й ембріональному морфогенезі [81]. В основі складних процесів розвитку тканин і їхньої регенерації лежать клітинні події, такі як проліферація, міграція та диференціація, які, у свою чергу, регулюються біофізичною сигналізацією [80]. Наприклад, у дослідженні регуляції клітинного циклу у фібробластах активність Na^+/H^+ обмінника спричинила зростання внутрішньоклітинного рН, який регулював тривалість переходу G_2/M у клітинному циклі, та як наслідок відбувалася клітинна проліферація [66]. У моделі загоєння ран у кизилу ендогенні електричні поля регулювали і клітинну міграцію [103], і частоту клітинного поділу [76]. Одним із вагомих застосувань біофізичної сигналізації є контроль поведінки стовбурових клітин. Дослідження показали, що стовбурові клітини мають унікальні електрофізіологічні профілі в недиференційованому стані [7, 10, 29, 35, 88]. Більш цікавим є те, що іонні потоки і канали, як було виявлено, відіграють важливу роль під час диференціації стовбурових клітин міобластів, кардіоміоцитів і нейронів [7, 15, 44, 79, 88], хоча здатність цих електричних сигналів діяти як функціональний механізм біофізичного контролю у біології стовбурових клітин є малозрозумілим. Більше того, не є відомим, чи процес диференціації стовбурових клітин контролюється електричними полями, локалізованими рН та іонними градієнтами, чи змінами трансмембранного потенціалу, які виникли внаслідок активності іонних каналів і помп.

Було досліджено зміну мембранного потенціалу в мезенхімних стовбурових клітинах мозку, які зазнають адипогенної чи остеогенної диференціації, і виявлено характерну гіперполяризацію диференційованих клітин порівняно з недиференційованими [80]. Проліферуючі та відносно недозрілі клітини (такі, як у ембріона) мають сильно депольаризовані мембранні потенціали, в той час як повністю диференційовані клітини у стані спокою показують сильно гіперполяризовані мембранні потенціали [81]. Так як стовбурові клітини прямують із їхнього недиференційованого стану до визначеного фенотипу, їхні мембранні потенціали змінюються з величин, які є характерними для клітин, що розвиваються до рівнів, які спостерігаються у повністю диференційованих соматичних клітин. Зміна прогресивної поляризації через фармакологічну зміну трансмембранного потенціалу показала, що депольаризація мезенхімних стовбурових клітин людини запобігає диференціації. Отже, гіперполяризація відіграє важливу роль у диференціації та дозріванні як збудливих, так і незбудливих клітин [80].

Біофізична сигналізація, інтегральний регулятор довготривалої клітинної поведінки як у збудливих, так і у незбудливих типів клітин, надає величезні можливості для зміни важливих клітинних функцій. Було розглянуто [10, 35, 88] декілька прикладів, що підтверджують функціональну роль трансмембранного потенціалу (ТМП) у регуляції проліферації та диференціації. Цікавим є те, що різні типи контролю ТМП були знайдені у багатьох ракових клітин і попередників клітинних систем, які є відомі за їхніми здатностями до проліферації та диференціації, відповідно. Разом узяті, ці дані демонструють, що біоелектричні властивості можуть слугувати як маркери для характеристики клітин і можуть контролювати мітотичну активність, прогресію клітинного циклу та диференціацію [81].

Вже давно спостерігали, що рівні ТМП сильно корелюють із подіями, пов'язаними з клітинною проліферацією: мітоз, синтез ДНК і загальна прогресія клітинного циклу [76]. Потенціали спокою різних типів клітин лежать у широких межах (загалом від -10 мВ до -90 мВ), і стан клітин упродовж таких значень ТМП загалом відповідає їхньому проліферативному потенціалу [8]. Соматичні клітини, які мають високий рівень поляризації (гіперполяризований ТМП) схильні до перебування у стані спокою і зазвичай не зазнають мітозу. На противагу цьому, клітини, які розвиваються, та ракові клітини мають низький рівень поляризації (деполяризований ТМП) і є мітотично активними [8, 19]. На додачу, клітини, які перенесли до культури *in vitro* зі середовища *in vivo*, схильні зазнавати спонтанної проліферації, яка супроводжується депольаризацією ТМП [20]. Схожим чином проліферація, індукована злоякісним перетворенням соматичних клітин, також супроводжується депольаризацією [20].

Було припущено [19], що ця кореляція вказує на функціональний зв'язок між ТМП і рівнем мітотичної активності: трансмембранний потенціал у непроліферуючих клітин може виступати інгібіторним сигналом мітозу (або ж подій, що передують мітозу), і який, у свою чергу, може бути змінений до рівня, необхідного для проліферації [19]. Можливим поясненням цього явища може бути те, що високополяризований рівень ТМП блокує соматичні клітини у стані спокою, які перебувають у фазі G_1 клітинного циклу від входження в фазу S синтезу ДНК, і тим самим інгібуючи мітоз [19]. Відомо, що більшість непроліферуючих клітин мають відносно гіперполяризований (більш негативний) ТМП, в той час як проліферуючі та ракові клітини мають відносно депольаризований (менш негативний) ТМП. Висловлено припущення, що, можливо, існує пороговий рівень ТМП, який слугує межею чи пусковим механізмом синтезу ДНК [8].

Клітинна проліферація – це багатоетапний процес, який регулюється системою контрольних точок на різних фазах клітинного циклу. Про таку складність повідомлялося

в більш ранніх роботах [8, 19, 20], присвячених ролі ТМП у проліферації. Ці роботи дали змогу краще зрозуміти головні іонні канали та потоки, які задіяні в ТМП, на рівні зі стадієспецифічною регуляцією клітинного циклу. Багато з цих досліджень виділяли K^+ потоки як протагоністів проліферації та прогресії клітинного циклу. Кореляція між інгібуванням K^+ каналів та інгібуванням проліферації була показана на великій кількості типів клітин, включно з лімфоцитами, мононуклеарними клітинами периферичної крові, лімфоною, меланоною, коричневими жировими клітинами, шваннівськими клітинами, астроцитами, олігодендроцитами, нейробластомою, клітинами раку легень, грудей і жовчного міхура [54, 96]. У більшості організмів зміни K^+ потоків зумовлюють проліферацію внаслідок деполаризації, хоча є випадки, коли деполаризація інгібує проліферацію [19]. Регуляція проліферації та прогресії клітинного циклу тісно пов'язана з диференціацією, оскільки клітини мають регулювати свій вихід із клітинного циклу з ініціацією своєї диференційної програми [81]. Отже, оскільки ТМП регулюють проліферацію у багатьох типах клітин, ТМП-регульовані сигнали можуть також виступати в ролі відправних точок для диференціації. Донедавна більшість робіт у цій сфері була сфокусована на порівнянні електрофізіологічних профілів диференційованих і недиференційованих клітин. Характерні зміни в експресії Na^+ і K^+ каналів та іонних потоків були також виявлені як такі, що супроводжують нейронну диференціацію інших стовбурово-подібних типів клітин, таких як нейронні стовбурово-подібні клітини з пуповинної крові людини [79], іморталізовані нейронні стовбурові клітини людини [15] і мезенхімні стовбурові клітини людини [12]. Електрофізіологічні зміни відіграють функціональну роль у диференційних процесах. Кілька нещодавніх досліджень [12, 44, 53, 79] показали, що ендогенна модуляція ТМП справді відіграє важливу роль під час диференціації клітин і їхнього дозрівання. Наприклад, гіперполяризація ТМП не лише передуює диференціації міобластів людини, але є також необхідною для диференціації, оскільки злиття міоцитів і активність транскрипційних факторів є заблокована, якщо гіперполяризація теж заблокована [44, 53]. Це подія, яку можна виявити найраніше у диференційних процесах, і вважається, що вона є відправною точкою диференціації міобластів [44]. Нещодавно було показано схожий зв'язок між ТМП і схильністю до диференціації у мезенхімних стовбурових клітинах людини, одержаних із кісткового мозку. Подібно до того, що було виявлено для диференціації міобластів людини і гранулярних клітин мозочка, а також згідно з гіпотезою Binggeli and Weinstein [8], про рівні ТМП у клітинах, що розвиваються, і у клітинах в стані спокою, мезенхімні стовбурові клітини людини зазнають гіперполяризації як під час остеогенної, так і під час адипогенної диференціації [80]. Більш важливим є те, що гіперполяризація, як було виявлено, необхідна для диференціації. Коли нормальна прогресія ТМП була перервана деполаризацією, спричиненою високою концентрацією K^+ чи уабаїну, маркери остеогенної і адипогенної диференціації значно знизилися. Тим самим припускається супресія чи відміна диференціації під впливом умов деполаризації ТМП [80]. На противагу цьому, під час остеогенної диференціації вплив агентами гіперполяризації, такими як пінацидил чи діазоксид, індукував відновлення експресії генів розвитку кістки [80]. Ці експерименти з деполаризацією та гіперполяризацією показують, що мезенхімні стовбурові клітини людини є чутливими до двосторонніх змін у ТМП і забезпечують безсумнівну очевидність важливої ролі ТМП у диференціації мезенхімних стовбурових клітин людини. Таким чином, ці дані передбачають, що гіперполяризація є функціональною детермінантою диференціації мезенхімних стовбурових клітин людини [80, 81].

Переключення між проліферацією і диференціацією є важливим рішенням, яке має прийняти клітина, і цей процес регулюється за участі низки генів. Це переключення

призводить до виходу клітини з клітинного циклу і початку складної програми експресії генів, яка утворює відповідний білок у відповідний час. У клітинах існують складні системи контролю переключення між проліферацією та диференціацією як на генному, так і на мембранному рівнях. Контроль на генному рівні здійснюється завдяки експресії ряду генів, білків і транскрипційних факторів, а на мембранному – через зміну мембранного потенціалу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Allen R. E., Boxhorn L. K. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and fibroblast growth factor // *J. Cell. Physiol.* 1989. Vol. 138. N 2. P. 311–315.
2. Allen R. E., Sheehan S. M., Taylor R. G. Hepatocyte growth factor activates quiescent skeletal muscle satellite cells in vitro // *J. Cell. Physiol.* 1995. Vol. 165. N 2. P. 307–312.
3. Amthor H., Christ B., Weil M. The importance of timing differentiation during limb muscle development // *Current Biology.* 1998. Vol. 8. N 11. P. 642–652.
4. Amthor H., Christ B., Patel K. A molecular mechanism enabling continuous embryonic muscle growth – a balance between proliferation and differentiation // *Development (Cambridge, England).* 1999. Vol. 1265. P. 1041–1053.
5. Andres V., Walsh K. Myogenin expression, cell cycle withdrawal, and phenotypic differentiation are temporally separable events that precede cell fusion upon myogenesis // *J. Cell. Biol.* 1996. Vol. 132. P. 657–666.
6. Atherton G. T., Travers H., Deed R. Regulation of cell differentiation in C2C12 myoblasts by the Id3 helix-loop-helix protein // *Cell Growth Differ.* 1996. Vol. 7. P. 1059–1066.
7. Biagiotti T. Cell renewing in neuroblastoma: Electrophysiological and immunocytochemical characterization of stem cells and derivatives // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. P. 443–453.
8. Binggeli R., Weinstein R. C. Membrane potentials and sodium channels: Hypotheses for growth regulation and cancer formation based on changes in sodium channels and gap junctions // *J. Theoretical Biol.* 1986. Vol. 123. P. 377–401.
9. Blau H. M., Chiu C. P., Webster C. Cytoplasmic activation of human nuclear genes in stable heterocaryons // *Cell.* 1983. Vol. 32. N 4. P. 1171–1180.
10. Cai J. Membrane properties of rat embryonic multipotent neural stem cells // *J. Neurochem.* 2004. Vol. 88. P. 212–226.
11. Canalis E., Economides A.N., Gazzerro E. Bone Morphogenetic Proteins, Their Antagonists, and the Skeleton // *Endocr Rev.* 2003. Vol. 24. N 2. P. 218–235.
12. Chafai M., Louiset E., Basille M. PACAP and VIP promote initiation of electrophysiological activity in differentiating embryonic stem cells // *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2006. Vol. 1070. P. 185–189.
13. Chen B., Han B. H., Sun X. H. Inhibition of muscle-specific gene expression by Id3: requirement of the C-terminal region of the protein for stable expression and function // *Nucleic Acids Res.* 1997. Vol. 25. P. 423–430.
14. Cho R. J., Huang M., Campbell M. J. Transcriptional regulation and function during the human cell cycle // *Nat Genet.* 2001. Vol. 27. P. 48–54.
15. Cho T. Human neural stem cells: Electrophysiological properties of voltage-gated ion channels // *NeuroReport.* 2002. Vol. 13. P. 1447–1452.
16. Choi Y. D., Grabowski P. J., Sharp P. A. Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins: role in RNA splicing // *Sci.* 1986. Vol. 231. P. 1534–1539.

17. Coats S., Flanagan W. M., Nourse J. Requirement of p27Kip1 for restriction point control of the fibroblast cell cycle // *Sci.* 1996. Vol. 272. P. 877–880.
18. Coila B. Cell differentiation and proliferation biology // *Biol.* 2009. Vol. 32. P. 241–250.
19. Cone C. D. Unified theory on the basic mechanism of normal mitotic control and oncogenesis // *J. Theoretical Biol.* 1971. Vol. 30. P. 151–181.
20. Cone C. D., Cone C. M. Induction of mitosis in mature neurons in central nervous system by sustained depolarization // *Sci.* 1976. Vol. 192. P. 155–158.
21. De Nooij J. C., Letendre M. A., Hariharan I. K. A cyclin-dependent kinase inhibitor, Dacapo, is necessary for timely exit from the cell cycle during *Drosophila* embryogenesis // *Cell.* 1996. Vol. 87. P. 1237–1247.
22. Florini J. R., Ewton D. Z., Coolican S. A. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis // *Endocr Rev.* 1996. Vol. 17. P. 481–517.
23. Floss T., Arnold H. H., Braun T. A role for FGF-6 in skeletal muscle regeneration // *Genes Dev.* 1997. Vol. 11. N 16. P. 2040–2051.
24. Friedrichs M., Flohe S., Schneider S. BMP signaling balances proliferation and differentiation of muscle satellite cell descendants // *BMC Cell Biol.* 2011. Vol. 12. N 26. P. 241–256.
25. Füchtbauer E. M., Westphal H. MyoD and myogenin are coexpressed in regenerating skeletal muscle of the mouse // *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists.* 1992. Vol. 193. N 1. P. 34–39.
26. Fuller M. T. Genetic control of cell proliferation and differentiation in *Drosophila* spermatogenesis // *Semin Cell Dev Biol.* 1998. Vol. 9. N 4. P. 433–444.
27. Galbiati F., Volonte D., Chu J. B. Transgenic overexpression of caveolin-3 in skeletal muscle fibers induces a Duchenne-like muscular dystrophy phenotype // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000. Vol. 97. P. 9689–9694.
28. Garcia A. J., Vega M. D., Boettiger D. Modulation of cell proliferation and differentiation through substrate-dependent changes in fibronectin conformation // *Mol. Biol. Cell.* 1999. Vol. 10. N 3. P. 785–798.
29. Gersdorff M., Korsgaard P. Identification of a novel voltage-gated Na⁺ channel rNav1.5a in the rat hippocampal progenitor stem cell line HiB5 // *Pflugers Archiv European J. Physiol.* 2001. Vol. 443. P. 18–30.
30. Grounds M. D., Garrett K. L., Lai M. C. Identification of skeletal muscle precursor cells in vivo by use of MyoD1 and myogenin probes // *Cell and Tissue Research.* 1992. Vol. 267. N 1. P. 99–104.
31. Guo K., Wang J., Andres V. MyoD-induced expression of p21 inhibits cyclin-dependent kinase activity upon myocyte terminal differentiation // *Mol. Cell. Biol.* 1995. Vol. 15. P. 3823–3829.
32. Haberer G., Kieber J. J. Cytokinins: new insights into a classic phytohormone // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 128. P. 354–362.
33. Halevy O., Novitsch B. G., Spicer D. B. Correlation of terminal cell cycle arrest of skeletal muscle with induction of p21 by MyoD // *Sci.* 1995. Vol. 267. P. 1018–1021.
34. Harrar Y., Bellic Y., Bellini C. Hormonal control of cell proliferation requires PASTICCINO genes // *Plant Physiol.* 2003. Vol. 132. N 3. P. 1217–1227.
35. Heubach J. F. Electrophysiological properties of human mesenchymal stem cells // *J. Physiol.* 2004. Vol. 554. P. 659–672.
36. Ho L., Ronan J., Wu J. An embryonic stem cell chromatin remodeling complex, esBAF, is essential for embryonic stem cell self-renewal and pluripotency // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2009. V. 106. N 13. P. 5181–5186.
37. Holtzer H., Pacifi M., Tapscott S. Lineages in cell differentiation and cell transformation, in expression of differentiated functions in cancer cells // *Raven Press, NY.* 1982. Vol. 5. P. 169–180.

38. *Hwang I., Sheen J.* Two-component circuitry in Arabidopsis cytokinin signal transduction // *Nature*. 2001. Vol. 413. P. 383–389.
39. *Jen Y., Weintraub H., Benezra R.* Overexpression of Id protein inhibits the muscle differentiation program: in vivo association of Id with E2A proteins // *Genes Dev*. 1992. Vol. 6. P. 1466–1479.
40. *Kai X., Dong D., Shanshan Z.* Identification of proliferation/differentiation switch in the cellular network of multicellular organisms // *Plos Computational Biology*. 2006. Vol. 4. P. 124–148.
41. *Kastner S., Elias M. C., Rivera A. J.* Gene Expression Patterns of the Fibroblast Growth Factors and Their Receptors During Myogenesis of Rat Satellite Cells // *J. Histochemistry and Cytochemistry*. 2000. Vol. 48. N 8. P. 1079–1096.
42. *Katagiri T., Yamaguchi A., Komaki M.* Bone morphogenetic protein-2 converts the differentiation pathway of C2C12 myoblasts into the osteoblast lineage // *J. Cell Biol*. 1994. Vol. 127. N 6. P. 1755–1766.
43. *Katagiri T., Akiyama S., Namiki M.* Bone morphogenetic protein-2 inhibits terminal differentiation of myogenic cells by suppressing the transcriptional activity of MyoD and myogenin // *Exp. Cell Res*. 1997. Vol. 230. N 2. P. 342–351.
44. *Konig S.* Membrane hyperpolarization triggers myogenin and myocyte enhancer factor-2 expression during human myoblast differentiation // *J. Biol. Chem*. 2004. Vol. 279. P. 28187–28196.
45. *Krattinger N., Applegate L., Biver E.* Regulation of proliferation and differentiation of human fetal bone cells // *European Cells and Materials*. 2011. Vol. 21. P. 46–58.
46. *Krawisz B. R., Scott R. E.* Coupling of preadipocyte growth arrest and differentiation. I. Induction by heparinized medium containing human plasma // *J. Cell Biol*. 1982. Vol. 94. P. 394–399.
47. *Kuch C., Winnekendonk D., Butz S.* M-cadherin-mediated cell adhesion and complex formation with the catenins in myogenic mouse cells // *Exp. Cell Res*. 1997. Vol. 232. P. 331–338.
48. *Lane M. E., Sauer K., Wallace K.* Dacapo, a cyclin-dependent kinase inhibitor, stops cell proliferation during Drosophila development // *Cell*. 1996. Vol. 87. P. 1225–1235.
49. *Law M.* Do epigenetic switches determine cell fate? // *UMDNJ Research*. 2008. Vol. 4. P. 23–29.
50. *Lee M. H., Reynisdottir I., Massague J.* Cloning of p57KIP2, a cyclin-dependent kinase inhibitor with unique domain structure and tissue distribution // *Genes Dev*. 1995. Vol. 9. P. 639–649.
51. *Lee M. H., Javed A., Kim H. J.* Transient upregulation of CBFA1 in response to bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor β 1 in C2C12 myogenic cells coincides with suppression of the myogenic phenotype but is not sufficient for osteoblast differentiation // *J. Cell Biochem*. 1999. Vol. 73. P. 114–125.
52. *Liu Y., Sun L., Jost J. P.* In differentiating mouse myoblasts DNA methyltransferase is posttranscriptionally and posttranslationally regulated // *Nucleic Acids Res*. 1996. Vol. 24. P. 2718–2722.
53. *Liu J. H., Bijlenga P., Fisher-Lougheed J.* Role of an inward rectifier K⁺ current and of hyperpolarization in human myoblast fusion // *J. Physiol*. 1998. Vol. 510. P. 467–476.
54. *MacFarlane S. N., Sontheimer H.* Changes in ion channel expression accompany cell cycle progression of spinal cord astrocytes // *GLIA*. 2000. Vol. 30. P. 39–48.
55. *Mao N. C., Steingrimsson E., DuHadaway J.* The murine Bin1 gene functions early in myogenesis and defines a new region of synteny between mouse chromosome 18 and human chromosome 2 // *Genomics*. 1999. Vol. 56. P. 51–58.

56. *Massagué J., Seoane J., Wotton D.* Smad transcription factors // *Genes Dev.* 2005. Vol. 19. N 23. P. 2783–2810
57. *Matsuoka S., Edwards M.C., Bai C.* p57KIP2, a structurally distinct member of the p21CIP1 Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene // *Genes Dev.* 1995. Vol. 9. P. 650–662.
58. *Minoo P., Sullivan W., Solomon L.* Loss of Proliferative Potential during Terminal Differentiation Coincides with the Decreased Abundance of a Subset of Heterogeneous Ribonuclear Proteins // *J. Cell Biol.* 1989. Vol. 109. N 5. P. 1937–1946.
59. *Moran J., Li Y., Hill A.* Gene expression changes during mouse skeletal myoblast differentiation revealed by transcriptional profiling // *Physiological Genomics.* 2002. Vol. 10. N 2. P. 103–111.
60. *Morgan D. O.* Principles of CDK regulation // *Nature.* 1995. Vol. 374. P. 131–134.
61. *Morris-Kay G. M., Iseki S., Johnson D.* Genetic control of cell proliferation-differentiation balance in the developing skull vault // *Novartis Foundation Symposium.* 2001. Vol. 232. P. 102–116.
62. *Nourse J., Firpo E., Flanagan W. N.* Interleukin-2-mediated elimination of the p27Kip1 cyclin-dependent kinase inhibitor prevented by rapamycin // *Nature.* 1994. Vol. 372. P. 570–573.
63. *Parker S. B., Eichele G., Zhang P.* p53-independent expression of p21 Cip1 in muscle and other terminal differentiating cells // *Sci.* 1995. Vol. 267. P. 1024–1027.
64. *Pei Y., Brun S., Markant S.* Wnt signaling increases proliferation and impairs differentiation of stem cells in the developing cerebellum // *Development.* 2012. Vol. 139. P. 1724–1733.
65. *Polyak K., Kato J. Y., Solomon M. J.* p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest // *Genes Dev.* 1994. Vol. 8. P. 9–22.
66. *Putney L. K.* Na-H Exchange-dependent Increase in Intracellular pH Times G2/M Entry and Transition // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 44645–44649.
67. *Ravasi T.* The transcriptional network that controls growth arrest and differentiation in a human myeloid leukemia cell line // *Nature Genetics.* 2009. Vol. 41. P. 553–562.
68. *Riguelme C., Larrain J., Schonherr E.* Antisense inhibition of decorin expression in myoblasts decreases cell responsiveness to transforming growth factor β and accelerates skeletal muscle differentiation // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 3589–3596.
69. *Sandri M., Sandri C., Brun B.* Inhibition of FasL sustains phagocytic cells and delays myogenesis in regenerating muscle fibers // *J. Leukoc. Biol.* Vol. 69. P. 482–489.
70. *Scott R. E., Hoed B. J., Wille J. J.* Coupling of proadipocyte growth arrest and differentiation. II. A cell cycle model for the physiological control of cell proliferation // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 94. P. 400–405.
71. *Scott R. E., Wilke M. S., Wille J. J.* Human squamous carcinoma cells express complex defects in the control of proliferation and differentiation // *Am. J. Pathol.* 1988. Vol. 133. P. 374–380.
72. *Seale P., Sabourin L.A., Girgis-Gabardo A.* Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells // *Cell.* 2000. Vol. 102. N 6. P. 777–786.
73. *Sheehan S. M., Allen R. E.* Skeletal muscle satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast growth factor family and hepatocyte growth factor // *J. Cell Physiol.* 1999. Vol. 181. N 3. P. 499–506.
74. *Sherr C. J., Roberts J. M.* Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases // *Genes Dev.* 1995. Vol. 9. P. 1149–1163.
75. *Sidhu R. S.* Two-dimensional electrophoretic analyses of proteins synthesized during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254. P. 11111–11118.

76. *Song B.* Electrical cues regulate the orientation and frequency of cell division and the rate of wound healing in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002. Vol. 99. P. 13577–13582.
77. *Spelsberg T. C., Knowler J. T., Moses H. L.* Specific methods for the isolation of nuclei from chick oviduct // Methods Enzymol. 1974. Vol. 31. P. 263–279.
78. *Stein L. J., Lian J. B., Stein J. S.* Control of cell cycle regulated histone genes during proliferation and differentiation // Int. J. Obes Relat Metab Disord. 1996. Vol. 3. P. 84–90.
79. *Sun W.* Voltage-sensitive and ligand-gated channels in differentiating neural stem-like cells derived from the nonhematopoietic fraction of human umbilical cord blood // Stem Cells. 2005. Vol. 23. P. 931–945.
80. *Sundelacruz S., Levin M., Kaplan D.* Membrane Potential Controls Adipogenic and Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells // PLoS ONE. 2008. Vol. 3. N 11. P. 325–342.
81. *Sundelacruz S., Levin M., Kaplan D.* Role of Membrane Potential in Regulation of Cell Proliferation and Differentiation // Stem Cell Rev and Rep. 2009. Vol. 5. P. 231–246.
82. *Takagi H., Tajima S., Asano A.* Overexpression of DNA methyltransferase in myoblast cells accelerates myotube formation // Eur. J. Biochem. 1995. Vol. 231. P. 282–291.
83. *Tanaka S., Terada K., Nohno T.* Canonical Wnt-signaling is involved in switching from cell proliferation to myogenic differentiation of mouse myoblast cells // J. Molecular Signaling. 2011. Vol. 6. N 12. P. 114–127.
84. *Tang Z., Scherer P.E., Okamoto T.* Molecular cloning of caveolin-3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle // J. Biol. Chem. 1996. Vol. 271. P. 2255–2261.
85. *Tatsumi R., Anderson J. E., Nevoret C. J.* HGF/SF Is Present in Normal Adult Skeletal Muscle and Is Capable of Activating Satellite Cells // Dev. Biol. 1998. Vol. 194. N 1. P. 114–128.
86. *Tatsumi R., Hattori A., Ikeuchi Y.* Release of Hepatocyte Growth Factor from Mechanically Stretched Skeletal Muscle Satellite Cells and Role of pH and Nitric Oxide // Molecular Biology of the Cell. 2002. Vol. 13. № 8. P. 2909–2918.
87. *Urist M. R.* Bone: formation by autoinduction // Science (New York, NY). 1965. Vol. 150. N 698. P. 893–899.
88. *Van Kempen M. J.* Expression of the electrophysiological system during murine embryonic stem cell cardiac differentiation // Cell. Physiol. Biochem. 2003. Vol. 13. P. 263–270.
89. *Walsh K., Perlman H.* Cell cycle exit upon myogenic differentiation // Curr Opin Genet Dev. 1997. Vol. 7. P. 597–602.
90. *Wang J., Walsh K.* Resistance to apoptosis conferred by Cdk inhibitors during myocyte differentiation // Sci. 1996. Vol. 273. P. 359–361.
91. *Wang H., Noulet F., Edom-Vovard F.* Bmp signaling at the tips of skeletal muscles regulates the number of fetal muscle progenitors and satellite cells during development // Dev. Cell. 2010. Vol. 18. N 4. P. 643–654.
92. *Wier M. L., Scott R. E.* A proliferin: A human plasma protein that induces the irreversible loss of proliferative potential associated with terminal differentiation // Am. J. Pathol. 1986. Vol. 125. P. 646–654.
93. *Wier M. L., Scott R. E.* Polypeptide changes associated with loss of proliferative potential during the terminal event in differentiation // J. Cell. Biochem. 1987. Vol. 33. P. 137–150.
94. *Wier M. L., Scott R. E.* Regulation of the terminal event in cellular differentiation. Biological mechanisms of the loss of proliferative potential // J. Cell Biol. 1986. Vol. 1. P. 1955–1964.
95. *Wille J. J., Pittelkow M. R., Shipley G. D.* Integrated control of growth and differentiation of normal human prokeratinocytes cultured in serum-free medium: clonal analyses, growth

- kinetics, and cell cycle studies // *J. Celt. Physiol.* 1984. Vol. 121. P. 31–44.
96. *Wonderlin W. F., Strobl J. S.* Potassium channels, proliferation and G1 progression // *J. Membrane Biology.* 1996. Vol. 154. P. 91–107.
97. *Yablonka-Reuveni Z., Rivera A. J.* Temporal expression of regulatory and structural muscle proteins during myogenesis of satellite cells on isolated adult rat fibers // *Dev. Biol.* 1994. Vol. 164. N 2. P. 588–603.
98. *Yablonka-Reuveni Z., Seger R., Rivera A. J.* Fibroblast Growth Factor Promotes Recruitment of Skeletal Muscle Satellite Cells in Young and Old Rats // *J. Histochemistry and Cytochemistry.* 1999. Vol. 47. N 1. P. 23–42.
99. *Yan Y., Frisen J., Lee M. H.* Ablation of the CDK inhibitor p57Kip2 results in increased apoptosis and delayed differentiation during mouse development // *Genes Dev.* 1997. Vol. 11. P. 963–973.
100. *Zammit P. S., Golding J. P., Nagata Y.* Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal // *J. Cell Biol.* 2004. Vol. 166. N 3. P. 347–357.
101. *Zavitz K., Zipursky L.* Controlling cell proliferation in differentiating tissues: genetic analysis of negative regulators of G1-S-phase progression // *Current Opinion in Cell Biology.* 1997. Vol. 9. P. 773–781.
102. *Zeschnigk M., Kozian D., Kuch C.* Involvement of M-cadherin in terminal differentiation of skeletal muscle cells // *J. Cell Sci.* 1995. Vol. 108. P. 2973–2981.
103. *Zhao M.* Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase- γ and PTEN // *Nature.* 2006. Vol. 442. P. 457–460.

Стаття: надійшла до редакції 05.02.13

доопрацьована 01.04.13

прийнята до друку 26.06.13

ROLE OF TRANSMEMBRANE POTENTIAL AND CYCLIN-DEPENDENT KINASES IN CONTROL OF CELL PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION

I. Stadnyk

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

The review deals with the main mechanisms of switching between proliferation and differentiation of different cell types of living organisms. The emphasis is on genetic mechanisms controlling proliferation and differentiation as well as the role of cell's membrane potential changes in cell's ability to switch from proliferation to differentiation.

Keywords: proliferation, differentiation, genetic controlling systems, transmembrane potential.

**РОЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛА І ЦИКЛІН-ЗАВИСИМИХ
КИНАЗ В КОНТРОЛІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ І ДИФФЕРЕНЦІАЦІЇ КЛІТОК**

І. Стадник

*Львівський національний університет імені Івана Франко
ул. Грушевського, 4, 79006, Україна
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

В обзоре рассмотрены основные механизмы переключения между процессами пролиферации и дифференциации в клетках различных видов живых организмов. Сосредоточено внимание на генетических системах контроля процессов пролиферации и дифференциации, а также на роли изменения мембранного потенциала клетки в возможности ее перехода из состояния пролиферации в состояние дифференциации.

Ключевые слова: пролиферация, дифференциация, генетические системы контроля, трансмембранный потенциал.