

Никитина Е.А.^{1,2}, Емелин А.Д.², Журавлев А.В.¹,
Савватеева-Попова Е.В.¹

Распределение р-кофилина в мозге дрозофилы с подавленной активностью гена *limk1*

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

²ФГБОУВО Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Исследования физиологии нервной системы и ее формирования в онтогенезе показали, что процессы обучения и памяти непосредственно связаны с регуляцией функционирования специфических молекулярных систем в нервной клетке, а функциональные нарушения подобных систем приводят к развитию когнитивных расстройств [1]. Одной из таких систем является сигнальный каскад ремоделирования актина, играющий важную роль в клеточной миграции, формировании синаптических контактов и регуляции экспрессии генов. Ключевым элементом данного каскада является система LIMK1-кофилин [2]. Основной функциональной ролью LIMK1 является инактивация путем фосфорилирования белков семейства ADF/кофилин — факторов, взаимодействующих с актином и регулирующих динамический баланс между его глобулярной и фибриллярной формами. Целью работы было исследование влияния экспрессии гена *limk1* на распределение фосфокофилина в мозге плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Эксперименты проводили с привлечением линий дрозофилы (ЦКП «Биоколлекция», Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН): 26294 ($y[1] v[1]; P\{y[+t7.7] v[+t1.8]=TRiP.JF02063\}attP2$, линия несет ген двухцепочечной РНК, подавляющей экспрессию *limk1* путем РНК-интерференции, под контролем регуляторного элемента UAS), 36303 ($y[1] v[1]; P\{y[+t7.7]=CaryP\}attP2$, контрольная линия для экспериментов с TRiP RNAi линиями), 6794 ($w[*]; P\{w[+mC]=nrv2-GAL4.S\}8 P\{w[+mC]=UAS-GFP.S65T\}eg[T10]$, линия несет ген Gal4, экспрессирующийся исключительно в нервной системе), Act-GAL4 ($w[1118]; P\{w[+mC]=\}25FO1/CyO, y[+]$, линия несет ген GAL4, экспрессирующийся во всех тканях организма). Иммунофлуоресцентное окрашивание мозгов дрозофилы проводили в соответствии с протоколом [3], с рядом модификаций. Анализ распределения р-кофилина в мозге дрозофил проводили с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 710 фирмы Carl Zeiss (ЦКП «Конфокальная микроскопия», Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН). У линий с подавленной и интактной экспрессией гена *limk1* р-кофилин преимущественно локализован на периферии мозга в ядрах клеток, а так-

же диффузно в структурах нейропиля центральных областей мозга. У линий с нейроспецифически подавленной экспрессией *limk1* наблюдается сравнительно низкий уровень р-кофилина в структурах центрального комплекса. При нейроспецифическом подавлении экспрессии *limk1* р-кофилин локализуется в ядрах нейронов, в отличие от дрозодил с интактной экспрессией *limk1*. У линии с нейроспецифически подавленной активностью гена *limk1* наблюдается более высокий уровень р-кофилина в мозге, чем у линии с интактной экспрессией *limk1*. Отсутствие четкой корреляции между уровнем экспрессии гена *limk1* и распределением р-кофилина при общем подавлении экспрессии гена *limk1* у гибридов *26294xAct-GAL4* указывает на возможность существования у дрозофилы дополнительных механизмов регуляции активности кофилина. Предстоящие поиски элементов данной системы и исследование ее взаимодействия с каскадом ремоделирования актина позволят дополнить общую картину влияния нарушений в этих системах на развитие нейродегенеративных заболеваний, что даст возможность для разработки новых методов лечения и профилактики данных расстройств.

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

Литература

1. Журавлев А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В. Обучение и память у дрозофилы: физиолого-генетические основы // Успехи физиол. наук. 2015. Т. 46. №1. С. 76 – 92.
2. Савватеева-Попова Е.В., Никитина Е.А., Медведева А.В. От нейрогенетики к нейрoэпигенетике // Генетика. 2015. Т. 51. № 5. С. 613 – 624.
3. Wu J.S., Luo L. A protocol for dissecting *Drosophila melanogaster* brains for live imaging or immunostaining // Nat Protoc. 2006. V.1. №4. P. 2110-2115.