



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатowski институт» 

## Всероссийская конференция «Дрозофила в генетике и медицине»



4–6 октября 2017 года

Сборник тезисов

Гатчина  
2017

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
**«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»**

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

Всероссийская конференция  
**«Дрозофила в генетике и медицине»**



4–6 октября 2017 года

**Сборник тезисов**

Гатчина  
2017

В данном сборнике представлены аннотации докладов и состав участников Всероссийской конференции «Дрозофила в генетике и медицине» (4–6 октября 2017 г., г. Гатчина).

Сборник подготовили: О. И. Большакова, Е. В. Рябова.

*Примечание:* материалы напечатаны в авторской редакции.

© НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, 2017

## Программный комитет

- Груntenко Наталия Евгеньевна**, д. б. н.,  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.
- Евгеньев Михаил Борисович**, д. б. н., профессор,  
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва.
- Жимулев Игорь Федорович**, академик РАН,  
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск.
- Захаров-Гезехус Илья Артемьевич**, член-корреспондент РАН,  
Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва.
- Ким Александр Иннокентьевич**, д. б. н., профессор,  
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва.
- Мамон Людмила Андреевна**, д. б. н., профессор,  
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург.
- Никитина Екатерина Александровна**, д. б. н.,  
Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
Санкт-Петербург.
- Пасюкова Елена Генриховна**, д. б. н., профессор,  
Институт молекулярной генетики РАН, Москва.
- Савватеева-Попова Елена Владимировна**, д. б. н.,  
Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург.
- Саранцева Светлана Владимировна**, д. б. н.,  
Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина.

## Организационный комитет

- Саранцева Светлана Владимировна** – председатель
- Большакова Ольга Игоревна** – заместитель председателя
- Рябова Елена Владимировна** – секретарь
- Жеронкина Римма Александровна** – общие вопросы
- Слободина Александра Дмитриевна** – информационная поддержка
- Иванова Татьяна** – финансовые вопросы
- Голомидов Илья Михайлович** – общие вопросы
- Мелентьев Павел Алексеевич** – общие вопросы
- Москвина Оксана** – общие вопросы
- Слепнева Елизавета Эдуардовна** – техническая поддержка

E-mail: [e.ryabowa2018@yandex.ru](mailto:e.ryabowa2018@yandex.ru)

<http://drosgatchina2017.ru/>

## Организатор конференции



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константина  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»



<http://www.pnpi.spb.ru>

## Спонсоры конференции



Российский фонд  
фундаментальных  
исследований



Компания «Интерлаб»

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

Компания “Thermo Fisher  
Scientific”



Компания «Хеликон»



Компания “Beckman Coulter”



Компания «ДИА М»

**LabTech**

Передовые лабораторные технологии

Компания «ЛабТэк Лтд»



Компания «Химмед»

# **УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ**



**Роль ортолога субстрата инсулинового рецептора, CHICO,  
в регуляции приспособленности и гормонального статуса *Drosophila*  
в нормальных условиях и при стрессе**

Н. В. Адоньева, Е. К. Карпова, И. Ю. Раушенбах, Е. В. Бурдина, Н. Е. Грунтенко

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Ортолог субстрата инсулинового рецептора млекопитающих, CHICO является компонентом сигнального пути инсулина/инсулиноподобных факторов роста дрозофилы. Мы исследовали влияние нуль-мутации *chico*<sup>1</sup> на метаболизм центральных компонентов стресс-реакции, ювенильного гормона и биогенных аминов (дофамина и октопамина), и приспособленность самок *D. melanogaster*. Мы показали, что мутация *chico*<sup>1</sup> в гетерозиготном состоянии вызывает у самок *D. melanogaster* снижение уровня деградации ювенильного гормона, увеличение активности ферментов синтеза дофамина, щелочной фосфатазы и тирозингидроксилазы, а также – изменение интенсивности ответов систем метаболизма ювенильного гормона и дофамина на тепловой стресс. Таким образом, ген *chico* влияет на развитие стресс-реакции *Drosophila*.

Данные по влиянию мутации *chico*<sup>1</sup> на метаболизм октопамина свидетельствуют о том, что сигнальный путь инсулина/инсулиноподобных факторов роста дрозофилы регулирует метаболизм биогенных аминов не только опосредованно через ювенильный гормон. Мы исследовали эффекты мутации гена *chico*<sup>1</sup> в гетерозиготном состоянии, на метаболизм октопамина, устойчивость к тепловому стрессу и плодовитость *D. melanogaster*. Повышение активности одного из ключевых ферментов синтеза октопамина, тирозиндекарбоксилазы, а также фермента его деградации, октопамин-зависимой N-ацетилтрансферазы, наблюдается у самок с мутацией гена *chico*<sup>1</sup> в гетерозиготном состоянии. Также установлено, что у мух *chico*<sup>1/+</sup> снижается устойчивость к тепловому стрессу и плодовитость. Такие изменения в этих параметрах у самок *D. melanogaster* происходят в результате повышения титра октопамина, и это позволяет заключить, что *chico*<sup>1</sup> влияет на уровень октопамина путем регулирования активности тирозиндекарбоксилазы.



## Радиационная биология структурных генов *Drosophila melanogaster*

*И. Д. Александров, М. В. Александрова, К. П. Афанасьева, Е. В. Кравченко*

*Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия*

Радиационная генетика *Drosophila melanogaster* и других высших эукариот, включая человека, отмечает свое 90-летие. Именно первая публикация (Н. Muller, 1927) об исключительно высокой эффективности рентгеновских лучей в индукции наследуемых *de novo* мутаций в генеративных клетках *D. melanogaster* инициировала бурное развитие не только радиационной генетики, но и радиационной биологии в целом, впечатляющие результаты которой уже вскоре были обобщены в первой обстоятельной монографии (D. Lea, 1946). Этот первый 20-ти летний период развития радиационной генетики генеративных клеток *D. melanogaster*, который можно назвать классическим по использованным методам генетики и цитологии, завершился концептуальными обобщениями в области радиационного мутагенеза структурных генов (Н. Muller, 1954). Они касались природы рецессивных генных мутаций («точковые» и структурные), линейной зависимости их частоты от дозы редкоизирующего излучения и в совокупности с аналогичными данными, полученными позже на мышах (W. Russell, 1951, 1956), стали научной основой для первых оценок генетической опасности (риска) ионизирующей радиации (НКДАР ООН, 1972-82). Современный период в истории радиационного мутагенеза структурных генов *D. melanogaster* можно определить, как молекулярный и ориентированный на решение поставленных еще в классический период вопросов о природе индуцированных в генеративных клетках рецессивных мутаций. Более того, прогресс геномики *D. melanogaster* позволяет решать целый ряд новых фундаментальных вопросов радиационного мутагенеза, а именно, зависимость картины радиомутабельности генов от таких варьирующих параметров, как величина и структурно-функциональная организация гена, его положение на хромосоме и в 3D геноме, а также вид радиации. Таким образом, с учетом классического и молекулярного подходов современное изучение радиационного мутагенеза структурных генов *D. melanogaster* предполагает системный анализ радиационно-индуцированных генных мутаций на генетическом, хромосомном и молекулярном уровнях. Тем самым, классическая радиационная генетика в разделе «локус-специфический мутагенез» в настоящее время трансформируется в новое направление – радиационная биология гена. В рамках этого направления нами ведутся многолетние системные исследования радиационного мутагенеза пяти генов разного размера, экзон-интронного соотношения и положения в геноме после действия  $\gamma$ -квантов  $^{60}\text{Co}$  и нейтронов. В докладе будут представлены данные о спектре и частоте индуцированных *de novo* мутаций этих генов при их анализе на генетическом, цитологическом и молекулярном (ПЦР, секвенирование) уровнях. Обсуждаются новые подходы к оценке генетического риска ионизирующей радиации на молекулярном уровне при индукции рецессивных генных мутаций в генеративных клетках.

## Митохондриальные псевдогены как маркёры геномной нестабильности у дрозофил группы *virilis*

А. Б. Андрианов, Д. А. Романов

*Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Группа дрозофил *virilis* относится к подроду *Sophophora* и имеет монофилетическое происхождение. Дрозофилы группы *virilis* являются классическим объектом для изучения микроэволюции и видообразования.

Группа образована 11 «хорошими» видами дрозофил. Время формирования отдельных видов достаточно надёжно определено. Мы провели проверку некоторых предсказаний теории видообразования путём прерывистого равновесия на примере данной группы. Теория прерывистого равновесия утверждает существование двух качественно различных состояний генома: стабильного и нестабильного. Мы предположили, что возникновение новых копий митохондриальных псевдогенов и инсерций ретротранспозонов могут быть маркёрами периодов нестабильного генома в эволюции вида.

Проведено выделение последовательностей митохондриальных псевдогенов *atp6* и *cox3*, ассоциированных с инсерциями ретротранспозона *Tv1* и получена оценка их возраста путём сравнения с митохондриальными генами соответствующих видов. Инсерции *Tv1* происходят сайт-специфично в область микросателлита (АТ)<sub>n</sub> наличие которого в спейсерной области митохондриальных генов *atp6* и *cox3* характерно для дрозофил из группы *virilis*. В результате возникает химерная последовательность, образованная митохондриальным псевдогеном и ретротранспозоном. Анализ 15 химерных последовательностей, выделенных из генома 4 видов дрозофил, показал, что все выявленные химерные последовательности видоспецифичны и локализованы на Y-хромосоме. Возраст химерных последовательностей *D.virilis* и *D.lacicola* оценивается в 3.1 млн. лет, у *D.borealis* в 2.1 млн. лет, что существенно меньше возраста формирования этих видов. Все проанализированные линии мух *D.virilis* из природных популяций различного географического происхождения имеют одинаковую химерную последовательность древнего происхождения. Напротив, возраст химерных последовательностей европейского подвида *D.montana ovivororum* не более 140 тыс лет, кроме того, два подвида *D.montana montana* и *D.montana ovivororum* имеют разные химерные последовательности, что позволяет предполагать возникновение новых митохондриальных псевдогенов и инсерций *Tv1* в настоящее время. Полученные данные указывают на геномную нестабильность *D.montana*. В природных популяциях *D.virilis* возникновение новых химерных последовательностей сейчас не выявляется, но сама возможность к этому имеется. Мы показали возникновение новых копий митохондриальных псевдогенов *atp6* и *cox3* и новых инсерций *Tv1* в пересеиваемой клеточной культуре *D.virilis* на протяжении нескольких лет в процессе культивирования, что позволяет различать субклоны данной культуры по специфическим для субклона химерным последовательностям.

## Генотоксический эффект цитостатиков антиметаболического ряда на примере линий дикого типа *Drosophila melanogaster*

О. Н. Антосюк, С. В. Шихова

Уральский федеральный университет им. первого Президента России  
Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Аминоптерин и метотрексат – цитостатики антиметаболического ряда, являющиеся антагонистами фолиевой кислоты, ингибирующие синтез пуринов и пиримидинов соматическими клетками и выступающие в качестве ингибитора фермента дигидрофолатредуктазы. Данные лекарственные препараты используются в терапии онкологических заболеваний. В настоящее время активно изучаются различные системы адресной доставки лекарств на основе различных нанокластеров. В ходе работы использовали метод оценки генотоксического эффекта, включающий: определение плодовитости, частоту ранних и поздних леталей на эмбриональных и постэмбриональных этапах развития. Влияние цитостатиков и изменение их токсического эффекта при совместном применении их с образцами полиоксиметаллата  $Mo_{72}Fe_{30}$  исследовали на двух линиях *D. melanogaster*:

1. “Oregon-R” (лабораторная линия);
2. «Джованни» (линия дикого типа, Екатеринбург).

Обе линии реагируют с некоторыми различиями, в связи с разной генотипической составляющей, со схожей тенденцией в отношении генотоксиканта. Обнаружили, что токсический эффект аминоптерина в отношении плодовитости особей линии “Oregon-R” присутствует (средняя индивидуальная плодовитость (СИП) в контроле 19,7, тогда как СИП при воздействии аминоптеринном 2,22). При совместном воздействии цитостатиков и нанокластерного полиоксометаллата токсический эффект препаратов не изменяется у обеих линий *D. melanogaster*. Эмбриональная летальность повышается при воздействии цитостатиков антиметаболического ряда, а изменение токсического эффекта при совместном применении с нанокластерным  $Mo_{72}Fe_{30}$  зависит от диаметра образцов полиоксиметаллата. На постэмбриональном этапе развития обнаружили увеличение генотоксического эффекта цитостатиков данного типа при совместном использовании с нанокластерным полиоксиметаллатом  $Mo_{72}Fe_{30}$  на личиночной стадии.

Таким образом, установили, что генотоксический эффект цитостатиков антиметаболического ряда (аминоптерин, метотрексат) обнаруживается на всех этапах развития дрозофилы и изменяется в отношении летальности потомства при совместном использовании с нанокластерным полиоксиметаллатом  $Mo_{72}Fe_{30}$ .

## Молекулярно-генетический анализ $\gamma$ - и нейтрон-индуцированных «точковых» и структурных мутаций гена *vestigial Drosophila melanogaster*

К. П. Афанасьева, М. В. Александрова, И. Д. Александров

*Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия*

Как известно, классический период в истории радиационной генетики структурных генов *D. melanogaster* завершился концептуальным обобщением в области генетической природы наследуемых рецессивных мутаций, индуцированных редкоизирующим излучением, с их подразделением на структурные и «точковые» в зависимости от наличия или отсутствия изменения хромосом в области изучаемого гена. Однако, вопрос о молекулярной природе таких мутаций остался открытым, как и вопрос об особенностях генетического действия плотно-ионизирующего излучения. Прогресс молекулярной биологии и генетики *Drosophila melanogaster* позволил подойти к решению этих актуальных для радиационной генетики вопросов. Учитывая сказанное, нами проведен системный анализ «точковых» и структурных мутаций гена *vg* индуцированных разными дозами  $\gamma$ -квантов (5-40Гр) и реакторных нейтронов с  $E_{ср}=0,85\text{МэВ}$  (2,5-20Гр). Анализ 35  $\gamma$ - и 15 нейтрон-индуцированных «точковых» мутаций методом ПЦР выявил для обоих видов радиации наличие 4 типов повреждений ДНК гена (ПЦР<sup>+</sup>, односайтовые, многосайтовые и кластерные) в соотношении специфичном для  $\gamma$ -квантов и нейтронов. Анализ 23  $\gamma$ - и 13 нейтрон-индуцированных структурных мутаций гена этим же методом выявил аналогичные типы изменений ДНК. Сопоставление этих результатов с ранее полученными данными по гибридизации *in situ* показало, что лишь у 6 из 23  $\gamma$ -индуцированных и у 4 из 13 нейтрон-индуцированных структурных мутаций разрыв локализуется внутри гена и сопровождается внутригенными делециями различной величины. При этом остальные изученные структурные мутации имели абберационные разрывы вне гена, которым сопутствовали независимые внутригенные изменения ДНК вышеназванных типов. Обсуждается значение полученных результатов для оценки генетического риска радиации на молекулярном уровне.

## Исследование роли гена *Gagr*, геномного гомолога гена *gag* ретровирусов, в стрессовом ответе у *Drosophila melanogaster*

Е. И. Балакирева, П. А. Махновский, Л. Н. Нефедова, А. И. Ким

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова  
(биологический факультет, кафедра генетики), Москва, Россия

Многие доместичированные гены эукариот, происходящие от генов эндогенных ретровирусов и ретротранспозонов, участвуют в защитных процессах и могут регулироваться иммунными путями, которые консервативны у позвоночных и дрозофилы. Исследование функции и регуляции гена *Gagr*, геномного гомолога гена *gag* ретровирусов *D.melanogaster*, в условиях иммунного или стрессового ответа позволит значительно расширить область знаний об участии доместичированных ретровирусных генов в защитных механизмах не только у беспозвоночных, но и у более сложных живых систем.

В данной работе в качестве индукторов стресса использованы паракват и персульфата аммония, вызывающие окислительный стресс. В условиях окислительного стресса исследован характер экспрессии гена *Gagr*, а также генов-мишеней стрессовых сигнальных путей, маркеров окислительного стресса — *Rel*, *vir-1*, *upd3*, *hid* в зависимости от времени воздействия окислительными агентами у имаго самцов и самок, в различных органах и на стадиях развития. Проведен анализ изоформ транскрипта гена *Gagr*, а также исследован характер ответа на окислительный стресс у имаго самок *D.melanogaster* при нокдауне гена *Gagr*.

Показано, что паракват и персульфат аммония вызывают окислительный стресс и активацию гена *Gagr*, что указывает на возможное участие белкового продукта гена *Gagr* в клеточных процессах, связанных с окислительным стрессом у дрозофилы. Выявлена тканеспецифическая стресс-индуцируемая экспрессия гена *Gagr* при окислительном стрессе в тканях каркаса, но не в кишке, что указывает на его стресс-индуцируемую регуляцию в жировом теле. При исследовании стресс-индуцируемой активации *Gagr* на различных стадиях онтогенеза показано, что индукция имеет место на стадии имаго, но не на стадиях куколки и личинки третьего возраста. Установлено, что изоформы транскрипта гена *Gagr* (*Gagr-A* и *Gagr-B*) имеют различную регуляцию в условиях окислительного стресса. Показано, что при окислительном стрессе нокдаун гена *Gagr* приводит к снижению транскрипции *vir-1* и не вызывает изменений в экспрессии генов *Rel* и *upd3*. Полученные результаты дают возможность сформулировать гипотезу о роли белка *Gagr* в поддержании стрессового состояния клетки, либо в процессе выхода клеток из стрессового состояния с последующей пролиферативной регенерацией.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01250 А.

## Использование GFP-репортеров генов стресс-ответа для предсказания продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*

А. А. Белый<sup>1</sup>, А. А. Москалев<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

<sup>2</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

В настоящее время активно изучаются механизмы обуславливающие индивидуальные различия в скорости старения и продолжительности жизни. Предпринимаются попытки использовать биомаркеры старения, чтобы определять биологический возраст, который может быть использован, как индикатор физиологического состояния и влияния на скорость старения различных факторов. Недавно был предложен новый механизм, наблюдающийся при старении, который получил название спираль смерти. Спираль смерти – это период перед смертью особи, во время которого наблюдается снижение различных биологических показателей, например, активности и плодовитости. Есть вероятность, что и уровень экспрессии определенных генов также значительно изменяется перед смертью, что может служить маркером старения.

В нашей работе мы попытались оценить возможность определения функционального состояния и оставшегося времени жизни особи *Drosophila* с использованием GFP-репортеров 9 генов стресс-ответа (*D-GADD45*, *Stat92ED*, *Defensin*, *Drosomycin*, *Metchnikowin*, *GstD1*, *Hsp22*, *Hsp70* и *mus209/PCNA*). Нами проведена регистрация уровня экспрессии GFP-репортеров у самцов и самок *Drosophila melanogaster*. Отдельные особи мух содержались в пробирках с питательной средой в нормальных условиях. Далее с использованием люминесцентного микроскопа, каждый второй день проводилась регистрация светимости тканей отдельных особей мух от со дня появления имаго и до смерти.

Для анализа полученных данных мы планируем создать математическую модель, описывающую изменение экспрессии GFP-репортеров с возрастом. Наш метод позволит определить корреляцию специфических паттернов экспрессии ряда генов стресс-ответа с возрастом особи и временем ее смерти и предсказывать оставшееся время жизни особей по уровню экспрессии GFP-репортеров.

Преимущество данного метода заключается в том, что становится возможным в быстро и многократно получать данные по состоянию организма, не вызывая при этом каких-либо повреждений или смерти особи. Таким образом становится возможно точно определить особь, которая вошла в этап спирали смерти, прежде чем она действительно умрет.

Работа поддержана проектом программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 15-4-4-23 (руководитель: д.б.н. Москалев А.А.).

## Регуляция транскрипции генов-мишеней арил-гидрокарбоновым рецептором человека в трансгенной линии *Drosophila melanogaster* модулируется эпигенетическими факторами

Ю. Е. Воронцова, А. А. Акишина, Р. О. Черезов, М. С. Слезингер,  
И. Б. Мерцалов, О. Б. Симонова, Б. А. Кузин

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Арил-гидрокарбоновый рецептор (Aryl hydrocarbon receptor, AHR), является важным лиганд-зависимым транскрипционным фактором, сохранившим в процессе эволюции свои структурные и функциональные особенности. В работе мы использовали созданную нами линию дрозофил *UAS-AhR*, трансформированную геном *AhR* человека, поставленным под контроль индуцибельного дрожжевого промотора *UAS*, позволяющего активировать его при помощи GAL4-тканеспецифических драйверов. В отличие от гомолога AHR дрозофилы, не способного активироваться под влиянием экзогенных лигандов, AHR человека можно тканеспецифически активироваться в организме трансгенной мухи. Это позволяет анализировать уровень транскрипции генов-мишеней AHR, содержащих *Xenobiotic Responsible Element (XRE)* в различных органах и тканях, на разных этапах развития дрозофилы. В качестве экзогенных лигандов AHR человека мы использовали индирубин, бета-нафтофлавоин и индол-3-карбозол - известные агонисты, повышающие активность AHR человека. Неожиданно результаты наших экспериментов показали способность экзогенных лигандов-агонистов не только повышать, но и понижать уровень транскрипции генов-мишеней AHR.

Мы предположили, что отсутствие ожидаемого увеличения транскрипции некоторых генов-мишеней AHR вызвано эпигенетическим сайленсингом, за который отвечают продукты генов семейства *Polycomb*. Данная гипотеза была подтверждена в генетических экспериментах на фоне нулевой мутации гена *Polycomb* и при использовании ингибиторов гистоновой деацетилазы HDAC и гистоновой лизин-N-метилтрансферазы. Таким образом, важную и первостепенную роль в функционировании человеческого AHR играет статус хроматина регуляторных областей его генов-мишеней, который может меняться и тканеспецифически, и в зависимости от стадии развития организма. Очевидно, эпигенетические репрессивные метки ограничивают доступность AHR к сайтам связывания в районе подконтрольных ему целевых генов, участвующих в регуляции процессов поддержания гомеостаза и «развитийных» функций; часть из которых имеют статус онкогенов.

Поскольку экзогенные лиганды AHR и ингибиторы эпигенетических модификаторов часто используются в качестве фармацевтических противоопухолевых препаратов, результаты нашей работы необходимо учитывать при разработке новых комбинаций терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-04-00829-а и № 15-04-01917-а и является частью темы государственного задания ИБР РАН № 0108-2016-0002.

## Эволюция и регуляция экспрессии генов *hsp70* у различных семейств двукрылых

Д. Г. Гарбуз, О. Г. Зацепина, М. Б. Евгеньев

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

Белки семейства Hsp70 являются одним из важнейших факторов адаптации организмов к неблагоприятным условиям окружающей среды, в частности, к действию высокой температуры. Был изучен характер экспрессии генов теплового шока группы Hsp70 у четырех семейств двукрылых (Stratiomyidae, Tabanidae, Chironomidae и Ceratopogonidae), а также у некоторых видов рода *Drosophila* (Drosophilidae). Показано, что виды, относящиеся к разным семействам, обладают индивидуальным характером экспрессии генов *hsp70*, который в некоторых случаях может отличаться даже у разных видов, относящихся к одному и тому же семейству. Все виды *Drosophila* характеризуются быстрой индукцией синтеза Hsp70 при тепловом шоке (ТШ), и быстрой деградацией как мРНК, так и белка Hsp70 в ходе восстановления после ТШ (в течение 12-и и 24-х часов соответственно). Большинство описанных видов с подобным паттерном экспрессии генов *hsp70* относятся к короткоживущим, с продолжительностью развития от нескольких дней (*Drosophila melanogaster*) до нескольких недель. У видов Diptera с продолжительным циклом онтогенетического развития (семейства Stratiomyidae и Tabanidae) в отличие от видов с короткой личиночной стадией Hsp70 характеризуется высокой стабильностью и сохраняется в клетках в течение длительного времени после ТШ. Скорость протеолиза Hsp70 при этом не зависит от его аминокислотной последовательности и определяется общей скоростью обменных процессов у разных видов.

Показано, что виды Diptera, адаптированные к постоянному или периодическому действию высоких температур, характеризуются повышенным уровнем Hsp70 по сравнению с близкородственными видами, обитающими в умеренных температурных условиях. Высокий уровень Hsp70 у термоадаптированных видов обусловлен компактной структурой кластера генов *hsp70*. Предположительно, такая геномная организация генов *hsp70* имеет адаптивное значение за счет более интенсивной транскрипции близко расположенных копий вследствие кооперативного взаимодействия. У холодолюбивых видов, не подвергающихся действию высоких температур в естественных условиях обитания, гены *hsp70* в геноме находятся на значительных расстояниях друг от друга; часть копий генов *hsp70* при этом подвергаются псевдогенизации вследствие отсутствия конверсии между генами при их расположении на больших расстояниях.

Промоторы генов *hsp70* разных видов двукрылых, ранее считавшиеся высококонсервативными в плане способности обеспечивать транскрипцию в клетках широкого спектра видов, используют различные молекулярные механизмы активации транскрипции при ТШ, связанные с модификацией хроматина.



## Цитоскелет и связанные с ним факторы в синцитиальные периоды развития *Drosophila*

Е. В. Голубкова, А. А. Ацапкина, В. Р. Гинанова, С. Ф. Кливер,  
А. О. Якимова, Л. А. Мамон

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Синцитиальные стадии развития являются характерной особенностью онтогенеза дрозофилы. Например, в сперматогенезе *D.melanogaster* в результате трех последовательных синхронных митотических и двух мейотических делений образуются цисты, состоящие из 64 клеток, претерпевших неполный цитокинез. Удивительна синхронизация процессов, протекающих в каждом элементе синцития. Синхронность, как и равные условия развития всех элементов синцития, обеспечиваются единой цитоскелетной сетью, связывающей все элементы синцития. Она создает единое информационное пространство, в котором все продукты экспрессии генов распределяются равномерно между клетками. В раннем эмбриогенезе *D.melanogaster* в общей цитоплазме происходят деления ядер, не отделенных друг от друга клеточной мембраной. Деление ядер происходит очень быстро и тоже удивительно синхронно. Отсутствие клеточной стенки не отменяет относительной обособленности цитоплазматических доменов, принадлежащих каждому ядру синцитиального эмбриона. Эта обособленность создается благодаря белкам цитоскелета - прежде всего, актину и тубулину. Переходы от одной стадии ядерного цикла к другой связаны с динамическими изменениями цитоскелета при отсутствии транскрипции зиготического генома. В этих условиях элементы цитоскелета способны расти (воспроизводиться) и распределяться между дочерними ядрами (размножаться) благодаря присутствию соответствующих мРНК. Долгоживущие, локализованные мРНК сохраняются и транспортируются в цитоплазме в составе сложных РНП-комплексов. Состав этих РНП-частиц весьма разнообразен и зависит от типа клеток, от стадии клеточного цикла, от физиологического состояния клетки и др. Среди белков, входящих в состав таких РНП-комплексов находится и белок NXF1 (Nuclear eXport Factor). Основная функция данного белка - это экспорт мРНК из ядра в цитоплазму. По нашим данным он выполняет и специализированные функции, помимо основной. Для разных аллелей гена *DmNxf1* или *small bristles* у *Drosophila* характерны аллелеспецифичные доминантные эффекты, проявления которых затрагивают структуру мейотического веретена, ранние эмбриональные митозы, цитокинез в сперматогенезе. Нами показана локализация белка SBR не только в ядре, но и в цитоплазме, маркирующая характерные цитоплазматические структуры. Среди партнеров белка SBR (*Dm NXF1*) в цитоплазме, по-видимому, находятся мРНК, обеспечивающие деления ядер и участвующие в динамических преобразованиях цитоскелета.

## Изучение активности PRE-элементов у *Drosophila melanogaster*

Ф. В. Горбенко, М. М. Ерохин

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

Способность организмов регулировать экспрессию генов в пространстве и во времени критична для образования многоклеточного организма. Белки группы PcG (Polycomb) являются консервативными регуляторами транскрипции генов. Белки PcG собираются на специальных местах в геноме, которые называются PREs (Polycomb Response Elements), и участвуют в поддержании неактивного состояния многих генов. При этом, на модельных системах *Drosophila* для многих PREs показана способность к переключению с репрессии транскрипции на ее активацию. Такое переключение является одним из механизмов установления правильного паттерна экспрессии генов в ходе развития и до сих пор плохо изучено.

В многочисленных работах по изучению работы PREs использовались трансгенные линии *Drosophila*, в которых место интеграции конструкции было неизвестно. В нашей работе используются линии *Drosophila* с картированными attP сайтами, что позволяет вставлять интересующую конструкцию в predetermined место за счет сайт-специфической рекомбинации. Такой подход позволяет интегрировать как разные конструкции с PREs в одно и то же место в геноме, так и одну и ту же конструкцию в разные места в геноме. Наличие или отсутствие активности PREs в данном месте в геноме устанавливается по характеру экспрессии репортерного гена *white*, отвечающего за окраску глаз у *Drosophila*.

В ходе проделанной работы подтверждено, что активность PREs зависит от геномного контекста: одна и та же конструкция с PRE активна в одних линиях и неактивна в других линиях *Drosophila*. Также в работе выдвинута гипотеза, что сайты связывания белка CTCF рядом с PRE, связав CTCF, способны изменить структуру хроматина и активировать PRE в данном месте в геноме.

## Родительский эффект при генезисе когнитивных нарушений у *Drosophila melanogaster*: роль гена *limk1*

С. А. Горохова<sup>1</sup>, Е. А. Никитина<sup>1, 2</sup>, Е. В. Токмачева<sup>1</sup>, А. В. Медведева<sup>1</sup>,  
Е. В. Савватеева-Попова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
Санкт-Петербург, Россия

Изучение этиологии и патогенеза социально-значимых болезней – одна из актуальных проблем нейрологии и медицины. Как при спорадических, так и семейных случаях происходят изменения экспрессии большого числа генов, в первую очередь контролирующих функции актинового цитоскелета. Использование животных моделей дает возможность изучать механизмы функциональных нарушений, лежащих в основе этих заболеваний, а также разрабатывать терапевтические подходы. Удобной моделью для исследования связи между организацией генома и архитектурой хромосом, реализуемой в когнитивных нарушениях, является дрозофила. В частности, линия *agnostic*, несущая мутацию по гену *limk1*. LIMK1 – ключевой фермент ремоделирования актина - участвует в клеточной сигнализации и узнает белки семейств рецепторов и ионных каналов. Мутация *agn<sup>ts3</sup>* локализована в пределах района 11В X-хромосомы дрозофилы, который содержит ген CG1848 для LIM-киназы 1. Данная мутация нарушает оборонительное ольфакторное обучение, а также обучение и память при условно-рефлекторном подавлении ухаживания у самцов. Исследования в области изучения роли родительских геномов в экспрессии генов потомства показали необходимость учитывать материнский и отцовский эффект в построении прогностических моделей. В предварительных исследованиях показано, что характерная для мутанта организация ядра закладывается на ранних этапах эмбриогенеза, совпадающих с формированием гетерохроматиновых районов хромосом. Согласно литературным данным, между вторым и третьим часом эмбрионального развития происходит смена программ развития с материнской на зиготическую, второй этап разрушения материнских мРНК происходит через 12 часов после оплодотворения. В качестве материала исследования нами были использованы реципрокные гибриды *agn<sup>ts3</sup>* x *Berlin/Berlin* x *agn<sup>ts3</sup>* и *agn<sup>ts3</sup>* x *Cs/Cs* x *agn<sup>ts3</sup>* *Drosophila melanogaster*. В качестве контроля использовали линии дикого типа *Berlin* и *Canton s*. При изучении способности к обучению и памяти у реципрокных гибридов *agn<sup>ts3</sup>* x *Cs/Cs* x *agn<sup>ts3</sup>* оказалось, что формирование памятного следа демонстрирует патроклинное наследование. Тот же эффект наблюдали для гибридов *agn<sup>ts3</sup>* x *Berlin/Berlin* x *agn<sup>ts3</sup>*. Представленные данные позволяют заключить, что для каждой линии характерен свой паттерн формирования негомологичных контактов с районом 11В. Диски политенных хромосом неоднородны по способам регуляции эктопического спаривания. Часть из них, по-видимому, регулируется генами материнского происхождения, часть – отцовского.

## Роль инсулинового сигнального пути в эндокринном стресс-ответе *Drosophila melanogaster*

Н. Е. Грунтенко, И. Ю. Раушенбах

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Элементами эндокринного стресс-ответа имаго *Drosophila melanogaster* являются катехоламины (дофамин и октопамин), ювенильный гормон (ЮГ) и 20-гидроксиэкдизон (20Э), играющие у имаго гонадотропную роль. Еще одним механизмом, включающимся в ответ на неблагоприятные воздействия и обеспечивающим устойчивость к стрессу, является сигнальный путь инсулиноподобных факторов роста (ИФР). Большинство изменений в сигнальном пути ИФР и нейро - гуморальном статусе *D. melanogaster*, возникающих в неблагоприятных условиях, являются универсальными и не зависят от вида стрессора. Влияние различных элементов сигнального пути ИФР дрозофилы, таких как инсулиноподобные пептиды, транскрипционный фактор dFOXO, инсулиноподобный рецептор dInR и ортолог его субстрата, CHICO, на гормональный статус насекомого предполагает наличие ИФР-регуляции метаболизма катехоламинов, реализуемого через сигнальный путь ЮГ. Также существует обратная связь во взаимодействии ЮГ и ИФР: ЮГ выполняет функцию позитивного регулятора сигнального пути ИФР, тогда как последний негативно регулирует уровень ЮГ. По крайней мере один из механизмов участия ИФР в контроле стресс-устойчивости дрозофилы опосредуется через сигнальные системы ЮГ и дофамина.

## Влияние активации генов циркадных ритмов на продолжительность жизни и скорость старения *Drosophila melanogaster*

Е. В. Добровольская<sup>1</sup>, И. А. Соловьев<sup>2</sup>, А. А. Москалев<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

<sup>2</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

[dobrovolskaya.evgenia@gmail.com](mailto:dobrovolskaya.evgenia@gmail.com)

Циркадные ритмы – это универсальная сложноорганизованная система, которая является интегрирующим фактором, синхронизирующим физиологические и биохимические процессы, обеспечивая адаптацию организма к постоянно меняющимся условиям окружающей среды (Kondratov, Antoch, 2007). Эндогенные и экзогенные факторы могут приводить к большому количеству повреждений, следствием чего является десинхронизации циркадных ритмов (Oklejewicz et al., 2008). Ранее установлено, что экспрессия некоторых ключевых генов циркадных ритмов изменяется при старении (Rakshit et al., 2013). Мы предположили, что индукция экспрессии генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *Clock*, *cycle*, *timeless*) у особей *Drosophila melanogaster* компенсирует возраст-зависимое снижение активности исследуемых генов и повысит устойчивость к стресс-факторам. Для сверхактивации генов циркадных ритмов использовали *UAS-GAL4* систему с *GeneSwitch* драйвером *Gal4*, который активируется с помощью мифепристона (RU486). Нами установлено, что мутация гена *cryptochrome* приводит к снижению устойчивости *Drosophila melanogaster* к голоданию на 33-35 % ( $p < 0.001$ ) и сокращению продолжительности жизни у самцов на 16-20 % ( $p < 0.001$ ). Выявлено снижение активности большинства изученных генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *cycle*, *timeless*) у старых особей линии *w<sup>1118</sup>* *Drosophila melanogaster* по сравнению с особями среднего возраста. Показано, что сверхактивация генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *cycle*, *timeless*, *Clock*) в мышцах на фоне ограничительной диеты самцов и самок вызвала снижение медианной продолжительности жизни на 5.1–61% ( $p < 0.01$ ), исключением является ген *tim*, активация которого привела к увеличению продолжительности жизни на низкокалорийной среде. Сверхактивация генов *cryptochrome* и *cycle* в жировом теле у особей, содержащихся на низкокалорийной среде, вызвала увеличение медианной продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* на 20.8 % и 8.7 % ( $p < 0.001$ ), соответственно. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что сверхэкспрессия генов циркадных ритмов в нервной системе может увеличивать продолжительность жизни, в условиях интенсивного стресса (оксидативного стресса, гипертермии, голодания) в большинстве случаев происходит повышение выживаемости при нарушении суточных ритмов. Кроме того, в условиях нарушения работы генов-регуляторов циркадных ритмов (режим освещения, режим питания) ограничительная диета сглаживает отрицательные эффекты за счет увеличения амплитуды экспрессии генов циркадных ритмов.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-34-00734 и грантом Президиума УрО РАН № 15-4-4-23.

## Визуализация углеродных наноструктур в тканях личинок *Drosophila melanogaster* с помощью репортера теплового шока

Г. Д. Дубатолова<sup>1</sup>, О. А. Гурова<sup>2</sup>, Л. В. Омелянчук<sup>1</sup>, Е. В. Шляхова<sup>2</sup>, А. В. Окотруб<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

Предложен простой метод детектирования проникновения углеродных наноматериалов (УНМ) в ткани личинок *D.melanogaster*. Метод основан на поглощении света УНМ и последующем их нагревании до температур, достаточных для активации реакции «теплового шока» (ответная реакция клетки на стресс) в тканях *D.melanogaster*.

Исследуемые многослойные углеродные нанотрубки (МУНТ) и нанохорны (УНХ) были получены в ИНХ СО РАН. МУНТ были синтезированы методом каталитического химического осаждения из газовой фазы, УНХ – методами электродугового испарения графита в инертной атмосфере и испарения графитовой мишени электронным пучком с энергией 2 МэВ. Химическая обработка наноматериалов приводила к модификации их поверхности и укорочению УНТ. Полученные наноструктуры были охарактеризованы методами оптической спектроскопии и сканирующей электронной микроскопией. Также были изучены термические свойства структурных и морфологических особенностей водных суспензий. Из оптических спектров поглощения и кривых нагревания показано, что структура и модификация поверхности УНМ влияют на поглощение и последующее нагревание образцов в суспензии. После модификации размер исходных нанотрубок уменьшился в ~100 раз, показано что модификация также приводит к разрушению агломератов УНХ.

Внедрение УНМ в ткани личинок третьего возраста *D.melanogaster*, гетерозиготных по  $P\{w[+mC]=GAL4-Hsp70.PB\}89-2-1$  и  $P\{w[+mC]=UASGFP.nls\}8$ , осуществлялось через питательную среду. Далее личинок облучали ИК – лазером (плотность мощности 10-100 мВт на мм<sup>2</sup>). Нагретые таким образом наноматериалы запускали механизм реакции «теплового шока», регистрируемый по индукции экспрессии генетического репортера UAS-GFP. Через 4 часа наблюдалось свечение GFP-репортера - белка, синтезированного в ответ на «тепловой шок». Показано, что все исследуемые УНМ способны проникать в ткани личинок *D.melanogaster* – это видно по флуоресцентному сигналу GFP. Подобраны образцы и их концентрации, при которых уровень свечения GFP в органах и тканях, а следовательно, и проникновение в организм дрозофилы были максимальны.

Исследование поддержано программой СО РАН № 0310-2016-0009.

## Эпигенетическое наследование изменения состояния лабораторной популяции *Drosophila melanogaster* при действии кобальта

Е. А. Ерофеева

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет  
им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Возможность эпигенетического наследования эффектов различных химических загрязнителей в популяциях живых организмов, когда потомству передаются изменение экспрессии генов, но не первичной структуры ДНК (мутации), до сих пор остается крайне малоисследованной проблемой. В связи с этим нами было изучено данное явление в лабораторной популяции *D. melanogaster* при действии кобальта. Основными антропогенными источниками поступления этого тяжелого металла в биосферу являются горнодобывающая промышленность и автотранспорт. В поколении родителей в питательную среду опытных групп добавляли хлористый кобальт – 0.5 мг% Со (Опыт 1) и 2 мг% Со (Опыт 2). В среде контрольной группы токсикант отсутствовал. Мух F1 контрольной и опытных групп выращивали на питательной среде без кобальта. В каждой группе было 15 пробирок, при этом в одну пробирку помещали 5 самок и 3 самца нормальной линии Oregon-R. В поколении родителей и F1 оценивали массу самцов и самок, соотношение полов, плодовитость. В обеих концентрациях кобальт вызывал значительное снижение плодовитости у поколения родителей ( $p < 0.05$ ), получавшего его с пищей (до 2 раз по сравнению с контролем для 2 мг% Со) и не влиял на остальные показатели ( $p > 0.05$ ). У мух F1, выращенных на нормальной питательной среде, родители которых получали кобальт, также наблюдались отклонения ряда показателей от контрольных значений. Потомки мух, подвергавшихся воздействию низкой концентрации Со 0.5 мг%, наследовали сниженную плодовитость (на 33% меньше чем у контроля;  $p < 0.05$ ). Эффект высокой концентрации токсиканта (2 мг% Со) в отношении данного показателя не наследовался. Кроме того, у самцов и самок F1, являвшимися потомками мух, получавших высокую концентрацию токсиканта, наблюдалось некоторое снижение массы тела относительно контроля в этом же поколении ( $p < 0.05$ ), хотя у родителей кобальт на массу тела не влиял. Выявленные изменения изученных признаков у F1 не могли быть вызваны мутациями, так как они имели массовый характер, а мутации наблюдаются у отдельных особей, их также нельзя связать с действием отбора, поскольку воздействию кобальта подвергалось всего одно поколение мух и использованные концентрации не относились к диапазону летальных. Следовательно, выявленные у F1 снижение массы и плодовитости были вызваны наследованием генов с измененной экспрессией, вследствие воздействия кобальта на геном клеток зародышевого пути родительского поколения. Распространение выявленного феномена при действии различных доз и видов химических поллютантов и его молекулярные механизмы требуют дальнейших исследований. Результаты исследования демонстрируют влияние эпигенетической наследственности на приспособленность особей в популяции и, следовательно, на необходимость изучения данного явления в популяциях различных видов живых систем при действии разнообразных факторов среды.

## Взаимосвязь продолжительности жизни и характеристик жизнеспособности у видов рода *Drosophila*

Н. В. Земская<sup>1, 2</sup>, А. А. Москалев<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

<sup>2</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина,  
Сыктывкар, Россия

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет),  
Долгопрудный, Россия

<sup>4</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия

[zemnadezhd@gmail.com](mailto:zemnadezhd@gmail.com)

Существуют доказательства связи между стрессоустойчивостью и долголетием среди различных линий одного вида живых организмов. Долгоживущие линии часто относительно более устойчивы к различным видам стресса. В то же время короткоживущие мутанты модельных организмов, напротив, гиперчувствительны к неблагоприятным факторам среды. Анализ генетических данных при сравнении разных видов внутри одного рода между собой может дать информацию о механизмах долголетия и стрессоустойчивости, развившихся в процессе эволюции. Мы исследовали 12 видов рода *Drosophila*, оценили их продолжительность жизни, длительность предимагинального развития, массу тела имаго, фертильность и стрессоустойчивость. Исследуемые показатели имеют положительную (длительность развития, масса тела, стрессоустойчивость) или отрицательную (фертильность) корреляцию с видовой продолжительностью жизни. Виды дрозофил предоставлены В. Гладышевым (Гарвардская школа медицины, Бостон, США).

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Молекулярно-генетические механизмы взаимосвязи стрессоустойчивости и продолжительности жизни на модели *Drosophila melanogaster*» гос. регистрации № 115012130067, при финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН по теме «Экологическая генетика, транскриптомика и метаболомика продолжительности жизни и стрессоустойчивости 13 видов рода *Drosophila*» № 15-4-4-23, № гос. регистрации 115082010010 и темы НИР «Сохранение коллекций экспериментальных животных для фундаментальных исследований».



**Возрастные изменения локомоторного поведения у дрозофилы,  
ассоциированные с нарушением кинуренинового пути  
метаболизма триптофана**

П. Н. Иванова<sup>1</sup>, А. В. Журавлев<sup>2</sup>, Е. А. Никитина<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Кинурениновый путь метаболизма является одним из важных путей обмена триптофана в организме. Триптофан выполняет большое количество функций и является продуктом для синтеза многих необходимых соединений. Метаболиты кинуренинового пути обмена триптофана оказывают активное влияние на развитие нейропатологий. Некоторые метаболиты кинуренина непосредственно способствуют нейродегенеративным изменениям в мозге, а некоторые обладают нейропротекторными свойствами. 3-гидроксикинуренин (3-НОК) на сегодняшний день рассматривается как метаболит, обладающий нейротоксичным эффектом. Поэтому исследования возможных биологически активных эффектов 3-НОК являются в современной науке крайне актуальными. В настоящее время большое количество нейродегенеративных заболеваний, для которых характерен прогресс с течением возраста, связывают с нарушением кинуренинового пути. В связи с этим целью данной работы было исследование возрастных изменений поведения у дрозофилы, ассоциированных с нарушением кинуренинового пути метаболизма триптофана. Исследования проводили с привлечением следующих линий дрозофилы: *Canton-S* (*CS*; дикий тип) и *cardinal* (*cd*; мутантная линия с накоплением 3-гидроксикинуренина). Спонтанное локомоторное поведение взрослых самцов обеих линий регистрировали в течение 1 часа в возрасте 5, 13, 21 и 29 суток. Анализировали координаты траекторий движения мух, вычисляли средние значения параметров локомоции для каждой линии: общую длину траектории, индекс активности, частоту инициации побежки, скорость побежки и общую скорость движения. В нашей работе показано, что средние значения параметров локомоции у самцов *cd* ниже, чем у самцов дикого типа; в особенности на интервале 13-29 суток частота побежки у *CS* выше, чем у *cd*. Таким образом, можно предположить негативное влияние на локомоторное поведение накопления 3-НОК. Это позволяет рассматривать мутантную линию *cd* как модель возраст-зависимых локомоторных изменений.

## Анализ транскрипционной активности *CHD1*-мутантов *Drosophila melanogaster*

Ю. А. Ильина, А. Ю. Конев

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия

Ремоделирование хроматина – процесс, состоящий из различных этапов и осуществляющийся большим числом различных комплексов. Одним из таких этапов является сборка хроматина, имеющая ключевое значение для функционирования генома. Сборка хроматина осуществляется с помощью гистоновых шаперонов и АТФ-зависимых факторов. Первое свидетельство вовлеченности АТФ-зависимых факторов в *in vivo* независимую от репликации сборку хроматина было получено при анализе роли белка *CHD1* в реорганизации мужского пронуклеуса. При изучении мутантов *Dr. melanogaster*, сверхэкспрессирующих нативную и каталитически неактивную форму белка *CHD1* в лаборатории генетики эукариот ОМРБ были обнаружены значительные изменения в структуре политенных хромосом слюнных желез. Наблюдаемые деформации обусловлены появлением декомпактизованных участков хромосом (пуфов) *de novo* и одновременным присутствием пуфов, в норме характерных для различных сменяющих друг друга пуфовых стадий.

В данной работе мы проанализировали влияние сверхэкспрессии нативной и каталитически неактивной форм белка *CHD1* на транскрипцию генов в районах 68С, 3С и 90В. В указанных районах расположены гены *Sgs3*, *Sgs4* и *Sgs5*, кодирующие секрет слюнных желез. Известно, что профиль их экспрессии изменяется от экстремально высоких значений на 5-6 пуфовой стадии до минимальных к нульчасовой предкуколке. Полученные нами данные показали, что у изучаемых мутантов *CHD1* транскрипция *Sgs*-генов резко снижена на 5-6 стадии по сравнению с контрольной линией дикого типа *OregonR*, а на стадии предкуколки отмечен небольшой рост экспрессии. В изучаемых цитологических районах расположены группы генов, поэтому при изучении генов из района 3С мы проанализировали профили экспрессии генов *ng2* и *Pig1*, сильно экспрессирующихся на 5-6 пуфовой стадии и «молчащих» у предкуколки. И в случае с изменениями в профилях экспрессии генов *ng2* и *Pig1* мы получили значительную разницу между влиянием сверхэкспрессирующейся нативной формы и доминантнегативной формой белка *CHD1*. При сверхэкспрессии *CHD1* дикого типа транскрипция *ng2* подавлена, а при экспрессии доминантнегативного *CHD1* произошло резкое (в 7 раз) увеличение транскрипционной активности и на 5-6 и на 10-й пуфовой стадиях. В случае с геном *Pig1* изменения профилей транскрипции были в целом аналогичны дикому типу, но у гиперэкспрессирующего мутанту форму *CHD1* особей на стадии личинки происходит 5-кратное снижение экспрессии *Pig1*.

Следовательно, экспрессия различных форм *CHD1* может вызывать ген-специфические изменения транскрипционной активности, зависящие от того, является ли этот белок активным или нет.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-99583.

## Вклад исследований на дрозофиле в изучение нейробиологических основ социального поведения

*Н. Г. Камышев*

*Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Социальное поведение у дрозофилы представлено, в основном, двумя формами – агрессивными взаимодействиями особей и ухаживанием, заканчивающимся успешной или неуспешной копуляцией. Обе формы реализуются либо при случайной встрече особей, либо в составе агрегаций, куда дрозофилы обоего пола привлекаются запахом бродящих фруктов.

Изучению агрессии и поведения ухаживания у дрозофилы посвящено множество работ. Достигнуты значительные успехи в установлении нейронных и генных сетей, реализующих поведение ухаживания. Найден ряд ключевых нейрохимических факторов, модулирующих агрессивность самцов дрозофилы. Все эти достижения найдут отражение в предлагаемом сообщении.

Гораздо меньшее внимание в литературе было уделено физиологическим и поведенческим *последствиям* социального поведения. В основном, это касается закрепления статуса победителя при последовательных стычках самцов. Многократно подтверждены данные об усилении интенсивности ухаживания при содержании самцов в изоляции с момента вылупления из куколки. По аналогии с млекопитающими эти данные всегда интерпретируются как последствия социального (изоляционного) стресса. Эта точка зрения подвергается критике в настоящем докладе.

Рассматриваются данные, полученные в лаборатории автора, о последствиях содержания самцов дрозофилы в однополых группах по сравнению с самцами, всегда содержавшимися поодиночке. Выявлены два эффекта группового содержания. Первый состоит в подавлении двигательной активности, которое обнаруживается при длительном тестировании (более 2,5 часов) и сохраняется до 5-ти суток после изъятия самцов из группы. Второй эффект, который сохраняется у самцов дрозофилы, как минимум, в течение 5-ти часов после изоляции, проявляется в снижении интенсивности ухаживания самца за самкой, что, в принципе, было известно и ранее. Однако мы впервые обнаружили, что самцы, имеющие предшествующий социальный опыт, активно избегают столкновения с самкой. Приводятся результаты исследований, проливающие свет на механизмы возникновения обоих эффектов предварительного содержания самцов в группе.

**Взаимодействие TREX-2 комплекса и белка Orc3 дрозофилы,  
субъединицы пререпликативного комплекса ORC  
с компонентами мРНК частицы**

*Д. В. Копытова, В. В. Попова, А. А. Глухова*

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

В данной работе мы показали, что комплекс экспорта мРНК TREX-2 осуществляет свои функции только в ядре. С использованием метода соосаждения РНК, который позволяет выборочно извлекать комплекс РНК-белок из образца, мы показали, что комплекс элонгации транскрипции TREX взаимодействует с мРНК гена *tubulin56D* на всем протяжении. Белок кэпирования – Cbp80, кроме структуры кэпа, взаимодействует с последовательностью мРНК гена *tubulin56D*, соответствующей участку кодирующей части мРНК. С этим же фрагментом РНК обнаруживает связывание комплекс экспорта мРНК из ядра в цитоплазму – TREX-2. Таким образом, мы локализовали место на мРНК гена *tubulin56D*, с которым происходит связывание всех рассматриваемых комплексов. Мы выявили, что белки комплекса TREX-2 взаимодействуют с белками комплексов CBC и TPO – Cbp80 и Thoc5 соответственно, а также с белком Nxf1 в реакциях иммунопреципитации. Мы предполагаем, что упакованная в определенную структуру мРНК гена *tubulin56D* привлекается к TREX-2 комплексу через взаимодействие со всеми этими факторами, которые образуют мегакомплекс. Этот мегакомплекс взаимодействует с различными частями мРНК, которые пространственно сближены.

В другой части работы мы исследовали прямое связывание некоторых белков комплексов TREX-2 и ORC с фрагментами мРНК гена *ras2* с использованием метода EMSA. Ранее мы показали, что белки этих двух комплексов взаимодействуют с мРНК гена *ras2* в реакциях иммунопреципитации РНК (RIP-CHIP). В данной работе мы экспрессировали белки: Xmas-2, N-концевая часть Xmas-2, C-концевая часть белка Xmas-2, PCID2, Orc3, слитые с GST-эпитопом. Белки были почищены с помощью глутатион-сефарозы. Реакции связывания белков проводились с мРНК гена *ras2*. Мы показали, что белки Xmas-2, PCID2, Orc3 напрямую взаимодействуют с мРНК гена *ras2*. Специфичности связывания белков Xmas-2 и Orc3 с каким-либо фрагментом мРНК гена *ras2* найдено не было. Мы предполагаем, что белки Xmas-2 и Orc3 не определяют место посадки комплекса на мРНК, а отвечают за усиление взаимодействия РНК-связывающих комплексов ORC и TREX-2 с мРНК. При исследовании взаимодействий белка PCID2 с фрагментами мРНК гена *ras2* мы выявили специфическое связывание этого белка с фрагментом мРНК гена *ras2*, соответствующим 3'-некодирующей области гена. Таким образом, мы нашли белок, который, возможно, отвечает за узнавание места посадки комплекса TREX-2-ORC на мРНК.

## Характеристика репродуктивности линий *Drosophila melanogaster* с нарушением контроля мобильных генетических элементов группы *gypsy*

И. В. Кукушкина, П. А. Махновский, И. В. Кузьмин, Н. И. Романова,  
Л. Н. Нефедова, А. И. Ким

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова  
(биологический факультет, кафедра генетики), Москва, Россия

В работе исследовали репродуктивность изогенных линий *D. melanogaster* с нарушенным контролем транспозиции ретротранспозонов группы *gypsy* - SS и MS (линии *flamenco*, из коллекции кафедры генетики биологического факультета МГУ им. Ломоносова), одна из которых (MS) имеет в геноме активные копии ретротранспозона *gypsy*. Присутствие активных копий *gypsy* может прямо или опосредованно нарушать работу других генов и влиять на продолжительность жизни, плодовитость, поведение и другие характеристики линии. В качестве контрольных линий использовали линии  $w^1$ , Д-32 (линия дикого типа) и гибриды первого поколения MS с контрольными линиями. Оценивали половое поведение самцов исследуемых линий, плодовитость самок MS в зависимости от линии партнера для спаривания и самок контрольных линий при скрещивании с самцами линии MS. У имаго линий SS и MS исследовали транскриптом с помощью высокопроизводительного секвенирования РНК. Различия в экспрессии отдельных генов были подтверждены с помощью количественной ПЦР для выборки отдельных особей.

Обнаружено, что у самцов MS нарушено половое поведение относительно других исследуемых линий. Тем не менее, низкая плодовитость у самок линии MS не зависит от линии партнера для спаривания. Скрещивание самцов линии MS с самками других линий не приводит к снижению плодовитости. Таким образом, низкая плодовитость самок линии MS определяется нарушением функции репродуктивной системы самок и зависит от наличия активной копии ретротранспозона *gypsy*. Исследование транскриптомов линий SS и MS выявило различия в экспрессии 88 генов, из которых экспрессия 50 генов снижена у линии MS. Среди них наиболее представленной функциональной группой оказались гены со специфической экспрессией в фолликулярных клетках яичников, в том числе гены *Vm26Aa*, *Cp16*, *Fcp3C* и *psd*. Кроме этого, наблюдаются различия в экспрессии генов, связанных с ответом на стресс (*CG8147*, *tobi*, *CG3397*, *vir-1*).

Таким образом, наличие активной копии ретротранспозона *gypsy* у линии MS с нарушенным контролем транспозиции МГЭ вызывает нарушение репродуктивной функции у самок. Проявление этого фенотипа не является систематическим, что выражается в высокой плодовитости, нормальном состоянии фолликулов и экспрессии фолликулярных транскриптов на высоком уровне у отдельных особей. Тем не менее для некоторых генов наблюдается исключительно низкая экспрессия у особей линии MS, что указывает на систематическое нарушение, которое может влиять на репродуктивную функцию у самок и половое поведение у самцов.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01250 А.

## **Эпизоды быстрого восстановления функциональной активности гена *Dras1* в эволюционной истории удаленных видов дрозофил**

*А. М. Куликов, А. И. Чекунова, С. Ю. Сорокина*

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Показано, что в ходе эволюции молекулярных некодирующих последовательностей генома, в том числе области промотора и регуляторных последовательностей гена, могут происходить «мгновенные» эволюционные преобразования, за промежуток времени, соответствующий нескольким поколениям. Такие преобразования представляют собой полную замену значительных фрагментов последовательности, при быстром восстановлении функциональной активности гена. Анализ изменчивости регуляторной области гена *Dras1* и его ортологов у видов дрозофил разной степени родства из подродов *drosophila* и *sophophora* выявил неоднократную смену промотора, точки старта транскрипции и всей регуляторной области гена на разных ветвях филогенетического дерева дрозофил. Изменения структуры последовательности связано с инсерциями мобильных элементов и в ряде случаев – с сопровождающими их структурными перестройками хромосомы. Исследуемая модель характеризуется строгим функциональным и структурным консерватизмом кодируемого геном белка, и летальным характером 0-аллелей, исключая экспрессию данного гена. Транспозиции мобильных элементов в область промотора приводят к формированию аллелей гена с летальным эффектом или, по крайней мере, с резко сниженными показателями жизнеспособности. В природе такие аллели сохраняются исключительно в гетерозиготном состоянии и теряются вследствие генетико-автоматических процессов. Отмеченная смена промотора и регуляторной части должна сопровождаться восстановлением функциональной активности гена в течение ограниченного числа поколений.

## TRF4 – новый TBP-подобный белок *Drosophila melanogaster*

М. М. Куршакова, Д. В. Копытова

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

У многоклеточных существуют белки с высокой гомологией к коровому домену TBP (TBP-подобные факторы), которые участвуют в связывании с регуляторными элементами промоторов и общими факторами транскрипции. В ходе поиска TBP-подобных белков в организме *D.melanogaster* был обнаружен ранее не охарактеризованный белковый продукт гена CG9879, названный нами TRF4. Работа посвящена исследованию белка TRF4 и его функции в контексте развития представлений о функциональном различии TBP-подобных факторов. Ген *trf4* кодирует один транскрипт, который синтезируется в тканях личинок третьего возраста, куколок *D.melanogaster* и в семенниках самцов. TRF4 детектируется в виде двух белков - размером около 55 кДа и 40 кДа, причем в семенниках самцов экспрессии 40 кДа-формы белка не наблюдается. 55 кДа-форма TRF4 модифицирована убиквитином. TRF4 локализуется преимущественно в цитоплазме S2 клеток, а также в цитоплазме клеток эмбрионов и семенников. TRF4 не имеет сигнала ядерной локализации. TRF4 отличается от других описанных TBP-подобных белков, для которых показано участие в инициации транскрипции и формировании хроматина, а стадийспецифичная и тканеспецифичная экспрессия TRF4 указывает на его роль в развитии дрозофилы. Поэтому было осуществлено выделение TRF4-содержащих комплексов из цитоплазматического экстракта, полученного из куколок *D.melanogaster*. В результате были очищены три комплекса, частично перекрывающиеся по белковому составу и функциональным свойствам входящих белков. Белки LSP1, LSP2, FBP1 и несколько других, которые присутствовали в выделенных комплексах, были найдены и в составе протеома липидных капель. Можно предположить, что TRF4 может входить в состав или взаимодействовать с липидными каплями, причем различные комплексы могут отражать разные стадии участия TRF4 в липидном метаболизме.

## Роль гетерохроматиновых белков семейства HP1 в контроле активности ДКП-ретротранспозонов группы *gypsy Drosophila melanogaster*

*А. Р. Лавренов, И. В. Кузьмин, Л. Н. Нефедова, А. И. Ким*

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова  
(биологический факультет, кафедра генетики), Москва, Россия*

Контроль перемещений ретротранспозонов — важный аспект поддержания стабильности эукариотического генома. Среди механизмов регуляции активности мобильных генетических элементов (МГЭ) значительную роль играют гетерохроматиновые белки семейства HP1. Предполагается, что в регуляторной последовательности МГЭ имеются участки, инициирующие связывание с гетерохроматиновыми белками и последующую компактизацию всей последовательности МГЭ. Целью нашей работы было исследование взаимодействия трех белков семейства HP1 (HP1a, HP1b, HP1c) с регуляторными последовательностями МГЭ группы *gypsy* у *D. melanogaster*.

Получены рекомбинантные белки HP1a, HP1b и HP1c. Затем, в качестве матрицы для связывания белков, получены амплификаты, содержащие 5'-нетранслируемые области элементов *ZAM*, *Tirant*, *17,6*, *rover*, *gypsy* и *Springer*. В ходе исследования проведены эксперименты по взаимодействию полученных белков с регуляторными последовательностями *in vitro*.

Установлено, что белки HP1a (маркер гетерохроматина) и HP1b (маркер эухроматина) эффективно связываются с 5'-нетранслируемой областью ретротранспозонов, имеющих в ее составе тандемные повторы, белок HP1c (маркер эухроматина) связывается только с 5'-UTR МГЭ *Tirant* и *ZAM*. Обнаружено, что повторы абсолютно необходимы для связывания белка HP1a с 5'-UTR МГЭ *Tirant* и *ZAM*. Отсутствие повторов в случае элемента *ZAM*, или их число менее двух — в случае *Tirant* — делает невозможным такое взаимодействие. Таким образом, наличие тандемных повторов в 5'-UTR ДКП-ретротранспозонов группы *gypsy* является важным инструментом регуляции их транспозиции гетерохроматиновыми белками.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-00729 мол\_а и 17-04-01250 А.



## **Экдизон активирует транскрипцию генов по различным молекулярным механизмам**

*М. Ю. Мазина<sup>1</sup>, Е. В. Кочерыжкина<sup>1</sup>, П. К. Дервянко<sup>1</sup>, Ю. В. Николенко<sup>2</sup>,  
А. Н. Краснов<sup>2</sup>, Н. Е. Воробьева<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Группа динамики транскрипционных комплексов,  
Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Группа по изучению связи транскрипции и транспорта мРНК,  
Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

Активация транскрипции генов до сих пор остается одним из наименее исследованных процессов, протекающих в клетке под воздействием индуцирующих сигналов. Предметом настоящего исследования является ответ клеток дрозофилы на воздействие гормона 20-гидроксиэкдизона. В полногеномных экспериментах нами было обнаружено, что гены экдизонового ответа в клетках дрозофилы находятся в состоянии высокой степени готовности к воздействию индуцирующего сигнала. Промоторы экдизон-зависимых генов в неактивном состоянии содержат значительное количество РНК полимеразы II. Активация транскрипции таких генов приводит одновременно к увеличению уровня связывания РНК полимеразы II и возрастанию степени ее фосфорилирования. Мы обнаружили, что активация транскрипции генов под воздействием 20-гидроксиэкдизона протекает по различным молекулярным механизмам на разных генах. В основе одного механизма лежит привлечение дополнительного количества РНК полимеразы II на промотор гена на ранних этапах его активации. Мы обнаружили, что данный процесс сопровождается привлечением значительного числа коактиваторов транскрипции, а также относительно слабыми изменениями в структуре хроматина, окружающего промотор. Второй механизм активации транскрипции основан только на стимулировании процесса элонгации, характеристикой которого является изменение степени фосфорилирования РНК полимеразы II. Он сопровождается значительными изменениями в хроматине и сравнительно слабыми изменениями в количестве коактиваторов транскрипции, присутствующих на промоторе. Наше исследование показало, что процесс активации транскрипции генов дрозофилы 20-гидроксиэкдизоном состоит из нескольких последовательных стадий, стимулирующих отдельные этапы транскрипционного процесса. Молекулярные механизмы активации транскрипции могут значительно отличаться на разных генах, не смотря на индукцию их единой сигнальной молекулой.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 14-14-01032).

## Механизмы специализации транспортных рецепторов семейства NXF (Nuclear Export Factor) у *Drosophila melanogaster*

Л. А. Мамон, В. Р. Гинанова, С. Ф. Кливер, А. О. Якимова, Е. В. Голубкова

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Наиболее древним и эволюционно-консервативным геном семейства *nxf* является ген *nxfl*, который отвечает за ядерный экспорт различных мРНК у большинства эукариот. Эта функция является универсальной, а белок NXF1 относят к транспортным рецепторам мРНК. У *D.melanogaster* эту универсальную функцию выполняет ген *sbr* (*small bristles*). В ядре NXF1 взаимодействует с мРНК через различные адапторные молекулы, не обнаруживая специфичности по отношению к разным типам мРНК. Полагают, что гены-паралоги семейства *nxf* взаимодействуют в цитоплазме с особыми долгоживущими мРНК. Такие мРНК особенно многочисленны в сперматогенезе, оогенезе, нейрогенезе и раннем эмбриогенезе. У млекопитающих существуют белки-паралоги семейства NXF, специфичные для мозга, семенников или эмбрионов. У *D.melanogaster* мы впервые выявили многообразие транскриптов гена *sbr* (*Dm nxfl*), среди которых есть такие, которые присутствуют только в тканях мозга, семенников или яичников. Органо-специфичным транскриптам соответствуют белки, не содержащие последовательностей, необходимых для выполнения универсальной функции. Мы впервые идентифицировали у *D.melanogaster* семенниково-специфичный транскрипт и соответствующий ему белок SBR. О существовании специализированных функций в клетках мозга, семенников, яичников и в период раннего эмбрионального развития свидетельствует характерная цитоплазматическая локализация белка SBR.

Эволюционно-консервативной особенностью гена *nxfl* у разных организмов является существование транскрипта, сохраняющего один и тот же интрон. Интрон, сохраняемый в транскрипте генов *nxfl* у позвоночных, имеет четыре эволюционно-консервативных участка. Среди этих участков - СТЕ (constitutive transport element), которая способствует ядерному экспорту транскрипта, сохранившего интрон. В интроне, сохраняемом в транскрипте гена *sbr*, СТЕ отсутствует. Спецификой *Drosophilidae* является присутствие в сохраняемом интроне двух протяженных последовательностей поли-А, что, по нашему мнению, способствует ядерному экспорту интрон-содержащего транскрипта гена *sbr*. Интрон-содержащему транскрипту генов *nxfl* соответствует укороченный белок с неизвестными функциями. Изучение особенностей биогенеза интрон-содержащего транскрипта и функций укороченного белка представляет особый интерес в связи с тем, что в тканях мозга не только дрозофилы, но и млекопитающих содержание транскрипта гена *nxfl*, сохранившего интрон, превышает содержание полностью сплайсированного транскрипта. Поскольку все альтернативные укороченные белки SBR содержат РНК-связывающий домен, это предполагает их специализацию в отношении различных мРНК-мишеней в цитоплазме.

## Тканеспецифичная роль гена *swiss cheese* в нейродегенерации у особей *Drosophila melanogaster*

П. А. Мелентьев, Е. В. Рябова, Н. С. Вашурина, С. В. Саранцева

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия

Ген *swiss cheese (sws)* *Drosophila melanogaster* является эволюционно консервативным, его ортологи могут быть найдены как у бактерий, так и у эукариот: от дрожжей до человека. Мутации в гене *sws* приводят к нейродегенерации, при этом нормальная функциональная активность данного гена необходима для жизнеспособности и работы не только нервных, но и глиальных клеток. Экспрессия *sws* обнаружена в аксонах нейронов и в пресинаптических окончаниях нейромышечных соединений у личинок дрозофилы третьего возраста, в нейронах и глиальных клетках мозга имаго. Нокдаун *sws*, вызванный тканеспецифичной РНК-интерференцией в нервных клетках, приводит к прогрессирующей с возрастом нейродегенерации, нарушению локомоторной активности и значительному снижению продолжительности жизни. Несмотря на то, что показана функция SWS как фосфатидилхолин-лизофосфолипазы и регуляторной субъединицы протеинкиназы А, ингибирующей каталитическую субъединицу РК<sub>А</sub>-С3, механизмы нейродегенерации и нейрон-глиальных взаимодействий, регулируемых *sws*, остаются неизвестными.

Для описания изменений, происходящих в клетках нервной системы при нокдауне *sws*, мы провели транскриптомный анализ пула мРНК самцов дрозофилы в возрасте 30 дней жизни, используя микрочипы, которые позволяют оценить уровень 18952 генов. Экспрессию генов у гибридов *elav-Gal4;UAS-RNAi-sws+* (нокдаун *sws+* в нейронах) сравнивали с таковой в контроле (*CantonS*).

Нами показано увеличение представленности транскриптов 403 генов, контролирующих восприятие света, фототрансдукцию, метаболизм ретинола, фоторепарацию, метаболизм аминокликанов, аминокислот, а также глутатиона и ксенобиотиков. Кроме того, обнаружено уменьшение экспрессии 913 генов, регулирующих аденилатциклазную активность, метаболизм АДФ, метаболизм углеводов и гликолиз, гаметогенез и организацию веретена деления, стабильность микротрубочкового цитоскелета, контроль продолжительности жизни. Полученные результаты помогут найти потенциальных партнёров *sws* и установить генетические сети, в которых *sws* принимает участие.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-09041.

## Исследование функций белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) с использованием трансгенных линий дрозофилы

Д. В. Муха

*Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Денсовирус рыжего таракана *Blattella germanica* (BgDV1) был нами открыт в начале этого века. Показано, что геном вируса представлен одноцепочечной линейной ДНК (5335 н), кодирующей информацию о трех регуляторных белках (NS1, NS2, NS3) и трех капсидных белках (VP1, VP2, VP3). Описаны регуляторные элементы вирусного генома и стратегия сплайсинга РНК. Биологические функции вирусных белков остаются до конца не познанными.

Для изучения механизмов реализации генетической информации вирусного генома, участия белков вируса во взаимодействии с клеткой хозяина и антивирусных реакций инфицированного организма удобным объектом исследования являются трансгенные дрозофилы, способные экспрессировать заданные вирусные белки и различные их сочетания.

Нами получены трансгенные линии дрозофил, содержащие в заданных сайтах генома интегрированные копии кДНК всех регуляторных и капсидных белков изучаемого вируса. Принцип активации экспрессии трансгена – GAL-UAS система.

Проведен анализ транскрипции чужеродного генетического материала у трансгенных особей дрозофил, экспрессирующих кДНК капсидных белков VP2 и VP3 денсовируса рыжего таракана. Показано, что большая часть РНК капсидного белка VP2 (в отличие от РНК капсидного белка VP3) подвергается сплайсингу, описано три сплайс-варианта. Методом секвенирования нового поколения (NGS) определены примерные количественные соотношения между выявленными сплайс-вариантами.

Показано, что экспрессия гена капсидного белка VP2 с измененным методом сайт-направленного мутагенеза донорным сайтом сплайсинга РНК (при сохранении последовательности аминокислот анализируемого белка) приводит к формированию новых сплайс-вариантов РНК.

Методами NGS и амплификации в реальном времени выявлены различия паттернов генных активностей (транскриптомов) между трансгенными особями дрозофил, экспрессирующих нативную последовательность кДНК капсидного белка VP2 и последовательность кДНК VP2 с нарушенным сигналом ядерной локализации (NLS). Показано, что экспрессия вирусных последовательностей, кодирующих белок с нативным сигналом NLS, связана с ослаблением транскрипционной активности генов, ответственных за врожденный иммунный ответ дрозофилы. Предполагается, что белок VP2 относится к категории «moonlighting proteins», и помимо основной функции (формирование вирусных капсид) может участвовать в регуляции генной активности, ослабляя защитные функции инфицированного организма.

## Дрозофила как модель нейродегенеративных заболеваний

*Е. А. Никитина<sup>1, 2</sup>, А. В. Медведева<sup>1</sup>, А. В. Журавлев<sup>1</sup>, Г. А. Захаров<sup>1</sup>,  
Е. В. Токмачева<sup>1</sup>, С. А. Горохова<sup>1</sup>, П. Н. Иванова<sup>2</sup>, Б. Ф. Щеголев<sup>1</sup>,  
Е. В. Савватеева-Попова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

Актуальной проблемой современной нейронауки является понимание этиологии и прогрессирования спорадических нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), таких как болезнь Альцгеймера (БА), Паркинсона (БП), Хантингтона (БХ), и делеционно-дупликационных синдромов, называемых многофакторными болезнями (МБ). МБ являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов и индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни. Среди диагностических признаков НДЗ выделяют три основных, выраженных при разных заболеваниях в различной степени: 1) нарушение памяти, 2) моторную дисфункцию и 3) образование белковых агрегатов. Именно эта триада симптомов должна быть воспроизведена при создании животных моделей НДЗ. Сами эти модели необходимы в связи с тем, что этиология НДЗ остается малопонятной, часто окончательная постановка диагноза возможна только на посмертных образцах мозга пациентов. Животные модели, особенно с коротким жизненным циклом, позволяют изучать механизмы функциональных нарушений, лежащих в основе НДЗ человека, большинство из которых являются болезнями старения, и помогают в разработке терапевтических подходов. К таким модельным объектам относится дрозофила. Секвенирование геномов человека и дрозофилы выявило, что более 70% локусов человека, связанных с развитием наследственных заболеваний, имеют аналоги у *D. melanogaster*. Молекулярная основа патологических процессов, влекущих развитие НДЗ и иных функциональных расстройств, едина у млекопитающих и высших беспозвоночных. Это обуславливает удобство использования дрозофилы в качестве модельного объекта при изучении молекулярно-физиологических механизмов нормальных и патологических процессов, протекающих в центральной нервной системе (ЦНС). Нами предложен оригинальный комплексный подход к изучению диагностических признаков НДЗ, сочетающий методы анализа формирования памяти, а также локомоторной активности (с использованием оригинальных установок), иммуногистохимический анализ распределения компонентов сигнальных каскадов в различных органах дрозофилы (в том числе с использованием конфокальной микроскопии), молекулярно-генетические методы и биоинформационный анализ.

**Изучение двойной роли РНК-хеликазы DDX3 в поддержании  
и дифференцировке мужских герминальных клеток  
на модели *Drosophila melanogaster***

Л. В. Оленина<sup>1</sup>, Б. К. Годнеева<sup>1, 2</sup>, О. М. Оленкина<sup>1</sup>,  
М. В. Кубанов<sup>1</sup>, А. А. Котов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

[olenina\\_ludmila@mail.ru](mailto:olenina_ludmila@mail.ru)

Наше исследование посвящено изучению функций DEAD-бокс содержащей РНК-хеликазы Belle (DDX3) в сперматогенезе *Drosophila melanogaster*. Нарушение экспрессии гомологичного белка человека DBY (DDX3) приводит к потере герминальных клеток семенников и бесплодию, при сохранении соматических клеток ниши и известно как Сертоли-клеточный синдром. Нарушение экспрессии Belle также приводит к отсутствию герминальных клеток, в том числе стволовых, в семенниках самцов дрозофилы. Семенники мутантов *belle* значительно редуцированы в размере, но сохраняют функциональные соматические клетки. Мы показали, что в основе ранней потери герминальных клеток у мутантов *belle* лежит апоптоз. Закладка гонад у мутантных самцов проходит нормально: у личинок третьего возраста присутствуют герминальные клетки на всех домейотических стадиях сперматогенеза, но при этом наблюдается уменьшение их численности. Мы обнаружили в семенниках мутантов арест клеточного цикла в G2 фазе ранних герминальных клеток, а также существенное снижение транскрипции и трансляции митотических циклинов A и B. Эктопическая экспрессия дополнительной копии циклина B на фоне РНКi-нокдауна Belle в герминальных клетках приводит к частичному спасению герминальных клеток и восстановлению фертильности у самцов.

С другой стороны, RNAi-нокдаун Belle в соматических клетках семенников приводит к формированию больших кластеров стволовоподобных герминальных клеток, которые бесконтрольно и асинхронно пролиферируют, но не вступают в дальнейшую дифференцировку. Гиперплазия ранних герминальных клеток сопровождается нарушением адгезионных контактов между герминальными клетками и соматическими клетками цисты. Мы показали, что нарушение формирования цист приводит к гиперактивации сигнального пути BMP в герминальных клетках кластеров. Эктопическая экспрессия трансгенной копии белка клеточной адгезии бета-интегрин на фоне РНКi-нокдауна Belle в соматических клетках приводила к 80% восстановлению нормального фенотипа и подавлению опухообразной гиперплазии ранних герминальных клеток. Таким образом, наши данные свидетельствуют о двойственной роли РНК-хеликазы Belle в процессе сперматогенеза и о существенных клеточно-автономных и неавтономных ее функциях в герминальных и соматических клетках семенников.

## Русский нейрогенетик Л. И. Корочкин, его оригинальные ксенотрансплантации с использованием эмбрионов дрозофилы

Г. В. Павлова, А. В. Ревущин

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

Известный русский нейрогенетик Л.И.Корочкин много лет посвятил исследованиям нервной системы дрозофилы. Он являлся одним из известнейших специалистов в данном направлении. Одним из необычных направлений его исследований было изучение возможности образования нервных контактов между нейральными клетками дрозофилы и клетками позвоночных (хвостатых и безхвостых амфибий и млекопитающих). Л.И. Корочкин доказал возможность сосуществования нейронов столь отдаленных таксонов *in vivo*. В лаборатории Л.И. Корочкина был выделен аллель гена Notch – Notch<sup>84k35</sup>, специфическим морфогенетическим проявлением которого является нейрогенная трансформация не только вентральной, но и дорзальной эктодермы. В результате этого вся эктодермальная закладка трансформируется в нервную ткань. Корочкин обнаружил, что в случае мутации Notch<sup>84k35</sup> вся поверхность эмбриона была покрыта нервной тканью – нейропилем и перикарионами. Корочкин и Савельев в 1990 году трансплантировали вентральную нейрогенную закладку мутантов Notch *Drosophila melanogaster* в нервную трубку зародышей сибирского углозуба *Hynobius keyseplingi* и шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. В результате гистологический анализ показал, что в большинстве случаев трансплантат локализовывался в полости III желудочка головного мозга амфибий. Клетки трансплантата легко адаптировались к составу спинномозговой жидкости амфибий. Лучше всего трансплантаты выживали и дифференцировались в нервной трубке сибирского углозуба. В желудочках мозга трансплантированные клетки нейральной закладки дрозофилы дифференцировались и образовывали несколько типов морфологических структур. Наиболее характерным типом дифференцировки трансплантата было формирование выраженного нейропиля. Было показано, что дифференцированные клетки нейральной закладки дрозофилы образуют аксон-дендритные связи с клетками мозга амфибий, а также, что клетки донора и реципиента мигрируют навстречу друг другу. Отдельные клетки трансплантата проникают в мозг реципиента и дифференцируются. При этом нервные клетки дрозофилы сохраняли заданные генотипом морфологические особенности. Кроме того, ксенотрансплантат оказывает определенный эффект на поведение реципиентов-лягушек. Было показано, что число выходов из лабиринта лягушек с химерным мозгом было в два раза больше, чем у контрольных. Успешные ксенотрансплантации клеток дрозофилы в мозг амфибий стимулировали эксперименты по трансплантации их в мозг млекопитающих – мышей и крыс. Дальнейшие работы уже проводились с использованием нейротрофических факторов. Подобные исследования Л.И.Корочкин рассматривал, как возможность стимулировать приживание трансплантатов без образования глиального рубца.

## Роль нейрональных транскрипционных факторов в контроле продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*

О. Ю. Рыбина<sup>1, 2</sup>, Н. В. Рощина<sup>1, 3</sup>, А. В. Симоненко<sup>1</sup>, А. В. Кременцова<sup>1, 4</sup>,  
Е. Р. Веселкина<sup>1</sup>, Е. Г. Пасюкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный педагогический университет,  
Институт биологии и химии, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup> Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН, Москва, Россия

Нервная система играет ключевую роль в поддержании структурного и функционального гомеостаза, целостности организма и контроле сложных системных признаков, включая продолжительность жизни (ПЖ). Свойства нервных клеток, обуславливающие их специализированные функции, возникают в процессе развития и поддерживаются в течение жизни благодаря работе нейрональных генов. Ранее мы показали, что ряд генов (*stc*, *Lim3*, *esg* и другие), кодирующих нейрональные транскрипционные факторы, участвует в контроле ПЖ *Drosophila melanogaster*. Прямые доказательства этого участия были получены в экспериментах с мутациями/реверсиями и тканеспецифической сверхэкспрессией и РНК-и нокдауном этих генов.

Выявленная в природных популяциях изменчивость регуляторных областей исследуемых генов была ассоциирована с изменением уровня транскрипции и ПЖ, причем значимые полиморфные сайты были расположены в районах предполагаемого связывания регуляторных белков, в том числе глобальных регуляторов транскрипции. Анализ экспрессии репортерных конструкций в культуре клеток дрозофилы, в эмбрионах и у взрослых мух подтвердил функциональность выявленного полиморфизма.

Изменение экспрессии исследуемых генов только на эмбриональной стадии меняло ПЖ, что указывает или на эпигенетическое наследование информации в ряду клеточных поколений, или на роль заложенных в эмбриогенезе структурных свойств нервной системы в контроле ПЖ. Изменение уровня экспрессии транскрипционного фактора должно приводить к изменению транскрипции многих первичных и вторичных генов-мишеней. В эмбрионах были выявлены гены-мишени *Lim3* и *stc*, связанные с контролем митохондриальных функций и энергетического гомеостаза, что указывает на возможные молекулярные механизмы влияния *Lim3* и *stc* на ПЖ. Все полученные данные позволяют нам высказать предположение о том, что нейрональная транскрипционная сеть является одним из регуляторов ПЖ.



**Подавление экспрессии гена альфа-синуклеина человека  
в мозге *Drosophila melanogaster* супрессирует развитие нейропатологии,  
характерной для болезни Паркинсона**

*С. В. Саранцева, И. М. Голомидов, О. И. Большакова, С. И. Тимошенко*

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся дисфункцией и гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции мозга и образованием телец Леви. Основным компонентом телец Леви является белок альфа-синуклеин. Биологические функции альфа-синуклеина до сих пор остаются малопонятными. Для анализа функций альфа-синуклеина, в данной работе была использована модель болезни Паркинсона *Drosophila melanogaster*. Были использованы следующие линии мух, несущие разные формы гена альфа-синуклеина человека: *UAS-SNCA.WT* – содержит ген альфа-синуклеин дикого типа, *UAS-SNCA.A30P* – содержит ген альфа-синуклеин с мутацией, приводящей к замене А30Р, *UAS-SNCA.A53T* – содержит ген альфа-синуклеин с мутацией, приводящей к замене А53Т. Для экспрессии альфа-синуклеина только на стадии имаго была использована система Target, позволяющая экспрессировать гены на определенной стадии развития дрозофилы. Экспрессия альфа-синуклеина проводилась в нервных клетках дрозофилы в течение двух недель при 29 °С, далее экспрессия была остановлена и развитие продолжалось при 18 °С. В первый день после вылупления, сразу же после остановки экспрессии и через две недели после остановки проводили анализ влияния экспрессии альфа-синуклеина по таким параметрам, как 1) уровень экспрессии синаптических белков; 2) нейродегенерация в мозге; 3) гибель дофаминергических нейронов. Было показано, что экспрессия альфа-синуклеина сопровождалась снижением экспрессии синаптических белков, а также гибелью дофаминергических нейронов и прогрессирующей общей нейродегенерацией. После остановки экспрессии альфа-синуклеина уровень экспрессии синаптических белков не восстанавливался. Также наблюдалось замедление нейродегенерации. Таким образом, супрессия экспрессии альфа-синуклеина частично останавливала нейропатологию.

**Эффекты продления жизни, вызванные у особей *Drosophila melanogaster* нейрон-специфичной сверхэкспрессией генов-регуляторов циркадных ритмов в условиях различных режимов освещения**

И. А. Соловьев<sup>1, 2</sup>, Е. В. Добровольская<sup>2</sup>, А. А. Москалев<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

<sup>2</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

Экспрессия генов циркадных ритмов значительно изменяется в процессе старения животных. Мы проанализировали динамику возрастных изменений транскрипционной активности генов *cry*, *clk*, *per*, *cyc*, *tim* дрозофилы линии *w<sup>1118</sup>*, доступные данные по линии *Canton-S* и сравнили их с профилями экспрессии гомологичных и ортологичных последовательностей характерными для других животных, в результате было выявлено угнетение экспрессии генов центрального осциллятора с возрастом [1]. В настоящей работе предпринята попытка повлиять на процессы старения и формирования стресс-ответа на непрерывное освещение *D.melanogaster* посредством компенсации зависимой от возраста недостаточности экспрессии в нервной системе. Для сверхактивации генов использовалась UAS-GAL4 RU486-индуцибельная система. В ходе исследования были изучены параметры продолжительности жизни (ПЖ) дрозофил, проживавших в режиме 12 ч свет/ 12 ч темнота, а также непрерывного освещения (на фоне индукции экспрессии в нервной системе). Прирост медианной ПЖ составил 11,2 % у самцов линии со сверхэкспрессией гена *cyc* ( $p < 0.001$ ). Увеличение времени 90%-ой смертности отмечалось у самцов, сверхэкспрессирующих *per2.4* и составило 24% ( $p < 0.0001$ ). Самки со сверхактивированным *cry12* показали 11,8%-ый прирост времени 90%-ой смертности ( $p < 0.0001$ ). Самки линии со сверхэкспрессией гена *cry24* показали медианную продолжительность жизни на 33,3% больше контрольной группы ( $p < 0.0001$ ), 11% составил у них прирост времени 90% смертности ( $p < 0.0001$ ). Увеличение медианной ПЖ на 25% было обнаружено и в случае со сверхактивацией у самок *per2.4* ( $p < 0.05$ ), а также у линии, сверхэкспрессирующей *per10* на 6,4% соответственно ( $p < 0.05$ ). Отметим эффект 16,4%-ого увеличения возраста 90%-ой смертности у самок линии, сверхэкспрессирующей при индукции мифепристоном *tim* ( $p < 0.0001$ ), наряду с приростом медианной ПЖ у них же, составляющим 6,25% ( $p < 0.001$ ). Таким образом получены убедительные доказательства способности генов циркадных ритмов снижать негативные эффекты непрерывного освещения.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-34-00734 и грантом Президиума УрО РАН № 15-4-4-23.

## Филогенетические отношения видов “*melanogaster*” рода *Drosophila*

В. Н. Стегний

Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
Томск, Россия

Установление филогенетических отношений между видами подгруппы “*melanogaster*” является одной из сложных проблем в биологии дрозофилы. На основе данных по структуре политенных хромосом слюнных желез, экологии, этологии, электрофоретической подвижности ферментов различных локусов, сателлитных и митохондриальных ДНК построено немало часто противоречащих друг другу кладограмм. На базе фиксированных инверсий, различающих виды подгруппы *melanogaster*, было построено филогенетическое древо [Ashburner, Lemeunier, 1976], где *D. melanogaster* находилась в терминальном положении. Однако, в более поздней работе [Lemeunier, Ashburner, 1984], опираясь на данные по инверсионному полиморфизму *D. melanogaster*, приняли его за стволовой вид по отношению к *D. simulans*, *D. mauritiana* и *D. sechellia*. На основе близости разрывов полиморфной инверсии с фиксированными инверсиями авторы предполагали, что видообразование связано с фиксацией гомозиготы полиморфной инверсии. Проведенная нами проверка данных по локализации полиморфной и фиксированной инверсий у *D. melanogaster* показала, что точки разрывов этих инверсий не совпадают на несколько дисков. Полиморфные инверсии адаптивного ранга не имеют отношения к видообразованию, а фиксированные (видоспецифические) инверсии возникают в процессе сальтационного видообразования при системной мутации (реорганизации связей хромосом с ядерной оболочкой), что было нами выявлено в комплексе “*Anopheles maculipennis*”. Вид *D. melanogaster* однозначно можно рассматривать как терминальный в филогенетической схеме видообразования, а виды *D. sechellia* и *D. mauritiana* – как стволовые. Вид *D. simulans* также является терминальным, но по другой ветви. Анализ трехмерной организации хромосом трофоцитов яичников у видов подгруппы “*melanogaster*” выявил четыре типа организации ядер трофоцитов: 1) с локальным хромоцентром (*D. orena*); 2) с диффузным хромоцентром (*D. simulans*, *D. sechellia* и *D. erecta*); 3) с визуальным отсутствием хромоцентра (*D. mauritiana*, *D. yakuba*, *D. santomea* и *D. teissieri*); 4) с хромосомами, связанными с оболочкой ядра (*D. melanogaster*) (Стегний, 1993, 2017). Видовые особенности архитектуры хромосом связаны с различиями в количестве и распределении гетерохроматина, сателлитной ДНК и МГЭ в хромосомах. У *D. melanogaster* выявлено их сильное «диспергирование» по хромосомам, у *D. simulans* оно выражено слабее, а у стволовых видов *D. sechellia* и *D. mauritiana* сателлитная ДНК и МГЭ в основном концентрируются в прицентромерном гетерохроматине (Jagannathan et al., 2017; Стегний, 2017).

## Анализ транскрипционной активности генов сегментации в сравнении с картинами экспрессии на уровне белка

С. Ю. Суркова, А. Б. Соколкова, К. Н. Козлов, М. Г. Самсонова

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
Санкт-Петербург, Россия

В ранних эмбрионах *Drosophila melanogaster* цикла 14А проведена пространственно-временная оценка транскрипционной активности генов *giant (gt)*, *hunchback (hb)* и *even skipped (eve)* в сравнении с их экспрессией на уровне белка. Часть эмбрионов была мечена одновременно на белковый продукт гена-регулятора (транскрипционный фактор) и мРНК гена-мишени. Анализ проведен для эмбрионов дикого типа, нуль-мутантов по гену *Kruppel (Kr)* и гетерозигот *Kr+/Kr-*. На основе пространственного распределения транскрипционно активных ядер в эмбрионах выявлен различный характер инициации транскрипции для областей экспрессии генов *gap* и *pair-rule*. Изучена вариабельность транскрипционной активности гена *eve* в формирующихся полосах экспрессии в ходе цикла 14А. Рассмотрена колокализация транскрипционной активности генов, являющихся взаимными репрессорами.

Детальное сравнение картин экспрессии генов *gt*, *hb* и *eve* на уровне мРНК и белка указывает на значительную роль саморегуляции и посттранскрипционной регуляции в функционировании сети генов сегментации.

Изучение пространственной динамики областей экспрессии генов показало существенную разницу в антериорно-постериорных позициях областей экспрессии гена *gt* на уровне мРНК и белка у эмбрионов *Kr-*. У гетерозигот *Kr+/Kr-* в начале цикла 14А постериорные области экспрессии всех рассмотренных генов имеют пространственные координаты, близкие к таковым у нуль-мутантов. В ходе цикла 14А эти области сдвигаются к позициям дикого типа, однако сохраняют повышенный уровень позиционной вариабельности, свойственный для нуль-мутантов. Наблюдаемые сдвиги, возможно, приводят к тому, что гетерозиготы, в отличие от нуль-мутантов по *Kr*, сохраняют пропорции тела и выживают. В то же время, повышенная пространственная вариабельность экспрессии может вести к часто наблюдаемым у гетерозигот дефектам развития.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-04-01665. Мы благодарим С. В. Нуждина, Е. В. Голубкову и Л. А. Мамон.

## **Биотестирование генетической активности факторов среды с использованием дрозофилы**

*А. Н. Тарасюк*

*Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина,  
Брест, Беларусь*

В связи с развитием новых технологий интенсивность влияния различных факторов на человека возрастает, поэтому необходимо постоянно осуществлять оценку их генетической активности. В генетическом мониторинге окружающей среды в последнее время всё большее значение приобретают методы биотестирования, которые обладают высокой чувствительностью, экспрессностью, надежностью, универсальностью и малой себестоимостью. Удобным объектом для проведения биотестирования является дрозофила, которая хорошо изучена генетически и доступна в разведении.

Традиционно под генетической активностью фактора понимают его способность индуцировать мутации. Однако не менее важным показателем, характеризующим такую активность, на наш взгляд, является его способность оказывать влияние на процесс рекомбинации. Частота рекомбинации может существенно изменяться под действием различных физических и химических факторов, что позволяет рассматривать её как чувствительный интегративный показатель для оценки их генетической активности.

В наших исследованиях анализ изменений рекомбинационных показателей у дрозофилы используется для биотестирования генетической активности различных факторов среды. В качестве модельной системы взяты блоки сцепленных генов различных хромосом, также изучается квазисцепление генов. Проводится оценка частоты кроссинговера между сцепленными генами и её изменений при действии различных факторов, главным образом антропогенной природы. К числу факторов, прошедших тестирование на генетическую активность за многолетний период исследований, относятся радиоактивное излучение ( $\gamma$ -лучи и X-лучи), УФ-излучение, высокая температура, соли тяжёлых металлов (ртути, свинца), нитраты, некоторые пищевые добавки и антибиотики. Установлен или подтверждён факт генетической активности по изменению рекомбинационных показателей для большинства перечисленных выше факторов. Основные закономерности действия факторов следующие: незначительные концентрации (дозы) приводят к увеличению частоты кроссинговера, тогда как высокие концентрации (дозы) обуславливают снижение показателя, в ряде случаев статистически значимое. Обсуждаются возможные генетические последствия изменений рекомбинационных показателей.

## Исследование тканевой и клеточной специфичности функций серин-треониновой протеинкиназы GSK3 бета у *Drosophila melanogaster*

М. В. Гростников<sup>1, 2</sup>, Н. В. Рощина<sup>1, 2</sup>, С. В. Болдырев<sup>2</sup>, Е. Р. Веселкина<sup>1</sup>,  
А. В. Кременцова<sup>1, 3</sup>, Е. Г. Пасюкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН, Москва, Россия

Серин – треониновая протеинкиназа GSK3 участвует в работе многих сигнальных путей и метаболических каскадов и поэтому является активно разрабатываемым объектом исследований. Тем не менее, несмотря на пристальное внимание к данному белку, многие детали его работы остаются неизвестными. Так, предполагается, что ген *shaggy*, кодирующий гомолог GSK3 beta человека у дрозофилы, образует 17 транскриптов, однако исследован лишь один из них. Неясно, являются ли остальные транскрипты функциональными, одинаково ли важна экспрессия всех транскриптов для различных тканей и стадий развития, какой уровень экспрессии является оптимальным. Используя продолжительность жизни (ПЖ) как интегральный признак, отражающий уровень гомеостаза организма, его жизнеспособность и стрессоустойчивость, мы исследовали функциональную роль четырех различных транскриптов гена *shaggy*. Оказалось, что влияние уровня экспрессии *shaggy* на ПЖ зависит от того, в какой степени и в какой ткани изменено количество определенного транскрипта. Так, сильное увеличение транскрипции RB в нервной системе и жировой ткани приводит к снижению ПЖ, а в мышцах – не влияет на признак. В то же время слабое уменьшение транскрипции RB в жировой ткани увеличивает ПЖ. Транскрипт RA специфичен для мышц, а транскрипт RO – для эмбрионов. Выяснилось также, что изменение транскрипции RB в нейронах различной специфичности по-разному влияет на ПЖ. Например, слабое увеличение транскрипции в мотонейронах и слабое уменьшение в дофамин-эргических нейронах увеличивают ПЖ самок. Умеренное увеличение и уменьшение транскрипции в пептид-, ГАМК-, глутамат- и холинэргических нейронах не влияет на ПЖ самок, а у самцов – снижает ее. Таким образом, роль GSK3 бета в отдельных классах нейронов различна, что отражает специфику их функций в составе нервной ткани. Полученные результаты позволяют перейти к более детальному изучению молекулярных механизмов, определяющих особенности функционирования GSK3 бета в различных нейронах, в том числе описанию эффектов в отношении структуры и функции нервных клеток. Проведенная нами работа уже показала, что сильное увеличение экспрессии GSK3 бета в нервной системе в целом затрагивает функции синапсов, цитоскелета и митохондрий.

## Эффекты нокдауна гена *CG15630 (fipi)* в обонятельных нейронах на параметры песни ухаживания самцов дрозофилы

С. А. Федотов, Ю. В. Брагина, Н. Г. Беседина, Л. В. Даниленкова,  
Е. А. Камышева, Н. Г. Камышев

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Ранее нами было установлено, что нокдаун гена *CG15630* в нервных клетках *Drosophila melanogaster* приводит к сокращению межимпульсного интервала (МИИ) в песне ухаживания самцов дрозофилы. Данный ген содержит домены, гомологичные доменам генов из семейства NSAM белков, и предположительно связан с нейрональными мембранами. Тестирование линии с инсерцией Р-элемента в первом экзоне гена, а также линии с делецией кодирующей части первого экзона также выявило уменьшение МИИ, что определило данное нами гену *CG15630* название – *factor of interpulse activity*, сокращенно *fipi*. Для раскрытия механизмов участия *fipi* в определении величины МИИ, нами была выполнена оценка нарушений экспрессии гена методами ОТ-ПЦР и нозерн-блоттинга. Было обнаружено, что нокдаун *fipi* и Р-инсерция в первом экзоне сопровождаются существенным подавлением экспрессии гена. В то же время делеция в районе кодирующей части первого экзона *fipi* приводит к образованию аномального транскрипта размером приблизительно 5000 п.н., который сохраняет в норме участок в районе 2-7 экзонов, однако не обнаруживает сокращенного делецией участка между первым и вторым экзонами. Далее вестерн-блоттингом было установлено, что как в случае с нокдауном гена *fipi*, так и в случае с делецией в первом экзоне наблюдается многократное снижение в голове самцов дрозофилы уровня белка, кодируемого *fipi* (FIP1). Используемые антитела против FIP1 были получены для эпитопа в районе второго экзона и детектировали полипептид весом около 62 кДа. Посредством локального нокдауна было уточнено, что эффекты от нарушения экспрессии *fipi* могут определяться отклонениями в рецепции феромонов обонятельными рецепторами антенн. Пилотные эксперименты показали наличие FIP1 в антеннальных долях мозга в виде вкраплений в нейропильной части, что позволило сформулировать гипотезу о механизмах вовлеченности гена *fipi* в определение величины МИИ.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-00028 «Изучение роли первого экзона гена *CG15630* в детерминации ритма генератора песни у дрозофилы».

## Регуляция экспрессии копий рибосомной ДНК, содержащих инсерции ретротранспозонов

Е. А. Фефелова, А. Д. Столяренко, Е. А. Михалева, В. А. Гвоздев, М. С. Клёнов

*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

Кластеры рибосомной ДНК (рДНК) в клетках эукариот обычно состоят из сотен повторяющихся единиц рДНК, из которых только часть транскрипционно активны. Неизвестно, чем именно определяется выбор активных и репрессированных копий рДНК. У *Drosophila melanogaster* некоторые копии рДНК содержат инсерции ретротранспозонов R2, которые встраиваются исключительно в строго определенный сайт в последовательности 28S рРНК. Как правило, гены рДНК с инсерциями R2 демонстрируют очень низкий уровень транскрипции по сравнению с активными копиями неинсерцированных генов рДНК, однако механизм репрессии R2 остается невыясненным. Эти транспозоны не имеют собственного промотора, поэтому при транскрипции их последовательность входит в состав предшественника пре-рРНК и затем может вырезаться при процессинге. Мы обнаружили, что хроматин копий рДНК с инсерциями R2 значительно обогащен модификацией H3K9me3, характерной для гетерохроматина, а также белком HP1a. Показано, что R2 обладают антисмысловой транскрипцией, которая является источником антисмысловых коротких РНК. Однако, нарушения системы сайленсинга с помощью коротких РНК (siРНК и piРНК) или белка HP1a приводят лишь к слабому возрастанию экспрессии R2. В то же время, мутации в гене, кодирующем компонент комплекса инициации транскрипции РНК-полимеразы 1, вызывает значительное увеличение транскрипции R2. Таким образом, нами впервые выявлен фактор, различающий транскрипционно активные и неактивные копии рДНК в рибосомном кластере.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01524 А.



## **Взаимодействие между системой РНК-интерференции и системой ответа на стресс у *Drosophila melanogaster***

С. Ю. Фуников, О. Г. Зацепина, М. Б. Евгеньев

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

Многие формы стресса, включая тепловой шок, способны вызывать глобальную перестройку состояния хроматина, которая в некоторых случаях может передаваться потомству. Такие изменения приводят к кардинальному изменению функционирования генома и могут сопровождаться активацией мобильных элементов генома и масштабными изменениями в характере его функционирования. Нами предпринято исследование состояния малых РНК *Drosophila melanogaster* (пиРНК и микроРНК) в нормальных условиях и после повышения температуры (ТШ-тепловой шок). В работе была использована линия дрозофилы, лишённая всех генов, кодирующих основной стресс-белок БТШ70, что позволило вычлнить роль этого важнейшего шаперона при взаимодействии системы РНК-интерференции и системы генов ТШ в условиях стресса. Проведенные исследования с включающие получение библиотек малых РНК и глубокое секвенирование, показали, что при ТШ изменяется экспрессия ряда дунитевых пиРНК кластеров. Более того, оказалось, что достоверные изменения в уровне пиРНК для некоторых мобильных элементов при ТШ наблюдаются только в линиях мух, содержащих нормальный набор генов БТШ70. Анализ спектра и уровня миРНК, участвующих в регуляции множества генов и сигнальных путей, показал, что, хотя сравниваемые линии мух исходно достоверно отличались по спектру миРНК, при ТШ происходит некое «выравнивание» пэтернов, что приводит к сходному, по-видимому, адаптивному спектру миРНК у сравниваемых линий. Использование линии с делецией всех БТШ70 генов позволило заключить, что эти гены не участвуют в биогенезе миРНК при ТШ, но необходимы для восстановления исходного спектра миРНК после ТШ. По-видимому, взаимодействие между двумя изучаемыми системами (система БТШ и система РНК интерференции) происходит на транскрипционном и пост-транскрипционном уровнях.

## Диски интеркалярного гетерохроматина в политенных хромосомах дрозофилы

*В. А. Хорошко<sup>1</sup>, Т. Ю. Зыкова<sup>1</sup>, В. Г. Левицкий<sup>2,3</sup>, Г. В. Похолкова<sup>1</sup>,  
О. В. Антоненко<sup>1</sup>, И. Ф. Жимулев<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup> *Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup> *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup> *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Политенные хромосомы являются невероятно удобным инструментом для исследования организации генома дрозофилы. В результате изучения фрагментов хромосом с различной степенью конденсации (дисков и междисков) с помощью микроскопии и биоинформатической модели, созданной в нашей лаборатории, было выявлено четыре типа хромосомных структур: междиски и три типа дисков, имеющих в своем составе различные типы состояний хроматина модели 4НММ. Междиски характеризуются хроматином типа аквамарин, особым белковым составом, свойственным для открытого хроматина, и наличием в этих фрагментах 5'-концов генов домашнего хозяйства. Тонкие серые диски, которым соответствуют фрагменты хроматина типа лазурит, образованы структурными частями этих генов. Так же на препарате политенных хромосом можно видеть толстые черные диски интеркалярного гетерохроматина. Они отличаются от серых дисков поздним временем репликации, часто недорепликацией в различных тканях, низкой плотностью генов, более плотной упаковкой ДНК, наличием белков, свойственных генетически неактивному материалу: SUUR, histone H1, D1, Lamin. Данные диски на молекулярной карте представляют собой блоки хроматина типов руби и малахит. В некоторых случаях на границе таких дисков могут находиться фрагменты хроматина типа лазурит, что во всех случаях связано с наличием активного гена, лежащего 5'-концом в прилежащем междиске и направленного в диск. Таким образом, это новый тип дисков интеркалярного гетерохроматина, имеющий в своем составе морфологически различные структурные компоненты, в то время как под световым микроскопом они представлены единым неделимым диском.

Исследование поддержано грантами РФФ № 14-14-00934 и РФФИ № 15-04-03898.

## Механизмы воздействия ионизирующих излучений на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*

М. В. Шапошников<sup>1</sup>, Е. Н. Прошкина<sup>1</sup>, Л. А. Шилова<sup>1</sup>,  
С. О. Жикриветская<sup>2</sup>, А. А. Москалев<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

<sup>2</sup> Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

<sup>4</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

Цель настоящей работы состояла в исследовании роли механизмов радиоустойчивости в регуляции продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*. Мы показали, что ионизирующие излучения в малых дозах вызывают широкий спектр эффектов на продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*, включая радиационный гормезис, радиоадаптивный ответ и гиперрадиочувствительность. Мы также выяснили, что реакция организма на действие ионизирующего излучения определяется клеточными механизмами стрессоустойчивости (репарация ДНК, ответ на повреждение ДНК, детоксикация свободных радикалов и ответ на тепловой шок). Показано, что активация некоторых механизмов радиоустойчивости (репарация ДНК) у необлученных мух может способствовать увеличению продолжительности жизни.

Работа выполнена в рамках государственного задания по темам «Молекулярно-генетические механизмы взаимосвязи стрессоустойчивости и продолжительности жизни на модели *Drosophila melanogaster*» № гос. регистрации 115012130067 и «Экологическая генетика, транскриптомика и метаболомика продолжительности жизни и стрессоустойчивости 13 видов рода *Drosophila*» № 15-4-4-23, № гос. регистрации 115082010010 и темы НИР «Сохранение коллекций экспериментальных животных для фундаментальных исследований».

## ***Drosophila melanogaster* как подходящая модель в радиационной генетике**

Е. А. Юшкова, И. С. Боднарь, В. Г. Зайнуллин

*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия*

*Drosophila melanogaster* является одним из наиболее широко используемых модельных организмов в радиобиологических исследованиях. Несмотря на то, что существуют стандартные методы оценки генетических эффектов облучения у дрозофилы, в последнее время хорошо зарекомендовал себя метод “ДНК-комет” (Comet assay). Данный цитогенетический метод интересен не только тем, что с помощью него, меняя условия электрофореза, можно определить разные типы генетических нарушений — двуцепочечные разрывы ДНК (в нейтральной версии рН), щелочлабильные сайты и одностранные разрывы ДНК (в щелочной версии рН), но и получением воспроизводимых результатов.

В докладе будут представлены экспериментальные данные многолетних исследований по изучению действия разных режимов (хроническое, острое) и доз (0.03-0.12 и 1-150 Гр) облучения на уровень повреждений ДНК в клетках соматических (нервных ганглиях, имагинальных дисках) и генеративных (семенниках) тканей дрозофил.

Показано влияние мутаций в генах репарации (*mus101*, *mus205*, *mus304*, *mus308*, *mus309*, *rad54*), мейотической рекомбинации (*mei-41*), детоксикации свободных радикалов (*Sod*) на генотоксические эффекты хронического низкоинтенсивного и острого облучения. Впервые оценен уровень двуцепочечных разрывов ДНК в клетках эмбриональных тканей дисгенных особей с повышенной индукцией мобильных генетических элементов (*hobo*-транспозонов).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что *Drosophila melanogaster* – это надежная модель *in vivo* для изучения радиационных эффектов.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Природная среда России: Адаптационные процессы в условиях изменяющегося климата и развития атомной энергетики» (№ 0414-2015-0024, № ГР 115082510016).



# **ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ**



## III

### Тканеспецифичность эффектов действия экзогенных лигандов арил-гидрокарбонового рецептора человека (hAHR) в процессе развития *Drosophila melanogaster* трансгенной линии *UAS-hAHR*

*А. А. Акишина, Ю. Е. Воронцова, Р. О. Черезов, М. С. Слезингер,  
И. Б. Мерцалов, О. Б. Симонова, Б. А. Кузин*

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Арил-гидрокарбоновый рецептор (AHR) – специфический транскрипционный фактор, является важным элементом механизма регуляции процессов развития и поддержания гомеостаза многоклеточных организмов. Сфера его вовлечённости в регуляцию жизненно важных процессов широко распространилась в ходе эволюции, и у человека она охватывает процессы детоксикации, развития (гистогенеза, морфогенеза, органогенеза), формирования и функционирования иммунной, сердечнососудистой, эндокринной, нервной и генеративной систем.

В силу сложившихся обстоятельств, этап связывания AHR с лигандом изучен недостаточно. У позвоночных он изучен полнее, так как многие токсические соединения экзогенного происхождения, обладают свойствами лигандов-агонистов по отношению к AHR и способны стимулировать его активность, для выполнения функций транскрипционного фактора. На сегодняшний день не удалось обнаружить экзогенные ксенобиотики способные активировать AHR беспозвоночных. По-видимому, активация «адаптивных» и «развитийных» функций AHR беспозвоночных выполняется эндогенными лигандами. Можно предполагать, что в процессе эволюции, у части эндогенных лигандов сохранилась способность активировать AHR позвоночных.

Подтверждение этому предположению мы получили в результате изучения эктопической экспрессии гена *AhR* человека, в условиях *in vivo*, в трансгенной линии *Drosophila melanogaster*. Вместе с тем, результаты наших экспериментов показали способность экзогенных лигандов-агонистов, на разных стадиях развития *Drosophila*, как повышать, так и понижать уровень транскрипции целевых генов AHR. Так как изменение уровня транскрипции изучаемых в работе целевых генов AHR может быть причиной онкотрансформации клеток, необходимо учитывать излагаемые результаты при построении терапевтических схем лечения онкологических заболеваний и изучении участия AHR в процессах развития.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-04-00829-а и № 15-04-01917-а и является частью Темы государственного задания ИБР РАН № 0108-2016-0002.



**Оценка генотоксического потенциала приоритетных загрязнителей воды и почвы Прикаспийского региона в лабораторных условиях по индукции летальных мутаций у *Drosophila melanogaster***

*А. С. Амиргалиева, Н. В. Мить, М. О. Бегманова, Л. Б. Джансугурова*

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан*

В настоящее время Прикаспийский регион испытывает ряд трудностей, связанных с негативным влиянием экологических проблем, включая последствия подъема уровня моря, нерешенные проблемы загрязнения окружающей среды, продолжающейся деградации экосистем, катастрофического сокращения запасов биологического разнообразия и других факторов. Экологическая ситуация в регионе осложнилась, прежде всего из-за последствий негативного влияния техногенных факторов и характеризуется совокупностью загрязнений почвы, атмосферного воздуха, поверхностных и подземных водных объектов, а также донных отложений.

Целью данной работы было изучение возможной мутагенной, тератогенной и канцерогенной активности приоритетных загрязнителей Прикаспийского региона с использованием в качестве тест-системы плодовой мушки *Drosophila melanogaster*.

В краткосрочных тестах на мутагенность (тест на индукцию рецессивных летальных мутаций X-хромосомы и аутосом дрозофилы, тест на тератогенный и канцерогенный эффект у дрозофилы) проведена оценка генотоксического потенциала приоритетных загрязнителей воды и почвы 6-ти населенных пунктов Атырауской и Мангистауской областей Прикаспийского региона. Химический анализ отобранных образцов воды и почвы показал, что основными загрязнителями являются тяжелые металлы: хром, никель, свинец. Тест на индукцию рецессивных летальных мутаций в X-хромосоме показал, что частота возникновения новых леталей достоверно не отличается от контрольного уровня. Среди других нарушений в ряде случаев были отмечены повышенный уровень стерильности самцов и гибели куколок. В тесте на индукцию рецессивных летальных мутаций в аутосомах дрозофилы зарегистрирован умеренный мутагенный эффект проб почвы из гг. Атырау, Кульсары, проб воды для питья сельскохозяйственных животных из гг. Атырау, Актау и Форт-Шевченко и проб воды для людей из г. Актау, г. Жанаозен и г. Форт-Шевченко. Были зарегистрированы морфологические изменения у имаго (главным образом дефекты развития крыльев), однако частота их возникновения также достоверно не отличалась от контрольного уровня. Методами гистологического анализа показано отсутствие канцерогенного эффекта проб воды и почвы на онтогенез дрозофилы.

Таким образом, в результате проведенного тестирования в ряде случаев установлен умеренный мутагенный эффект основных загрязнителей воды и почвы на *Drosophila melanogaster*.

**Функциональный анализ консервативного белка CG17337  
у *Drosophila melanogaster***

*Е. Н. Андреева, А. В. Иванкин, Е. Н. Кожевникова, Г. А. Павлова, Л. А. Яринич,  
Ю. В. Попова, А. В. Пиндюрин*

*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

Консервативный белок дрозофилы CG17337 является малоизученным и относится семейству металлопептидаз M20. Нарушения экспрессии его ортологов у человека (CNDP1 и CNDP2) наблюдаются при диабете 2-го типа, синдроме Паркинсона, а также при онкологических заболеваниях. Ген CG17337 экспрессируется повсеместно у дрозофилы. Полученные нами данные масс-спектрометрического анализа указывают на то, что белок CG17337 может входить в состав SUUR-содержащих белковых комплексов, которые модулируют время репликации ДНК в геноме дрозофилы. Целью работы является изучить последствия инактивации гена *CG17337* и локализацию его белкового продукта в клетках дрозофилы. Мы получили поликлональные антитела, специфичные к белку CG17337 и установили, что этот белок локализуется как в цитоплазме, так и в ядре культивируемых клеток S2. В клеточном ядре мы детектировали белок CG17337 только на некоторых стадиях клеточного цикла, но в то же время общее количество белка в клетке не изменялось. Мы показали, что РНК-интерференция гена *CG17337* не влияет на жизнеспособность культивируемых клеток. Однако, по данным проточной цитометрии на фоне РНК-интерференции гена *CG17337* в 2 раза увеличивается доля митотических клеток, что согласуется с данными цитологического анализа, согласно которому митотический индекс повышен в 1,4 раза при РНК-интерференции гена *CG17337* по сравнению с контрольными культивируемыми клетками S2. Кроме того, в таких клетках мы наблюдали обогащение по белкам Cyclin A и Cyclin B, которое указывает на накопление клеток в G2/M фазах клеточного цикла. Мы получили плазмидную конструкцию для экспрессии химерного белка 6xHIS-CG17337 под контролем индуцируемого сочетания оператора *lac* и промотора бактериофага T5 в клетках *E. coli*. Методом GST/6xHIS-pulldown мы выявили, что в экстрактах, выделенных из яичников дрозофилы, белок PCNA взаимодействует с белком 6xHIS-CG17337, а С-концевой фрагмент GST-SUUR (аминокислотные остатки 571-962) – с белком CG17337. Методом ко-иммунопреципитации мы установили взаимодействия белка CG17337 с белками SUUR и гистоном H1, используя эмбриональные ядерные экстракты. В целом, наши результаты указывают на то, что белок CG17337 является компонентом хроматина и цитоплазмы, а также необходим для правильного прохождения клеточного цикла. Полученные данные о взаимодействиях консервативного белка CG17337 с белковыми комплексами, вовлеченными в репликацию ДНК, могут служить базисом для понимания и дальнейших исследований этого процесса у широкого спектра организмов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01598.

**Исследование регуляторной зоны гена *Notch Drosophila melanogaster* методом CRISPR/Cas9-индуцированной гомологичной рекомбинации**

*Н. Г. Андрееenkova, О. В. Андреенков, Е. И. Волкова, С. А. Демаков, С. В. Мальцева*

*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

Эволюционно консервативный ген *Notch* кодирует трансмембранный рецептор, который участвует в межклеточном взаимодействии и инициирует важнейшие процессы специализации клеток в процессе развития как дрозофилы, так и человека. Сигнальные пути рецептора *Notch* изучаются давно и интенсивно, однако регуляция экспрессии самого гена до сих пор практически не изучена.

Мы разработали подход, позволяющий вносить направленные изменения в последовательность регуляторной зоны гена *Notch* дрозофилы. Фрагмент ДНК генома длиной в 4 т. п. н., включающий регуляторную зону и первый экзон гена, был заменен на сайт *attP* методом гомологичной рекомбинации в комплексе с системой CRISPR/Cas9. Для этого была синтезирована донорная плаزمиды, содержащая сайт *attP*, фланкированный последовательностями, которые в геноме дрозофилы находятся по обе стороны удаляемого фрагмента. Помимо этого, весь удаленный фрагмент генома в 4 т. п. н. был клонирован в вектор *pGE-attB-GMR*, который позволяет реинтегрировать этот фрагмент обратно в геном с помощью *attB-attP*-рекомбинации. Данная система позволяет вносить в регуляторную зону гена *Notch*, входящую в состав вектора, любые желаемые изменения, а затем интегрировать вектор в геном, восстанавливая целостность гена.

Используя этот подход, мы получили ряд небольших делеций в регуляторной зоне гена *Notch*. Все эти делеции затрагивают вероятный участок расположения инсулятора, который находится в пределах 250 п. н. выше сайта начала транскрипции гена *Notch* и, согласно данным проекта modENCODE, связывает белок dCTCF. Полное или частичное удаление этой последовательности усиливало действие GMR-энхансера, помещенного нами в первый интрон гена *Notch*, что приводило к различным нарушениям развития глаз, крыльев, ног и щетинок мух. Анализ этих нарушений позволил уточнить имеющиеся в литературе данные о структуре регуляторной зоны гена *Notch*, более точно определить положение инсуляторной последовательности, а также получить предварительные данные о влиянии отдельных фрагментов этой последовательности на экспрессию гена *Notch*.

Работа выполнена при поддержке РФФ (14-14-00934) и Программы фундаментальных научных исследований (0310-2016-0005).

**Роль гена *quick-to-court* в регуляции полового поведения  
у *Drosophila melanogaster***

Е. Г. Белкина, В. В. Соколов, О. Е. Лазебный, О. И. Кравчук

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

В настоящее время у *Drosophila melanogaster* известно около 100 генов, мутации в которых приводят к изменению полового поведения. Плейотропное влияние на репродуктивное поведение могут иметь любые мутации, ослабляющие организм, или мутации, имеющие сильное фенотипическое проявление. В то же время мутаций, которые приводят к дефектам только полового поведения, известно немного. Одним из генов, влияющим на некоторые аспекты полового поведения самцов, является *quick-to-court* (*qtc*). Молекулярные функции гена *qtc* не известны. Этот ген транскрибируется в голове, а также в брюшном сегменте в зонах, ассоциированных с репродуктивной системой. Недавно нами была получена делеция гена *qtc* с помощью оригинального метода геномного редактирования, основанного на репарации индуцированного двухцепочечного разрыва. Изучены некоторые поведенческие особенности у мух с делецией гена *qtc*. Мухи с делецией были исследованы в поведенческих тестах по 3 показателям: латентное время (время от заброса самца к самке до начала ухаживания), длительность ухаживания (время от начала ухаживания до копуляции) и время от начала теста до наступления копуляции. Мухи с делецией *qtc* показали уменьшение примерно в два раза длительности ухаживания: 112 секунд у контрольных мух и 57 секунд у делеционных мутантов. Различия в продолжительности периода ухаживания у контрольных мух и мух с делецией *qtc* были статистически значимы согласно критерию Стьюдента ( $p = 0.049$ ). При помощи метода видеотипирования были проанализированы 30 и 31 пара, соответственно, у мух с делецией *qtc* и контрольных. Было установлено, что у мух с делецией по сравнению с контрольными достоверно дольше длится лизание брюшка самки (0.94 сек у контрольных и 2.16 сек у делеционных мух, соответственно), а также достоверно раньше начинается преследование (2.10 и 0.44 сек, соответственно) и лизание (56.08 и 11.67 сек, соответственно). Проявление гена *qtc* отличалось специфичностью, у делеционных мутантов изменялись только некоторые аспекты полового поведения. Делеция *qtc* не приводила к снижению эффективности спаривания. Не было обнаружено морфологических особенностей строения семенников и яичников у делеционных мутантов. Исследование нового гена с неизвестными функциями может дополнить картину формирования полового поведения *Drosophila melanogaster*.

**Анализ биологического потенциала фуллеренолов  
на моделях нейродегенеративных заболеваний на *Drosophila melanogaster***

О. И. Большакова, Е. Э. Слепнева, А. А. Сжогина, С. В. Саранцева

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

Исследована биологическая эффективность фуллеренолов  $C_{60}(OH)_{30}$ ,  $C_{70}(OH)_{30}$  и  $C_{120}O(OH)_n$ , созданных новым оригинальным способом, дающим возможность получать высокие концентрации высокочистых фуллеренолов и исключая такие недостатки, как образование нерастворимых фуллеренолов с низкой степенью гидроксирования, загрязненных примесями непрореагировавшего фуллерена, агрегировавшего из органического раствора. Все исследованные нами фуллеренолы проходили гематоэнцефалический барьер и детектировались в мозге мух. Показано, что использованные препараты даже в высоких дозах не приводили к неблагоприятным последствиям – не снижали продолжительность жизни и не вызывали нарушений поведения *Drosophila*. Мы исследовали влияние различных концентраций, используемых нами фуллеренолов, на такие параметры, как продолжительность жизни, уровень общей нейродегенерации в мозге, число ацетилхолинергических нейронов, число дофаминергических нейронов и геотаксис у мух, моделирующих такие заболевания человека, как болезнь Паркинсона (БП) и болезнь Хантингтона (БХ). При анализе продолжительности жизни мы обнаружили, что все исследованные нами фуллеренолы в использованных концентрациях не влияли на продолжительность жизни мух. Анализ отдельных групп нейронов показал, что фуллерены способны снижать дегенерацию дофаминергических нейронов в модели БП и холинергических нейронов в модели БХ. Исследуя влияние фуллеренолов на способность мух взбираться по вертикальной поверхности, мы обнаружили, что эффект препаратов сильно зависит, как от концентрации и типа фуллеренола, так и от используемой модели. Так применение больших доз фуллеренола  $C_{60}$  (2 мг/мл) приводило к снижению показателей геотаксиса у мух с экспрессией в нервных клетках гена НТТ человека с удлинённым числом ЦАГ-триплетов на 25-30 день жизни. В то же время эта же доза фуллеренола не оказывала никакого влияния на этих мух на 17 день жизни и не влияла на мух с экспрессией в нервных клетках различных форм гена альфа-синуклеина человека. Доза 0,2 мг/мл  $C_{60}$  не оказывала влияния на геотаксис всех мух. Снижение дозы  $C_{60}$  на порядок (0,05 мг/мл) привело к статистически значимому улучшению показателей геотаксиса у мух с экспрессией мутантной формы гена альфа-синуклеина человека.

## Зависимость параметров локомоции и звукопродукции от экспрессии гена *CG15630* в разных типах нейронов

*Ю. В. Брагина, С. А. Федотов, Н. Г. Беседина, Л. В. Даниленкова,  
Е. А. Камышева, Н. Г. Камышев*

*Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Проведена оценка роли экспрессии гена *CG15630* (*fipi*, *factor of interpulse activity*) на отдельные компоненты центрального генератора моторного паттерна (ЦГМП) песни ухаживания и локомоторного ЦГМП у самцов *Drosophila melanogaster*. Анализ влияния нокдауна гена в разных типах нейронов на параметры локомоторного поведения показал следующее. Уровень экспрессии гена *CG15630* в хордотональных органах (ChdtO) и мотонейронах оказывает влияние на частоту побежки, длительность побежки зависит от экспрессии гена в сенсорных нейронах (DAN4). Скорость побежки зависит от экспрессии гена во Fru нейронах. Анализ влияния нокдауна гена на параметры звукопродукции выявил зависимость частоты инициации и длительности посылок импульсной песни от уровня экспрессии в DAN4 и ChdtO нейронах, а также в дофамин и серотонинергических нейронах. Во всех случаях нокдаун гена *CG15630* приводил к увеличению значений параметров песни ухаживания, т.е. в норме продукт гена необходим для подавления работы песенного ЦГМП. Параметры, отражающие непосредственную работу песенного ЦГМП, несущая частота импульса и межимпульсный интервал (МИИ) зависели от уровня экспрессии гена во Fru нейронах. Это свидетельствует о том, что экспрессия гена *CG15630* во Fru нейронах необходима для адекватной работы песенного ЦГМП. Кроме того, МИИ зависит от экспрессии гена в обонятельных нейронах, а несущая частота импульса от экспрессии в ChdtO нейронах, т.е. в ответ на получение сенсорной информации от самки происходит подстройка генерации импульсов песни. Эстроген-индуцированный нокдаун гена *CG15630* только на стадии имаго приводил к изменениям параметров локомоции и звукопродукции. Т.о., экспрессия гена у взрослых мух необходима для работы нейронных сетей, регулирующих работу локомоторного ЦГМП, и сетей, определяющих ритмичность следования импульсов в песне ухаживания. Данные о роли продукта гена *CG15630* в реализации моторных функций необходимо учитывать при разработке методов фармакологического восстановления двигательных дисфункций у человека.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-00028 «Изучение роли первого экзона гена *CG15630* в детерминации ритма генератора песни у дрозофилы».

**Видоспецифичные особенности линейной и пространственной организации  
прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом  
у видов группы *virilis***

*И. Э. Вассерлауф, К. Е. Усов, В. Н. Стегний*

*Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
Томск, Россия*

Целью настоящих исследований являлось провести сравнительный анализ состава ДНК и пространственной организации районов прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом у видов группы *virilis*. Для этого на основе микродиссекционной ДНК-библиотеки из хромоцентра *D. virilis* («DvirIII») был получен флуоресцентно меченый ДНК-зонд и проведена FISH с политенными хромосомами клеток слюнных желез видов группы *D. virilis*. У близкородственных видов филад *virilis* и *montana* была установлена локализация DvirIII в прицентромерных районах всех хромосом и в теломерном районе хромосомы 5. Однако, в пределах помеченного теломерного района хромосомы 5 распределение DvirIII было видоспецифично. В тоже время, в отличие от видов филადы *virilis* у видов филады *montana* DvirIII был локализован и в прителомерном районе метацентрической хромосомы 2. С помощью 3D FISH с политенными хромосомами трофоцитов *D. virilis* и *D. kanekoi* нами было установлено, что у *D. virilis* на одном полюсе ядра располагается локальный хромоцентр, а на противоположном полюсе прителомерные районы хромосом, а у *D. kanekoi* хромосома 2 в пространстве ядра располагается обособленно от диффузного хромоцентра. Известно, что *D. kanekoi* отличается от *D. virilis* наличием в кариотипе субметацентрической хромосомы 2, возникшей в результате перичентрической инверсии при видообразовании. Полученные нами результаты позволяют считать, что хромосомные перестройки играют важную роль в перераспределении последовательностей ДНК гетерохроматина в геноме, которые являются одним из механизмов видообразования, что, в целом, может повлиять и на изменение ориентации хромосом в трехмерном пространстве ядра.

## Влияние электромагнитного поля промышленной частоты (50 Гц) на развитие и плодовитость *Drosophila melanogaster*

*Н. Н. Веялкина, Е. В. Цуканова, К. М. Фабушева*

*Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь*

На сегодняшний день электромагнитное загрязнение окружающей среды наряду с химическим и радиационным является наиболее масштабным видом загрязнения, которое во много раз превышает уровень природного электромагнитного излучения, что делает актуальным изучение влияния электромагнитных полей на живые организмы.

Целью работы было оценить показатели эмбрионального развития и плодовитости *Drosophila melanogaster*, линии Canton S, wild-type, после воздействия электромагнитного излучения (ЭМИ) промышленной частоты (50 Гц) на стадии личинки.

Контрольных и опытных группы мух содержали при температуре 25°C и искусственном режиме освещения день/ночь – 12/12 ч на стандартной питательной среде. Для эксперимента получали синхронизированную популяцию. Суспензию яиц раскапывали по пробиркам с питательной средой из расчета 100 яиц на пробирку. Личинок подвергали 2-часовому воздействию ЭМИ на экспериментальной установке с частотой 50 Гц в течении 5 дней до стадии куколки. Учитывали соотношение яйца/куколки и куколки/мухи, время вылета мух и соотношение по полу.

На 9-е сутки после посадки отбирали вылетевших мух, разделяли по полу и рассаживали в пробирки с питательной средой по 10 самцов и 10 самок на пробирку и оставляли на 2 суток для спаривания, отдельно особей контрольных, отдельно опытных групп. Репродуктивную способность определяли, как число F1 куколок/самку.

В результате проведенного исследования отмечено уменьшение количества куколок, образовавшихся из личинок после воздействия ЭМИ промышленной частоты, и, следовательно, повышение показателя яйца/куколки по сравнению с контролем. По количеству неразвившихся куколок (показатель эмбриональной смертности) не обнаружено значимых различий с контрольной группой.

При спаривании мух, которые были подвержены действию ЭМИ промышленной частоты на стадии личинки отмечено увеличение количества F1 куколки/самку в среднем на 9 %. Подобные результаты были получены и другими авторами, которые отмечают повышение плодовитости *Drosophila melanogaster* после влияния ЭМИ и низких доз ионизирующей радиации в первом поколении.

Таким образом, ежедневное 2-часовое воздействие электромагнитного поля промышленной частоты (50Гц) на личинок *Drosophila melanogaster* линии Canton S влияет на их развитие и плодовитость в дальнейшем.



**Слабое статическое магнитное поле как стрессорный фактор,  
влияющий на транскрипционную активность генома, обучение и память  
у *Drosophila melanogaster***

*М. С. Герасименко*<sup>1</sup>, *Е. А. Никитина*<sup>1, 2</sup>, *А. В. Медведева*<sup>2</sup>, *А. В. Журавлев*<sup>2</sup>,  
*Г. А. Захаров*<sup>2</sup>, *С. А. Горохова*<sup>2</sup>, *Б. Ф. Щеголев*<sup>2</sup>, *Е. В. Савватеева-Попова*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup> *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

В связи с усложнением демографической ситуации и актуализацией проблемы старения интерес к нейродегенеративным заболеваниям (НДЗ) все более возрастает. Среди факторов, провоцирующих возникновение подобных заболеваний (таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона), большое значение имеют различные стрессорные воздействия. Одним из наименее изученных стрессорных факторов, которые способны оказывать воздействие на живые организмы, в том числе и человека, является магнитное поле низкой интенсивности. Спорадические НДЗ характеризуются нарушениями на уровне сигнального каскада ремоделирования актина: рецепторы нейротрансмиттеров – малые ГТФазы Rho-семейства – LIM киназа 1 (LIMK1) – кофилин – актин. По этой причине все они получили название “болезни актинового цитоскелета”. Это утверждение основано на том, что гиперактивация кофилина сопровождается образованием кофилин-актиновых комплексов, которые накапливаются в аксонах и дендритах нейронов, блокируя везикулярный транспорт, что является причиной атрофии нейритов. Атрофия нейритов на ранних стадиях деменции приводит к потере краткосрочной памяти. Нами было предпринято изучение влияния слабого статического магнитного поля (ССМП) на транскрипционную активность генома, обучение и память у *Dr. melanogaster*. В качестве материала исследования были использованы линии *Drosophila melanogaster*: *Canton-S (CS)* – контрольная линия дикого типа и *agn<sup>ts3</sup>* – линия, несущая температуро-чувствительную (ts) мутацию по гену *limk1* (1–38.9), который кодирует ключевой фермент ремоделирования актина LIMK1. Нами показан тормозящий эффект ССМП на деятельность нервной системы на разных стадиях онтогенеза у линии дикого типа *Canton-S*. Однако совершенно другой эффект ССМП выявлен для мутантной линии *agn<sup>ts3</sup>*. У самцов этой мутантной линии в норме не происходит выработки УРПУ. Это является показателем того, что данная линия неспособна к обучению. Нами впервые было предпринято изучение влияния ССМП как стрессорного фактора на процессы обучения и памяти линии *agn<sup>ts3</sup>*. Согласно нашим данным, ССМП восстанавливает у *agn<sup>ts3</sup>* способность к обучению и формированию памяти. Было показано изменение транскрипционной активности, которое может быть связано с нарушениями работы различных клеточных сигнальных каскадов. Полученные нами данные свидетельствуют, что мутационное изменение гена для LIMK1 приводит к модификации свойств эухроматиновых областей и к повышенной чувствительности к данному стрессорному воздействию.

## Влияние мутаций в гене *Chd1* дрозофилы на включение гистона H3.3 в хроматин политенных хромосом

*Ю. А. Гненная, И. Л. Барановская, А. Ю. Конев*

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

Комплекс генетической и эпигенетической программы в ядрах эукариотических клетках реализуется в нуклеопротеиновой структуре, называемой хроматином. Эпигенетические преобразования хроматина в клетках эукариот осуществляются с помощью трех основных механизмов: включение вариантных гистонов, АТФ-зависимое ремоделирование хроматина и ковалентная модификация гистонов. Белок CHD1 (Chromo-ATPase/ Helicase-DNA-binding protein 1) охарактеризован как АТФ-зависимый фактор ремоделирования хроматина, для которого показано перемещение гистонов от гистонового шаперона NAP-1, идентифицированного как гистон-связывающий белок, облегчающий включение нуклеосом в хроматин на ДНК и участвующий в создании регулярных промежутков между нуклеосомами. Проведенная на дрозофиле Коневым с соавторами работа выявила, что CHD1 необходим для ассемблирования хроматина в транскрипционно неактивном мужском пронуклеосе. Исследования показали, что в деконденсированный спермий включается исключительно вариантный гистон H3.3, и в этом процессе участвует CHD1.

Нами были использованы трансгенные линии, несущие встроенную генно-инженерную конструкцию P{His3.3A-Flag}, экспрессирующую под действием нативного промотора гена His3.3A РНК, кодирующую гистон H3.3 с добавленными последовательностями аминокислот, именуемыми Flag. Было замечено, что, независимо от генотипа особей, во всех проанализированных хромосомах, как в X-хромосоме, так и в аутосомах, гистон H3.3-Flag включается исключительно в междиски и пуфы политенных хромосом. Кроме того, мы обнаружили, что, в отличие от процессов R1 сборки хроматина, происходящих при реорганизации мужского пронуклеуса, для сопряженной с транскрипцией сборки хроматина в политенных хромосомах слюнных желез фактор CHD1 не является критическим и абсолютно необходимым.

Таким образом, мы можем предположить, что в процессе встраивания гистона H3.3 участвуют и другие использующие энергию АТФ факторы сборки хроматина, демонстрирующие существенный компенсаторный потенциал.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-99583.

**Влияние красного пигмента дрожжей на уровень отложений  
альфа-синуклеина и общий уровень нейродегенерации**

*И. М. Голомидов, О. И. Большакова, С. И. Тимошенко, С. В. Саранцева*

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

Болезнь Паркинсона – нейродегенеративное заболевание, обусловленное дегенерацией нейронов, продуцирующих нейромедиатор дофамин. Характерным признаком заболевания является наличие телец Леви, образующихся в результате скопления в цитоплазме белка альфа-синуклеина (SNCA), относящегося к семейству амилоидных белков.

Перспективной группой веществ, препятствующих образованию амилоидных фибрилл, являются производные имидазола. Соединение – 5-фосфат-рибозил-аминоимидазол (АИР) лежит в основе полимера, образующегося в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при некоторых мутациях в пути биосинтеза аденина и придающего колониям дрожжевых клеток характерный красный цвет, поэтому этот полимер получил название «красный пигмент»

В данной работе мы провели анализ относительного количества альфа-синуклеина дикого типа, с мутацией а30р и с мутацией а53т в мозге *Drosophila melanogaster*, а также уровня дегенерации дофаминергических и холинергических нейронов, при кормлении мух красными и белыми дрожжами в течение 30 дней.

В результате мы обнаружили, что количество альфа синуклеина как дикого типа, так и мутантных форм снижалось при кормлении мух красными дрожжами, а также значительно был снижен уровень дегенерации дофаминергических нейронов. Количество холинергических нейронов в течение эксперимента у мух, содержащихся на белых или красных дрожжах не отличалось. Мы считаем, что снижение уровня нейродегенерации, а также общего уровня белка альфа-синуклеина происходит за счет действия 5-фосфат-рибозил-аминоимидазола, как компонента красных дрожжей.

**Анализ компонентов приспособленности при действии  
крайневысокочастотного облучения у линий *Drosophila melanogaster*,  
несущих некоторые пигментные мутации**

*О. В. Горенская, Ю. Г. Шкорбатов*

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Харьков, Украина*

Одним из новых, не достаточно изученных факторов внешней среды является электромагнитное (ЭМ) поле антропогенного происхождения. В частности, его формирует так называемый Ка-диапазон, используемый, в основном, для спутниковой радиосвязи и радиолокации. Этот диапазон простирается от 26,5 до 40 ГГц. Интерес представляют особенности проявления адаптивных признаков в ответ на внешнесредовой стрессовый фактор в зависимости от генотипа особей.

В работе использовались линии, несущие мутантные аллели *white<sup>apricot</sup>*, *black* и *ebony*. Для оценки вклада мутаций в проявление генетически детерминированных количественных признаков, мутации были перенесены на генетический фон линий дикого типа *Canon-S* и *Oregon-R* путем возвратных насыщающих скрещиваний. Исследовали показатели адаптивной ценности, такие, как плодовитость, жизнеспособность, длительность предимагинального развития, продолжительность жизни, устойчивость к голоданию. В качестве объекта воздействия использовали 2-х часовые синхронизированные кладки яиц от четырехдневных имаго. Характеристика внешнего воздействия: частота ЭМ колебаний – 37,7 ГГц., плотность потока энергии в точке размещения объекта – 1 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 1), 10 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 2) и 100 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 3); длительность воздействия составляла 1 и 5 минут.

Установлено, что кратковременное воздействие ЭМИ КВЧ (опыт 2, экспозиция 1 мин) на синхронизированные кладки мутантных линий и линий дикого типа, несущих мутации *black* и *ebony* оказывает стимулирующий, зависимый от генотипа особей и пола, эффект. При этом увеличивается продолжительность предимагинального развития, плодовитость и жизнеспособность мух. При наличии в генотипе мутации *white<sup>apricot</sup>* внешнее воздействие оказывает противоположное действие – снижается как длительность предимагинального развития, так и количество потомков на стадиях имаго и куколки. Устойчивость к голоданию после внешнего воздействия снижается в опытах 2 и 3 практически у всех исследуемых в работе линий при длительности воздействия 5 минут. Отмечено увеличение показателя средней продолжительности жизни у самок и самцов линий, несущих мутации *black* и *ebony*, (опыты 2 и 3), увеличение показателя ПЖ50, и снижение длительности жизни у самцов, несущих мутацию *white<sup>apricot</sup>*. По результатам ANOVA, при кратковременном воздействии ЭМИ КВЧ на синхронизированные кладки дрозофилы длительность предимагинального развития, плодовитость и жизнеспособность определяются в большей мере внешним воздействием ( $h^2_{\text{предимаг.разв.}\text{♀}}=13\%$ ,  $h^2_{\text{предимаг.разв.}\text{♂}}=18\%$ ,  $h^2_{\text{плод}}=60\%$ ,  $h^2_{\text{жизнесп}}=45\%$ ), генотипом – устойчивость к голоданию ( $h^2_{\text{♀}}=43\%$ ,  $h^2_{\text{♂}}=59\%$ ) и продолжительность жизни имаго ( $h^2_{\text{♀}}=35\%$ ,  $h^2_{\text{♂}}=19\%$ ).

**Эффект инактивации прямых и обратных транскриптов  
перекрывающихся генов *lawc* и *Trf2* в соматических и репродуктивных  
тканях *Drosophila melanogaster***

*Е. Л. Заволока, Ю. Е. Воронцова, Р. О. Черезов, З. В. Кабисова,  
Е. Е. Куваева, О. Б. Симонова*

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Изучение регуляции экспрессии генов является одной из актуальных проблем современной генетики. Многочисленные исследования показали, что перекрывающиеся гены представляют собой довольно распространенный элемент организации генома не только у вирусов и прокариот, но также и у эукариот. Так, у *Drosophila melanogaster* перекрывается 26.2% кодирующих белки генов, у человека - 7,9%. Такое строение генома приводит к появлению общих для разных генов регуляторных зон и возникновению перекрывающихся РНК, как кодирующих, так и некодирующих белки. Однако, механизмы регуляции экспрессии перекрывающихся генов и регуляторная роль антисмысловой транскрипции исследованы недостаточно.

Ранее мы показали, что гены дрозофилы *lawc* (*leg-arista-wing complex*) и *Trf2* (*TBP related factor 2*) перекрываются экзонами. Мы использовали генетическую систему комплекса *lawc/Trf2* в качестве удобной модели для исследования *in vivo* особенностей экспрессии, перекрывающихся транскриптов. Нами были созданы генетические конструкции, активация которых в геноме дрозофилы должна избирательно подавлять экспрессию либо прямых *Trf2*-, либо обратных *lawc*-транскриптов. Активацию конструкций проводили тканеспецифически, используя генетическую двухкомпонентную систему *UAS/GAL4*. Фенотипический анализ показал, что подавление прямых и обратных транскриптов *lawc/Trf2* в соматических тканях (глаз, антенна, слюнные железы) даёт одинаковый эффект, характерный гипоморфным мутантам *Trf2*: нарушение развития глазных и антенных структур, а также нарушение морфологии хромосом. Это говорит о том, что в соматических тканях обратные транскрипты (*lawc*) могут контролировать уровень экспрессии прямых (*Trf2*). Исследование фенотипического эффекта подавления прямых и обратных транскриптов в репродуктивных органах выявило различный характер нарушений, как в репродуктивных, так и в соматических тканях половых путей. Это говорит о том, что в репродуктивных органах контроль экспрессии полоспецифических транскриптов генов *lawc* и *Trf2* осуществляется либо независимо, либо их взаимодействие контролируется другими, пока неизученными, механизмами. Сейчас мы можем предполагать, что в ходе эволюции контроль регуляция экспрессии перекрывающихся генов *lawc* и *Trf2* в тканях соматических и репродуктивных органов складывался независимо.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-04-00829-а и № 15-04-01917-а и является частью темы государственного задания ИБР РАН № 0108-2016-0002.

**Piwi взаимодействует с хроматином на ядерных порах  
и неспецифично связывается с ядерными транскриптами  
в соматических клетках яичников дрозофилы**

*А. А. Ильин<sup>1</sup>, С. С. Рязанский<sup>1</sup>, С. А. Доронин<sup>1</sup>, О. М. Оленкина<sup>1</sup>,  
Е. А. Михалева<sup>1</sup>, С. Н. Белякин<sup>2</sup>, А. В. Иванкин<sup>2</sup>, А. В. Пиндюрин<sup>2</sup>,  
В. А. Гвоздев<sup>1</sup>, М. С. Кленов<sup>1</sup>, Ю. Я. Шевелев<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

Piwi в комплексе с piRNA обеспечивает стабильность генома, иницируя транскрипционное подавление мобильных элементов (МЭ) в яичниках дрозофилы. Для выполнения этой функции Piwi должен просканировать насцентные транскрипты генов и МЭ в поиске их комплементарности с piRNA. Механизм этого сканирования неизвестен. Чтобы приблизиться к выяснению этого механизма, методом DamID-seq мы провели картирование участков генома, взаимодействующих с Piwi в соматических клетках яичников дрозофилы. Оказалось, что эти участки в значительной степени перекрываются с областями генома, связанными с комплексом ядерных пор. В соответствии с этим, Piwi коиммунопреципитировался с компонентами комплекса ядерных пор Elys и комплекса транскрипции и экспорта РНК Xmas-2, также взаимодействующего с комплексом ядерных пор. Выяснилось, однако, что только небольшая фракция Piwi имеет кратковременный доступ к ДНК у ядерных пор. Важно отметить, что хотя 36% белок-кодирующих генов находятся в доменах, взаимодействующих с Piwi, и по данным РНК-иммунопреципитации Piwi неспецифично связывается со множеством ядерных транскриптов генов и МЭ, он не подавляет транскрипцию этих генов, вероятно, из-за отсутствия точной комплементарности между этими генами и piRNA.

**Влияние эпибрасинолида на онтогенез *Drosophila melanogaster***

Н. Ф. Ковалевич

Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, Беларусь

В последние десятилетия возросло загрязнение окружающей среды и в связи с этим увеличивается нагрузка на растительные и животные организмы. Брассиностероиды – стрессовые адаптогены, обладающие сильной фиторостостимулирующей активностью. По влиянию на морфофизиологическое состояние животных эпибрасинолид, согласно химической структуре, и выявленным физиологическим эффектам, имеет ряд сходных свойств по направлениям действия с другими стероидными гормонами животного и растительного происхождения, близкими по структуре к брассиностероидам.

Основной целью наших исследований является изучение биологического действия эпибрасинолида на онтогенез линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster*.

В ходе исследований мы решали следующие задачи:

1. Выявление действия эпибрасинолида на плодовитость линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster*.

2. Анализ динамики численности линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster* при воздействии различных концентраций эпибрасинолида.

3. Исследование воздействия эпибрасинолида на соотношение полов линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster*.

В результате проведенных экспериментов можно сделать следующие выводы:

1. Установлено, что воздействие эпибрасинолида в концентрации  $10^{-6}$  обладает стимулирующим действием на плодовитость культуры линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster*, а в концентрации  $10^{-7}$  обладает стимулирующим действием на плодовитость культуры линии 113 *Drosophila melanogaster*. Эпибрасинолид, вероятно, повышает жизнеспособность мух на преимагинальных стадиях развития к стрессовым факторам, в частности, к недостатку питательных веществ.

2. Динамика численности имаго линий *Berlin* и 113 *Drosophila melanogaster* при воздействии заданными концентрациями эпибрасинолида имеет сходную картину. При воздействии эпибрасинолида в концентрации  $10^{-6}$  обнаружен явный стимулирующий эффект, который выражается в том, что основное количество имаго выходит из оболочек в течение первых нескольких суток, что, в свою очередь, обусловлено временем откладки яиц и длительностью их развития до взрослой мухи.

3. Установлено, что воздействие эпибрасинолида в концентрациях  $10^{-6}$  и  $10^{-7}$  не приводит к изменению соотношения полов линий *Berlin* и 113. Стимулирующий эффект наблюдается только в отношении самок линии *Berlin* в варианте воздействия концентрацией  $10^{-7}$ .

**Изучение роли искусственных перестроек генотипа  
на формирование адаптивно важных признаков приспособленности  
у имаго *Drosophila melanogaster*, мутантных по локусу *white***

*В. В. Костенко*

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Основной характеристикой адаптивных свойств организма является приспособленность. Исследования, посвященные изучению связи функционирования генома и особенностей его структуры с проявлением приспособленности фрагментарны и не охватывают всей полноты данной проблемы. Целью работы является изучение влияния внутригеномных факторов таких как изогенизация хромосом и замещение генетического фона на формирование признаков приспособленности у имаго дрозофилы, мутантных по локусу *white*. В работе были изучены плодовитость, общая жизнеспособность, уровень гибели на постэмбриональной стадии развития. Эксперимент выполнен с использованием линий дрозофил с замещенным генетическим фоном  $w^l_{C-S}$  и  $w^a_{C-S}$ , а также с изогенными линиями  $w^l_{C-S}; isoII; isoIII$  и  $w^a_{C-S}; isoII; isoIII$ . Для изучения влияния замещения генетического фона на признаки приспособленности проводились насыщающие скрещивания мутантных линий с линией дикого типа в условиях направленного отбора на маркерную мутацию. Изогенизация 2 и 3 хромосом осуществлялась по стандартной схеме скрещиваний с использованием тестерной линии *Cy/Pm;D/Sb*. Анализ плодовитости показал, что изогенизация больших аутосом в линиях с маркерными мутациями X-хромосомы  $w^l$  и  $w^a$  дрозофилы приводит к достоверному увеличению признака на 23,41% и 45,3%, соответственно, по сравнению с линиями  $w^l_{C-S}$  и  $w^a_{C-S}$ . Оцененная сила влияния внутригеномного фактора для особей с генотипом  $w^l$  составила 29,02% ( $F = 11,04$ ;  $p = 0,02$ ), а для особей с генотипом  $w^a$  – 78,3% ( $F = 121,26$ ;  $p < 0,05$ ). Также было отмечено увеличение значений общей жизнеспособности имаго в изогенных линиях на 18,11% для аллеля  $w^l$  и на 50,73% для  $w^a$  по сравнению с линиями  $w^l_{C-S}$  и  $w^a_{C-S}$ . Полученные данные дисперсионного анализа показали, что для особей  $w^l$  сила влияния фактора составила 21,2% ( $F = 7,26$ ;  $p = 0,01$ ), а для особей  $w^a$  – 81,24% ( $F = 101,09$ ;  $p < 0,05$ ). Об уровне постэмбриональной смертности судили по доле неразвившихся куколок от общего их числа в потомстве каждой пары мух. Так, для исследуемых аллелей локуса *white* наблюдалось разнонаправленное влияние изогенизации хромосом по сравнению с линиями  $w^l_{C-S}$  и  $w^a_{C-S}$ . Для особей  $w^l_{C-S}; isoII; isoIII$  наблюдалось увеличение показателя на 46% по сравнению  $w^l_{C-S}$ , а для  $w^a_{C-S}; isoII; isoIII$  – наоборот уменьшение на 21%, при этом достоверное влияние изогенизации установлено для аллеля  $w^l$  – 68,89% ( $F = 59,8$ ;  $p < 0,05$ ).

В результате показано, что изогенизация 2 и 3 хромосом является сильным фактором, увеличивающим адаптационный потенциал особей.



**Инсуляторные белки в регуляции репликации у *Drosophila melanogaster***

М. Ю. Мазина, А. Н. Краснов, Н. Е. Воробьева

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

В последние годы благодаря успехам в развитии технологий секвенирования были получены последовательности геномов многих организмов, картированы гены, определены последовательности белков, однако ряд вопросов остается неразрешенным. В частности, малопонятно то, каким образом происходит позиционирование белков, узнающих участки начала репликации (ORC), в геноме. Известно, что геном эукариот организован в домены, содержащие гены или кластеры генов с различными профилями экспрессии. Инсуляторы выполняют функцию разделения данных доменов и защиты генов от влияния регуляторных элементов в соседних локусах. Белок Su(Hw) является ДНК-связывающим белком с доменом «цинковых пальцев» и обеспечивает активность ряда хорошо изученных инсуляторов дрозофилы. В ChIP и ChIP-seq экспериментах мы показали, что белок Su(Hw) привлекает комплексы ацетилирования гистонов SAGA и ремоделирования хроматина SWI/SNF на свои сайты в геноме, что приводит к созданию на данных сайтах областей с низкой плотностью нуклеосом и создает условия для связывания репликационных белков (ORC, MCM2-7, CDC45). Кроме того, проанализировав существующие данные ChIP-seq и ChIP-on-chip экспериментов, мы обнаружили, что сайты связывания других инсуляторных белков дрозофилы (dCTCF, GAF и BEAF32) являются областями генома с открытой структурой хроматина, на них происходит активный обмен гистонов и на данных сайтах присутствуют пре-репликационные комплексы. В ходе исследования роли белка Su(Hw) в развитии дрозофилы мы обнаружили, что сайты белка Su(Hw) колокализуются со всеми известными локусами амплификации (DAFCs) в яичниках дрозофилы. Наличие Su(Hw) необходимо для связывания белков комплекса ORC с DAFCs на ранних стадиях оогенеза у дрозофилы. Полученные данные позволяют нам предполагать, что ДНК-связывающие белки могут являться ключевыми детерминантами позиционирования пре-репликативных комплексов в геноме и расширяют существующую точку зрения на роль белка Su(Hw) в оогенезе дрозофилы, ранее представленную только влиянием белка Su(Hw) на транскрипцию.

***Drosophila melanogaster* как модель для изучения процессов регуляции продолжительности жизни**

Н. В. Муть, А. С. Амиргалиева, М. О. Бегманова, А. Д. Толебаева,  
Л. Б. Джансугурова

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан*

Феномен демографического старения - увеличение в обществе доли людей пожилого возраста - имеет разнообразные аспекты и многочисленные социально-экономические последствия, важные для медицины, социального обеспечения, пенсионной системы и т.д. Поэтому исследования продолжительности жизни и старения становятся все более актуальными.

В настоящей работе проведены эксперименты по исследованию влияния оксида азота как фактора оксидативного стресса на продолжительность жизни модельного объекта *Drosophila melanogaster*. Изучено влияние веществ – доноров оксида азота (LPS) и ингибиторов синтазы оксида азота (Ltc и L-NAME) на продолжительность жизни имаго линии дикого типа *Oregon R*. Не установлены достоверные различия между контрольной и экспериментальными группами. Однако показана достоверная разница между действием ингибитора синтазы оксида азота L-NAME и донора оксида азота LPS, а также между действием L-NAME и Ltc.

Далее изучали влияние эндогенного оксида азота на продолжительность жизни имаго трансгенных линий *dNOS1 Flag* и *dNOS4*, содержащих дополнительные копии гена синтазы оксида азота (*NOS*). Линия *dNOS1 Flag* содержит дополнительные копии функционально активного *dNOS1*-транскрипта, что обеспечивает гиперэкспрессию *NOS*-гена, в то время как линия *dNOS4* - дополнительные копии усеченного функционально неактивного *dNOS4*-транскрипта, который определяет низкий уровень экспрессии гена *NOS*. Поскольку для активации работы *dNOS*-трансгенов необходим тепловой стресс, в качестве дополнительного контроля изучали показатели продолжительности жизни в линии *Oregon R* после теплового стресса. В результате установлено, что тепловой стресс сокращает продолжительность жизни дрозофилы. В линии *dNOS1 Flag* продолжительность жизни достоверно сокращалась по сравнению с двумя видами контроля. Это можно объяснить гиперпродукцией эндогенного оксида азота в результате экспрессии дополнительных копий *dNOS1*-трансгена. В линии *dNOS4*, ингибирующей образование эндогенного оксида азота, была зарегистрирована наименьшая продолжительность жизни.

Таким образом, оксид азота участвует в регуляции продолжительности жизни модельного объекта *Drosophila melanogaster*: избыточное количество NO сокращает продолжительность жизни, небольшое снижение содержания оксида азота продлевает жизнь, однако значительное снижение уровня оксида азота угнетает жизненно важные процессы в организме и существенно сокращает продолжительность жизни дрозофилы.

## Гиперактивация и мейотическая инактивация X-хромосомы в герминальных клетках самцов *Drosophila melanogaster*

О. М. Оленкина, А. А. Котов, А. Д. Столяренко, Т. А. Лейнсоо

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Различия между полами в количестве копий хромосом привело к возникновению специфичного для половых хромосом состава генов, определённым скоростям мутаций и замен и к регуляции активности генов на хромосомном уровне: дозовой компенсации – процессу, который уравнивает уровни экспрессии генов X хромосомы между гомогаметным и гетерогаметным полами, и мейотической инактивации половых хромосом. Анализ экспрессии трансгенов, несущих репортерные гены под контролем сперматоцит-специфичных промоторов (в частности гена *ocnus*), демонстрирует общее снижение эффективности их работы при встройках трансгенов в X-хромосому по сравнению с аутосомами, свидетельствуя о возможной мейотической инактивации X-хромосомы в сперматоцитах самцов дрозофилы. Результаты полнотранскриптомного анализа не позволяют однозначно судить как о существовании гиперактивации (дозовой компенсации) X-хромосомы в сперматогониях, так и об инактивации X-хромосомы в сперматоцитах, указывая скорее на существование первого эффекта. Для однозначного ответа на вопрос о существовании гиперактивации X-хромосомы в сперматогониях нами была создана репортерная конструкция под контролем промотора гена *stil*, предположительно активного в сперматогониях, и получены трансгены в различных сайтах генома. Показано, что промотор *stil* действительно активен в сперматогониях. Проводится сравнение экспрессии нескольких трансгенов *Pr(stil)-lacZ* в X-хромосоме и аутосомах. С целью выяснения закономерностей подавления трансгенов при попадании в X-хромосому и механизмов X-инактивации нами также разработана тест-система для анализа различных сперматоцит-специфичных промоторов, встроенных в одни и те же сайты генома с помощью сайт-специфичной интегразы *phiC31*. Адекватность предложенного подхода продемонстрирована с помощью конструкции *pUAST-Pr(ocn)-lacZ*.

**Роль гена *swiss cheese* в различных типах глиальных клеток ЦНС  
*Drosophila melanogaster***

Е. В. Рябова, П. А. Мелентьев, Н. В. Сурина, Д. Р. Жмуйдина, С. В. Саранцева

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия

Ген *swiss cheese (sws)* *Drosophila melanogaster* кодирует нейрональный трансмембранный белок, который, как предполагается, участвует в взаимодействии нейрон-глия. На данный момент ученые предполагают, что *sws* выполняет функцию сериновой эстеразы, мутации в котором приводят к ранней гибели, прогрессирующей с возрастом нейродегенерации в мозге, апоптозу нейронов и глиальных клеток, и образованию многослойной глиальной мембраны. Ген *sws* является ортологом гена *NTE (neuropathy target esterase)* человека, мутации в данном гене приводят к наследственной спастической параплегии типа SPG39, синдрому Лоренса-Муна, синдрому Гордона Холмса, синдрому Гаучера-Нейгауза и синдрому Оливера-Макфарлейна. На данный момент механизмы развития данных заболеваний до конца не понятны. В данной работе мы использовали линии с мутациями в гене *sws* (*sws<sup>1</sup>*, *sws<sup>76-15</sup>*) и трансгенные линии с изменением экспрессии (гиперэкспрессия и подавленная экспрессия). Ранее нами было показано, что *sws* образуется в нейронах, но в большей степени в глиальных клетках. В мутантных линиях происходит уменьшение *sws* в сравнении с контролем. В работе была исследована морфология различных типов глиальных клеток имаго *Drosophila melanogaster* разного возраста: субпериневральная, глия кортекса и ensheathing глия. Результаты показали, что с возрастом нарушается целостность субпериневральной глии, участвующей в образовании гематоэнцефалического барьера, а также нарушается морфология глии кортекса, уменьшается количество глеток ensheathing глии в глазных долях. *Drosophila melanogaster* является прекрасным модельным объектом для понимания ранних нейродегенеративных процессов. Данная работа также расширяет наши представления о роли гена нейротоксичной эстеразы в развитии дегенерации аксонов и помогает понять роль последнего в патологиях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-09041.

**Феномен спонтанной мутации *plane***

*Л. А. Рязанова*

*Южно-Уральский государственный гуманитарно-педагогический университет,  
Челябинск, Россия*

Дрозофила – один из основных модельных организмов для генетики и биологии развития. Известно, что геном дрозофилы состоит примерно из 14000 генов, однако в её биологии остаётся ещё много неизвестного.

В лаборатории генетики Южно-Уральского государственного гуманитарно-педагогического университета в линии *brown* спонтанно возникла новая мутация, изменившая расположение крыльев дрозофил. Она была выведена в гомозиготное состояние и получила условное название *plane* (от англ. «самолёт»), так как крылья мутантов были растопырены. Наследственные изменения крыльев обычно разделяют на три группы. К первой группе относят мутации, которые модифицируют общую конфигурацию крыла. К второй группе причисляют тех особей, у которых изменено жилкование крыла. В третью группу включают мутантов с уменьшенным крылом. Таким образом, мутация *plane* относилась к первой группе изменений крыла.

Целью исследования стало получение информации об особенностях наследования этой мутации и сравнение её с известными ранее подобными случаями наследственных изменений. В экспериментах было показано, что мутация *plane* является рецессивной, не сцепленной с полом. Проведённые дигибридное и анализирующее скрещивания дали нетривиальные результаты. Для объяснения их была выдвинута гипотеза о полигенном характере наследования мутации *plane* и о наблюдаемом в опытах явлении трансгрессии. При просмотре потомства анализирующего скрещивания выявлено большое число вариаций в расположении крыльев у дрозофил: нахождение крыльев по бокам тела, как «у пингвина», оттопыренность одного крыла, крылья подвёрнуты под брюшко, при этом концы крыльев разорваны, крылья сложены «конвертиком» и другие.

Полученные результаты с определённой долей вероятности можно экстраполировать на мультифакториальные болезни, наблюдаемые у человека. Для них характерен плавный переход от минимальных значений признака до его максимальных проявлений. Близость к порогу конкретных особей отражается накоплением у них микропризнаков, или микроформ, обнаруживаемых в зоне развития аномалии. На развитие таких заболеваний существенную роль оказывают средовые факторы.

**Использование *Drosophila melanogaster* как модельного организма  
в изучении молекулярной эволюции регуляторной области  
и промотора высоко консервативного гена *Dras1***

Е. А. Сивопляс<sup>1</sup>, А. М. Куликов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Ген *Ras* является самым известным протоонкогеном. Особый интерес вызывает анализ особенностей регуляции гена *Dras1*, ортолога генов *ras* млекопитающих, впервые охарактеризованных у *D. virilis*. У человека гены, родственные гену *Ras* мало отличимы от дрозофил, что позволяет использовать ген *Dras1* в качестве модели для изучения сигнальных каскадов, связанных с канцерогенезом. Ген *Dras1* наиболее активен в эмбриогенезе и играет немаловажную роль в развитии организмов с полным превращением, к которым относятся исследуемые нами дрозофилы. Данный ген активен как на ранних стадиях эмбриогенеза (развитие до личиночной стадии), так и на поздних (развитие до имаго). Ген является одним из высоко консервативных генов. Продукт его экспрессии – белок Ras1 участвует в регуляции клеточного деления. Белки Ras1 функционируют в течение всего развития не только дрозофил, но и практически всех эукариот, что позволяет использовать *D. melanogaster* в качестве модели. Мутации в этом гене часто приводят к канцерогенезу. При его неспособности к инактивации (GAP-факторами) происходит образование злокачественной опухоли. Регуляция экспрессии гена *Dras1* также эволюционно консервативна.

Анализ изменчивости регуляторной области гена *Dras1* и его ортологов у видов дрозофил разной степени родства из подродов *drosophila* и *sophophora* выявил неоднократную смену промотора, точки старта транскрипции и всей регуляторной области гена на разных ветвях филогенетического дерева дрозофил. Это предполагает существование дополнительных механизмов регуляции экспрессионной активности. Исследуемая модель характеризуется строгим функциональным и структурным консерватизмом кодируемого геном белка, и летальным характером 0-аллелей, исключая экспрессию данного гена. Отмеченные нами изменения промотора и регуляторной части гена *Dras1* должны были сопровождаться восстановлением функциональной активности гена в течение ограниченного числа поколений. Получены трансформанты, несущие ген *GFP* под промотором Gal4, содержащий в 3'UTR участок связывания с микроРНК. Мы предполагаем существование механизма быстрых геномных перестроек на основе конверсионных замен для поддержания функционального консерватизма гена в случае полной замены района промотора и межгенного спейсера.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол\_а.

## Структурно-функциональная изменчивость нейронального гена *shuttle craft* определяет продолжительность жизни дрозофилы

*А. В. Симоненко*<sup>1</sup>, *Н. В. Рощина*<sup>1, 2</sup>, *А. В. Кременцова*<sup>1, 3</sup>, *Е. А. Цыбулько*<sup>1</sup>,  
*В. Е. Алаторцев*<sup>1</sup>, *С. В. Серга*<sup>4</sup>, *И. А. Козерецкая*<sup>4</sup>, *Е. Г. Пасюкова*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup> Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев, Украина

Ген *shuttle craft* (*stc*) кодирует репрессор РНК-полимеразы II, который в эмбрионе дрозофилы экспрессируется в клетках ЦНС и необходим для ее нормального развития [1]. Ранее мы показали, что *stc* участвует в контроле продолжительности жизни (ПЖ) дрозофилы [2, 3], причем инсерционная мутация в 5'-нетранслируемой области (НТО) гена *stc* приводит к изменению ПЖ [4]. В данной работе мы исследовали функциональное значение мутаций в 5' регуляторной области и 5'-НТО гена *stc* в природных популяциях. В последовательности нуклеотидов размером около 1 т.п.н. в 91 изогенной линии, полученной из мух, отловленных в Александрове (Владимирская область) на протяжении трех лет (2010, 2011 и 2012) были выявлены 15 сайтов однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) и инсерция размером до 32 нуклеотидов. Для сравнения изменчивости 5' регуляторной области и 5'-НТО гена *stc* в популяциях, обитающих в различных климатических и экологических условиях, и выявления возможной адаптивной изменчивости мы также определили последовательность нуклеотидов в 108 линиях из трех украинских популяций 2012 года (Умань, Варва, Чернобыль); кроме того, мы использовали опубликованные последовательности в девяти популяциях из разных частей мира. Было найдено 10 новых сайтов ОНП. В целом исследуемый район продемонстрировал заметную изменчивость, в том числе между близко расположенными популяциями. Среди восьми ОНП, которые встречались не менее чем в 5% линий из популяции Александров, один был достоверно связан с изменчивостью ПЖ и транскрипции гена *stc*. При этом, как в случае исследованной нами ранее инсерционной мутации, увеличение ПЖ было связано с уменьшением транскрипции гена *stc*. Значимый ОНП входит в мотив узнавания регуляторного белка Phol, принадлежащего к группе Polycomb. Таким образом, наблюдаемая в природе изменчивость 5' регуляторной области и 5'-НТО гена *stc* имеет функциональное значение.

**Синтетические пептиды в терапии болезни Альцгеймера**

А. Д. Слободина<sup>1, 2</sup>, П. К. Шувалова, А. Е. Комиссаров<sup>1</sup>, С. В. Саранцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
Санкт-Петербург, Россия*

Болезнь Альцгеймера (БА) – это нейродегенеративное заболевание позднего возраста, характеризующееся прогрессирующим нарушением памяти и когнитивных функций, развитием слабоумия, накоплением в головном мозге фибриллярных агрегатов амилоидного пептида бета, состоящего из 42 аминокислот (A $\beta$ <sub>42</sub>). В настоящее время отсутствуют окончательные представления об этиологии БА, процессах, лежащих в основе формирования агрегатов A $\beta$ , а также не существует лекарства, способного остановить или замедлить течение этого заболевания. Сегодня ведутся интенсивные работы по поиску соединений, обладающих антиамилоидогенным потенциалом.

Мы определили пептиды, ингибирующие различные стадии агрегации A $\beta$ , включая элонгацию (SH5, SH8, TTR37-43, TTR106-117). Для того чтобы эти пептиды могли проходить через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), мы присоединили к их последовательности вектора, способные проходить через клеточные мембраны и ГЭБ. В качестве векторов мы использовали домены белковой трансдукции – TP2 и Arg9 и пептид-миметик аполипопротеина E – Cog14-10.

Целью настоящей работы явилось исследование способности комбинированных пептидов (пептид-ингибитор + векторный пептид) ингибировать рост фибрилл A $\beta$  и проходить через ГЭБ *Drosophila melanogaster*. Методами атомно-силовой и трансмиссионной электронной микроскопии и динамическим светорассеянием установлено, что инкубация A $\beta$  с данными пептидами в течение 24 часов при температуре 37<sup>0</sup>C снижает агрегацию A $\beta$ , т. е. эти пептиды обладают антиамилоидной активностью. Методом конфокальной микроскопии показано, что изучаемые пептиды с разной эффективностью проходят через ГЭБ *Drosophila melanogaster*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-01350.



**Молекулярно-цитогенетическая характеристика  
прицентромерного гетерохроматина у близкородственных видов подгруппы  
*melanogaster (Diptera, Drosophilidae)***

*К. Е. Усов, И. Э. Вассерлауф, В. Н. Стегний*

*Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
Томск, Россия*

Ранее было установлено, что архитектура ядер трофоцитов яичников у видов дрозофил подгруппы *melanogaster* имеет видовую специфику, связанную с динамикой хромосомы и отношений хромосомы с ядерной оболочкой (Стегний, 1993). Согласно ряду филогенетических схем (Стегний, Вассерлауф, 1994; Доувер и др., 1986; Саленко, 2007), *D. orena* является анцестральным видом для всей подгруппы. Была проведена микродиссекция хромосомы политенных хромосом трофоцитов яичников *D. orena*, получена библиотека ДНК (“Dore1”) и проведено её секвенирование. Анализ при помощи различных пакетов компьютерных программ показал наличие среди фрагментов библиотеки “Dore1” разнообразных повторных последовательностей ДНК: МГЭ (25 фрагментов оказались гомологичны различным LTR-ретротранспозонам, пять фрагментов – LINE-элементам, три фрагмента – гелитронам, один фрагмент – полинтону, один фрагмент – не-LTR-ретротранспозону – mini-me); четыре минисателлита, сателлит (SAR\_DM), простой повтор (TATATG)<sub>n</sub> и T-богатый повтор низкой сложности. Также показано, что библиотека “Dore1” содержит последовательности, гомологичные белок-кодирующим генам. *In situ* гибридизация ДНК-зонда из хромосомы трофоцитов *D. orena* с политенными хромосомами трофоцитов видов подгруппы *melanogaster* (*D. erecta*, *D. teissieri*, *D. yakuba*, *D. santomea*, *D. simulans*, *D. melanogaster*, *D. sechellia*, *D. mauritiana*) показала, что ДНК хромосомы консервативна в плане своего распределения преимущественно в прицентромерных районах всех хромосом у видов подгруппы *melanogaster*, несмотря на различия во взаимном расположении хромосом в трофоцитах у этих видов.

## Влияние производных 2Н-бензимидазол-1,3-диоксидов на пролиферацию клеток *Drosophila melanogaster*

С. А. Федорова<sup>1</sup>, Ю. А. Тен<sup>2</sup>, С. Ю. Грищенко<sup>2</sup>, Д. Г. Мажукин<sup>2</sup>, В. А. Самсонов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup> *Институт органической химии СО РАН, Новосибирск, Россия*

[fsveta@bionet.nsc.ru](mailto:fsveta@bionet.nsc.ru)

Сепараза является ключевым ферментом, отвечающим за правильную сегрегацию хромосом в делении клетки. Сестринские хромосомы могут разойтись по дочерним клеткам только после активации сепаразы, ее преждевременная активация вызывает различные хромосомные аномалии. Высокий уровень экспрессии *Espl1*, сепаразы человека, был выявлен во многих опухолях, включая различные нейробластомы, рак груди, костей, мозга и простаты, поэтому сепаразу стали рассматривать как потенциальную мишень для поиска новых противоопухолевых препаратов. Добавление ингибитора сепаразы сепина-1 к культуре клеток *in vitro* приводило к ингибированию роста клеток нейробластомы, лейкемии и клеток опухоли молочной железы. Однако главными минусами сепина-1 являются его плохая растворимость в водных растворах и его нестабильность при температуре человеческого тела, поэтому актуальным является получение стабильных и активных модификаций сепина-1.

В рамках данной работы мы проанализировали влияние некоторых модификаций сепина-1 (производных 2Н-бензимидазол-1,3-диоксидов) на делящиеся нейробласты дрозофилы. В митозе сепараза активна в конце стадии метафазы, когда она разрезает когезиновый комплекс, удерживающий гомологичные хромосомы вместе, поэтому в случае ее инактивации клетки не вступают в анафазу и задерживаются в метафазе. Все протестированные нами модификации демонстрировали накопление клеток на стадии метафазы. Однако следует отметить, что при высоких концентрациях всех ингибиторов наблюдалось появление монополярных анафаз, анеуплоидных клеток и разрывы хромосом.

Таким образом, все проанализированные модификации сепина-1 проявляли ингибиторную активность для сепаразы, что приводило к задержке клеток на стадии метафазы. Однако появление аномалий деления в нормальных клетках при высоких концентрациях всех ингибиторов свидетельствует о необходимости поиска других модификаций сепина-1, не имеющих подобных побочных эффектов.

## Особенности регуляции экспрессии перекрывающихся генов *lawc/Trf2* у *Drosophila melanogaster*

Р. О. Черезов, Ю. Е. Воронцова, Е. Л. Заволока, О. Б. Симонова

Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Эндогенная антисмысловая транскрипция перекрывающихся генов играет важную роль в создании сложной регуляции различных процессов: импринтинга, инактивации X-хромосомы, процессинга РНК, экспорта РНК и транскрипции. В подавляющем большинстве данные о количестве, структуре и функциях естественных антисмысловых транскриптов получают на основе крупномасштабных биоинформатических анализов *in silico*, при использовании методов strand-specific microarray и др. Однако эволюционная и биологическая значимость антисмысловой транскрипции остается слабо исследованной, так как результаты тотального анализа геномов и созданные на их основе компьютерные модели, выявляющие её глобальную роль *in silico*, остро нуждаются в подтверждении *in vivo* на конкретных генетических системах с хорошо изученной структурной организацией генов и их транскриптов.

Для исследования механизмов регуляции экспрессии перекрывающихся генов высших эукариот мы использовали систему перекрывающихся генов *leg-arista-wing complex/TBP related factor 2 (lawc/Trf2)* у *Drosophila melanogaster*. К настоящему моменту нами исследована тонкая структура генов *lawc* и *Trf2*. Ген *lawc* экспрессирует 9 (в том числе полоспецифических) сплайс-вариантов мРНК, как кодирующих, так и не кодирующих белки, и лишь частично представленных в базах данных. В районе обоих генов есть несколько активных промоторов, находящихся в интронах. Также мы обнаружили консервативный промотор внутри открытой рамки считывания гена *lawc* и доказали его активность с помощью репортерного гена. При подавлении экспрессии транскриптов гена *lawc* методом РНК-интерференции снижается экспрессия гена *Trf2*, что приводит к гибели эмбрионов. Снижение экспрессии *Trf2* после нок-дауна *lawc* наблюдается как в мухах, так и в культуре клеток. О снижении экспрессии *Trf2* свидетельствует и доминантно-негативный *lawc*-фенотип, характерный для погибших эмбрионов с нарушенной экспрессией *Trf2*. Также мы показали, что эктопическая экспрессия TRF2 на фоне нок-дауна *lawc* восстанавливает жизнеспособность особей. Мы предполагаем, что ген *lawc* выступает регулятором экспрессии гена *Trf2* на нескольких уровнях. Во-первых, эта регуляция может быть опосредована транскрипционной активностью промоторов гена *lawc*. Во-вторых, возможен механизм влияния некодирующих транскриптов гена *lawc* на регуляторную область *Trf2*. В-третьих, один из транскриптов гена *lawc*, содержащий протяженный экзон, может влиять на сплайсинг тканеспецифических (или полоспецифических) транскриптов гена *Trf2*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-04-00829-а и № 15-04-01917-а и является частью Темы государственного задания ИБР РАН № 0108-2016-0002.

**Исследование влияния экспрессии нативной и каталитически неактивной форм белка CHD1 политепных хромосом слюнных желез *Drosophila melanogaster* на встраивание гистона H1 и локализацию белка HP1 в гетерохроматиновых районах генома**

*А. В. Шалаев, А. Ю. Конев*

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
Гатчина, Россия*

*[shalaeff.andrey@gmail.com](mailto:shalaeff.andrey@gmail.com)*

Нами показано, что экспрессия трансгенов, кодирующих нативную и каталитически неактивную форму белка CHD1 под контролем драйвера  $P\{GawB\}AB$ , приводит к сильной деконденсации гетерохроматиновых районов, образующих хромоцентр политепных хромосом, в случае нативной формы и к отсутствию деконденсации, в случае неактивной формы CHD1. При этом в деконденсированном гетерохроматине выявляется большое количество белка CHD1. У особей дикого типа CHD1 не локализуется в гетерохроматине.

Известно, что альтернативным механизмом, участвующим в формировании гетерохроматина, является включение в его состав линкерного гистона H1 (Lu, Wontakal et al. 2013). Поэтому мы решили проанализировать влияние экспрессии обоих трансгенов CHD1 на включение линкерного гистона H1 в состав хромоцентра. Экспрессируя доминант-негативную форму и нативную форму CHD1 под действием драйвера GAL4-N630, мы наблюдали деконденсацию гетерохроматиновых районов в хромоцентре исключительно при экспрессии CHD1 дикого типа, привлечение CHD1 в деконденсированные участки хромоцентра; редуцированное окрашивание антителами на белок HP1 у особей экспрессирующих нативную и экспрессирующих каталитически не активную формы белка CHD1. С помощью антител к линкерному гистону H1 мы проанализировали его распределение в хромосомах особей дикого типа и особей, сверх-экспрессирующих нативную и доминант-негативную формы белка CHD1 под действием драйвера GAL4-N630. В хромосомах личинок дикого типа линкерный гистон выявлялся в хромоцентре и во всех дисках политепных хромосом. При сверхэкспрессии нативного варианта CHD1 и сверхэкспрессии неактивной формы белка, гистон H1 выявляется в хромоцентре только в тех сайтах, где локализуется HP1. В деконденсированной части гетерохроматина H1 не детектируется, как и в остальных деконденсированных районах хромосом. Таким образом, вероятно влияние сверхэкспрессии CHD1 на локализацию белка HP1 и гистона H1 в гетерохроматин определяется одним и тем же механизмом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-99583.

## Влияние активности гена *limk1* на параметры звукопродукции у *Drosophila melanogaster*

О. П. Яшанова<sup>1</sup>, А. В. Журавлев<sup>2</sup>, Е. А. Никитина<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

В современной биомедицине все более актуальной становится проблема изучения механизмов возникновения геномных заболеваний, вызывающих поражения центральной нервной системы. К геномным заболеваниям относится синдром Уильямса, возникающий в результате нарушения структуры и активности работы комплекса генов, ключевым из которых является ген *limk1*, ключевого фермента сигнального каскада ремоделирования актина. Одним из удобных модельных объектов, позволяющих исследовать природу этого заболевания для разработки лекарственных средств с учетом диагностических признаков, является *Drosophila melanogaster*. Целью нашей работы являлось изучение влияния активности гена *limk1* на параметры звукопродукции у самцов *D. melanogaster* с нормальной и подавленной активностью гена *limk1*. Звукопродукция является частью ритуала ухаживания самца дрозофилы за самкой перед спариванием и представляет собой звуки, издаваемые вибрациями одного из крыльев. Оценка параметров звукопродукции дает информацию об уровне мотивации самца, семантической и эмоциональной нагрузке сигнала, состоянии нейромоторной координации. С использованием автоматической установки регистрации звукопродукции были проанализированы следующие параметры: межимпульсный интервал, индекс импульсной песни, частота инициации посылок импульсной песни, период между временем инициации двух ближайших импульсных посылок, среднее число импульсов в посылке и индекс синусоидальной песни. У самцов дрозофилы с нормальной и подавленной активностью гена *limk1* не выявлено достоверных различий параметров звукопродукции. Однако, имеются значимые различия между гибридами с активатором *limk1* и диким типом, что говорит о явном влиянии на звукопродукцию генетического фона.

## Причастны ли мобильные элементы к индукции гибридного дисгенеза у дрозофилы

Л. П. Захаренко

Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

[zakharlp@bionet.nsc.ru](mailto:zakharlp@bionet.nsc.ru)

Синдром внутривидового гибридного дисгенеза (ГД) у *Drosophila melanogaster*, наблюдаемый при скрещивании некоторых пар линий и проявляющий неменделевское наследование, индуцируется так называемым Р (paternal) фактором, взаимодействующим с М (maternal) цитоплазмой. Считается, что Р фактором служит Р элемент, появившийся в геноме *D. melanogaster* в середине прошлого века путем горизонтального переноса. Основанием для такого предположения было обнаружение фрагментов Р элемента в половине мутаций по гену *white*, возникших при дисгенных скрещиваниях, а также отсутствие Р элемента в материнском геноме и наличие активных Р элементов в отцовском геноме референсных линий.

В последнее время накапливаются данные, противоречащие идее причастности Р элемента к индукции внутривидового дисгенеза. По нашим данным Р фактор и Р элемент распространяются в природе с разной скоростью. Дисгенные и недисгенные самки отличаются по уровню гормональной активности. Индуцировать дисгенез можно на любой стадии развития повышением температуры содержания. Активный Р элемент обнаруживается практически во всех линиях из природных популяций, но далеко не все линии с активным Р элементом способны индуцировать дисгенез, и не все линии без Р элемента откликаются на индукцию.

Кроме этого увеличение скорости перемещения Р элемента у дисгенных самок постулируется, однако напрямую измерить ее невозможно из-за недоразвития яичников у дисгенных мух и, соответственно, из-за отсутствия потомства. Косвенные данные свидетельствуют о том, что скорость перемещения Р элемента составляет не более одного перемещения на геном за поколение в случайные сайты генома, что явно недостаточно для воспроизводимого со 100% вероятностью при скрещивании референсных линий одного и того же симптома РМ ГД – недоразвития яичников.

В природном генофонде *D. melanogaster* может существовать значительный запас «скрытой несовместимости». По оценке Рассел с соавторами любая пара гаплоидных геномов *Drosophila melanogaster* имеет в среднем по 1,15 пары эпистатически взаимодействующих аллелей, то есть внутривидовой антагонистический эпистаз у дрозофилы – явление обычное и для каждой пары линий причина дисгенеза может быть уникальной и не связанной с мобильными элементами.

Работа поддержана базовым проектом № 0324-2016-0002.

## Участники конференции

<b>Ф. И. О.</b>	<b>Организация</b>	<b>Почта</b>
Абрамов Юрий Александрович	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	abramov75@rambler.ru
Адоньева Наталья Васильевна	Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск	ado-nata@yandex.ru
Акишина Ангелина Александровна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	ilitiri@bk.ru
Александров Игорь Донатович	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна	a38don@jinr.ru
Александрова Маргарита Васильевна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна	a38don@jinr.ru
Амиргалиева Алмира Смаиловна	Институт общей генетики и цитологии, Казахстан	almira-71@mail.ru
Андреева Евгения Николаевна	Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск	andreeva@mcb.nsc.ru
Андреевкова Наталья Григорьевна	Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск	anata@mcb.nsc.ru
Андрианов Борис Витальевич	Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва	andrianovb@mail.ru
Антосюк Ольга Николаевна	Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург	antosuk-olga@mail.ru
Афанасьева Кристина Петровна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна	afanasyeva@jinr.ru
Балакирева Евгения Игоревна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова	balakireva.evgesha@mail.ru
Белкина Елена Геннадьевна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	ellida69@mail.ru
Белый Алексей Александрович	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	alichio13@gmail.com

Большакова Ольга Игоревна	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	olya99991@yandex.ru
Брагина Юлия Валерьевна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург	julia_bragina@mail.ru
Вассерлауф Ирина Эгоновна	Национальный исследовательский Томский государственный университет	I-2811-na@yandex.ru
Веялкина Наталия Николаевна	Институт радиобиологии НАН Беларуси	veyalkina@mail.ru
Воробьева Надежда Евгеньевна	Институт биологии гена РАН, Москва	nvorobyova@gmail.com
Воронцова Юлия Евгеньевна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	vjul83@mail.ru
Гарбуз Давид Григорьевич	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва	dgarbuz@yandex.ru
Герасименко Мария Сергеевна	Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург	m.s.kurochkina@gmail.com
Гненная Юлия Андреевна	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	gnennaya1996@mail.ru
Голомидов Илья Михайлович	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	ilia_stv@mail.ru
Голубкова Елена Валерьевна	Санкт-Петербургский государственный университет	elena_golubkova@mail.ru
Горбенко Федор Валерьевич	Институт биологии гена РАН, Москва	gorfedya66@gmail.com
Горенская Ольга Владимировна	Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина	olgavg2014@gmail.com
Горохова Светлана Александровна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург	swetlana.gorohowa@yandex.ru
Груntenко Наталия Евгеньевна	Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск	nataly@bionet.nsc.ru
Добровольская Евгения Владимировна	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	dobraya_09@bk.ru



Дубатолова Татьяна Дмитриевна	Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск	tdubat@mcb.nsc.ru
Евгеньев Михаил Борисович	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва	misha672011@yahoo.com
Ерофеева Елена Александровна	Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского	ele77785674@yandex.ru
Заволока Екатерина Леонидовна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	workerbh000@gmail.com
Захаров-Гезехус Илья Артемьевич	Институт общей генетики РАН, Москва	iaz34@mail.ru
Земская Надежда Владимировна	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	kukushonok90@yandex.ru
Иванова Полина Николаевна	Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург	ivanovapolina19@mail.ru
Ильин Артем Александрович	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	ilyin@img.ras.ru
Ильина Юлия Александровна	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	ilina_ya@pnpi.nrcki.ru
Камышев Николай Григорьевич	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург	nkamster@gmail.com
Ким Александр Иннокентьевич	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова	aikim57@mail.ru
Клёнов Михаил Сергеевич	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	klenov@img.ras.ru
Ковалевич Наталья Федоровна	Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Беларусь	galkovnat@gmail.com
Конев Александр Юрьевич	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	konev.alexander@gmail.com
Копытова Дарья Владимировна	Институт биологии гена РАН, Москва	d_dmitrieva@mail.ru

Костенко Виктория Викторовна	Казанский (Приволжский) федеральный университет	vvkostenko1@gmail.com
Кравчук Оксана Ивановна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	kravchuk444@mail.ru
Кукушкина Инна Валерьевна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова	vladimirova-bph@yandex.ru
Куликов Алексей Михайлович	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	amkulikov@gmail.com
Куршакова Мария Михайловна	Институт биологии гена РАН, Москва	kursha@mail.ru
Лавренев Антон Русланович	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова	overtaki@mail.ru
Лазебный Олег Евгеньевич	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	oelazebny@gmail.com
Мазина Марина Юсуповна	Институт биологии гена РАН, Москва	magadovam@yandex.ru
Мамон Людмила Андреевна	Санкт-Петербургский государственный университет	mamon@lm2010.spb.edu
Мелентьев Павел Алексеевич	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	melentev.pavel.spb@yandex.ru
Мить Наталья Викторовна	Институт общей генетики и цитологии, Казахстан	nata-mit@yandex.ru
Муха Дмитрий Владимирович	Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва	dmitryVmukha@gmail.com
Мыльников Сергей Владимирович	Санкт-Петербургский государственный университет	s.mylnikov@spbu.ru
Нефедова Лидия Николаевна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова	lidia_nefedova@mail.ru
Никитина Екатерина Александровна	Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург	21074@mail.ru
Оленина Людмила Владимировна	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	olenina_ludmila@mail.ru

Оленкина Оксана Михайловна	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	olenkina@img.ras.ru
Павлова Галина Валериевна	Институт биологии гена РАН, Москва	lkorochkin@mail.ru
Пасюкова Елена Генриховна	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	egpas@rambler.ru
Рябова Елена Владимировна	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	dochcajulii@mail.ru
Рязанова Людмила Александровна	Южно-Уральский государственный гуманитарно-педагогический университет, Челябинск	lryzanova@mail.ru
Савватеева-Попова Елена Владимировна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург	esavvateeva@mail.ru
Саранцева Светлана Владимировна	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	svesar1@yandex.ru
Сивопляс Екатерина Александровна	Московский педагогический государственный университет, Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	sivoplyas-ekater@mail.ru
Симоненко Александр Владимирович	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	symonenko@gmail.com
Слободина Александра Дмитриевна	НИЦ «Курчатовский институт – ПИЯФ», Гатчина	sashylikslobodina@mail.ru
Соловьев Илья Андреевич	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	ilyasolovev-ksc@yandex.ru
Стегний Владимир Николаевич	Национальный исследовательский Томский государственный университет	stegniy@res.tsu.ru
Суркова Светлана Юрьевна	Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого	sestr_sve@mail.ru
Тарасюк Александр Николаевич	Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Беларусь	tarasiuk01@yandex.ru
Тростников Михаил Владиславович	Институт молекулярной генетики РАН, Москва	mikhail.trostnikov@gmail.com

Усов Константин Евгеньевич	Национальный исследовательский Томский государственный университет	usovke@rambler.ru
Федорова Светлана Александровна	Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск	fsa@ngs.ru
Федотов Сергей Александрович	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург	serg900@yandex.ru
Хорошко Варвара Андреевна	Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск	vicerna@mcb.nsc.ru
Цуканова Елена Владимировна	Институт радиобиологии НАН Беларуси	elenatsukanova14@gmail.com
Черезов Роман Олегович	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва	ro-tcherezov@yandex.ru
Шалаев Андрей Владимирович	НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина	shalaeff.andrey@gmail.com
Шапошников Михаил Вячеславович	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	mshaposhnikov@mail.ru
Юшкова Елена Александровна	Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар	ushkova@lb.komisc.ru
Яшанова Ольга Павловна	Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург	olay.yashanova@gmail.com





















Отпечатано с готового оригинал-макета  
в типографии НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ

188300, Гатчина Ленинградской обл., мкр. Орлова роща, д. 1  
Зак. 252, тир. 75, уч.-изд. л. 5; 19.09.2017 г.  
Формат 70 × 100 1/16, печать офсетная