

## ГЕН *shuttle craft* ВЛИЯЕТ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *Drosophila melanogaster*, КОНТРОЛИРУЯ РАННЕЕ РАЗВИТИЕ И МОДИФИЦИРУЯ ПРОГРАММУ СТАРЕНИЯ

© 2022 А.В. Симоненко<sup>1</sup>, Н.В. Рощина<sup>1,2</sup>, А.В. Кременцова<sup>1,3</sup>,  
О.Ю. Рыбина<sup>1,4</sup>, Е.Г. Пасюкова<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
123182 Москва, Россия; электронная почта: egras@rambler.ru

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991 Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет», 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 12.10.2022

После доработки 08.11.2022

Принята к публикации 22.11.2022

Принципиальные механизмы, лежащие в основе генетического контроля продолжительности жизни, интенсивно изучаются и обсуждаются в связи со все возрастающей важностью продления здоровой жизни человека. Ген *stc* модельного объекта *Drosophila melanogaster* кодирует транскрипционный фактор, гомолог транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B человека, вовлеченный в контроль развития нейронов, а также контроль продолжительности жизни. В данной работе мы демонстрируем, что вызванный РНК-интерференцией нокадаун *stc* в эмбриональных и нервных клетках приводит к изменению продолжительности жизни, причем характер изменения зависит от типа клеток и пола особей. Основываясь на полученных результатах, мы предполагаем, что ген *stc*, участвуя в различных процессах на молекулярном, клеточном и организменном уровне на всех этапах жизни, в результате влияет и на сложный интегральный признак — продолжительность жизни. В то же время мы показываем, что уменьшение экспрессии *stc* в нейронах позволяет смягчить негативное влияние глутамата на продолжительность жизни, возможно, препятствуя развитию глутаматной эксайтотоксичности, модифицируя программу клеточной гибели и предотвращая смерть особей в результате фенотоза.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** *Drosophila melanogaster*, продолжительность жизни, старение, подвижность, эмбриональное развитие, нервная система, транскрипционные факторы, глутамат, эксайтотоксичность, фенотоз.

DOI: 10.31857/S0320972522120156, EDN: NHLUJG

### ВВЕДЕНИЕ

Уже давно не вызывает сомнений, что несмотря на характерную для большинства количественных признаков достаточно низкую наследуемость (16–30%) [1, 2], продолжительность жизни контролируется геномом. В настоящее время выявлено более 2000 генов, влияющих на продолжительность жизни животных [3]. Показано, что мутации в этих генах могут увеличивать продолжительность жизни на 90, 150 и 46% у *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* и *Mus musculus* соответственно [4]. Известно также, что с возрастом определенным образом изменяется уровень экспрессии генов [5].

Обобщая имеющиеся факты и гипотезы [6], можно предположить, что продолжительность жизни может определяться либо специальной программой, контролируемой генами, либо изменением экспрессии большого числа или даже всех генов в результате постепенного «износа» организма в процессе жизни. Например, была выдвинута [7] и позднее существенно развита [8] гипотеза о существовании запрограммированной смерти организма, фенотоза. Согласно этой гипотезе, существует одна или несколько эволюционно закрепленных генетических программ, позволяющих убирать из популяции старых особей для того, чтобы освободить среду обитания и ресурсы для более молодых. В то же время тот факт, что после смерти организма в течение некоторого времени продолжается экспрессия генов [9], причем

\* Адресат для корреспонденции.

экспрессируются те группы генов, активность которых существенно возрастает при старении организма [10, 11], позволяет предположить, что на молекулярном уровне процесс старения имеет сходство с началом разложения, которое происходит после смерти организма, и, следовательно, не может регулироваться какой-либо программой. Различить эти два механизма участия генов в контроле продолжительности жизни не всегда просто.

Ранее, изучая генетический контроль продолжительности жизни у модельного организма *D. melanogaster*, мы показали, что изменение транскрипции генов, кодирующих нейрональные транскрипционные факторы Stc, Escargot и Lim3, на разных этапах развития организма и в разных тканях может по-разному влиять на продолжительность жизни [12–14]. С одной стороны, наши результаты еще раз указывают на вклад транскрипционной регуляции в контроль продолжительности жизни и скорости старения. С другой стороны, свойства Stc позволяют предположить, что он может быть участником одной из программ фенотоза.

Транскрипционный фактор Stc, имеющий в своем составе несколько РНК-, ДНК- и белок-связывающих доменов, кодирует ген *shuttlecraft* (*stc*), который был открыт и описан у дрозофилы около 25 лет тому назад как гомолог фактора транскрипции NF- $\kappa$ B человека [15]. Экспрессия гена *stc*, имеющего длину около 4,5 тысяч пар оснований, наблюдается в течение всей жизни. Ранее мы показали, что мутация, приводящая к небольшому (в 1,5–2 раза) уменьшению транскрипции гена на поздней эмбриональной стадии, вызывает изменение фенотипа взрослых особей – увеличение продолжительности жизни и замедление скорости старения [12]. Учитывая неординарность этого результата, мы сочли необходимым подтвердить роль эмбриональной транскрипционной регуляции *stc* в контроле продолжительности жизни, используя другую модельную генетическую систему.

Экспрессия Stc в нервной системе эмбрионов необходима для нормального развития мотонейронов и роста аксонов и, как следствие, иннервации мышечных клеток [15]. Поздние эмбрионы с мутацией *stc*, приводящей к исчезновению функционального белка, гибнут в результате нарушения мотонейронов и, как следствие, отсутствия мышечных сокращений, необходимых для вылупления молодой личинки [15]. Известно, что избыток глутамата в синаптических щелях мотонейронов может привести к индукции глутаматной эксайтотоксичности, гибели нервной ткани и фенотозу

[16]. Поскольку Stc играет ключевую роль в формировании и функции мотонейронов [15], а также взаимодействует с сигнальным путем Tor (Target of rapamycin), влияющим на работу metabotropic glutamate receptor mGluR [17], мы предположили, что изменение работы Stc в нейронах может повлиять на индуцированную глутаматом программу гибели, и попытались оценить эту гипотезу экспериментально.

В этой работе мы демонстрируем результаты, показывающие, что вызванный РНК-интерференцией нокдаун *stc* в эмбрионах приводит к увеличению продолжительности жизни. Этот результат, как и полученный ранее [12], свидетельствует о том, что уровень эмбриональной транскрипции гена *stc* влияет на продолжительность жизни взрослых особей. Таким образом, *stc* играет роль как в контроле процесса развития, так и в контроле процесса старения, являясь примером гена, функции которого не ограничены участием в специализированной генетической программе, контролирующей продолжительность жизни. В то же время мы демонстрируем данные, указывающие на то, что уменьшение экспрессии нейронального транскрипционного фактора Stc в нейронах влияет на продолжительность жизни, причем эффект зависит от содержания глутамата в корме мух. Этот факт обсуждается с точки зрения предложенной гипотезы о смягчающем действии нокдауна *stc* на процесс фенотоза, вызванного глутаматной эксайтотоксичностью. В целом, полученные нами данные говорят в пользу сосуществования различных принципов, лежащих в основе генетического контроля продолжительности жизни.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Линии *Drosophila melanogaster*.** Линии *w<sup>1118</sup>*; *P{GD1543}v47973* (*stc*HD1) и *w<sup>1118</sup>*; *P{GD1543}v47974/TM3, Ubx* (*stc*HD2) с трансгенами, локализованными во второй и третьей хромосоме соответственно, использовали для нокдауна гена *stc*, приводящего к уменьшению уровня экспрессии транскрипционного фактора Stc. Исходную линию без трансгенов *w<sup>1118</sup>* (*stc*K) использовали в качестве контрольной в соответствии с рекомендацией производителя. Линии были получены из Vienna *Drosophila* Resource Center (VDRC; IDs 47973, 47974, 60000).

Линии *y<sup>1</sup> w<sup>1</sup>\**; *P{w<sup>+</sup>mW.hs}=en2.4-GAL4}e22c*; *P{w<sup>+</sup>mC}=tGPH}4/TM3, Ser<sup>1</sup>* (Эмб1) и *w<sup>1</sup>\**; *P{w<sup>+</sup>mW.hs}=GawB}337Y* (Эмб2)

использовали для индукции нокдауна гена *stc* на эмбриональной стадии. Линии

$P\{w[+mW.hs]=GawB\}elav[C155]w[1118]$ ;

$P\{w[+mC]=UAS-Dcr-2.D\}2$  (HC1)

и  $w[*]$ ;  $P\{GAL4-elav.L\}3$  (HC2)

использовали для индукции нокдауна гена *stc* во всех нейронах. Линии были получены из Bloomington *Drosophila* Stock Center (RRID:BDSC\_8165, RRID:BDSC\_32119, RRID:BDSC\_25750, RRID:BDSC\_8760).

С помощью методики, описанной ранее [13], во всех линиях проверили присутствие *Wolbachia*, симбионта дрозофилы, способного повлиять на ее продолжительность жизни [18]. Линии, в которых была обнаружена *Wolbachia*, лечили культивированием на корме с тетрациклином (250 мг/литр) в течение трех поколений, а затем реабилитировали на корме без тетрациклина в течение трех поколений перед использованием в экспериментах.

**Измерение продолжительности жизни.** Девственных самцов и самок собирали в течение дня и помещали в пробирки со стандартной питательной средой (манная крупа, изюм, сахар, дрожжи, агар-агар, нипагин, пропионовая кислота, бензилпенициллин и стрептомицин), по 5 мух каждого пола/генотипа отдельно. Количество мертвых мух в пробирках регистрировали ежедневно; живых мух переносили на свежий корм раз в неделю; все культуры содержали при 25 °С и влажности 60%. В экспериментах для оценки влияния глутамата выборка составила 50 особей на вариант опыта, в остальных случаях – 100 особей на вариант опыта. Глутамат (в форме водного раствора моногидрата глутамата натрия (pharma grade) («Panreac» Германия)) добавляли при заливке остывающего корма до конечных добавленных концентраций 10 мкМ и 10 мМ. Для оценки полученных данных использовали стандартный статистический анализ продолжительности жизни [19, 20]. Для оценки статистической значимости различий между кривыми выживания использовали тест Манна–Уитни, для оценки поздних эффектов – тест Флеминга–Харрингтона. Расчеты выполняли в программе OASIS 2 [21]. Для коррекции на множественность сравнений использовали поправку Бонферрони.

**Измерение подвижности.** Девственных самцов и самок собирали в течение дня, помещали в пробирки с питательной средой, по 5 мух каждого пола/генотипа отдельно, и далее содержали так же, как в опытах по измерению продолжительности жизни. Спонтанную подвижность измеряли у мух в возрасте 10, 20, 40 и 50 дней в одно и то же время суток в условиях слабого искусственного освещения. Вы-

борка составила 50–100 особей на возраст/пол/генотип. Пробирки диаметром 25 мм, содержащие по 5 девственных мух одного пола/возраста/генотипа, в горизонтальном положении помещали в *Drosophila* Population Monitor («TriKinetics», США). Пересечение мухами трех светодиодных колец, работающих в инфракрасном диапазоне, регистрировали с помощью программы DAMSystem308. Подвижность характеризовали по итогам двух измерений как среднее значение суммы пересечений всех колец в пробирке за 5 мин. Для попарного сравнения средних показателей на пол/возраст/генотип использовали ANOVA (главный фактор – генотип). Для коррекции на множественность сравнений использовали поправку Бонферрони.

**Количественная ПЦР в реальном времени.** Определение количества мРНК проводили методом количественной ПЦР. Выделение тотальной РНК проводили из партий по 50 голов взрослых самцов с использованием реагента ExtractRNA («Evrogen», Россия); затем обрабатывали ДНКазой I («Sigma-Aldrich», США) и получали кДНК с использованием ревертазы Mint («Evrogen») и праймера oligo(dT)<sub>15</sub>, согласно инструкциям производителя. Количественную ПЦР проводили с флуоресцентным красителем SYBR Green I в приборе MiniOpticon real-time PCR detection system («Bio-Rad», США).

Для определения количества кДНК *stc* применяли праймеры Stc-rt1 и Stc-rt2. Для нормализации относительной экспрессии между образцами использовали два референсных гена, *gdh* и *adh*, уровень транскрипции которых сравним с *stc*. Для амплификации кДНК референсных генов использовали праймеры (прямой и обратный): Gdh1 и Gdh2 – для *gdh*; Adhd3 и Adhr3 – для *adh* (синтезированы «Evrogen»). Последовательности праймеров представлены в таблице.

Последовательности праймеров, использованных в работе

Название праймера	Последовательность праймеров 5'→3'
Stc-rt1	AACAGGCACAGCAACAACA
Stc-rt2	CCAGGGAGAAGTTAGTGTAG
Gdh1	TATGCCACCGAGCACCAGATTCC
Gdh2	GGATGCCCTTACCTTCTGCTTCTT
Adhd3	CGGCATCTAAGAAGTGATACTCCCAAAA
Adhr3	TGAGTGTGCATCGAATCAGCCTTATT

Анализ данных ПЦР и расчет относительной нормализованной экспрессии *stc* проводили с помощью программы CFX Manager 3.1 («Bio-Rad», 2012). Среднее количество мРНК *stc* на генотип получали на основе 3–5 независимых выделений РНК и трех технических повторностей количественной ПЦР на каждый образец кДНК. Для попарного сравнения средних использовали ANOVA (главный фактор – генотип). Для коррекции на множественность сравнений использовали поправку Бонферрони.

**Измерение количества АТР.** Количество АТР оценивали, согласно методике Vernace et al. [22], с модификациями. К каркасам взрослых мух (по 4 на опыт) добавляли 100 мкл 2,5%-ной трихлоруксусной кислоты с последующей гомогенизацией на льду и центрифугированием (11 500 g, 10 мин при 4 °С). Уровни АТР определяли в просветленных супернатантах (20 мкл) после нейтрализации образцов добавлением 6 мкл 1 М Tris-HCl (pH 9,5). Затем образцы разводили в соотношении 1 : 500 в воде, не содержащей АТР, и 20 мкл каждого образца смешивали с 80 мкл реагента для анализа АТР из набора Enliten® ATP Assay System («Promega», США). Люминесценцию измеряли с помощью люцинометра Modulus Microplate Luminometer («Turner BioSystems», США). Чтобы нормализовать уровни АТР по концентрации белка, 80 мкл оставшихся лизатов мух нейтрализовали добавлением 24 мкл 1 М Tris-HCl (pH 9,5), и 1 мкл использовали для проведения измерения количества белка по Брэдфорду (реактивы «Bio-Rad»). Для каждого варианта опыта измерения повторяли не менее 4 раз. Для попарного сравнения средних использовали ANOVA (главный фактор – генотип). Для коррекции на множественность сравнений использовали поправку Бонферрони.

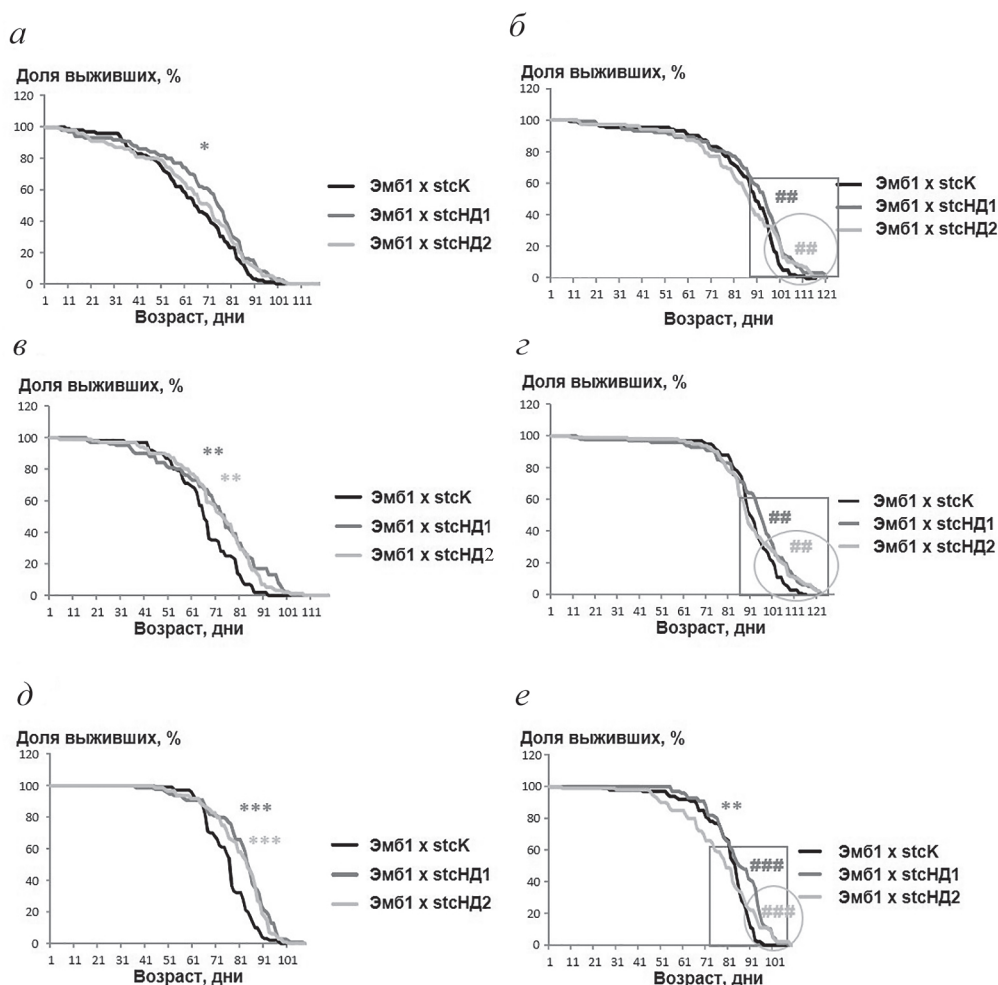
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для нокдауна гена *stc*, приводящего к уменьшению уровня экспрессии транскрипционного фактора *Stc*, были использованы две линии (*stc*НД1 и *stc*НД2), полученные в VDRC (<https://stockcenter.vdrc.at/control/main>). Каждая из линий содержит одну и ту же трансгенную конструкцию, которая кодирует последовательность, позволяющую синтезировать короткие фрагменты двунизовой РНК, комплементарной гену *stc* и обеспечивающей подавление его экспрессии в результате РНК-интерференции. Согласно данным производителей, обе линии характеризуются хорошей (выше 50%)

эффективностью специфического нокдауна мРНК *stc* и полным отсутствием неспецифических мишеней (<http://www.genomernai.org/v17/reagentdetails/47973>, <http://www.genomernai.org/v17/reagentdetails/47974>). Линии различаются только местом встройки трансгена в геном исходной линии без трансгенов, которую мы использовали в качестве контрольной (*stc*K).

**Эмбриональная экспрессия *stc* определяет продолжительность жизни взрослых особей.** Ранее мы показали, что мутация гена *shuttle craft* (*stc*), уменьшающая его экспрессию на эмбриональной стадии, увеличивает продолжительность жизни самок дрозофилы [12]. Чтобы подтвердить или опровергнуть этот результат, мы проанализировали влияние на продолжительность жизни нокдауна *stc* в эмбрионах. Для получения особей с нокдауном гена использовали индукционную систему GAL4-UAS [23]. Самцы контрольной линии (*stc*K) и каждой из двух линий с трансгенами, содержащими конструкции, обуславливающие подавление экспрессии *stc* по механизму РНК-интерференции (*stc*НД1 и *stc*НД2), были скрещены с самками каждой из двух линий с трансгенами, способными индуцировать экспрессию конструкций в клетках эмбриона (Эмб1 и Эмб2). Продолжительность жизни была измерена у девственных самцов и самок с нокдауном *stc* и самцов и самок контрольного генотипа, полученных в потомстве от этих скрещиваний.

Нокдаун *stc* в эмбрионах увеличил среднюю продолжительность жизни самцов в пяти проанализированных вариантах опыта из шести (рис. 1, *a*, *в* и *д*; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни). В одном случае незначительный сдвиг кривой выживания вправо по сравнению с контрольной кривой не означал достоверного увеличения средней продолжительности жизни (рис. 1, *a*; *stc*НД2). Кривые выживания во всех 6 случаях отклоняются от контрольных вправо в позднем возрасте, причем достоверность отличий подтверждается тестом Флеминга–Харрингтона (табл. S1 в Приложении). Это может свидетельствовать о том, что, помимо общего влияния на продолжительность жизни, эмбриональный нокдаун *stc* специфически снижает риск смерти от факторов, играющих роль в пожилом возрасте. В целом полученные результаты, основанные на анализе двух разных линий с трансгенными конструкциями, обеспечивающими нокдаун *stc*, и двух разных линий, индуцирующих экспрессию трансгенных конструкций в эмбрионе, достаточно надежно свидетельствуют о том, что снижение экспрессии *stc* на эмбриональной стадии удлиняет жизнь самцов.

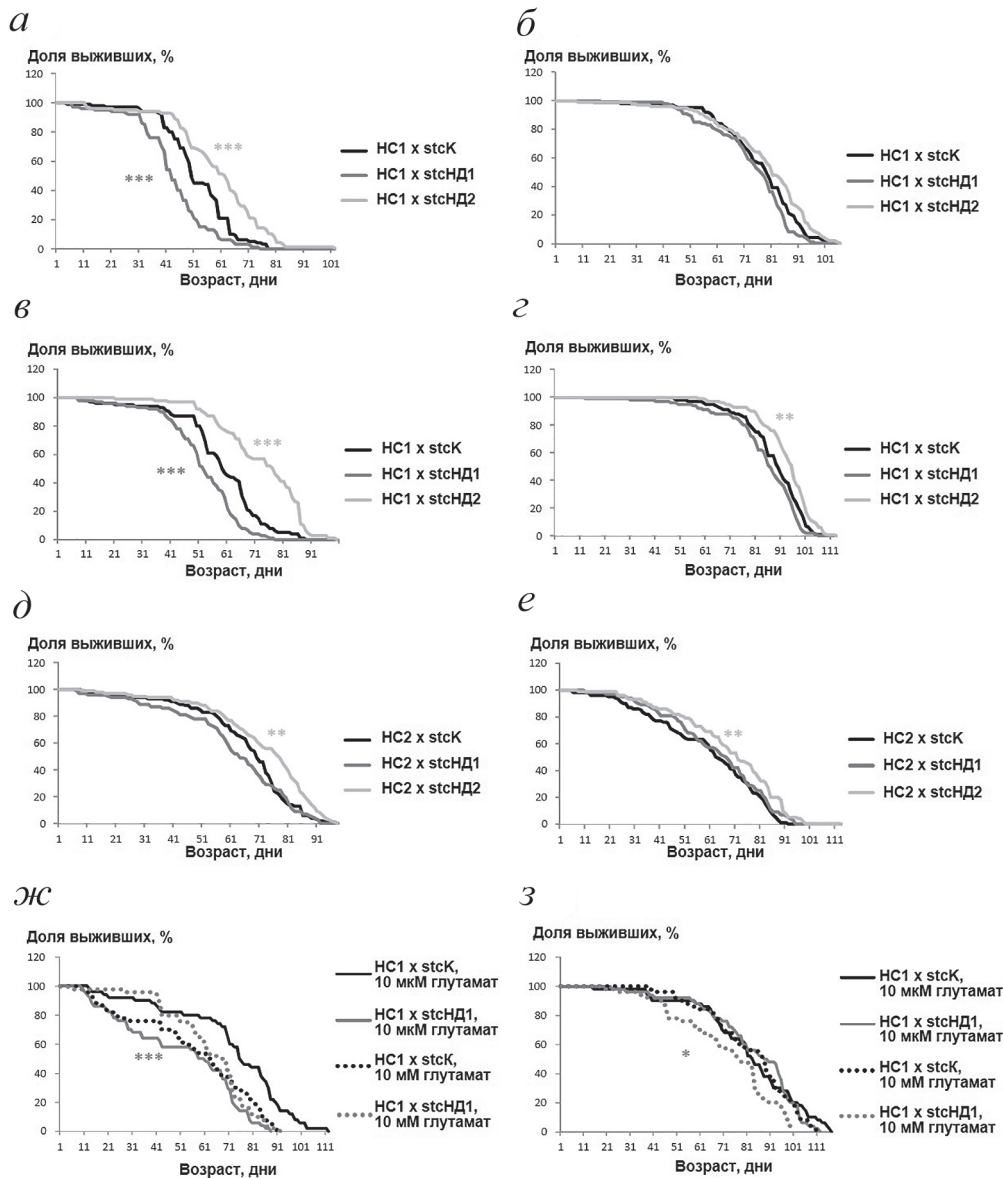


**Рис. 1.** Влияние эмбрионального нокдауна гена *stc* на продолжительность жизни самцов (*a*, *v* и *d*) и самок (*b*, *z* и *e*) *D. melanogaster*. Описание генотипов см. в разделе «Материалы и методы». Достоверность отличия от контрольного генотипа, тест Манна–Уитни: \*  $p < 0,025$ ; \*\*  $p < 0,005$ ; \*\*\*  $p < 0,0005$  (попарные сравнения выполнены с учетом поправки Бонферрони). Прямоугольниками и овалами выделены области, в которых продолжительность жизни отличается у самок контрольного генотипа и самок с нокдауном *stc* (stcНД1 и stcНД2 соответственно); тест Флеминга–Харрингтона для поздних отличий: #  $p < 0,025$ ; ##  $p < 0,005$ ; ###  $p < 0,0005$  (попарные сравнения выполнены с учетом поправки Бонферрони). Темно-серые и светло-серые звездочки и решетки – сравнение stcНД1 и stcНД2 соответственно с stcK.

Нокаун *stc* в эмбрионах не привел к изменению средней продолжительности жизни самок в пяти проанализированных вариантах опыта из шести (рис. 1, *b*, *z* и *e*; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни). Однако на рис. 1 видно, что кривые выживания во всех 6 случаях отклоняются от контрольных вправо в позднем возрасте, причем достоверность отличий подтверждается тестом Флеминга–Харрингтона (табл. S1 в Приложении). Таким образом, снижение экспрессии *stc* на эмбриональной стадии увеличивает максимальную продолжительность жизни самок.

В более ранней нашей работе [12] мы показали, что мутация в гене *stc*, которая снижает экспрессию гена только на эмбриональной стадии, приводит к увеличению продолжительности жизни девственных самок, но не

меняет продолжительности жизни самцов. Пытаясь воспроизвести этот результат с помощью нокауна *stc* в эмбрионах, мы обнаружили противоположный эффект – уменьшение экспрессии *stc* затронуло преимущественно продолжительность жизни самцов. Такая разница может объясняться как степенью подавления экспрессии гена, так и не выявленной нами разницей в тонких особенностях тканеспецифичности подавления его экспрессии. Действительно, с одной стороны, изменение количества транскрипта *stc* в результате мутации в регуляторной области гена было проверено в нескольких, но не во всех тканях. С другой стороны, специфичность использованных в данной работе линий, индуцирующих экспрессию в эмбрионах, также может быть охарактеризована не полностью. Тем не менее



**Рис. 2.** Влияние нейронального нокдауна гена *stc* на продолжительность жизни самцов (а, в, д и ж) и самок (б, г, е и з) *D. melanogaster* в нормальных условиях (а–е) и при добавлении в корм глутамата (ж и з). Описание генотипов см. в разделе «Материалы и методы». Достоверность отличия от контрольного генотипа, тест Манна–Уитни: а, в, д и ж – \*  $p < 0,025$ ; \*\*  $p < 0,005$ ; \*\*\*  $p < 0,0005$  (парные сравнения выполнены с учетом поправки Бонферрони); ж, з – \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . Темно-серые и светло-серые звездочки – сравнение stcND1 и stcND2 соответственно с stcK

не вызывает сомнений, что экспрессия *stc* и в том, и в другом случае изменена главным образом или исключительно в клетках эмбриона, и это изменение приводит к увеличению продолжительности жизни.

Такой вывод позволяет говорить о весьма интересном принципе, лежащем в основе генетического контроля продолжительности жизни: изменение экспрессии гена в раннем возрасте может влиять на продолжительность жизни взрослых особей. Мы предполагаем, что такое влияние может быть связано с тем, что благодаря эпигенетическому наследованию

в ряду клеточных поколений у взрослых особей сохраняется уровень экспрессии мишеней транскрипционного фактора, заданный на эмбриональной стадии. Еще одна причина может заключаться в том, что у взрослых особей сохраняются структурно-функциональные особенности в первую очередь нервной системы, которые были заложены в раннем развитии. Какое бы объяснение ни оказалось верным, скорее всего, в данном случае участие генов в контроле продолжительности жизни не связано с реализацией какой-либо специфической для процесса старения генетической программы.

**Нейрональная экспрессия *stc* влияет на продолжительность жизни.** Учитывая, что у дрозофилы *Stc* был описан как нейрональный транскрипционный фактор [24], мы проанализировали влияние на продолжительность жизни нокдауна *stc* в нейронах. Самцы контрольной линии (*stcK*) и каждой из двух линий с трансгенами, содержащими конструкции, обуславливающие подавление экспрессии *stc* по механизму РНК-интерференции (*stcНД1* и *stcНД2*), были скрещены с самками каждой из двух линий с трансгенами, способными индуцировать экспрессию конструкций в нервных клетках (НС1 и НС2). Продолжительность жизни была измерена у девственных самцов и самок с нокдауном *stc* и самцов и самок контрольного генотипа, полученных в потомстве от этих скрещиваний.

Нокдаун *stc* в нейронах, вызванный трансгеном, локализованным в линии *stcНД1*, уменьшил среднюю продолжительность жизни самцов в двух проанализированных вариантах опыта из трех (рис. 2; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни). В третьем случае незначительный сдвиг кривой выживания влево по сравнению с контрольной кривой не означал достоверного уменьшения средней продолжительности жизни (рис. 1, д; *stcНД1*). Тем не менее в целом эти результаты позволяют говорить об уменьшении продолжительности жизни самцов с нокдауном *stc*, вызванным трансгеном, присутствующем в линии *stcНД1*. У самок продолжительность жизни не изменилась (рис. 2, б, г и е; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни).

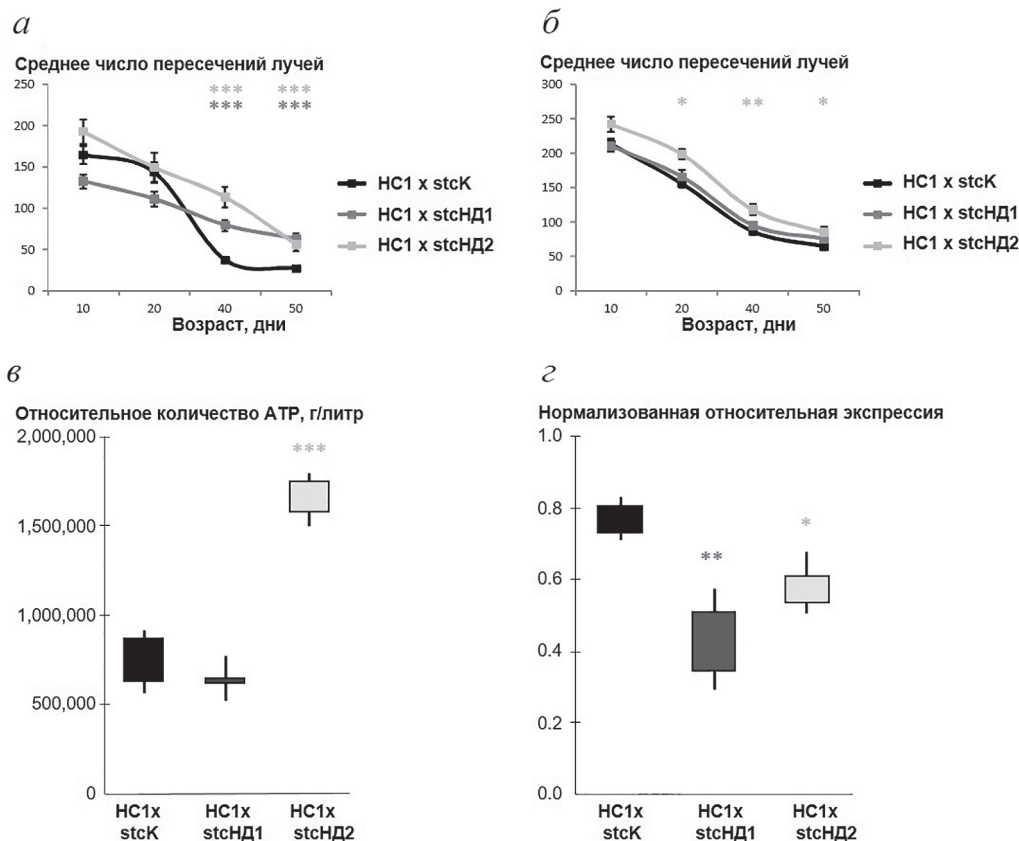
Нокдаун *stc* в нейронах, вызванный трансгеном, локализованным в линии *stcНД2*, увеличил среднюю продолжительность жизни самцов во всех трех проанализированных вариантах опыта (рис. 2, а, в и д; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни) и самок в двух из трех проанализированных вариантов опыта (рис. 2, г и е; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни), в то время как в варианте третьего опыта небольшое визуальное увеличение не достигло уровня достоверности (рис. 2, б; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни). В целом эти результаты позволяют говорить об увеличении продолжительности жизни самцов и самок с нокдауном *stc*, вызванным трансгеном, присутствующим в линии *stcНД2*.

Учитывая, что исследуемые трансгены были активированы в нейронах, мы проверили, повлияет ли нокдаун *stc* на работу нервной системы, используя в качестве интегрального признака, характеризующего функциональный статус нервной системы, спонтанную

подвижность мух. Оказалось, что нокдаун *stc* в нейронах, вызванный трансгеном, локализованным в линии *stcНД1*, увеличил подвижность самцов в возрасте 40 и 50 дней по сравнению с контрольными самцами (рис. 3, а; табл. S2 в Приложении). Таким образом, снижение подвижности с возрастом у таких самцов идет медленнее, чем у контрольных, и можно предположить, что ресурсы нервной системы у них расходуются медленнее, что сохраняет большую ее пластичность в хронологически позднем возрасте. Этот результат находится в хорошем соответствии с предположением о том, что уменьшение экспрессии *stc* в нервной системе эмбрионов способствует сохранению ресурса функционирования нейромышечных синапсов в позднем возрасте [25]. При этом нокдаун *stc* в нейронах, вызванный трансгеном, локализованным в линии *stcНД1*, не повлиял на количество АТФ в стенке тела (каркасе) самцов, где расположена основная масса мотонейронов (рис. 3, в; табл. S2 в Приложении), следовательно, изменение их подвижности не связано с изменением энергетического статуса. Молекулярные и клеточные основы увеличения подвижности у самцов с нокдауном *stc* требуют дальнейшего изучения. У самок с нокдауном *stc* в нейронах, вызванным трансгеном, локализованным в линии *stcНД1*, подвижность, как и продолжительность жизни, не изменилась (рис. 3, б и в; табл. S2 в Приложении), в связи с чем количество АТФ у них не измеряли.

Нокдаун *stc* в нейронах, вызванный трансгеном, локализованным в линии *stcНД2*, увеличил подвижность самцов в возрасте 40 и 50 дней (рис. 3, а; табл. S1 в Приложении), а также подвижность самок в возрасте 20, 40 и 50 дней (рис. 3, б; табл. S2 в Приложении). Если рассматривать подвижность как индикатор скорости старения [26], то этот результат хорошо соответствует увеличению продолжительности жизни, вызванному нокдауном *stc* у самцов и самок рассматриваемого генотипа. У самцов увеличение подвижности в этом случае было сопряжено также с увеличением уровня энергетического обмена (рис. 3, в; табл. S2 в Приложении).

В отличие от эмбрионального нокдауна, нейрональный нокдаун, вызванный разными трансгенами, по-разному повлиял на продолжительность жизни. Различным оказалось и влияние на подвижность мух, характеризующую эффективность работы нервной системы, и количество АТФ, характеризующее уровень энергетического обмена. Полученные результаты заставили задуматься о том, чем обусловлена специфика влияния активации двух разных



**Рис. 3.** Влияние нейронального нокдауна гена *stc* на подвижность самцов (*а*) и самок (*б*) *D. melanogaster*; количество АТР в каркасах самцов (*в*) и количество транскрипта *stc* в головах самцов (*г*). Описание генотипов см. в разделе «Материалы и методы». Достоверность отличия от контрольного генотипа, ANOVA: \*  $p < 0,025$ ; \*\*  $p < 0,005$ ; \*\*\*  $p < 0,0005$  (парные сравнения выполнены с учетом поправки Бонферрони). Темно-серые и светло-серые звездочки – сравнение *stcHD1* и *stcHD2* соответственно с *stcK*

трансгенов в нейронах на эти признаки. Прежде всего, мы проверили, действительно ли активация обоих трансгенов приводит к уменьшению количества транскрипта гена *stc* в головах мух (самцов), где находится основная масса нервной ткани, и подтвердили, что это так, используя метод количественной обратной ПЦР (рис. 3, *г*; табл. S2 в Приложении). Следовательно, наблюдаемые различия вызваны не отсутствием эффекта нокдауна *stc* у особей с тем или иным трансгеном, содержащим конструкцию, обуславливающую подавление экспрессии *stc* по механизму РНК-интерференции, а другими причинами. Согласно информации производителя (<https://stockcenter.vdrc.at/control/main>), структура трансгенов идентична в использованных в работе линиях, однако линии отличаются местом встройки трансгена в геном, которое неизвестно. Известно, однако, что в линии *stcHD2* встройка летальна в гомозиготном состоянии, поэтому можно предположить, что именно в этой линии встройка трансгена в неизвестный район генома изменила работу какого-то важного гена. Это изменение вместе с изменением экспрессии гена *stc* могло по-

влиять на продолжительность жизни и другие признаки. По-видимому, этот гипотетический ген важен в нервной системе, но не участвует в эмбриогенезе, поэтому его эффект проявился только в нейронах. Возможно, он участвует в контроле энергетического обмена, и изменение его работы в результате встройки трансгена приводит к увеличению количества АТР и, как следствие, улучшению подвижности. Таким образом, фенотипические эффекты встройки трансгена в линии *stcHD2*, скорее всего, обусловлены суммарным влиянием уменьшения экспрессии *stc* и летальной инсерции в гетерозиготном состоянии. Было бы интересно в дальнейшем выяснить природу этой инсерции, поскольку вызванное ей изменение положительно сказывается на продолжительности жизни. О влиянии же самого нокдауна *stc* на продолжительность жизни мы можем судить, используя линию *stcHD1*.

Связь между изменением экспрессии *stc*, продолжительности жизни и свойств нервной системы имеет неоднозначный характер. Представленные в этой статье данные свидетельствуют о том, что как уменьшение, так и



увеличение продолжительности жизни может сопровождаться улучшением функционального статуса нервной системы в старости. Более того, результаты, представленные в этой статье и более ранней нашей работе [25], показывают, что уменьшение экспрессии гена *stc* может приводить как к уменьшению продолжительности жизни, сопряженному с улучшением интегрального функционального статуса нервной системы в старости, так и к увеличению продолжительности жизни, сопряженному со снижением активности синапсов в раннем возрасте, и вследствие этого к возможному сохранению ресурса их пластичности в процессе старения мух. Действительно, в последнее время появляются факты, указывающие на существование ассоциации между функциональным статусом синапсов и сохранением их пластичности, а также связи свойств синапсов с продолжительностью жизни. Так, было показано, что у мух с мутацией *sleepless*, увеличивающей синаптическую активность, снижен ресурс пластичности синапсов [27], уменьшена продолжительность жизни и увеличена скорость старения [28]. У *C. elegans* возбуждение нейронов увеличивается с возрастом, а ингибирование возбуждения во всех или только в глутаматергических или холинергических нейронах увеличивает продолжительность жизни. У человека и других млекопитающих в процессе старения также нарастает синаптическая активность и возбудимость, в частности, в глутаматергических нейронах, а когорты долгожителей на молекулярном уровне характеризуются значимым снижением экспрессии генов, связанных с синаптической активностью. Показано, что такой фенотип часто опосредуется изменением активности нейронального транскрипционного фактора REST (Repressor Element 1 Silencing Transcription factor) и его гомологов [29]. У дрозофилы отсутствуют прямые гомологи этого белка [30], также ее геном не обогащен последовательностями-мишенями, связанными с этой системой регуляции ([http://bioinformatics.leeds.ac.uk/group/online/RE1db/re1db\\_home.htm](http://bioinformatics.leeds.ac.uk/group/online/RE1db/re1db_home.htm)), однако наиболее вероятным функциональным аналогом REST считается сплайсированная форма нейронального транскрипционного фактора *Chn*. Этот белок, преимущественно, локализуется в аксонах [31] и участвует в общих комплексах с *Ada2b*, вероятным партнером *Stc* [32]. Это позволяет предположить, что у дрозофилы *Stc* участвует в процессах, функционально гомологичных процессам ассоциированного снижения синаптической активности и увеличения продолжительности жизни, опосредо-

ванными нейрональным транскрипционным фактором REST и его гомологами. Связь *Stc* с регуляцией синаптической активности в мотонейронах и контролем продолжительности жизни навела нас на мысль о возможном участии этого транскрипционного фактора в программе фенотипа, индуцированного избытком глутамата.

**Влияние нейрональной экспрессии *stc* на продолжительность жизни зависит от содержания глутамата в пище.** Один из механизмов фенотипа связан с индукцией глутаматной эксайтотоксичности – процесса гибели нервной ткани, индуцируемого избытком глутамата, накапливающегося в процессе старения организма или выбрасываемого нейронами и глиальными клетками в ответ на различные сигналы: возрастные и нейродегенеративные заболевания, ишемию, травму. Если организм не способен, используя физиологические механизмы, снизить концентрацию глутамата в синаптических щелях, запускается цепная реакция, вызывающая его гибель [33].

Учитывая, что нейрональный транскрипционный фактор *Stc* действует в мотонейронах, контролируя рост их аксонов и формирование и функцию синапсов [15], гибель мух, связанная с глутаматной эксайтотоксичностью, вызвана в первую очередь нарастающим синаптическим возбуждением именно в мотонейронах [16], а уменьшение экспрессии *Stc* приводит к снижению активности синапсов [25], мы предположили, что нокаунт *stc* может смягчить эксайтотоксичность, вызванную избытком глутамата.

Для проверки этого предположения мы попытались спровоцировать эксайтотоксическую реакцию дрозофилы путем добавления избыточных концентраций глутамата в корм. Для добавления в корм были использованы растворы глутамата в более низкой и более высокой концентрации. Известно, что глутамат в концентрации 10 мкМ вызывает эксайтотоксический ответ у особей с генетически обусловленными нарушениями синаптической функции [34], а глутамат в добавленной концентрации 10 мМ вызывает изменение продолжительности жизни мух дикого типа [35]. В то же время в деталях эффекты алиментарного глутамата, выявленные разными авторами, отличаются, и по-видимому, зависят от базового содержания глутамата в исходных компонентах используемого корма [36]. Отметим, что конечная концентрация глутамата в корме, использованном в наших экспериментах, нам не известна. Для представленной в этой работе грубой оценки влияния глутамата на



**Рис. 4.** Гипотетический механизм влияния сниженной экспрессии гена *stc* на глутаматную эксайтотоксичность, приводящую к феноптозу. Схематическое описание глутаматной эксайтотоксичности основано на данных статьи Belov et al. [33]

продолжительность жизни мух со сниженной экспрессией гена *stc* мы использовали особей с нокдауном *stc* в нейронах, вызванным трансгеном, локализованным в линии *stc*ND1.

Добавление в корм глутамата в низкой концентрации (10 мкМ) не привело к изменению соотношения между продолжительностью жизни самцов и самок контрольного генотипа и самцов и самок с уменьшенной экспрессией *stc*. Как и на стандартном корме, продолжительность жизни самцов с нокдауном *stc* уменьшилась, а продолжительность жизни самок не изменилась по сравнению с контрольной (рис. 2, *ж* и *з*; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни).

Продолжительность жизни самцов контрольного генотипа, живших на корме с высокой добавленной концентрацией глутамата (10 мМ), оказалась ожидаемо более низкой, чем у самцов контрольного генотипа, живших на корме с добавлением глутамата в низкой концентрации (10 мкМ), что, предположительно,

можно объяснить развитием глутаматной эксайтотоксичности. Однако, с точки зрения проверяемого нами предположения, важно, как добавление в корм глутамата в высокой концентрации изменило соотношение между продолжительностью жизни самцов и самок контрольного генотипа и самцов и самок с уменьшенной экспрессией *stc*.

Оказалось, что в условиях избытка глутамата самцы с уменьшенной экспрессией *stc* живут не хуже самцов контрольного генотипа, поскольку различие между продолжительностью жизни тех и других недостоверно (рис. 2, *ж*; табл. S1 в Приложении, тест Манна–Уитни). Таким образом, у самцов уменьшение экспрессии *stc* в нервной системе может смягчать негативное влияние глутамата на продолжительность жизни. Возможно, этот эффект означает, что уменьшение экспрессии *stc* в нервной системе препятствует развитию глутаматной эксайтотоксичности и способно предотвратить гибель особей в результате феноптоза (рис. 4).

В этом случае исследуемый нами ген *stc* не является участником программы клеточной гибели, однако способен взаимодействовать с ней, модифицируя ее работу.

Продолжительность жизни самок контрольного генотипа, живших на корме с добавлением глутамата в высокой концентрации (10 мМ), не изменилась по сравнению с продолжительностью жизни самок контрольного генотипа, живших на корме с добавлением глутамата в низкой концентрации (10 мкМ). Таким образом, глутамат в концентрации 10 мМ не оказал негативного действия на продолжительность жизни самок с нормальным уровнем экспрессии *stc*, что, предположительно, можно объяснить отсутствием глутаматной эксайтотоксичности. Примечательно, что самки с нокаутом *stc* в нейронах на корме с добавлением глутамата в высокой концентрации (10 мМ) стали жить хуже самок контрольного генотипа. Поскольку у самок контрольного генотипа глутамат в концентрации 10 мМ, по всей видимости, не вызвал эксайтотоксичности, интерпретация данных о снижении продолжительности жизни самок с уменьшенной экспрессией *stc* в этих условиях представляется затруднительной. В целом изучение действия глутамата на продолжительность жизни в зависимости от уровня экспрессии транскрипционного фактора *Stc* в нервной системе представляется весьма интересным и заслуживает продолжения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши исследования показывают, что ген *stc*, кодирующий транскрипционный фактор РНК-полимеразы II, участвует в контроле продолжительности жизни. Однако нам представляется, что этот ген не является участником какой-либо специальной генетической программы, связанной с регуляцией длительности жизни. Характер влияния *stc* на продолжительность жизни достаточно сложен, поскольку изменение работы гена на разных стадиях развития, в разных типах клеток, у особей разного пола изменяет ее по-разному. Мы предполагаем,

что, участвуя в многочисленных молекулярных и клеточных процессах, выполняя многообразные функции и определяя развитие и особенности работы организма на всех этапах жизни, ген в результате влияет и на один из наиболее интегральных признаков — продолжительность жизни. В то же время полученные нами данные позволяют предположить, что ген *stc* может модифицировать специальные программы клеточной гибели, в частности, феноптоз, вызванный глутаматной эксайтотоксичностью. В совокупности результаты нашей работы свидетельствуют о сосуществовании различных принципов, лежащих в основе участия генов в контроле продолжительности жизни.

**Вклад авторов.** Симоненко А.В., Пасюкова Е.Г. — концепция работы; Симоненко А.В., Рощина Н.В., Рыбина О.Ю. — проведение экспериментов; Симоненко А.В., Рощина Н.В., Кременцова А.В., Рыбина О.Ю., Пасюкова Е.Г. — анализ данных и обсуждение результатов исследования; Симоненко А.В., Рыбина О.Ю., Пасюкова Е.Г. — написание текста; Рощина Н.В., Кременцова А.В. — редактирование текста статьи.

**Финансирование.** Работа была поддержана государственным заданием НИЦ «Курчатовский институт» — ИМГ, регистрационный № 121030200227.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность Пороховнику Л.Н., обратившему их внимание на возможную роль глутамата в модуляции эффектов исследуемого гена. Авторы признательны Bloomington *Drosophila* Stock Center (США, <https://bdsc.indiana.edu/index.html>) и Vienna *Drosophila* Resource Center (Австрия, <https://stockcenter.vdrc.at/control/main>) за многолетнее содействие нашим исследованиям.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

**Дополнительные материалы.** Приложение к статье опубликовано на сайте журнала «Биохимия» (<https://biochemistrymoscow.com>).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Finch, C. E., and Tanzi, R. E. (1997) Genetics of aging, *Science*, **278**, 407-411, doi: 10.1126/science.278.5337.407.
2. Melzer, D., Pilling, L. C., and Ferrucci, L. (2020) The genetics of human ageing, *Nat. Rev. Genet.*, **21**, 88-101, doi: 10.1038/s41576-019-0183-6.
3. Tacutu, R., Thornton, D., Johnson, E., Budovsky, A., Barardo, D., Craig, T., Diana, E., Lehmann, G., Toren, D., Wang, J., Fraifeld, V. E., and de Magalhaes, J. P. (2018) Human Ageing Genomic Resources: new and updated databases, *Nucleic Acids Res.*, **46**, D1083-D1090, doi: 10.1093/nar/gkx1042.

4. Bunu, G., Toren, D., Ion, C. F., Barardo, D., Sarghie, L., Grigore, L. G., de Magalhaes, J. P., Fraifeld, V. E., and Tacutu, R. (2020) SynergyAge, a curated database for synergistic and antagonistic interactions of longevity-associated genes, *Sci. Data*, **7**, 366, doi: 10.1038/s41597-020-00710-z.
5. The Tabula Muris Consortium (2020) A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse, *Nature*, **583**, 590-595, doi: 10.1038/s41586-020-2496-1.
6. Kowald, A., and Kirkwood, T. B. L. (2016) Can aging be programmed? A critical literature review, *Ageing Cell*, **15**, 986-998, doi: 10.1111/accel.12510.
7. Weismann, A. (1889) Essays upon heredity and kindred biological problems, *Science*, **ns-14**, 237-238, doi: 10.1126/science.ns-14.348.237.b.
8. Skulachev, M. V., and Skulachev, V. P. (2018) in *Apoptosis and Beyond: The Many Ways Cells Die* (Radosевич, J., ed) Wiley, Hoboken, N. J., pp. 237-288.
9. Pozhitkov, A. E., Neme, R., Domazet-Loso, T., Leroux, B. G., Soni, S., Tautz, D., and Noble, P. A. (2017) Tracing the dynamics of gene transcripts after organismal death, *Open Biol.*, **7**, 160267, doi: 10.1098/rsob.160267.
10. Edwards, M. G., Anderson, R. M., Yuan, M., Kendzierski, C. M., Weindruch, R., and Prolla, T. A. (2007) Gene expression profiling of aging reveals activation of a p53-mediated transcriptional program, *BMC Genomics*, **8**, 80, doi: 10.1186/1471-2164-8-80.
11. Isildak, U., Somel, M., Thornton, J. M., and Donertas, H. M. (2020) Temporal changes in the gene expression heterogeneity during brain development and aging, *Sci. Rep.*, **10**, 4080, doi: 10.1038/s41598-020-60998-0.
12. Roshina, N. V., Symonenko, A. V., Kremntsova, A. V., Trostnikov, M. V., and Pasyukova, E. G. (2014) Embryonic expression of shuttle craft, a *Drosophila* gene involved in neuron development, is associated with adult lifespan, *Ageing (Albany NY)*, **6**, 1076-1093, doi: 10.18632/aging.100712.
13. Symonenko, A. V., Roshina, N. V., Kremntsova, A. V., and Pasyukova, E. G. (2018) Reduced neuronal transcription of escargot, the *drosophila* gene encoding a snail-type transcription factor, promotes longevity, *Front. Genet.*, **9**, 151, doi: 10.3389/fgene.2018.00151.
14. Rybina, O. Y., Schelkunov, M. I., Veselkina, E. R., Sarantseva, S. V., Kremntsova, A. V., Vysokikh, M. Y., Melentev, P. A., Volodina, M. A., and Pasyukova, E. G. (2019) Knockdown of the neuronal gene *Lim3* at the early stages of development affects mitochondrial function and lifespan in *Drosophila*, *Mech. Ageing Dev.*, **181**, 29-41, doi: 10.1016/j.mad.2019.111121.
15. Stroumbakis, N. D., Li, Z., and Tolia, P. P. (1996) A homolog of human transcription factor NF-X1 encoded by the *Drosophila* shuttle craft gene is required in the embryonic central nervous system, *Mol. Cell. Biol.*, **16**, 192-201, doi: 10.1128/MCB.16.1.192.
16. Peng, J. J., Lin, S. H., Liu, Y. T., Lin, H. C., Li, T. N., and Yao, C. K. (2019) A circuit-dependent ROS feedback loop mediates glutamate excitotoxicity to sculpt the *Drosophila* motor system, *Elife*, **8**, e47372, doi: 10.7554/eLife.47372.
17. Schrott, G. M., Nigh, E. A., Chen, W. G., Hu, L., and Greenberg, M. E. (2004) BDNF regulates the translation of a select group of mRNAs by a mammalian target of rapamycin-phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway during neuronal development, *J. Neurosci.*, **24**, 7366-7377, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1739-04.2004.
18. McGraw, E. A., and O'Neill, S. L. (2004) *Wolbachia pipiensis*: intracellular infection and pathogenesis in *Drosophila*, *Curr. Opin. Microbiol.*, **7**, 67-70, doi: 10.1016/j.mib.2003.12.003.
19. Wilmoth, J. R., and Horiuchi, S. (1999) Rectangularization revisited: variability of age at death within human populations, *Demography*, **4**, 475-495, doi: 10.2307/2648085.
20. Carey, J. R. (2003) *Longevity: The Biology and Demography of Life Span*, Princeton University Press, Princeton.
21. Han, S. K., Lee, D., Lee, H., Kim, D., Son, H. G., Yang, J. S., Lee, S. V., and Kim, S. (2016) OASIS 2: online application for survival analysis 2 with features for the analysis of maximal lifespan and healthspan in aging research, *Oncotarget*, **7**, 56147-56152, doi: 10.18632/oncotarget.11269.
22. Vernace, V. A., Arnaud, L., Schmidt-Glenewinkel, T., and Figueiredo-Pereira, M. E. (2007) Aging perturbs 26S proteasome assembly in *Drosophila melanogaster*, *FASEB J.*, **21**, 2672-2682, doi: 10.1096/fj.06-6751com.
23. Brand, A. H., and Perrimon, N. (1993) Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes, *Development*, **118**, 401-415, doi: 10.1242/dev.118.2.401.
24. Tolia, P. P., and Stroumbakis, N. D. (1998) The *Drosophila* zygotic lethal gene shuttle craft is required maternally for proper embryonic development, *Dev. Genes Evol.*, **208**, 274-282, doi: 10.1007/s004270050182.
25. Симоненко А. В., Рощина Н. В., Кременцова А. В., Пасюкова Е. Г. (2020) Структурно-функциональная изменчивость нейрональных генов в природных популяциях определяет продолжительность жизни дрозофилы в *Дрозофила в генетике и медицине*, НИЦ «Курчатовский институт», ПИЯФ, Гатчина, стр. 94.
26. Jones, M. A., and Grotewiel, M. (2011) *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and other behaviors, *Exp. Gerontol.*, **46**, 320-325, doi: 10.1016/j.exger.2010.08.012.
27. Huang, S., Piao, C., Beuschel, C. B., Gotz, T., and Sigrist, S. J. (2020) Presynaptic active zone plasticity encodes sleep need in *Drosophila*, *Curr. Biol.*, **30**, 1077-1091 e1075, doi: 10.1016/j.cub.2020.01.019.
28. Bushey, D., Hughes, K. A., Tononi, G., and Cirelli, C. (2010) Sleep, aging, and lifespan in *Drosophila*, *BMC Neurosci.*, **11**, 56, doi: 10.1186/1471-2202-11-56.

29. Zullo, J. M., Drake, D., Aron, L., O'Hern, P., Dhamne, S. C., Davidsohn, N., Mao, C. A., Klein, W. H., Rotenberg, A., Bennett, D. A., Church, G. M., Colaiacovo, M. P., and Yankner, B. A. (2019) Regulation of lifespan by neural excitation and REST, *Nature*, **574**, 359-364, doi: 10.1038/s41586-019-1647-8.
30. Bruce, A. W., Donaldson, I. J., Wood, I. C., Yerbury, S. A., Sadowski, M. I., Chapman, M., Gottgens, B., and Buckley, N. J. (2004) Genome-wide analysis of repressor element 1 silencing transcription factor/neuron-restrictive silencing factor (REST/NRSF) target genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10458-10463, doi: 10.1073/pnas.0401827101.
31. Yamasaki, Y., Lim, Y. M., Minami, R., and Tsuda, L. (2021) A splicing variant of Charlatan, a *Drosophila* REST-like molecule, preferentially localizes to axons, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **578**, 35-41, doi: 10.1016/j.bbrc.2021.09.002.
32. Gramates, L. S., Agapite, J., Attrill, H., Calvi, B. R., Crosby, M. A., Dos Santos, G., Goodman, J. L., Goutte-Gattat, D., Jenkins, V. K., Kaufman, T., Larkin, A., Matthews, B. B., Millburn, G., Strelets, V. B., and the FlyBase Consortium (2022) Fly Base: a guided tour of highlighted features, *Genetics*, **220**, iyac035, doi: 10.1093/genetics/iyac035.
33. Belov, K. D., Kriska, J., Tureckova, J., and Anderova, M. (2020) Ischemia-triggered glutamate excitotoxicity from the perspective of glial cells, *Front. Cell Neurosci.*, **14**, 51, doi: 10.3389/fncel.2020.00051.
34. Chang, S., Bray, S. M., Li, Z., Zarnescu, D. C., He, C., Jin, P., and Warren, S. T. (2008) Identification of small molecules rescuing fragile X syndrome phenotypes in *Drosophila*, *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 256-263, doi: 10.1038/nchembio.78.
35. Zhou, X., Escala, W., Papapetropoulos, S., and Zhai, R. G. (2010)  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine induces neurological deficits and shortened life span in *Drosophila*, *Toxins (Basel)*, **2**, 2663-2679, doi: 10.3390/toxins2112663.
36. Kasozi, K. I., Namubiru, S., Kiconco, O., Kinyi, H. W., Ssempijja, F., Ezeonwumelu, J. O. C., Ninsiima, H. I., and Okpanachi, A. O. (2018) Low concentrations of monosodium glutamate (MSG) are safe in male *Drosophila melanogaster*, *BMC Res. Notes*, **11**, 670, doi: 10.1186/s13104-018-3775-x.

## THE GENE *shuttle craft* AFFECTS THE LIFESPAN OF *Drosophila melanogaster* BY CONTROLLING EARLY DEVELOPMENT AND MODIFYING THE AGING PROGRAM

A. V. Symonenko<sup>1</sup>, N. V. Roshuna<sup>1,2</sup>, A. V. Kremontsova<sup>1,3</sup>,  
O. Y. Rybina<sup>1,4</sup>, and E. G. Pasyukova<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular Genetics, National Research Center "Kurchatov Institute",  
123182 Moscow, Russia; E-mail: egpas@rambler.ru

<sup>2</sup> Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Russian Academy of Sciences,  
119991 Moscow, Russia

<sup>3</sup> Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia

<sup>4</sup> FSBEU HE "Moscow Pedagogical State University", 119991 Moscow, Russia

The fundamental mechanisms underlying the genetic control of lifespan are intensively studied and discussed due to the increasing importance of extending healthy human life. The *sts* gene of the model object *Drosophila melanogaster* encodes a transcription factor, a homologue of the human transcription factor NF-X1, involved in the regulation of neuronal development and other processes, as well as in the control of lifespan. In this work, we demonstrate that *stc* knockdown in embryonic and nerve cells leads to changes in lifespan, with the nature of the change depending on the cell type and sex of individuals. Based on our results, we suggest that the *stc* gene, being involved in the regulation of transcription throughout life, as a result also affects a complex integral trait — lifespan. At the same time, we show that reduction of *stc* expression in neurons can alleviate the negative effect of glutamate on longevity, possibly preventing the development of glutamate excitotoxicity, thus modifying the cell death program and preventing death of individuals due to phenoptosis.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, lifespan, aging, locomotion, embryonic development, nervous system, transcription factors, glutamate, excitotoxicity, phenoptosis