

УДК 577.24;577.214.5;575.832

## ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *Drosophila melanogaster* РЕГУЛИРУЕТСЯ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *nejire* В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ТКАНЯХ И НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ<sup>1</sup>

© 2023 г. Л. А. Коваль<sup>a</sup>, Е. Н. Прошкина<sup>a</sup>, Н. В. Земская<sup>a</sup>, И. А. Соловьёв<sup>a, b</sup>, Е. В. Щеголева<sup>a</sup>, М. В. Шапошников<sup>a</sup>, А. А. Москалев<sup>a, c, d, \*</sup>

<sup>a</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, 167982 Россия

<sup>b</sup>Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, 167001 Россия

<sup>c</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

<sup>d</sup>Российский клинический научный центр геронтологии,

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 129226 Россия

\*e-mail: amoskalev@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 25.12.2022 г.

После доработки 27.03.2023 г.

Принята к публикации 28.03.2023 г.

Гистонацетилтрансферазы семейства СВР/p300 участвуют в регуляции транскрипции и в осуществлении ряда биологических процессов (пролиферации и дифференцировки клеток, развитии организма, регуляции стресс-ответа и метаболизма). В исследовании на плодовой мушке *Drosophila melanogaster* нами впервые проанализировано влияние сверхэкспрессии и нокдауна гена *nejire* (*nej*), кодирующего ортолог белков СВР/p300 человека, в различных тканях (жировом теле, кишечнике, нервной системе) и на разных стадиях жизненного цикла (все стадии развития или только имаго) на продолжительность жизни. Активация *nej* оказывала, в зависимости от способа индукции, а также от половой принадлежности, как положительное, так и отрицательное влияние на продолжительность жизни мух. Установлен эффект увеличения продолжительности жизни (на 6–15%) самок при кондиционной сверхэкспрессии *nej* в кишечнике и конститутивной сверхэкспрессии *nej* в нервной системе. В остальных случаях наблюдали укорочение жизни (до 44%) либо отсутствие статистически значимых изменений. Кроме того, активация *nej* приводила к изменению экспрессии генов стресс-ответа (*Sod1*, *Gadd45*, *Hsp27*, *Hsp68*, *Hif1*). В то же время нокдаун *nej* в большинстве вариантов эксперимента приводил к выраженному отрицательному воздействию на длительность жизни дрозофил.

**Ключевые слова:** гистонацетилтрансфераза, СВР/p300, *nejire*, продолжительность жизни, стрессоустойчивость, *Drosophila melanogaster*

DOI: 10.31857/S0026898423050063, EDN: FYAQLK

### ВВЕДЕНИЕ

Старение – многофакторный процесс дерегуляции гомеостаза и гомеодинамики организма, связанный с дегенеративными изменениями на молекулярном, клеточном, тканевом и системном уровнях [1]. В основе старения лежит нарушение баланса между возникновением поврежденных макромолекул клетки, с одной стороны, и эффективностью работы компенсаторных механизмов, с другой [1]. Значительную роль играют эпигенетические механизмы, поскольку от них

зависит архитектура хроматина и глобальная регуляция экспрессии генов. В частности, ацетилирование гистонов критически важно для формирования структуры хроматина при изменении условий окружающей среды, поддержании протеостаза и митохондриальной функции, для дифференцировки клеток и обеспечения функционирования тканей за счет контроля экспрессии генов гистонацетилтрансферазами [2].

Белки СВР (белок, связывающий CREB) и p300 относятся к транскрипционным коактиваторам из класса ацетилтрансфераз, которые модифицируют ряд ядерных белков, включая гистоны H3 (по K18 и K27) и H4 (по K8) [3]. Однако эти

<sup>1</sup> Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0026898423050063 для авторизованных пользователей.

ацетилтрансферазы могут регулировать также активность негистоновых белков [4, 5]. Изучение профилей экспрессии генов, регулируемых СВР/р300, показало, что они вовлечены в такие процессы, как клеточная сигнализация, пролиферация и дифференцировка, развитие организма, малигнизация, ответ на воздействие стресс-факторов [6, 7]. СВР/р300 вносит важный вклад в запуск механизмов клеточного старения. Например, р300 индуцирует динамическое гиперацетилированное состояние хроматина и способствует образованию активных энхансерных элементов в некодирующих участках генома, что приводит к запуску специфичной для клеточного старения программы экспрессии генов [8]. СВР/р300 вместе с транскрипционным фактором р53 вовлечены в индукцию р21 при клеточном старении [9, 10]. Вместе с тем, с возрастом активность р300 в некоторых тканях снижается, а геропротекторные вмешательства, такие как ограничение питания, усиливают функцию СВР/р300 [2].

Высококонсервативные ацетилтрансферазы семейства СВР/р300 встречаются как у беспозвоночных, так и у млекопитающих [11]. Несмотря на важную роль СВР/р300 в процессах клеточного старения, его вклад в продолжительность жизни организма не исследован. Цель данной работы состояла в изучении эффектов сверхэкспрессии и нокдауна гена *nejire* (*nej*) *Drosophila melanogaster*, кодирующего ортолог СВР, в клетках жирового тела, кишечника и нервной системы на продолжительность жизни (ПЖ) мух.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Линии *D. melanogaster*.** В работе использовали трансгенные линии дрозофил с UAS-конструкциями и драйверами GAL4.

Линия *EP-nej* (#30733, Блумингтон, США) содержит в X хромосоме инсерцию энхансерного элемента (EP), определяющего активацию экспрессии *nej* под контролем промотора UAS [12, 13]. *UAS-nej* (#32573, Блумингтон) содержит в третьей хромосоме копию гена *nej* под контролем промотора UAS. *UAS-nej.siRNA(X)* (#32576, Блумингтон) и *UAS-nej.siRNA(2)* (#32577, Блумингтон) экспрессируют двухцепочечную РНК для РНК-интерференции *nej* под контролем UAS. Конструкции встроены в X и вторую хромосому соответственно. Эффективность использованных UAS-конструкций подтверждена ранее [14–16].

Конструкция *ELAV-GS-GAL4* (#43642, Блумингтон), встроенная в хромосому 3, активирует RU486-зависимую экспрессию *GS-GAL4* в нейронах под действием мифепристона (RU486). *S106-GS-GAL4* (#8151, Блумингтон) экспрессирует RU486-активируемый *GS-GAL4* в клетках жирового тела. Конструкция встроена во вторую хро-

мосому. *TIGS-2-GS-GAL4* (получена от L. Se-roude, Университет Куинс, Кингстон, Канада) содержит конструкцию для экспрессии *GS-GAL4* в клетках кишечника. *ELAV-GAL4* (#8765, Блумингтон), локализованная во второй хромосоме, вырабатывает конститутивный драйвер GAL4 в клетках нервной системы. *D42-GAL4* (#8816, Блумингтон), встроенная в третью хромосому, конститутивно экспрессирует GAL4 в мотонейронах.

**Активация сверхэкспрессии и сайленсинг гена *nejire*.** Для сверхэкспрессии и нокдауна гена *nej* использовали систему GAL4/UAS [17, 18].

В случае сверхактивации UAS-линия содержала дополнительную копию исследуемого гена под контролем промотора UAS. При нокдауне она несла дцРНК, специфично подавляющую один из исследуемых генов посредством РНК-интерференции, под контролем UAS.

В качестве GAL4-компонента использовали кондиционные (мифепристон-активируемые) драйверы GAL4-GeneSwitch или конститутивные GAL4. Применение этих драйверов позволяет контролировать уровень экспрессии исследуемых генов, стадию развития (имаго или в течение всего жизненного цикла) и возраст дрозофил, при котором происходит индукция экспрессии, а также локализацию подавления или сверхактивации генов (повсеместно или тканеспецифично).

Для получения экспериментальных особей, содержащих обе конструкции, девственных самок UAS-линии скрещивали с самцами GAL4-линии.

Если использовали один из кондиционных драйверов, то добавление мифепристона (RU486, “Merck”, США) в питательную среду потомства от этого скрещивания приводило к активации транскрипционного фактора GAL4-GeneSwitch и индукции транскрипции UAS-конструкции. Чтобы снизить влияние мифепристона на продолжительность жизни, отбирали самцов и девственных самок [19], которых рассаживали отдельно по 30 особей в пробирку. На поверхность питательной среды в пробирках с опытными вариантами наносили по 30 мкл раствора мифепристона (3.2 мг/мл в 96%-ном этаноле). В качестве контроля использовали мух с тем же генотипом, но живущих на питательной среде без мифепристона (в пробирки с этими мухами добавляли по 30 мкл 96%-ного этанола). Схема и условия эксперимента со сверхэкспрессией и нокдауном *nej* были идентичными, отличались только линии, используемые для скрещивания.

При конститутивной сверхэкспрессии *nej* у потомков скрещивания транскрипционный фактор GAL4 запускал экспрессию дополнительной копии этого гена в течение всего жизненного цикла. В качестве контроля использовали дрозофил родительских линий. Генетический фон всех

**Таблица 1.** Нуклеотидные последовательности праймеров

Ген-мишень	Прямой праймер (5' → 3')	Обратный праймер (5' → 3')
<i>nej</i>	GATCCACTGCAATCGCAAACCC	TCCAGTTCGAGGTGATCGTTCCTTC
<i>Gadd45</i>	AAGTCGCGCACAGATACTCACG	TTTGTGTTGTTTCGGCAGCTGGTC
<i>Hif1</i>	TGAGCACAGGCGACCCAAATTAC	TGTCCTGTATGTTTCGCCTCGTC
<i>Hsp27</i>	ACTGGGTCGTCGTCGTTATTTCG	CGCGCGACGTGACATTTGATTG
<i>Hsp68</i>	TCAAGTGTGTTGAGGGCGAGAGG	ACGCCAGTGAGATCGAATGTGC
<i>Sod1</i>	TGCACGAGTTCGGTGACAACAC	TCCTTGCCATACGGATTGAAGTGC
$\beta$ - <i>Tubulin56D</i>	GCAACTCCACTGCCATCC	CCTGCTCCTCCTCGAACT
<i>eEF1<math>\alpha</math>2</i>	AGGGCAAGAAGTAGCTGGTTTTCG	GCTGCTACTACTGCGTGTGTTGTTG
<i>RpL32</i>	GAAGCGCACCAAGCACTTCATC	CGCCATTTGTGCGACAGCTTAG

используемых линий был предварительно выровнен по линии *w<sup>1118</sup>* (#3605, Блумингтон).

**Условия содержания дрозофил.** Мух содержали в постоянных условиях в климатической камере Binder KBF720-ICH (“Binder”, Германия) при температуре 25°C, относительной влажности воздуха 60% и 12 ч режиме освещения. Состав питательной среды, на которой содержали контрольных и опытных мух при проведении всех экспериментов, адаптирован из работы [20]: вода – 1 л, кукурузная мука – 92 г, сухие дрожжи – 32.1 г, агар-агар – 5.2 г, глюкоза – 136.9 г.

**Количественная ПЦР в реальном времени с этапом обратной транскрипции.** Для верификации сверхэкспрессии гена *nej* и анализа уровня экспрессии генов стресс-ответа использовали по 20 имаго самцов и 10 имаго самок в возрасте 5 сут. Экспрессию измеряли методом количественной ПЦР в режиме реального времени с этапом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). РНК выделяли из целых тел имаго с помощью Augum Total RNA Mini Kit (“Bio-Rad”, США) по инструкции изготовителя. Концентрацию РНК измеряли с помощью Quant-iT RNA Assay Kit (“Invitrogen”, США). Далее синтезировали кДНК по инструкции iScript cDNA Synthesis Kit (“Bio-Rad”). Смесь для проведения реакции ПЦР готовили по инструкции изготовителя qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”, Россия) и праймеров (табл. 1). ПЦР проводили в амплификаторе CFX96 (“Bio-Rad”), используя следующую программу:

- 1) 95.0°C, 30 с;
- 2) 95.0°C, 10 с;
- 3) 60.0°C, 30 с;
- 4) пункты 2 и 3 повторяли 39 раз.

Уровень экспрессии гена *nej* в скрещиваниях рассчитывали относительно экспрессии гена домашнего хозяйства  $\beta$ -*Tubulin56D* с использованием программного обеспечения CFX Manager 3.1 (“Bio-Rad”). Статистическую значимость различий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Уровень экспрессии гена *nej* и генов стресс-ответа (*Gadd45*, *Hif1*, *Hsp27*, *Hsp68*, *Sod1*) рассчитывали относительно уровня референсных генов ( $\beta$ -*Tubulin56D*, *eEF1 $\alpha$ 2*, *RpL32*) с использованием программного обеспечения CFX Manager 3.1 (“Bio-Rad”). Значимость различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни.

**Анализ параметров продолжительности жизни.** Самцов и девственных самок для анализа ПЖ получали из синхронных кладок. Отбор имаго проводили в течение 6 ч после вылета из куколок с использованием аппарата для CO<sub>2</sub>-анестезии Benchtop Flowbuddy Complete (“Genesee Scientific”, США). Мух (по 30 особей) рассаживали в пробирки с контрольной и экспериментальной питательной средой. Самцы и самки жили раздельно. Три–пять пробирок использовали в каждой повторности эксперимента. Умерших мух учитывали каждые 24 ч. Два раза в неделю мух переносили на свежую среду.

Результаты представляли в виде кривых дожития. Также рассчитывали медианную ПЖ (длительность жизни наиболее типичных представителей выборки) и возраст 90%-ной смертности (показатель максимальной ПЖ). При статистической обработке данных применяли непараметрические методы. Функции дожития сравнивали, используя критерий Колмогорова–Смирнова [21]. Достоверность различий по медианной ПЖ оценивали с помощью критериев Мантеля–Кокса [22] и Гехана–Бреслоу–Вилкоксона [23]. Статистическую значимость различий максимальной ПЖ определяли с использованием метода Ванг–Аллисона [24]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica, версия 6.1 (StatSoft, США), статистической среды R, версия 2.15.1 (The R Foundation) и онлайн-приложения OASIS 2 (Online application for survival analysis) [25].

**Анализ стрессоустойчивости *D. melanogaster*.** Устойчивость к неблагоприятным факторам изучали на особях в возрасте 10 сут. Мух содержали

**Таблица 2.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в жировом теле на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Генотип	Пол	RU486 (+/-)	М	dM	Лог-ранговый критерий, <i>p</i>	90%	d90%	Критерий Ванг–Аллисона, <i>p</i>	<i>n</i>
<i>S106-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	–	59			66			145
<i>S106-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	+	36	–39.0	1.4e–49	42	–36.4	0.0007	146
<i>S106-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	–	73			85			142
<i>S106-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	+	46	–37.0	8.4e–29	71	–16.5	5.1e–9	158
<i>S106-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	–	63			72			165
<i>S106-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	+	57	–9.5	0.000044	67	–6.9	0.0075	144
<i>S106-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	–	61			71			162
<i>S106-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	+	61	0	0.9574	71	0	0.8207	155

Примечание. Здесь и в табл. 3–6. ♂ – самцы. ♀ – самки. RU486 (+/-) – отсутствие “–”; контроль или наличие “+”; эксперимент кондиционной сверхэкспрессии. М – медианная продолжительность жизни (сут). 90% – возраст 90%-ной смертности (сут). dM и d90% – отношение значений в эксперименте и в контроле (%). *n* – количество мух в выборке.

на среде, состоящей из 2% агар-агара и 5% сахарозы в воде. Для определения устойчивости к окислительному стрессу в среду добавляли 20 ммоль/л параквата (Methyl Viologen, “Merck”), а для оценки устойчивости к стрессу эндоплазматической сети (ЭПС) – 12 мкмоль/л туникамицина (“Merck”). Погибших мух идентифицировали с помощью монитора индивидуальной активности DAM2 *Drosophila* Activity Monitor (“TriKinetics Inc.”, США) по полному отсутствию движения. Стрессовые условия сохранялись до гибели мух без пересадки в свежие пробирки. В каждом варианте опыта использовали 16–32 мухи в 2–4 повторностях (всего 32–112 особей).

Статистическую значимость различий оценивали с использованием дисперсионного анализа по Краскелу–Уоллису и апостериорного U-критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони [26].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Уровень экспрессии гена *nej*.** Кондиционную сверхэкспрессию гена *nej* подтверждали, сравнивая уровень экспрессии этого гена у особей с генотипами *S106-GS-GAL4>EP-nej* и *S106-GS-GAL4>UAS-nej*, а также *TIGS-2-GS-GAL4>EP-nej* и *TIGS-2-GS-GAL4>UAS-nej*, содержащихся на среде с мифепристоном (особи с кондиционной сверхэкспрессией гена *nej*), и у особей с таким же генотипом, но содержащихся на среде без мифепристона. Показано увеличение активности *nej* у самцов в 2.8–4.1, а у самок – в 1.2–4.7 раза (рис. 1).

Для подтверждения конститутивной сверхэкспрессии гена *nej* сравнивали уровень экспрессии этого гена между родительскими линиями и потомками от скрещиваний *ELAV-GAL4>EP-nej*, *ELAV-GAL4>UAS-nej*, *D42-GAL4>EP-nej*, *D42-GAL4>UAS-nej*. В случае линии с драйвером *ELAV*

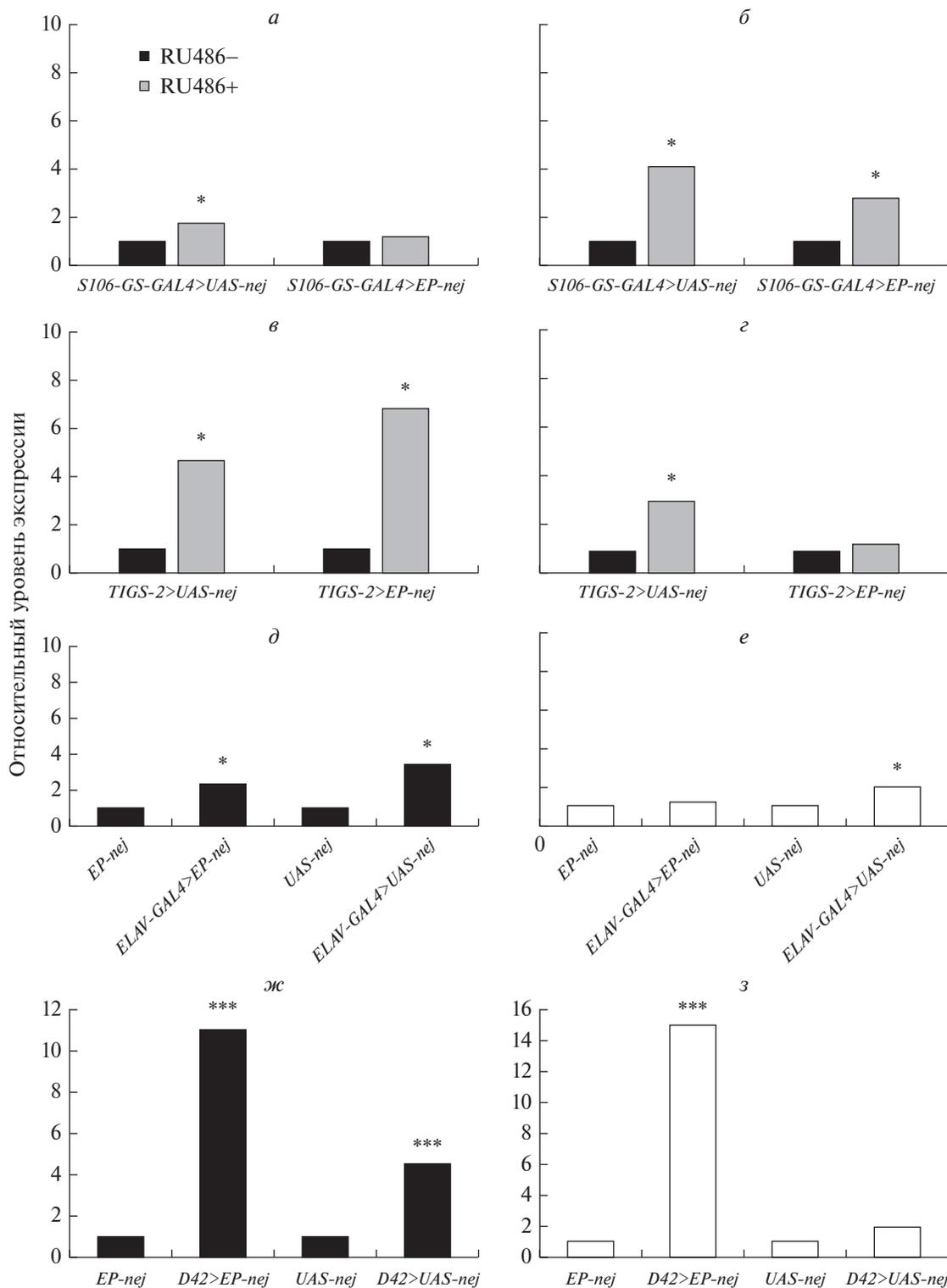
транскрипция гена *nej* у самцов была в 2.3–3.4 раза выше, чем в *UAS*-родительской линии, а у самок – в 1.2–2.0 раза (рис. 1*д*, 1*е*). У самцов, полученных в скрещивании с линией с драйвером *D42*, экспрессия *nej* была в 4.5–11.0, а у самок – в 2.0–15.0 раз выше, чем в родительской линии (рис. 1*ж*, 1*з*).

Стоит отметить, что в некоторых случаях различия не имели статистической значимости ( $p > 0.05$ ).

**Влияние сверхэкспрессии гена *nej* на продолжительность жизни и стрессоустойчивость *D. melanogaster*.** Нами изучено влияние сверхэкспрессии гена *nej* в жировом теле, кишечнике и нервной системе на ПЖ самцов и самок *D. melanogaster*.

Обнаружено, что кривые выживаемости дрозофил с генотипами *S106-GS-GAL4>UAS-nej* и *S106-GS-GAL4>EP-nej* с мифепристон-индуцированной сверхэкспрессией гена *nej* в жировом теле расположены ниже, чем кривые особей без сверхэкспрессии ( $p < 0.001$ ). Анализ параметров ПЖ подтверждает данный результат. Медианная ПЖ в результате активации *nej* была снижена на 9.5–39.0% ( $p < 0.001$ ), а максимальная – на 6.9–36.4% ( $p < 0.01$ ) (рис. 2, табл. 2). Однако у самок *S106-GS-GAL4>EP-nej* с индукцией сверхэкспрессии *nej* отсутствовали статистически значимые изменения параметров ПЖ. В то же время, активация экспрессии *nej* у самок *S106-GS-GAL4>UAS-nej* вызвала существенное ( $p < 0.001$ ) снижение устойчивости к индуктору стресса ЭПС туникамицину, но статистически значимого влияния на стрессоустойчивость самцов не обнаружено ( $p > 0.05$ ) (табл. S1, см. Дополнительные материалы на сайте [http://www.molecbio.ru/downloads/2023/5/supp\\_Koval\\_rus.pdf](http://www.molecbio.ru/downloads/2023/5/supp_Koval_rus.pdf)).

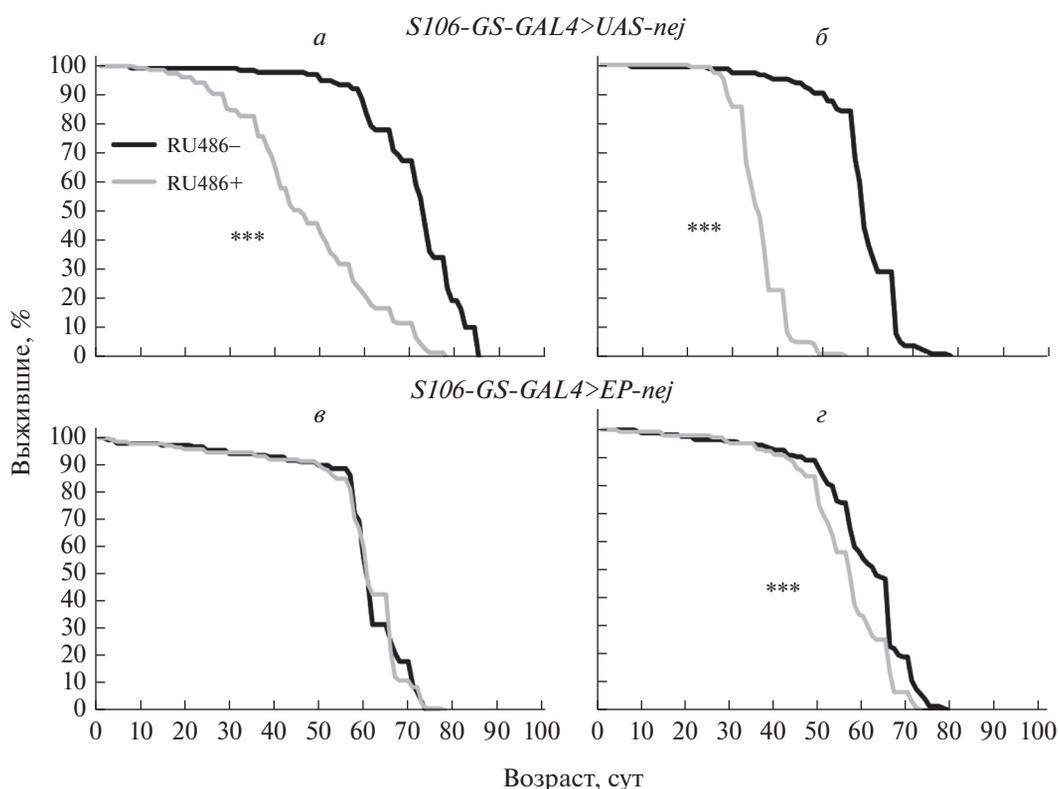
Кривая выживаемости у самцов *TIGS-2-GS-GAL4>UAS-nej* с кондиционной сверхэкспрессией гена *nej* в кишечнике располагается ниже, чем у



**Рис. 1.** Верификация сверхэкспрессии гена *nej* у самцов (а, в, д, ж) и самок (б, г, е, з) *D. melanogaster*. \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \* $p < 0.05$  по *t*-критерию Стьюдента.

самцов без сверхэкспрессии этого гена ( $p < 0.001$ ). Медианная ПЖ и возраст 90%-ной смертности меньше на 14.9 и 30.3%, соответственно, ( $p < 0.001$ ), чем у контрольных мух без сверхэкспрессии (рис. 3,

табл. 3). При этом кривые выживаемости самцов и самок *TIGS-2-GS-GAL4>EP-nej*, а также самок *TIGS-2-GS-GAL4>UAS-nej* с активацией *nej* в кишечнике расположены выше, чем кривые попу-



**Рис. 2.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в жировом теле на продолжительность жизни самцов (а, в) и самок (б, г) *D. melanogaster*. \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \* $p < 0.05$  по критерию Колмогорова–Смирнова.

ляций контрольных особей ( $p < 0.05$ ). Медианная ПЖ у данных особей больше на 6.4–8.0% ( $p < 0.01$ ), а увеличение возраста 90% смертности на 5.1% ( $p < 0.05$ ) наблюдали только у самок с генотипом *TIGS-2-GS-GAL4>EP-nej* (рис. 3, табл. 3).

В следующей серии экспериментов изучено влияние сверхэкспрессии гена *nej* в нервной системе.

У самок *ELAV-GS-GAL4>UAS-nej* с кондиционной активацией *nej* в нервной системе наблюдали статистически значимое сокращение меди-

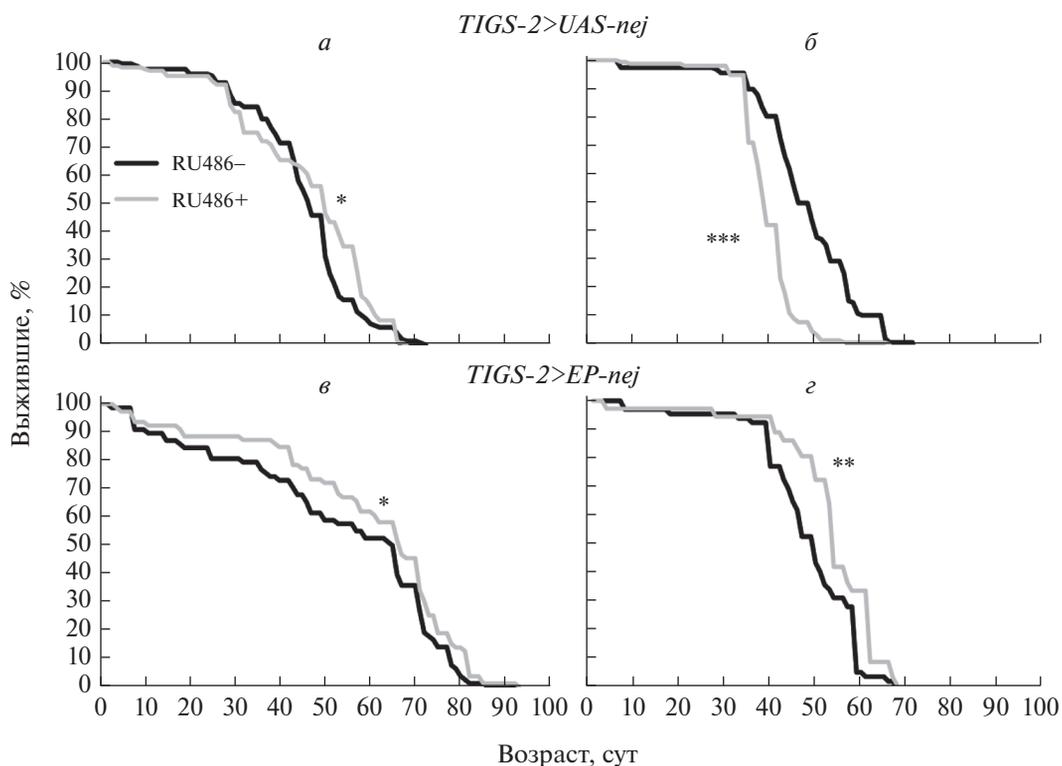
анной ПЖ 16.9% ( $p < 0.0001$ ) (рис. 4, табл. 4). Самки с генотипом *ELAV-GS-GAL4>EP-nej* и сверхэкспрессией *nej* имели максимальную (но не медианную) ПЖ, на 10.4% ( $p < 0.05$ ) большую, чем в контрольной группе, не получавшей мифепристон. В то же время не выявлено статистически значимых различий у самцов (рис. 4, табл. 4).

Среди мух с конститутивной сверхэкспрессией гена *nej* в нервной системе наблюдали статистически значимое сокращение количества самцов *ELAV-GAL4>EP-nej*, достигших возраста ме-

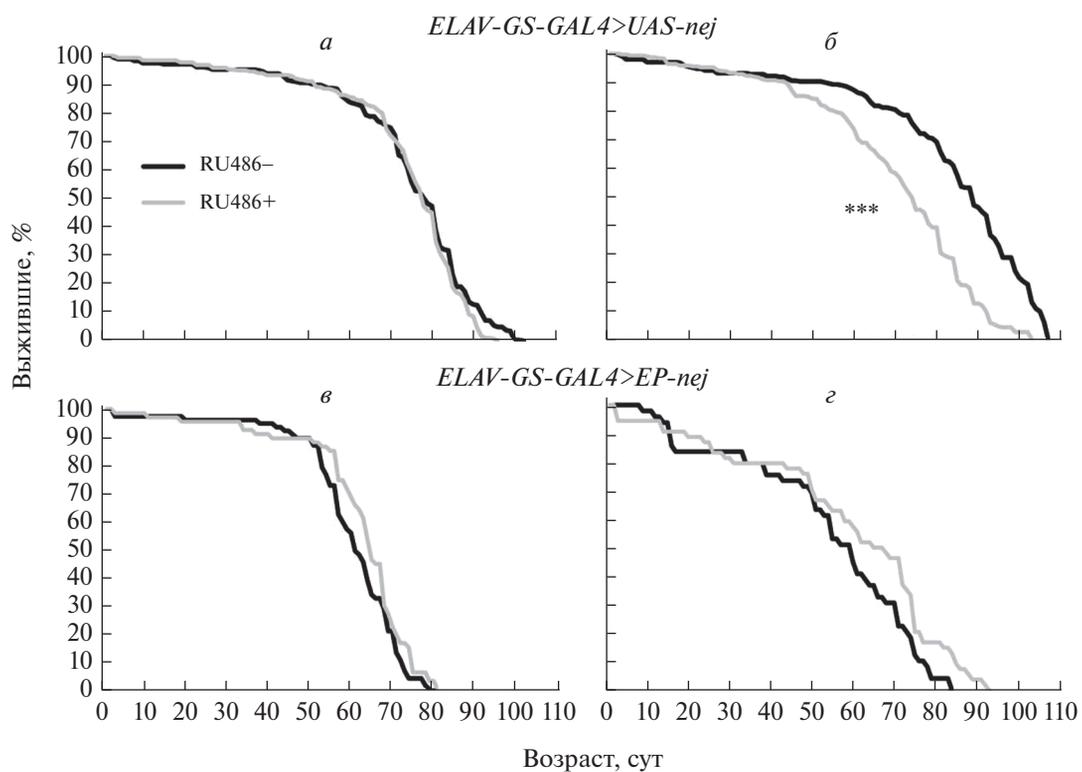
**Таблица 3.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в кишечнике на продолжительность жизни особей *D. melanogaster*

Генотип	Пол	RU486 (+/–)	М	dM	Лог-ранговый критерий, $p$	90%	d90%	Критерий Ванг–Аллисона, $p$	$n$
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	–	47			66			157
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	+	40	–14.9	8.20E–22	46	–30.3	2.3E–06	155
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	–	47			59			164
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	+	50	6.4	0.001	62	5.1	0.2826	164
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	–	50			59			65
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	+	54	8.0	0.0014	62	5.1	0.246	36
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	–	65			78			78
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	+	67	3.1	0.1034	82	5.1	0.0269	79

Примечание. Обозначения, как в табл. 2.



**Рис. 3.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в кишечнике на продолжительность жизни самцов (*а*, *в*) и самок (*б*, *г*) *D. melanogaster*. \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \* $p < 0.05$  по критерию Колмогорова–Смирнова.



**Рис. 4.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в нервной системе на продолжительность жизни самцов (*а*, *в*) и самок (*б*, *г*) *D. melanogaster*. \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \* $p < 0.05$  по критерию Колмогорова–Смирнова.

дианной ПЖ (на 11.2% по сравнению с особями драйверной линии *ELAV-GAL4*), а также сдвиг кривой дожития влево (табл. 5, рис. 5а). Отмечено статистически значимое увеличение медианной ПЖ у самок *ELAV-GAL4>UAS-nej* и *ELAV-GAL4>EP-nej* – на 10.2–15.3% ( $p < 0.001$ ) относительно родительских линий и сдвиг кривых дожития вправо (табл. 5, рис. 5б). При этом у особей обоего пола увеличивался возраст 90%-ной гибели (на 6.2–20.6% по сравнению с контрольными генотипами ( $p < 0.05$ )) либо отсутствовал статистически значимый эффект (табл. 5).

Наблюдала также повышение устойчивости самцов и самок линий *ELAV-GAL4>UAS-nej* и самцов *ELAV-GAL4>EP-nej* к воздействию туни-

камицина по сравнению с мухами линии *ELAV-GAL4* (табл. S1, см. Дополнительные материалы на сайте [http://www.molecbio.ru/downloads/2023/5/sup\\_p\\_Koval\\_rus.pdf](http://www.molecbio.ru/downloads/2023/5/sup_p_Koval_rus.pdf)).

У мух линий *D42-GAL4>UAS-nej* и *D42-GAL4>EP-nej* обоего пола, конститутивно сверхэкспрессирующих *nej* в мотонейронах в условиях окислительного стресса, наблюдалось сокращение медианной выживаемости на 27.1–43.8% ( $p < 0.001$ ) и максимальной выживаемости на 13.8–24.7% ( $p < 0.01$ ) относительно родительских линий (табл. 6). Эти эффекты подтверждают графики выживаемости (рис. 6). Кроме того, выживаемость самок *D42-GAL4>UAS-nej* в условиях окислительного стресса также была существенно сни-

**Таблица 4.** Влияние сверхэкспрессии гена *nej* в нервной системе на продолжительность жизни особей *D. melanogaster*

Генотип	Пол	RU486 (+/–)	М	dM, %	Лог-ранговый критерий, <i>p</i>	90%	d90%	Критерий Ванг–Аллисона, <i>p</i>	<i>n</i>
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	–	79			92			353
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	+	78	–1.3	0.519	89	–3.3	<0.0001	313
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	–	89			105			307
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	+	74	–16.9	<0.0001	92	–12.4	<0.0001	311
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	–	61			73			77
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	+	65	6.6	0.0915	75	2.7	0.022	67
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	–	60			77			49
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	+	66.5	10.8	0.153	85	10.4	0.042	54

Примечание. Обозначения, как в табл. 2.

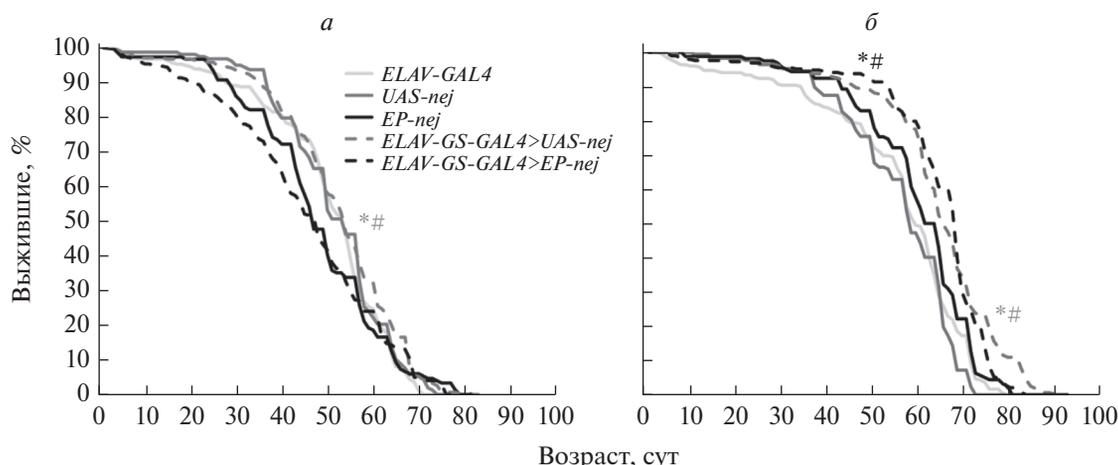
**Таблица 5.** Влияние конститутивной сверхэкспрессии гена *nej* в нервной системе на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Генотип	Пол	М	dM, %	Лог-ранговый критерий, <i>p</i>	90%	d90%	Критерий Ванг–Аллисона, <i>p</i>	<i>n</i>
<i>UAS-nej</i>	♂	54			66			158
<i>EP-nej</i>	♂	47			65			151
<i>ELAV-GAL4</i>	♂	54			65			276
<i>ELAV-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	54	0' 0*	0.0056 0.1285	68	4.6' 3.03*	0.0878 0.5377	309
<i>ELAV-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	48	–11.1' 2.1#	0.3878 0.6899	69	6.2' 6.2#	0.0418 0.1272	300
<i>UAS-nej</i>	♀	58			68			167
<i>EP-nej</i>	♀	61			72			158
<i>ELAV-GAL4</i>	♀	59			71			301
<i>ELAV-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	65	10.2' 12.1*	0 0	82	15.5' 20.6*	0 0	320
<i>ELAV-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	68	15.3' 11.5#	0 0	75	5.7' 4.2#	0 0.1253	288

'Относительно *ELAV-GAL4*.

\*Относительно *UAS-nej*.

#Относительно *EP-nej*.



**Рис. 5.** Влияние конститутивной сверхэкспрессии гена *nej* в нервной системе на продолжительность жизни самцов (а) и самок (б) *D. melanogaster*.  $p < 0.05$  по критерию Колмогорова–Смирнова относительно драйверной (\*) или UAS (#) линий соответственно.

жена ( $p < 0.001$ ) по сравнению с контрольной родительской линией *D42-GAL4* (табл. S1).

С возрастом происходит нарушение регуляции транскрипции многих генов. В данной серии экспериментов нами впервые показано влияние тканеспецифичной сверхэкспрессии гена *nej* (*CBP/p300*), кодирующего коактиватор транскрипции, на ПЖ целого организма. Установлено, что эффекты сверхэкспрессии гена *nej* зависят от драйвера, типа ткани, в которой происходит индукция сверхэкспрессии, а также половой принадлежности. В некоторых вариантах активация *nej* вызывает незначительное увеличение медианной и макси-

мальной ПЖ (до 8–15%), но при этом может (в других случаях) приводить к существенному негативному эффекту (до 30–44%).

**Влияние сверхэкспрессии гена *nej* на активность генов стресс-ответа.** Повышенная экспрессия гена *nej* в жировом теле, нервной системе и кишечнике приводила к изменению активности генов стресс-ответа *D. melanogaster*, обеспечивающих детоксикацию свободных радикалов (*Sod1*), ответ на повреждение ДНК (*Gadd45*) и белков (*Hsp27*, *Hsp68*), а также ответ на гипоксию (*Hif1*) (рис. 7, 8). При этом наблюдали как стимуляцию, так и подавление транскрипции генов *Sod1*,

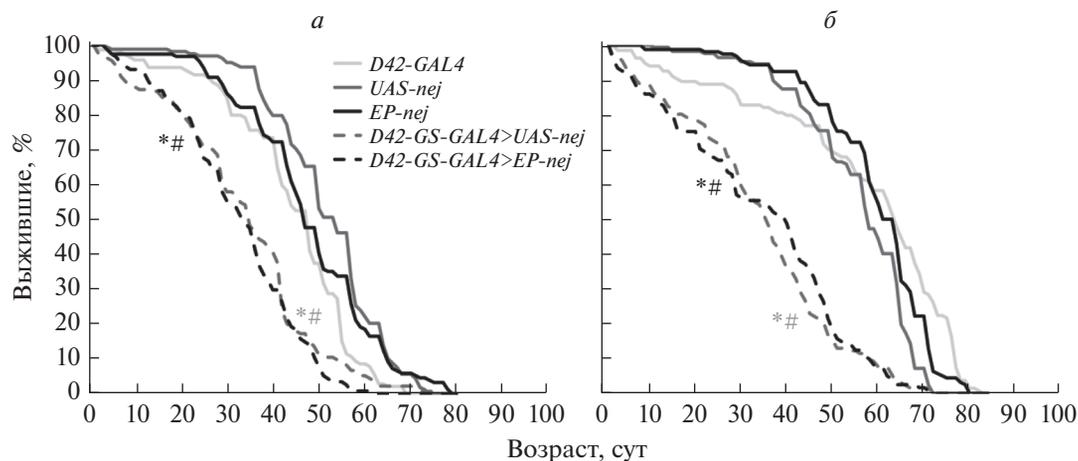
**Таблица 6.** Влияние конститутивной сверхэкспрессии гена *nej* в мотонейронах на продолжительность жизни мух *D. melanogaster*

Генотип	Пол	M	dM, %	Лог-ранговый критерий, p	90%	d90%	Критерий Ванг–Аллисона, p	n
<i>UAS-nej</i>	♂	54			66			158
<i>EP-nej</i>	♂	47			65			151
<i>D42-GAL4</i>	♂	48			58			139
<i>D42-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♂	35	-27.1' -35.2*	0.0000061' 0*	54	-6.9' -18.2*	0.4454' 0.0076*	133
<i>D42-GAL4&gt;EP-nej</i>	♂	34	-29.2' -27.7#	0' 0#	50	-13.8' -23.1#	0.0104' 0.0031#	114
<i>UAS-nej</i>	♀	58			68			167
<i>EP-nej</i>	♀	61			72			158
<i>D42-GAL4</i>	♀	64			77			134
<i>D42-GAL4&gt;UAS-nej</i>	♀	36	-43.8' -37.9*	0' 0*	58	-24.7' -14.7*	0.0006' 0.0028*	131
<i>D42-GAL4&gt;EP-nej</i>	♀	40	-37.5' -34.4#	0' 0#	58	-24.7' -19.4#	0.0006' 0.0057#	121

'Относительно *D42-GAL4*.

\*Относительно *UAS-nej*.

#Относительно *EP-nej*.



**Рис. 6.** Влияние конститутивной сверхэкспрессии гена *nej* в мотонейронах на продолжительность жизни самцов (а) и самок (б) *D. melanogaster*.  $p < 0.05$  по критерию Колмогорова–Смирнова относительно драйверной (\*) или UAS (#)-линий соответственно.

*Gadd45*, *Hsp27*, *Hsp68* в зависимости от пола, использованных конструкций (UAS и GAL4) и ткани с повышенной активностью *nej*. Наиболее воспроизводимой была тенденция к снижению экспрессии гена белка теплового шока *Hsp27* (в 2–5 раз) у самцов и самок с тканеспецифичной активацией *nej*. Кроме того, сверхэкспрессия гена *nej* в различных тканях самцов и самок дрозофилы приводила к подавлению транскрипции *Hif1* (рис. 7, 8).

**Влияние нокдауна гена *nejire*, вызванного РНК-интерференцией, на продолжительность жизни *D. melanogaster*.** При снижении активности *nej* в жировом теле и кишечнике происходило уменьшение медианной ПЖ (на 10–77%,  $p < 0.0001$ ) и возраста 90%-ной смертности (на 11–74%,  $p < 0.0001$ ) у самцов и самок *D. melanogaster* (рис. 9, 10, табл. 7). Менее выраженное снижение медианной ПЖ (на 9–10%,  $p < 0.05$ ) наблюдалось также у мух со сниженной активностью *nej* в нервной системе в случае с локализацией UAS-конструкции в хромосоме 2 (рис. 11, табл. 7). В то же время, у самок с конструкцией UAS для РНК-интерференции *nej*, встроенной в хромосому X, нейрон-специфичный нокдаун приводил к увеличению медианной ПЖ и возраста 90%-ной смертности на 11% ( $p < 0.05$ ) (рис. 11, табл. 7).

Полученные результаты согласуются с результатами исследований, проведенных на нематоде *Caenorhabditis elegans*. Полный нокдаун *cbp-1* (ортолог СВР/р300 у нематод) вызывал уменьшение средней ПЖ на 30% и выживаемости в условиях окислительного стресса [27].

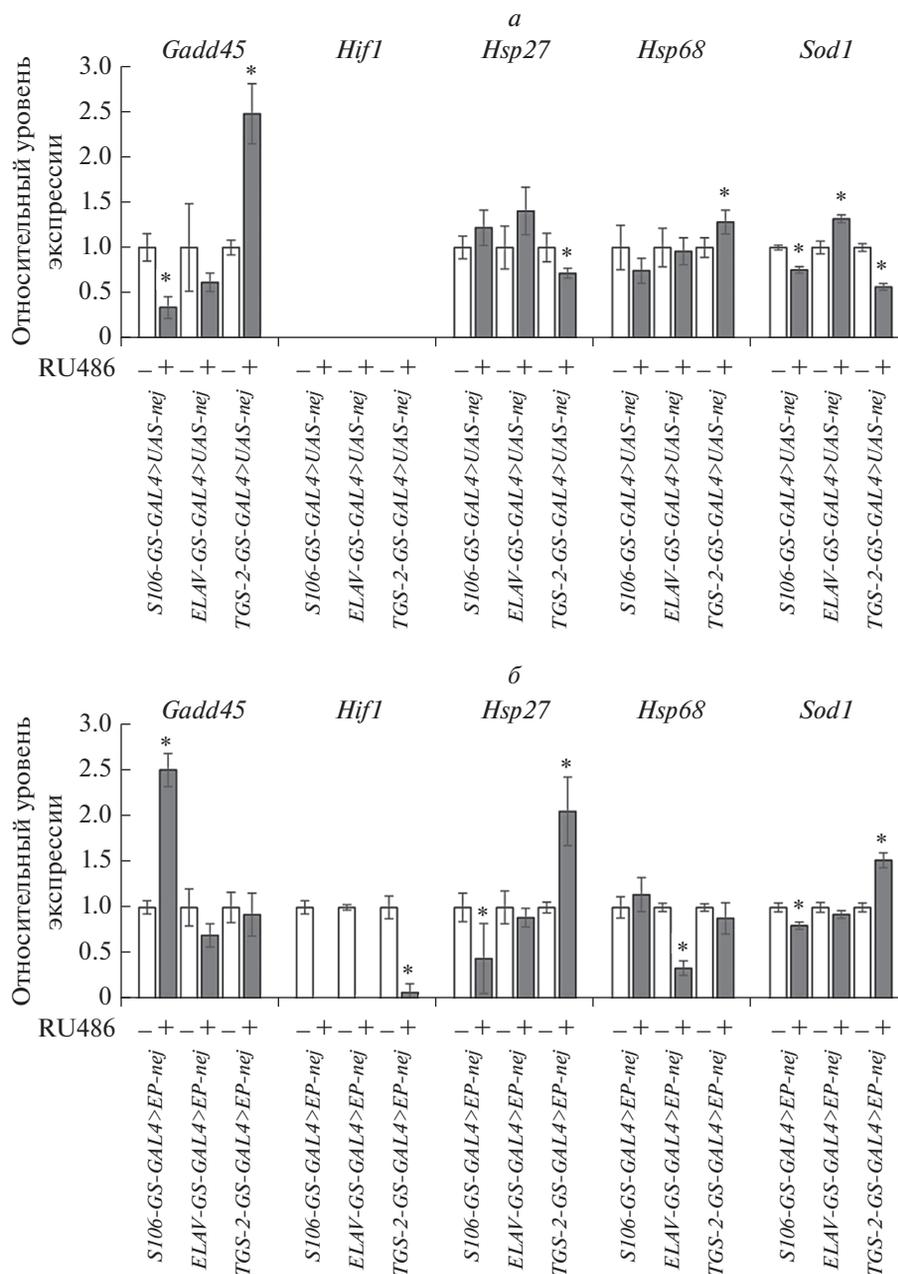
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами изучено влияние сверхэкспрессии и нокдауна гена *nej* в жировом теле, кишечнике и нервной системе на ПЖ *D. melanogaster*.

Сверхактивация *nej* в жировом теле, как правило, оказывала отрицательное влияние на ПЖ и стрессоустойчивость мух. Но повышенная экспрессия этого гена в кишечнике, напротив, чаще вызывала увеличение ПЖ. При этом эффект активации *nej* в клетках нервной системы варьировал в зависимости от используемых UAS- и GAL4-конструкций. Кондиционная сверхэкспрессия *nej* с использованием *UAS-nej* или *EP-nej* в нервной системе оказывала противоположные эффекты на ПЖ мух. Конститутивная сверхэкспрессия *nej* в нервной системе, как правило, увеличивала ПЖ и устойчивость к индуктору стресса ЭПС, но повышение активности этого гена в мотонейронах приводило к отрицательным изменениям. Эти эффекты сопровождались разнонаправленным изменением уровней экспрессии генов стресс-ответа с общей тенденцией к снижению.

Разнонаправленные эффекты тканеспецифичной сверхэкспрессии гена *nej* могут быть связаны с тем, что семейство ацетилтрансфераз СВР/р300, к которому относится белок, кодируемый изучаемым нами геном, имеет целый ряд мишеней в клетке (включая гистоновые и негистоновые белки), на которые воздействует разными способами, проявляя ферментативную и неферментативную активности.

Ацетилтрансферазы СВР/р300 способствуют транскрипции путем “разрыхления” хроматина, рекрутирования РНК-полимеразы II и перехода к элонгации, а также усиления связывания факторов транскрипции с геномной ДНК [28, 29]. Это необходимо для поддержания нормального функционирования клеток и организма в меняющихся условиях окружающей среды. СВР/р300 регулируют клеточную локализацию и активность таких транскрипционных факторов, как

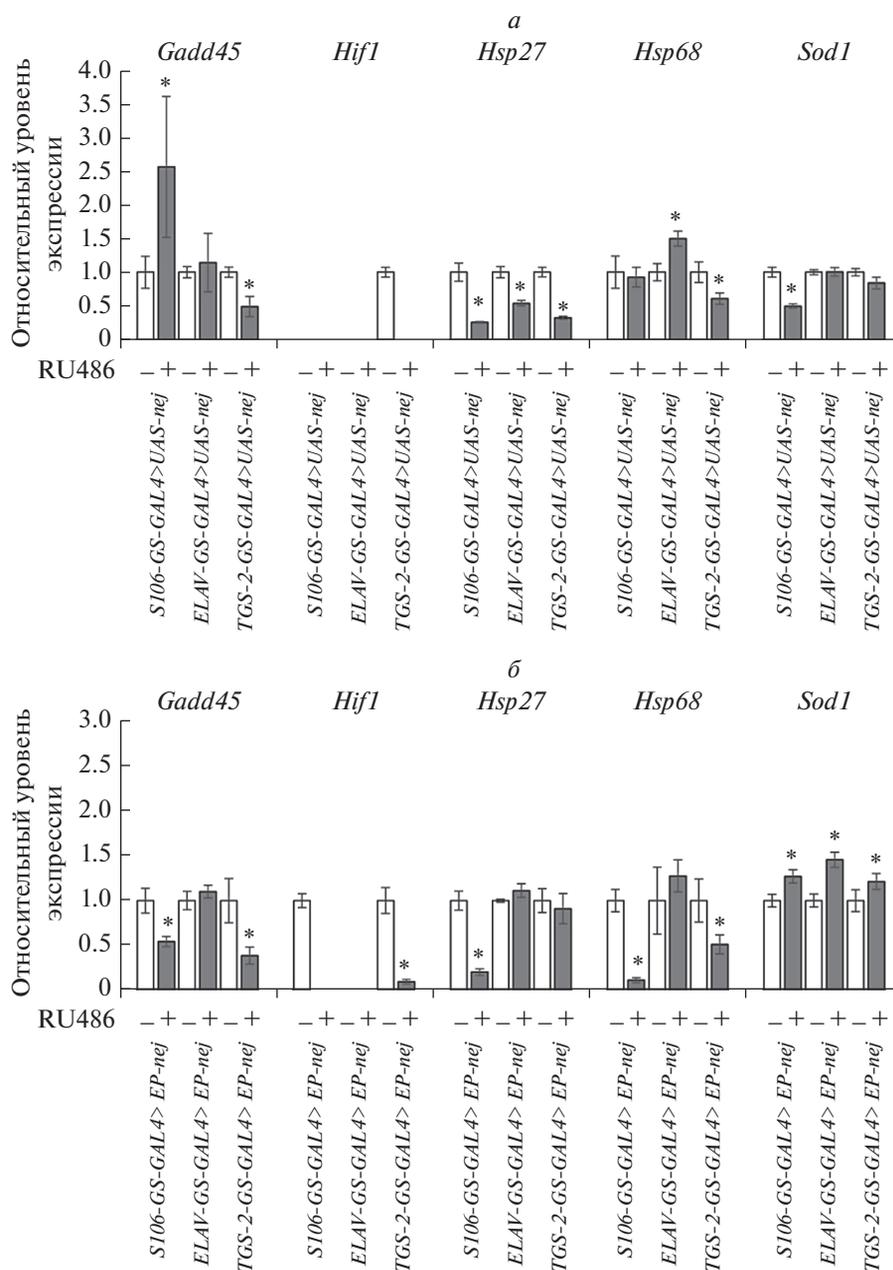


**Рис. 7.** Влияние активации дополнительной копии гена *nej* под контролем промотора UAS (а) или элемента EP (б) на экспрессию генов стресс-ответа у самцов *D. melanogaster*. \* $p < 0.05$  по *t*-критерию Манна–Уитни.

p53 [30–32], FOXO [33], NRF2 [27, 34], HSF1 [35], HIF-1 [36], влияют на экспрессию их генов-мишеней (например, генов, кодирующих супероксид-дисмутазы, белки ответа на повреждение ДНК и контроля клеточного цикла, белки теплового шока). Так, активация СВР/p300 в клетках рака кишечника повышает уровень Gadd45 и p21 – важных регуляторов ответа на повреждение ДНК и ингибиторов роста опухолей [10]. Однако в нашем исследовании количество мРНК гена *Gadd45* как увеличивалось, так и снижалось у мух со

сверхэкспрессией *nej* в различных тканях и, по-видимому, не было связано с изменениями ПЖ. СВР-1 идентифицирован как негативный регулятор HSF-1 у *C. elegans* [37], что согласуется со сниженной активностью генов белков теплового шока у дрозофил со сверхэкспрессией гена *nej*.

Известно, что СВР стабилизирует РНК-полимеразу II в репрессивных сайтах, связанных с белками группы Polycomb, и способствует приостановке полимеразы. Это необходимо для образования гибрида РНК-ДНК (R-петли) и истощения



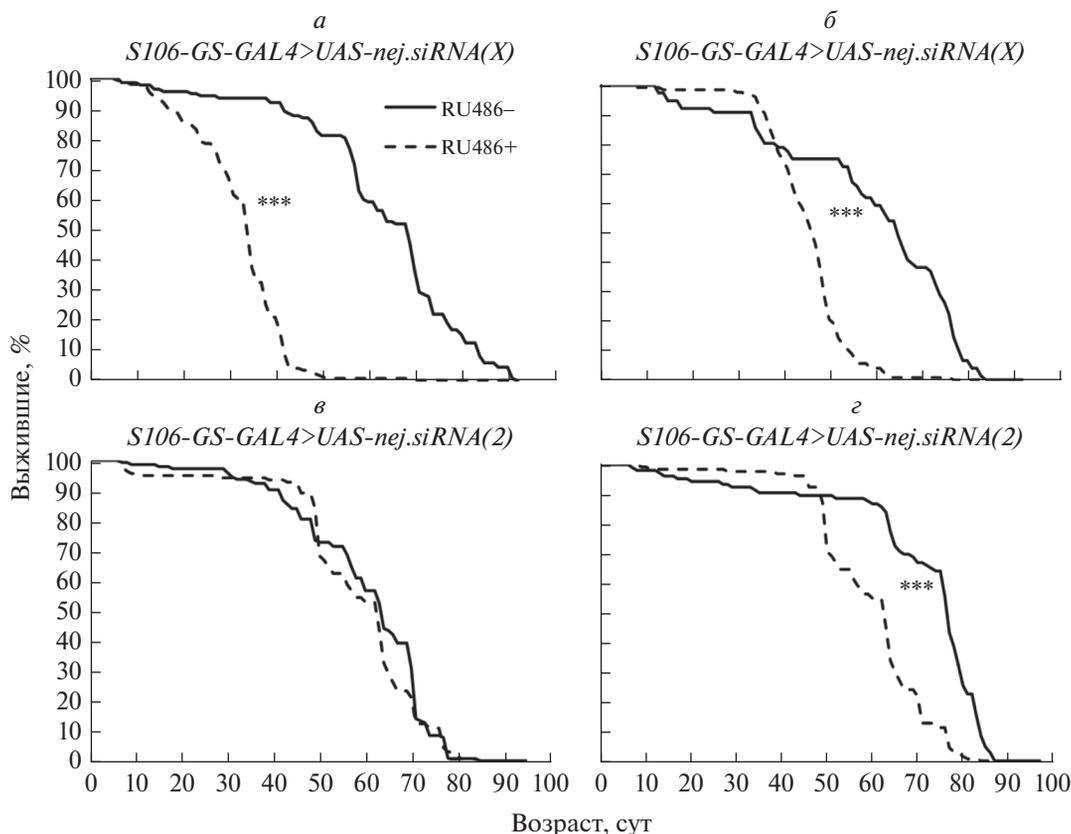
**Рис. 8.** Влияние активации дополнительной копии гена *nej* под контролем промотора UAS (а) или элемента EP (б) на экспрессию генов стресс-ответа у самок *D. melanogaster*. \* $p < 0.05$  по *t*-критерию Манна–Уитни.

нуклеосом в элементах ответа на Polycomb [38]. Эпигенетическая регуляция с помощью Polycomb является важным негативным регулятором скорости старения и стрессоустойчивости организма [39, 40].

На посттранскрипционном уровне СВР/р300 могут влиять на генную экспрессию путем ацетилирования экзорибонуклеазы SAF1а с последующим усилением распада поли(А)РНК и усилением обмена мРНК. Стимуляция обмена мРНК необходима для пролиферации и дифференцировки

клеток, развития организма в целом. Кроме того, обмен мРНК помогает клеткам поддерживать высокодинамичный режим регуляции экспрессии генов [41]. С другой стороны, чрезмерная активация ацетилтрансфераз может вызывать усиленную деградацию мРНК, необходимых для поддержания жизнеспособности организма.

СВР/р300 участвует во многих молекулярных путях и клеточных процессах, детерминируя баланс между ними и конечную судьбу клетки и организма. Так, исследования, проведенные на



**Рис. 9.** Влияние нокдауна гена *nej* в жировом теле на продолжительность жизни самцов (а, в) и самок (б, г) *D. melanogaster*. \*\*\* $p < 0.0001$  по критерию Колмогорова–Смирнова.

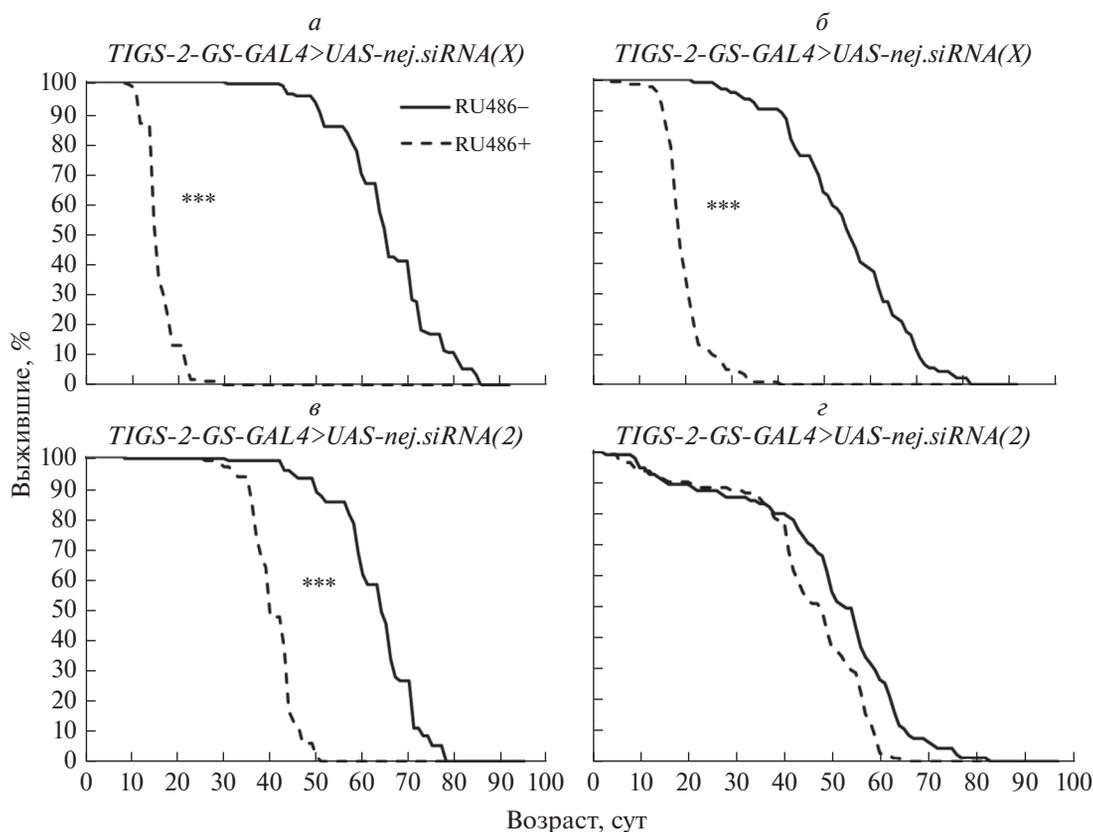
клетках немелкоклеточного рака легких, показали, что СВР/p300 играет важную роль в поддержании баланса между продукцией активных форм кислорода, ответом на повреждение ДНК и запуском аутофагии; от его активности зависит, будут клетки делиться дальше либо они подвергнутся остановке клеточного цикла или апоптозу [42].

Белки СВР/p300 необходимы для запуска ответа на повреждение ДНК. Прежде всего, они ацетируют гистоны в местах повреждения ДНК для облегчения репарации. Однако они также способны ацетилировать ключевые белки, обеспечивающие передачу сигналов о повреждении ДНК и разные механизмы репарации ДНК, за счет чего регулируют каталитическую активность, ядерную локализацию, связывание с ДНК и обмен данных белков [4]. С другой стороны, можно предположить, что дополнительная активация СВР/p300 (например, в результате сверхэкспрессии гена *nej*) приводит к чрезмерной релаксации хроматина в результате избыточного ацетилирования гистонов, повышающего уязвимость генетического материала для повреждающих факторов различной природы [43]. В нашей работе это могло привести к снижению выживаемости особей *D. melanogaster* в нормальных и

стрессовых условиях, а также к изменению уровня транскрипции генов стресс-ответа.

Ацетилтрансферазы СВР/p300 являются важными регуляторами аутофагии (положительными или отрицательными, в зависимости от условий) и способны осуществлять эту функцию как на транскрипционном, так и на постреплиционном уровне [2, 5, 44]. Снижение активности СВР/p300 в скелетных мышцах, сердце, печени, жировой ткани животных, связано с усилением аутофагии, а повышение – с ее подавлением [2]. Например, p300 опосредует вызванное активацией mTORC1 подавление аутофагии, связанное с голоданием, и активирует клеточный липогенез [45]. Механически активация p300 обусловлена его фосфорилированием с помощью mTORC1, которое предотвращает связывание каталитического домена НАТ с ингибирующим доменом RING, устраняя тем самым внутримолекулярное подавление активности p300 [45]. Однако в *in vitro* исследованиях установлено, что в ответ на цитотоксическое воздействие арсенидом сигнальный путь IKK $\alpha$ /CHK1/p300/СВР/p53 важен для активации аутофагии [32].

Несмотря на то, что СВР/p300 способствуют старению за счет уменьшения аутофагии в пери-



**Рис. 10.** Влияние нокдауна гена *nej* в кишечнике на продолжительность жизни самцов (а, в) и самок (б, з) *D. melanogaster*. \* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.0001$  по критерию Колмогорова–Смирнова.

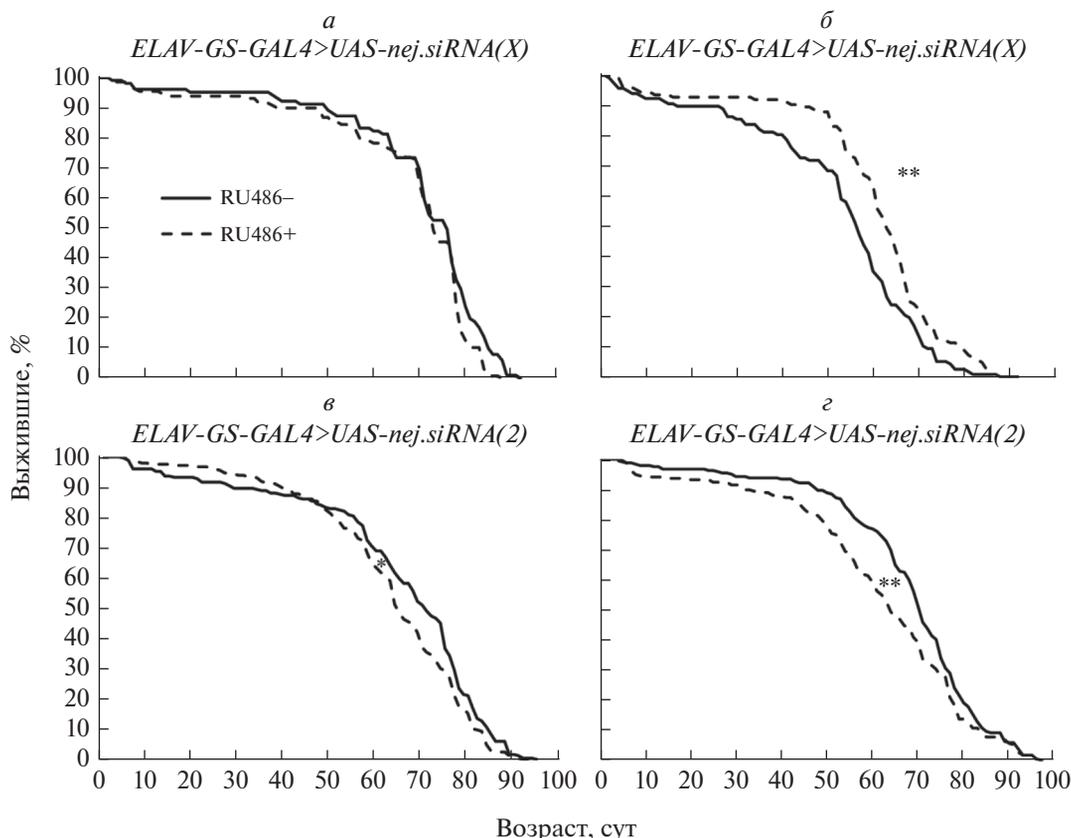
ферических тканях, ацетилирование гистонов на промоторе нейропротекторных генов, включая гены-мишени фактора транскрипции EB (TFEB), приводит к усилению биогенеза лизосом и аутофагии и, напротив, способствует долголетию [2]. Возможно, аналогичный механизм лежит в основе положительного влияния сверхэкспрессии *nej* в нервной системе на ПЖ и устойчивость к протеотоксическому воздействию. В исследовании, проведенном на клетках студенистого ядра, выделенных из межпозвоночных дисков с возрастной дегенерацией, обнаружено, что активация p300 способствует пролиферации и аутофагии, но ингибирует апоптоз через сигнальный путь FOXO3/SIRT1 [46]. С другой стороны, на *in vitro* и *in vivo* моделях таупатии показано, что гиперактивация p300/CBP блокирует поток аутофагии и увеличивает секрецию тау-белка в нейронах, а ингибирование p300/CBP оказывает противоположный эффект, уменьшая распространение тау-белка [47].

Роль CBP-1 как важного регулятора митохондриального ответа на “развернутые” белки (UPR<sup>mt</sup>) и митохондриального стресс-индуцированного иммунного ответа показана в исследованиях на *C. elegans*. Ацетилирование гистонов с помощью CBP-1

в сочетании с их деметилированием ферментами JMJD-1.2/JMJD-3.1 индуцирует транскрипцию широкого спектра генов, необходимых для восстановления работы митохондрий в условиях стресса [11, 48]. Уровни транскриптов CBP/p300 положительно коррелируют с уровнями транскриптов генов UPR<sup>mt</sup> и долголетием в популяциях мышей и у человека. Ингибирование CBP/p300 нарушает работу механизма UPR<sup>mt</sup>, в то время как принудительной экспрессии p300 достаточно для его активации в клетках млекопитающих [11, 48].

Также ацетилтрансфераза, кодируемая геном *nej* *D. melanogaster*, сопряжена с димером CLOCK/CYCLE и является неотъемлемым компонентом циркадных часов, выполняющим регуляторные функции, связанные с транскрипцией, ассоциированной с осциллятором. При этом усиление экспрессии *nej* связано с потерей поведенческих и молекулярных ритмов [49].

Таким образом, CBP/p300 и его ортолог у *D. melanogaster*, кодируемый геном *nej*, способны действовать разными путями как способствующими долголетию, так и усиливающими старение. Более того, известно, что активность CBP/p300 осуществляется во взаимодействии с рецептором эстрогена и гормональная регуляция



**Рис. 11.** Влияние нокдауна гена *nej* в нервной системе на продолжительность жизни самцов (а, в) и самок (б, г) *D. melanogaster*. \* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.001$  по критерию Колмогорова–Смирнова.

СВР/р300 оказывает влияние на все мишени данных ацетилтрансфераз [50]. Для понимания и предсказания эффектов активации СВР/р300 на ПЖ требуется проведение детальных исследований с учетом максимального количества возможных механизмов.

СВР/р300 часто описывают как фактор, способствующий клеточному старению за счет образования гиперацетилированного хроматина и активных энхансерных элементов в некодирующих областях генома [8]. Ингибирование р300 лежит в основе геропротекторного действия спермидина [12] и нордигидрогваяретовой кислоты [51]. Также фармакологические ингибиторы СВР/р300 облегчают течение радиационно-индуцированного желудочно-кишечного синдрома, способствуя восстановлению стволовых клеток и крипт кишечника путем задержки клеточного цикла [52].

Тем не менее, в нашей работе РНК-интерференция гена *nej* в кишечнике и жировом теле *D. melanogaster* преимущественно снижала медианную ПЖ мух вне зависимости от пола и использованных UAS-конструкций. Однако нокдаун *nej* в нервной системе самок продлевал жизнь при локализации UAS-конструкции на X-хромосоме

(а не на второй хромосоме), что указывает на критичность положения трансгена, по-видимому, обусловленную состоянием хроматина [53]. В то же время существует вероятность того, что наблюдаемый положительный результат может быть обусловлен действием мифепристона [54].

Полученные данные в целом согласуются с результатами [55], согласно которым инактивация СВР/р300 с помощью РНК-интерференции значительно уменьшает ПЖ тлей *Acyrtosiphon pisum*, ускоряет их старение, снижает число потомков и укорачивает репродуктивную фазу. На это же указывают результаты изучения *C. elegans* с мутацией *cbp-1* [37], а также с повсеместной, а в некоторых случаях тканеспецифичной РНК-интерференцией *cbp-1* (специфичной для нервной системы, кишечника и зародышевой линии) [56]. При этом описан эффект удвоения ПЖ у нематод (в аксенической культуре), критическую роль в котором играет активность *cbp-1*, действующая через механизмы нейропептидной регуляции в ГАМКергических нейронах. Нокдаун *cbp-1* в нервной системе препятствовал положительному влиянию ограничения питания [56].

Примечательно также, что мутации в структуре домена СН1 ацетилтрансфераз СВР и р300

**Таблица 7.** Влияние тканеспецифичного нокдауна гена *nej* на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Генотип	RU486	Пол	М, сут	dM, %	МК, <i>p</i>	ГВ, <i>p</i>	90%, сут	d90% (%)	ВА, <i>p</i>	<i>n</i>
<i>S106-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(X)</i>	–	♂	68				83			137
	+	♂	33	–51	<0.0001	<0.0001	41	–51	<0.0001	148
	–	♀	64				78			76
	+	♀	46	–28	<0.0001	<0.0001	54	–31	<0.0001	126
<i>S106-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(2)</i>	–	♂	63				73			143
	+	♂	62	–2	>0.05	>0.05	76	+4	>0.05	133
	–	♀	76				83			106
	+	♀	48	–37	<0.0001	<0.0001	73	–12	<0.0001	137
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(X)</i>	–	♂	65				80			149
	+	♂	15	–77	<0.0001	<0.0001	21	–74	<0.0001	160
	–	♀	55				70			92
	+	♀	18	–67	<0.0001	<0.0001	25	–64	<0.0001	122
<i>TIGS-2-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(2)</i>	–	♂	63				72			155
	+	♂	39	–38	<0.0001	<0.0001	46	–36	<0.0001	152
	–	♀	52				65			95
	+	♀	47	–10	<0.0001	<0.01	58	–11	<0.0001	112
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(X)</i>	–	♂	75				84			101
	+	♂	72	–4	<0.05	>0.05	81	–4	<0.01	128
	–	♀	56				71			117
	+	♀	62	+11	<0.001	<0.0001	79	+11	<0.05	124
<i>ELAV-GS-GAL4&gt;</i> <i>UAS-nej.siRNA(2)</i>	–	♂	70				84			251
	+	♂	64	–9	<0.01	<0.05	81	–4	<0.05	246
	–	♀	70				84			242
	+	♀	63	–10	<0.01	<0.001	83	–1	>0.05	235

Примечание. М – медианная продолжительность жизни (сут). 90% – возраст 90%-ной смертности (сут). dM и d90% – различия между медианной продолжительностью жизни и возрастом 90%-ной смертности у контрольных и экспериментальных мух соответственно (%). ГВ – критерий Гехана–Вилкоксона. МК – критерий Мантеля–Кокса. ВА – тест Ванг–Аллисона. *n* – количество особей в выборке.

приводят к значительному снижению массы тела у мышей *CBP<sup>ΔCH1/ΔCH1</sup>* и *p300<sup>ΔCH1/ΔCH1</sup>* и повышенной чувствительности к инсулину [57]. *p300/CBP* является ключевым регулятором энергетического обмена в печени (у дрозофилы аналогом печени является жировое тело), в том числе, липогенеза, экспорта липидов, глюконеогенеза [58]. На ключевую роль в координации баланса между анаболизмом и катаболизмом на клеточном уровне играет путь mTORC1/p300 [45]. Следовательно, семейство транскрипционных регуляторов *p300/CBP* может влиять на контроль ПЖ и старение, действуя через энергетический гомеостаз. Кроме того, нокаут гена *p300 S89A* негативно сказывался на состоянии кишечника у мышей, способствовал изменению состава микробиоты и иммунных реакций, приводил к изменениям в метаболических сигнальных путях [59].

Отметим, что наиболее интересные данные получены нами при сверхактивации и нокдауне гена *nej* в нервной системе. Критическую роль в проявлении их эффектов (помимо прочих факторов) сыграл тип клеток нервной системы, в котором менялась активность *nej*; стадия жизненного цикла, на которой работал драйвер; локализация UAS-конструкции. *CBP/p300* определяют развитие нервной системы, регуляцию транскрипции и пластичности в постмитотических нейронах [60]. У дрозофилы белок *p300* также идентифицирован как важный регулятор синаптического возбуждения через модуляцию пути *Rum/Mef2* [61]. Полученные нами результаты и опубликованные данные [60, 61] показывают, что в нервной системе семейство *CBP/p300* ацетилтрансфераз действуют через сеть механизмов, которые могут как способствовать долголетию, так и снижать ПЖ. Белки

СВР/p300 можно рассматривать в качестве мишени для геропротекторных вмешательств, направленных специфично на нервную систему, но требуется четкая настройка их экспрессии с учетом возможных негативных последствий.

Известно, что ацетилтрансферазы СВР/p300 вовлечены в патогенез таупатий, включая болезнь Альцгеймера. Гиперактивация СВР/p300 усиливает секрецию тау в результате блокирования аутофагии [47]. Накопление  $\beta$ -амилоида (А $\beta$ ) мешает активности белка CREB (с которым связываются коактиваторы СВР/p300), важного для формирования памяти. Вирусная доставка СВР в головной мозг приводит к восстановлению функции CREB, улучшает обучаемость и снижает дефицит памяти у мышей, используемых в качестве модели болезни Альцгеймера. Примечательно, что такое улучшение наступает без изменения концентрации пептида А $\beta$  и тау-белка, при этом оно связано с повышенным уровнем нейротрофического фактора головного мозга [62]. Индуцированная А $\beta$  деградация VMAL1 (белок, подобный ядерному транслокатору АНР) и СВР приводит к нарушению циркадного ритма при болезни Альцгеймера [63]. Кроме того, СВР-1 участвует в снижении агрегации  $\beta$ -амилоида и увеличении ПЖ у *C. elegans* [11].

Важно отметить, что СВР/p300 вносит вклад в процесс старения, участвуя в патогенезе ряда других возрастзависимых заболеваний [2]. Изменение активности этих ацетилтрансфераз, причем как в сторону подавления, так и в сторону гиперактивации, может привести к возникновению различных типов рака [64–67]. Например, мутации СВР находят при синдроме Рубинштейна–Тайби, который характеризуется повышенной предрасположенностью к злокачественным новообразованиям уже в детском возрасте [64]. Повышенная активность СВР/p300 усиливает активацию андрогеновых и эстрогеновых рецепторов, за счет чего способствует развитию рака предстательной железы или молочной железы [66]. Нарушение регуляции СВР/p300 вызывает изменение профилей экспрессии генов, вовлеченных в гипертрофические и фиброгенные процессы в миокарде, что приводит к развитию гипертрофии сердца, инфаркта миокарда, сердечной недостаточности, диабетической кардиомиопатии [68]. С другой стороны, подавление СВР/p300 у млекопитающих может быть связано с метаболическими расстройствами — от чрезмерного снижения жировых запасов и массы тела [57] до развития ожирения [2]. Применение ингибиторов данных ацетилтрансфераз подавляет патологическое изменение органов при сахарном диабете, например, посредством регуляции продукции активных форм кислорода и снижения воспаления [69].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На плодовой мушке *D. melanogaster* нами впервые проанализировано влияние сверхэкспрессии и нокдауна гена *nejire* (*nej*), кодирующего ортолог белков СВР/p300 человека, в различных тканях на ПЖ. В зависимости от использованного драйвера и типа ткани, в которой индуцировали *nej*, а также от половой принадлежности мух, активация *nej* оказала как положительное, так и отрицательное влияние на ПЖ. Эффект увеличения ПЖ наблюдали у самок при кондиционной сверхэкспрессии *nej* в кишечнике и конститутивной сверхэкспрессии *nej* в нервной системе. В то же время нокдаун *nej* в большинстве вариантов эксперимента снижал ПЖ *D. melanogaster*.

Анализ опубликованных данных позволил нам выявить комплексную связь СВР/p300 с механизмами, вовлеченными в регуляцию ПЖ и старения организма, а также обозначить вклад дерегуляции этих ацетилтрансфераз в развитие возрастных заболеваний человека. Дальнейшее изучение ортологов, относящихся к семейству СВР/p300 (включая белок, кодируемый *nej*), перспективно с точки зрения его использования в качестве фармакологической мишени. Однако необходимо учитывать, что такое воздействие требует тонкой настройки и детального изучения вовлеченных механизмов, поскольку для положительного эффекта может потребоваться подавление либо стимуляция активности ацетилтрансфераз в конкретных тканях. Так, в настоящее время достигнут прогресс в разработке ингибиторов СВР/p300 применительно к лечению онкологических, воспалительных, сердечно-сосудистых, аутоиммунных заболеваний человека [67, 70, 71]. При этом активация ацетилирования белков может требоваться для терапии нейродегенеративных расстройств [72, 73].

Авторы выражают благодарность Институту биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН за предоставленную коллекцию лабораторных линий плодовых мушек *Drosophila*.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме “Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*” (№ 122040600022-1).

В работе соблюдены все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и обращения с животными.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прошкина Е.Н., Соловьёв И.А., Шапошников М.В., Москалев А.А. 2020. Ключевые молекулярные ме-

- ханизмы старения, биомаркеры и потенциальные интервенции. *Молекуляр. биология*. **54**(6), 883–921.
2. Bradshaw P.C. (2021) Acetyl-CoA metabolism and histone acetylation in the regulation of aging and lifespan. *Antioxidants* (Basel). **10**, 572.
  3. Santos-Rosa H., Valls E., Kouzarides T., Martinez-Balbas M. (2003) Mechanisms of P/CAF auto-acetylation. *Nucl. Acids Res.* **31**, 4285–4292.
  4. Dutto I., Scalera C., Prosperi E. (2018) CREBBP and p300 lysine acetyl transferases in the DNA damage response. *Cell Mol. Life Sci.* **75**, 1325–1338.
  5. Xu Y., Wan W. (2023) Acetylation in the regulation of autophagy. *Autophagy*. **19**, 379–387.
  6. Goodman R.H., Smolik S. (2000) CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes Dev.* **14**, 1553–1577.
  7. Xue Y., Wen H., Shi X. (2018) CBP/p300: intramolecular and intermolecular regulations. *Front. Biol.* **13**, 168–179.
  8. Sen P., Lan Y., Li C.Y., Sidoli S., Donahue G., Dou Z., Frederick B., Chen Q., Luense L.J., Garcia B.A., Dang W., Johnson F.B., Adams P.D., Schultz D.C., Berger S.L. (2019) Histone acetyltransferase p300 induces *de novo* super-enhancers to drive cellular senescence. *Mol. Cell.* **73**, 684–698 e688.
  9. Vaziri H., West M.D., Allsopp R.C., Davison T.S., Wu Y.S., Arrowsmith C.H., Poirier G.G., Benchimol S. (1997) ATM-dependent telomere loss in aging human diploid fibroblasts and DNA damage lead to the post-translational activation of p53 protein involving poly(ADP-ribose) polymerase. *EMBO J.* **16**, 6018–6033.
  10. Huang W.S., Kuo Y.H., Kuo H.C., Hsieh M.C., Huang C.Y., Lee K.C., Lee K.F., Shen C.H., Tung S.Y., Teng C.C. (2017) CIL-102-Induced cell cycle arrest and apoptosis in colorectal cancer cells via upregulation of p21 and GADD45. *PLoS One.* **12**, e0168989.
  11. Li T.Y., Sleiman M.B., Li H., Gao A.W., Mottis A., Bachmann A.M., El Alam G., Li X., Goeminne L.J.E., Schoonjans K., Auwerx J. (2021) The transcriptional coactivator CBP/p300 is an evolutionarily conserved node that promotes longevity in response to mitochondrial stress. *Nat. Aging.* **1**, 165–178.
  12. Madeo F., Carmona-Gutierrez D., Kepp O., Kroemer G. (2018) Spermidine delays aging in humans. *Aging* (Albany NY). **10**, 2209–2211.
  13. Marek K.W., Ng N., Fetter R., Smolik S., Goodman C.S., Davis G.W. (2000) A genetic analysis of synaptic development: pre- and postsynaptic dCBP control transmitter release at the *Drosophila* NMJ. *Neuron.* **25**, 537–547.
  14. Smolik S., Jones K. (2007) *Drosophila* dCBP is involved in establishing the DNA replication checkpoint. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 135–146.
  15. Taylor J.P., Taye A.A., Campbell C., Kazemi-Esfarjani P., Fischbeck K.H., Min K.T. (2003) Aberrant histone acetylation, altered transcription, and retinal degeneration in a *Drosophila* model of polyglutamine disease are rescued by CREB-binding protein. *Genes Dev.* **17**, 1463–1468.
  16. Tseng A.S., Hariharan I.K. (2002) An overexpression screen in *Drosophila* for genes that restrict growth or cell-cycle progression in the developing eye. *Genetics.* **162**, 229–243.
  17. Osterwalder T., Yoon K.S., White B.H., Keshishian H. (2001) A conditional tissue-specific transgene expression system using inducible GAL4. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**, 12596–12601.
  18. Duffy J.B. (2002) GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis.* **34**, 1–15.
  19. Landis G.N., Salomon M.P., Kerolos D., Brookes N., Sekimura T., Tower J. (2015) The progesterone antagonist mifepristone/RU486 blocks the negative effect on life span caused by mating in female *Drosophila*. *Aging* (Albany NY). **7**, 53–69.
  20. Xia B., de Belle J.S. (2016) Transgenerational programming of longevity and reproduction by post-eclosion dietary manipulation in *Drosophila*. *Aging* (Albany NY). **8**, 1115–1134.
  21. Fleming T.R., O'Fallon J.R., O'Brien P.C., Harrington D.P. (1980) Modified Kolmogorov–Smirnov test procedures with application to arbitrarily right-censored data. *Biometrics.* **36**, 607–625.
  22. Mantel N. (1966) Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother. Rep.* **50**, 163–170.
  23. Martinez R.L.M.C., Naranjo J.D. (2012) A pretest for choosing between logrank and wilcoxon tests in the two-sample problem. *Metron.* **68**, 111–125.
  24. Wang C., Li Q., Redden D.T., Weindruch R., Allison D.B. (2004) Statistical methods for testing effects on “maximum lifespan”. *Mech. Ageing Dev.* **125**, 629–632.
  25. Han S.K., Lee D., Lee H., Kim D., Son H.G., Yang J.S., Lee S.V., 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.
  26. Kruskal W.H., Wallis W.A. (1952) Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J. Am. Stat. Assoc.* **47**, 583–621.
  27. Ganner A., Gerber J., Ziegler A.K., Li Y., Kandzia J., Matulenski T., Kreis S., Breves G., Klein M., Walz G., Neumann-Haefelin E. (2019) CBP-1/p300 acetyltransferase regulates SKN-1/Nrf cellular levels, nuclear localization, and activity in *C. elegans*. *Exp. Gerontol.* **126**, 110690.
  28. Wang D., Kon N., Lasso G., Jiang L., Leng W., Zhu W.G., Qin J., Honig B., Gu W. (2016) Acetylation-regulated interaction between p53 and SET reveals a widespread regulatory mode. *Nature.* **538**, 118–122.
  29. Boija A., Mahat D.B., Zare A., Holmqvist P.H., Philip P., Meyers D.J., Cole P.A., Lis J.T., Stenberg P., Mannervik M. (2017) CBP regulates recruitment and release of promoter-proximal RNA polymerase II. *Mol. Cell.* **68**, 491–503.e495.
  30. Li Y., Zhong H., Wu M., Tan B., Zhao L., Yi Q., Xu X., Pan H., Bi Y., Yang K. (2019) Decline of p300 contributes to cell senescence and growth inhibition of hUC-MSCs through p53/p21 signaling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **515**, 24–30.
  31. Ghosh R., Kaypee S., Shasmal M., Kundu T.K., Roy S., Sengupta J. (2019) Tumor suppressor p53-mediated structural reorganization of the transcriptional coactivator p300. *Biochemistry.* **58**, 3434–3443.
  32. Xu X., Zhang C., Xu H., Wu L., Hu M., Song L. (2020) Autophagic feedback-mediated degradation of IKK $\alpha$

- requires CHK1- and p300/CBP-dependent acetylation of p53. *J. Cell Sci.* **133**, jcs246868.
33. Wondisford A.R., Xiong L., Chang E., Meng S., Meyers D.J., Li M., Cole P.A., He L. (2014) Control of *Foxo1* gene expression by co-activator P300. *J. Biol. Chem.* **289**, 4326–4333.
34. Wu J., Jiang Z., Zhang H., Liang W., Huang W., Zhang H., Li Y., Wang Z., Wang J., Jia Y., Liu B., Wu H. (2018) Sodium butyrate attenuates diabetes-induced aortic endothelial dysfunction via P300-mediated transcriptional activation of Nrf2. *Free Radic. Biol. Med.* **124**, 454–465.
35. Xu D., Zalmas L.P., La Thangue N.B. (2008) A transcription cofactor required for the heat-shock response. *EMBO Rep.* **9**, 662–669.
36. Ruas J.L., Berchner-Pfannschmidt U., Malik S., Gradin K., Fandrey J., Roeder R.G., Pereira T., Poellinger L. (2010) Complex regulation of the transactivation function of hypoxia-inducible factor-1 alpha by direct interaction with two distinct domains of the CREB-binding protein/p300. *J. Biol. Chem.* **285**, 2601–2609.
37. Barrett L.N., Westerheide S.D. (2022) The CBP-1/p300 lysine acetyltransferase regulates the heat shock response in *C. elegans*. *Front. Aging.* **3**, 861761.
38. Hunt G., Boija A., Mannervik M. (2022) p300/CBP sustains Polycomb silencing by non-enzymatic functions. *Mol. Cell.* **82**, 3580–3597 e3589.
39. Siebold A.P., Banerjee R., Tie F., Kiss D.L., Moskowitz J., Harte P.J. (2010) Polycomb repressive complex 2 and Trithorax modulate *Drosophila* longevity and stress resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 169–174.
40. Dasari V., Srivastava S., Khan S., Mishra R.K. (2018) Epigenetic factors Polycomb (Pc) and Suppressor of zeste (Su(z)2) negatively regulate longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology.* **19**, 33–45.
41. Sharma S., Poetz F., Bruer M., Ly-Hartig T.B., Schott J., Séraphin B., Stoecklin G. (2016) Acetylation-dependent control of global Poly(A) RNA degradation by CBP/p300 and HDAC1/2. *Mol. Cell.* **63**, 927–938.
42. Ansari M.S.Z., Stagni V., Iuzzolino A., Rotili D., Mai A., Del Bufalo D., Lavia P., Degrossi F., Trisciuglio D. (2023) Pharmacological targeting of CBP/p300 drives a redox/autophagy axis leading to senescence-induced growth arrest in non-small cell lung cancer cells. *Cancer Gene Ther.* **30**, 124–136.
43. Solovev I., Shaposhnikov M., Kudryavtseva A., Moskalev A. (2018) *Drosophila melanogaster* as a model for studying the epigenetic basis of aging. In: *Epigenetics of Aging and Longevity.* **4**. Eds Moskalev A., Vaiserman A.M. Boston: Acad. Press, pp. 293–307.
44. Lee I.H., Finkel T. (2009) Regulation of autophagy by the p300 acetyltransferase. *J. Biol. Chem.* **284**, 6322–6328.
45. Wan W., You Z., Xu Y., Zhou L., Guan Z., Peng C., Wong C.C.L., Su H., Zhou T., Xia H., Liu W. (2017) mTORC1 phosphorylates acetyltransferase p300 to regulate autophagy and lipogenesis. *Mol. Cell.* **68**, 323–335.e326.
46. Hao Y., Ren Z., Yu L., Zhu G., Zhang P., Zhu J., Cao S. (2022) p300 arrests intervertebral disc degeneration by regulating the FOXO3/Sirt1/Wnt/ $\beta$ -catenin axis. *Aging Cell.* **21**, e13677.
47. Chen X., Li Y., Wang C., Tang Y., Mok S.A., Tsai R.M., Rojas J.C., Karydas A., Miller B.L., Boxer A.L., Gestwicki J.E., Arkin M., Cuervo A.M., Gan L. (2020) Promoting tau secretion and propagation by hyperactive p300/CBP via autophagy-lysosomal pathway in tauopathy. *Mol. Neurodegener.* **15**, 2.
48. Auwerx J., Li T.Y. (2020) A conserved role of CBP/p300 in mitochondrial stress response and longevity. *FASEB J.* **34**, 1. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2020.34.s1.00128>
49. Hung H.C., Maurer C., Kay S.A., Weber F. (2007) Circadian transcription depends on limiting amounts of the transcription co-activator nejdire/CBP. *J. Biol. Chem.* **282**, 31349–31357.
50. Lakshmanan M.D., Shaheer K. (2020) Endocrine disrupting chemicals may deregulate DNA repair through estrogen receptor mediated seizing of CBP/p300 acetylase. *J. Endocrinol. Invest.* **43**, 1189–1196.
51. Tezil T., Chamoli M., Ng C.P., Simon R.P., Butler V.J., Jung M., Andersen J., Kao A.W., Verdin E. (2019) Lifespan-increasing drug nordihydroguaiaretic acid inhibits p300 and activates autophagy. *NPJ Aging Mech. Dis.* **5**, 7.
52. Rao X., Tang P., Li Y., Fu G., Chen S., Xu X., Zhou Y., Li X., Zhang L., Mo S., Cai S., Peng J., Zhang Z., Gao J., Hua G. (2021) CBP/P300 Inhibitors mitigate radiation-induced GI syndrome by promoting intestinal stem cell-mediated crypt regeneration. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **110**, 1210–1221.
53. McCarroll S.A., Murphy C.T., Zou S., Pletcher S.D., Chin C.S., Jan Y.N., Kenyon C., Bargmann C.I., Li H. (2004) Comparing genomic expression patterns across species identifies shared transcriptional profile in aging. *Nat. Genet.* **36**, 197–204.
54. Landis G.N., Hilsabeck T.A.U., Bell H.S., Ronnen-Oron T., Wang L., Doherty D.V., Tejawinata F.I., Erickson K., Vu W., Promislow D.E.L., Kapahi P., Tower J. (2021) Mifepristone increases life span of virgin female *Drosophila* on regular and high-fat diet without reducing food intake. *Front. Genet.* **12**, 751647.
55. Kirfel P., Vilcinskis A., Skaljic M. (2020) Lysine acetyltransferase p300/CBP plays an important role in reproduction, embryogenesis and longevity of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Insects.* **11**, 265.
56. Cai H., Dhondt I., Vandemeulebroucke L., Vlaeminck C., Rasulova M., Braeckman B.P. (2019) CBP-1 acts in GABAergic neurons to double life span in axenically cultured *Caenorhabditis elegans*. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **74**, 1198–1205.
57. Bedford D.C., Kasper L.H., Wang R., Chang Y., Green D.R., Brindle P.K. (2011) Disrupting the CH1 domain structure in the acetyltransferases CBP and p300 results in lean mice with increased metabolic control. *Cell Metab.* **14**, 219–230.
58. Yao W., Wang T., Huang F. (2018) p300/CBP as a key nutritional sensor for hepatic energy homeostasis and liver fibrosis. *Biomed. Res. Int.* **2018**, 8168791.
59. Lai K.K.Y., Hu X., Chosa K., Nguyen C., Lin D.P., Lai K.K., Kato N., Higuchi Y., Highlander S.K., Melendez E., Eriguchi Y., Fueger P.T., Ouellette A.J., Ching N.O., Ono M., Kahn M. (2021) P300 serine 89:

- a critical signaling integrator and its effects on intestinal homeostasis and repair. *Cancers* (Basel). **13**(6), 1288.
60. Lipinski M., Del Blanco B., Barco A. (2019) CBP/p300 in brain development and plasticity: disentangling the KAT's cradle. *Curr. Opin. Neurobiol.* **59**, 1–8.
  61. Lin W.H., Baines R.A. (2019) Myocyte enhancer factor-2 and p300 interact to regulate the expression of homeostatic regulator Pumilio in *Drosophila*. *Eur. J. Neurosci.* **50**, 1727–1740.
  62. Caccamo A., Maldonado M.A., Bokov A.F., Majumder S., Oddo S. (2010) *CBP* gene transfer increases BDNF levels and ameliorates learning and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 22687–22692.
  63. Song H., Moon M., Choe H.K., Han D.H., Jang C., Kim A., Cho S., Kim K., Mook-Jung I. (2015) A $\beta$ -Induced degradation of BMAL1 and CBP leads to circadian rhythm disruption in Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* **10**, 13.
  64. Iyer N.G., Özdag H., Caldas C. (2004) p300/CBP and cancer. *Oncogene.* **23**, 4225–4231.
  65. Wang F., Marshall C.B., Ikura M. (2013) Transcriptional/epigenetic regulator CBP/p300 in tumorigenesis: structural and functional versatility in target recognition. *Cell. Mol. Life Sci.* **70**, 3989–4008.
  66. Waddell A.R., Huang H., Liao D. (2021) CBP/p300: critical co-activators for nuclear steroid hormone receptors and emerging therapeutic targets in prostate and breast cancers. *Cancers* (Basel). **13**(12), 2872.
  67. Chen Q., Yang B., Liu X., Zhang X.D., Zhang L., Liu T. (2022) Histone acetyltransferases CBP/p300 in tumorigenesis and CBP/p300 inhibitors as promising novel anticancer agents. *Theranostics.* **12**, 4935–4948.
  68. Ghosh A.K. (2020) p300 in cardiac development and accelerated cardiac aging. *Aging Dis.* **11**, 916–926.
  69. Lazar A.G., Vlad M.L., Manea A., Simionescu M., Manea S.A. (2021) Activated histone acetyltransferase p300/CBP-related signalling pathways mediate up-regulation of NADPH oxidase, inflammation, and fibrosis in diabetic kidney. *Antioxidants* (Basel). **10**, 1356.
  70. Xiong Y., Zhang M., Li Y. (2020) Recent advances in the development of CBP/p300 bromodomain inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **27**, 5583–5598.
  71. He Z.X., Wei B.F., Zhang X., Gong Y.P., Ma L.Y., Zhao W. (2021) Current development of CBP/p300 inhibitors in the last decade. *Eur. J. Med. Chem.* **209**, 112861.
  72. Valor L.M., Viosca J., Lopez-Atalaya J.P., Barco A. (2013) Lysine acetyltransferases CBP and p300 as therapeutic targets in cognitive and neurodegenerative disorders. *Curr. Pharm. Des.* **19**, 5051–5064.
  73. Singh A.K., Neo S.H., Liwang C., Pang K.K.L., Leng J.C.K., Sinha S.H., Shetty M.S., Vasudevan M., Rao V.J., Joshi I., Eswaramoorthy M., Pavon M.V., Sheila A.R., Navakkode S., Kundu T.K., Sajikumar S. (2022) Glucose derived carbon nanosphere (CSP) conjugated TTK21, an activator of the histone acetyltransferases CBP/p300, ameliorates amyloid-beta 1–42 induced deficits in plasticity and associativity in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Aging Cell.* **21**, e13675.

## ***Drosophila melanogaster* Lifespan Is Regulated by *nejire* Gene Expression in Peripheral Tissues and Nervous System**

**L. A. Koval<sup>1</sup>, E. N. Proshkina<sup>1</sup>, N. V. Zemskaya<sup>1</sup>, I. A. Solovlev<sup>1, 2</sup>, E. V. Shegoleva<sup>1</sup>, M. V. Shaposhnikov<sup>1</sup>, and A. A. Moskalev<sup>1, 3, 4, \*</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, 167982 Russia*

<sup>2</sup>*Pitirim Sorokin Syktyvkar State University, Syktyvkar, 167001 Russia*

<sup>3</sup>*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

<sup>4</sup>*Laboratory of Genetics and Epigenetic of Aging, Russian Clinical Research Center for Gerontology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 129226 Russia*

\**e-mail: amoskalev@ib.komisc.ru*

Histone acetyltransferases of the CBP/p300 family play the role of transcriptional regulators and are required for a number of biological processes (cell proliferation and differentiation, organism development, regulation of stress response and metabolism). In a study on the fruit fly *Drosophila melanogaster*, we analyzed for the first time the effect of overexpression and knockdown of the *nejire* (*nej*) ortholog gene in various tissues (fat body, intestine, nervous system) on lifespan. The activation of *nej* had both a positive and a negative effect on this parameter, depending on the driver and the tissue where *nej* was induced, as well as the sex of the animals. The effect of increasing lifespan (by 6–15%) was found in females with conditional overexpression of *nej* in the intestine and constitutive overexpression of *nej* in the nervous system. But in other cases, a shortening of life (up to 44%), or the absence of statistically significant changes were observed. In addition, activation of *nej* revealed changes in the expression of stress response genes (*Sod1*, *Gadd45*, *Hsp27*, *Hsp68*, *Hif1*). At the same time, knockdown of *nej* in most variants of the experiment caused a pronounced negative effect on the *Drosophila* lifespan.

**Keywords:** histone acetyltransferase, CBP/p300, *nejire*, lifespan, stress resistance, *Drosophila melanogaster*