

**ИНСЕРЦИОННЫЕ МУТАЦИИ ГЕНА *shaggy*,  
КОДИРУЮЩЕГО ПРОТЕИНКИНАЗУ GSK3, УВЕЛИЧИВАЮТ  
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *Drosophila melanogaster***

© 2019 г. М. В. Тростников<sup>1,2</sup>, Е. Р. Веселкина<sup>1</sup>, А. В. Кременцова<sup>1,3</sup>,  
Н. В. Рощина<sup>1,2</sup>, Е. Г. Пасюкова<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, 123182 Россия

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

<sup>3</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, 119334 Россия

\*e-mail: [egpas@rambler.ru](mailto:egpas@rambler.ru)

Поступила в редакцию 18.02.2019 г.

После доработки 03.04.2019 г.

Принята к публикации 09.04.2019 г.

Ген *shaggy Drosophila melanogaster* кодирует высококонсервативную серин-треониновую протеинкиназу GSK3 (Glycogen Syntase Kinase 3), которая играет важную роль в различных сигнальных путях и метаболических процессах. В этой работе мы впервые показали, что мутации в гене *shaggy* влияют на продолжительность жизни, причем увеличение продолжительности жизни сопряжено с уменьшением активности синапсов. Полученные нами данные об изменении экспрессии гена *shaggy* у мутантов позволяют предположить, что в основе наблюдаемых изменений фенотипа лежит изменение экспрессии минорных транскриптов гена, индуцированное мутационными изменениями в их регуляторной области.

**Ключевые слова:** продолжительность жизни, нервная система, протеинкиназа GSK3, инсерционные мутации, *Drosophila melanogaster*.

**DOI:** 10.1134/S0016675819090170

GSK3 (Glycogen Syntase Kinase 3) – высококонсервативная серин-треониновая протеинкиназа, которая участвует во множестве сигнальных путей, фосфорилируя более чем 50 белков-мишеней и регулируя эмбриогенез и дифференцировку; обновление, миграцию клеток и апоптоз; транскрипцию генов и метаболизм. В частности, у *Drosophila melanogaster* GSK3 играет важную роль в контроле развития нервной системы и прежде всего в регуляции асимметричного деления нейробластов [1]. Ранее мы продемонстрировали, что функциональные изменения в нескольких генах, участвующих в регуляции этого процесса, а именно в гене *aPKC*, кодирующем GSK3-мишень, атипичную протеинкиназу C, в генах *escargot* и *inscutable* влияют на продолжительность жизни мух [2, 3]. На основе полученных нами данных мы предположили, что изменения в экспрессии генов на эмбриональной стадии могут быть причиной увеличения продолжительности жизни взрослых мух [3]. Было бы весьма интересно понять, действительно ли процесс асимметричного деления нейробластов важен для детерминации продолжительности жизни. Чтобы приблизиться к ответу на

этот вопрос, мы проверили, влияет ли изменение функции GSK3 на продолжительность жизни.

У *Drosophila melanogaster* единственную форму GSK3, GSK3-beta, кодирует ген *shaggy* (*sgg*) (<https://flybase.org/reports/FBgn0003371>). Для выяснения того, влияет ли работа гена и кодируемого им белка на продолжительность жизни, мы использовали традиционный подход – анализ мутаций гена *sgg*. Две линии с инсерционными мутациями, *P{EP}sgg[EP1576] w[1118]* и *y[1] P{EPgy2}sgg[EY02862] w[67c23]*, были получены из центра культур *Drosophila* (Блумингтон, США, <https://bdsc.indiana.edu/index.html>). В качестве контрольных были использованы линии *w[1118]* и *y[1] w[67c23]*, содержащие соответствующие маркеры и не содержащие инсерций. Для дополнительного выравнивания генетического фона каждая линия с мутацией прошла 10 поколений возвратных скрещиваний с соответствующей контрольной линией. Полученные линии, обозначенные *sgg[EP1576]* и *sgg[EY02862]*, были далее использованы в работе. С помощью методики, описанной ранее [3], во всех линиях подтвердили отсутствие *Wolbachia* – симбионта дрозофилы, способного повлиять на ее продолжительность жизни [4].

**Таблица 1.** Параметры, характеризующие продолжительность жизни самцов и самок с мутациями в гене *sgg*

Мутация	Пол	Генотип	<i>N</i>	Средняя (ошибка средней)	Верхняя квартиль	Достоверность отличия от контрольного генотипа, тест Манна–Уитни
<i>sgg</i> [ <i>EP1576</i> ]	♂	Контроль	100	42.21 (1.75)	52.00	$P = 0.29736$
		Мутант	100	41.62 (2.04)	53.00	
		Контроль	100	43.72 (1.97)	59.00	$P = 0.34623$
		Мутант	100	41.41 (2.27)	60.00	
	♀	Контроль	100	37.78 (1.32)	46.50	$P = 0.00061$
		Мутант	100	45.96 (1.69)	58.50	
		Контроль	100	34.40 (1.61)	45.00	$P = 0.00018$
		Мутант	100	44.22 (1.65)	53.50	
<i>sgg</i> [ <i>EY02862</i> ]	♂	Контроль	100	35.77 (1.52)	46.50	$P = 0.33509$
		Мутант	100	36.48 (1.32)	44.50	
		Контроль	100	38.41 (1.29)	47.00	$P = 0.96784$
		Мутант	100	39.36 (1.41)	47.50	
	♀	Контроль	100	49.05 (1.42)	57.50	$P = 0.00004$
		Мутант	100	55.66 (1.38)	64.00	
		Контроль	100	49.82 (1.57)	62.00	$P = 0.00001$
		Мутант	100	59.08 (1.42)	70.50	

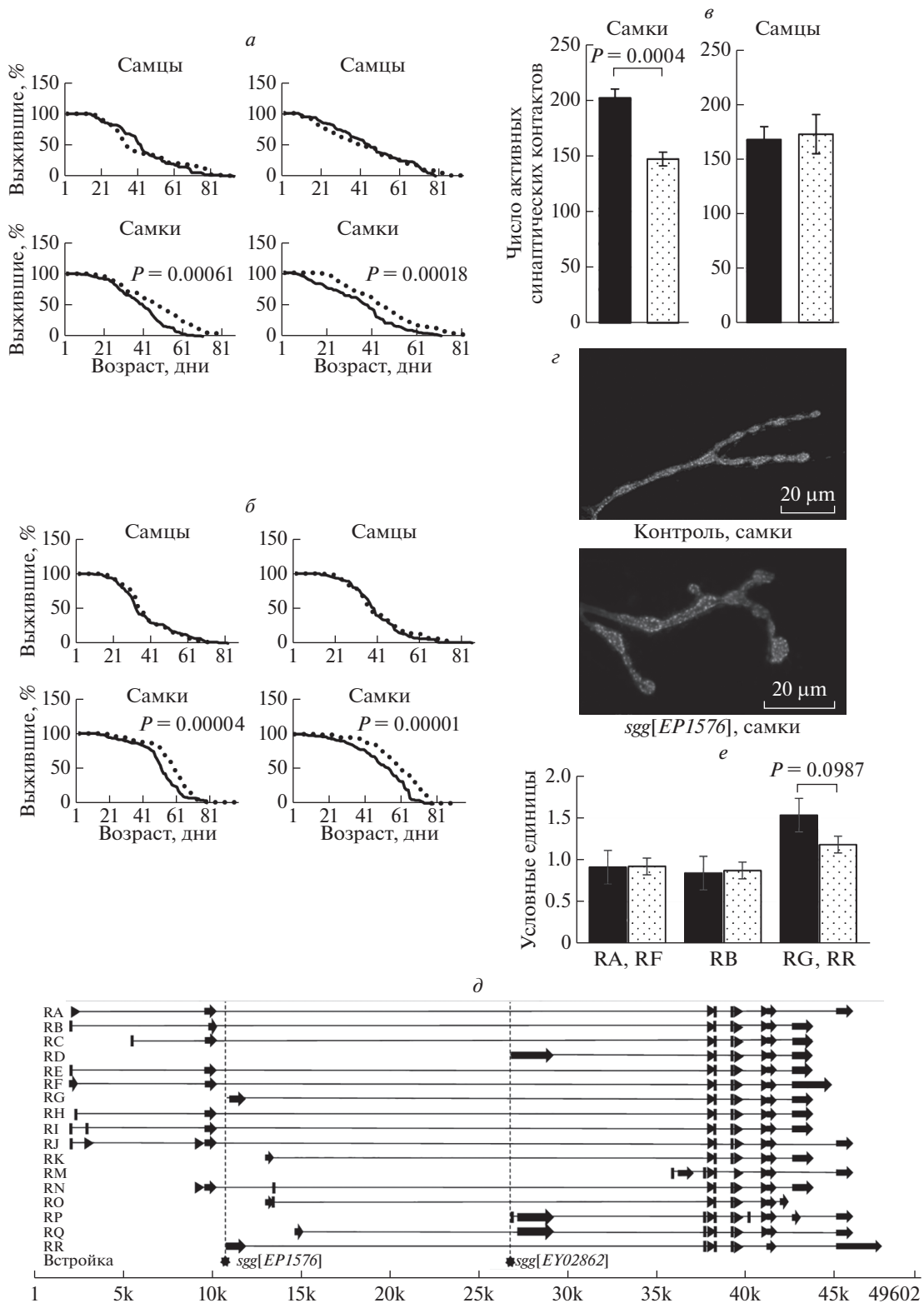
Продолжительность жизни была измерена у девственных самцов и самок мутантных и контрольных генотипов согласно методике, описанной ранее [3]. Девственных особей каждого пола и генотипа отбирали в течение дня и помещали в пробирки со стандартной питательной средой, по 5 самок или самцов отдельно. Количество живых мух в пробирке регистрировали ежедневно; оставшихся в живых мух перекидывали на свежий корм раз в неделю; все культуры вели при 25°C. Выборка составила 100 особей на генотип/пол; такой опыт был повторен дважды. Для оценки полученных данных использовали стандартный статистический анализ продолжительности жизни [5, 6]. Кривые выживания оценивали, используя процедуру Каплана–Мейера. Непараметрический критерий Манна–Уитни использовали для оценки статистической значимости различия между кривыми выживаемости.

Оказалось, что обе мутации не влияют на продолжительность жизни самцов, но достоверно увеличивают продолжительность жизни самок, причем результаты двух независимых опытов хорошо совпадают (табл. 1, рис. 1, *a, б*). Зависимость влияния различных генетических факторов на продолжительность жизни от пола широко известна, хотя природа такой зависимости остается

неясной [7]. Мутация *sgg*[*EP1576*] увеличила продолжительность жизни самок в среднем на 25%, а мутация *sgg*[*EY02862*] – в среднем на 18%. Продолжительность жизни 25% самых долгоживущих самок также увеличилась на 22 и 13%, что свидетельствует о замедлении скорости старения у мутантов.

В контексте работы, проводимой в нашей лаборатории и связанной с исследованием роли нейронных генов в контроле продолжительности жизни, нам хотелось понять, влияют ли мутации гена *sgg* на структуру и функцию нервной системы. Ранее уже было показано, что *sgg*[*EY02862*] угнетает рост и функцию синапсов нейромышечных связей (НМС) [8]. Чтобы оценить влияние *sgg*[*EP1576*] на функцию синапсов, мы охарактеризовали количество активных синаптических контактов в НМС контрольных и мутантных самок на личиночной стадии. НМС личинок дрозофилы часто используются в качестве модельной системы для изучения функции синапсов [9].

Препараты НМС были приготовлены и проанализированы согласно методике, описанной ранее [10]. Личинок третьей стадии препарировали в натрий-фосфатном буфере (phosphate buffered saline, PBS) и фиксировали в 4%-ном параформальдегиде (Sigma-Aldrich) при комнатной



**Рис. 1.** Влияние мутаций на экспрессию гена *sgg* и фенотип. Влияние мутаций *sgg*[EP1576] (а) *sgg*[EY02862] (б) на продолжительность жизни самцов и самок; сплошная линия – контроль, точки – мутант. Влияние мутации *sgg*[EP1576] на активность синапсов у самцов (в) и самок (г) и транскрипцию *sgg* у самок (е); сплошная окраска – контроль, окраска точками – мутант (в, г); препарат НМС личинок, окраска антителами к пероксидазе хрена, маркеру пресинаптических мембран, и белку *Vncu*philot, специфичному для зон активных синаптических контактов, белые точки (г); RA, RB, RF, RG, RR – различные транскрипты гена *sgg* (е). Транскрипты гена *sgg* и местоположение инсерций (д); RA–RR – различные транскрипты гена *sgg*.

температуре в течение 20 мин. Для иммуноокрашивания препараты помещали в блокирующий буфер (BlockPRO, Visual Protein Biotechnology Corporation) на 1 ч при комнатной температуре и инкубировали с первичными антителами в течение ночи при 4°C, а затем с вторичными антителами в течение двух часов и помещали в среду для иммуофлуоресценции (VectaShield, Vector Labs). После каждой стадии обработки препараты промывали в фосфатном буфере (3 × 15 мин). Были использованы первичные антитела против Bruchpilot (DSHB) – белка, специфического для зон активных синаптических контактов [11], и пероксидазы хрена (Jackson ImmunoResearch) – белка, широко используемого в качестве маркера пресинаптических мембран [12]. НМС были проанализированы в четвертой мышце третьего и четвертого сегментов брюшной полости 5–7 личинок на генотип/пол с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (Zeiss LSM 510) и программ ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>) и LSM Image Browser (Zeiss).

Проведенный анализ показал, что у контрольных и мутантных самцов число активных синаптических контактов одинаково, в то время как у самок мутация *sgg*[*EP1576*] приводит к достоверному снижению числа активных синаптических контактов (рис. 1, в, г). Полученный результат говорит о том, что у самок мутация одновременно снижает активность синапсов и увеличивает продолжительность жизни. В целом можно заключить, что у мутантных самок *sgg*[*EP1576*] и *sgg*[*EY02862*] повышенная продолжительность жизни ассоциирована с подавлением синаптической функции.

Влияние мутаций *sgg* на фенотип должно базироваться на изменении экспрессии гена, вызванном мутациями. Ген *sgg* образует 17 аннотированных транскриптов (рис. 1, д), соответствующих 10 аннотированным изоформам белка (<http://flybase.org/reports/FBgn0003371>), однако даже такое количество транскриптов/изоформ не представляет все возможные комбинации альтернативных экзонов и/или альтернативных промоторов. Экспериментально подтверждено существование десяти транскриптов *sgg* и пяти белков Sgg с различной первичной структурой [13]. Белок Sgg-PB, который кодируют шесть аннотированных транскриптов, включая *sgg-RB* (GenBank # AY122193.1), считают основной изоформой, поскольку он был обнаружен на всех стадиях жизненного цикла и в разных тканях [13, 14]. Мы проверили, изменяется ли количество транскрипта *sgg-RB* и белка Sgg-PB у мух с мутациями, используя методы, описанные ранее [10].

Для измерения количества транскриптов из 20–25 целых мух в возрасте 3–5 дней с помощью реагента TRIzol (Invitrogen) и ДНКазы I (Sigma-Aldrich), в соответствии с инструкциями произ-

водителя, выделяли тотальную РНК, всего по три независимых выделения на генотип/пол. Первую цепь кДНК синтезировали с помощью обратной транскриптазы Mint (Евроген) с олиго(dT)-праймерами в соответствии с инструкциями производителя. Количество кДНК определяли с помощью RT-qПЦР, используя SYBR Green I – праймеры, специфичные для *sgg-RB* (RB1 5' ATATACAGATCTTTTGTGGCAA 3'; RB2 5' AGGAGGAAGTTCTTGGACGA 3') и амплификатор MiniOpticon (Bio-Rad). Гены *Gdh* и *Adh* использовали в качестве референсных для нормализации различий в количестве суммарной кДНК между образцами [3]. Относительную экспрессию генов оценивали с помощью программного обеспечения CFX Manager 3.1 (Bio-Rad, 2012). Для измерения количества белка Sgg 20–25 целых мух в возрасте 3–5 дней, 20–25 самок в возрасте 30 дней или головы 50 самок в возрасте 3–5 дней гомогенизировали в 8 М мочеvine; всего по три независимых выделения белка на генотип/пол. Равные количества белка разделяли в 4–12%-ном акриламидном геле Bis/Tris SDS-PAGE, переносили на мембраны Immobilon (Millipore), блокировали в буфере I-Block (Applied Biosystems) при комнатной температуре и инкубировали в течение 1 ч с антителами против GSK3 beta (1 : 300, Abcam). Антитела против бета-актина (1 : 1000, Abcam) использовали для контроля загрузки белка. Далее гибридизовали с вторичными антителами, конъюгированными с щелочной фосфатазой (1 : 30000, Sigma). После проявления мембран относительную интенсивность полос оценивали с помощью программы Image Lab (Bio-rad).

Ни одна мутация не повлияла на количество транскрипта *sgg-RB* у самцов и самок в возрасте 3–5 дней (рис. 1, е, демонстрирует полученный результат на примере самок с мутацией *sgg*[*EP1576*]). Мутация *sgg*[*EP1576*] не повлияла также на количество белка Sgg размером около 55 кДа, который соответствует изоформе PB и ряду других изоформ Sgg (<http://flybase.org/reports/FBgn0003371>), у 3–5-дневных самок ( $0.705 \pm 0.2011$  и  $0.718 \pm 0.2988$  условных единиц,  $P = 0.6725$ ), а также в их головах (мозге) ( $0.887 \pm 0.151$  и  $0.740 \pm 0.1783$  условных единиц,  $P = 0.5281$ ). Можно было предположить, что эффект отсутствует у молодых особей и появляется в том возрасте, когда кривые выживания контрольных и мутантных самок начинают различаться, т.е. после 30 дней (рис. 1, а). Однако и у 30-дневных самок *sgg*[*EP1576*] количество белка Sgg размером около 55 кДа оказалось таким же, как у 30-дневных контрольных самок ( $0.435 \pm 0.113$  и  $0.415 \pm 0.179$  условных единиц,  $P = 0.9241$ ).

Кроме *sgg-RB*, лишь несколько других – минорных – транскриптов *sgg* были описаны в виде полноразмерных кДНК: *sgg-RA* (GenBank # X70863.1); *sgg-RD* (GenBank # BT133153.1); *sgg-RG*

(GenBank # AY119664.1 и # BT050474.1); и *sgg-RO* (GenBank # BT072831.1). Анализ протеома выявил две изоформы Sgg помимо *sgg-PB*: *sgg-PA* и *sgg-PD* в линии эмбриональных клеток Kc167; в тканях мух не было обнаружено дополнительных изоформ [15, 16]. Мутация *sgg[EP1576]* вызвана инсерцией векторной конструкции в ту часть гена *sgg*, которая соответствует интрону транскриптов *sgg-RA*, *sgg-RB*, *sgg-RC*, *sgg-RE*, *sgg-RF*, *sgg-RH*, *sgg-RI*, *sgg-RJ* и *sgg-RN* и 5'-регуляторной области остальных транскриптов. Мутация *sgg[EY02862]* вызвана инсерцией векторной конструкции в ту часть гена *sgg*, которая соответствует интрону тех же транскриптов, а также транскриптов *sgg-RG*, *sgg-RK*, *sgg-RO*, *sgg-RQ* и *sgg-RR*. Мы решили проверить, влияют ли мутации на количество каких-либо минорных транскриптов, и выбрали для этого транскрипты, существование которых подтверждено экспериментально: *sgg-RA*, для которого обе инсерции попадают в интрон, и *sgg-RG*, для которого инсерция, вызывающая мутацию *sgg[EY02862]*, также попадает в интрон, а инсерция, вызывающая мутацию *sgg[EP1576]*, – в 5'-регуляторную область. В процессе подбора специфических для этих транскриптов праймеров мы обнаружили, что эта задача не всегда выполнима из-за сильного структурного сходства разных транскриптов. Используемые нами праймеры были специфичны для *sgg-RA* + *sgg-RF* (RA1 5' GTGAAAGCCAATGAACAGT 3'; RA2 5' TTTACAGCTACTTCTTCGG 3') и для *sgg-RG* + *sgg-RR* (RG1 5' CCCACACTTTCTTCGCTGC 3'; RG2 5' TTGATTGCCACCAGTTCGCC 3'). Ни одна мутация не повлияла на количество транскриптов *sgg-RA* + *sgg-RF* у самцов и самок в возрасте 3–5 дней (рис. 1,е, демонстрирует полученный результат на примере самок с мутацией *sgg[EP1576]*). Количество транскриптов *sgg-RG* + *sgg-RR* у контрольных самок и самок с обеими мутациями *sgg[EY02862]* оказалось одинаковым, у самок с мутацией *sgg[EP1576]* количество транскриптов *sgg-RG* + *sgg-RR* визуально отличалось от контрольного (рис. 1,е), а вероятность того, что это отличие достоверно, составила 90% ( $P < 0.10$ ). При оценке достоверности отличий по сложным количественным признакам иногда стандартный порог достоверности ( $P < 0.05$ ) изменяют до  $P < 0.10$ . Допустимость такой процедуры по-разному оценивается разными учеными, и единого мнения не выработано [17]. То, что нам не удалось продемонстрировать высоко достоверных отличий, может объясняться небольшим количеством минорных транскриптов в клетках. Нельзя исключить, что транскрипты *sgg-RG* + *sgg-RR* или один из них специфичны для какого-то типа клеток и поэтому различия в их количестве трудно выявить при исследовании материала из целых мух. Тем не менее полученные нами результаты указывают на то, что инсерции могут влиять на количество тех транскриптов, в чью регуляторную область они попа-

дают. Представляется целесообразным исследовать роль отдельных транскриптов гена *sgg* в контроле продолжительности жизни не с помощью мутаций, а с помощью индукции сверхэкспрессии или вызванного РНК-интерференцией нокадауна индивидуальных транскриптов, используя бинарную систему *GSL4-UAS* [18]. Этот метод позволит направленно менять уровень экспрессии того или иного транскрипта *sgg* и соответствующей ему изоформы белка Sgg в выбранных тканях.

В этой работе мы впервые продемонстрировали роль гена *sgg* в контроле продолжительности жизни и показали, что увеличение продолжительности жизни, вызванное мутациями *sgg*, сопряжено со снижением синаптической функции. В основе таких изменений фенотипа скорее всего лежит изменение экспрессии отдельных минорных транскриптов гена, индуцированное мутационными изменениями в их регуляторной области.

Мы искренне благодарны Л.В. Олениной за консультации и обсуждение работы. Мы выражаем глубокую признательность Центру культур *Drosophila* (Блумингтон, США, <https://bdsc.indiana.edu/index.html>) за многолетнее содействие нашим исследованиям.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института молекулярной генетики РАН.

Работа была поддержана Государственным заданием ИМГ РАН № АААА-А19-119022590053-3 и грантами РФФИ № 18-34-00934-мол\_а, № 19-34-80042-мол\_эв\_а.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта позвоночных животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Colosimo P.F., Liu X., Kaplan N.A., Tolwinski N.S. GSK3beta affects apical-basal polarity and cell-cell adhesion by regulating aPKC levels // *Dev. Dyn.* 2010. V. 239. P. 115–125. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21963>
2. Pasyukova E.G., Symonenko A.V., Roshina N.V. et al. Neuronal genes and developmental neuronal pathways in *Drosophila* lifespan control // *Life Extension, Healthy Ageing and Longevity. 3: Life Extension: Lessons from Drosophila.* Switzerland: Springer International Publ., 2015. P. 3–37. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-18326-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-18326-8_1)
3. Symonenko A.V., Roshina N.V., Krementsova A.V., Pasyukova E.G. Reduced neuronal transcription of *escargot*, the *Drosophila* gene encoding a Snail-type tran-

- scription factor, promotes longevity // *Front. Genet.* 2018. V. 9. P. 151.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00151>
4. McGraw E.A., O'Neill S.L. *Wolbachia pipientis*: intracellular infection and pathogenesis in *Drosophila* // *Curr. Opin. Microbiol.* 2004. V. 7. P. 67–70.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.12.003>
  5. Wilmoth J.R., Horiuchi S. Rectangularization revisited: variability of age at death within human populations // *Demography.* 1999. V. 36. P. 475–495.
  6. Carey J.R. Longevity: The Biology and Demography of Life Span. Princeton: Princeton Univ. Press, 2003. 304 p.
  7. Tower J. Sex-specific gene expression and life span regulation // *Trends Endocrinol. Metab.* 2017. V. 28. P. 735–747.  
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.07.002>
  8. Franciscovich A.L., Mortimer A.D., Freeman A.A. et al. Overexpression screen in *Drosophila* identifies neuronal roles of GSK-3 beta/*shaggy* as a regulator of AP-1-dependent developmental plasticity // *Genetics.* 2008. V. 180. P. 2057–2071.  
<https://doi.org/10.1534/genetics.107.085555>
  9. Ruiz-Canada C., Budnik V. Introduction on the use of the *Drosophila* embryonic/larval neuromuscular junction as a model system to study synapse development and function, and a brief summary of pathfinding and target recognition // *Int. Rev. Neurobiol.* 2006. V. 75. P. 1–31.  
[https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(06\)75001-2](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(06)75001-2)
  10. Rybina O.Y., Sarantseva S.V., Veselkina E.R. et al. Tissue-specific transcription of the neuronal gene *Lim3* affects *Drosophila melanogaster* lifespan and locomotion // *Biogerontology.* 2017. V. 18. P. 739–757.  
<https://doi.org/10.1007/s10522-017-9704-x>
  11. Wagh D.A., Rasse T.M., Asan E. et al. Bruchpilot, a protein with homology to ELKS/CAST, is required for structural integrity and function of synaptic active zones in *Drosophila* // *Neuron.* 2006. V. 49. P. 833–448.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.008>
  12. Franco B., Bogdanik L., Bobinnec Y. et al. Shaggy, the homolog of glycogen synthase kinase 3, controls neuromuscular junction growth in *Drosophila* // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 6573–6577.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1580-04.2004>
  13. Ruel L., Pantescio V., Lutz Y. et al. Functional significance of a family of protein kinases encoded at the shaggy locus in *Drosophila* // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 1657–1669.
  14. Bourouis M. Targeted increase in shaggy activity levels blocks Wingless signaling // *Genesis.* 2002. V. 34. P. 99–102.  
<https://doi.org/10.1002/gene.10114>
  15. Brunner E., Ahrens C.H., Mohanty S. et al. A high-quality catalog of the *Drosophila melanogaster* proteome // *Nat. Biotechnol.* 2007. V. 25. P. 576–583.  
<https://doi.org/10.1038/nbt1300>
  16. Tress M.L., Bodenmiller B., Aebersold R., Valencia A. Proteomics studies confirm the presence of alternative protein isoforms on a large scale // *Genome Biol.* 2008. V. 9. R162.  
<https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-11-r162>
  17. Pritschet L., Powell D., Horne Z. Marginally significant effects as evidence for hypotheses: changing attitudes over four decades // *Psychol. Sci.* 2016. V. 27. P. 1036–1042.  
<https://doi.org/10.1177/0956797616645672>
  18. Brand A.H., Perrimon N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes // *Development.* 1993. V. 118. P. 401–415.

## Insertion Mutations of *shaggy*, the Gene Encoding Protein Kinase GSK3, Increase *Drosophila melanogaster* Lifespan

M. V. Trostnikov<sup>a, b</sup>, E. R. Veselkina<sup>a</sup>, A. V. Kremontsova<sup>a, c</sup>, N. V. Roshina<sup>a, b</sup>, and E. G. Pasyukova<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, Kurchatov Sq. 2, Moscow, 123182 Russia*

<sup>b</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Gubkin St. 3, Moscow, 119991 Russia*

<sup>c</sup>*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Kosygin St. 4, Moscow, 119334 Russia*

\*e-mail: [egpas@rambler.ru](mailto:egpas@rambler.ru)

The *shaggy* gene of *Drosophila melanogaster* encodes a highly conserved serine-threonine protein kinase GSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3), which plays an important role in various signaling pathways and metabolic processes. In this work, we first showed that *shaggy* mutations affect lifespan, with an increase in longevity associated with a decrease in synapse activity. Our data on changes in *shaggy* expression in mutants suggested that an alterations in the expression of minor *shaggy* transcripts induced by mutational changes in their regulatory region underlies the observed phenotypic effects.

**Keywords:** lifespan, the nervous system, protein kinase GSK3, insertion mutations, *Drosophila melanogaster*.