НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

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

Международная конференция

«Дрозофила в генетике и медицине»

30 сентября – 2 октября 2020 года

Сборник тезисов

Гатчина
2020

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

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

Международная конференция

«Дрозофила в генетике и медицине»

30 сентября – 2 октября 2020 года

Сборник тезисов

Гатчина
2020

NATIONAL RESEARCH CENTRE “KURCHATOV INSTITUTE”

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

International Conference

“Drosophila in genetics and medicine”

September 30 – October 2 2020

Abstracts

Gatchina
2020

В сборник включены аннотации докладов и состав участников Международной конференции «Дрозофила в генетике и медицине» (30 сентября – 2 октября 2020 г., Гатчина). Материалы представлены в авторской редакции.

Сборник подготовили: *Е. М. Латыпова, О. И. Большакова, Е. В. Рябова*.

© НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, 2020

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели:

Захаров-Гезехус Илья Артемьевич, д. б. н., член-корреспондент РАН, Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва;

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

Члены программного комитета:

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

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

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

Мамон Людмила Андреевна, д. б. н., профессор, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;

Москалев Алексей Александрович, д. б. н., член-корреспондент РАН, Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар;

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

Патрушев Максим Владимирович, к. б. н., начальник отдела генетических исследований Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», Москва;

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

Савватеева-Попова Елена Владимировна, д. б. н., 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;

Мелентьев Павел Алексеевич – организационные вопросы;

Жеронкина Римма Александровна – международные вопросы;

Иванова Татьяна Александровна – финансовые вопросы.

Голомидов Илья Михайлович, Жмуйдина Дарья Романовна, Иванова Екатерина Александровна, Комиссаров Артем Евгеньевич, Слободина Александра Дмитриевна, Сурина Нина Владимировна, Шарапенков Эдуард Григорьевич – 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 «ХЕЛИКОН»

Компания SARTORIUS

Компания «ЛАБИНСТРУМЕНТЫ»

Компания «ДИА-М»

Компания SKYGEN

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

ORAL PRESENTATION

Механизмы влияния *Wolbachia* на приспособленность *Drosophila melanogaster*

Н. В. Адоньева, Е. В. Бурдина, Ю. Ю. Илинский, Н. Е. Грунтенко

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

Наследуемые по материнской линии внутриклеточные бактерии *Wolbachia* оказывают как паразитическое, так и мутуалистическое воздействие на насекомых-хозяев. Здесь мы показываем, что тип инфекции *Wolbachia* определяет ее влияние на стрессоустойчивость и плодовитость самок *Drosophila melanogaster*. Мы исследовали шесть линий дрозофил с ядерным фоном линии дикого типа *Bi90* и различными вариантами *Wolbachia* (и без нее) в цитоплазме и показали, что генотип *wMelCS* снижает яйценоскость у инфицированных самок в начале яйцекладки и увеличивает ее с шестого дня после вылета имаго, *wMelPop* оказывает противоположный эффект, а генотипы *wMel*, *wMel2* и *wMel4* не оказывают влияния на плодовитость по сравнению с неинфицированными самками. Влияние *wMelCS* и *wMelPop* на продукцию яиц может быть нивелировано модулированием титра ювенильного гормона (ЮГ), действующего у имаго как гонадотропин. Таким образом, по крайней мере один из механизмов влияния *Wolbachia* на плодовитость самок *D. melanogaster* опосредуется ЮГ. Мы также обнаружили, что инфицирование *wMelCS* обеспечивает насекомому-хозяину повышенную выживаемость при тепловом стрессе в сравнении с генотипами группы *wMel*, что показалось нам неожиданным и интересным, так как соотношение мух, инфицированных этими генотипами *Wolbachia*, в природных популяциях свидетельствует об адаптивном преимуществе *wMel*, а не *wMelCS*. Мы создали дополнительную коллекцию линий, несущих различные варианты wMelCS генотипа *Wolbachia* с ядерным фоном линии Bi90, изучили их стресс-устойчивость и обнаружили, что штамм wMelCS, проанализированный нами ранее и названный wMelPlus, является не типичным для данной генотипической группы, а совершенно уникальным по характеру воздействия на стресс-устойчивость хозяина.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00579.

Генетические последствия у потомков облученных родителей-самцов *Drosophila melanogaster*

И. Д. Александров, М. В. Александрова

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Предсказание генетических последствий у потомков облученных родителей остается одной из важнейших фундаментальных проблем радиационной и популяционной генетики на протяжении уже более 60 лет, когда она впервые стала предметом изучения НКДАР ООН в условиях генетически опасного повышения природного фона радиации в результате ядерных испытаний. Актуальность этой проблемы сегодня определяют расширяющиеся контакты человека с радиацией на Земле и в Космосе, а также вероятные ядерные катастрофы техногенного и военного характера. Рассмотрев накопленные радиационной генетикой дрозофилы и мыши данные о спонтанной и индуцированной радиацией с низкой ЛПЭ частоте рецессивных мутаций разных генов, НКДАР разработал и рекомендовал критерии и методы оценки генетической опасности (риска) радиации для потомков, среди которых наиболее адекватный метод удваивающей дозы может быть применен лишь при наличии данных об одинаковой генетической природе спонтанных и индуцированных мутаций, получение которых в домолекулярную эру генетики являлось проблематичным. В этой связи первые классические оценки величины удваивающей дозы для дрозофилы и мыши (5 и 3,9 Гр соответственно) следует рассматривать как сугубо предварительные. Учитывая сказанное, нами ведутся систематические исследования на молекулярном уровне (секвенирование) по изучению наследуемых от облученных родителей-самцов дрозофилы микроизменений ДНК у рецессивных мутаций пяти разных генов, первые результаты которых по спектру, частоте изменений и по определению величины удваивающей дозы (0,9 Гр для замен оснований после γ-излучения) представляются и обсуждаются.

Радиационно-индуцированные изменения ДНК, выявляемые секвенированием, у мутантов *vestigial nowing Drosophila melanogaster*

К. П. Афанасьева, И. Д. Александров

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Классическая спонтанная мутация vg^{nw} гена *vestigial Drosophila melanogaster* обусловлена, как известно, делецией 3'-конца гена (интрон 7, экзон 8) и характеризуется полной редукцией крыльев, галтер, эректированными постскутелярными щетинками и стерильностью самок. Согласно результатам наших радиационно-генетических экспериментов, среди индуцированных разных аллелей гена *vg* преобладает (более 60 %) фенотип vg^{nw} (I.D. Alexandrov, M.V. Alexandrova, 1987).

С целью выяснения, не являются ли эти мутации делецией 3'-конца гена, был проведен молекулярный анализ методом секвенирования 8 мутаций vg^{nw}, индуцированных γ-квантами ^{60}Co (10–60 Гр) и нейтронами с E = 0,85 МэВ (10 Гр).

У 6 из изученных мутантов с типичным для данной мутации фенотипом были выявлены замены единичных оснований, замены двух смежных оснований, делеции от *2 до 11 п.о., локализованные в 3, 4 или 5 экзонах гена. У одного мутанта* vg^{nw} (n, 10 Гр) был обнаружен кластер повреждений из 3 дупликаций (6 п. н.), инсерции (6 п. н.), замены 1 основания и замены 2 смежных оснований, локализованный на участке 145 п. н. в интроне 4. У другого мутанта vg^{nw}, имеющего не характерный фенотип – только 2 измененных признака из 4 (отсутствие крыльев и галтер) методами ПЦР и секвенирования была выявлена делеция 3559 п. о. интрона 2 с инсерцией 17 п. н. на месте делеции.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что 3–5 экзоны являются значимыми для формирования нормального продукта гена. Интересно отметить, что у 2 мутантов повреждения локализованы в интронах, что может свидетельствовать о регуляторном значении этих участков.

Генетический контроль локомоции у дрозофилы

Ю. В. Брагина

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

Генетическая карта формирования способности к двигательной активности и управления локомоторными функциями у дрозофилы еще только начинает заполняться. В настоящее время обнаружены гены, определяющие формирование отделов центральной нервной системы, нейромышечных структур, а также гены, продукты которых отвечают за реализацию отдельных этапов реализации моторных программ. Нами была выведена коллекция из 1 000 P-инсерционных линий с нарушениями локомоторной активности. В большинстве случаев мутации затронули некодирующие участки в начале гена, т. е. вероятно произошло нарушение эпигенетических регуляторных программ. В контроле локомоторной активности принимают участие гены, кодирующие структурные компоненты мембран и рецепторов, различные ферменты и транскрипционные факторы. Особое внимание мы уделяли генетическому контролю работы центральных генераторов моторного паттерна. Обсуждается роль выделенных и уже известных нейрогенов и возможные механизмы их взаимодействия при реализации локомоторных программ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63). Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

Влияние дифференциальной экспрессии GSK3 на нервную систему *Drosophila melanogaster*

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

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Известно, что в контроле продолжительности жизни (ПЖ) круциальную роль играет развитие и функциональное состояние нервной системы (НС). Поэтому изучение генов, измененная экспрессия которых в НС может влиять на ПЖ, поможет контролировать процессы, сопряженные с изменениями, происходящими в НС при старении.

Ранее мы показали, что изменение экспрессии в НС гена *shaggy* (*sgg*), кодирующего протеинкиназу GSK3, приводит к изменению ПЖ.

Мы исследовали влияние измененной экспрессии гена *sgg* в различных типах нейронов на ПЖ и свойства НС. Наиболее интересные эффекты были выявлены при изменении экспрессии *sgg* в дофаминергических нейронах (ДН). Сильная сверхэкспрессия GSK3 в ДН самок и самцов приводила к летальному эффекту. Однако умеренное снижение активности GSK3 в ДН самок приводило к увеличению ПЖ, а повышению двигательной активность в течение всей жизни.

Мы предположили, что изменение двигательной активности и ПЖ могут быть обусловлены изменениями в структуре самих ДН или их кластеров. Количество ДН в различных кластерах, которые были доступны для анализа, было проанализировано у личинок 3 возраста, 3–5-дневных и 50-дневных особей с умеренным снижением активности GSK3. У 3–5-дневных самок в одном из кластеров, ppl2a/b, количество ДН было значительно снижено, но к 50-дневному возрасту количество ДН в контроле и опыте выравнилось. Эти данные позволяют предположить наличие механизма, который при снижении уровня активности GSK3 обладает протекторными свойствами для ДН, вероятно, благодаря снижению митохондриально-опосредованного апоптоза, но это предположение требует дополнительного изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-34-80042 мол_эв_а и государственного бюджета по теме АААА-А19-119022590053-3.

Изучение эффектов гиперэкспрессии гена α-синуклеина человека на модели *Drosophila melanogaster*

*И. М. Голомидов**, *О. И. Большакова, Е. В. Рябова, С. В. Саранцева*

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

* *ilia_stv@mail.ru*

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваниий, характеризующееся прогрессирующей дегенерацией дофаминергичских нейронов (ДН) в черной субстанции. Основным гистопатологическим признаком БП является наличие внутри клетки аномальных агрегатов, содержащих белок а-синуклеин, называемых телами Леви. В своем мономерном состоянии а-синуклеин растворим и имеет неупорядоченную структуру. α-синуклеин очень распространен в пресинаптических терминалах, считается, что из-за его расположения и способности связываться с мембранами, он играет роль в нейротрансмиссии и синаптических функциях. Именно агрегационный потенциал α-синуклеина является ключевым патологическим фактором БП. При патологии неправильный фолдинг белка приводит к тому, что нативное мономерное состояние претерпевает структурные изменения, сначала образуя небольшие растворимые аморфные олигомеры, затем более поздние олигомеры с высоким содержанием β-структур, протофибриллы и, наконец, нерастворимые амилоидные фибриллы. Агрегированный а-синуклеин теряет возможность выполнять свои синаптические функции.

В данной работе мы используем модель Drosophila melanogaster, которая позволяет осуществлять контролируемую временную регуляцию экспрессии трансгенов. Этот фактор позволяет нам показать степень влияния экспрессии α-синуклеина на нейродегенеративные процессы, протекающие в клетках мозга *Drosophila melanogaster*, в течение определенного периода жизни. В нашей работе мы экспрессировали ген *SNCA* человека и его формы с мутациями A30P и A53T в течение одной или двух недель на стадии имаго, далее, в течение остального периода жизни (до 30 дня жизни) экспрессия гена была подавлена.

Мы показали, что продолжительность экспрессии гена *SNCA* и его мутантных форм значительно влияет на нейродегенеративные процессы. При экспрессии α-синуклеина в течение двух недель наблюдалась прогрессирующая нейродегенерация, значительно замедляющаяся после остановки экспрессии. В то время как при экспрессии α-синклеина в течение одной недели значительные нейропатологические процессы отсутствовали.

РНК-связывающий белок Dm NXF1 (Nuclear eXport Factor 1), цитоскелет и морфогенетические процессы у *Drosophila melanogaster*

Е. В. Голубкова[1], *А. О. Якимова*[2], *А. И. Пасынков*[1], *Л. А. Мамон*[1]

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Медицинский радиобиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия*

Основная функция эволюционно консервативного РНК-связывающего белка NXF1 (Nuclear eXport Factor 1) – обеспечение экспорта большинства мРНК из ядра в цитоплазму. У *Drosophila melanogaster* ген *Dm nxf1* имеет еще одно название – *small bristles* (*sbr*). Для мутаций по гену *sbr* (*Dm nxf1*) характерны аллель-специфичные эффекты, связанные с расхождением хромосом в мейозе и митозе, формой веретена первого деления мейоза у самок, цитокинезом в раннем сперматогенезе. Широкий спектр врожденных аномалий развития также характерен для фенотипических проявлений мутантных аллелей гена *sbr* (*Dm nxf1*). Морфогенетические процессы связаны с делением и миграцией клеток, движениями клеточных пластов, что в свою очередь зависит от динамических изменений цитоскелета. Основываясь на полученных нами данных, мы предполагаем, что продукты гена *sbr* (*Dm nxf1*) необходимы для функционирования цитоскелета и, как следствие, для нормального протекания морфогенеза. Сборка и разборка структур цитоскелета требует присутствия локализованных мРНК, которые сохраняются и транспортируются в цитоплазме в составе сложных РНП-комплексов. Среди белков, входящих в состав таких РНП-комплексов находятся и продукты гена *sbr* (*Dm nxf1*). Нами показана локализация белка SBR не только в ядре, но и в цитоплазме. Он присутствует в кольцевых структурах в синцитиальном эмбрионе и на синцитиальной стадии сперматогенеза. Среди партнеров белка SBR (Dm NXF1) в цитоплазме, по-видимому, находятся мРНК, обеспечивающие клеточные деления и участвующие в динамичных преобразованиях цитоскелета.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01255.

Продолжительность жизни и плодовитость в условиях частых стрессов

Н. Е. Грунтенко, Е. К. Карпова, О. В. Андреенкова, Е. В. Бурдина, Н. В. Адоньева, М. А. Еремина, П. Н. Меньшанов, И. Ю. Раушенбах

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

Известно, что в неблагоприятных условиях в организме запускается сложный комплекс защитных реакций, как на клеточном, так и на гуморальном (стресс-реакция) и поведенческом уровнях. Однако все еще недостаточно данных о долгосрочных последствиях таких воздействий. Чтобы прояснить этот вопрос, мы изучили влияние кратковременного теплового стрессирования (38 °C, 1 ч) различной периодичности (ежедневно, еженедельно и еженедельно в первые две недели) на продолжительность жизни, плодовитость и метаболизм дофамина *D. melanogaster*. Мы показали, что ежедневный стресс вызывает сильное снижение продолжительности жизни и плодовитости, но повышает активность ферментов метаболизма дофамина, что, вкупе с обнаруженным у этой группы повышением устойчивости к более жесткому стрессу (38 °C, 4 ч), свидетельствует о снижении уровня дофамина. Возможно, это снижение способствует адаптации насекомых к таким условиям, позволяя им экономить энергию. Мы также обнаружили, что стресс, повторенный дважды в первые две недели, не влияет на продолжительность жизни, уровень метаболизма дофамина и стресс-устойчивость, но вызывает значительное повышение уровня плодовитости. Еженедельный стресс не сказывается на уровне плодовитости в целом, хотя приводит к достоверному снижению плодовитости непосредственно в дни стрессирования. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что в условиях регулярного теплового стрессирования происходит компромисс не между плодовитостью и продолжительностью жизни, а между способностью к размножению и стрессоустойчивостью.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00458.

Отбор определенных аминокислотных последовательностей в составе Hsp70, способствующих формированию термальной адаптации

А. И. Давлетшин[1], *Д. В. Сверчинский*[2], *Д. Г. Гарбуз*[1], *В. А. Митькевич*[1], *М. Б. Евгеньев*[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*
[2] *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Белки теплового шока (БТШ, или Hsps от heat shock proteins) являются важнейшим фактором поддержания белкового гомеостаза клетки и формирования устойчивости к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, в частности, к повышению температуры. Особый интерес в этой области представляют белки семейства БТШ70, как наиболее универсальные молекулярные шапероны. Ранее было показано, что большинство термоадаптированных видов живых организмов (экстремофилы и эвритермы) характеризуются повышенным уровнем БТШ70 по сравнению с близкородственными термочувствительными видами. Повышение концентрации БТШ70 в клетках считается основным механизмом формирования термоустойчивости, универсальным для большинства описанных в этом плане пойкилотермных организмов.

В нашей работе мы сравнили биохимическую активность и термостабильность БТШ70, полученных из двух видов Diptera, контрастных по температуре среды обитания, термочувствительного вида *Drosophila melanogaster* и термоустойчивого эвритерма *Stratiomys singularior*. БТШ70 из термоустойчивого вида *S. singularior* имеет более высокую шаперонную активность при температуре 40 °C по сравнению с БТШ70 *D. melanogaster*. Помимо этого БТШ70 *S. singularior* характеризуется значительно более высокой термостабильностью по сравнению с паралогом из *D. melanogaster*. Таким образом, впервые экспериментально показано, что отбор вариантов аминокислотной последовательности БТШ70 в процессе эволюции термоустойчивых видов Diptera идет в сторону повышения его термостабильности и активности при высоких температурах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-04-00895.

Адаптация методов количественного анализа содержания углеводов и общих липидов для *Drosophila melanogaster*

М. А. Еремина, Е. К. Карпова, Н. Е. Грунтенко

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

Модельный объект *Drosophila melanogaster* активно используется в изучении фундаментальных вопросов углеводно-жирового метаболизма и его нарушений, включая сахарный диабет 2 типа и ожирение, а также в поиске терапевтических целей для лечения метаболических нарушений у человека. Разработанные нами методы количественного определения уровней углеводов и липидов у самок *D. melanogaster* являются результатом модификации протоколов Ван Генделя (Van Handel, 1985) для измерения общих липидов у самок комара *Aedes egypti* и Муссельман с соавторами (Musselman *et al*., 2011) для анализа содержания углеводов (глюкозы и основного сахара насекомых – трегалозы) у личинок *D. melanogaster*. Модифицированные нами методы мы использовали при изучении мух, несущих гипоморфные мутации генов инсулинового сигнального каскада *dilp6* (кодирующий гомолог инсулина млекопитающих) и *dfoxo* (кодирующий гомолог транскрипционных факторов FOXO1, 3а и 4 млекопитающих). Проведенный анализ показал, что методы являются высокочувствительными, способны точно определять уровень сахаров и липидов в низких концентрациях. Обнаруженное повышение уровней как глюкозы и трегалозы, так и общих липидов у самок *D. melanogaster* с гипоморфными мутациями *dilp6* и *dfoxo* по сравнению с самками линии дикого типа Canton-S свидетельствует об участии данных генов в регуляции углеводно-жирового обмена. Таким образом, проведенная нами модификация колориметрических методов количественного анализа содержания углеводов и липидов с использованием спектрофотометрии может быть успешно использована при изучении закономерностей углеводно-жирового обмена у имаго дрозофилы.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-04-00579 и бюджетным проектом 0324-2019-0041.

Молекулярно-генетические механизмы обучения и памяти у *Drosophila melanogaster*

О. Г. Зацепина[1], *В. Ю. Шилова*[1], *Л. Н. Чувакова*[1], *А. С. Резвых*[1], *А. Ш. Заклута*[1], *М. Б. Евгеньев*[1], *Е. А. Никитина*[2]

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

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

Для выявления роли HSP70 в процессе обучения и формирования памяти у *Drosophila melanogaster* была применена модельная система условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). В исследовании использовали линии *D. melanogaster* различающиеся по числу копий генов *hsp70* в геноме: линия hsp70B-с 4 копиями генов из локуса 87B, линия hsp70Ab с одной копией и линия hsp70- с делецией всех копий генов *hsp70*.

Было показано, что линия hsp70- не способна к обучению и формированию памяти. Предположено, что значимую функцию в формировании памяти имеет определенный базальный уровень *hsp70*. Так, в линии hsp70Ab восстанавливается способность мух к обучению и формированию среднесрочной памяти. В линии hsp70B формируется и долгосрочная память сравнимая с контрольной линией CS. Для выявления молекулярных различий в формировании памяти у линий с генами *hsp70* и линией с делецией копий генов *hsp70* были получены транскриптомные библиотеки из голов наивных самцов, самцов прошедших 5 часовую тренировку с оплодотворенными самками и через 24 часа после тренировки. Транскриптомные исследования позволили выявить группы генов, отвечающие на реакцию отвержения у самцов мух-дрозофил и сформулировать гипотезу, объясняющую участие генов *hsp70* в формировании памяти и обучения у мух. Полученные результаты имеют важное значение для понимания молекулярных механизмов формирования памяти у высших организмов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-04-00685.

Условно-рефлекторное подавление ухаживания: методы обработки экспериментальных данных

Н. Г. Камышев

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

Условно-рефлекторное подавление ухаживания является парадигмой обучения самцов дрозофилы, которая по частоте использования стоит на втором месте (после обучения на запахи с подкреплением электрошоком) в генетических исследованиях механизмов обучения и памяти. Имеет ли место обучение у самцов какой-либо линии, легко установить путем сравнения индексов ухаживания (ИУ), т.е. доли времени, занятого ухаживанием, у самцов, прошедших тренировку (ухаживание за нерецептивной оплодотворенной самкой) – ИУт, и у наивных самцов – ИУн. Для этого могут быть использованы как параметрические, так и непараметрические критерии. Трудности появляются, когда возникает желание выяснить, обучаются ли самцы одной линии хуже или лучше самцов другой линии. Для оценки эффективности обучения (а также сохранности памяти) используют индекс обучения (ИО), который равен ИО=(ИУн-ИУт)/ИУн. В сравнении двух ИО участвуют 4 независимые выборки (ИУн и ИУт для каждой линии). Единственным адекватным способом сравнения при этом являются методы, основанные на использовании подхода Монте-Карло – прямого вычисления вероятности нулевой гипотезы путем перебора всех (или разумной части) виртуальных выборок. К этим методам относятся тест рандомизации и бутстрэппинг. Хотя считается, что эти методы применимы к любым типам даже очень сложных переменных, это не так. Теоретически возможное распределение ИО не симметрично относительно нуля. Справа его максимальное значение равно 1, слева – минус бесконечность. Эта несимметричность приводит к тому, что при сравнении двух ИО тестом рандомизации не обнаруживаются действительно существующие различия между ними (подробности объясню). В данном сообщении я предлагаю выход из этого положения путем введения альтернативного индекса обучения АИО = (ИУн-ИУт)/(ИУн+ ИУт), возможные значения которого варьируют от –1 до +1. Представляю бесплатную свободную для распространения компьютерную программу, позволяющую сравнивать индексы обучения старым и новым методом, а также рассчитывать доверительные интервалы для ИО методом бутстрэппинга.

Работа выполнена в порядке личной инициативы и не связана обязательствами к каким-либо финансирующим организациям.

Избирательная репрессия поврежденных генов рибосомной РНК

М. С. Клёнов, С. А. Пирогов, И. М. Плешакова,
Е. А. Фефелова, Е. А. Михалева

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Кластеры генов рибосомной РНК (рРНК) в клетках эукариот состоят из сотен тандемно повторенных копий. В пределах одного кластера может быть активна только часть копий, а транскрипция остальных – подавлена. Обычно в процесс транскрипции не включаются дефектные варианты рДНК с нарушенной нуклеотидной последовательностью. Однако механизмы, которые направляют репрессию отдельных копий рДНК, остаются неизвестными. Повторы рДНК у *Drosophila melanogaster* могут содержать инсерции ретротранспозонов R2. Эти мобильные элементы не имеют собственного промотора, и при транскрипции их последовательность входит в состав предшественника пре-рРНК, а затем может вырезаться в ходе авто-сплайсинга. Как правило, гены рДНК с инсерциями R2 демонстрируют очень низкий уровень экспрессии – на несколько порядков ниже по сравнению с неповрежденными рДНК. Система репрессии R2-содержащих копий рДНК препятствует размножению этого элемента и предотвращают образование поврежденных молекул рРНК. В этой работе мы исследовали механизмы репрессии инсертированных генов рДНК у дрозофилы. Мы обнаружили, что в репрессии некоторых дефектных генов рДНК участвует белок Piwi и взаимодействующие с ним короткие piРНК (Piwi-interacting RNA), которые могут вызывать дестабилизацию аберрантной рРНК на пост-транскрипционном уровне. В то же время, мы выяснили, что главную роль в транскрипционной репрессии R2 может играть другая система белков, связанная с инициацией транскрипции генов рРНК и образованием пространственной петли между промотором и терминатором гена рРНК.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 19-54-10009 КО_а и РФФИ 19-04-01307.

Цитоплазматический семенник-специфичный белок герминальных клеток дрозофилы концентрируется в герминальной плазме зрелого яйца

Г. Л. Коган, Е. А. Михалева, Т. А. Лейнсоо, Ю. А. Абрамов, О. М. Оленкина, В. А. Гвоздев

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

NAC (Nascent polypeptide Associated Complex), включающий две субъединицы (альфа и бета), – это консервативный, повсеместно экспрессирующийся белок, обнаруженный у всех эукариот, от дрожжей до человека. Мутации и делеции гена бетаNAC мыши, *D. melanogaster* и нематоды приводят к гибели эмбрионов на ранней стадии развития. Предполагается, что жизненно важный, повсеместно экспрессирующийся NAC эукариот является ко-шапероном, участвующим в фолдинге насцентных пептидов и в котрансляционном транспорте белков в митохондрии и лизосомы. Нами впервые был обнаружен у многоклеточных эукариот вариант белка NAC (NACtes), включающего бета-субъединицу, интенсивно экспрессирующуюся в герминальной ткани семенников (testes). Белок бетаNACtes, не выявляемый в растущих яйцевых камерах яичников взрослых мух, обнаружен в полярной плазме зрелого ооцита и полярных клетках эмбриона, в примордиальных клетках гонад у самцов и самок. Экспрессия betaNACtes резко возрастает на стадии дифференцировки сперматоцитов, где начинает осуществляться новая программа транскрипции генов, обеспечивающая процесс мейоза и последующие стадии сперматогенеза *D. melanogaster*. Белок бетаNACtes накапливается в сперматоцитах и сохраняется в полости цисты вплоть до индивидуализации сперматид. Так же, как и повсеместно экспрессируемый NAC, белок NACtes в семенниках связан с рибосомами. Обнаружение белка бетаNACtes в полярной плазме зрелого ооцита и предшественниках герминальных клеток эмбриона указывает на особую роль нового герминального белка betaNACtes в программе дифференцировки герминальных органов на ранних стадиях органогенеза. Мы предполагаем, что нами обнаружен новый компонент полярной плазмы ооцита.

Работа поддержана грантом РНФ № 19-74-20178 и частично грантом РФФИ № 18-04-00304.

Super-resolution microscopy reveals the early replication dynamics in *Drosophila* polytene chromosomes

T.D. Kolesnikova[1, 2], *G.V. Pokholkova*[1], *A.V. Kolodyazhnaya*[1, 2], *V.V. Dovgan*[1, 2], *V. Schubert*[3], *I.F. Zhimulev*[1]

[1] *Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia*
[2] *Novosibirsk State University Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia*
[3] *Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Seeland, Germany*

At the level of extended chromatin domains, replication timing is accurately reproduced in subsequent cell generations. However, at the intra-domain level the organization of replication is still unknown. *Drosophila* polytene chromosomes contain ~ 1000 carefully aligned DNA strands. Thus, they provide a unique opportunity to analyze the probabilistic nature of replication initiation occurring at the same time on the same chromosome. To analyze replication in polytene chromosomes at the ultrastructural level we applied spatial super-resolution structured illumination microscopy (3D-SIM). S phase induction allowed studying the dynamics of replication at the very beginning of S phase. We confirmed the previous model, that the spatio-temporal organization of replication is in general closely related to the two main of chromatin domain types present in polytene chromosomes: the rb-bands (the most compact bands) and the intervals in between of them (INTs, corresponding to alternating zones of loose bands and interbands). INTs correspond to early replication initiation zones. The activation of replication in these zones occurs stochastically in time and space, and each zone is characterized by its own origin activation speed. There are sites of highly effective early replication initiation, but they may correspond to several potential replication origins. Rb-bands are free of replication initiation events and the replication runs from the outer edges to the middle, while rb-band shapes may alter.

Financial support from a joint Russian–German grant: a grant from the Russian Foundation for Basic Research (No. 20-54-12016) and Deutsche Forschungsgemeinschaft Schu762/12-1.

Роль фактора сборки и ремоделирования хроматина CHD1 в глобальной организации хромосом дрозофилы

А. Ю. Конев, Я. А. Кучинская, А. А. Тютюнник, И. Л. Барановская, Ю. А. Гненная, А. В. Шалаев, Е. С. Боровых, А. В. Торощина

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

Для изучения влияния CHD1 на глобальную организацию хромосом мы изучили последствия как отсутствия, так и сверхэкспрессии белка CHD1 дикого типа, либо его доминант – негативной формы, на организацию политенных хромосомы. У мутантов *Chd*1 мы наблюдали специфическую деконденсацию и укорочение Х-хромосомы у самцов, белок CHD1 материнского происхождения локализуется исключительно в Х-хромосоме. У самцов дикого типа наблюдается специфическое обогащение CHD1 в Х-хромосоме. Дополнительные сайты локализации CHD1 полностью совпадают с сайтами локализации белков комплекса дозовой компенсации MSL, который специфически связывается с мужской Х-хромосомой. Привлечение CHD1 к Х-хромосоме самцов зависит от наличия функционального комплекса дозовой компенсации. Сверхэкспрессия CHD1 дикого типа или его доминант – негативной формы приводит к декомпактизации определенных эухроматиновых районов политенных хромосом, которые ярко окрашиваются антителами к CHD1 и к элонгирующей форме РНК-полимеразы II. Сверх-экспрессия CHD1 дикого типа, приводит также к сильной деденденсации хромоцентра и 4-й хромосомы. Деконденсированый гетерохроматин хромоцентра окрашивается антителами к CHD1, но не к РНК полимеразе II, гетерохроматиновый белок HP1 и гистон H1 не выявляются в деконденсированных участках хромоцентра. Сверхэкспрессия CHD1 повышает уровень репликации гетерохроматиновых Х-хромосомных повторов – сателлита 1.688 и Stellate, однако не влияет на недорепликацию гетерохроматиновых генов в аутосомах. Таким образом, как отсутствие, так и сверхэкспрессия CHD1 специфически влияют на глобальную организацию хромосом дрозофилы.

Работа была частично поддержана грантом РФФИ № 20-04-00864.

Механизм piРНК-опосредованной регуляции белок-кодирующих генов в поддержании межвидовой изоляции *Drosophila melanogaster*

А. А. Котов, В. Е. Адашев, С. С. Базылев, Л. В. Оленина

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

В герминальных клетках piРНК-путь – основной поддержания целостности генома. piРНК (23-33 нт) производятся с piРНК-кластеров и в комплексе с белками способны специфично подавлять экспрессию РНК-мишеней. У самцов *D. melanogaster* одним из наиболее активных кластеров является *Su(Ste)*, расположенный на Y-хромосоме. Мишенью *Su(Ste)* piРНК являются тандемные гены *Stellate* на X-хромосоме, дерепрессия которых приводит к появлению белковых агрегатов и к стерильности. Мы идентифицировали второй по представленности piРНК-кластер, который содержит множество геномных повторов (*AT-chX*), имеющий высокую гомологию с 4-м и 5-м экзонами гена *vasa*, являющегося важным фактором гаметогенеза у эукариот. Но мРНК *vasa* избегает piРНК-сайленсинга у *D. melanogaster* из-за недостаточной комплементарности. Однако мы обнаружили, что повторы *AT-chX* имеют более высокую гомологию с генами *vasa* близкородственных видов, и *AT-chX* piРНК, предположительно, могут эффективно подавлять их экспрессию. Анализ межвидовых гибридов, полученных в результате скрещивании самок *D. melanogaster* с самцами *D. mauritiana*, показал, что в случае присутствия герминальных клеток: 1) в гибридах piРНК-зависимо подавляется экспрессия аллеля *vasa,* наследуемого от самца *D. mauritiana*, но не аллеля *vasa D. melanogaster*; 2) в семенниках, имеющих полноценный герминальный клеточный состав, происходит дерепрессия генов *Stellate* из-за отсутствия *Su(Ste)* на Y-хромосоме, наследуемой от самцов *D. mauritiana.* Таким образом, мы впервые показали, что piРНК-путь участвует в поддержании репродуктивной изоляции *D. melanogaster* с близкородственными видами, вызывая стерильность межвидовых гибридов через нарушение регуляции двух различных белок-кодирующих генов (Kotov *et al*., 2019).

Работа выполнена при поддержке гранта 14.W03.31.0007 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Характеристика продолжительности жизни линий *Drosophila melanogaster* с нарушением контроля мобильных генетических элементов группы *gypsy*

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

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

Мобильные генетические элементы (МГЭ) – последовательности ДНК, способные перемещаться по геному. Транспозиция МГЭ в ген может приводить к нарушению его работы, а также оказывать влияние на экспрессию генов, попадающих под их контроль. У дрозофилы активность МГЭ контролируется системой PIWI-зависимой РНК-интерференции. Локус *flamenco* – нуклеотидная последовательность, состоящая из антисмысловых фрагментов транспозонов. Он вовлечен в Piwi-зависимый путь РНК-интерференции и участвует в контроле транспозиции эндогенного ретровируса *gypsy* и других МГЭ. Как правило, повышенная экспрессия ретроэлементов вызвана нарушением работы генов, задействованных в системе РНК-интерференции.

В работе исследовали продолжительность жизни у линий *D. melanogaster* с нарушенным контролем транспозиции ретротранспозонов группы *gypsy* - SS и MS, относительно линий - w^1, Canton-S (линия дикого типа). Линия MS ранее была получена из линии с нарушенным контролем транспозиции МГЭ (линия SS, фенотип flamenco-) путем трансформации конструкцией, содержащей транспозиционно активную копию ретротранспозона gypsy. В результате у линии MS произошла инсерция двух копий *gypsy* в ген *forked* в область 16 интрона и 18 экзона.

Нами было показано, что продолжительность жизни линии MS (*w*, *flamenco*$^-$, *f*, активная копия *gypsy*) в два раза ниже, чем у линий – SS (*w*, *flamenco*$^-$) и Canton-S для обоих полов. Анализ потомства F1 и F2 от скрещиваний линии MS с контрольными линиями показал снижение продолжительности жизни только у особей с фенотипом «опаленные щетинки» (мутация в гене *forked).* Было установлено, что вставка МГЭ в ген *forked* не приводит к нарушению транскрипции гена *forked* как до места инсерции gypsy, так и после этого сайта (в области 19-го экзона). При анализе данных высокопроизводительного секвенирования транскриптома линии MS не было обнаружено изменение экспрессии генов, расположенных вблизи гена *forked*. Гибридологическим методом была получена линия с фенотипом «опаленные щетинки» *(f,* активная копия *gypsy*) и локусом *flamenco* от линии дикого типа. Имаго данной линии имеют продолжительность жизни, как и

родительская линия MS. Снижение продолжительности жизни линии MS и ее производных связано с мутацией в гене *forked*, а не с наличием активной копии *gypsy* и/или нарушением работы локуса *flamenco*.

Транскриптомный анализ *Drosophila melanogaster*, находившихся в условиях пониженного радиационного фона. Перспективы исследований в низкофоновой лаборатории Баксанской нейтринной обсерватории Института ядерных исследований РАН

О. А. Кулдошина, М. П. Зарубин, Е. В. Кравченко

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Влияние доз радиации, превышающих нормальный радиационный фон, на живые организмы изучается радиобиологией на протяжении десятилетий. Однако влияние условий пониженного радиационного фона до сих пор остается неясным. Исследования в этой области ведутся в нескольких физических исследовательских центрах: LNGS (Италия), CNRS (Франция), WIPP (США), SNOLAB (Канада), JINR/BNO (Россия), но данные, полученные разными коллективами, не позволяют получить универсальную модель, объясняющую наблюдаемые эффекты. Наши эксперименты проводились в Баксанской глубинно-подземной лаборатории (DULB-4900, Россия), обеспечивающей эффективное экранирование от космических и наземных источников излучения. Две группы *D. melanogaster* линии Oregon прошли цикл развития от яйца до взрослой мухи в условиях пониженного и естественного радиационного фона. Затем проводили РНК-seq и сравнительный транскриптомный анализ между экспериментальными и контрольными образцами. Результаты показывают снижение экспрессии генов, вовлеченных в первичные метаболические процессы, и генов, ответственных за активность сенсорных систем и систем передачи нервных сигналов, а также повышение экспрессии генов стрессового ответа. Для дальнейшего определения степени влияния низкого радиационного фона на организмы, планируется проведение экспериментов с максимально возможным контролем всех параметров окружающей среды для контрольной и экспериментальной группы, а также изучение эндемичных организмов, проживающих в условиях БНО.

Неканоническая система гибридного дисгенеза у *Drosophila virilis*

Д. А. Куликова[1], *Е. С. Зеленцова*[2], *Л. А. Проценко*[2], *А. П. Резвых*[2], *Н. Г. Шостак*[2], *М. Б. Евгеньев*[2], *С. Ю. Фуников*[2]

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

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

Синдром гибридного дисгенеза (ГД) является удачной моделью для исследования устойчивости генома к инвазии мобильных генетических элементов (МЭ). При ГД к стерильности потомства приводит наследование асимметричных МЭ именно по отцовской линии. При материнском наследование происходит передача материнских пиРНК через цитоплазму яйца и подавление активности МЭ, из-за чего стерильность у потомков не развивается. ГД у *D. virilis* является уникальным явлением, так как у гибридов наблюдается мобилизация целого ряда независимых семейств мобильных элементов. Однако в ряде случаев устойчивость генома к инвазии МЭ абсолютно не ясна, так как наблюдается даже при полном отсутствии пиРНК к асимметричным МЭ. Недавно мы обнаружили несколько линий *D. virilis*, которые, не смотря на присутствие в их геноме ассиметричных МЭ, тем не менее обладают «нейтральным» цитотипом, т. е. стерильность у них не развивается. Проанализировав профили пиРНК данных линий, мы обнаружили, что не существует пула материнских пиРНК, полностью соответствующих ассиметричным МЭ. Кроме того, цитотип может спонтанно изменяться от «восприимчивого» до «нейтрального» даже при условии полного отсутствия в геноме ассиметричных МЭ и комплементарным к ним пиРНК. При исследовании спонтанного изменения цитотипа линий *D. virilis* нами было обнаружено, что данный феномен сопровождается изменением структуры хроматина, вызванного снижением уровня метилирования гистона H3 (H3K9me3) и связывания белка HP1a в районах локализации нескольких семейств МЭ. Данные наших исследований позволяют предположить, что устойчивость генома к инвазии МЭ может достигаться не только с помощью канонической пиРНК репрессии, но также за счет спонтанных эпигенетических изменений структуры хроматина материнского генома.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00337.

Глия в формировании нервной системы у *Drosophila melanogaster*: роль гена *sbr* (*Dm nxf1)*

Л. А. Мамон[1], *А. О. Якимова*[2], *Е. В. Голубкова*[1]

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Медицинский радиобиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия*

В зависимости от локализации и функции глию у *D. melanogaster* принято подразделять на следующие главные типы: 1) поверхностную (perineural и subperineural), которая располагается на поверхности мозга, выполняет функцию гемоэцефалического барьера; 2) кортексную, окружающую тела нейронов – тела нейронов, в основном, занимают поверхностную часть мозга и 3) глию, окружающую отростки нейронов, в том числе и аксоны в нейропилях. Последняя, наиболее гетерогенная группа, представлена клетками, выстилающими нейропиль – это оберточная (ensheathing) и астроглия. Отдельные аксоны окружены обертывающей (wrapping) глией. Оберточная глия покрывает и пучки аксонов. Существуют специализированные формы, например, ковровая глия. Этот дополнительный слой клеток входит в состав глиальных покровов оптического нерва, направляющегося из глазного диска в оптические доли мозга.

Исследуя распределение белка SBR в мозге дрозофилы методом иммуногистохимия с помощью конфокальной микроскопии, показали преимущественную локализацию исследуемых форм белка SBR в цитоплазме глиальных клеток. Выделяются клетки поверхностной глии, а также поверхностные слои оптического нерва. Мишенями SBR в цитоплазме глиальных клеток могут быть мРНК генов, контролирующих динамичные изменения цитоскелета, формирование межклеточных контактов и коммуникацию клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-04-01255 а.

Functional analysis of organism response to knockdown of *swiss cheese* gene in *Drosophila melanogaster* nervous tissue cells

P.A. Melentev, A.E. Komissarov, N.V. Surina, E.A. Ivanova, S.I. Timoshenko, E.V. Ryabova, E.G. Sharapenkov, S.V. Sarantseva

Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia

Evolutionary conserved *swiss cheese* (*sws*) gene controls phosphatidylcholine metabolism in pro- and eukaryotes. In higher *Metazoans* its normal work is necessary for survival maintenance of nervous tissue cells, both neurons and glia. Gene dysfunction in nervous tissue leads to age-dependant neurodegeneration. As a result, neuropile axons and blood brain barrier forming subperineural glia die in central nervous system of *Drosophila melanogaster*.

However, it is not clearly known which cell types are responsible for clinical pattern of *sws*-associated neurodegeneration in species. For instance, human *sws* orthologue dysfunction leads to various syndromes accompanied with different pathological manifestations: spasticity, ataxia, chorioretinal dystrophy, retinitis pigmentosa, hypogonadotropic hypogonadism. To dissect cellular mechanisms of observed neuropathology and link it with organism functioning we used *D. melanogaster* with *sws* knockdown in neurons or in blood brain barrier glia. This model was studied for organism response on RNA-interference induced *sws* downregulation in cortex, subperineural, perineural glia and all neurons. Longevity, stress response, behaviour, brain energetic metabolism and redox status were chosen as organism functional state criteria.

The reported study was funded by RFBR (project number 20-34-90148) and Volkswagen Stiftung (grant 97750).

Исследование влияния мутации в гене цитохрома *Cyp9b1* на устойчивость к борной кислоте *Drosophila melanogaster*

П. А. Миляева, Л. Н. Нефедова

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

Устойчивость отдельных особей в популяции к определенной группе ксенобиотиков является одним из факторов, влияющих на адаптацию популяции к новым условиям окружающей среды и источникам пищи. Основные группы генов, связанных с резистентностью к ксенобиотикам, – это цитохромы P450, глутатион-S-трансферазы, UPD-глюкоронозилтрансферазы, карбоксилестеразы и ABC-транспортеры.

Группа цитохромов *D. melanogaster* включает в себя более 80 генов семейства *Cyp*. Однако, участие в детоксификации такого ксенобиотика, как борная кислота, было подтверждено только для гена *Cyp9b2*. В нашей лаборатории обнаружена линия, которая несет нонсенс-мутацию в гене *Cyp9b1* (мутация в первом экзоне). Нуклеотидные последовательности генов *Cyp9b1* и *Cyp9b2* идентичны на 81 %, а аминокислотные последовательности их белковых продуктов – на 75 % (сходство 86 %). Проверка на устойчивость к борной кислоте у линии, несущей мутацию в гене *Cyp9b1*, и у линий без мутации, а также у их гибридов первого и второго поколений показала, что функция гена *Cyp9b1*, по-видимому, не связана с метаболизмом борной кислоты. При этом была выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии гена *Cyp9b2* и выживаемостью мух на среде, содержащей борную кислоту. Показано, что транскрипция гена *Cyp9b2* индуцируется борной кислотой, при этом экспрессия гена *Cyp9b1* от борной кислоты не зависит. Таким образом, структурно близкие гены *Cyp9b1* и *Cyp9b2*, появившиеся, очевидно, в результате дупликации, приобрели разную регуляцию экспрессии, и это позволяет организму адаптировать одну и ту же функцию к разным стрессовым воздействиям.

Эволюция транскрипции доместицированного гена *gag* ДКП-ретротранспозонов у дрозофилы

*Л. Н. Нефедова**, *П. А. Махновский, А. Н. Гигин, А. И. Ким*

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

* *lidia_nefedova@mail.ru*

Молекулярная доместикация одного из типов мобильных элементов – ретротранспозонов с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозонов) – играет важную эволюционную роль у многих эукариот. Однако молекулярная доместикация ДКП-ретротранспозонов у беспозвоночных изучена слабо, несмотря на то, что ДКП-ретротранспозоны широко представлены в их геномах и могут играть существенную роль в их эволюции. У *Drosophila* известны два примера доместикации генов *env* и *gag* ДКП-ретротранспозонов – это гены с неизвестной функцией *Iris* и *Gagr*. В результате наших исследований, направленных на выяснение функции гена *Gagr*, определен характер его онтогенетической и тканеспецифической экспрессии, а также выявлена локализация его белкового продукта в мембране, что указывает на приобретение доместицированным геном *gag* в ходе эволюции нового домена. В результате воздействия различными стресс-индуцирующими факторами показано, что ген *Gagr* активируется в ответ на окислительный стресс. Таким образом, продукт гена *Gagr* может быть локализованным в мембране ЭПР и задействован в ответе на ЭПР-стресс. Мы обнаружили, что в промоторе гена *Gagr* присутствует один мотив связывания с фактором JNK-каскада kayak и два мотива связывания с фактором сигнального пути Jak-STAT – Stat92E. В свою очередь, мотив для связывания STAT отсутствует у *D. ananassae* и у видов, не входящих в группу melanogaster, и только у *D. melanogaster*, *D. simulans* и *D. sechellia* (но не у *D. yakuba* и *D. erecta*) существует второй мотив связывания со Stat92E. Полученные данные указывают на формирование защитной функции гена *Gagr* в ходе эволюции.

Нарушения обучения и памяти у дрозофилы: роль БТШ70

Е. А. Никитина[1, 2], *Е. В. Токмачева*[1], *Е. В. Савватеева-Попова*[1], *О. Г. Зацепина*[3], *М. Б. Евгеньев*[3]

[1] *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

Нарушение памяти является одним из основных диагностических признаков нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), так же, как и образование белковых агрегатов. Согласно «амилоидной гипотезе», отложения β-амилоидного белка – основной фактор, запускающий процесс нейрональной дегенерации. Зачастую начало развития НДЗ происходит спонтанно, фактором запуска патологии могут служить различные стрессорные воздействия. Центральное место в защите клетки в условиях стресса занимают белки семейства БТШ70, относящиеся к молекулярным шаперонам. При дефекте их синтеза могут происходить нарушения укладки и транспорта белков, в том числе и участвующих в процессах формирования памяти. Нами была исследована способность к обучению и формированию памяти у следующих линий дрозофилы: *Canton-S* (*CS*; дикий тип) и линия с дефектом синтеза БТШ70 с использованием методики условно-рефлекторного поведения ухаживания. Принципиально новые данные получены при изучении как среднесрочной, так и долгосрочной памяти. У линии *CS* обучение и формирование памяти протекало нормально как в интактных условиях, так и при действии стресса. Однако в условиях отсутствия БТШ70 самцы дрозофилы неспособны к обучению и формированию разных видов памяти не только при действии теплового шока (ТШ), но и в норме. Полученные результаты свидетельствуют о крайней важности БТШ70 для функционирования нервной системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63).

Молекулярные механизмы формирования опухолей ранних герминальных клеток в семенниках *Drosophila melanogaster*

*Л. В. Оленина**, *А. А. Котов, О. М. Оленкина, В. Е. Адашев*

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

* *olenina_ludmila@mail.ru*

Тесное взаимодействие и обмен сигналами между соматическими и герминальными клетками семенников является консервативным свойством процесса сперматогенеза у животных. Соматические клетки цисты сопровождают герминальные клетки семенников и обеспечивают точный контроль над переключениями стадий развития, которым подвергаются герминальные клетки. DEAD-бокс содержащие РНК-хеликазы подсемейства DDX3 являются существенными регуляторами метаболизма РНК у эукариот, включая регуляцию трансляции. РНК-хеликаза Belle/DDX3 необходима для выживания, фертильности и поддержания герминальных стволовых клеток в гонадах дрозофилы. Однако прямые мишени Belle в гонадах дрозофилы неизвестны. Мы показали, что RNAi нокдаун *belle* в соматических клетках цисты вызывает нарушение адгезионных контактов между герминальными клетками и клетками цисты и формированию тумороподобных кластеров герминальных клеток. Клетки в таких кластерах экспрессируют маркеры стволовых клеток, активно пролиферируют, но не подвергаются дальнейшей дифференцировке. Чтобы выяснить молекулярные функции Belle в подавлении гиперплазии ранних герминальных клеток, мы провели CLIP-seq анализ и идентифицировали более 300 мРНК, взаимодействующих с Belle в семенниках. Среди транскриптов-мишеней Belle мы выделили когорту мРНК, нарушение трансляции которых в клетках цисты приводит к появлению тумороподобных кластеров герминальных клеток в семенниках и прекращению сперматогенеза. Мы предполагаем, что нарушение трансляции ряда идентифицированных транскриптов в клетках цисты кооперативно и неавтономно вызывает прекращение координированного процесса дифференцировки герминальных клеток в случае нокдауна *belle*. Наши данные проясняют функции РНК-хеликазы Belle/DDX3 как регулятора трансляции и онкосупрессора и позволяют существенно расширить понимание процессов, регулирующих сперматогенез.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 18-34-20124 и № 18-04-00546.

Нейрональные транскрипционные факторы в контроле продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*

Н. В. Рощина[1, 2], А. В. Симоненко[1], А. В. Кременцова[1, 3], Е. Г. Пасюкова[1]

[1] *Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия*
[2] *Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия*
[3] *Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН, Москва, Россия*

Транскрипционные факторы играют важную роль в системном контроле экспрессии генов. Хорошо известна роль транскрипционных каскадов в регуляции нейрогенеза у *D. melanogaster*. Ранее мы показали, что ряд генов (*stc*, *Lim3*, *esg* и другие), кодирующих нейрональные транскрипционные факторы, участвует в контроле продолжительности жизни. Используя данные RNA-seq, количественной обратной ПЦР и биоинформатический анализ, мы выявили гены-мишени транскрипционного фактора Stc и регуляторные каскады, в которых он участвует. Было обнаружено, что Stc взаимодействует с геном *E(bx)*, кодирующим фактор комплекса ремоделинга нуклеосом, и белком Ada2b, являющимся компонентом мультисубъединичного SAGA-комплекса, влияющего на уровень ацетилирования гистонов, и, таким образом, на структуру хроматина. Этот результат подкрепляет ранее высказанное нами предположение о возможности эпигенетического наследования свойств, вызванных изменением экспрессии *stc* на эмбриональной стадии, в ряду клеточных поколений. Оказалось также, что Stc взаимодействует с генами, кодирующими белки SERCA и THADA, которые контролируют температурный гомеостаз организма и функциональная изменчивость которых может иметь важное адаптивное значение в популяциях, а также с другими генами, контролирующими энергетический обмен. В соответствии с ожиданиями, Stc взаимодействует с генами, участвующими в нейрогенезе. В докладе наиболее интересные взаимодействия будут рассмотрены и дополнены данными об участии *stc* (Sts) в контроле развития, нейрогенеза и энергетического обмена.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-05797а и государственного бюджета по теме АААА-А19-119022590053-3.

Выявление геропротекторного потенциала плодов аронии черноплодной (*Aronia mitschurinii)*

Е. Ю. Платонова[1, 2], *М. В. Шапошников*[1], *А. А. Москалев*[1, 2]

[1] *Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия*
[2] *Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия*

Современное представление о функциональном питании предполагает использование натуральных растительных продуктов (в виде экстрактов, пищевых добавок или определенных выделенных растительных соединений) как в возможной терапии, так и в профилактике многочисленных заболеваний с целью поддержания и улучшения здоровья организма (Fontana, 2015).

Арония черноплодная (*Aronia mitschurinii*) принадлежит к семейству розовые (*Rosales*) и является ценной плодовой культурой. Основными интересующими нас компонентами плодов аронии являются полифенольные соединения, такие как проантоцианидины (конденсированные таннины из группы катехинов), антоцианы (цианидин-3-О-галактозид, цианидин-3-О-арабинозид, цианидин-3-О-ксилозид и цианидин-3-О-глюкозид), флавоноиды (кверцетин-3-рутинозид, кверцетин-3-галактозид, кверцетин-3-глюкозид) и фенольные кислоты (неохлорогеновая, хлорогеновая и кофейная) (Hudec *et al*., 2006; Borowska, 2016).

Анализ данных литературы позволил выявить, что экстракт из плодов аронии с концентрацией 2,5 мг/мл увеличивал на 18 % медианную и на 9 % максимальную продолжительность жизни самцов *Drosophila melanogaster* (Jo, 2017).

Нами был проведен анализ эффектов спиртового антоцианового экстракта плодов аронии на продолжительность жизни имаго *D. melanogaster* в зависимости от концентрации (0,01; 0,1; 1,0; 2,5; 5,0 и 10 мг/мл) и режима кормления (на протяжении всей жизни, первая-вторая неделя жизни, с четвертой по шестую неделю жизни).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и НИФ в рамках научного проекта № 19-515-51001.

Дрозофилиная модель влияния копийности рибосомных повторов на проявления различных форм детского аутизма и умственной отсталости

Л. Н. Пороховник

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

Несмотря на примитивность нервной системы, дрозофила становится популярным объектом изучения молекулярных механизмов генетических нарушений высшей нервной деятельности человека. Большинство моногенных форм аутизма (туберозный склероз, синдром ломкой Х-хромосомы, нейрофиброматоз) вызвано мутациями генов, репрессирующих белковую трансляцию. В результате у больных наблюдается гиперактивация дендритной трансляции, приводящая к неправильному функционированию синапсов. Однако по пока не ясным причинам встречаются «фруст-формы» с полностью сохраненным интеллектом. Мы предположили, что носительство малого количества копий рибосомных генов, которое приводит к низкому содержанию доступных для трансляции рибосом в клетке, должно до некоторой степени нивелировать последствия такой гиперактивации. Таким образом, гипотеза заключается в том, что фруст-формы с незатронутым интеллектом и без проявлений аутизма имеют низкую геномную дозу рибосомного повтора, вследствие чего рибосом мало, и поэтому, несмотря на аномальные сигналы, активирующие трансляцию, общая продуктивность белкового синтеза все равно будет не настолько велика, чтобы приводить к когнитивным и коммуникативным нарушениям. С целью проверки гипотезы предложено сравнение поведенческих и биохимических параметров мух с мутациями tsc1 или fmr1 (ортологи генов туберозного склероза и ломкой Х-хромосомы) с нормальной длиной кластера рибосомных генов и этих же мутантов с частично делетированным кластером (мутация bobbed, bb). Предполагается, что одновременное носительство bb и fmr1 (или bb + tsc1) должно приводить к более мягким нарушениям поведения и памяти, чем носительство чистой мутации fmr1 или tsc1. Излагаются идеи экспериментальной проверки данного предположения.

Роль генов биогенеза малых РНК в регуляции продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*

Е. Н. Прошкина[1], *Л. А. Коваль*[1, 2], *Н. В. Земская*[1], *Е. А. Юшкова*[1], *Е. В. Щеголева*[1], *И. А. Соловьев*[1, 2], *Д. В. Яковлева*[1], *Н. Р. Минниханова*[1, 2], *Н. С. Уляшева*[1, 2], *А. А. Москалев*[1–4]

[1] *Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия*
[2] *Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия*
[3] *Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*
[4] *Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия*

Малые РНК и ферменты их биогенеза участвуют в развитии организма и координации биологических процессов, включая обмен веществ, поддержание целостности генома, обеспечение иммунного и стресс-ответа. Целью данного исследования было определить роль генов биогенеза малых РНК семейств *Dicer* и *Argonaute* в регуляции продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*. Выявлено снижение активности изучаемых генов у старых особей по сравнению с молодыми. Анализ продолжительности жизни дрозофил с РНК-интерференцией и сверхэкспрессией генов *Dicer* и *Argonaute* показал эффекты, различающиеся в зависимости от гена, ткани, в которой они индуцированы, и пола дрозофил. Наиболее выраженное геропротекторное действие оказала сверхэкспрессия генов *Dcr1* и *Dcr2*, а также РНК-интерференция генов *Ago1* и *Piwi* в нервной системе дрозофил. У долгоживущих дрозофил с данными генотипами оценена устойчивость к стрессорам – γ-излучению, прооксиданту параквату, гипертермии, голоданию. Полученные данные показывают потенциал использования генов *Dicer* и *Argonaute* в качестве биомаркеров старения и мишеней для геропротекторных вмешательств.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ № МК-1229.2019.4 (для ЕП, ЛК, НЗ, ЕЩ, ИС, ДЯ) и в рамках государственного задания № АААА-А18-118011120004-5 (для ЕЮ, НМ, НУ, АМ).

Functional and morphological changes of nerve cells during *Drosophila melanogaster* the *swiss cheese* gene dysfunction

E. Ryabova, N. Surina, D. Zhmuydina, P. Melentev, S.V. Sarantseva

Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia

Mutations of the *swiss cheese* (*sws*) lead to increased neurodegeneration in the brain of *Drosophila melanogaster*, and as a result, these changes cause inhibition of flies motor activity. Its role has been shown not only in neurons, but also in some types of cells (GC) – subperineural and enveloping glia of the central nervous system of *Drosophila melanogaster*.

Sws gene is a phospholipase. Also, the SWS protein has domain that bind to and inhibit the PKA-C3 catalytic subunit of Protein kinase A.

The evolutionarily conserved protein SWS has orthologues in various organisms, also humans, NTE (Neuropathy Target Esterase). NTE mutations cause a complex syndrome in humans, which includes an autosomal recessive form of hereditary spastic paraplegia of the SPG39 type and the following syndromes: Gordon-Holmes, Boucher-Neuhäuser, Laurence-Moon, Oliver-McFarlane and others deseases.

Previous studies have shown the distribution of SWS in the nerve cells of *D. melanogaster* larvae and adults, especially in motor neurons and superficial glia. This work is aimed at studying the suppression effect of *D. melanogaster sws* gene expression by RNA interference (*UAS-RNAi-sws*) on nerve cells. The results of the work show that *sws* dysfunction leads to various functional and morphological disorders of the cells of the central and peripheral nervous system.

The reported study was funded by RFBR, project number 19-34-90151 and by Volkswagen Stiftung (grant 97750).

Структурно-функциональная изменчивость нейрональных генов в природных популяциях определяет продолжительность жизни дрозофилы

А. В. Симоненко[1], *Н. В. Рощина*[1, 2], *А. В. Кременцова*[1, 3], *Е. Г. Пасюкова*[1]

[1] *Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия*
[2] *Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия*
[3] *Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН, Москва, Россия*

Нервная система считается одной из важнейших тканей, определяющих продолжительность жизни (ПЖ) животных и человека. Мы показали, что изменение транскрипции ряда генов, кодирующих факторы транскрипции, участвующие в нейрогенезе, (*stc*, *esg* и др.) в лабораторных условиях влияет на ПЖ дрозофилы. Однако оставалось неясным, влияет ли на ПЖ мух изменчивость структуры и функции эти генов, существующая в природе.

Мы изучили полиморфизм регуляторных областей генов, кодирующих нейрональные транскрипционные факторы. 5’ регуляторная область гена *stc* (900 п. н.) у мух из 8 природных популяций (Александров, Валдай, Киев и др.) содержит 18 сайтов однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) и несколько инсерций-делеций. Нуклеотидная изменчивость растет с севера на юг, с увеличением природного разнообразия. Один сайт ОНП достоверно связан с изменчивостью продолжительности жизни ($P = 0{,}005$) и уровнем транскрипции *stc* ($P < 0{,}0001$). Он входит в мотив связывания активаторов транскрипции Pho и Phol. Другими важными регуляторными областями *stc* являются интроны и 3’ межгенное пространство. У мух популяции Raleigh в интронах *stc* обнаружено 10 ОНП; 18 ОНП приходится на 800 п. н. 3’ межгенного пространства. Районы полиморфизма соответствуют областями внеэкзонной транскрипции в эмбриональных нейронах. ОНП в третьем интроне имеет достоверную связь с изменчивостью ПЖ ($P = 0{,}008$).

В докладе также будут представлены данные о полиморфизме регуляторной области гена *esg*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-01127-а и государственного бюджета по теме АААА-А19-119022590053-3.

Влияние экспрессии генов *APP* и *BACE* на морфологию глиальных клеток *Drosophila melanogaster*

*Н. В. Сурина**, *Е. В. Рябова, Д. Р. Жмуйдина, С. В. Саранцева*

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

* *surina_nv@pnpi.nrcki.ru*

Болезнь Альцгеймера является самым распространенным нейродегенеративным заболеванием. При болезни Альцгеймера страдают: способность к обучению, память, коммуникативные навыки, развивается слабоумие. Болезнь была описана в 1907 году Алоисом Альцгеймером, который акцентировал внимание на распределении нейрофибриллярных клубков и амилоидных бляшек в головном мозге больного. Два вышеперечисленных основных признака вместе с астроглиозом, дистрофией нейронов, гибелью нервных клеток и изменениями в сосудистой сети мозга характеризуют данное заболевание.

На сегодняшний день становится очевидно, что клиническую картину невозможно объяснить с помощью классических гипотез и с точки зрения функционирования и патологии только нервных клеток, не учитывая при этом воздействие и функции глии и других клеток нервной системы. Глиальные клетки играют роль не только микроокружения нейронов, но и отвечают за многие процессы в метаболизме липидов и липопротеинов, который значительно оказывает влияние на клиренс Aβ, за формирование и поддержание синапса, могут модулировать активность нейронов, непосредственно участвуют в катаболизме Aβ и др. Таким образом, исследования, уточняющие роль глиальных клеток в патогенезе болезни Альцгеймера, остаются актуальными. Для проведения подобных работ успешно используются различные модельные организмы: *Mus Musculus*, *Danio rerio*, *Caenorhabditis elegans* и *Drosophila melanogaster*.

В работе были проанализированы три типа глиальных клеток *Drosophila melanogaster*: периневральная, субпериневральная глия и глия кортекса. Была произведена оценка морфологии клеток, количественный подсчет их ядер в контрольных линиях и в линиях с экспрессией *APP* и *BACE* человека. Также была проверена функциональная целостность гематоэнцефалического барьера относительно контроля в линии с экспрессией *APP* и *BACE* человека в клетках субпериневральной глии. Изменений в морфологии и функциях периневральной и субпериневральной глии, непосредственно образующих гематоэнцефалический барьер, не было обнаружено. Было показано, что совместная экспресиия *APP* и *BACE* человека оказывает влияние на морфологию и жизнеспособность клеток глии кортекса *Drosophila melanogaster*.

Изменение экспрессии гена *Dgp-1* подавляет снижение двигательной активности самцов дрозофилы при старении и тепловом стрессе

С. А. Федотов[1, 2], *Н. Г. Беседина*[1], *Ю. В. Брагина*[1],
Л. В. Даниленкова[1], *Е. А. Камышева*[1], *Н. Г. Камышев*[1]

[1] *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Ген *Dgp-1* является важным фактором регуляции локомоторной активности *Drosophila melanogaster*, экспрессия которого усиливается в условиях гипероксии. Ортолог *Dgp-1* у млекопитающих, ген *GTPBP1*, регулирует деградацию мРНК гена циркадного ритма *Aanat* и гена цитокина *TNF-α*. Повсеместная и нейроспецифичная сверхэкспрессия изоформы B гена *Dgp-1* вызывает устойчивое увеличение количества побежек при тестировании трехсуточных самцов при повышенной температуре, а также у стареющих мух при нормальной температуре. У P-инсерционных мутантов дрозофилы с увеличенной экспрессией изоформы B и сниженной экспрессией изоформы A гена *Dgp-1* также было выявлено усиление локомоторной активности при стрессе и старении, а кроме того существенное снижение продолжительности жизни. Оценка оксидативного стресса в гомогенизированных тканях мутантов показала сниженный уровень активных форм кислорода при действии теплового шока и содержании на среде с 2 % перекисью водорода. Наши данные демонстрируют, что сверхэкспрессия изоформы B гена *Dgp-1* препятствует нейрональной регуляции локомоторной активности в условиях усиления оксидативного стресса при высокой температуре и при старении. Кроме того, сверхэкспрессия изоформы B, по-видимому, запускает процесс адаптации механизмов защиты против стресса, что проявляется в увеличении продолжительности жизни у *Dgp-1* мутантов в ряду поколений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63) и программы кадровой поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых СПбГУ (грант постдока, научная лаборатория биологии амилоидов, проект «Трансляционная биомедицина в СПбГУ»).

Инсуляторные белки способствуют адаптации генных локусов к гетерохроматину в ходе эволюции дрозофил

С. Ю. Фуников[1], *А. П. Резвых*[1], *Д. А. Куликова*[2], *Л. А. Проценко*[1], *Е. С. Зеленцова*[1], *М. Б. Евгеньев*[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*
[2] *Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Прицентромерный гетерохроматин у Дрозофил в основном образован повторяющимися последовательностями ДНК, такими как мобильные элементы и сателлитная ДНК, и чаще всего рассматривается как транскрипционно неактивная область генома. Однако в ходе эволюции Дрозофил десятки белок-кодирующих генов были встроены в область прицентромерного хроматина и сохранили свою активность. Тем не менее невосприимчивость транскрибирующихся генных локусов к влиянию гетерохроматиного окружения во многом непонятна и порой парадоксальна. В своей работе мы провели анализ молекулярной эволюции генов, перемещенных между эухроматином и прицентромерным гетерохроматином в ходе эволюции Дрозофил. Проведенный сравнительный анализ выявил, что промоторная область данных генов обладает консервативной структурой у всех изученных видов и содержит мотивы для связывания факторов ремоделирования хроматина, таких как инсуляторный белок BEAF-32. Используя метод иммуннопреципитации хроматина мы показали, что перемещение генов между эухроматином и прицентромерным гетерохроматином в ходе эволюции происходило с сохранением участков связывания BEAF-32 вблизи промоторов генов даже у эволюционно далеких видов, таких как *D. melanogaster* и *D. virilis*. Кроме того, мы обнаружили, что промоторы всех белок-кодирующих генов в прицентромерном гетерохроматине *D. melanogaster* обогащены инсуляторными белками BEAF-32, GAF и dCTCF. Таким образом, сохранение инсуляторных сайтов вблизи промоторных областей может облегчать адаптацию генов к гетерохроматину и, следовательно, содействовать перемещению генов между эухроматином и гетерохроматином в ходе эволюции.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00337.

Генетический и молекулярный анализы мутации *vestigial-strap*^{Gla} (*vg*^{sGla}) *Drosophila melanogaster*

Н. Е. Харченко, К. П. Афанасьева, И. Д. Александров

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

В процессе генетического анализа радиационно-индуцированных мутаций гена *vestigial D. melanogaster* с использованием балансерной линии *Gla* с инверсиями в аутосоме 2 и доминантной мутацией *Gla* радиационного происхождения, нами обнаружена рецессивная мутация с фенотипом *vg*^{s} у гетерозиготы *Gla/Df(2)vg88c28* (делеция всего гена *vg*), названная нами *vg*^{sGla}. Для локализации этой новой мутации на карте гена был использован набор частичных делеций гена, перекрывающих в том числе и его большие интроны 2 и 4. Согласно полученным результатам, фенотип *vg*^{sGla} наблюдался у гетерозигот по делециям начала и конца интрона 4 гена. Для более точной локализации и выяснения природы мутационного изменения у новой мутации *vg*^{sGla} было проведено секвенирование всего интрона 4 гена. Сопоставление полученных результатов секвенирования с последовательностями оснований ДНК этого интрона гена у двух контрольных диких лабораторных линий (Oregon и D32) показало наличие у *vg*^{sGla} кластера из 7 замен оснований на отрезке ДНК из 337 пар нуклеотид (п.н.) в 5'-конце интрона 4. Одновременно установлены 7 однонуклеотидных полиморфных сайтов в самом начале и в конце интрона 4, которые уникальны для *vg*^{sGla}. Последовательности оснований ДНК в экзонах мутанта *vg*^{sGla} идентичны таковым в экзонах двух контрольных линий. Обсуждается функциональное значение установленного в интроне 4 мутанта *vg*^{sGla} кластера полиморфных сайтов и других замен оснований в свете ранее полученных нами данных о важной функциональной роли другого крупного интрона 2 этого гена.

Роль белка Non3 (Novel Nucleolar protein 3) в формировании прицентромерного гетерохроматина *Drosophila melanogaster*

А. А. Юшкова[1, 2], *Е. Н. Андреева*[2], *А. А. Огиенко*[2], *Е. С. Омелина*[2], *Ю. В. Попова*[2], *А. В. Пиндюрин*[2]

[1] *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[2] *Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

В настоящее время активно изучаются белки, одна и та же изоформа которых выполняет одновременно несколько различных функций в клетке. Такие белки называют moonlighting-белками. Ранее было показало, что белок Non3 (Novel Nucleolar protein 3), участвующий в биогенезе рибосом [1], влияет на процесс формирования веретена деления в культивируемых клетках *Drosophila* S2 [2]. Один из возможных механизмов нарушения сборки веретена деления непосредственно может быть связан с дефектами формирования прицентромерного гетерохроматина [3].

Предположительные данные о нарушении структуры прицентромерного гетерохроматина у мутантов по гену *Non3* были получены нами при изучении эффекта положения мозаичного типа на модели $In(1)^{wm4h}$. Мутации по гену *Non3* подавляют инактивацию гена *white* в системе $In(1)^{wm4h}$, а также повышают частоту мейотической рекомбинации в прицентромерном гетерохроматине. Более детальный анализ показал, что у мутантов по гену *Non3* в прицентромерном гетерохроматине политенных хромосом снижается количество белка HP1, вследствие уменьшения уровня ди- и триметилирования гистона H3K9. Используя индуцируемую систему DamID для картирования сайтов взаимодействия белков хроматина с геномом, мы изучили как изменяется профиль связывания HP1 на фоне снижения белка Non3 в глиальных клетках мозговых ганглиев *Drosophila*.

В результате нашей работы мы продвинулись в понимании механизмов, связанных с дополнительными функциями белка Non3 в прицентромерном гетерохроматине ***Drosophila melanogaster***.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 18-34-00699.

1. *Andreyeva E. et al. Non3 is an essential drosophila gene required for proper nucleolus assembly. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii, Vol. 23. 190–198 p. (2019).*

2. *Moutinho-Pereira S. et al. Genes involved in centrosome-independent mitotic spindle assembly in Drosophila S2 cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110(49): 19808-19813 (2013).*

3. *Vernì F, Cenci G. The Drosophila histone variant H2A.V works in concert with HP1 to promote kinetochore-driven microtubule formation. Cell Cycle. 14(4):577–588 (2015)*

Влияние метаболитов цикла Кребса на продолжительность жизни и показатели жизнеспособности *Drosophila melanogaster*

Д. В. Яковлева[1*], *Д. А. Голубев*[1, 2], *Л. А. Коваль*[1, 2], *А. А. Москалев*[1, 2]

[1] *Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия*
[2] *Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия*

[*] *dashka-konst@yandex.ru*

Старение представляет собой совокупность взаимосвязанных процессов, происходящих на различных уровнях организации и приводящих к постепенному ослаблению функций организма и его гибели. Одним из способов решения проблемы старения является поиск веществ, подавляющих эти процессы. Цикл Кребса играет центральную роль в метаболизме любого организма. Основные этапы биохимии данного процесса универсальны от бактерий и дрозофилы до человека. Метаболиты цикла Кребса влияют на синтез нуклеиновых кислот, аминокислот, а также являются источником энергии для клетки. Универсальность данного биохимического процесса и низкая токсичность изучаемых соединений, позволяет рассматривать эти метаболиты с точки зрения их потенциальных геропротекторных свойств.

Для этого изучили влияние основных метаболитов цикла Кребса (α-кетоглутаровая, янтарная, фумаровая, яблочная, лимонная кислоты) на продолжительность жизни и показатели жизнеспособности (возрастная динамика стрессоустойчивости, локомоторной активности и проницаемости кишечного барьера) у *Drosophila melanogaster*. Результаты будут обсуждены в докладе.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-75-00043 «Исследование геропротекторных свойств метаболитов цикла Кребса на модели *Drosophila melanogaster*».

ПОСТЕРНАЯ СЕКЦИЯ

POSTER SECTION

П1

Функции РНК-хеликазы Vasa в регуляции гаметогенеза *Drosophila melanogaster*

В. Е. Адашев, А. А. Котов, С. С. Базылев, О. М. Оленкина, А. С. Шацких, Л. В. Оленина

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Гаметогенез является одним из наиболее строго контролируемых процессов у многоклеточных организмов. DEAD-box содержащая РНК-хеликаза Vasa (DDX4) является консервативным герминальным маркёром от нематод до человека. При нарушении экспрессии *vasa* у большинства модельных организмов наблюдается ухудшение репродуктивных возможностей вплоть до бесплодия. Основными функциями Vasa у *Drosophila* являются ремоделирование РНП-комплексов и piРНК-опосредованный сайленсинг. Она необходима для формирования и развития гонад, а также для поддержания в них герминальных клеток, однако точные молекулярные функции Vasa остаются невыясненными. Для изучения влияния Vasa на гаметогенез нами были получены мухи, несущие различные гетероаллельные комбинации мутаций в гене *vasa*. По нашим данным на фоне этих мутаций у самцов происходит быстрое истощение популяции герминальных стволовых клеток вплоть до их полной потери, что указывает на существенные функции Vasa в поддержании этих клеток. С помощью создания и секвенирования RIP-seq библиотек из семенников и яичников мы показали, что основным транскриптом-мишенью Vasa является *rhino*, кодирующий фактор, регулирующий транскрипцию предшественников piРНК. Среди мишеней Vasa, общих для самцов и самок *Drosophila*, мы также обнаружили транскрипт *aubergine*, трансляция которого нарушается на фоне мутаций *vasa*. Aubergine является одним из ключевых факторов piРНК-сайленсинга. Трансляционная регуляция Vasa мРНК *rhino* и *aubergine* указывает на ее дополнительные функции в piРНК-сайленсинге, необходимом в герминальных клетках для подавления активности мобильных элементов и некоторых белок-кодирующих генов.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-04-00562 А.

П2

Оценка генетической активности ацетилсалициловой кислоты в SMART-тесте на примере *Drosophila melanogaster*

О. Н. Антосюк, А. В. Горская

Уральский федеральный университет им. первого президента России Б. Н. Ельцина, Институт естественных наук и математики, кафедра биоразнообразия и биоэкологии, Екатеринбург, Россия

Для оценки генетической активности аспирина были изучены щетинки торакса и головы у 302 самок *Drosophila melanogaster*, полученных при скрещивании самок линии yellow и самцов линии white singed. Мухи выводились на питательном субстрате, содержащем препарат в концентрации 400 мкг/кг среды.

В контрольной группе также использовались самки первого поколения от скрещивания ♀yellow и ♂ white singed. Всего в контрольной группе было изучено 249 самок, из которых у одной было обнаружено мутантное пятно sn^3 (0,4 ± 0,06 %).

Добавление аспирина в субстрат, на котором развивались личинки *D. melanogaster*, привело к появлению мутантных признаков у 4 из 302 изученных самок дрозофилы, что составило 1,32 ± 0,02 % от общего числа самок, выращенных в опытной группе и в 3,3 раза превысило соответствующее значение, полученное для контрольной группы.

Все мутантные особи обладали рецессивным мутантным признаком sn^3, проявившимся в виде малого одиночного пятна. Особей с двойными мутантными пятнами «ysn^3», а также особей с пятнами «y» выявлено не было. Значение χ^2 в опытной группе по сравнению с контролем составило 1,293.

Полученные в опыте значения χ^2 по сравнению с контролем меньше критического значения для 5 % уровня значимости (3,84). Это говорит о том, что зависимость частоты появления мутантных пятен от присутствия в субстрате аспирина в концентрации 400 мкг/кг среды статистически не значима.

Таким образом, в результаты SMART-теста не была выявлена генетическая активность ацетилсалициловой кислоты в концентрации 400 мкг/кг среды.

Тот факт, что среди всех рассмотренных дрозофил, присутствовали только особи с одиночными мутантными пятнами «sn^3» указывает на то, что аспирин специфично повреждал хромосомы в прицентромерном районе. Отсутствие особей *D. melanogaster* с мутантными пятнами «y» позволяет

сделать предположение, что удаленный участок хромосомы не подвергался активному воздействию препарата. Присутствие только малых одиночных мутантных пятен говорит о том, что ферментативные системы личинок *D. melanogaster*, участвующие в метаболизме таких химических соединений, как ацетилсалициловая кислота, формируются в более поздние сроки.

Также, по результатам теста на способность быть индуктором доминантных летальных мутаций можно говорить о том, что ацетилсалициловая индуцирует меньшее количество доминантных летальных мутаций (37 %) по сравнению с числом таких мутаций, спонтанно возникших у дрозофил из контрольной группы (69,55 %).

П3

Поиск и идентификация белок-кодирующих генов, являющихся мишенями piРНК-сайленсинга в гонадах *Drosophila melanogaster*

С. С. Базылев, В. Е. Адашев, А. А. Котов, О. М. Оленкина, А. С. Шацких, Л. В. Оленина

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

piРНК система играет важную роль в процессах развития и регуляции экспрессии генов *Drosophila melanogaster*. piРНК опосредованное подавление белок-кодирующего гена *nos* в соматических клетках развивающегося эмбриона необходимо для формирование паттерна развития. В гонадах взрослых мух активность piРНК направлена на подавление мобильных элементов, однако также известно, что в семенниках *D. melanogaster* их активность также направлена на подавление белок-кодирующих генов *Stellate*. Тем не менее примеров белок-кодирующих генов-мишеней piРНК пути у *Drosophila* на данный момент известно немного. Нами были получены и проанализированы библиотеки коротких РНК, а также РНК-seq библиотеки из семенников линий *Drosophila* мутантных по компонентам piРНК-пути: *aub*, *spn-E*, *piwi* и *zuc*. В результате анализа были найдены гены, транскрипты которых у мутантных самцов обогащались по данным РНК-seq библиотек и для которых уменьшалось число картируемых piРНК на фоне мутаций. Функции большинства из найденных генов на данный момент неизвестны. Интересно то, что ген *CG12717*, кодирующий SUMO-изопептидазу, значительно дерепрессировался одновременно на фоне трех мутаций: *aub*, *spn-E*, *zuc*. Дальнейший анализ показал наличие piРНК-кластеров к *CG12717* локализованных на Y-хромосоме, а с помощью ОТ-кПЦР анализа показано, что экспрессия *CG12717* возрастает на фоне мутаций в семенниках *Drosophila* и не изменяется в яичниках. Наши исследования направлены на выяснение функционального значения семенник-специфического подавления экспрессии *CG12717* и других найденных генов piРНК-системой.

П4

Исследование роли акустического дуэта в брачном ритуале северной и южной рас *Drosophila littoralis*

Е. Г. Белкина, О. Е. Лазебный

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

Брачное поведение *Drosophila* представляет собой обмен сигналами различной модальности между потенциальными половыми партнерами, а также является фактором, предотвращающим гибридизацию между близкородственными видами. Одним из ключевых видоспецифических сенсорных каналов, позволяющих распознать конспецифичного партнера, является акустический канал. У видов-близнецов *Drosophila* группы *virilis* брачную песню генерирует не только самец, но и самка, что приводит к организации сложного акустического дуэта. Для определения роли акустической модальности в ритуале ухаживания была произведена блокада акустического канала путем билатерального удаления крыльев или арист у имаго обоих полов вида-близнеца *D. littoralis* (субфилада *montana*). Имеющиеся данные об изменчивости аллозимов, хромосомных перестройках, отсутствии перекрывания ареалов обитания и зон вторичного контакта позволяют рассматривать географические расы *D. littoralis* как подвиды. Проведенное ранее сравнение интактных особей северной и южной рас *D. littoralis* в гетероспецифических тестах не выявило прекопуляционных барьеров. Блокировка акустического канала привела к сходным изменениям структуры брачного ритуала у обеих рас. Так, интактные самцы обеих рас, ухаживая за бескрылыми самками, позже переходили к лизанию, а также меньше лизали и пели по сравнению с контролем. Кроме того, в тестах с бескрылыми самцами и бескрылыми самками как у северной, так и у южной расы наблюдалось увеличение общей длительности ухаживания. Удаление крыльев у самок оказалось одинаково критичным для числа копуляций у обеих рас, тогда как удаление арист у самок привело к снижению этого параметра в большей степени у южной расы *D. littoralis*. Исследование параметров брачной песни может пролить свет на процессы аллопатрического видообразования этих популяций.

П5

Роль сенсорных систем в особенностях поведения самцов дрозофилы после социальных взаимодействий

Н. Г. Беседина[1], *Л. В. Даниленкова*[1], *Е. А. Камышева*[1], *С. А. Федотов*[1, 2], *Н. Г. Камышев*[1], *Ю. В. Брагина*[1]

[1] *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Ранее нами было показано, что взаимодействие самцов дрозофилы в группе приводит к снижению двигательной активности и снижению интенсивности ухаживания за самкой. Подавление локомоторной активности после содержания в группе в течение трех суток сохраняется в течение 5 суток. У самок такой эффект предшествующего социального опыта отсутствует. Снижение интенсивности ухаживания сохраняется в течение 5 часов. Показано, что после содержания в группе самцы начинают активно избегать самок. Следующим этапом работы было установление роли разных сенсорных систем в изменениях поведения самцов после социальных взаимодействий (содержания самцов в группе). Дефект зрения не оказывал влияния на снижение двигательной активности и интенсивности ухаживания после содержания самцов в группе. Показано, что обоняние является ведущей сенсорной модальностью, отвечающей за снижение двигательной активности после содержания в группе. Нарушение обоняния не влияет на снижение активности ухаживания после содержания в группе. Нарушение тактильной чувствительности не влияло на эффект содержания в группе в отношении интенсивности ухаживания.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63). Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

П6

Нейропротекторная эффективность фуллеренолов в модели болезни Хантингтона на *Drosophila melanogaster*

О. И. Большакова, А. Д. Слободина, И. М. Голомидов, А. В. Комиссаров, Н. В. Сурина, С. В. Саранцева

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

Болезнь Хантингтона – аутосомно-доминантное нейродегенеративное расстройство, вызванное мутацией в гене, кодирующем большой высококонсервативный белок Хантингтин (ХТТ). Экспрессия мутантного белка индуцирует сложные патогенные механизмы и приводит к его агрегации, дисфункции митохондрий, увеличению уровня активных форм кислорода, воспалительным процессам и гибели нейронов. Соответственно стратегии лечения этого нейродегенеративного расстройства должны сочетать в себе одновременно несколько направлений. Фуллерены и их производные представляют с этой точки зрения большой интерес, так как обладают рядом свойств, которые могут иметь нейропротекторный эффект: они способны препятствовать агрегации амилоидных белков, а также являются мощными антиоксидантами. Целью данной работы был анализ нейропротекторной активности фуллеренолов $C_{60}(OH)_{30}$ и $C_{120}(OH)_n$, синтезированных в НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ и обладающих низкой токсичностью, на модели БХ на *Drosophila melanogaster*. Были исследованы 2 линии *Drosophila:* с экспрессией ХТТ человека с нормальным (16) и увеличенным (128) числом глутаминовых повторов. Проанализированы продолжительность жизни, уровень окислительного стресса, поведенческие реакции (отрицательный геотаксис, обучаемость и память), а также уровень нерастворимых форм ХТТ. Показано, что гидратированные молекулы фуллерена C_{60} и высшего фуллерена C_{120} обладают нейропротекторной активностью.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-99647 А.

П7

Исследование новой мутации по гену *Chd1* дрозофилы, полученной с помощью технологии CRISPR/Cas9

Е. С. Боровых, Я. А. Кучинская, А. Ю. Конев

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

Важным направлением современной молекулярной биологии является изучение эпигенетической регуляции, которая во многом основана на преобразованиях структуры хроматина. Существенную роль в этих процессах играют АТФ-зависимые хроматин-ремоделирующие факторы, функции которых связаны с перемещением или удалением нуклеусом, а также введением в хроматин вариантных форм гистонов. Эволюционно консервативный фактор сборки и ремоделирования хроматина CHD1 связывается с регионами активной транскрипции, а также участвует во встраивании неканонического гистона H3.3.

Данная работа посвящена характеристике новой мутации *Chd1[CR00688-TG4.0],* которая вызвана инсерцией последовательности Trojan-GAL4 в первый интрон кодирующей части гена Chd1 и получена с помощью технологии CRISPR/Cas9. Предполагается, что данная инсерция должна вызывать терминацию трансляции всех продуктов гена *Chd1* и экспрессию GAL4 под контролем его регуляторных последовательностей. Нами изучено влияние новой мутации на жизнеспособность и фертильность особей. Результаты окрашивания политенных хромосом мутанта *Chd1[CR00688-TG4.0]* антителами к CHD1 и к ацетилтрансферазе MOF выявили специфическую деформацию Х-хромосомы у самцов и рекрутирование белка CHD1 материнского происхождения к этой хромосоме. Такая картина совпадает с описанной нами ранее для нуль-мутантов по гену *Chd1*. Полученные данные подтверждают, что *Chd1[CR00688-TG4.0]* является новой нуль-мутацией по гену *Chd1*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00864А.

П8

Наследование частоты хромосомных аббераций у реципрокных гибридов *Drosophila melanogaster* в нормальных условиях и при стрессе

С. А. Васильева[1], *Е. А. Никитина*[1, 2], *А. В. Медведева*[1], *Е. В. Савватеева-Попова*[1]

[1] *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Актуальной проблемой современной медицины является изучение этиологии и патогенеза нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). Наличие двухцепочечных (ДЦ) разрывов ДНК, возникающих при матричных процессах и физиологической активности нейронов, вовлеченных в формирование памяти и обучения, является источником геномной нестабильности. Реализация сценария норма – патология находится под эпигенетическим контролем, в частности, зависит от родительского эффекта происхождения геномов и стресса. Одним из таких стрессорных факторов может являться слабое статическое магнитное поле низкой интенсивности (ССМП), которое способно оказывать заметное воздействие на живые организмы. Дрозофила – модель, позволяющая изучать механизмы функциональных нарушений, лежащих в основе этих заболеваний. Материалом исследования служили следующие линии *Drosophila melanogaster*: *Canton-S* – линия дикого типа, agn^{ts3} – линия, несущая температурочувствительную (ts) мутацию по гену *limk1* и реципрокные гибриды: *Canton-S* × agn^{ts3}; agn^{ts3} × *Canton-S*. В настоящей работе на мутантной линии agn^{ts3} дрозофилы (модели синдрома Уильямса) с использованием реципрокных гибридов с линией дикого типа *Canton-S* был изучен вклад материнского и отцовского геномов в формирование перестроек хромосом, обусловленных ДЦ-разрывами и нарушениями митотического аппарата в норме и при стрессовом воздействии ССМП. Установлено патроклинное наследование: частоты хромосомных перестроек и ДЦ-разрывов, а также хроматидных мостов в анафазных нейробластах при стрессе в случае отцовской линии agn^{ts3}. В потомстве самок agn^{ts3} по материнскому типу наследуются нарушения митоза.

Работа поддержана грантом РФФИ (№20-015-00300 А).

П9

Effects of P-element induced hybrid dysgenesis on X-chromosome recombination and cubitus interruptus Dominant trait expressivity in *Drosophila melanogaster*

N. Volkova, A. Vdovytsia

V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

We have studied the frequency of recombination in X-chromosome (between loci *y*, w^a and *f* and y^2, *v* and *f*, as well as inside *white* locus: alleles w^1 and w^a) and cubitus interruptus Dominant trait expressivity in *Drosophila melanogaster* under the induction of P-M hybrid dysgenesis. Standart methods were used for the research. *Harwich* stock was used as a stock with P-cytotype.

The change in the frequency of recombination (elevation) at y-w^a-f and y^2-v-f sites in chromosome X under the induction of hybrid dysgenesis syndrome (compared with control crosses) was experimentally prooved. It was shown that the recombinant offspring is also characterized by increased frequency of gonads atrophy.

Analysis of recombination within the *white* locus revealed that the induction of hybrid dysgenesis syndrome is accompanied by emergence of recombinant individuals in the progeny that were absent in control crosses.

It was also shown that hybrids of dysgenic crosses are characterized by a decrease in the expressivity of cubitus interruptus Dominant trait. However, among the offspring of dysgenic cross, individuals, which are characterized by both vein L4 disrupted and gonadal reduction, accounted for less than 10%.

The research was supported by Ministry of Education and Science of Ukraine: special funding for maintenance, preservation and development of Collection of Drosophila Stocks of Genetics and Cytology Department of V.N. Karazin Kharkiv National University – a scientific object that is a National Heritage of Ukraine.

П10

Влияние 3’НТО гена *orb2*, кодирующего трансляционный фактор семейства CPEB, на сперматогенез дрозофилы

Р. А. Гильмутдинов[1], *Е. Н. Козлов*[1], *Л. В. Оленина*[2], *А. А. Котов*[2], *М. В. Жукова*[1], *П. Шедл*[4], *Ю. В. Шидловский*[1, 3]

[1] *Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*
[2] *Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия*
[3] *Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия*
[4] *Принстонский университет, Принстон, США*

Белки консервативного семейства CPEB (cytoplasmic polyadenylation element-binding) представляют собой группу факторов, регулирующих трансляцию большого числа генов-мишеней в различных биологических процессах. Они обладают РНК-связывающим доменом, взаимодействующим с элементами CPE (cytoplasmic polyadenylation element), которые локализуются в 3’НТО (3’ нетранслируемой области). Один из таких белков дрозофилы, Orb2, выполняет ключевые функции в сперматогенезе.

Показано, что Orb2 способен связывать свою собственную мРНК посредством CPE, локализованных в 3’НТО. Используя систему CRISPR/Cas9, мы получили аллель *orb2*^{R}, лишенный большей части 3’НТО. Эта мутация существенно снизила фертильность самцов. Уровень мРНК и белка Orb2 в мутантной линии мух упал примерно в 2 раза. Кроме того, и мРНК, и белок утратили свой специфический паттерн локализации в семенниках на этапе сперматидных цист. Мы обнаружили, что именно нарушение локализации мРНК и белка Orb2 вызывает бесплодие у самцов. У других транскриптов и белков, взаимодействующих с Orb2 и участвующих в сперматогенезе, Orb и Boule, также была нарушена локализация в сперматидах у мутантов. Делеция 3’НТО *orb2* не повлияла на ранние стадии сперматогенеза и мейоз, но оказала существенное влияние на поздние этапы сперматогенеза. Мутация привела к нарушению кластеризации ядер на этапе удлинения сперматид, неправильной сборке комплекса индивидуализации у поздних сперматид и, как следствие, лишь частичному заполнению семенных мешков зрелыми сперматозоидами. Мы предполагаем, что мотивы CPE в 3’НТО *orb2* необходимы для правильной локализации мРНК и белка в сперматидах, что имеет решающее значение для последующих процессов сперматогенеза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ № 18-74-10051.

П11

Нарушение метаболизма триптофана модифицирует адаптацию к действию крайне высокочастотного облучения у *Drosophila melanogaster*

О. В. Горенская, Ю. Г. Шкорбатов

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

Внедрение новых платформ спутниковых коммуникаций сопровождается усилением электромагнитного поля Земли, окружающего все живые организмы. Такие электромагнитные поля антропогенного происхождения являются новым, не достаточно изученным фактором окружающей среды, влияющим на общую экологическую ситуацию. На сегодня накоплено большое количество экспериментального материала, показывающее эффекты действия ЭМ излучения в экспериментах на дрозофиле. Целью нашей работы был анализ проявлений адаптивно важных признаков у линий дрозофилы с нарушенным метаболизмом триптофана при действии крайне высокочастотного ЭМ излучения (ЭМИ КВЧ) на виргинных имаго. Параметры внешнего воздействия – мощность $W = 10$ мкВт/см^2, частота $F = 65$ ГГц, экспозиция $t = 5$ минут.

Установлено, что суммарная частота доминантных летальных мутаций при действии ЭМИ КВЧ снижается в 2,5 раза у мутантных линий. Это обусловлено снижением количество погибших эмбрионов в возрасте 0–17 часов приблизительно на 54 %. Действие ЭМИ КВЧ снижает медианную продолжительность жизни имаго дрозофилы. При этом не показан половой диморфизм в ответ на внешнее воздействие – как у самок, так и у самцов показатель снизился в среднем на 18 %. Показатели плодовитости и жизнеспособности изменяются разнонаправленно, в зависимости от направлений реципрокных скрещиваний облученных родителей. Полученные в работе результаты обсуждаются в связи с механизмами действия облучения крайне высокой частоты на имаго дрозофилы с нарушенным метаболизмом триптофана.

П12

Метод получения клеток и ядер имагинальных дисков дрозофилы для исследований методом проточной цитометрии

А. А. Груничева[*], *А. Ю. Конев*

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

[*] *corneliya@mail.ru*

Одна из важнейших функций гистонов – это регуляция экспрессии генов. Ранее нами на *Drosophila melanogaster* был разработан метод генетического анализа процесса обмена гистонов, основанный на экспрессии слитого с GFP укороченного гистона H3.3 в крыловом имагинальном диске, приводящей к появлению видимого фенотипа – изменениям жилкования и формы крыла. Однако интерпретации генетических результатов нуждаются в подтверждении с помощью прямого анализа включения гистонов в состав хроматина. Для такого анализа мы выбрали метод проточной цитометрии, который при своей точности и эффективности, достаточно требователен к исследуемым образцам. Метод редко применяется на дрозофиле из-за трудоемкости получения и обработки тканей. В связи с этим, была поставлена цель: разработать универсальную методику выделения клеток и ядер имагинальных дисков дрозофилы для анализа методом проточной цитометрии.

Мы скомбинировали известные методы и приемы пробоподготовки и разработали простую в воспроизведении и доступную методику, которая может применяться для исследования различных белков и составляющих клетки. Это достигается тем, что не применяются реагенты, взаимодействующие с изучаемыми белками и флуорофорами. Данная методика позволяет максимально сохранить жизнеспособность клеток и интактность ядер к моменту цитометрического анализа. Основным ее преимуществом, которого нет ни у одной из существующих методик, мы считаем возможность последовательного получения клеток и ядер, что позволяет анализировать как клетки, так и ядра из одной популяции, исследуя образец после соответствующей стадии обработки.

П13

Генетические основы результатов социальных взаимодействий у дрозофилы

Л. В. Даниленкова[1], *Н. Г. Беседина*[1], *Е. А. Камышева*[1], *С. А. Федотов*[1, 2], *Н. Г. Камышев*[1], *Ю. В. Брагина*[1]

[1] *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Изучение нейрогенетических основ социального поведения является актуальной проблемой современной нейробиологии. В исследованиях на дрозофиле нами было установлено, что содержание самцов в однополых группах приводит к последующему длительному подавлению двигательной активности. Такое подавление активности имеет важное адаптивное значение, т.к. в естественных условиях мухи большую часть жизни проводят в частых близких контактах с другими особями на источниках пищи. Среди коллекции из 100 линий с ранее локализованными инсерциями P-элемента было выявлено 4 линии, у которых отсутствовал эффект содержания мух в группе. Таким образом, были выделены гены DEK, CG4630, Hel89B и Tasp1. Продукт гена Tasp1 участвует в иммунном ответе на бактериальную инфекцию и в процессинге белков. Ген CG4630 кодирует белок, участвующий в трансмембранном транспорте. Белок DEK связан с гистонами, а белок Hel89B участвует в стабилизации хроматина. Молекулярно-генетические механизмы и последствия социальных взаимодействий пока плохо изучены, однако на основании наших результатов можно предполагать весомый вклад эпигенетических факторов. Следует отметить, что для всех выявленных генов дрозофилы есть ортологи у человека. Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 63). Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.

П14

Влияние сульфата кобальта на эмбриональную смертность дрозофилы

К. А. Дегтярева, И. В. Батлуцкая

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

В связи с накоплением различных тяжелых металлов в окружающей среде и возможным прямым или опосредованным попаданием их в живые организмы, актуальным вопросом является изучение эффектов, которые на них могут оказывать тяжелые металлы в повышенных дозах. В ходе экспериментов нами было изучено влияние сульфата кобальта ($CoSO_4$) на лабораторные линии дикого типа дрозофилы. Одним из наиболее часто проявляющихся эффектов, было индуцирование гибели эмбрионов на ранних и поздних стадиях эмбрионального развития мух.

Предварительно были выявлены летальные и сублетальные концентрации $CoSO_4$, затем проанализирована зависимость между концентрациями соли тяжелого металла, не превышающими летальную концентрацию и частотой ранней и поздней эмбриональной смертности в хронических и острых опытах. Показано, что повышение концентрации сульфата кобальта в пищевой среде достоверно повышает частоту гибели эмбрионов как на ранних, так и на более поздних сроках развития.

Также нами была изучена жизнеспособность дрозофилы на последующих стадиях онтогенеза и проведен анализ некоторых морфометрических показателей крыльев имаго, сохранивших жизнеспособность на исследуемых концентрациях $CoSO_4$.

П15

Генетический анализ признаков приспособленности и поведения имаго *Drosophila melanogaster* при введении экзогенного триптофана

Ю. А. Емелина[1], *В. В. Костенко*[1, 2], *Н. Б. Баранова*[2], *Е. С. Медведева*[2]

[1] *Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия*

[2] *Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия*

Цель данной работы состоит в исследовании роли триптофановой диеты родителей на жизнеспособность и поведение потомков с мутациями в генах *white (w), brown (bw)* и *scarlet (st)* в ряду последовательных поколений на модели *Drosophila melanogaster*. Ранее нами было показано, что добавление в питательную среду L-триптофана на стадии личиночного развития в концентрации 18 mM модулирует плодовитость, жизнеспособность и локомоцию мутантов *w*. Ген *w* представляет особый интерес, так как он кодирует трансмембранный ABC-транспортер и участвует в переносе триптофана и гуанина, при взаимодействии с генами *st* и *bw*, необходимых в биосинтезе пигментов. При этом фенотипическая экспрессия пигментации глаз зависит от функциональной активности гена *w* при нормальности и постоянстве второго компонента. Показано, что развитие дрозофил в течение двух поколений на среде, обогащенной L-триптофаном, приводит к увеличению параметров общей жизнеспособности и локомоции у имаго с генотипами *w, st* и *C-S*. У мутантов *bw* наблюдается снижение жизнеспособных потомков. Результаты реципрокных скрещиваний (♀к×♂к; ♀т×♂т; ♀к×♂т; ♀т×♂к) в условиях развития особей на стандартной среде и среде, содержащей триптофан, демонстрируют достоверное влияние триптофановой диеты и условий содержания родительских организмов (в большей степени влияние происходит за счет отцовского генотипа). Работа показывает важность относительного вклада каждого родительского пола в приспособленность потомства и эпигенетические механизмы модуляции поведения.

П16

Анализ аксонного транспорта на модели спастической параплегии (форма 39) *Drosophila melanogaster*

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

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

Нарушения развития аксонов и их дегенерация лежат в основе многих нейродегенеративных заболеваний, включая наследственную спастическую параплегию (НСП). Данное заболевание характеризуется спастичностью мышц и прогрессирующей слабостью верхних или нижних конечностей. Существует более 70 видов НСП с различными патофизиологическими процессами, среди которых могут быть нарушения трансмисии, липидного обмена, аксонного транспорта (АТ), а также митохондриальная дисфункция. НСП типа SPG39 возникает в результате мутации в гене нейротоксичной эстеразы (*NTE*), который, в свою очередь, вовлечен в развитие синдрома отложенной нейропатии, вызванной отравлениями фосфорорганическими соединениями (*OPIDN*). Ортологом *NTE* у *Drosophila* является ген *swiss cheese* (*sws*). Мутации в нем приводят к патологии глии, которая образует многослойные мембранные структуры вокруг тел нейронов и аксонов. Также происходит гибель нервных клеток путем апоптоза и, как следствие, снижается продолжительность жизни насекомого.

На сегодняшний день роль динамики митохондрий в аксональных дефектах при НСП остается в значительной степени неизученной. В ранее опубликованной работе мы показали изменение целостности цитоскелета и уменьшение числа митохондриальных кластеров в моторных нейронах личинки *Drosophila*, что могло быть связано с нарушениями АТ. Поэтому для более полного понимания роли *NTE* в развитии нейродегенерации при НСП был проведен *in vivo* анализ АТ нейронов крыла имаго *Drosophila*. В работе были использованы линии с гиперэкспрессией гена *NTE* человека на модели *D. melanogaster*, а также его ортолога – гена *sws Drosophila* (подавленная экспрессия и гиперэкспрессия). В результате работы не было выявлено статистически значимых изменений в средних скоростях движения митохондрий нейронов крылам имаго *Drosophila*, однако было обнаружено увеличение их числа.

П17

Влияние различных элементов 3’-нетранслируемой области мРНК гена *orb* на формирование ооцитов *Drosophila melanogaster*

М. В. Жукова[1], *Ю. В. Шидловский*[1, 2], *П. Шедл*[1, 3]

[1] *Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*
[2] *Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия*
[3] *Принстонский университет, Принстон, США*

3’-нетранслируемая область (3’ UTR) мРНК может участвовать в транспорте и локализации, регуляции трансляции и поддержании стабильности молекул мРНК при взаимодействии с различными комплексами белков в клетке. На 3’ UTR локализуются цис-регуляторные элементы, взаимодействующие с РНК-связывающими белками. Вторичная структура мРНК важна для нормального функционирования 3’ UTR, однако отдельные структурные элементы и их роль в функционировании 3’ UTR остаются малоизученными. Белок Orb необходим в оогенезе *Drosophila* для локализации и регуляции трансляции мРНК. Мутации в гене *orb* приводят к нарушениям дифференцировки ооцита и полярности сформировавшегося яйца. Мы провели биоинформатический анализ, чтобы локализовать на *orb* 3’ UTR *Drosophila melanogaster* различные цис-регуляторные элементы, а также построили возможную вторичную структуру с минимальной свободной энергией для этой последовательности. С использованием CRISPR/Cas9 системы мы получили линию мух с делецией 3’ UTR гена *orb* (гомозиготные самки линии стерильны), а затем по attp-сайту произвели встройку фрагментов *orb* 3’ UTR. Получены 7 линий мух с различными вариантами *orb* 3’ UTR, включая линии с точечными мутациями в элементе цитоплазматического полиаденилирования (CPE) и сайте связывания с репрессором Bruno, а также с различной вторичной структурой *orb* 3’ UTR. Мы проанализировали морфологию дорзальных выростов хориона яиц, чтобы оценить нарушения полярности ооцитов во всех полученных линиях мух и выявили минимальный фрагмент *orb* 3’ UTR, необходимый для нормального формирования яиц у самок.

Работа поддержана Российским научным фондом (18-74-10051).

П18

Анализ общего уровня нейродегенерации у *Drosophila melanogaster* с измененной экспрессией гена *swiss cheese* в различных типах клеток нервной системы

Е. А. Иванова, П. А. Мелентьев, С. И. Тимошенко, С. В. Саранцева

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

Характерной особенностью нейродегенеративных заболеваний является прогрессирующая с возрастом гибель нервных клеток. Для понимания механизмов таких заболеваний используется метод их моделирования на животных, в частности, на дрозофиле. Одним из таких подходов является изучение генов дрозофилы, ортологичных генам, ассоциированным с болезнями человека. Таким геном, например, является ген *sws* (*swiss cheese*) *Drosophila melanogaster*, мутации в котором приводят к нейродегенерации. Ген экспрессируется в нервных и глиальных клетках и важен для поддержания их жизнедеятельности и функционирования.

Целью данной работы было проанализировать влияние подавления экспрессии гена *sws* в различных типах клеток нервной системы особей *D. melanogaster* на уровень общей нейродегенерации в мозге, а также сравнить эффекты влияния сверхэкспрессии гена *sws* и его человеческого ортолога – гена *NTE* – на исследуемый показатель. Для этого были получены и проанализированы срезы мозга особей с подавлением и гиперэкспрессией гена *sws*, а также срезы мозга особей с гиперэкспрессией гена *NTE* в разных типах клеток нервной системы дрозофилы. Было установлено, что подавление экспрессии гена *sws* приводит к зависимому от возраста повышению доли полостей в мозге, наибольшему у особей с подавлением экспрессии гена *sws* во всех нейронах и во всех клетках организма. Также было отмечено, что уровень нейродегенерации как у особей с гиперэкспрессией гена *sws*, так и у особей с гиперэкспрессией гена *NTE* в нейронах или глиальных клетках в основном не отличается от исследуемого параметра у особей из контрольных линий.

П19

Влияние ионизирующего излучения на экспрессию гена *Rad51D*

Ю. А. Ильина, А. Ю. Конев

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Центр геномных исследований «Курчатовский геномный центр – ПИЯФ», Гатчина, Россия

Ионизирующее излучение вызывает наиболее опасный тип повреждения генетического материала – двунитевой разрыв (ДР) ДНК. В клетках исправление данного повреждения возможно по двум основным механизмам: прямому соединению разорванных концов и по пути гомологичной рекомбинации. У эукариот в рекомбинационном соединении разорванных нитей основную роль выполняют высококонсервативные рекомбиназы семейства *Rad51*-подобных белков. В геноме низших эукариотических организмов – это гены *Rad51*, *Rad55* и *Rad57*, у млекопитающих количество Rad51-подобных белков вдвое больше (*Rad51B, Rad51C, Rad51D, XRCC2, XRCC3* и *SWSAP1* (гомолог *RadA*) и они образуют 4 комплекса: *BCDX2 (Rad51B, Rad51C, Rad51D и XRCC2), CX3 (Rad51C* и *XRCC3), Shu (SWSAP1 и SWS1)* и комплекс *PALB2-RAD51-RAD51C-BRCA2*. У дрозофилы открытие Rad51-подобных генов было связано с изучением материнского эффекта у мутантов, имеющих измененную структуру оболочек яйца (веретеноподобные, “*spindle*”): *spn-A* (ортолог *Rad51), spn-B* (гомолог *XRCC3*) и *spn-D* (гомолог *hRad51C)*. Помимо генов *spn* геном дрозофилы содержит Rad51-подобные гены *XRCC2* и *Rad51D*.

На сегодняшний день известно, что воздействие ионизирующего излучения оказывает влияние на уровень экспрессии ряда генов. В работе S. Yooa и B. D. McKee (2005) показано, что в клетках *Drosophila* уровень транскриптов *spn-A* увеличивается в 2-3 раза после обработки ММС или рентгеновским облучением. Целью нашего исследования стало изучение уровня экспрессии гена *Rad51D* после γ-облучения на разных этапах онтогенеза в разных органах и тканях. На данном этапе мы проанализировали 4-часовых эмбрионов линии дикого типа *OregonR* и получили данные: 1) об отсутствии изменения уровня экспрессии спустя 30 минут после облучения 0,5 Гр; 2) о 2-кратной индукции экспрессии *Rad51D* через 2 часа после облучения.

П20

Исследование эффекта гормезиса при регулярном тепловом стрессировании у двух видов *Drosophila* с использованием нового автоматического метода изучения плодовитости

Е. К. Карпова, Е. Г. Комышев, М. А. Генаев, Н. В. Адоньева, М. А. Еремина, Н. Е. Грунтенко*

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

* *karpova@bionet.nsc.ru*

Проводились исследования влияния регулярного теплового стресса на характеристики приспособленности линий дикого типа двух видов *Drosophila*, *D. melanogaster* и *D. virilis*: продолжительность жизни и плодовитость. У многих видов насекомых, в том числе у *Drosophila*, самки производят большое количество потомков в течение своей жизни, и наиболее распространенный метод количественного определения плодовитости на протяжении всей жизни – это подсчет потомства вручную, что довольно трудоемко. Мы разработали и протестировали новый метод автоматической оценки плодовитости *D. melanogaster* по вылету имаго, с использованием мобильного приложения *Seed Counter* (Комышев и др., 2017). Соответствующее программное обеспечение доступно на всех мобильных устройствах на базе системы Android, и не требует никакого дополнительного оборудования. *Seed Counter* производит точные подсчеты и позволяет серьезно экономить время.

Мы наблюдали эффект гормезиса при регулярном тепловом воздействии у особей *D. virilis*, увеличивалась продолжительность жизни и репродуктивного периода, однако воздействие той же интенсивности не дает аналогичного эффекта у особей *D. melanogaster*, не меняет суммарную плодовитость и снижает продолжительность жизни. Обнаруженные различия могут объясняться видовой спецификой.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00458.

П21

Биологическое действие эпикастастерона на развитие и плодовитость *Drosophila melanogaster*

Н. Ф. Ковалевич

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

Брассиностероиды – фитогормоны класса стероидов, поддерживающие нормальное функционирование иммунной системы растений, особенно в неблагоприятных условиях. По своему структурно-химическому строению они особенно близки к экдизонам, являющимися гормонами линьки метаморфоза насекомых. Эпикастастерон является предшественником эпибрассинолида. Цель нашей работы – изучение биологического эффекта воздействия эпикастастерона на плодовитость линии *Berlin Drosophila melanogaster*. Для постановки эксперимента использовались мухи дикой линии *Berlin D. melanogaster*, которые подвергались экспериментальному воздействию эпикастастерона в концентрациях 10^{-6}, 10^{-7} и 10^{-8}. Действующее вещество добавлялось в питательную среду дрозофилы. Учитывали количество отложенных яиц самками первого поколения. Анализ плодовитости проводился у мух второго поколения. Установлено, что воздействие эпикастастерона в концентрациях 10^{-7} и 10^{-8} приводит к задержке откладки яиц особями линии *Berlin D. melanogaster*, наиболее ярко проявляющейся в присутствии концентрации 10^{-8}. Анализ плодовитости среди потомства F2 выявил увеличение численности мух при воздействии эпикастастерона в концентрации 10^{-7} по сравнению с контролем. Рост численности мух произошел за счет увеличения количества самок в варианте воздействия концентрацией 10^{-7} по сравнению с контролем. Тенденция увеличения численности мух наблюдается в присутствии эпикастастерона в концентрации 10^{-8}. Внутри групп каждого варианта воздействия не обнаружено нарушения соотношения самцов и самок. Таким образом, эпикастастерон в концентрации 10^{-7} приводит к задержке откладки яиц во времени, однако это не влияет на плодовитость имаго.

П22

Редокс-статус клеток нервной системы *Drosophila melanogaster* с подавлением экспрессии гена *swiss cheese* в них

А. Е. Комиссаров, П. А. Мелентьев, Е. В. Рябова, С. В. Саранцева

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

Активные формы кислорода (АФК) образуются как естественные побочные продукты нормальной клеточной активности и участвуют в клеточной передаче сигналов. Увеличение уровня АФК оказывает негативное влияние на гомеостаз клеток, их структуры и функции и приводит к окислительному стрессу. Такое нарушение клеточного окислительно-восстановительного баланса является фактором риска развития различных патологий. Механизм, при этом, в каждом случае свой – то есть нет единого механизма гиперпродукции АФК при данных заболеваниях.

Многие внутриклеточные процессы чувствительны даже к небольшим изменениям редокс-статуса, что используется клеткой для регуляции многих систем, в том числе антиоксидантной системы. В клетке за редокс-статус отвечают редокс пары клетки. Главным редокс-буфером клетки является глутатион, также образующий активную редокс пару GSSG/2GSH.

Ранее мы показали значительное снижение числа митохондриальных кластеров в нейромышечных контактах личинок *Drosophila melanogaster* с подавлением экспрессии гена *sws*. Одной из причин снижения числа митохондриальных кластеров может служить чрезмерный синтез активных форм кислорода.

В данной работе был проанализирован уровень АФК у *D. melanogaster* с подавлением экспрессии гена *sws* в разных типах клеток нервной системы. Для определения редокс-статуса клеток использовался редокс зависимый GFP с сенсором к паре GSSG/2GSH или H_2O_2, который меняет структуру и длину волны возбуждения при взаимодействии с АФК.

П23

Изучение роли хроматин-ремоделирующих факторов в регуляции структуры Х-хромосомы у самцов дрозофилы

Я. А. Кучинская, Е. С. Боровых, М. А. Некрасова, А. Ю. Конев

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

Дозовая компенсация (ДК) является перспективной моделью для изучения влияния факторов, изменяющих структуру хроматина, на экспрессию специфических мишеней в геноме. В данной работе рассматривалась роль хроматин-ремоделирующих факторов в регуляции структуры подвергающейся ДК Х-хромосомы у самцов *Drosophila melanogaster*.

В первую очередь нас интересует консервативный белок CHD1, поскольку мутации кодирующего его гена *Chd1* ведут к сильной деформации и деконденсации Х-хромосомы самцов дрозофилы, а весь соответствующий белок материнского происхождения связывается исключительно с этой хромосомой. Для самцов дикого типа так же характерно повышенное привлечение данного фактора к сайтам связывания комплекса MSL на Х-хромосоме, необходимым условием этого является нормально функционирующий комплекс ДК MSL. Для проверки гипотезы о специфической роли белка CHD1 в процессе дозовой компенсации у дрозофилы было проведено сравнение распределения аутосомных и Х-хромосомных сайтов связывания для ряда других хроматин-ремоделирующих факторов (kismet, ISWI, Ino80 и brahma) путем иммуноокрашивания соответствующими антителами политенных хромосом особей дикого типа и нуль-мутантов по гену *Chd1*. Для всех вышеуказанных факторов не обнаружено специфического привлечения к Х-хромосоме и дополнительных сайтов связывания, как в случае самцов дикого типа, так и у нуль-мутантов по гену *Chd1*. Данные факты свидетельствуют о специфической и не заменимой роли CHD1 в организации подвергающейся ДК Х-хромосоме самцов дрозофилы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00864.

П24

Влияние С-пептида на развитие осложнений сахарного диабета на модели *Drosophila melanogaster*

Е. М. Латыпова, С. В. Саранцева

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

Сахарный диабет (СД) – это серьезное хроническое заболевание, которое возникает, если поджелудочная железа не вырабатывает достаточного количества инсулина, или, когда организм не может эффективно использовать выработанный им инсулин. Повышенное содержание глюкозы в крови, увеличивает риск поражения сердца, кровеносных сосудов, сетчатки глаз, почек и периферической нервной системы. Довольно продолжительное время была принята точка зрения, что С-пептид, секретируемый клетками поджелудочной железы совместно с инсулином, не обладает биологической активностью. Однако в настоящее время установлено, что многие патологические изменения, возникающие при сахарном диабете, непосредственно связаны с дефицитом С-пептида или вызваны его избыточной продукцией, а именно: диабетическая периферическая нейропатия, нефропатия, нейропатия.

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* широко используется для создания моделей заболевания человека. Использование *D. melanogaster* в качестве модельного организма для исследования нарушений метаболизма человека возможно благодаря сходству органов, контролирующих усвоение, хранение и метаболизм питательных веществ у человек и плодовой мушки. Так, пищеварение и всасывание питательных веществ происходит в средней кишке *D. melanogaster*, функциональном аналоге желудка и кишечника, а жировое тело действует подобно печени и белой жировой ткани млекопитающих, метаболизируя питательные вещества и запасая гликоген и липиды. Поддержание постоянного уровня циркулирующих сахаров в гемолимфе насекомого строго контролируется инсулиноподобными пептидами (DILP или ILP). Гены *dilp 1-8* кодируют препропептиды 107-156 аминокислот, которые содержат сигнальный пептид, В-цепь, С-пептид и А-цепь, аналогично инсулину млекопитающих.

Исследование механизмов действия С-пептида на модели *D. melanogaster* поможет лучше понять роль С-пептида в регуляции физиологических и биохимических процессов при развитии сахарного диабета и может быть использовано при лечении осложнений СД.

П25

Изучение мутагенного и тератогенного эффектов стойких органических загрязнителей на модельном объекте *Drosophila melanogaster*

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

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

Одним из источников поступления СОЗ в окружающую среду являются хранилища неутилизированных устаревших, запрещенных к использованию пестицидов. Целью данной работы было оценить мутагенный и тератогенный эффекты проб воды и почвы, собранных вблизи хранилищ устаревших пестицидов. Обследовано 5 поселков Талгарского района Алматинской области: пп. Бескайнар, Бельбулак, Кызыл-Кайрат, Амангельды и Енбекши, в которых имеются склады неутилизированных пестицидов и контрольный п. Басши. Химический анализ на 24 наименования пестицидов показал наличие СОЗ в собранных пробах. Пробы воды и почвы добавляли в питательную среду для дрозофил и выращивали культуру. Мутагенный эффект определяли в скрининговых тестах: оценивали частоту летальных мутаций в Х-хромосоме, в аутосомах и частоту морфологических изменений имаго.

Скрининг морфологических изменений у имаго F_0, выращенных на корме с добавками, выявил изменения крыла и тергитов, возникающие с частотой 2,3–14,1 %. Эти изменения были ненаследуемыми, то есть морфозами. Однако в случае добавления в корм пробы воды из п. Кызыл-Кайрат зарегистрирована мутация глаз, приводящая к уменьшению числа фасеток и образованию вырезок/выростов на глазах. Эта мутация имеет стойкое наследование в ряду поколений. Летальные мутации в Х-хромосоме выявлены при использовании проб из пп. Бельбулак и Кызыл-Кайрат. Летали в аутосомах выявлены во всех вариантах эксперимента, наибольшая частота зарегистрирована для проб из пп. Бескайнар и Кызыл-Кайрат (10,7 % и 10,4 %).

Таким образом, неутилизированные устаревшие пестициды оказывают мутагенное и тератогенное действие на *Drosophila melanogaster* и представляют опасность для окружающей среды.

П26

Продолжительность жизни дрозофилы при ингибировании триптофан-кинуренинового метаболизма

В. В. Навроцкая[1], *Г. Ф. Оксенкруг*[2]

[1] *Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Харьков, Украина*
[2] *Университет Тафтса, Бостон, США*

Сегодня не вызывает сомнения участие кинуренинового пути метаболизма триптофана в развитии нейродегенеративных заболеваний и его активация в процессе старения. В ряде исследований, в т. ч. наших, доказана возможность увеличивать длительность жизни дрозофилы путем ингибирования (генетического и фармакологического) кинуренинового пути. В частности, показано снижение темпа старения для мутанта *vermilion* (мутация, нарушающая синтез фермента триптофандиоксигеназы, что приводит к отсутствию кинуренинов) по сравнению с мухами дикого типа. Отсутствие (или снижение уровня) метаболитов кинуренинового пути вследствие его блокировки у мутантов *vermilion* или добавления ингибиторов триптофандиоксигеназы в питательную среду замедляет старение, что может объясняться в т. ч. снижением количества потенциальных продуцентов свободных радикалов в организме.

Эксперименты по оценке длительности жизни при угнетении кинуренинового пути мы проводим не только при оптимальных условиях жизни мух, но и в стрессовых, таких как повышенная температура содержания (29 °C), которая вызывает ускоренное старение, а также моделируя патологические состояния на дрозофиле – например, инсулинорезистентность, которая негативно отражается на жизнеспособности и продолжительности жизни. Показано, что мухи со сниженной интенсивностью триптофан-кинуренинового метаболизма получают преимущество в длительности жизни и при влиянии данных неблагоприятных факторов.

П27

Функциональная связь белка Udd и модификаций гистонов с транскрипционным статусом генов рРНК *Drosophila melanogaster*

И. М. Плешакова, Е. А. Фефелова, Е. А. Михалёва, М. С. Клёнов

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Локус рДНК состоит из сотен тандемных повторов, часть которых транскрипционно неактивна. Удобным объектом для исследования регуляции индивидуальных генов рРНК является *D. melanogaster*, так как ~ 40 % генов рРНК этого организма содержат инсерции транспозонов и в норме не транскрибируются. Ранее, нами было показано примерно шестидесятикратное увеличение экспрессии инсертированных генов рРНК на фоне мутации по белку Udd. Изменение транскрипции генов зачастую сопряжено с изменениями их хроматина (ремоделинг, модификации гистонов). Целью настоящего исследования явилось изучение изменений хроматина активных и неактивных (инсертированных) рДНК копий дрозофилы и роль Udd в этом процессе. Мы показали, что в норме инсертированные гены рРНК в большей степени обогащены метками гетерохроматина, чем нормальные гены, промоторы активных генов характеризуются наличием зон, свободных от нуклеосом, а компактизация промоторов и накопление гистона H3K9me3 могут быть следствием отсутствия транскрипции. При мутации *udd* наблюдалось снижение обогащений фрагментов рДНК гистоном H3K9me3, что предполагает активацию транскрипции ранее неактивных генов. Также мы показали, что в ядрышке Udd локализуется преимущественно в пустотах между гетерохроматиновыми глобулами, что может быть доказательством его ассоциации с активно-транскрибируемыми генами. Возможно, что SL1 в комплексе с Udd избирательно связывается с нормальными генами, а инсертированные гены в отсутствии транскрипции обогащаются гистоном H3K9me3.

Исследование выполнено за счет грантов Российского научного фонда (проект № 19-14-00382), РФФИ № 19-04-01307 А.

П28

Модуляция признаков приспособленности и поведения в условиях высокоуглеводной диеты у мух с дефицитом триптофан-2,3-диоксигеназы

М. О. Разумова[1], *В. В. Костенко*[1, 2], *Н. Б. Баранова*[2], *Е. С. Медведева*[2]

[1] *Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия*

[2] *Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия*

Ген *vermilion* (CG2155) кодирует ограничивающий скорость фермент триптофан-2,3-диоксигеназу (у мутантов по этому гену фермент не проявляет своей активности) и является эволюционно консервативным ортологом фермента ТДО человека. В последние годы в литературе встречается гипотеза, согласно которой, одной из причин развития инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа являются нарушения регуляции триптофана по кинурениновому пути метаболизма (КПОТ). Цель работы состоит в определении изменчивости реакций адаптаций (плодовитость, масса тела, гибель на стадии куколки, продолжительность жизни) и поведения дрозофил, находящихся в условиях роста на среде с высоким содержанием сахарозы (0,7М и 1,2М) в пяти последовательных поколениях. Для оценки влияния факторов (диета, генотип, поколение, условия содержания материнского и отцовского организма) применяли систему реципрокных скрещиваний, а результаты были проанализированы с использованием многофакторного дисперсионного анализа (Factorial ANOVA, Statistica 12.0) с использованием критерия Бонферрони для множественного сравнения групп. Установлено снижение массы тела, общей жизнеспособности, продолжительности жизни, а также индекса локомоции у мутантов *vermilion* и мух дикого типа *C-S* с каждым последующем поколением и возрастает гибель на стадии куколки.

П29

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

Е. А. Сивопляс[1], *А. М. Куликов*[2]

[1] *Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия*
[2] *Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова, Москва, Россия*

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

В эксперименте использованы 11 близкородственных видов *Drosophila* группы *virilis* из коллекции Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН. Показана полная смена промоторной области гена *Dras1* у дрозофил группы *virilis* по сравнению с *D. melanogaster*. На ранних этапах эволюции в ходе дивергенции видов подродов Drosophila и Sophophora от общего предка изменения промоторной области данного гена были вызваны инсерцией мобильного элемента подкласса Tc1/*mariner* класса II ДНК-транспозонов, и сопровождающей эту инсерцию инверсионной перестройкой хромосомы. Дивергенция общего предка видов *D. littoralis*, *D. ezoana* и *D. kanekoi* сопровождалась инсерцией мобильного элемента Helitron в центральную часть предпромоторной области. Важно отметить, что глобальная перестройка области промотора гена *Dras1* неизбежно сопряжена с возникновением

летального аллеля, не способного поддерживать ткане- и возрастоспецифичную экспрессию данного гена. Соответственно, формирование функционально активного промотора должно осуществляться в течение считанных поколений, пока данный летальный аллель не вытеснен из популяции.

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

П30

Комплексы платины для визуализации амилоидных образований в мозге *Drosophila melanogaster*

А. Д. Слободина[1], *А. И. Соломатина*[2], *Е. В. Рябова*[1], *О. И. Большакова*[1], *С. В. Саранцева*[1]

[1] *Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия*

[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Наиболее распространенной формой первичных нейродегенеративных заболеваний в современном обществе является болезнь Альцгеймера, сопровождающаяся прогрессирующим когнитивным снижением, расстройством памяти и речи и накоплением в головном мозге фибриллярных агрегатов амилоидного пептида бета (Aβ). Одна из стратегий терапии этого заболевания направлена на поиск препаратов, предотвращающих образование агрегатов Aβ. При скрининге комбинаторных пептидных библиотек был определен пептид, блокирующий различные стадии образования амилоидных фибрилл. К этому пептиду присоединили векторный пептид, способный проходить через клеточные мембраны и гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для визуализации полученного пептида к нему присоединили люминесцентные платиновые комплексы.

С помощью атомно-силовой микроскопии было установлено, что инкубация Aβ с исследуемыми составными пептидами в течение 24 часов при температуре 37 °C снижает агрегацию Aβ, т. е. эти пептиды обладают антиамилоидной активностью. Для анализа прохождения пептидов через ГЭБ дрозофилы применили метод инъекций пептидов в абдомен мух с последующим детектированием люминесценции в мозге через определенные промежутки времени. Сигналы люминесценции пептидов детектировались внутри мозга, что говорит об их прохождении через ГЭБ. Также было исследовано связывание пептидов с амилоидными отложениями в мозге дрозофилы. Четкой локализации исследованных пептидов и амилоидных отложений обнаружено не было.

Работа поддержана грантом № 18-33-00954.

П31

Система регулируемой экспрессии в исследовании эффекта положения

А. А. Солодовников, В. А. Гвоздев, С. А. Лавров

Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Гетерохроматиновый эффект положения представляет собой нарушение транскрипции генов вследствие изменения структуры хроматина под влиянием гетерохроматинового окружения. Для анализа молекулярных механизмов эффекта положения была разработана генетическая система, представленная вызывающей *транс*-эффект положения хромосомной перестройкой и репортерным геном e*GFP* под контролем регуляторного элемента UAS. Регуляция экспрессии репортерного гена осуществляется при помощи комбинации транскрипционного активатора GAL4 и ингибирующего его термочувствительного белка $GAL80^{ts}$. $GAL80^{ts}$ денатурирует в физиологическом диапазоне температур (18–30 °C), градуально высвобождая GAL4 и увеличивая тем самым уровень экспрессии гена под контролем регуляторного элемента UAS. Особенностью созданной системы является локализация источников GAL4 и $GAL80^{ts}$ на одной хромосоме, что существенно облегчает конструирование сложных генотипов. GAL4 и $GAL80^{ts}$ экспрессируются на сходном и высоком уровне в большинстве типов тканей и на всех стадиях развития, так как оба находятся под контролем промоторов гена домашнего хозяйства бета-тубулина. При низкой температуре (18°) у мух с GAL4 и $GAL80^{ts}$ уровень экспрессии репортерного гена близок к фону и увеличивается более чем в 100 раз при повышении температуры выращивания. Быстрая реакция системы (связанная с тем, что не требуется экспрессии GAL4 и $GAL80^{ts}$ и накопления продуктов) позволяет активировать экспрессию репортерного гена в требуемой степени и на любой стадии развития.

Исследования зависимости гетерохроматиновой репрессии репортерного гена от уровня его экспрессии позволило определить стадию развития и пороговый уровень транскрипции, при превышении которого эффект положения подавляется. Кроме того, применение комбинации GAL4 и $GAL80^{ts}$ позволило исследовать эффекты деплеции ряда генов-потенциальных модификаторов структуры хроматина на эффект положения при помощи индуцируемых шпилечных конструкций.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (19-74-20178) и частично РФФИ (гранты 17-04-01984 А и 17-00-00282 КОМФИ).

П32

Разработка методов обработки изображений для изучения устойчивости спецификации фоторецепторов в имагинальном глазном диске дрозофилы

К. Н. Козлов, С. Ю. Суркова, М. Г. Самсонова

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

В ходе развития глазного имагинального диска дрозофилы пласт эпителиальных клеток в течение двух дней преобразуется в четкую структуру светочувствительных единиц (омматидиев). На начальном и важнейшем этапе дифференцировки глазного диска клетки R8 (будущие фоторецепторы R8) задают гексагональную периодичность этой структуры, определяющую все дальнейшее развитие будущего глаза. В недавних исследованиях была выявлена существенная вариабельность уровней экспрессии генов, контролирующих спецификацию клеток R8. Важно ответить на вопрос, как четкая структура клеток R8 формируется при вариабельных уровнях основных регуляторов, а также, выявить механизмы стабилизации этой структуры. Для решения этой задачи требуется на основе конфокальных изображений картин экспрессии генов определить точные уровни регуляторов в каждой клетке и их колокализацию. Для этого необходимо четко выявить границы отдельных клеток как в зоне пролиферации, так и в зоне дифференцировки глазного диска.

Процедуры обработки трехмерных наборов изображений разрабатывались в созданном авторами пакете ProStack. В ходе пробоподготовки в глазном диске возникали деформации, приводившие к его изгибу. Производилась коррекция таких деформаций, путем аппроксимации зоны морфогенетической борозды сплайном второго порядка с последующим преобразованием координат к прямой линии. Последующая регистрация глазных дисков относительно положения морфогенетической борозды приводила все картины экспрессии генов в единую систему координат. Для детекции объектов использовался разработанный ранее метод MrComas, основанный на морфологической реконструкции и контрастном картировании. В результате, были определены границы клеток и координаты их центров, что позволило оценить их пространственное распределение.

Мы благодарим С. В. Нуждина и С. Али.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-04-01047-а.

П33

Оценка генетической активности стероидных соединений растительной природы по изменению частоты кроссинговера у дрозофилы

А. Н. Тарасюк

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

Стероидные соединения растительной природы привлекают пристальное внимание в связи с поиском новых ростовых, лекарственных и антимикробных веществ природного происхождения, а также эффективных регуляторов роста растений, повышающих их продуктивность и устойчивость к неблагоприятным факторам. Наиболее перспективными из таких соединений являются брассиностероиды и стероидные гликозиды. Вместе с тем генетическая активность данных веществ остается малоизученной, что сдерживает их широкое практическое применение.

Традиционно под генетической активностью фактора понимают его способность индуцировать мутации. Однако не менее важным показателем, характеризующим генетическую активность, является способность фактора оказывать влияние на процесс рекомбинации, важнейшим механизмом обеспечения которой является кроссинговер. Поскольку уровень рекомбинационной изменчивости, сложившийся в ходе эволюционного процесса, по-видимому, оптимален, всякое существенное его отклонение (как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения), может быть признано нежелательным и свидетельствовать о генетической активности фактора, вызывающего такое отклонение.

В наших исследованиях проводилась комплексная оценка влияния ряда стероидных соединений на частоту кроссинговера в хромосомах I–III дрозофилы. В работе использовались следующие маркерные системы, включающие цепочки из трех сцепленных генов: хромосома I – *yellow-cut-vermillion*, хромосома II – *black -cinnabar- vestigial,* хромосома III – *(scarlet - spineless – ebony*. Оценка генетической активности стероидных соединений проводилась для трех наиболее эффективных с точки зрения биологического действия концентраций – $1\cdot10^{-8}$ %, $1\cdot10^{-7}$ % и $1\cdot10^{-6}$ %.

В результате проведенной работы установлено, что стероидные соединения, к числу которых относятся брассиностероиды эпибрассинолид, гомобрассинолид, эпикастостерон и стероидные гликозиды никотианозид, рустикозид, мелонгазид и сомелонгазид, не оказывают существенного влияния на частоту кроссинговера в исследуемых сегментах хромосом I–III дрозофилы – все наблюдаемые изменения частот кроссинговера не являются

достоверными по t-критерию Стьюдента. Это означает, что исследуемые стероидные соединения не обладают генетической активностью и могут допущены к практическому применению.

Работа выполнена по заданию 3.15 ГПНИ «Химический синтез и продукты», подпрограмма 2.3 «Биорегуляторы растений».

П34

Изучение репарации двунитевых разрывов ДНК у дрозофилы *in vivo*

В. Ю. Украинцев[1, 2], *Ю. А. Ильина*[2], *А. Ю. Конев*[2]

[1] *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Центр геномных исследований «Курчатовский геномный центр – ПИЯФ», Гатчина, Россия*

Способность клеток исправлять повреждения ДНК лежит в основе сохранения целостности и нормального функционирования генома. В настоящее время интерес к ДНК-репарации обусловлен ее связью с канцерогенезом и необходимостью разработки таргетных лекарственных препаратов. Современные методы конфокальной микроскопии и использование флуоресцентных белков позволяют визуализировать отдельные компоненты в живых тканях, что дает возможность проанализировать кинетику репарации ДНК *in vivo*.

Наиболее опасным повреждением ДНК является двунитевой разрыв (ДР), репарация которого возможна либо по пути прямого соединения разорванных концов, либо рекомбинационно. На первом этапе репарации ДР ДНК происходит маркирование ДР фосфорилированием гистона *H2AX* с образованием *gH2AX* (у дрозофилы *gH2Av*). *gH2AX* выступает в роли платформы для присоединения белка *MDC1*. Ортолог человеческого *MDC1* у *Dr. melanogaster* – это *MU2*, для него показана ко-локализация с *γH2Av* после облучения. Для работы нами была синтезирована линия дрозофилы, геном которой содержит маркер генетического материала *H2Av-RFP* и маркер ДР ДНК *MU-2–YFP*. После γ-облучения мы детектируем желтые сигналы фокусов репарации на фоне краснокрашенных ядер. На данном этапе работы мы проанализировали кинетику репарации ДР ДНК в выделенном и сохраняющем свою жизнеспособность мозге поздней личинки дрозофилы, среднее время исчезновения сигнала *MU-2–YFP* составило 90 минут. Также нами сделано наблюдение о неравномерности появления сигналов *MU-2–YFP*: сигналы появляются только в митотически активных вторичных нейробластах, ранее это не было описано и по-видимому, указывает на специфичность репарации ДР ДНК в мозге дрозофилы.

П35

Исследование тканеспецифичных особенностей изменения пространственной организации ядра, связанных с функционированием ядрышка при развитии трофоцитов яичников *Drosophila yakuba*

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

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

Ранее нами было показано, что как правило, у *D. yakuba* (подгруппа *D. melanogaster*) в пространстве ядер трофоцитов плечи политенной хромосомы 3 тесно объединены прицентромерными гетерохроматиновыми блоками. В тоже время, была обнаружена стадия развития трофоцитов, на которой четко выявлялась разобщенность плеч хромосомы 3 в пространстве ядра, связанная с ярко выраженной декомпактизацией прицентромерного гетерохроматина. Опираясь на собственные и литературные данные, мы предположили, что это может быть связано с наличием в прицентромерном гетерохроматине хромосомы 3 активно транскрибирующихся последовательностей рДНК, которые участвуют в образовании ядрышка. В связи с этим, была проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация 18S рДНК-специфичной ДНК-пробы с политенными хромосомами трофоцитов яичников *D. yakuba*. Показана ее локализация в районах прицентромерного гетерохроматина хромосом XL, 3, а также в хромосоме 4. Таким образом, кроме XL-хромосомы, в ядрах трофоцитов яичников в формировании ядрышка также участвуют хромосомы 3 и 4. Следовательно, процесс формирования ядрышка в трофоцитах *D. yakuba* сопровождается транскрипционной активностью локусов хромосом XL, 3 и 4, содержащих рДНК, что, вероятно, является одним из важных факторов влияющим на динамику 3D-организации прицентромерного гетерохроматина при развитии трофоцитов.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 0721-2020-0019).

П36

Характеристика таксон-специфичного гена *lawc* у *Drosophila*

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

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

Выявление и характеристика новых таксон-специфичных генов важна для изучения актуальной проблемы возникновения генов de novo, или «с нуля». Анализ геномов и транскриптомов разных видов животных обнаружил подобные гены, что ранее считалось невозможным. Основной проблемой этих исследований является отсутствие доказательств функции продукта гена, возникшего de novo. В качестве модели для изучения генов, возникших de novo, мы использовали таксон-специфичный ген дрозофилы *leg-arista-wing complex (lawc)*. Мы показали, что этот ген расположен в транскрипционно активном районе Х-хромосомы и производит 9 кодирующих белок и некодирующих мРНК, паттерн экспрессии которых различается у самцов и самок. Картина экспрессии *lawc*-транскриптов по данным нозерн-блоттинга схожа у видов группы *melanogaster*. Нозерн-блот и биоинформационный анализ видов групп *virilis* и *funebris lawc*-транскриптов не обнаружил. Мы показали дифференциальный паттерн экспрессии гена *lawc* в развитии, что предполагает его функциональную значимость. Белок *LAWC* не имеет ортологов за пределами подгруппы *melanogaster*. Интересно, что *lawc* перекрывается с геном, кодирующим базовый фактор транскрипции TRF2. РНКи ряда *lawc*-транскриптов вызывает снижение экспрессии *Trf2* и фенотип, характерный для мух с мутациями в этом гене. Тем не менее, РНКи *lawc*-транскриптов в фолликулярных клетках вызывает особый фенотип, не характерный мутантам *Trf2*. Мы полагаем, что *lawc* является новым для подгруппы *melanogaster* геном, функция которого связана с формированием фолликулярного эпителия. Очевидно, важность функции нового гена позволила отбору сохранить его в условиях перекрытия с геном *Trf2*. Этот адаптационный механизм нуждается в дальнейшем исследовании.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-04-00272 А.

П37

Анализ тканеспецифичности экспрессии гена *swiss cheese* *Drosophila melanogaster*

Э. Г. Шарапенков[1, 2], *Е. В. Рябова*[2], *П. А. Мелентьев*[2], *С. В. Саранцева*[2]

[1] *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия*

Ген *swiss cheese* (*sws*) *Drosophila melanogaster* является эволюционно-консервативным и участвует в контроле поддержания жизнедеятельности клеток нервной системы. Роль этого гена в нормальном функционировании нервной системы впервые была отмечена в последней четверти прошлого века, однако до сих пор мало исследованными остаются иные потенциально возможные функции *sws* в других тканях и органах *D. melanogaster*. Для их изучения, в первую очередь, необходимо понять, в каких тканях наблюдается экспрессия данного гена.

В работе применялась система UAS-GAL4. Использована линия мух с экспрессией зеленого флуоресцентного белок (GFP), коньюгированного с мембранным мышиным белком CD8, под контролем промотора гена *sws*, что позволяет увидеть клетки, ткани и органы, экспрессирующие данный ген. В результате показано, что экспрессия *sws* в различных органах не одинакова и может меняться с возрастом и на различных этапах онтогенеза. Более того, в пределах одного органа разные группы клеток демонстрируют различную экспрессию. Экспрессия *sws* обнаружена в слюнных железах и жировом теле на поздних стадиях эмбриогенеза, в слюнных железах, жировом теле и кишечнике личинок 3 возраста, а также в органах половой системы самцов, жировом теле, кишечнике и мальпигиевых сосудах имаго обоих полов.

УЧАСТНИКИ КОНФЕРЕНЦИИ

Ф. И. О.	Организация	Почта
Абрамов Юрий Александрович	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	abramov75@rambler.ru
Адашев Владимир Евгеньевич	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	adashev.vladimir@gmail.com
Адоньева Наталья Васильевна	Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия	ado-nata@yandex.ru
Александров Игорь Донатович	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	a38don@jinr.ru
Александрова Маргарита Васильевна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	a38don@jinr.ru
Антосюк Ольга Николаевна	Уральский федеральный университет им. первого президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия	Antosuk-olga@mail.ru
Афанасьева Кристина Петровна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	afanasyeva@jinr.ru
Базылев Сергей Сергеевич	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	bazylevser@gmail.com
Батлуцкая Ирина Витальевна	Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия	
Белкина Елена Геннадьевна	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия	ellida69@mail.ru
Беседина Наталья Геннадьевна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	nbesedina@mail.ru
Большакова Ольга Игоревна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	olya99991@yandex.ru
Боровых Елизавета Сергеевна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	mulaya2.88@mail.ru
Брагина Юлия Валерьевна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	julia_bragina@mail.ru
Васильева Светлана Александровна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	swetlana.gorohowa@yandex.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
Веселкина Екатерина Романовна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	veselkinaer@gmail.com
Волкова Наталья Евгеньевна	Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Харьков, Украина	volkovanatalia90@gmail.com
Гильмутдинов Рудольф Артурович	Институт биологии гена РАН, Москва, Россия	rudolf.gilmutdinov@mail.ru
Гвоздев Владимир Алексеевич	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	gvozdev@img.ras.ru
Голомидов Илья Михайлович	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	ilia_stv@mail.ru
Голубкова Елена Валерьевна	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	elena_golubkova@mail.ru, e.golubkova@spbu.ru
Горенская Ольга Владимировна	Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Харьков, Украина	olgavg2014@gmail.com
Груничева Анастасия Александровна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	corneliya@mail.ru
Грунтенко Наталия Евгеньевна	Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия	nataly@bionet.nsc.ru
Давлетшин Артем Игоревич	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	artem.dav7@yandex.ru
Даниленкова Лариса Владимировна	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	ldanilenkova@mail.ru
Дегтярева Кристина Александровна	Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия	dkriss@yandex.ru
Евгеньев Михаил Борисович	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	misha672011@yahoo.com
Емелина Юлия Андреевна	Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия	emelina-yulya@mail.ru
Еремина Маргарита Александровна	Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия	eremina@bionet.nsc.ru

Ф. И. О.	Организация	Почта
Жмуйдина Дарья Романовна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	dasha-zhmujdina@yandex.ru
Жукова Мария Владимировна	Институт биологии гена РАН, Москва, Россия	zhukovamv@gmail.com
Захаров-Гезехус Илья Артемьевич	Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия	iaz34@mail.ru
Зацепина Ольга Георгиевна	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	olzacepina@yandex.ru
Иванова Екатерина Александровна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	katya-i.ivanova@yandex.ru
Ильина Юлия Александровна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	Ilina_ya@pnpi.nrcki.ru
Камышев Николай Григорьевич	Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия	n.g.kamyshev@yandex.ru
Карпова Евгения Константиновна	Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия	karpova@bionet.nsc.ru
Ким Александр Иннокентьевич	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия	Aikim18@mail.ru
Клёнов Михаил Сергеевич	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	klenov@img.ras.ru
Ковалевич Наталья Федоровна	Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, Беларусь	galkovnat@gmail.com
Коган Галина Львовна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	gkogan@img.ras.ru
Колесникова Татьяна Дмитриевна	Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	kolesnikova@mcb.nsc.ru
Конев Александр Юрьевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	Konev_AY@pnpi.nrcki.ru

Комиссаров Артем Евгеньевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	tem3650@yandex.ru
Костенко Виктория Викторовна	Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия	vvkostenko1@gmail.com
Котов Алексей Александрович	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	kotov_alexei@mail.ru
Кукушкина Инна Валерьевна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра генетики, Москва, Россия	vladimirova-bph@yandex.ru
Кулдошина Ольга Александровна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	o.kuldoshina@yandex.ru
Куликов Алексей Михайлович	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия	amkulikov@gmail.com
Куликова Дина Александровна	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	clessinicyclans@gmail.com
Лавров Сергей Александрович	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	slavrov@img.ras.ru
Лазебный Олег Евгеньевич	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия	oelazebny@gmail.com
Латыпова Евгения Михайловна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	latypova_em@pnpi/nrcki.ru
Мамон Людмила Андреевна	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	mamon@lm2010.spb.edu, l.mamon@spbu.ru
Мелентьев Павел Алексеевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	melentev.pavel.spb@yandex.ru
Миляева Полина Андреевна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра генетики, лаборатория генетики животных, Москва, Россия	atemeda@mail.ru
Мить Наталья Викторовна	Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан	nata-mit@yandex.ru

Москалев Алексей Александрович	Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия	amoskalev@list.ru
Навроцкая Валерия Владимировна	Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Харьков, Украина	valeriya.navrotskaya@ukr.net
Некрасова Мария Андреевна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	Thymesmell1@gmail.com
Нефедова Лидия Николаевна	Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия	lidia_nefedova@mail.ru
Никитина Екатерина Александровна	Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия	21074@mail.ru
Оленина Людмила Владимировна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	olenina_ludmila@mail.ru
Пасынков Александр Иванович	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	alloc42@gmail.com
Пасюкова Елена Генриховна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	egpas@rambler.ru
Платонова Елена Юрьевна	Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия; Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия	dega37@yandex.ru
Плешакова Ирина Михайловна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	Laylay.96@mail.ru
Пороховник Лев Николаевич	Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москва, Россия	med-gen@mail.ru
Прошкина Екатерина Николаевна	Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия	kateplus@mail.ru
Разумова Мария Олеговна	Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия	Razumova_m2014@mail.ru
Рябова Елена Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	dochcajulii@mail.ru

Рябоконь Ирина Сергеевна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	dochcajulii@mail.ru
Саранцева Светлана Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	svesar1@yandex.ru
Сивопляс Екатерина Александровна	Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия	sivoplyas-ekater@mail.ru
Симоненко Александр Владимирович	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	symonenko@gmail.com
Слободина Александра Дмитриевна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	sashylikslobodina@mail.ru
Солодовников Александр Андреевич	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	Gorbins@gmail.com
Сурина Нина Владимировна	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	anilannas123@gmail.com
Суркова Светлана Юрьевна	Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия	sestr_sve@mail.ru
Тарасюк Александр Николаевич	Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, Беларусь	tarasiuk01@yandex.ru
Украинцев Владислав Юрьевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	Vlad-ukraincev@mail.ru
Усов Константин Евгеньевич	Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия	usovke@rambler.ru
Федотов Сергей Александрович	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия	serg900@yandex.ru
Фуников Сергей Юрьевич	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	sergeyfunikov@gmail.com
Харченко Наталья Евгеньевна	Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия	harchenko@jinr.ru
Цыбулько Евгения Александровна	Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия	jen@cos.ru

Черезов Роман Олегович	Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия	ro-tcherezov@yandex.ru
Шарапенков Эдуард Григорьевич	Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия	e_sharapenkov@mail.ru
Юшкова Анастасия Александровна	Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия	a.yushkova@g.nsu.ru
Яковлева Дарья Викторовна	Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия	Dashka-konst@yandex.ru