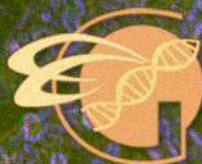


НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»



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



ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С
МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«ДРОЗОФИЛА 2023»

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

ГАТЧИНА

2023

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

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

Всероссийская конференция
с международным участием

«Дрозофила 2023»



3 – 6 октября 2023 года

Сборник тезисов

Гатчина
2023

NATIONAL RESEARCH CENTRE “KURCHATOV INSTITUTE”

Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov
of National Research Centre “Kurchatov Institute”

All-Russian Conference
with international participation

“Drosophila 2023”



October 3 - 6 2023

Abstracts

Gatchina
2023

В сборник включены аннотации докладов и состав участников Всероссийской конференции с международным участием «Дрозофила 2023» (3 – 6 октября 2023 г., Гатчина). Материалы представлены в авторской редакции.

Сборник подготовили: *Е.А. Иванова, А.Е. Комиссаров, Е.В. Рябова.*

При оформлении сборника использована фотография – победитель конкурса «Дрозофила на первой полосе» 2020 года (автор – Юлия Ильина).

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Саранцева Светлана Владимировна, д.б.н., Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

Груntenко Наталия Евгеньевна, д.б.н., Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск;

Евгеньев Михаил Борисович, д.б.н., профессор, ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

Ким Александр Иннокентьевич, д.б.н., профессор, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва;

Никитина Екатерина Александровна, д.б.н., ФГБОУ Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», Санкт-Петербург;

Пасюкова Елена Генриховна, д.б.н., профессор, НИЦ «Курчатовский институт», Москва;

Патрушев Максим Владимирович, к.б.н., НИЦ «Курчатовский институт», Москва;

Савватеева-Попова Елена Владимировна, д.б.н., ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург.

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Саранцева Светлана Владимировна – председатель;

Рябова Елена Владимировна – заместитель председателя;

Латыпова Евгения Михайловна – секретарь;

Большакова Ольга Игоревна – организационные вопросы;

Жеронкина Римма Александровна – международные вопросы;

Тяпина Наталья Валерьевна – финансовые вопросы;

Голомидов Илья Михайлович, Иванова Екатерина Александровна, Комиссаров Артём Евгеньевич, Слепнёва Елизавета Эдуардовна, Ткачева Ирина Владиславовна
– члены организационного комитета.

E-mail: e.ryabowa2018@yandex.ru

<http://drosgatchina2017.ru/>

ОРГАНИЗАТОР КОНФЕРЕНЦИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

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



СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

Компания «Profilab»

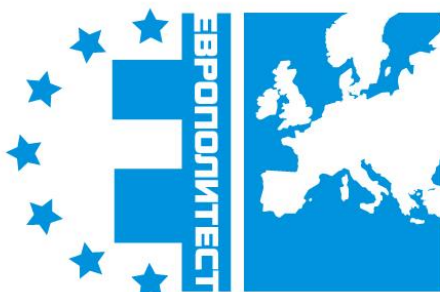


Компания

«ЛАБИНСТРУМЕНТЫ»



Компания «Европолитест»



ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПАРТНЕР КОНФЕРЕНЦИИ

PCR.NEWS - русскоязычный информационно-аналитический портал о
молекулярной диагностике и смежных областях науки и практики



УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

ORAL PRESENTATION

Влияние комбинаций генотипов эндосимбионта *Wolbachia* и хозяина *Drosophila melanogaster* на онтогенез, стрессоустойчивость и плодовитость последнего

Н.В. Адоньева¹, В.М. Ефимов¹, Н.Е. Грунтенко¹

¹ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Наиболее известный эффект внутриклеточной бактерии *Wolbachia* - влияние на репродуктивную функцию насекомого-хозяина. В то же время есть данные о влиянии вольбахии на устойчивость к стрессам, патогенам и вирусам. Мы проанализировали влияние двух наиболее распространенных у *D. melanogaster* генотипов вольбахии, wMel и wMelCS (штамм wMelPlus), на такие признаки, как уровень плодовитости, выживаемость при остром тепловом стрессе (3,5 ч, 38°C) и время развития от отложенного яйца до вылета имаго у двух линий *D. melanogaster* дикого типа, *Bi90* (сбор 2004 г., Бишкек) и *w153* (сбор 1989 г., Ташкент).

Обнаружено, что исследованные линии достоверно отличаются по вышеперечисленным признакам, как при сохранении природной инфекции (wMel у *Bi90* и wMelPlus у *w153*), так и при ее элиминации посредством обработки мух тетрациклином на протяжении трех поколений. Полученные результаты также свидетельствуют, что исследованные штаммы вольбахии не влияют на число оставляемых потомков, но один из них, wMelPlus, оказывает существенное влияние на время развития особей как линии *w153*, так и *Bi90* (будучи перенесённым на её ядерный фон серией последовательных скрещиваний), и на выживаемость линии *Bi90*, но не линии *w153*.

Таким образом, можно заключить, что влияние вольбахии на организм хозяина не ограничивается манипуляциями его репродуктивной функцией, а затрагивает такие характеристики, как скорость развития и стрессоустойчивость, причём наблюдаемый эффект может определяться комбинацией генотипа хозяина и генотипа вольбахии.

Настоящая работа поддержана грантом РФФ 21-14-00090.

Радиационная геномика выявляет множество изменений в геномной ДНК у потомков облученных родителей-самцов дрозофилы и мыши

И.Д. Александров, М.В. Александрова

Объединенный институт ядерных исследований (ОИЯИ), Дубна, Россия

Работы классического (домолекулярного) периода (30-е – 80-е годы прошлого века) в радиационной генетике дрозофилы и мыши по изучению закономерностей индукции наследуемых мутаций отдельных генов, индуцированных редкоионизирующим излучением в генеративных клетках этих лабораторных организмов, завершились, как известно, рядом обобщений концептуального характера (наличие двух главных классов мутаций – хромосомной и «точковой» природы, линейная зависимость «точковых» мутаций от дозы, отсутствие для них эффекта фракционирования, мощности дозы, определение УД). При этом «точковые» мутации рассматривались как результат одного и единственного на геном попадания, хотя, по нашим данным, например, для гена *black* около 40% таких мутаций имели дополнительные и независимые рецессивные летальные мутации в той же хромосоме, что позволяло предполагать индукцию кластеров генетических изменений в геноме облученной генеративной клетки. Прогресс ДНК- и IT-технологии открывают новые и широкие перспективы для изучения генетических изменений в генеративных клетках, индуцируемых разными дозами и видами радиации и наследуемых потомками. В целом такие исследования формируют новое в радиационной генетике направление – радиационная геномика. Рассматриваются первые результаты работ на дрозофиле и мыши в рамках названного направления. Отмечается качественная идентичность выявляемых структурных изменений ДНК генома в облученных постмейотических зародышевых клеток для этих тест-организмов, а также наличие у каждого потомка одновременно нескольких таких изменений. При этом средняя частота, например, изменений типа инделов в расчете на 1 Гр и на геном почти на порядок выше у мыши по сравнению с дрозофилой (0,94 и 0,075 для этих видов, соответственно).

Множественные изменения ДНК генома у потомков γ -облученных самцов *Drosophila melanogaster*

К.П. Афанасьева¹, И.Д. Александров¹, М.В. Александрова¹, Н.Е. Харченко¹,
А.Н. Русакович¹, А.Е. Русакович¹

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Представлены результаты геномного секвенирования потомков F₁ самцов *D. melanogaster* облученных γ -квантами в дозе 40 Гр. Всего в эксперименте проанализировано 9 потомков облученных самцов и 3 контрольных. В результате биоинформационного анализа у потомков облученных самцов обнаружены такие типы изменений, как делеции разной величины, дубликации, транслокации, инверсии и инсерции. Тогда как в контроле обнаружены только делеции. Частота *de novo* мутаций у потомков облученных самцов в несколько раз выше, чем в контроле, даже без учета замен оснований и инделов, анализ которых продолжается. Часть выявленных изменений носит мозаичный характер, что может свидетельствовать о механизме появления мозаицизма на основе однокитевых повреждений ДНК спермиев с реализацией в процессе первых митотических делений в ранней зиготе после оплодотворения (формирование мозаичных клонов). В половине случаев обнаруженные *de novo* изменения локализуются в участках кодирующих генов. Таким образом, полученные результаты показывают, что геномное секвенирование нового поколения позволяет выявлять гораздо более широкий спектр мутаций любой величины, чем традиционные тесты по мутациям отдельных генов. Это свидетельствует о гораздо более высокой генетической опасности редкоионизирующей радиации, чем это предполагалось ранее.

Экспрессия гена *Nxf1* в индивидуальном развитии *Drosophila melanogaster*

*К.В. Ахромов*¹, *Е.В. Голубкова*¹, *Л.А. Мамон*¹, *Е.В. Рябова*², *С.В. Саранцева*²

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

Ген *Nxf1* – консервативный ген семейства *Nxf*, представители которого найдены у различных групп заднежутиковых. Белок NXF1 выявляют в ядре и ядерной оболочке, а также его наличие было показано в цитоплазме нервных клеток. Данный ген обладает несколькими транскриптами, возникновение которых обусловлено альтернативными промоторами, различными сайтами полиаденилирования и альтернативным сплайсингом, из-за чего продукты гена могут выполнять различные функции в клетке, притом различные изоформы специфичны для разных тканей. Функцией полноразмерного белка является образование рибонуклеопротеиновых комплексов для транспорта мРНК из ядра в цитоплазму.

Для различных мутаций по гену *sbr* (ген *Nxf1* в номенклатуре *Drosophila melanogaster*) показаны нарушения формирования щетинок, памяти, развития нервной и мышечной систем, а также фертильности.

Эти данные позволяют предположить, что продукт гена *Nxf1* не только экспортирует мРНК из ядра в цитоплазму, но и оказывает некое влияние на развитие *Drosophila melanogaster*.

Северные ягоды как источник потенциальных геропротекторов

Т.В. Бабак, А.А. Горбунова, Д.В. Кукумань, Е.Ю. Платонова, Д.А. Голубев,
Н.Р. Пакшина, А.А. Москалев

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Старение представляет собой сложный биологический процесс, при котором с течением времени в живом организме происходят функциональные и структурные изменения. Здоровая пища, в дополнение к диетическим антиоксидантам, необходима для замедления процесса старения и улучшения качества жизни. Плоды растений являются хорошим источником питательных веществ и натуральных биоактивных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами и участвующих в предотвращении старения и других возрастных расстройств. Хорошо известно, что ягоды содержат повышенный уровень встречающихся в природе полифенольных соединений, одними из ведущих которых являются антоцианы. Целью нашей работы было оценить эффекты экстрактов ягод растений региональной флоры Республики Коми, плоды которых являются источником фитохимических соединений с потенциальной геропротекторной активностью. Коллективом лаборатории из списка региональной флоры изучены экстракты антоцианов более десятка ягод, как дикоросов, так и широко культивируемых на территории плодово-ягодных растений. При оценке геропротекторных эффектов экстрактов использовали особей плодовой мушки *Drosophila melanogaster* линии дикого типа. В целом, полученные данные показывают, что плодово-ягодные растения Севера имеют большой потенциал с точки зрения профилактики возрастзависимых заболеваний и увеличения долголетия. Экстракты ягод оказывают модулирующее действие на продолжительности жизни, устойчивость к голоданию, гипертермии и окислительному стрессу и уровень экспрессии генов стресс-ответа (гены белков теплового шока, антиоксидантной защиты) у *D. melanogaster*, при этом геропротекторный эффект зависит от вида растения, концентрации экстракта и пола дрозофил.

Регуляция социального поведения у *Drosophila melanogaster*: гены-кандидаты

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

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

Содержание самцов дрозофилы в однополых группах приводит к длительному снижению уровня локомоторной активности (до 5 суток) и интенсивности ухаживания за самками (до 1 суток). Физиологические и молекулярно-генетические механизмы этого феномена пока не исследованы. Ранее в наших исследованиях было показано, что ведущей сенсорной модальностью в модификации уровня локомоторной активности является обоняние. Физиологические корреляты модификации полового поведения после содержания самцов в однополых группах пока не обнаружены.

Для поиска молекулярно-генетических компонентов мы провели скрининг коллекции P_dL-инсерционных мутантов (около 100 линий). Мутаций, нарушающих модификацию полового поведения, мы не обнаружили. Однако был выявлен ряд генов-кандидатов, продукты которых предположительно могут играть ключевую роль в снижении локомоторной активности самцов после содержания в однополых группах. Это гены Dek, Hel89B, RpL41, NaCP60E, CG11791, Tasp1, Pdk (инсерция произошла в некодирующие области в начале гена).

Роль выявленных генов-кандидатов в механизмах модификации поведения дрозофилы после социальных взаимодействий в однополых группах показана впервые. Выявленные гены имеют ортологи у человека.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004.

***Drosophila melanogaster*: полет в космос и поведение**

Ю.В. Брагина¹, Л.В. Даниленкова¹, А.А. Гончарова¹, Н.Г. Беседина¹, Е.А. Камышева¹, О.Н. Ларина², Н.Г. Камышев¹

¹ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Основным негативным фактором полетов в космос является микрогравитация. В условиях невесомости происходят функциональные изменения на разных уровнях – системном, органном, клеточном, молекулярном, генетическом. Механизмы воздействия микрогравитации на организмы все еще изучены недостаточно.

Мы представляем результаты исследования влияния полетов на МКС на поведение самцов дрозофилы. Полеты продолжительностью 7-12 суток состоялись в 2020, 2021 и 2022 годах.

Послеполетное тестирование показало значительные изменения в способности к взбиранию, уровне локомоторной активности на горизонтальной поверхности, полового поведения и уровне звукопродукции. Нарушения поведения сохранялись до 10 суток после завершения полета, интенсивность нарушений зависела от продолжительности полета.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004. Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

Консервативный белок RCC1 – новый компонент черных дисков политенных хромосом *Drosophila*

Т.Ю. Ватолина¹, М.В. Мальцева¹, И.Ф. Жимулёв¹

¹*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

В политенных хромосомах *Drosophila*, как было показано на картах Н.К. Кольцова (1934) и Бриджиса (1935-1938), выделяются такие структуры, как междиски, серые и черные диски. Известно, у *Drosophila melanogaster* геном разделяется на две группы: гены «домашнего хозяйства» и гены развития. Оказалось, что первые занимают две структуры – междиск и серый диск, а вторые расположены в черных дисках. Ранее был охарактеризован ген *RCC1* (*Regulator of Chromosome Condensation 1*), который считается регулятором конденсации хромосом в клеточном цикле. Этот ген кодирует ядерный белок, последовательность аминокислот которого высоко консервативна среди всех эукариот и состоит из семи бета-спиралей, также известных как семь повторяющихся единиц. Мы показали, что около 200 черных дисков политенных хромосом и хромоцентр связывают антитела на этот белок. Как оказалось, во время активации генов, локализованных в черных дисках (формирования пухов), материал черных дисков декомпактизуется и одновременно с этим белок RCC1 покидает этот район. Мы обнаружили, что антитела на белок RCC1 ксенопуса специфически связываются с белком RCC1 дрозофилы и человека, при этом в линиях дрозофилы с подавлением недорепликации происходит увеличение относительного количества белка RCC1 по сравнению с диким типом.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-14-00051-П.

Изменение экспрессии протеинкиназы GSK3 в отдельных кластерах дофаминергических нейронов влияет на продолжительность жизни и поведение *Drosophila melanogaster*

Е.Р. Веселкина, Н.В. Рощина, Ю.А. Андреев, М.В. Тростников, Е.Г. Пасюкова

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Продолжительность жизни (ПЖ) зависит от стабильности и правильной работы клеток отдельных тканей. Ранее мы показали, что изменение экспрессии высококонсервативной протеинкиназы GSK3 в клетках нервной системы, в частности, в нейронах разного типа, приводит к изменению ПЖ и влияет на функциональное состояние нервной системы. Учитывая, что нарушения экспрессии GSK3, затрагивающего отдельные типы нейронов, достаточно для изменения ПЖ, мы проверили, изменится ли ПЖ, если нарушение затронет лишь небольшие кластеры нейронов.

Мы показали, что индукция трансгена, нарушающего экспрессию GSK3, в различных кластерах дофаминергических нейронов (ДН) может как уменьшать, так и увеличивать ПЖ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что участие ДН в контроле ПЖ имеет комплексный характер и в норме роль различных кластеров должна быть строго скоординирована. О сложном характере влияния ДН на ПЖ свидетельствует также то, что сильное увеличение экспрессии основной изоформы GSK3 во всех ДН приводит к летали, а увеличение в отдельных кластерах ДН не дает такого эффекта. Известно, что различные кластеры ДН влияют на обоняние и пищевое поведение, а также подвижность, характеризующую общий функциональный статус нервной системы, и социальную активность. Мы показали, что изменение экспрессии GSK3 в ряде кластеров ДН затрагивает эти признаки.

Полученные результаты позволяют говорить о роли отдельных клеток, в частности, ДН в контроле ПЖ и рассматривать эти клетки в качестве потенциальных мишеней для геропротекторных интервенций.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного бюджета НИЦ КИ.

**Сравнение эффектов эктопической экспрессии гена арил-
гидрокарбонового рецептора человека и дрозофилы в организме
*Drosophila melanogaster***

Ю.Е. Воронцова¹, А.А. Акишина¹, Р.О. Черезов¹, О.Б. Симонова¹

¹ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Одним из ключевых факторов регуляции метаболического ответа клеток эукариот на действие ксенобиотиков является арил-гидрокарбоновый (диоксиновый) рецептор (AHR), чьи гены-мишени играют основополагающую роль в детоксикации организма, регуляции процессов развития, поддержании гомеостаза, а также в возникновении онкологических и аутоиммунных заболеваний и метаболизме лекарственных соединений. Высокий консерватизм AHR позвоночных позволил нам исследовать его функции *in vivo*, используя особей *Drosophila melanogaster*, трансформированных геном AHR человека, и сравнить эффект его эктопической экспрессии с эктопической экспрессией гомолога AHR дрозофилы - *spineless*. Мы впервые показали, что в организме дрозофилы AHR человека может время- и тканеспецифически (эмбриогенез, ножные имагинальные диски, соматические клетки половой системы самок) активироваться даже в отсутствии его экзогенных лигандов-ксенобиотиков, что вызывает различные аномалии метаморфоза, нарушение фертильности и гибель. Наши результаты предполагают существование эволюционно консервативных тканеспецифических лигандов в организме дрозофил, способных активировать AHR позвоночных.

Данное исследование позволит расширить поиск новых потенциальных лигандов AHR человека и открыть новые возможности для изучения его эволюционно консервативных функций в процессах развития *in vivo*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН 2023 года № 0088-2021-0007; Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН.

Изучение комбинированного действия гамма-излучения и импульсного магнитного поля в тесте на доминантные летальные мутации *Drosophila melanogaster*

Ю.В. Гайнетдинова, Ю.Р. Ахмадуллина, Е.В. Стяжкина

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

Изучение комбинированного действия ионизирующих и неионизирующих излучений имеет научную и практическую значимость для понимания и решения проблем, связанных с охраной здоровья людей и экологической безопасностью. Цель работы - оценить частоту эмбриональной гибели *D. melanogaster* с помощью метода доминантных летальных мутаций (ДЛМ) при комбинированном действии гамма-излучения и импульсного магнитного поля (ИМП). Культивирование *D. melanogaster* линии *Canton-S* проводили стандартным способом. Воздействию излучений подвергали половозрелых самцов. Для оценки комбинированного действия излучений сначала проводили экспозицию ИМП в течение 5 часов, после чего подвергали острому гамма-облучению в дозах 3, 10, 20 и 60 Гр. Гамма-облучение проводили в экспериментальной исследовательской гамма-установке ИГУР-1М с мощностью дозы 0,8 Гр/мин и неравномерностью гамма-поля меньше 5%. Для индукции ИМП был использован генератор Шапаронова, предназначенный для оценки влияния ИМП на биологические объекты. Индукция магнитного поля генератора в месте расположения биологических объектов составляет 16 мТл в импульсе. Расчет ожидаемого аддитивного эффекта проводили по формуле $P\Sigma=1 - (1 - P_a)*(1 - P_b)$, где P – ожидаемый аддитивный эффект от действия двух факторов; P_a – эффект от одиночного действия первого фактора; P_b – эффект от одиночного действия второго фактора. Комбинирование действия ИМП и гамма-излучения привело к статистически значимому снижению частоты ДЛМ при дозах гамма-облучения 3, 10, 60 Гр по сравнению с ожидаемым эффектом. Это может свидетельствовать об аддитивном характере взаимодействия изучаемых факторов.

Механизмы регуляции экспрессии генов: как *Drosophila* приоткрывает завесу

Е.В. Голубкова¹, А.О. Якимова², К.В. Ахромов¹, А.В. Васильев¹, Д.Д. Бондарук¹, Д.И. Пелле¹, Л.А. Мамон¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

Сравнение организмов, относящихся к самым разным таксонам, показало, что усложнение организации в ходе эволюции сопряжено не с увеличением числа белок-кодирующих генов, а связано с возможностями альтернативного процессинга транскриптов, который создает функциональное разнообразие генных продуктов. И, кроме того, с дополнительными возможностями регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном и уровне.

Транскриптомы животных динамичны, каждый тип клеток, тканей и систем органов экспрессирует свой ансамбль изоформ транскриптов, что приводит к существенному разнообразию. И транскриптом дрозофилы значительно сложнее, чем считалось ранее, из-за комбинаторного использования промоторов, альтернативных сайтов сплайсинга и сайтов альтернативного полиаденилирования. Дрозофила, таким образом, является прекрасной моделью для изучения механизмов регуляции экспрессии генов на всех уровнях реализации генетической информации.

Обучение и память у *Drosophila melanogaster*: новые гены-кандидаты

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

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

Дрозофила является великолепным модельным объектом для изучения молекулярно-генетических механизмов процессов обучения и памяти.

Скрининг коллекции PdL-инсерционных мутантов (около 100 линий) позволил нам выявить ряд новых генов-кандидатов, продукты которых участвуют в механизмах обучения и/или формирования памяти в парадигме условнорефлекторного подавления ухаживания (УРПУ).

Нарушения способности к воспроизведению УРПУ через 3 часа после тренировки наблюдали у мутантов с инсерцией в кодирующей области генов l(2)37Cd и CG7220, в некодирующих (промоторных, регуляторных) областях генов Dek, CG8036, p, Toll-6, Hel89B, RpL41, NaCP60E, Hacd1, psq, Pif1A/Pif1B. Продукты генов Dek, Hel89B и psq связаны с регуляцией состояния хроматина, что позволяет предполагать участие эпигенетических механизмов в процессах обучения и формирования памяти.

Роль выявленных генов-кандидатов в процессах обучения и памяти показана впервые. Для всех выявленных генов имеются ортологи у человека.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004. Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

Роль баланса потребления серосодержащих аминокислот (метионина и цистеина) в геропротекторных эффектах сверхэкспрессии генов биосинтеза сероводорода *CBS* и *CSE* у *Drosophila melanogaster*

А.А. Горбунова¹, М.В. Шапошников¹, Т.В. Бабак¹, Л.А. Коваль¹, Н.В. Земская¹,
Н.С. Уляшева¹, Н.Р. Пакина¹, А.А. Москалев¹

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Эндогенный синтез сероводорода в основном продуцируется за счет активности двух ферментов: цистатионин-β-синтазы (CBS) и цистатионин-γ-лиазы (CSE) по пути транссульфурации за счет поступления в организм серосодержащих аминокислот метионина и цистеина. Объектом исследования данной работы являются лабораторные линии *D. melanogaster* с повышенной активностью генов *CBS* и *CSE*, кодирующих эти ферменты. Ранее в работах нашего коллектива и коллег было показано, что сверхэкспрессия и делеция генов *CBS* и *CSE* ведет как к положительному, так и отрицательному эффекту на организм, а также установлена связь продукции сероводорода с содержанием серосодержащих аминокислот метионина и цистеина в диете. Сероводород, вероятно, необходим для формирования геропротекторного эффекта ограниченной диеты за счет активации экспрессии CBS. Таким образом, очевидно, что сероводород играет очень важную роль в процессе жизнедеятельности организма, но механизмы его действия не вполне понятны. Целью настоящего проекта является изучение взаимосвязи продолжительности жизни и процесса старения с функциональной активностью генов контроля биосинтеза сероводорода *CBS* и *CSE* на фоне диеты с разным содержанием серосодержащих аминокислот (метионина и цистеина).

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 17-74-30030.

Зачем мухам вольбахии, или Особенности влияния бактерии на метаболизм, дифференциальную экспрессию генов и образ жизни хозяина

Н.Е. Грунтенко, О.В. Андреевкова, О.Д. Шишкина, Н.В. Шацкая, М.А. Дерюженко, Е.К. Карпова, М.А. Бобровских, Л.П. Захаренко, Н.В. Адоньева

ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

Давно известно, что наследуемая по материнской линии эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* способна манипулировать половой детерминацией и репродуктивной системой насекомого-хозяина, успешно распространяясь в его популяциях. Однако до сих пор не совсем ясно, какую выгоду этот симбиоз может приносить хозяину. В поисках возможных преимуществ, которые вольбахии могут обеспечивать своему носителю, мы исследовали углеводно-жировой метаболизм, дифференциальную экспрессию генов и устойчивость к голоданию ряда линий *Drosophila melanogaster*, имеющих один и тот же ядерный фон (линии дикого типа Vi90) и несущих цитоплазму со штаммами *Wolbachia* различных генотипов. Полученные данные свидетельствуют о влиянии бактерии на метаболизм экдистероидов и о значительных изменениях в процессе пищеварения и энергетическом метаболизме инфицированных мух. Эти изменения также сопровождаются повышением содержания липидов и углеводов, обеспечивающим большую продолжительность жизни в условиях голода, что в значительной мере отвечает на вопрос о пользе вольбахий для своего носителя. При этом инфицированные мухи имеют заметно сниженный аппетит, что кажется парадоксальным в сочетании с явным диабетическим фенотипом, но может объясняться их более низкой, чем у неинфицированных мух, двигательной активностью.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 21-14-00090).

Влияние сульфата кобальта на морфометрические показатели крыла дрозофилы

К.А. Дегтярёва, В.В. Клюева

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), Белгород, Россия

Тяжелые металлы и их соединения являются наиболее распространенными химическими поллютантами. Многочисленными исследованиями показано негативное влияние тяжелых металлов и их соединений на живые организмы, в том числе на дрозофилу. Одной из уязвимых стадий онтогенеза дрозофилы является гаметогенез и при воздействии в этот период различными стрессовыми факторами, в том числе химическими, может последовать тот или иной ответ организма.

Нами было изучено влияние различных концентраций сульфата кобальта на эмбриональную смертность, а также на морфометрические показатели крыла дрозофилы линии дикого типа. Воздействию с разной продолжительностью экспозиции подвергались самцы дрозофилы, учет морфометрических показателей крыла проводили у потомков женского и мужского пола первого поколения, полученного от скрещивания испытуемых самцов с нормальными самками. С увеличением концентрации соли тяжелого металла наблюдается увеличение частоты появления различных аномалий в строении крыла (изменение формы, нарушение жилкования и т.д.), а также изменение морфометрических показателей по нескольким параметрам.

Влияние делеций генов серного метаболизма на различные функциональные аспекты в организме *Drosophila melanogaster*

В.Ю. Шилова, Л.Н. Чувакова, А.П. Резвых, А.Ш. Заклута, М.Б. Евгенийев, О.Г. Зацепина

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

С помощью технологии CRISPR/Cas9 мы получили линии *Drosophila melanogaster* с делециями генов *CBS*, *CSE*, *MST*, а также с двойной (*CBS*, *CSE*) и с тройной делецией генов (*CBS*, *CSE* и *MST*). В ходе исследования была выявлена важная роль генов серного метаболизма для процессов развития и размножения. В частности, была показана роль этих генов в продолжительности репродуктивного возраста и в процессе формирования памяти. Нами были получены библиотеки (транскриптомика) и изучен профиль экспрессии генов у мух с делециями генов *CBS*, *CSE*, *MST* во взрослых особях, в куколках и в головах. Показано, что наиболее серьезные изменения как на физиологическом уровне, так и на уровне изменений в профиле экспрессии генов, вызывает делеция гена *CBS*. Удаление гена *CSE* у дрозофил с делетированным геном *CBS* усиливает нарушения, вызванные делецией *CBS*. Двойная и особенно тройная делеции оказывают наиболее значимое снижение репродуктивных показателей, таких как плодовитость и репродуктивный возраст. Нами были проведены опыты с использованием описанных выше делетированных линий для выяснения роли генов серного метаболизма в иммунитете самок-дрозофил. Для этого по разработанной Хоффманом методике мух заражали путем инъекции грамположительными или грамотрицательными бактериями. С помощью RTPCR исследовали ответ основных генов врожденного иммунитета (таких как *edin*, *dipterecin B*, *drosomycin*, *defensin* и *bomanin Bc1*) на заражение в изучаемых линиях с делециями. Были также поставлены тесты на выживание мух после заражения. Результаты данного исследования расширяют наши знания о важности оптимального уровня синтеза сероводорода для функционирования репродуктивной, иммунной и нервной систем.

Работа поддержана грантом РНФ № 17-74-30030.

Состояние репродуктивной системы у особей *Drosophila melanogaster* с нарушенной функцией гена *swiss cheese*

Е.А. Иванова, Е.В. Рябова, Е.М. Латыпова, С.В. Саранцева

НИЦ «Курчатовский институт»-ПИЯФ, Гатчина, Россия

Нормальное функционирование репродуктивной системы жизненно необходимо для всех многоклеточных организмов, размножающихся половым путем. Репродуктивная система дрозофилы представляет собой удобную и простую систему для изучения процессов поддержания и развития зародышевых клеток (сперматогенез), а также соматических клеток цисты, дающих начало тканям, окружающим и поддерживающим образование гамет. Такая защитная изоляция зародышевых клеток обеспечивается физическим барьером, образованным между соматическими клетками. Его структуру и функциональность обеспечивают различные гены, нарушение работы которых может приводить к образованию нефункциональных гамет, что выражается в снижении плодовитости мух.

Недавние исследования, проведенные в лаборатории экспериментальной генетики Отделения молекулярной и радиационной биофизики НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, показали высокую экспрессию гена *swiss cheese* (*sws*) в репродуктивной системе самцов *Drosophila melanogaster*, а именно в семенниках, причем предполагается, что в них она происходит в соматических клетках цисты. Также было отмечено снижение подвижности сперматозоидов у мух с мутацией в данном гене. Поэтому данная работа направлена на определение роли гена *sws* *D. melanogaster* в сперматогенезе.

Влияние теплового стресса, перенесенного *D. melanogaster* в личиночном возрасте, на приспособленность имаго

Е.К. Карнова, М.А. Бобровских, Е.В. Бурдина, В.М. Ефимов, Н.Е. Грунтенко

ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Влияние стресса, перенесенного на ранних этапах развития, на формирование приспособленности и эндокринного статуса взрослых особей неоднократно показано у различных видов млекопитающих. Однако подобных исследований на насекомых ранее не проводилось, а одним из ключевых отличий онтогенеза насекомых с полным превращением является метаморфоз. Сохраняются ли при этом метаболические изменения, произошедшие в организме насекомого под влиянием неблагоприятных внешних воздействий до имагинальной линьки, или же метаморфоз их «обнуляет»? Было обнаружено, что под влиянием теплового стресса, перенесенного личинками 3-го возраста *Drosophila melanogaster*, продолжительность жизни имаго увеличивается, а стрессоустойчивость падает как у самцов, так и у самок. Поскольку ранее было показано, что повышение базового уровня дофамина (ДА) у самок дрозофилы вызывало снижение их устойчивости к тепловому стрессу, было интересно оценить уровень ДА у имаго *Drosophila melanogaster*, перенесших стресс на личиночной стадии развития. В группах раннего стресса было продемонстрировано изменение динамики двух ферментов синтеза ДА: щелочной фосфатазы и тирозин гидроксилазы, что свидетельствует о изменениях в уровне самого гормона, поскольку существует обратная связь в регуляции синтеза ДА. Таким образом, тепловой стресс, перенесенный личинками дрозофилы, не "обнуляется" метаморфозом и вызывает серьезные изменения в адаптивности взрослых особей, в том числе – обусловленные изменениями в уровне ДА.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-24-00320.

Сайты очень эффективной ранней инициации репликации в политенных хромосомах слюнных желез *Drosophila melanogaster* связаны с кластерами экдизон-зависимых энхансеров

Т.Д. Колесникова¹, Н.Е. Воробьева², В.В. Довгань¹, Г.В. Похолкова¹,
Ф.Шуберт³

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

³Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research Gatersleben (IPK), Germany

Мы показали, что инициация репликации в политенных хромосомах происходит преимущественно в интервалах между наиболее компактными дисками политенных хромосом, а внутри этих интервалов инициация носит вероятностный характер. Каждый интервал действует как зона инициации репликации, и эти зоны существенно различаются по вероятности инициации репликации в единицу времени. Мы обнаружили около 40 очень эффективных сайтов инициации ранней репликации, в которых инициация происходит на большинстве нитей политенной хромосомы в первые несколько минут S-фазы. Большинство этих сайтов совпали с локусами экдизон-зависимых генов. В политенных хромосомах слюнных очень эффективные сайты инициации ранней репликации ярко окрашиваются антителами к белку рецептора экдизона (EcR). Мы обнаружили, что некоторые хромосомные локусы демонстрировали эффективную инициацию репликации на всех анализируемых стадиях личиночного развития, тогда как другие выступали в роли эффективных сайтов инициации репликации только на определенных стадиях. Цитологическое картирование с последующей локализацией на геномной карте и анализом различных хроматиновых маркеров 76 сайтов ранней эффективной инициации репликации позволило сделать вывод что наиболее эффективные ориджины/зоны инициации репликации появляются в участках хромосом, несущих энхансерные маркеры.

Работа поддерживается бюджетным проектом FWGZ-2021-0014

Роль гена *Rad51D* в репарации двунитевых разрывов ДНК

А.Ю. Конев, Ю.А. Ильина, В.Ю. Украинцев, А.Д. Шевляков, А.В. Торощина

НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия

Клетки используют несколько механизмов репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК: гомологичную рекомбинацию (HR), одноцепочечный отжиг (SSA), канонический и альтернативный пути негомологичного соединения концов. Центральную роль в HR играет RAD51, катализирующий обмен между гомологичными молекулами ДНК. Сборка филаментов Rad51 опосредуется белками-посредниками, включая паралоги Rad51. Геном дрозофилы содержит ортолог Rad51 *spnA* и 4 паралога Rad51: *spnB*, *spnD*, XRCC2 и Rad51D. Мутация *rad201G1* была выделена из природной популяции по чувствительности личинок к ионизирующему излучению (Хромых, Захаров, 1981). Мы показали, что мутация *rad201G1* вызвана вставкой ретротранспозона *Orpus* в 5'-нетранслируемую область гена *Rad51D*. Уровень транскрипции *Rad51D* снижен в 30 раз у мутантных эмбрионов или в яичниках мутанта *rad201G1*. Транскрипция *Rad51D* увеличивается после воздействия ионизирующего излучения. Мутанты *rad201G1* чувствительны к ионизирующему излучению и цис-платине, но не к MMS. Чтобы определить роль Rad51D в репарации ДР, мы использовали генетическую систему, которая обеспечивает создание единственного сайт – специфичного ДР на клетку с помощью эндонуклеазы I-Sce в репортере DR-white (Direct Repeat White). Такая система позволяет определить по какому пути произошла репарация ДР ДНК. Для визуализации ДР в клетках экспрессируется слитый с eYFP белок MU2, который рекрутируется к ДР. В клетках культивируемого мозга личинок кинетика исчезновения радиационно-индуцированных фокусов MU2 замедлена у мутанта *rad201G1*. Мутация *rad201G1* вызывает понижение частоты HR с сопутствующим увеличением частоты SSA. Таким образом, ген Rad51D дрозофилы вовлечен в репарацию ДР ДНК по пути гомологичной рекомбинации. Ранее изученные эффекты мутации *rad201G1* будут рассмотрены в свете того, что они отражают функции гена *Rad51D* дрозофилы.

Дрозофила как модель изучения взаимодействия бактерия-хозяин на примере *Lactiplantibacillus plantarum*

В.В. Костенко, Н.Б. Баранова

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Дрозофила широко используется в качестве модели *in vivo* для изучения бактериальных, вирусных и даже грибковых инфекций. Насекомое используется в качестве модели при изучении взаимоотношений хозяин-микроорганизм, особенно в отношении резидентной микрофлоры, такой как *L. plantarum*, которые в настоящее время широко используются в пищевой и фармацевтической промышленности. Влияние *L. plantarum* на физиологию хозяина актуально как для фундаментальных, так и для прикладных исследований, направленных на использование этих бактерий в качестве пробиотиков. Изучение взаимодействия лактобактерий и дрозофилы интересны тем, что с помощью пробиотиков можно модулировать физиологические, особенно нейрофизиологические процессы и процессы репродукции. На сегодняшний день особые отношения между мухой и его симбиотом *L. plantarum* выявили различные аспекты взаимодействия микро-макроорганизма. Имеющиеся данные о *L. plantarum* и *D. melanogaster* указывают на сложный и неоднозначный характер взаимодействия бактерий с хозяином. Нами были протестированы лактобактерии, которые характеризуются антагонистической активностью в отношении условно-патогенных бактерий и антибиотикоустойчивые штаммы. Показано, что штаммы бактерий, обладающие антагонистической активностью, положительно влияют на адаптационный потенциал своего хозяина, в то время как устойчивые к антибиотику штаммы оказывают цито- и генотоксичный эффект.

Гено- и цитотоксическое воздействие микрочастиц полиэтилентерефталата в системе *in vivo* на модели *Drosophila*

В.В. Костенко, А.Р. Сайфутдинова, Я.Г. Яцемская

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Микропластиковое загрязнение (МП) – это проблема глобального масштаба. Пластик в окружающей среде под воздействием физических, химических и биологических факторов деградирует до микропластика (частицы размером менее 5 мм). За счет малого размера микрочастицы пластика легко поглощаются живыми организмами, среди которых моллюски, ракообразные, насекомые, рыбы, птицы, млекопитающие и даже человек. МП накапливается во внутренних органах, что вызывает их повреждение; изменяет поведение животных, негативно влияет на фертильность и работу репродуктивной системы; также среди эффектов микропластика наблюдались реакция иммунной системы и нарушение гематотестикулярного и гематоэнцефалического барьеров у разных организмов. Однако на сегодняшний день нет однозначных данных о токсических эффектах и причинных молекулярных механизмах; эти вопросы требуют дальнейших исследований. В этой связи цель данной работы - оценка гено- и цитотоксического влияния микрочастиц полиэтилентерефталата (ПЭТ) на модели *in vivo Drosophila melanogaster*.

В нашей работе мы показали, что концентрации МП ПЭТ 0.02 г/мл и 0.04 г/мл вызывают достоверное снижение плодовитости, жизнеспособности и выживаемости мух на эмбриональной и предимагинальной стадиях развития по сравнению с контрольной группой; в анализе SMART оказывает генотоксический эффект за счет повышения частоты рекомбинантных мутантов; оказывают цитотоксический эффект в отношении клеток кишечника; повышается экспрессия гена *Foxo*, при этом не выявлено влияния на экспрессию группы генов иммунного ответа мух (*Peroxiredoxin 5* и *Drosomycin*).

Эпигенетическая регуляция генов с помощью пиРНК у *Drosophila virilis*

Д.А. Куликова¹, Е.С. Зеленцова², А.В. Беспалова^{2,3}, М.Б. Евгеньев², Дж.П. Блюминстил⁴, С.Ю. Фуников²

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

³Национальный исследовательский институт Высшая школа экономики, Москва, Россия

⁴Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Kansas, Lawrence, USA

Общеизвестно, что короткие РНК, ассоциированные с белком Piwi (пиРНК) контролируют экспрессию мобильных элементов (МЭ) в соматических и зародышевых клетках яичников *Drosophila*, играя решающую роль в защите целостности генома. Недавние исследования показали, что пиРНК необходимы не только для замалчивания транспозонов, но также в эпигенетической регуляции экспрессии генов. Известно, что короткие РНК могут участвовать в развитии редкого феномена парамутации. Парамутация – это эпигенетический феномен, при котором один аллель гена запускает эпигенетическую модификацию другого аллеля. Механизм парамутации у разных организмов различается в деталях, но при этом изменяется эпигенетический профиль гена, и этот профиль стабильно наследуется в последующих поколениях и может модифицировать другие аллели.

Недавно мы обнаружили, что в разных линиях *Drosophila virilis* существует асимметрия в наличии пиРНК к некоторым белок-кодирующим генам. Это дало нам возможность проверить будет ли проявляться феномен парамутации в генах при скрещивании линий ассиметричных по наличию пиРНК к этим генам. Нами было показано, что при скрещивании самок линии 160, в которой есть пиРНК к гену *cdi* (*enter divider*) с самцами линии 9, где пиРНК отсутствуют, отцовский аллель сайленсируется. В последующих возвратных скрещиваниях оказалось, что сайленсинг может поддерживаться в отсутствии исходного парамутагенного аллеля *cdi*. По-видимому, именно наследуемые материнские пиРНК из линии с активным пиРНКовым кластером имеют решающее значение и запускают продукцию пиРНК с отцовского аллеля, преобразуя его в новый пиРНКовый кластер, хотя и более слабый. Тем не менее, биогенез пиРНК может после первичной активации поддерживаться в последующих поколениях в отсутствии исходного аллеля *cdi* 160 линии.

Ген *cdi* расположен в субтеломерном районе на хромосоме 2, где расположены большие массивы ретротранспозонов, которые регулируются пиРНК. Был обнаружен еще один интересный факт: ген *cdi* в обоих аллелях фланкирован фрагментом мобильного элемента *TART*. Возможно, это играет важную роль в подавлении экспрессии гена *cdi* с помощью первоначального нацеливания пиРНК на район гена и создание нового пиРНКового кластера, который захватывает сам ген в линии 160.

Мы впервые показали наличие естественного механизма парамутации у *Drosophila*. До сих пор возможность существования этого феномена у *Drosophila* было показано только на искусственных системах, созданных с помощью трансгенных конструкций. Было показано, запуск эпигенетического преобразования аллеля зависит от материнского наследования пиРНК. Открытие естественного механизма дает возможность изучить, какой вклад в эволюционный процесс могут вносить изменения признаков, не связанные с обычным изменением генетического материала.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-74-10050.

Фактор ремоделирования хроматина CHD1 в процессе дозовой компенсации у *Drosophila melanogaster*

Я.А. Кучинская¹, А.Ю. Конев¹

¹НИЦ «Курчатовский Институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия

Механизм дозовой компенсации (ДК) направлен на выравнивание дозы генов у гомо- и гетерогаметного пола, а также между половыми хромосомами и аутосомами. У дрозофилы ДК направлена на увеличение экспрессии X-хромосомных генов у самцов примерно в два раза. Центральное место в этом процессе занимает комплекс дозовой компенсации (MSL: *male-specific lethal*), включающий в себя белки MSL1-MSL3, ацетилтрансферазу MOF, РНК геликазу MLE и две длинные некодирующие РНК (roX1 и roX2). Данный процесс был использован нами в качестве модели для изучения функций консервативного фактора ремоделирования хроматина CHD1 (Chromo-ATPase/Helicase-DNA-binding protein 1).

Для изучения влияния мутаций Chd1 на процесс дозовой компенсации нами проводилось сравнение профилей экспрессии X-хромосомных и аутосомных генов у личинок обоих полов дикого типа и Chd1 нуль-мутантов, полученных методом РНК секвенирования. Графики плотности распределения значений log2FoldChange для дифференциальной экспрессии генов X-хромосом и аутосом групп сравнения показали для мутантных по гену Chd1 самцов небольшой, но достоверный сдвиг в распределении плотности log2FoldChange в сторону увеличения экспрессии для X-хромосомных генов по сравнению с аутосомными. При этом для самок различий на фоне мутации Chd1 не обнаружено. Цитологические данные, полученные путём иммуноокрашивания препаратов политенных хромосом, кроме изменения структуры X-хромосомы самцов мутантов по Chd1, также показывают различия в распределении белка CHD1 у дикого типа и мутанта, тогда как у самок картина связывания данного белка не меняется.

Нами получены данные о специфическом вовлечении Chd1 в регуляцию экспрессии днРНК roX1 и roX2 в ходе развития самцов дрозофилы. В наибольшей степени различия в уровне экспрессии между диким типом и нуль-мутантом демонстрируют образцы из голов 4-х и 10-дневных имаго. Уровень экспрессии днРНК roX1 увеличен в 3,9 и 3,4 раза соответственно, а

для гоX2 показано достоверное снижение экспрессии в головах с возрастом по сравнению с контрольными особями. Полученные результаты свидетельствуют о вовлечении CHD1 в регуляцию структуры хроматина и экспрессии генов, связанных с ДК у дрозофилы.

A novel approach to genetic analysis of mating behavior in interspecies crosses of *Drosophila virilis* and *D. americana*

Elena G. Belkina, Svetlana Yu. Sorokina, Alex M. Kulikov, Oleg E. Lazebny

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

Sympatric speciation entails the rapid development of reproductive barriers between diverging populations with distinct adaptations within the same geographical area. Prezygotic isolation mechanisms, particularly courtship behavior, play a crucial role in the formation of these barriers. As a result, numerous closely related insect species with specific adaptations coexist in shared or adjacent territories. The genetic basis of these mechanisms has been extensively studied in closely related *Drosophila* species, such as the *D. virilis* group. However, while the role of individual courtship behavior elements has been investigated, the impact of genotype on the overall species-specific courtship structure remains understudied. The involvement of both female and male partners in each courtship element further complicates this analysis.

This study aimed to examine the contribution of sex chromosomes and autosomes to the formation of courtship structure in *D. virilis* and *D. americana*. Genetic analysis was conducted by evaluating offspring using reference genotypes (females and males of the original species), video-typing, and formalization of courtship ritual elements. A total of 720 tests with individual pairs were conducted and analyzed. The collected data on latency and duration of courtship elements were subjected to structural equation modeling (SEM). The majority of species-specific characteristics related to latency and duration, including male and female song, following, licking, and circling, were found to be influenced by the *D. virilis* genotype. However, not all of these characteristics significantly impact copulation success, with male song, licking, and following showing the most pronounced effects. In females, the female song demonstrated a significant association only with copulation duration. The influence of the female genotype on species-specific courtship characteristics is primarily linked to autosomes, while the male genotype is associated with the X chromosomes.

Based on the findings, this study suggests that sexual selection predominantly occurs through acoustic and chemoreceptor channels, which help prevent X chromosome demasculinization.

Генетическая и молекулярная организация прицентромерного гетерохроматина в политенных хромосомах *Drosophila*

М.В. Мальцева, Т.Ю. Ватолина, И.Ф. Жимулев

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

Весомую часть в геноме всех эукариот занимает гетерохроматин. В норме из-за недорепликации, гетерохроматин политенных хромосом *Drosophila* не представлен полностью, что затрудняет его изучение.

В нашей работе мы применили оригинальный подход с использованием мутантных линий *Drosophila*, которые несут признаки подавления недорепликации. Это приводит к появлению крупных блоков ранее непредставленного прицентромерного гетерохроматина. Вновь политенизированный материал демонстрирует два типа морфологии: структуру диск-междиск, характерную для плеч политенных хромосом и ретикулярный хроматин в виде блоков сателлитной ДНК.

С помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации были прокартированы границы прицентромерного гетерохроматина второй и третьей политенных хромосом, а также выполнено более дробное картирование внутренних областей, что позволило сопоставить морфологические структуры с молекулярной картой. Показано, что границы совпадают с изменениями молекулярно-генетических свойств, в первую очередь с распределением гистоновой модификации H3K9me2 и белка HP1.

Прицентромерный гетерохроматин содержит как тканеспецифичные, так и активные в большинстве изученных тканей гены (гены «домашнего хозяйства»). Промоторные области повсеместно активных генов локализованы в междисках и обладают характеристиками открытого хроматина.

Таким образом, проведена масштабная работа по связыванию данных молекулярной, физической и цитологической карт хромосом *Drosophila*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-14-00051-П.

Стресс-активация ДКП-ретротранспозонов в геноме *Drosophila melanogaster*: причины и следствия

П.А. Миляева^{1,2}, И.В. Кукушкина¹, А.Р. Лавренов^{1,3}, И.В. Кузьмин¹, А.И. Ким^{1,2},
Л.Н. Нефедова¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Faculty of Biology, Shenzhen MSU-BIT University, Longgang District, Shenzhen, China

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

Мобильные генетические элементы (МГЭ) играют важную роль в макро- и микро-эволюции. В ходе доместикации они нередко становятся новыми регуляторными последовательностями и генами. МГЭ играют важную роль в эмбриогенезе, развитии тканей и систем органов. Наиболее часто МГЭ, которые вовлекаются в эволюционные процессы эукариот, относятся к ДКП-ретротранспозонам (ретротранспозонам с длинными концевыми повторами). *Drosophila melanogaster* является одним из модельных объектов, на котором контроль ретротранспозонов изучен наиболее подробно. Вопрос о причинах активации МГЭ в ответ на разные стрессовые воздействия, а также о значимости их в этом процессе остаётся открытым многие годы. Тем не менее, в работах последних лет было показано, что разные химические и физические факторы активируют разные МГЭ. ДКП-ретротранспозоны обладают сайтами связывания транскрипционных факторов ответа на различные стрессы. Однако существует гипотеза, что экспрессия МГЭ может быть следствием и коактивации с близлежащими генами.

В данной работе мы проанализировали факторы, влияющие на стресс-индуцируемую активацию МГЭ: изменение состояния системы рiРНК-интерференции во время стресса, положение отдельных копий МГЭ в геноме и наличие сайтов связывания транскрипционных факторов, которые активируются в ответ на стресс. Используя методы количественной ПЦР и нанопорового секвенирования, мы обнаружили, что ведущим фактором является наличие сайтов связывания транскрипционных факторов. Мы предполагаем, что причины активации МГЭ во время и после стресса совпадают с причинами экспрессии МГЭ в генеративных тканях – это наличие активно делящихся клеток. В случае стресса – регенерирующих тканей. Также мы показали, что даже лабораторные линии дрозофилы являются гетерогенными по количеству и положению копий в геноме, поэтому нормирование экспрессии МГЭ на число их копий может приводить к искажению результатов.

Исследование дифференциальной экспрессии генов в ходе стрессового ответа у мутанта *Drosophila melanogaster* по гену *Gagr*, доместицированного гена *gag* ретроэлементов

М.Л. Никитина, И.В. Кукушкина, А.И. Дьяченко, И.В. Кузьмин, Л.Н. Нефедова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Последовательности ретроэлементов (ретровирусов и ретротранспозонов) в ходе эволюции могут подвергаться молекулярной доместикации и способствовать появлению новых адаптаций. У *Drosophila melanogaster* на текущий момент известно три доместицированных гена *gag* ретроэлементов группы Gypsy – *Gagr*, *dARC1*, *dARC2*, один из которых – *Gagr* – является предметом нашего исследования. В ходе исследования мы показали, что инактивация гена *Gagr* не влияет на жизнеспособность мух в стандартных условиях культивирования, однако в условия стресса, вызванного персульфатом аммония, индуктором ЭПР- и окислительного стресса, продолжительность жизни мух с инактивированным геном *Gagr* значительно снижается. При этом инактивация гена *Gagr* приводит к повышению устойчивости мутантных мух к тепловому шоку, а в стандартных условиях – к более высокой скорости развития мух. При исследовании плодовитости мутантов обнаружено, что мутантные самцы проявляют более высокие показатели фертильности в стандартных условиях, но более низкие – при воздействии стресса. Таким образом, ген *Gagr* участвует в поддержании клеточного гомеостаза, и его роль связана с ответом на стресс. Мы исследовали транскриптомы мух дикого типа и мух, мутантных по гену *Gagr*, в условиях стресса, вызванного персульфатом аммония. Транскриптомный анализ позволил доказать, что функциональная активность гена *Gagr* тесно связана с путями иммунного ответа.

ЛІМК1 и ее роль в обучении и забывании у дрозофилы

Е.А. Никитина^{1,2}, Е.С. Заломаева^{1,2}, Е.С. Егозова², А.В. Медведева¹, А.В. Журавлев¹, Е.В. Савватеева-Попова¹

¹ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

Познание механизмов формирования памяти является актуальной проблемой нейробиологии уже несколько десятков лет. Поскольку сохранение памяти является результатом обоих процессов — обучения и забывания — встает вопрос о том, что является причиной когнитивной патологии — дефект обучения и консолидации или же активного механизма забывания. Возникновению новых представлений способствовало изучение когнитивных функций у организмов с простой нервной системой, в том числе дрозофилы. Функционирование нервной системы тесно связано с передачей сигнала через рецепторы нервных клеток, сигнальная функция которых связана с малыми ГТФазами. ЛІМК1 является частью сигнального каскада: рецепторы - малые ГТФазы - актиновый цитоскелет. ЛІМК1 играет роль в долгосрочной потенциации (LTP) и долгосрочной депрессии (LTD), являющихся ключевыми механизмами обучения и памяти. Нами впервые у дрозофилы создана мутационная модель нейрокогнитивной патологии (синдрома Вильямса – Бойрена), зависимой от экспрессии гена ЛІМК1 – мутант *agn^{ts3}*. Мутационное повреждение гена *limk1* у *agn^{ts3}* нарушает все типы памяти, однако, стрессорные воздействия приводят к восстановлению его способности к обучению и формированию памяти. Также тепловой шок полностью восстанавливает у *agn^{ts3}* присущую в норме линии дикого типа *CS* динамику краткосрочной и среднесрочной памяти, что и делает *agn^{ts3}* наиболее адекватной моделью для изучения процессов забывания.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0004.

Дрозофила как объект космической биологии: результаты экспериментов, проведенных на борту Российского сегмента МКС

И.В. Огнева

ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Влияние факторов космического полета на репродуктивную систему до сих пор остается практически неизученным, хотя освоение дальнего космоса требует разработки мер для защиты этой функции. На сегодняшний день, дрозофила является практически безальтернативным объектом для подобного рода исследований в условиях космического полета ввиду простоты содержания и короткого цикла размножения.

Результаты исследований мужских половых клеток *Drosophila melanogaster* (в экспедициях МКС-65, 66) после космического полета показывают, что скорость их движения снижается и имеют место структурные изменения. Причиной подобного снижения, вероятно, является действие перегрузок и последующего периода реадaptации в 1g-условиях после длительного экспонирования в невесомости. При этом, наблюдаемое снижение скорости сперматозоидов происходит на фоне разрушения структуры хвоста сперматозоидов, а не метаболических изменений, поскольку энергообеспечение подвижности, оцениваемое по скорости поглощения кислорода, остается неизменным.

Результаты исследования женских половых клеток (в экспедиции МКС-67) также свидетельствуют о том, что структура кортикального цитоскелета ооцитов *Drosophila melanogaster*, созревание которых проходило в космическом полете, оказывается разрушенной после посадки и в раннем периоде адаптации к силе тяжести Земли, о чем свидетельствует значение жесткости клеток и содержания в них цитоскелетных белков. Такой паттерн структуры ооцитов может приводить к проблемам с цитокинезом при дроблении ранних эмбрионов.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН 65.4 и финансированием Госкорпорации «Роскосмос».

Влияние активатора РНК-интерференции эноксацина на продолжительность жизни дрозофил с нокдауном генов семейства *Argonaute*

Н.Р. Пакина¹, Д.В. Яковлева¹, Е.Н. Прошкина¹, А.А. Москалев^{1,2}

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

Белки семейства *Argonaute* участвуют в биогенезе малых РНК (в том числе, микроРНК, коротких интерферирующих РНК, Piwi-взаимодействующих РНК). Малые РНК контролируют экспрессию генов с помощью механизма РНК-интерференции, а также необходимы для защиты генома от активности мобильных генетических элементов и вирусов. Известно, что изменения в экспрессии малых РНК и активности белков их биогенеза сопровождают связанные со старением заболевания. Воздействие на них с помощью фармакологических препаратов потенциально может замедлить развитие этих заболеваний и продлить жизнь. Эноксацин является низкомолекулярным соединением, способствующим РНК-интерференции и усиливающим биогенез микроРНК. Кроме того, показана связь его активности с двумя другими типами малых РНК.

В данной работе изучены эффекты РНК-интерференции генов подсемейства *Argonaute* (*Argonaute-1*, *Argonaute-2*) и *Piwi* (*Argonaute-3*, *Aubergine*, *piwi*). Выявлено, что эноксацин обладает геропротекторным потенциалом у *Drosophila melanogaster*. При повсеместном нокдауне гена *AGO1*, отвечающего за биогенез микроРНК, происходило снижение продолжительности жизни. В нервной системе РНК-интерференция гена *AGO1* также снизила эффект эноксацина у самок. Однако, у самцов в большей степени оказал влияние нокдаун генов подсемейства *Piwi*.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» № 122040600022-1.

Изучение нового механизма регуляции экспрессии микроРНК у *Drosophila*

Н.В. Акуленко¹, Е.А. Михалева¹, С.В. Марфина^{1,2}, Д.А. Корняков^{1,2}, В.А. Бобров^{1,3}, В.О. Шендер⁴, Г.П. Арапиди⁴, С.С. Рязанский¹

¹НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

²Российский химико-технологический университет им Д.И. Менделеева, Москва, Россия

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

⁴Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина, Москва, Россия

s.ryazansky@gmail.com, n.akulenko11@gmail.com

Мишень-опосредованная деградация миРНК (TDMD) - недавно открытый механизм пост-транскрипционной регуляции стабильности миРНК у животных. TDMD индуцируется образованием неканонического дуплекса Ago-связанных миРНК со специализированной РНК-мишенью, и, как предполагается, в культуре клеток человека этот комплекс распознается рецепторным белком ZSWIM8 убиквитин-лигазным комплексом CRL3. CRL3 убиквитинирует Ago, что приводит к протеолизу Ago и деградации высвобожденных миРНК. До настоящего времени молекулярный механизм процесса TDMD у других видов животных не изучался. В данной работе мы исследовали белок *Dora* дрозофилы, ортолога ZSWIM8, в культуре соматических клеток яичника (OSC). Мы показали, что *Dora* в OSC локализуется в белковых гранулах. При нокауте *Dora* возрастала экспрессия нескольких миРНК. Также мы показали, что *Dora* ассоциирован с белками комплекса CRL3, а истощение его основного компонента *Cul3* приводит к дерепрессии миРНК. Таким образом, механизм TDMD консервативен у человека и дрозофилы. Нокаут *Dora* также вызывал снижение уровня экспрессии предполагаемых белок-кодирующих генов-мишеней. Одним из них является *Tom* из семейства генов Brd-C, которые, как известно, репрессируют сигнальный путь Notch. Действительно, в клетках с нокаутом *Dora*, наблюдалось снижение уровня экспрессии *cut* - маркера активного сигнального пути Notch. Эти данные свидетельствуют о том, что TDMD в OSC может участвовать в регуляции сигнального пути Notch.

Работа поддержана грантами РФФ 22-24-00519 и 19-14-00382.

Специфичный для герминальных линий клеток гетеродимерный $\alpha\beta$ паралог NAC дрозофилы

*Н.В. Акуленко¹, С.С. Рязанский¹, Е.А. Михалева¹, Г.Л. Коган¹, О.М. Оленкина¹,
Ю.А. Абрамов¹, В.А. Гвоздев¹*

¹НИЦ «Курчатowskiй Институт», Москва, Россия

n.akulenko11@gmail.com, s.ryazansky@gmail.com

Одна из ветвей протеостаза многоклеточных эукариот обеспечивается повсеместно присутствующим комплексом NAC (nascent associated complex), взаимодействующим в рибосомном туннеле с нарождающимся белком и участвующим в определении его будущей локализации (в цитозоле, эндоплазматическом ретикулуме или митохондриях). Насколько нам известно, наши сообщения были первыми, свидетельствующими о существовании тканеспецифичных паралогов субъединиц NAC у многоклеточных эукариот, в нашем случае в герминальных линиях клеток самцов и самок дрозофилы. Отличительная черта паралогов герминальной линии характеризуется присутствием в обеих субъединицах длинных неупорядоченных аминокислотных последовательностей, известных своей конформационной подвижностью и обеспечивающих белок-белковые взаимодействия и особенно склонных к пост-трансляционным модификациям. Мы детектировали фосфорилирование обеих субъединиц герминального NAC (gNAC). Возможность образования gNAC обнаружена *ex vivo* при одновременной трансфекции культуры соматических клеток дрозофилы двумя плазмидами, кодирующими α или β субъединицу. Однако при одновременном выявлении с помощью иммунофлуоресцентных сигналов обеих субъединиц в процессах критических стадий сперматогенеза и оогенеза мы неоднократно сталкивались с ярким присутствием только одной из них в отсутствие другой, не отрицая на отдельных стадиях развития герминальных клеток одновременного присутствия канонического герминального $\alpha\beta$ гетеродимера. В герминальных стволовых клетках как самок, так и самцов доминировало присутствие α -субъединицы, тогда как в зрелом ооците в районе герминальной плазмы, матерински наследуемой и необходимой для развития герминальной линии клеток эмбриона обнаруживалась только β -субъединица. Мы предполагаем, что наблюдаемые переключения

присутствия/отсутствия герминальных субъединиц отражают образование гетеродимеров, содержащих как герминальную, так и вездесущую субъединицу, заменяющую отсутствующую герминальную. Возможность перекрестных взаимодействий паралогов этих субъединиц, увеличивающее степень разнообразия гетеродимеров, функционирующих в герминальных клетках, была нами показана.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-74-20178.

От Эрика Кэндела, его аплизии, прионов, белка CPEB (cytoplasmic polyadenylation element binding protein) до новейших данных по импортозамещению у дрозофилы: долгосрочная память зависит от 3'UTR гена CPEB *orb2* и внутриклеточного транспорта в нейронах

Е.В. Савватеева-Попова, Е.В. Токмачева, Ю.В. Шидловский

*Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
Институт биологии гена, Москва, Россия*

История изучения прионов, как принято считать, начинается со Стэнли Прузинера, их обнаружение у дрожжей – естественно С.Г. Инге-Вечтомов и его команда на кафедре генетики СПбГУ, и ставшая их другом Сюзан Линдквист. Но дрожжи не позволяют изучать способности к обучению и сохранению памяти. Но это необходимо, поскольку начинают возникать подозрения, что кроме вреда прионы могут приносить и пользу. Для доказательства этого требуется использование хорошо изученного организма с простой нервной системой, функции которой могут быть легко изучены с применением электрофизиологических методов. Таким организмом является аплизия, (лат. Aplysia), род брюхоногих моллюсков. В бой вступает известнейший нейробиолог Эрик Кэндел, его работу 2010 г. Сюзан Линдквист пересылает С.Г. Инге-Вечтому, он, соответственно, мне, потому как речь идет о том, что белок семейства CPEB (cytoplasmic polyadenylation element binding protein), регулирующий трансляцию mRNA, влияет на долговременную потенциацию. Что, предположительно, важно для сохранения долгосрочной памяти. Но, поскольку дрожжи не годятся для изучения сего, с аплизией генетики работать не умеют, то надо бы перейти на дрозофилу. Результат объекто- и импортозамещения:

Long-Term Memory Formation in *Drosophila* Depends on the 3'UTR of CPEB Gene *orb2*. *Cells*. 2023, 12, 318. E.N. Kozlov, E.V. Tokmatcheva, A.M. Chrustaleva, E.S. Grebenshchikov, R.V. Deev, R.A. Gilmudinov, L.A. Lebedeva, M.Zhukova, E.V. Savvateeva-Popova, P.Schedl, Y.V. Shidlovskii

3-UTR of mRNA Encoding CPEB Protein Orb2 Plays an Essential Role in Intracellular Transport in Neurons. *Cells* 2023, 12, 1717 E.N. Kozlov, R.V. Deev, E.V. Tokmatcheva, A.Tvorogova, Z.M. Kachaev, R.A. Gilmudinov, M.Zhukova, E.V. Savvateeva-Popova, P.Schedl, Y.V. Shidlovskii

Фосфолипаза *swiss cheese* и ее роль в жизнеспособности и плодовитости дрозофилы

П.А. Мелентьев, Э.Г. Шарапенков, Н.В. Сурина, Е.А. Иванова, Е.В. Рябова, С.В. Саранцева

НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия

Гены, кодирующие домен PNPLA6, эволюционно консервативны у про- и эукариотических организмов и контролируют в клетках активность фосфатидилхолин лизофосфолипазы. Первые доказательства их физиологической роли были получены для гена плодовой мушки, названного *swiss cheese* (*sws*). Было обнаружено, что он обеспечивает морфологическую стабильность и выживаемость нейронов и глии *Drosophila melanogaster*. Для особей с дисфункцией *sws* характерна прогрессирующая нейродегенерация, сокращение продолжительности жизни, снижение двигательной активности. Это сопровождается увеличением фосфатидилхолина (ФХ) и лизоФХ и накоплением липидных капель в мозге.

Позднее стало очевидно, что аналогичную роль ортологи *sws* играют в нервной системе позвоночных. Сложные гетерозиготные или гомозиготные рецессивные мутации в ортологе *sws* человека - *PNPLA6*, вызывают неврологические нарушения, поражающие нейроны спинного мозга, мозжечка, гипофиза и фоторецепторов. Белки *sws* и *PNPLA6* имеют эволюционно консервативный домен пататин-подобной фосфолипазы. Было показано, что *PNPLA6* действует как фосфолипаза В, которая преимущественно расщепляет РС как по сайтам А1, так и по сайтам А2. Наиболее благоприятным субстратом для этой липазы является лизоФХ. Функциональные изменения *PNPLA6* из-за мутаций гена или индуцированного фосфорорганическими соединениями ингибирования белка влияют на уровень лизоФХ. Предполагается, что подобная роль свойственна и *sws*. При этом, кроме неврологических фенотипов, других отклонений в организме, с дисфункцией *SWS/PNPLA6*, не было обнаружено.

Мы первыми описали нормальный паттерн экспрессии *sws* в организме, выявив его в мужской репродуктивной системе, а также проанализировали выживаемость и скорость воспроизводства особей, с нарушенной активностью *sws*, и обнаружили, что изучаемый ген имеет решающее значение для мужской фертильности.

Изменчивость регуляторных областей генов, кодирующих транскрипционные факторы, определяет продолжительность жизни и обеспечивает температурную адаптацию

А.В. Симоненко¹, Н.В. Рощина^{1,2}, А.В. Кременцова^{1,3}, Е.Г. Пасюкова¹

¹НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва, Россия

Небольшие отличия в структуре регуляторных областей генов являются базовым субстратом микроэволюции и адаптации, обеспечивая тонкую настройку уровня и специфичности транскрипции.

Мы провели сравнительное исследование изменчивости регуляторных районов генов *stc* и *esg*, кодирующих нейрональные факторы транскрипции, в российских и европейских популяциях.

Уровень изменчивости 5' регуляторного района *stc* сохранялся в течение ряда лет, при этом южные популяции были более изменчивыми. Два полиморфизма были достоверно связаны со сниженной эмбриональной экспрессией *stc*, увеличенной продолжительностью жизни (ПЖ) и температурой среды обитания. Частота одного из них также коррелировала с широтностью европейских популяций и отличала их от африканских. Этот полиморфизм является точкой движущего отбора в консервативной области генома и входит в состав мотивов связывания консервативных регуляторов развития *br* и *fkf*. Влияние полиморфизмов на ПЖ, вероятно, объясняется изменением нейро- и синаптогенеза, зависящего от уровня транскрипции *stc*, а роль полиморфных участков в адаптации к температуре – с влиянием *stc* на потенциальную мишень, ген *SERCA*, контролирующей термогенез.

В ряде популяций был также проведен анализ последовательностей 3'-регуляторного района *stc* и 5'- и 3'- регуляторных районов *esg*. В окружении *esg* были обнаружены высоко консервативные области, одна из которых совпадает с очагами транскрипции некодирующих РНК в личиночных нейронах. Планируется изучение регуляторных свойств этой области.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного бюджета.

Фактор базовой транскрипции TRF2 и эволюция билатерально-симметричных животных

Ю.Е. Воронцова¹, Р.О. Черезов¹, Е.Л. Заволока¹, О.Б. Симонова¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Координированное развитие организмов обеспечивается сбалансированным функционированием различных транскрипционных программ. Основным фактором базовой транскрипции является ТАТА-box-binding protein (ТВР), который связывается в районе ТАТА-box промоторного участка генов. Альтернативным ему фактором является ТВР-related factor 2 (TRF2), который активирует коровые промоторы без ТАТА-бокса, но с мотивами DPE или TCT.

Ген *Trf2* возник в результате дупликации *Tbr* и обнаруживается у общего предка Bilateria и всех билатерально-симметричных организмов, кроме грибов. TRF2 является структурным гомологом ТВР, однако его ДНК-связывающий домен не содержит трёх из четырёх фенилаланинов, ответственных за связывание с ТАТА-боксом. Возможность управлять работой генов, отличных от тех, за которые «отвечает» ТВР, создаёт предпосылки для эволюционных процессов, позволяющих TRF2 организовать свою транскрипционную систему контроля экспрессии генов, промоторы которых не содержат ТАТА-бокса. Так как такими генами являются гены, контролирующие формирование мезодермальных закладок (Dorsal-зависимые гены) и дифференцировку сегментов тела (гомеозисные гены), сформировалась гипотеза об определяющей роле TRF2 в эволюции Bilateria и формировании трёхслойности у многоклеточных организмов (Duttke et al, 2014).

Наши эксперименты на *D. melanogaster* показали, что роль TRF2 в эволюционном плане могла сводиться к формированию системы генов, отвечающих за динамику накопления и распределения сигнальных молекул, необходимых для поляризации соматических, а также репродуктивных клеток, имеющих значение для формирования организма с билатеральной симметрией.

Влияние эпигенетических препаратов на продолжительность жизни и стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster*

Н.С. Уляшева¹, Е.Н. Прошкина¹, М.В. Шапошников¹, А.А. Москалев^{1,2}

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

При старении в клетках организма нарушается работа эпигенетических механизмов. В результате происходит дерегуляция транскрипции, генной экспрессии, репликации и репарации ДНК; нарушается стабильность и целостность генетического аппарата. Это приводит к развитию возрастных заболеваний, старению и снижению стрессоустойчивости организма. Воздействие на эпигенетические механизмы с помощью фармакологических препаратов может замедлить возрастные изменения и продлить жизнь.

В данной работе рассмотрено влияние ретиноевой кислоты, эноксацина, трихостатина А, KN-93, UNC-0646 (0.1-500 мкМ) на продолжительность жизни и устойчивость к стрессорам (20 мМ параквату и гамма-облучению в дозе 800 Гр) *Drosophila melanogaster*. Эти соединения нацелены на различные механизмы, включая активность малых РНК, модификации гистонов, метилирование ДНК, регуляцию факторов транскрипции. Их действие сравнили с природным соединением берберинном.

Установлен геропротекторный потенциал как эпигенетических препаратов, так и берберина. Наибольший положительный эффект показан для трихостатина А в концентрации 10 мкМ. В то же время, изучаемые синтетические вещества в основном снизили выживаемость самцов и самок дрозофил в условиях действия стрессовых факторов на 2-27%. Но берберин повысил выживаемость самцов дрозофил при радиационном воздействии.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» № 122040600022-1.

Эволюционная история и особенности паттерна экспрессии таксон-специфичного гена *lawc* у *Drosophila melanogaster*

Р.О. Черезов¹, Ю.Е. Воронцова¹, Е.Л. Заволока¹, О.Б.Симонова¹

¹Институт Биологии Развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Новые гены в эволюции могут появляться за счет реорганизации существующих генных последовательностей или *de novo*. Возникновение генов *de novo* обнаружено у большинства модельных организмов. *lawc* является таксон-специфическим геном дрозофилы. Мы предполагаем, что транскрипционная активность в районе *lawc* появилась у общего предка рода *Drosophila* ок. 68 млн лет назад. Возникнув в интроне консервативного гена *Trf2*, *lawc* долгое время не имел большого значения для организма, кодируя или лишь нкРНК, или нефункциональный белок. Затем у части видов гр. *melanogaster* (ок. 25 млн лет назад) появляется его консервативная ОРС. Большинство исследователей *de novo*-генов сходятся во мнении, что они преимущественно экспрессируются в семенниках. Тем не менее, мы получили клоны 3'-концов кДНК *lawc* не только у самцов, но и у самок видов *D. virilis*, *D. willistoni* и др. Нами был проведен анализ паттерна активности промотора и 5'-регуляторной зоны гена *lawc* у *D. melanogaster* с помощью системы GAL4/UAS. В результате мы показали, что *lawc* транскрибируется в семенниках и придаточных железах самцов, в фолликулярных клетках самок, а также в мозге, в глазо-антенном имагинальном диске, в кольцевой и слюнных железах личинок. Такой паттерн экспрессии может быть объяснен тем, что *lawc* находится в районе 5'-регуляторной области гена *Trf2*, который широко экспрессируется. Полученные нами результаты позволяют предположить, что паттерн экспрессии генов, возникших *de novo*, исходно может определяться паттерном локализованного поблизости более древнего гена.

Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2023 г. № 0088-2021-0007. Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР РАН.

Взаимодействие синаптических белков контролирует однородность популяции секреторных везикул в нервномышечном соединении

О.В. Шупляков^{1,2}, Н.В. Нифантова¹, Е.С. Сопова¹, А.Г. Шишков¹

¹*Институт трансляционной биомедицины, СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия*

²*Отдел нейронаук, Каролинский Институт, Стокгольм, Швеция*

Нервные окончания содержат многочисленные синаптические везикулы (СВ), заполненные нейромедиатором. Везикулы в нервных терминалях имеют одинаковый диаметр. Это гарантирует, что нейромедиатор при секреции выделяется в виде одинаковых порций или «квантов». Целью нашего исследования было выяснить, какие межмолекулярные взаимодействия участвуют в формировании однородной популяции СВ.

Модельной системой являлись нервномышечные синапсы личинок банановой мушки, дрозофилы. В экспериментах использовали мутантов с нокаутом Nwk и Dap160, а также «rescue» мутантов, у которых в структуре белков отсутствовали определенные функциональные домены. Методологические подходы, использованные в работе, были описаны ранее (Winther et al. 2015, J. Neurosci. 35: 14756-14770).

Наши эксперименты показывают, что рекрутирование F-BAR белка Nwk (Nervous Wrek) с помощью скаффолд-белка Dap160 к мембране формирующегося синаптического пузырька в процессе эндоцитоза, является ключевым этапом в формировании однородной популяции СВ в нервномышечных синапсах.

Исследования финансировались грантами Российского научного фонда № 21-15-00227, СПбГУ № 93026688 и Шведского Научного Совета.

Механизм коммуникации Р53-зависимого энхансера 75С6 с генами-мишенями у *Drosophila melanogaster*

А.В. Конопатов¹, К.Ю. Конова¹, Н.Г. Степанов^{1,2}, Л.А. Лебедева¹, Ю.В. Шидловский^{1,2}

¹Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

²Сеченовский Университет, Москва, Россия

Фактор транскрипции p53 играет важную роль в канцерогенезе как супрессор образования злокачественных опухолей. Его мишенями являются специфические участки ДНК - энхансеры (RE), которые контролируют транскрипцию генов-мишеней, участвующих в запуске апоптоза. У дрозофилы p53-зависимый энхансер в локусе 75С6 расположен вблизи проапоптотического гена *rpr* и активирует близлежащие гены при индукции повреждений ДНК в клетке ионизирующим излучением. Еще одной мишенью *p53RE* является ген *Xrp1*, расположенный более чем в 20 Мпн на другом плече 3 хромосомы. Молекулярный механизм, лежащий в основе такого дальнего действия энхансера, неизвестен. В ядре клетки присутствуют разнообразные архитектурные факторы, которые сближают удаленные элементы друг с другом, например, CTCF, GAF. Сайты связывания этих белков находятся вблизи *p53RE* и *Xrp1*.

Для выяснения роли сайтов связывания указанных белков мы используем два подхода. В рамках первого подхода с помощью метода CRISPR/Cas9 проведен мутагенез области *p53RE* и изучено влияние делеций сайтов связывания GAF, CTCF на функциональную активность энхансера и его способность сближаться с геном-мишенью. В рамках второго подхода ген-мишень *Xrp1* был разделен на 6 фрагментов, каждый из которых был слит с GFP-репортером и встроен в геном. Получены трансгенные линии, в которых мы изучаем активацию репортера под действием ионизирующего излучения.

Описанные подходы позволят идентифицировать функциональные сайты, обеспечивающие коммуникацию удаленных энхансера и промотора.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 20-14-00201.

Роль генов *dTrpa*, *ninaE*, *Rh7*, *cry[b]* в формировании гормезиса в ответ на гипертермию у *Drosophila melanogaster*

Е.В. Щеголева¹, Л.А. Коваль¹, И.А. Соловьев^{1,2}, М.В. Шапошников¹, А.А. Москалев^{1,3}

¹Институт Биологии ФИЦ КомиНЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

²ФГБОУ ВО СГУ им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Москва, Россия

Температура и фоторежим были ведущими абиотическими факторами, повлиявшие на эволюцию организмов на Земле (Prokkoła, 2018). Существует связь между реакцией на тепловой шок, циркадными ритмами и старением (Ху, 2019). Ранее установлено, что есть небольшой диапазон температур, в рамках которого возможно продление жизни модельным организмам (Lagisz, 2013). Этот эффект связан с изменением профиля экспрессии генов, кодирующих элементы циркадных часов, и изменениями циркадных ритмов (Rattan, 2006).

Мы предположили, что кратковременное повышение температуры может стимулировать восстановление циркадных ритмов у старых имаго *D. melanogaster*, когда естественные механизмы поддержания ритмичности выходят из строя. В ходе исследования нами было установлено, что умеренное тепловое воздействие способно инициировать стабилизацию циркадного ритма у старых особей *Drosophila melanogaster* (50 сут). Мутации *Rh7[1]*, *cry[b]* увеличивают медианную продолжительность жизни у самок. Мутации терморцепторов TRPA1 также индуцируют продление жизни особей *D. melanogaster*, оказывая незначительное положительное влияние на устойчивость циркадного ритма.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» № 122040600022-1.

ПОСТЕРНАЯ СЕКЦИЯ

POSTER SECTION

III

Изучение эффекта лиганд-зависимой активации Арил-гидрокарбонового рецептора человека в соматических клетках семенников *D. melanogaster*

А.А. Акишина¹, Ю.Е. Воронцова¹, Р.О. Черезов¹, О.Б. Симонова¹, Б.А. Кузин¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Арил-гидрокарбоновый рецептор (АНР) — это консервативный лиганд-зависимый транскрипционный фактор, который участвует в широком спектре физиологических процессов, в онтогенезе и связан с онкологией. Кроме того, АНР регулирует экспрессию генов, обеспечивающих развитие гонад и созревание половых клеток, тем самым влияя на репродуктивный потенциал вида. Изучение механизмов регуляции целевых генов АНР важно для понимания процессов развития и патогенеза. Для исследования последствий влияния лигандов и эктопической активации АНР человека (hАНР) на репродуктивную функцию мы использовали линию дрозофил, несущих конструкцию *UAS-hАНР*, поскольку гомолог АНР дрозофилы не может связывать экзогенные лиганды. hАНР активировали в соматических клетках семенников, выполняющих трофическую функцию и гомологичных клеткам Сертоли млекопитающих. Для изучения влияния эпигенетического статуса хроматина регуляторных районов генов-мишеней на способность hАНР регулировать их экспрессию, мы использовали дрозофил, несущих мутацию гена *CG5017*, который кодирует семенник-специфический нуклеотропный шаперон семейства NAP1. В результате проведенных экспериментов, впервые было показано, что лиганд-зависимая активация hАНР в семенниках дрозофилы приводит к снижению плодовитости и способна повышать уровень экспрессии только тех генов, которые исходно находятся в эпигенетически «активном» статусе, и не влияет на «молчащие» гены, участвующие в регуляции пролиферации и дифференцировке клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН 2023 года № 0088-2021-0007; Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН.

II2

Уровень экспрессии протеинкиназы GSK3 в жировом теле контролирует развитие и гибель *Drosophila melanogaster*

Ю.А. Андреев, Е.Г. Пасюкова

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Известно, что разные ткани стареют с разной скоростью и могут лимитировать продолжительность жизни целого организма. Использование в качестве мишеней для разработки методов замедления старения отдельных тканей может быть перспективным, если механизмы, обуславливающие их влияние на продолжительность жизни, будут понятны. В лаборатории геномной изменчивости НИЦ «Курчатовский институт» проводится исследование роли жировой ткани в контроле продолжительности жизни, старения и развития патологий. Было показано, что изменение уровня экспрессии протеинкиназы GSK3, которая участвует во многих процессах, связанных с поддержанием гомеостаза, в жировом теле может приводить как к гибели на ранних стадиях развития, так и к увеличению продолжительности жизни. Мы показали, что нарушение экспрессии GSK3, вызванное активацией трансгена, кодирующего основную изоформу белка, в жировом теле приводит к гибели особей, причем критической является куколочная стадия P5, которую не переживает ни одна особь. Этот эффект не зависит от того, регулируется ли клеточными факторами изоформа GSK3, экспрессия которой увеличена в клетках жирового тела. Одна из основных функций GSK3, связанная с обменом гликогена, у трансгенных особей не изменяется, что указывает на необходимость поиска других молекулярных механизмов гибели. Возможно, в основе патологических процессов, приводящих к гибели, лежит снижение содержания ДНК и белка в клетках. Кроме того, активация трансгена приводит к изменению соотношения различных изоформ белка. Механизм этого явления неясен и его изучение представляет большой интерес.

ПЗ

Социальное поведение дрозофилы: однополые и разнополые группы

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

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

Ранее нами было показано, что содержание самцов дрозофилы в однополых группах приводит к модификации локомоторной активности и полового поведения. Однако в природе мухи чаще сталкиваются с ситуацией разнополых скоплений на источниках пищи.

Поэтому мы решили проверить, как меняется поведение самцов после содержания в группах разного состава (поодиночке, 1 самец + 19 самок, 10 самцов + 10 самок, 19 самцов + 1 самка, 20 самцов). Оказалось, что снижение локомоторной активности самцов происходит только после содержания в группах 20 самцов и 19 самцов+1 самка. Снижение интенсивности ухаживания наблюдалось во всех вариантах группового содержания по сравнению с одиночными самцами.

В настоящее время показано наличие различных механизмов модификации поведения при взаимодействии самцов дрозофилы с конспецификами: условно-рефлекторное подавление ухаживания при взаимодействии с оплодотворенными самками, габитуация к исходно привлекательному запаху незрелого самца, оперантное взаимообучение, специфическое действие феромонов, в частности цис-вакценил ацетата. В модификации поведения после социальных взаимодействий в разнополых группах скорее всего задействован комплекс подобных механизмов ассоциативного и неассоциативного обучения. Суммарный результат этих взаимодействий зависит от полового состава группы.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004. Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

II4

Окислительный стресс в моделях нейродегенеративных заболеваний

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

НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия

Моделирование признаков нейродегенеративных заболеваний (НЗ) человека на *Drosophila melanogaster* предполагает, что патологические процессы, происходящие в организме *Drosophila*, будут аналогичны таковым у человека. Окислительный стресс сопутствует многим заболеваниям, включая нейродегенеративные. Он возникает в результате дисбаланса между производством активных форм кислорода (АФК) и клеточной антиоксидантной активностью и приводит к модуляции функций белков, нуклеиновых кислот и липидов, к дисфункции клеток или их гибели. Мы моделировали на *Drosophila* признаки НЗ, характеризующихся у человека высоким уровнем окислительного стресса: болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона и болезнь Паркинсона. Экспрессируя в нервных клетках мух человеческие белки: хантингтин (ХТТ) с удлинённым числом полиглутаминовых повторов (ППП), альфа синуклеин как дикого типа, так и с мутациями или амилоидный пептид бета, мы наблюдали во всех случаях связанное с возрастом увеличение числа АФК в мозге. Так при экспрессии в нервных клетках мух ХТТ человека с увеличенным числом ППП количество АФК на 15 день по сравнению с 5 днём увеличивалось в 2 раза, а на 25 день – в 2,5 раза, в то время как в контрольной линии с нормальным числом ППП эти цифры составляли 1,3 и 1,9 – соответственно. При экспрессии человеческого альфа синуклеина дикого типа и с мутацией А30Р количество АФК к 30 дню возрастало по сравнению с 5 днём в 5 и 4,8 раз соответственно, а при экспрессии белка с мутацией А53Т увеличение АФК наблюдалось уже на 5 день жизни. Для коррекции ОС использовали фуллеренолы С60, С70 и С120, исходя из того, что нативный С60 известен как высокоэффективный поглотитель АФК. Показано, что применение фуллеренолов не только снижает ОС в этих моделях, но и препятствует дисфункции или гибели нервных клеток.

Слабое статическое магнитное поле как стрессорный фактор, влияющий на ключевые параметры звукопродукции *Drosophila melanogaster*

С.А. Васильева¹, Е.А. Никитина^{1,2}, А.В. Медведева², Е.В. Савватеева-Попова²

¹Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

В настоящее время растет количество исследований, показывающих влияние слабого статического магнитного поля (ССМП) на биологические процессы на разных уровнях организации (от активности ферментов и генетических процессов до сложных поведенческих программ). Исследование механизмов действия ССМП на организм имеет важное теоретическое и практическое значение, учитывая, что длительное пребывание человека в космическом пространстве, а также на промышленных и военных объектах сопряжено с воздействием на него в различной степени ССМП. Адекватной моделью для исследования воздействия ССМП на индивидуальные особенности генома, реализующиеся в когнитивных нарушениях, является дрозофила. В настоящем исследовании изучали действие ССМП на звукопродукцию дрозофилы. Объектами являлись линии дикого типа *Canton-S* и *Berlin*, а также мутантная линия *agn^{ts3}* (дефект синтеза LIMK1). С использованием установки автоматической регистрации звукопродукции *Drosophila melanogaster* проведен сравнительный анализ звуковых сигналов ухаживания самцов линий *agn^{ts3}*, *Berlin*, *Canton-S* в нормальном магнитном поле Земли и после помещения мух в экранирующую статическое магнитное поле камеру. Оценивая параметры звуковых сигналов ухаживания самцов, мы наблюдали изменения паттерна звукопродукции при действии стрессорного фактора ССМП.

Финансовая поддержка: Госпрограмма 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0004.

П6

Белок PCID2 комплекса TREX-2 *Drosophila melanogaster* и его взаимодействие с мРНК

Ю.А. Вдовина, Д.В. Копытова

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

Комплекс TREX-2 отвечает за ядерный экспорт мРНК у эукариот. Нокдаун субъединиц TREX-2 вызывает нарушения распределения мРНК между ядром и цитоплазмой клетки. Однако остается малоизученным каким образом комплекс взаимодействует с мРНК у многоклеточных.

Белок PCID2 является одной из основных субъединиц комплекса TREX-2. По результатам кристаллизации части комплекса дрожжей, его гомолог на С-конце образует вместе с гомологом субъединицы Xmas-2 поверхность достаточную для взаимодействия с РНК. По другим данным, PCID2 дрожжей может связывать РНК *in vitro* независимо от других субъединиц комплекса. В нашей работе мы исследовали взаимодействие PCID2 *D. melanogaster* с РНК методом EMSA. В экспериментах были использованы фрагменты мРНК гена *ras64B*, с которой PCID2 взаимодействовал в реакциях RIP. Было показано, что PCID2 эффективно и специфично связывает фрагмент из 3'-НТО области мРНК без участия Xmas-2. Далее, методом EMSA нами были определены домены связывания белка с РНК. С-домен, содержащий гомологичный дрожжевому участок связывания РНК, показал специфичное взаимодействие. Нами был выявлен ранее неизвестный домен связывания РНК, относящийся к центральной области белка (М), который неспецифично взаимодействовал с РНК. Анализ последовательности М-домена белка позволил определить вероятные сайты взаимодействия с РНК. Внесение точечных мутаций по этим сайтам привело к полному исчезновению связывания РНК белком PCID2.

Таким образом, мы показали, что белок PCID2 *D. melanogaster* специфично взаимодействует с мРНК; имеет два домена связывания с РНК; неспецифическое взаимодействие с РНК в М-домене необходимо для специфического взаимодействия С-домена PCID2.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ, № 22-14-00270.

II7

Изменение интенсивности повреждения ДНК при совместном применении экстракта *Silybum marianum* Gaertn (L.) с противоопухолевыми препаратами

О.Н. Антосюк¹, А.К. Вербницкая¹, Е.А. Шарова²

¹Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

²Ботанический сад УрО РАН, Екатеринбург, Россия

На сегодняшний день, тема заболеваний, связанных с образованием злокачественных опухолей стоит очень остро. Терапия, чаще всего, представляет собой применение противоопухолевых препаратов, использование которых может привести к осложнениям. Перспективным направлением для решения данной проблемы, является применение растительных экстрактов в качестве биологически активных добавок, которые будут являться дополнением к существующей методике лечения. Модельным объектом для первых этапов исследования является *Drosophila melanogaster*. Для тестирования был выбран экстракт *Silybum marianum*, который обладает гепатопротективным эффектом, что может повлиять на снижение генетической активности противоопухолевых препаратов.

Целью данной работы было определить уровень повреждений ДНК при применении экстракта семян *Silybum marianum* отдельно и совместно с противоопухолевыми препаратами этопозид и метотрексат на примере лабораторной линии *Oregon-R Drosophila melanogaster*.

Для эксперимента был выбран метод ДНК-комет, демонстрирующий степень повреждения ДНК. В ходе эксперимента было определено, что совместное применение экстракта снижает интенсивность повреждения ДНК как при воздействии этопозидом, так и в случае с метотрексатом. В свою очередь противоопухолевые препараты без экстракта вызывали более 40% повреждений 1-го типа.

Экспрессия гена *SNCA* человека влияет на уровень экспрессии синаптических генов в мозге *Drosophila melanogaster*

И.М. Голомидов¹, С.В. Саранцева¹

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

Ген альфа-синуклеина человека (*SNCA*) является первым идентифицированным геном, связанным с наследственной формой болезни Паркинсона (БП). БП – это нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется прогрессирующей потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции и образованием телец Леви, преимущественно состоящих из белка α -синуклеина. Трансгенные мухи с экспрессией гена *SNCA* человека дикого типа и его форм с мутациями A30P или A53T характеризуются возрастной и селективной потерей дофаминергических нейронов.

Для исследования эффектов влияния запуска и подавления экспрессии гена *SNCA* человека дикого типа и его форм с мутациями мы использовали температурно–зависимую систему экспрессии *UAS/GAL4–GAL80*. Данная система позволила запустить экспрессию гена *SNCA* человека дикого типа и его форм с мутациями только в течение первых двух недель жизни дрозофилы со стадии имаго. Затем, вплоть до четвертой недели жизни, экспрессия гена была подавлена.

По результатам исследования было показано, что уровень экспрессии гена *Syt1* снижался после запуска экспрессии гена *SNCA* человека как дикого типа, так и его форм с мутациями, в течение двух недель. Также было продемонстрировано снижение экспрессии гена *Syt1* уже после подавления экспрессии гена *SNCA* человека дикого типа и его форм с мутациями к четвертой неделе жизни трансгенной дрозофилы. При этом уровень экспрессии гена *nSyb* снижался в течение двух недель и далее оставался стабильным только при экспрессии гена *SNCA* с мутациями A30P и A53T. В то же время экспрессия гена *SNCA* человека дикого типа не оказала влияния на уровень экспрессии гена *nSyb*.

Влияние природного антоциана (мальвидин) на устойчивость *Drosophila melanogaster* к γ -облучению

Д.А. Голубев^{1,2}, Е.Ю. Платонова¹, П.С. Некрасова, С.А. Патов, М.В. Шапошников¹, А.А. Москалев¹

¹Институт биологии ФИЦ Коми научный центр Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

²Сыктывкарский государственный университет имени Путьирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

³Институт химии ФИЦ Коми научный центр Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

Drosophila melanogaster является модельным организмом для генетических исследований развития и старения. Обширное наличие генов гомологов с позвоночными и короткий жизненный цикл делают ее ключевым организмом для таких исследований. С возрастом в клетках организма соматические мутации, которые способствуют старению и возникновению возрастных заболеваний. Окислительный стресс (ОС) является одним из источников таких повреждений. Нарушение нормального окислительно-восстановительного баланса в клетках может привести к повреждению всех белков, липидов и ДНК. Одна из причин образования активных форм кислорода - ионизирующее излучение (ИИ). Мальвидин – антоциан, присутствующий в различных продуктах питания. Известно, что мальвидин обладает широким спектром биологической активности, включая антиоксидантное действие, соответственно использование мальвидина может помочь защитить организм от ОС и увеличить его выживаемость. Эксперимент был выполнен с использованием линии дикого типа *Canton-S*. Предварительно в течение 15 сут. мух обрабатывали мальвидином в составе питательной среды. Далее мух подвергали воздействию γ -излучения в дозе 300 Гр. Нами установлено, что обработка мальвидином приводила к увеличению медианной и максимальной выживаемости самцов и самок дрозофил.

Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster* (№ 12204060022-1).

**Условнорефлекторное подавление ухаживания у *Drosophila melanogaster*:
роль неуспешных попыток копуляции**

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

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

Для изучения ассоциативной памяти у дрозофилы широко используется метод выработки условнорефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). Механизм формирования этой естественной формы обучения до сих пор вызывает споры. В качестве условных и безусловных сигналов могут выступать аверсивные и appetitive феромоны нерцептивной самки, образ и поведение объекта ухаживания, неуспешность попыток копуляции. В качестве тренеров и тестеров в этой форме обучения используют разные комбинации незрелых, оплодотворенных, иммобилизованных самок.

Для проверки роли фактора неуспешности попыток копуляции на последующее снижение интенсивности ухаживания мы частично повторили работу Эджимы (Ejima et al., 2005), в которой она показывает формирование памяти при обучении самца с иммобилизованной незрелой самкой в темноте. Мы показали снижение интенсивности ухаживания самца за незрелой подвижной самкой во время часовой тренировки на свету, однако в последующем тесте с другой незрелой самкой интенсивность ухаживания вернулась к исходному уровню. Таким образом, неуспешность попыток копуляции не относится к ключевым факторам для формирования УРПУ, а незрелые самки не являются адекватным объектом тренировки в этой методике.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004. Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

Анализ дифференциальной экспрессии генов у имаго *D. melanogaster* при воздействии менадиона и варфарина

А.И. Дьяченко¹, И.В. Кукушкина¹, О.И. Клычников¹, Л.Н. Нефедова¹

¹*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Витамин К у млекопитающих участвует в карбоксилировании белковых факторов свертывания крови и некоторых белков костной ткани, выступая кофактором фермента гамма-глутамилкарбоксилазы (ГГК). В процессе реакции карбоксилирования, витамин К окисляется до эпоксида и восстанавливается эпоксиредуктазой витамина К (ВКОР). Варфарин – вещество, которое связывается с ВКОР и ингибирует процесс восстановления эпоксида витамина К, таким образом препятствуя его дальнейшему участию в реакции карбоксилирования. Исследование цикла витамина К и механизмов его регуляции в организме – одна из важных задач фармакологии и медицины. *Drosophila melanogaster* является хорошим модельным объектом для изучения метаболизма витамина К, так как у нее обнаружены гены ГГК и ВКОР, а варфарин не вызывает негативных физиологических эффектов. Целью нашей работы было определить генную сеть, задействованную в ответе на воздействие витамина К₃ (менадиона) и ингибитора цикла витамина К (варфарина) у имаго *D.melanogaster*.

Было проведено секвенирование транскриптома мух, выращенных на низкой (0,5 мМ) и высокой (3,5 мМ) концентрациях менадиона, варфарина (1 мМ) и смеси высокой концентрации менадиона и варфарина, и определен круг генов, дифференциально экспрессирующихся в ответ на воздействие менадиона и варфарина. Показано, что небольшие дозы менадиона и варфарин стимулируют экспрессию генов иммунного ответа, варфарин снижает уровень экспрессии АТФ-связывающих белков, в частности, киназ и хеликаз, а менадион – мембран-ассоциированных, в частности, белков-транспортеров, однако большинство генов, изменивших экспрессию в ответ на менадион, было различно в пробах с малой и большой концентрациями. При совместном применении этих веществ, эффекты суммируются.

Значение таксон-специфичного гена *lawc* в развитии репродуктивной системы самок *Drosophila melanogaster*

Е.Л. Заволока¹, Ю.Е. Воронцова¹, Р.О. Черезов¹, О.Б. Симонова¹

¹Институт Биологии Развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Ген *D. melanogaster leg-arista-wing complex (lawc)* не имеет гомологов за пределами группы *melanogaster*. Мы предположили, что этот ген возник *de novo*, однако, вопрос о функциональности его продукта оставался открытым. Для ответа на этот вопрос мы синтезировали конструкцию *UAS-RiG*, направленную на подавление экспрессии гена по пути РНК-интерференции в системе *Gal4/UAS*. Фенотипические нарушения, вызванные нокадауном *lawc* в фолликулярных клетках (ФК) яичника самок (драйвер *tj-Gal4*), показали, что *lawc* важен для самовоспроизведения стволовых ФК и формирования яйцевых камер: у молодых самок *tj>RiG* были фолликулы I/II-го порядка, которые быстро деградировали. Фенотип оказался схожим с фенотипом стерильных мутантов *lawc^{u3}*, полученных нами ранее в результате перестроек района гена. Для доказательства специфичности выявленных нарушений мы создали конструкцию *UAS-lover* для оверэкспрессии белка Lawc и поставили rescue-эксперименты по «спасению» уникального фенотипа стерильных самок *lawc^{u3}*. Оказалось, что индукция Lawc в ФК яичника самок *lawc^{u3}* восстанавливает формирование фолликулов и даже яиц.

В целом, мы показали, что возникший *de novo* ген *lawc* обладает особой функцией, связанной с самовоспроизведением стволовых ФК. Поиск и изучение генов, возникших *de novo* у разных организмов, важно для понимания их биологического вклада в видообразование и расширяет наши представления о генообразовательных процессах и эволюции геномов.

Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2023 года № 0088-2021-0007 «Молекулярно-генетические механизмы регуляции клеточной дифференцировки и морфогенеза». Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н. К. Кольцова РАН.

Обучение и забывание у *Drosophila melanogaster* с изменением экспрессии гена *limk1* в различных типах нейронов

Е.С. Заломаева^{1,2}, Е.С. Егозова¹, А.В. Медведева², А.В. Журавлев², Е.А. Никитина^{1,2}

¹Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Одной из ключевых задач современной нейрогенетики является углубление знаний о молекулярно-генетических механизмах, вовлеченных в процессы возникновения и развития нейродегенеративных и геномных заболеваний, зачастую сопровождающихся когнитивными нарушениями и нарушениями каскада ремоделирования актина. Анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1 D. melanogaster* выявляет 71% гомологии с геном *limk1 H. sapiens*. Цель исследования – анализ формирования и сохранения памяти у линий *D. melanogaster* с изменённой экспрессией гена *limk1* в нейронах, для которых показана вовлечённость в процессы обучения. Исследование проводили на 5-суточных самцах линий с нарушением и активацией экспрессии гена *limk1* в холинергических, серотонинергических и дофаминергических нейронах, а также у линий без нарушения таковой экспрессии. Использовали методику условно-рефлекторного подавления ухаживания. Поведение ухаживания анализировали у наивных самцов и у самцов спустя 0 мин и 3 ч после 30-минутной тренировки. Для оценки эффективности обучения вычисляли индекс обучения. Статистический анализ проводили с использованием двустороннего теста рандомизации. Показано, что мухи всех исследуемых линий способны к обучению, однако способность к сохранению памяти определяется активностью *limk1* в конкретных нейронах.

Финансовая поддержка: Госпрограмма 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0004.

Роль гена *swiss cheese* в энтероцитах кишечника *Drosophila melanogaster*

А.В. Золотникова, Е.В. Рябова, Е.А. Иванова, С.В. Саранцева

НИЦ «Курчатовский институт»-ПИЯФ, Гатчина, Россия

Продукт гена *sws* является фосфолипазой В, которая расщепляет фосфолипиды по сайтам А1 и А2. Ее субстратом являются фосфатидилхолин и лизофосфатидилхолин. Известно, что при гиперэкспрессии гена *sws* активность эстеразы повышается и количество фосфатидилхолина у соответствующей линии мух снижается по сравнению с линией дикого типа. И, наоборот, нокдаун гена *sws* приводит к уменьшению эстеразной активности в клетках и увеличению фосфатидилхолина. Преимущественно дисфункция данного гена вызывает развитие нейродегенерации в мозге взрослых особей. Однако известно, что ген *sws* экспрессируется не только в нервной, но и в пищеварительной системе имаго *Drosophila melanogaster*. Пищеварительная система является сложноорганизованной и состоит из переднего, среднего, заднего кишечника и мальпигиевых сосудов. Помимо главной пищеварительной функции в энтероцитах кишечника накапливаются запасные питательные вещества, в частности, в виде липидных капель. Дисфункция гена *sws* приводит к потере его основной функции, вследствие которых продукт экспрессии данного гена изменяет баланс липидов в клетке. Поэтому можно наблюдать различия в количестве липидных капель в энтероцитах у линии дикого типа *Canton-S* и мутантной линии *sws¹*.

В данной работе был определён тип клеток в кишечнике, в которых экспрессируется ген *sws* с помощью бинарной дрожжевой системы GAL4-UAS. Для этого в работе были использованы две линии мух (*sws-GAL4* и *CD8-GFP-UAS*), с помощью которых визуально был выявлен тип клеток, где активен промотор гена *sws*. Также было проанализировано распределение и общее количество липидных капель в среднем кишечнике у линии с мутацией *sws¹* по сравнению с линией дикого типа *Canton-S*.

Тест на взбирание у *Drosophila melanogaster*: геотаксис или двигательная активность?

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

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

Для характеристики поведения у дрозофилы широко используют тест на взбирание (climbing). Мух помещают в вертикальную трубку и регистрируют распределение по высоте, до которой мухи успели добежать за определенное время. Результат этого теста часто интерпретируют как показатель двигательной (локомоторной) активности мух. Однако на результат теста на взбирание может оказывать влияние нарушение геотаксиса.

Мы провели сравнение результатов теста на взбирание и локомоторной активности одиночной мухи на горизонтальной поверхности у PdL-инсерционных мутантов с различными нарушениями двигательной активности (около 100 линий) и линии дикого типа Canton-S. Оба теста проводили на одной и той же группе мух в один и тот же день. Оказалось, что нет четкой корреляции между показателями индекса взбирания и индекса локомоторной активности. Характеристика способности мух к взбиранию может отражать не только их двигательную активность, но и состояние сенсорной и нервной систем, обеспечивающих врожденную рефлекторную деятельность. Таким образом, тест на взбирание не является адекватной оценкой локомоторной активности у дрозофилы.

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 63.1. «Исследование молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов адаптивного поведения» 0134-2019-0004. Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

Влияние гипоксии на обучение и память дрозофилы в условиях нарушения ремоделирования актинового цитоскелета

Д.М. Каровецкая^{1,2}, А.В. Медведева², Е.А. Никитина^{1,2}, Е.В. Савватеева-Попова²

¹Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Распространённость патологий, включающих гипоксическую компоненту, определяет актуальность поиска мишеней гипоксического воздействия для выработки терапевтических стратегий. В связи с этим большой интерес представляет изучение влияния гипоксии на когнитивные процессы у мутанта дрозофилы *agn^{ts3}*, характеризующегося нарушением работы фермента ремоделирования актина LIMK1, что приводит к неспособности к обучению. Исследование проводили на самцах линии дикого типа *CS* и мутанта *agn^{ts3}*. Для оценки сформированности среднесрочной памяти и способности к обучению использовали метод условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). Для линии дикого типа *CS* не показано нарушений обучения и памяти при предъявлении гипоксии во время или после тренировки. При этом гипоксическое воздействие перед тренировкой приводит к достоверному снижению способности к обучению. Однако через 3 ч. индекс обучения возвращается к контрольному уровню. У мутанта *agn^{ts3}* предъявление гипоксии после тренировки также не оказывает достоверного эффекта на способность к обучению и памяти. В то же время гипоксическое воздействие до и во время тренировки приводит к восстановлению способности к обучению. Это согласуется с показанным ранее фактом, что стрессорные воздействия для данного мутанта приводят к восстановлению способности к обучению и формированию памяти.

Финансовая поддержка: Госпрограмма 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0004.

Восстановление нормального паттерна щетинок при вторичной инверсии, спонтанно возникшей в линии с инверсией $In(1)sc^{\delta}$

Т.Д. Колесникова¹, М.Н. Балантаева²

¹*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия*

Локальная экспрессия генов *acheat* и *scute* в пронеуральных кластерах имагинальных дисков *D. melanogaster* приводит к формированию четко детерминированного рисунка макрохет у взрослых мух. Локус *acheat-scute* (*Acheat-scute* complex, AS-C) занимает около 100 т.п.н. и содержит множественные энхансеры. Инверсия $In(1)sc^{\delta}$ разделяет кластер между генами *ac* и *sc* и присоединяет обе части к блокам прицентромерного гетерохроматина. Показано, что в этом случае *ac* и *sc* экспрессируются в разных пронеуральных кластерах, при этом их эффекты дополняют друг друга, что, вероятно, объясняет слабый фенотип перестройки – фенотипические изменения затрагивают лишь несколько групп макрохет (Gomez-Skarmeta et al., 1995). Недавно мы описали спонтанно возникшую в линии с инверсией $In(1)sc^{\delta}$ вторичную инверсию $In(1)19EHet$, переносящую большую часть гетерохроматина, присоединенную к дистальной части кластера, от точки разрыва (Kolesnikova et al., 2022). Анализ щетинкового фенотипа мух показал, что вторичная инверсия привела к полному восстановлению нарушений задних супра-аларных (PSA) и частичному – дорзоцентральных (DC) щетинок. Точно такое же восстановление паттерна щетинок мы увидели при введении в линию с инверсией $In(1)sc^{\delta}$ модификатора эффекта положения – мутации *Su(var)3-9⁰⁶*. Наши данные косвенно указывают на то, что фенотип инверсии, связанный с нарушением развития щетинок, связан в первую очередь со снижением экспрессии генов AS-C под контролем дистальных энхансеров.

Работа поддерживается бюджетным проектом FWGZ-2021-0014

Паттерн экспрессии уникального для *Diptera* гена *toothrin*

Е.Е. Куваева¹, И.Б. Мерцалов¹, О.Б. Симонова¹

¹*Институт Биологии Развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Ген *toothrin* (*tth*) является одним из двух генов семейства *d4*, найденных у *D. melanogaster*. У позвоночных известно три гена этого семейства, два из которых экспрессируются в нервной системе (НС). Белки этого семейства содержат характерный набор доменов, включая домен D4, давший название семейству. Ген *tth* уникален, так как присутствует в геноме только двукрылых насекомых и кодирует белок без домена D4, но с консервативным доменом 2/3, который также есть у D4-белков. Наличие гена, кодирующего белок с одним доменом 2/3, позволяет изучать функции этого домена и самого гена в онтогенезе на модели *D. melanogaster*.

Для изучения специфической экспрессии *tth* мы получили драйверные линии дрозофил, имеющих в геноме дополнительный локус гена *tth*, модифицированный для экспрессии дрожжевого фактора Gal4 под промотором *tth* (*tth-Gal4*). Полученный драйвер мы использовали для активации репортерных конструкций (*UAS-CD8-GFP*, *UAS-RFP.nls*) в системе *Gal4-UAS*. Эти эксперименты позволили выявить конкретные органы и ткани, компетентные к активации репортерных конструкций промотором гена *tth*. Мы обнаружили активацию *tth-Gal4* преимущественно в центральной и периферической НС, в частности, в тканях, формирующих оптические органы личинок и имаго. Мы считаем, что *tth* кодирует ортолог изоформы D4-белка мыши, которая не имеет D4-домена и экспрессируется в сетчатке.

Изучение ТТН дрозофилы позволит определить роль структурно схожих изоформ D4-белков млекопитающих в развитии и функционировании зрительной системы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН 2023 года № 0088-2021-0007; Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им Н.К. Кольцова РАН.

Анализ положения эндогенного ретровируса *gypsy* в геноме линий *Drosophila melanogaster* с нарушением контроля активности мобильных генетических элементов группы *gypsy*

*А.Р. Лавренов, И.В. Кукушкина, И.В. Кузьмин, А.И. Дьяченко, П.А. Миляева,
Л.Н. Нефедова, А.И. Ким*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Мобильные генетические элементы (МГЭ) — последовательности ДНК, способные перемещаться по геному и вызывать мутации, меняющие активность генов. Некоторые МГЭ (например, подкласс ретротранспозонов) у дрозофилы контролируются системой PIWI-зависимой РНК-интерференции, где важная роль отведена источникам малых рiРНК— кластерам антисмысловых фрагментов транспозонов. Одним из таких кластеров является локус *flamenco*. При изучении механизмов контроля активности ретротранспозонов важно иметь представление о положении всех возможных копий МГЭ в геноме дрозофил.

Нами был проведен анализ данных нанопорового секвенирования на приборе MinION компании Oxford Nanopore Technologies генома линий *D.melanogaster* с нарушенным контролем транспозиции ретротранспозонов группы *gypsy*— SS (*w, flamenco*-) и ее отводка MS (*w, flamenco*-, *f*, активная копия *gypsy*), относительно линий Canton-S (линия дикого типа) и референсного генома, проведена сборка геномов и осуществлен поиск мобильного компонента. Благодаря длинным прочтениям ДНК методом нанопорового секвенирования, можно обнаружить новые вставки МГЭ в геном. Для линии MS были подтверждены инсерции двух полноразмерных копий мобильного элемента *gypsy* в ген *forked*. При этом нами было обнаружено, что у линии MS и SS отсутствуют в геноме почти все канонические копии соответствующего элемента *gypsy*, которые указаны в референсном геноме и подтверждены данными нанопорового секвенирования для линии дикого типа Canton-S. При этом в локусе *flamenco* присутствует одна полноразмерная копия элемента *gypsy*, но её последовательность отличается от копий мобильного элемента в гене *forked*, что может являться причиной формирования фенотипа *flamenco*-.

Получение трансгенных линий *Drosophila melanogaster* с использованием фС31 интегразы

Е.М. Латыпова, Е.В. Рябова, С.В. Саранцева

НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, Гатчина, Россия

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* широко используется для изучения механизмов заболеваний человека. Удобство использования данного модельного организма связано с простотой разведения в лабораторных условиях, высокой плодовитостью, небольшим периодом развития, а также хорошо изученной анатомией и физиологией. К настоящему времени у дрозофилы описаны более 150 генов-ортологов, связанных с различными заболеваниями человека, что привело к изучению патологических процессов с использованием дрозофилы в качестве модельного организма. Например, были созданы модели нейродегенеративных и инфекционных заболеваний, нарушения памяти и сна. Удобство использования дрозофилы заключается в доступности коммерческих коллекций мутантных линий *Drosophila melanogaster*, а также в возможности самостоятельно создать трансгенных мух, используя протоколы с применением P-элементов, FLP и Cre-рекомбиназ.

В ходе данной работы будут получены трансгенные линии *Drosophila melanogaster* с использованием фС31 интегразы. Применение фС31 интегразы позволит обеспечить высокую эффективность трансформации и точно определить сайт интеграции. Полученные линии будут использоваться для изучения патогенетических факторов сахарного диабета 2-го типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке «КГЦ – ПИЯФ» программой развития центров генетических исследований мирового уровня, Соглашение No. 075-15-2019-1663.

П21

Изменение транскрипции, индуцированное повышением активности GSK3 на эмбриональной стадии, влияет на продолжительность жизни

Д.Р. Малышев, Н.В. Рощина, М.В. Тростников

НИЦ «Курчатowskiй Институт», Москва, Россия

GSK3 – консервативная серин-треониновая протеинкиназа, которая участвует в большинстве связанных с поддержанием гомеостаза метаболических путей и является в данный момент объектом пристального внимания в биологии старения, а также связанных со старением заболеваний, в частности, зависимых от возраста расстройств нервной системы.

Мы показали, что сверхэкспрессия транскриптов *RO* и *RB* гена *shaggy*, кодирующего GSK3 *D. melanogaster*, в эмбриональном периоде влияет на продолжительность жизни (ПЖ) и профиль экспрессии генов. В работе были использованы экспериментальные мухи двух генотипов: в первом случае трансгенная конструкция, кодирующая транскрипт *RO*, экспрессировалась во всем эмбрионе, а во втором случае трансгенная конструкция, кодирующая транскрипт *RB*, экспрессировалась только в нервной системе эмбриона. Сверхэкспрессия GSK3 во всем эмбрионе приводила к увеличению ПЖ у самцов и снижению у самок, тогда как сверхэкспрессия только в нервной системе приводила к снижению ПЖ у обоих полов. Был проведен анализ уровня транскрипции мишеней GSK3 у экспериментальных и контрольных особей, что позволило обнаружить специфические изменения экспрессии генов, которые могут объяснять изменение ПЖ у взрослых мух.

Полученные результаты могут указывать на существование механизма регуляции ПЖ, который связан с влиянием эмбриональной экспрессии GSK3 на транскрипцию генов, а также со специфической активностью GSK3 в нервной системе эмбрионов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-74-00065.

Создание индуцибельной системы подавления экспрессии генов в культуре клеток *Drosophila* на основе РНК-интерференции

С.В. Марфина^{1,2}, *Н.В. Акуленко*¹, *Е.А. Михалёва*¹, *С.С. Рязанский*¹

¹НИИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Культура клеток *Drosophila melanogaster* является модельным объектом для фундаментальных и прикладных исследований, в ходе которых зачастую требуется подавить экспрессию гена. В настоящее время для этой цели широко применяются CRISPR/Cas9-мутагенез и РНК-интерференция (РНКи). CRISPR/Cas9 позволяет вводить в целевой ген точечные мутации Cas9-нуклеазой в комплексе с гидовой РНК путём внесения двухцепочечного разрыва, который далее подвергается неточной репарации. При РНКи в клетки вводят двухцепочечные РНК (дцРНК), вызывающие деградацию комплементарной мРНК. У этих систем есть ряд недостатков. Так, при введении мутаций с помощью CRISPR/Cas9 происходит нокаут гена, что ограничивает его использование при исследовании жизненно важных белков. РНКи позволяет проводить нокдаун генов, но при работе с этим методом существует сложность в подборе условий по доставке дцРНК в клетки и оценке её эффективности. К примеру, на культуре соматических клеток яичников дрозофилы (OSC) эффективность РНКи небольшая, что ограничивает возможности использования этого подхода. Для решения этих проблем нами на культуре OSC был разработан метод индуцибельного нокдауна экспрессии целевых генов. В данном подходе, в выбранное место генома с помощью метода CRISPR/Cas9 внедряется конструкция, в которой закодирована последовательность дцРНК под контролем металлтионеинового промотора. Экспрессия дцРНК с внедрённой конструкции в клетках запускается в присутствии ионов Cu^{2+} . Это позволяет проводить обратимый нокдаун комплементарного дцРНК гена с заданной эффективностью, варьируя количество добавляемого Cu^{2+} . Представлены данные о результатах использования данного подхода по подавлению генов в OSC.

Работа проведена при поддержке Российского Научного Фонда (проект № 22-24-00519).

Гистологические особенности головного мозга *D. melanogaster* лабораторных линий *eyeless*

О.Н. Антосюк¹, А.Д. Мокроусов¹

¹ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Drosophila melanogaster является одним из главных объектов исследования в генетике и используется для изучения механизмов многих заболеваний, в том числе - нейродегенераций. Актуальность работы заключается в том, чтобы понять, как линии с мутацией гена *eyeless* помогут в изучении нейродегенеративных патологий, что при дальнейшей экстраполяции исследований на человека, помогло бы расширить понимание механизмов возникновения и патогенеза, а также подбора действенной терапии при нейродегенерациях.

Целью работы является охарактеризовать линии *eyeless D. melanogaster* в отношении реализации гена *eyeless* в онтогенезе.

В эксперименте использовали гистологические препараты мозга *D. melanogaster* линий *eyeless lux*, *eyeless superlux* и Canton-S. Была подобрана методика подготовки пробы, изготовление блоков, их покраска по гематоксилин-эозин и фиксация препаратов.

Провели анализ слоя нейральных клеток мозга по 4 маркерам, вакуолизацию мозга, а также площадь мозга, выделили площадь протоцеребральной части, а также левой и правой зрительных областей. Замеры площади проводили в программе ImageJ.

Определили, что мозг особей мутантных линий *eyeless D. melanogaster* претерпевает редукцию размера зрительных областей, истончение слоя нейральных клеток. Зарегистрировали повышенный уровень интенсивности вакуолизации.

Изучение функций хеликазы MLE вне дозовой компенсации, мутация *mle[9]* и ее фенотипические проявления

Г.А. Ашников¹, Ю.В. Николенко¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

Хеликаза *D. melanogaster* MLE/DHX9 — это консервативный у высших эукариот мультидоменный белок, ортолог которого обнаружен у млекопитающих, включая человека. MLE и его ортолог у разных организмов имеют одинаковую доменную структуру и высокий уровень гомологии. Исторически сложилось так, что хеликаза MLE у *D. melanogaster* изучалась почти исключительно как участник процесса дозовой компенсации, которая необходима для выживания самцов и не происходит у самок. В то же время, в клетках млекопитающих, включая человека, функции DHX9 не связаны с дозовой компенсацией, эта хеликаза вовлечена в широкий спектр процессов, связанных с метаболизмом нуклеиновых кислот, и является одним из ключевых регуляторов экспрессии генов. Недавние исследования показывают, что некоторые малоизученные функции DHX9 человека консервативны в эволюции, поэтому могут быть исследованы на модельных организмах.

В настоящей работе впервые картирована на молекулярном уровне мутация *mle[9]*, определено какой домен белка повреждается мутацией, исследована экспрессия мутантного белка по сравнению с белком дикого типа. Были изучены фенотипические проявления этой мутации в гомозиготном состоянии у самок. Как было известно ранее, мутация *mle[9]* в гомозиготном состоянии летальна только для самцов из-за нарушений дозовой компенсации и не снижает жизнеспособность самок. В настоящей работе было показано, что у самок эта мутация имеет плеiotропный эффект, оказывает влияние на фертильность и продолжительность жизни. Полученные данные вносят вклад в изучение роли хеликазы MLE/DHX9 вне дозовой компенсации и важны для изучения ее консервативных функций.

Работа финансирована грантом РФФ 23-24-00357.

Использование *Drosophila melanogaster* как модельного организма в исследовании изменчивости степени экспрессии высококонсервативного гена *Ras85D*

Е.А. Сивопляс^{1,2}, А.М. Куликов¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, Москва, Россия

²Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

Ген *Ras* является самым известным протоонкогеном. Особый интерес вызывает анализ особенностей регуляции гена *Ras85D*, ортолога генов *ras* млекопитающих. У человека гены, родственные гену *Ras* мало отличимы от дрозофил, что позволяет использовать данный ген в качестве модели для изучения сигнальных каскадов, связанных с канцерогенезом. Ген *Ras85D* 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.

Нами была проанализирована экспрессионная активность гена *Ras85D* на модельных объектах *D. melanogaster* и *D. virilis*. Показано увеличение экспрессионной активности гена *Ras85D* в личинках стадии L3 и извлеченных из них имагинальных глазных дисках по сравнению со взрослыми особями. Также в нашей работе показано влияние кластера микроРНК на регуляцию экспрессии гена *Ras85D*.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол_а.

Влияние сверхпродукции белка CHD1 на транскрипцию генов в ходе развития дрозофилы

А.В. Торошина¹, А.Ю. Конев¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт»,
Гатчина, Россия

toroshchina_av@pnpi.nrcki.ru

CHD1 (*Chromodomain-Helicase DNA-binding 1*) – консервативный АТФ-зависимый хроматин-ремоделирующий фактор из семейства SWI/SNIF. Эти факторы необходимы для преобразований хроматина в процессах реализации генетической информации. Белок CHD1 дрозофилы участвует не только в ремоделировании хроматина, но и в сборке хроматина *in vivo* [1]. Белок CHD1 считается уникальным среди таких факторов в том отношении, что он функционирует как мономер, а не в составе больших белковых комплексов.

В геноме человека есть два гомолога CHD (CHD1 и CHD2), являющихся онкогенами. Как делеции гена *Chd1*, так и сверхпродукция белка CHD1 вызывают образование онкологических опухолей простаты [2], что делает этот фактор возможной терапевтической мишенью.

Сверхпродукция в клетках дрозофилы хроматин-ремоделирующих белков дикого типа и форм белков с нарушенной АТФ-азной активностью позволяет исследовать их функции и механизмы действия. Ранее нами показано, что сверхэкспрессия в клетках слюнных желез личинок дрозофилы как нативной, так и каталитически неактивной форм белка CHD1 приводит к деконденсации строго определенных участков политенных хромосом, с которыми связывается белок CHD1 и РНК-полимераза II. Изменения хромосом при сверхэкспрессии CHD1 отличаются от эффекта нуль-мутаций *Chd1*, где нарушение дисковой структуры наблюдается только для X-хромосомы самцов. С помощью метода RT-qPCR мы изучили влияние сверхпродукции исследуемых форм белка CHD1, а также нуль-мутаций гена *Chd1* на экспрессию тканеспецифичных генов, изменяющих уровень транскрипции в слюнных железах в ходе развития. Эти гены локализируются в деконденсированных, при сверхпродукции исследуемых форм CHD1, районах хромосом. Особи со сверхпродукцией белка CHD1 дикого типа, либо

мутантной формы белка проявляют достоверные отличия от особей дикого типа как в уровне транскрипции исследованных генов, так и динамике ее изменений в ходе развития. Мы наблюдали сходный характер изменений транскрипции при сверхпродукции обеих форм белка, не совпадающий с эффектами нуль-мутаций. Следовательно влияние сверхэкспрессии трансгенов *Chd1* и на структуру хромосом, и на экспрессию генов связано с высокой концентрацией белка в клетках, а не его каталитической активностью. Такой характер фенотипических изменений свидетельствует о том, что для функционирования CHD1 необходимо соблюдение стохиометрических отношений с другими белками, а не только его ферментативная активность. Можно предположить, что CHD1 как и другие факторы этого семейства, служит платформой для сборки хроматин-ремоделирующих комплексов.

1. Konev A. Y., M. Tribus S. Y., Park V., Podhraski C. Y. et al. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin in vivo. *Science*. 2007. V. 317(5841). P. 1087-1090.

2. Rodrigues L. U., Rider L., Nieto C., Romero L. et al. Coordinate loss of MAP3K7 and CHD1 promotes aggressive prostate cancer. *Cancer Res*. 2015. V. 15, 75(6). P. 1021-34.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00864.

Сравнительный анализ последовательностей ДНК прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом анцестральных видов *Drosophila orena* и *Drosophila virilis* (Diptera: Drosophilidae)

К.Е. Усов, В.Н. Стегний

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

При помощи метода микродиссекции получена библиотека ДНК хромоцентра политенных хромосом *D. orena* (“Dore1”). На ее основе получили набор ДНК-клонов и провели их секвенирование. Анализ при помощи различных пакетов компьютерных программ показал наличие среди клонов библиотеки “Dore1” разнообразных повторенных последовательностей ДНК: МГЭ (LTR-ретротранспозоны – Gypsy, Idefix, Zam, Roo, Quasimodo, Stalker, HMS Beagle, Copia, Tv1, Circe, DM297; LINE-элементы – DMCR1A, G3, Helena, I; ДНК-транспозон, полинтон и гелитрон – DNAREP1_DM, Polinton-1_DY, Helitron-1_DYak; MINIME_DN, относящийся к группе не-LTR-ретротранспозонов mini-me); четыре минисателлита, сателлит (SAR_DM), простой повтор (TATATG)_n и T-богатый повтор низкой сложности; несколько аннотированных белок-кодирующих генов видов *Drosophila* подгруппы *melanogaster*. При помощи метода микродиссекции получена библиотека ДНК хромоцентра политенных хромосом *D. virilis* (“DvirIII”) и проведена дот-блот гибридизация “DvirIII” с охарактеризованными и аннотированными ДНК-клонами “Dore1”. Установлено, что ДНК прицентромерного гетерохроматина хромосом *D. orena* и *D. virilis* содержит значительное количество общих последовательностей: МГЭ – представители LTR-ретротранспозонов, LINE-элементы, ДНК-транспозоны; tandemные повторы (минисателлиты), а также последовательности, гомологичные белок-кодирующим генам.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSWM-2020-0019).

ПЦР-анализ γ - и n-индуцированных точковых мутаций у дрозофилы

Н.Е. Харченко, К.П. Афанасьева, А.Н. Русакович, М.В. Александрова, И.Д. Александров

Объединенный институт ядерных исследований (ОИЯИ), Дубна, Россия

Для выявления мутантов с полной потерей гена и отбор остальных для секвенирования нами проведен ПЦР-анализ 198 мутантов 5 разных генов (*yellow, white, black, cinnabar, vestigial*), индуцированных γ -излучением ^{60}Co и 67 мутантов, индуцированных в этих же генах нейтронами (0,85 МэВ). К нашему удивлению, среди большой изученной выборки мутантов не было ни одного, обусловленного потерей всего гена. Однако полученные результаты позволяют нам выделить 4 класса внутригенных изменений, выявляемых этим методом, которые регулярно наблюдаются после действия двух изученных видов радиации: 1) мутанты с микроизменениями ДНК, не выявляемыми ПЦР (ПЦР⁺-мутанты); 2) мутанты без одного фрагмента гена; 3) мутанты без 2 или более смежных фрагментов гена; 4) мутанты с кластерами изменений 2-го и 3-го классов. Предлагаемая нами классификация основана на наличии или отсутствии 1-го или более фрагментов, на которые были подразделены изучаемые гены в зависимости от их размера. Согласно полученным результатам, в общем спектре изменений преобладают мутанты 1-го класса, частота которых после γ -излучения в 1,5 раза выше, чем после нейтронов. Интересно отметить, что среди 3-х других классов преобладают мутанты 2-го класса, частота которых в 2 раза выше у n-индуцированных мутантов, по сравнению с таковой у γ -индуцированных. Учитывая весомый вклад мутантов 2-го класса в общий спектр выявляемых ПЦР изменений, а также предполагаемую неоднозначную генетическую природу изменений, лежащих в их основе, нами начат детальный молекулярный анализ таких мутантов, индуцированных обоими видами радиации. Будут представлены и обсуждены первые результаты такого анализа.

Сниженная экспрессия нейронального фактора транскрипции *Stc* может смягчать признаки дисфункции нейронов

А.В. Симоненко¹, Л.Н. Пороховник², Е.А. Цыбулько¹, Н.В. Рощина^{1,3}, Е.Г. Пасюкова¹

¹НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

²Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

³Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Одной из основных медицинских, экономических и социальных проблем современного общества становится наследственная и возникающая с возрастом дисфункция нервной системы, от детского аутизма до возрастной нейродегенерации. Перспективным путем смягчения многообразных нейропатологий может оказаться неспецифическое снижение в нервной системе экспрессии дисфункциональных белков, возникающих вследствие наследственных мутаций или накопления ошибок в ДНК с возрастом.

Мы показали, что полученная нами модель дрозофилы со сниженной экспрессией нейронального транскрипционного фактора *Stc* характеризуется высокой продолжительностью жизни и подвижностью, свидетельствующей о хорошем состоянии нервной системы, несмотря на выраженные изменения синаптической структуры и функции, а также изменения в транскриптоме, характерные для аутизма. У модельных мух также снижено количество 5S рРНК. Мы предполагаем, что уменьшение экспрессии *stc*, снижающее уровень протеосинтеза и, вероятно, улучшающее его контроль через ключевое звено – 5S рРНК, позволяет компенсировать нейрональные патологии. Мы также показали, что снижение нейрональной экспрессии *Stc* позволяет компенсировать эффекты индуцированной глутаматом эксайтотоксичности. Для дальнейшего подтверждения нашей гипотезы мы разработали методику более точной оценки специфических характеристик нейронального и поведенческого статуса дрозофилы (обучаемости, социальности и др.) и проводим ее валидацию на известных моделях аутизма и нейродегенерации.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного бюджета НИЦ КИ.

Эволюционная изменчивость регуляторных последовательностей консервативного гена *ras85D*

А.И. Чекунова¹, С.Ю. Сорокина¹, Г.Н. Бахтояров², А.М. Куликов¹

¹ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

anpachek-n@mail.ru

Функциональная активность консервативных генов, включая гены домашнего хозяйства, поддерживается стабильным набором регуляторных элементов. В рамках известных закономерностей этот паттерн должен наследоваться видами потомками от общего предка и постепенно меняться в ходе эволюции, что не всегда наблюдается. Молекулярные функции Ras белка эволюционно неизменны, при одновременно высокой изменчивости регуляторной области гена, от которой зависит его экспрессия.

В настоящем исследовании проведено сравнение изменчивости структуры регуляторной области гена *ras85D*, включающей межгенную область, промотор и 5'UTR у 38 видов дрозофил по комбинации сайтов связывания транскрипционных и регуляторных факторов. Выявлено, что регуляторная область подвергалась многократным структурным перестройкам. Основную роль в таких преобразованиях последовательностей у разных эволюционных линий дрозофил, могли выполнять транспозоны всех известных классов – от ДНК-транспозонов до ретротранспозонов с длинными концевыми повторами и без них. Перестройки некодирующей области гена *ras85D* сопровождалась сменой паттерна структурных элементов с заменой участков, что привело к формированию таксонспецифических структурных композиций эволюционно консервативных мотивов, характерных для каждой группы дрозофил.

Полученные результаты позволяют предположить, что периодические эволюционные изменения регуляторных последовательностей консервативных генов, могут оказывать значительное влияние на процессы онтогенеза и филогенеза.

**Анализ штамма *Wolbachia* wMelPlus, повышающего
стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster***

О.Д. Шишкина, О.В. Андрееenkova, Н.В. Шацкая, А.И. Клименко, А.Е.
Коренская, Н.Е. Грунтенко

ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

Wolbachia pipientis – широко распространённый матерински наследуемый внутриклеточный бактериальный симбионт насекомых. Ранее был обнаружен уникальный штамм *Wolbachia*, wMelPlus, обеспечивающий повышение устойчивости *Drosophila melanogaster* к острому тепловому стрессу. Нами был проанализирован ряд методов выделения внутриклеточных бактерий *Wolbachia* из насекомого-хозяина и последующей очистки его ДНК, и предложен простой и эффективный протокол выделения ДНК *Wolbachia* из имаго или яичников *D. melanogaster* с чистотой, достаточной для проведения геномного секвенирования. Проведено секвенирование, сборка генома и анализ штамма wMelPlus в сравнении с геномами *Wolbachia* из групп MEL и CS, опубликованными ранее, и показано, что он содержит большую (>1/6 всего генома) хромосомную инверсию, захватывающую регион инверсии, ранее обнаруженную у генотипов группы MEL. В инверсии wMelPlus идентифицирован ряд генов, которые могут быть вовлечены в формирование стрессоустойчивого фенотипа мухи-хозяина.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00090).

УЧАСТНИКИ КОНФЕРЕНЦИИ

Ф. И. О.	Организация	Почта
Абрамов Юрий Александрович	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	abramov75@rambler.ru
Адоньева Наталья Васильевна	ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия	ado-nata@yandex.ru
Акишина Ангелина Александровна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	ilitiri@bk.ru
Александров Игорь Донатович	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	a38don@jinr.ru
Андреев Юрий Александрович	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	y.andreev96@yandex.ru
Афанасьева Кристина Петровна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	afanasyeva@jinr.ru
Ахромов Константин Викторович	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	akhromov_kv@pnpi.nrcki.ru
Бабак Татьяна Владимировна	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия	babak@ib.komisc.ru
Беседина Наталья Геннадьевна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	nbesedina21@infran.ru
Большакова Ольга Игоревна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	bolshakova_oi@pnpi.nrcki.ru
Брагина Юлия Валерьевна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	julia_bragina@infran.ru
Васильева Светлана Александровна	ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия	swetlana.gorohowa@yandex.ru
Ватолина Татьяна Юрьевна	ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	vatolina@mcb.nsc.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
Вдовина Юлия Андреевна	ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	yuvdov2020@gmail.com
Вербицкая Анастасия Константиновна	ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия	n.vierbitskaia@mail.ru
Веселкина Екатерина Романовна	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	veselkinaer123@gmail.com
Воронцова Юлия Евгеньевна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	vjul83@mail.ru
Гайнетдинова Юлия Вячеславна	ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия	yuliya61kalmykova@yandex.ru
Голомидов Илья Михайлович	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	golomidov_im@pnpi.nrcki.ru
Голубев Денис Анатольевич	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия	denismeatboy@gmail.com
Голубкова Елена Валерьевна	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	elena_golubkova@mail.ru , e.golubkova@spbu.ru
Гончарова Анна Алексеевна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	AnemoneNemorosa@yandex.ru
Горбунова Анастасия Александровна	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия	asenbka_aa@mail.ru
Груntenко Наталия Евгеньевна	ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия	nataly@bionet.nsc.ru
Даниленкова Лариса Владимировна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	danilenkova@infran.ru
Дегтярёва Кристина Александровна	ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия	degtyareva@bsu.edu.ru
Довгань Виктория Викторовна	ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	ogur4iko.o@yandex.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
Дьяченко Анна Игоревна	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия	anigd_1999@mail.ru
Евгеньев Михаил Борисович	ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	misha672011@yahoo.com
Заволока Екатерина Леонидовна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	workerbh000@gmail.com
Заломаева Екатерина Сергеевна	ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	zalomaeva.E@yandex.ru
Захаров-Гезехус Илья Артемьевич	ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия	iaz34@mail.ru
Зацепина Ольга Георгиевна	ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	olzacepina@yandex.ru
Золотникова Анна Витальевна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	zolotnikova_av@pnpi.nrcki.ru
Иванова Екатерина Александровна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	ivanova_ea@pnpi.nrcki.ru
Камышева Елена Аркадьевна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	kamyshevaea@infran.ru
Каровецкая Дарья Михайловна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	dariaraddvs@gmail.com
Карпова Евгения Константиновна	ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия	karpova@bionet.nsc.ru
Ким Александр Иннокентьевич	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия	Aikim18@mail.ru
Клюева Виолетта Викторовна	ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный	viola.snezhinka@yandex.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
	исследовательский университет, Белгород, Россия	
Колесникова Татьяна Дмитриевна	ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	kolesnikova@mcb.nsc.ru
Комиссаров Артем Евгеньевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	komissarov_ae@pnpi.nrcki.ru
Конев Александр Юрьевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	Konev_AY@pnpi.nrcki.ru
Костенко Виктория Викторовна	ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия	yvkostenko1@gmail.com
Куваева Елена Евгеньевна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	lena_kuv@mail.ru
Куликова Дина Александровна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	dinakulikova@mail.ru
Кучинская Янина Александровна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	kuchinskaya_yaa@pnpi.nrcki.ru
Лавренов Антон Русланович	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия	overtaki@mail.ru
Лазебный Олег Евгеньевич	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	o.e.lazebny@idbras.ru
Латыпова Евгения Михайловна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	latypova_em@pnpi/nrcki.ru
Малышев Дмитрий Романович	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	malyshev.dmitry95@gmail.com
Мальцева Мария Витальевна	ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	maria.4809@mail.ru
Марфина Софья Владимировна	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	sonyamarfina@gmail.com

Ф. И. О.	Организация	Почта
Миляева Полина Андреевна	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия	atemeda@mail.ru
Мокроусов Артём Дмитриевич	ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия	u420102@gmail.com
Нефедова Лидия Николаевна	Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия	lidia_nefedova@mail.ru
Никитина Екатерина Александровна	ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия	21074@mail.ru
Николенко Юлия Владимировна	ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	julia.v.nikolenko@gmail.com
Огнева Ирина Владимировна	ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия	iogneva@yandex.ru
Пакшина Наталья Ришатовна	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия	pakshina.n.r@ib.komisc.ru
Пасюкова Елена Генриховна	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	egpas@rambler.ru
Пороховник Лев Николаевич	Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва, Россия	med-gen@mail.ru
Рябова Елена Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	ryabova_ev@pnpi.nrcki.ru
Рязанский Сергей Сергеевич	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	s.ryazansky@gmail.com
Савватеева-Попова Елена Владимировна	ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	esavvateeva@mail.ru
Саранцева Светлана Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	sarantseva_sv@pnpi.nrcki.ru
Сивопляс Екатерина Александровна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	sivoplyas-ekater@mail.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
	ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия	
Симоненко Александр Владимирович	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	symonenko@gmail.com
Симонова Ольга Борисовна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	osimonova@hotmail.com
Слепнёва Елизавета Эдуардовна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	slepneva_ee@pnpi.nrcki.ru
Ткачева Ирина Владиславовна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	tkacheva_iv@pnpi.nrcki.ru
Торощина Анастасия Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	toroshchina_av@pnpi.nrcki.ru
Уляшева Наталия Сергеевна	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия	ulyasheva-1309@yandex.ru
Усов Константин Евгеньевич	ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия	usovke@rambler.ru
Харченко Наталья Евгеньевна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	harchenko@jinr.ru
Цыбулько Евгения Александровна	НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	jen@cos.ru
Чекунова Анна Ивановна	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	annachek-n@mail.ru
Черезов Роман Олегович	ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия	ro-tcherezov@yandex.ru
Шидловский Юлий Валерьевич	ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия	yul.biogen@yandex.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
Шишкина Ольга Дмитриевна	ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия	shishkina.olga.98@gmail.com
Шупляков Олег Викторович	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	oshupliakov@yandex.ru
Щеголева Евгения Владимировна	ФГБУН Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия	dobraya_09@bk.ru