

УДК 595.773.4:575'113'224.4:591.139

## **ВПЛИВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО НОКАУТУ ГЕНІВ *DYS*, *DG*, *SAM*, *CAPT* У НЕРВОВІЙ ТКАНИНІ НА ЛОКОМОТОРНУ АКТИВНІСТЬ ТА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

В.М. РІШКО, Я.І. ЧЕРНИК

Львівський національний університет імені Івана Франка

Україна, 79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4

e-mail: valentyyna.rishko@gmail.com

**Мета.** Для з'ясування ролі основних компонентів Дистрофін-глікопротеїнового комплексу – дистрофіну (*Dys*) і дистроглікану (*Dg*) та їх модифікаторів – кальмодуліну (*Sam*) і капuletу (*Capt*) у нервовій системі *Drosophila melanogaster*, було здійснено функціональний нокаут генів, що кодують ці білки. **Методи.** Дорослих особин з функціональним порушенням вказаних генів перевіряли на локомоторну активність та тривалість життя. **Результати і висновки.** Встановлено, що нестача продуктів генів *Dys*, *Dg*, *Sam*, *capt* у нервовій тканині призводить до порушення локомоторної активності та зниження показників середньої тривалості життя мух.

**Ключові слова:** *Drosophila melanogaster*, дистрофін, дистроглікан, тривалість життя, локомоторна активність.

**Вступ.** Порушення організації і функціонування дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК) є причиною розвитку м'язових дистрофій – захворювань, які супроводжуються дегенерацією скелетних м'язів, кардіоміопатією [1]. ДГК забезпечує як фізичне, так і сигнальне зв'язування сарколеми з актиновим цитоскелетом клітини [2]. До складу комплексу у ссавців входять дистрофін, дистроглікан, утрофін, дистробревіни, саркоглікани, синтрофіни, саркоспан. Мутації в генах основних компонентів ДГК – дистрофіну та дистроглікану поруч з дегенерацією м'язів можуть спричинити зміни у функціонуванні головного мозку [2] внаслідок порушеної фізіології нейронів [3 – 5].

Відомо, що *Drosophila melanogaster* є хорошим модельним об'єктом для вивчення багатьох захворювань людини, зокрема міопатій, оскільки у дрозофіли присутні всі компоненти ДГК, проте з меншою різноманітністю ізоформ [6]. Крім того у дрозофіли проявляються фенотипи, подібні до тих, які спостерігаються при дистрофії людини [7, 8]. Функція ДГК у нервовій тканині не є до кінця з'ясованою, тому доцільно вивчити роль як основних компонентів цього комплексу, так і їх модифікаторів, виявлених попередньо [9, 10, 11], у цій тканині.

Метою роботи було дослідити вплив функціонального нокауту генів *Dys*, *Dg* та *Sam* і *capt* у нервовій тканині на рухову активність та тривалість життя імаго *D. melanogaster*.

## Матеріали і методи

Матеріалом досліджень слугували лінії *D. melanogaster* з конструктами для інактивзації гена дистрофіну (*UAS-dsDystg4*) та дистроглікану (*UAS-dsDg30A*), які були описані раніше [7, 12]. RNAi лінії *UAS-CamRNAi* (v28242) та *UAS-captRNAi* (v21995) були отримані з Vienna drosophila stock center (VDRC), а драйверна лінія *elavGal4;tubGal80/Cy* (Bl#5145) та лінія дикого типу *Oregon R* – з Bloomington Drosophila Stock Center (BDRC).

Для функціонального нокаутування генів *Dys*, *Dg*, *Cam* та *capt* самок лінії *elavGal4;tubGal80/Cy* схрещували з самцями відповідних RNAi ліній. Дріжджовий активатор транскрипції Gal4 під промотором гена *elav*, який кодує нейрон-специфічний білок ELAV забезпечує експресію відповідного RNAi конструкту у нервовій системі. Білок Gal80, який у мух даної лінії експресується у всіх клітинах (бо знаходиться під промотором гена *tub*), є інгібітором Gal4. Інгібування транскрипції здійснюється завдяки зв'язуванню Gal80 з 30-ма амінокислотами з С-кінця Gal4 [13]. Для експериментів відбирали мух з нокаутом генів у нервовій тканині (відповідно без інгібітора Gal80). Мухи, які містили Gal80, використовувалися в якості контролю до кожного RNAi конструкту. Крім того, контролем слугували вихідна лінія *elavGal4;tubGal80/Cy* та лінія дикого типу *Oregon R*.

Для дослідження тривалості життя 30–45 мух розсаджували в пробірки (по 15 самок у кожную) з стандартним поживним середовищем [14]. Культуру підтримували в термостаті при температурі 25°C. Підрахунок живих мух і пересадку на свіже поживне середовище проводили раз в 2–3 дні без ефіризації. Для підтвердження отриманих результатів проводили 2 незалежних експерименти. На основі кривих виживання визначали середню тривалість життя (СТЖ) і максимальну тривалість життя (МТЖ). СТЖ характеризували трьома по-

казниками:  $S_{75}$ ,  $S_{50}$ ,  $S_{25}$  – індекс (в днях), на які залишалися живими 75 %, 50 % та 25 % мух відповідно. МТЖ розраховували у днях, на які залишалися живими останні 10 % комах відповідних ліній. Статистичну обробку проводили за допомогою Т-тесту пакету аналізу даних Ms Excel.

Тест на рухову активність та визначення індексу активності проводили згідно описаної методики [7]. Тестували імаго 12-денного віку. Для цього поміщали 12–15 мух в пробірку, струшували їх на дно, після чого їм надавали 30 с для подолання відстані довжиною 10 см. Тоді мух, які успішно справилися із заданим відрізком шляху, переносили в наступну пробірку, знову струшували на дно і надавали їм можливість подолати таку ж дистанцію за такий самий час. Цю процедуру повторювали 5 разів. Особин, які успішно долали шлях, підраховували в кожній серії досліду. За один експеримент тестували 30–40 мух відповідного генотипу при кімнатній температурі. Тест на рухову активність проводили двічі. Індекс активності розраховували за формулою:

$$C_{ind} = \frac{(n_1) + (n_2 \times 2) + (n_3 \times 3) + (n_4 \times 4) + (n_5 \times 5)}{n \times 5},$$

де  $C_{ind}$  – індекс рухової активності,  $n_x$  – кількість мух, що подолали дистанцію у відповідній пробірці,  $n$  – загальна кількість мух на початку експерименту.

Результати порівнювали статистично за допомогою Т-тесту пакету аналізу даних Ms Excel.

## Результати та обговорення

Нами та іншими авторами було виявлено експресію дистрофіну та дистроглікану у мозку та периферійній нервовій системі дрозофіли [7, 11, 15–19]. Показано, що у личинок дрозофіли *Dys* (ізоформа DLP2) та *Dg* експресуються у глутаматергічних нейром'язових з'єднаннях постсинаптично (тобто у м'язах), здійснюючи ретро-

градний (спрямований назад) контроль вивільнення нейромедіатора з пресинапсу [15, 17]. Виявлено також, що у личинок ізоформа *Dys* – *Dp186* є важливою у функціонуванні центрального синапсу між мотонейронами та їхніми пресинаптичними холінергічними інтернейронами. Редукція цієї ізоформи веде до посиленого збільшення вивільнення нейромедіатора у відповідь на певний стимул [18]. У личинок зниження експресії *Dys* і *Dg* як в нейронах, так і в глії порушує міграцію аксонів фоторецепторів, тобто *Dys* і *Dg* є важливими у цих двох типах клітин для нормальної міграції нейронів [7], подібно до ссавців [20].

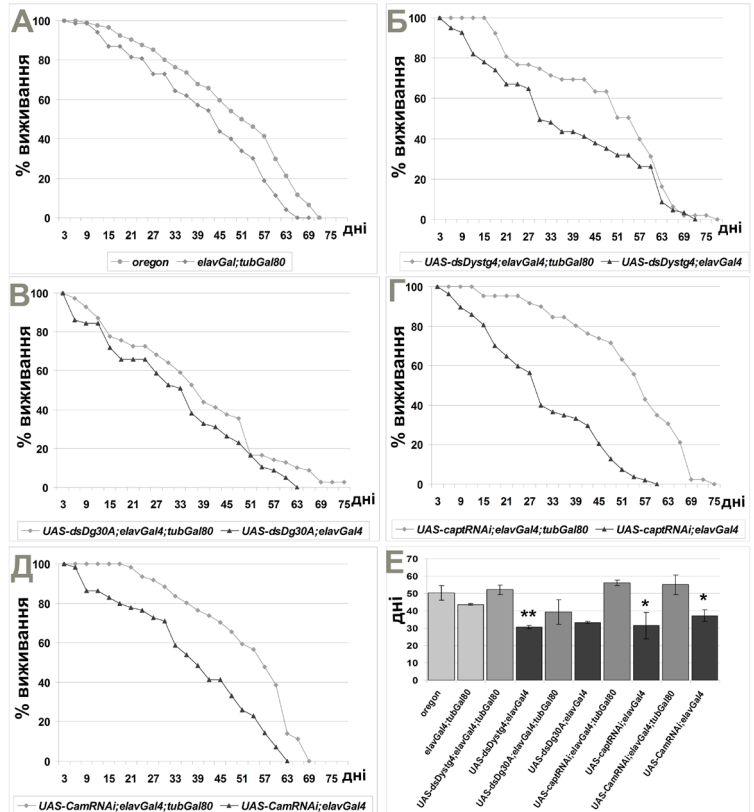
У попередній роботі ми виявили експресію *Dg* навколо мотонейронів, а *Dys* – у нейронах дорослих мух [11]. Закономірність такої експресії свідчила про те, що ДГК є важливим у розвитку нервової системи. Крім того, досліджуючи міграцію фоторецепторних аксонів у личинок дрозофіли та елонгацію оматидій у імаго, ми провели скринінг модифікаторів ДГК та виявили декілька генів,

**Рис. 1.** Криві виживання особин лінії дикого типу *Oregon R* та драйверної лінії *elavGal4; tubGal80* (А), а також мух зі зниженою експресією генів *Dys* (Б), *Dg* (В), *capr* (Г), *Cam* (Д) у нервовій системі разом з відповідними контролями. Е – показник середньої тривалості життя  $S_{50}$  (день, на який залишились живими 50% мух).

\* – імовірність  $p \leq 0,05$ , \*\* – імовірність  $p \leq 0,01$  – статистично достовірна різниця між експериментом і відповідним контролем

мутації в яких впливали на прояв фенотипу у мутантів за генами *Dys* та/або *Dg* у цих процесах [11]. Серед них були гени *Cam* (продуктом є Ca-зв'язувальний білок) та *capr* (продуктом є білок, задіяний у поляризації/деполяризації цитоскелету) [11]. Роботами інших авторів показано, що *Cam* відіграє важливу роль в керуванні конусів наростання нейронів та видовженні аксонів [21], а *Capr* необхідний для підтримання гомеостазу дендритів нейронів [22].

Для з'ясування, наскільки важливими є продукти генів *Dys*, *Dg*, *Cam* та *capr* у функціонуванні нервової системи та як впливає їх нестача на життєздатність особин, ми побудували криві виживання та проаналізували параметри тривалості життя (рис.1, табл.1) у мух зі зниженою експресією відповідних генів.



**Таблиця 1.** Тривалість життя особин з функціональним нокаутом генів *Dys*, *Dg*, *capt* та *Cam* у нервовій системі

Гібридні лінії	СТЖ, (дні)			МТЖ (дні), M ± m
	S <sub>75</sub> , M ± m	S <sub>50</sub> , M ± m	S <sub>25</sub> , M ± m	
<i>Oregon</i>	35,6 ± 4,1	50,3 ± 4,3	61,6 ± 0,1	67,4 ± 0,9
<i>elavGal4; tubGal80</i>	27,9 ± 2,6	43,6 ± 0,6	55,5 ± 0,9	60,1 ± 1,2
<i>UAS-dsDystg4; elavGal4; tubGal80</i>	27,4 ± 6,4	52,2 ± 2,7	61,5 ± 2,2	64,4 ± 2,5
<i>UAS-dsDystg4; elavGal4</i>	20,0 ± 7,3	30,6 ± 0,8**	58,4 ± 2,5	63,1 ± 2,5
<i>UAS-dsDg30A; elavGal4; tubGal80</i>	18,2 ± 0,9	39,4 ± 7,1	46,4 ± 3,6	58,2 ± 2,1
<i>UAS-dsDg30A; elavGal4</i>	10,4 ± 4,6	33,4 ± 0,4	47,0 ± 0,9	55,8 ± 4,2
<i>UAS-captRNAi; elavGal4; tubGal80</i>	43,0 ± 5,7	56,2 ± 1,5	49,6 ± 17,3	67,1 ± 1,4
<i>UAS-captRNAi; elavGal4</i>	17,1 ± 1,7*	31,5 ± 7,5*	39,2 ± 6,9	50,1 ± 2,1**
<i>UAS-CamRNAi; elavGal4; tubGal80</i>	42,0 ± 7,5	55,0 ± 5,5	61,5 ± 3,0	64,6 ± 3,0
<i>UAS-CamRNAi; elavGal4</i>	22,7 ± 8,4	37,2 ± 3,2*	52,8 ± 4,1	57,9 ± 2,9

\* – імовірність  $p \leq 0,05$  – статистично достовірна різниця між експериментом і відповідним контролем; \*\* – імовірність  $p \leq 0,01$ .

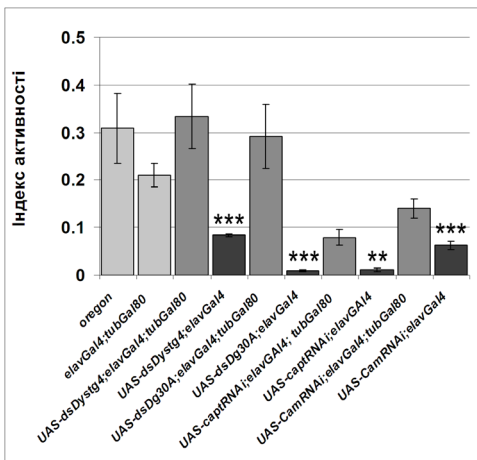
Як контроль використали мух, які містили інгібітор транскрипційного активатора Gal4 – Gal80, а також лінію дикого типу *Oregon R* та вихідну драйверну лінію. Важливою особливістю нормального старіння дрозофіли є наявність плато на кривій виживання, яке характеризує період активної життєздатності. Закінчення плато і перегин кривої свідчать про інтенсивне відмирання особин [23]. У контрольних ліній *Oregon R*, *elavGal4;tubGal80*, мух, які містили відповідні RNAi конструкти та Gal80 на кривих виживання є чітке плато, чого не спостерігали у мух з функціональним нокаутом генів. Не мали такого плато лише криві виживання особин зі зниженою експресією *Dg* (генотип *UAS-dsDg30RNAi; elavGal4*), разом з тим не мали такої характеристики і особини відповідного контролю *UAS-dsDg30RNAi; elavGal4; tubGal80*, можливо, в силу генетичного навантаження, яке несуть ці мухи. Ми порівняли дослідні гібридні лінії з відповідними контролями за параметрами середньої і максимальної тривалості життя (табл. 1).

Показник СТЖ S<sub>50</sub> у особин з функціональним нокаутом генів *Dys*, *capt* і *Cam* у нервовій системі становив 30,6 ± 0,8, 31,5

± 7,5 та 37,2 ± 3,2 днів, відповідно (рис. 1, табл. 1), у той час як у особин відповідних контролів цей показник був у межах 52,2 ± 2,7 – 56,2 ± 1,5 днів. Щодо максимальної тривалості життя, то вона, як у особин з нокаутом генів, так і у контрольних ліній, становила 55,8 ± 4,2 – 67,4 ± 0,9 днів. Лише у гібридній лінії *UAS-captRNAi; elavGal4* МТЖ була достовірно нижчою (50,1 ± 2,1 днів) за відповідний контроль *UAS-captRNAi; elavGal4; tubGal80* (67,1 ± 1,4 днів) (табл. 1).

Одним із фенотипових проявів, яким характеризуються мухи зі зниженою експресією генів *Dys* та *Dg*, є порушення локомоторної активності [7]. Важливо, що до зниження такої активності призводила негативна регуляція білків дистрофіну та дистроглікану як у всіх тканинах, так і, зокрема, у м'язах [7, 24]. Зниження індексу активності на 50 % автори спостерігали на 10–12 день життя дорослих особин. Ми вирішили з'ясувати, як буде впливати на локомоторну здатність мух нестача *Dys* та *Dg* у нервовій тканині. Справді, особини 12-денного віку показали низький індекс рухової активності, який становив 0,08 ± 0,003 для мух з функціональним нокаутом гена *Dys* та 0,01 ± 0,002 з нокаутом

гена *Dg*. Індекси рухової активності особин контролів були достовірно вищими і склали  $0,334 \pm 0,067$  та  $0,29 \pm 0,067$ , відповідно (рис. 2). Раніше вченими було виявлено важливість м'язевих *Dys* та *Dg* у функціонуванні нейром'язових з'єднань [15, 17]. Щодо нервової тканини, то було встановлено, що одна з ізоформ дистрофіну (*Dp186*) відіграє важливу роль у функціонуванні центрального синапсу у личинок [18], проте роль *Dg* у цьому з'єднанні авторами не досліджувалася. Не з'ясовано залишилася роль як дистрофіну, так і дистроглікану в центральному синапсі у дорослих особин. Невідомим був також вплив інактивації генів *Dys* та *Dg* у нервовій системі на рухову активність імаго. Згідно з нашими результатами *Dg*, як і *Dys*, мабуть, є необхідним у центральному синапсі дорослих особин, оскільки зниження експресії цього білка у нервовій системі може бути однією з причин порушення поведінкових реакцій, і в нашому конкретному випадку – зниження локомоторної активності мух (рис.2).



**Рис. 2.** Локомоторна активність особин зі зниженою експресією генів *Dys*, *Dg*, *capr* та *Cam* у нервовій системі.

\*\* – імовірність  $p \leq 0,01$ , \*\*\* – імовірність  $p \leq 0,001$  – статистично висока достовірна різниця між експериментом і відповідним контролем

Оскільки попередньо ми встановили важливе значення кальмодуліну і капuletу для міграції аксонів фоторецепторів у оці дрозофіли, а також взаємодію генів *Cam* і *capr* з генами *Dys* і *Dg* у даному процесі [11], надалі ми вирішили перевірити, чи буде впливати на локомоторну активність нокаут генів *Cam* і *capr* у нервовій тканині подібно, як і у випадку з генами *Dys* та *Dg*. Отримані результати засвідчили, що мухи зі зниженою експресією генів *Cam* та *capr* мають нижчий індекс рухової активності порівняно з відповідними контролями (рис.2).

Відомо, що гени *capr* і *Cam* залучені в регуляцію динаміки актину [25–28]. Попередньо нами виявлені порушення у розташуванні актину у *Dg* мутантів [11]. Отримані результати свідчили про важливість ДГК у передачі сигналів, які викликають перебудову цитоскелету у нейронах і повертання актину в конусах наростання, що є важливим процесом для міграції нейронів. Відомо, що під час метаморфозу багато личинкових структур, включаючи м'язи, дегенерують, а дорослі структури знову розвиваються з імагінальних дисків. Впродовж розвитку лялечки мотонейрони покидають дегенеровані м'язи личинки і мігрують, створюючи зв'язки до наново сформованих дорослих м'язових клітин [29]. Власне порушення міграції нейронів та їх функціонування, може бути однією з причин зниження рухової активності та середнього показника тривалості життя  $S_{50}$  у досліджуваних імаго. Щодо показника максимальної тривалості життя, то, очевидно, функціонування *Dys* та *Dg* у нервовій системі не є настільки життєвоважливим, як у м'язевій тканині та у деяких інших тканинах, що було показано авторами раніше [7, 24].

Однчасне зниження показників локомоторної активності та  $S_{50}$  у мух з функціональним нокаутом генів *Cam* та *capr* у нейронах ще раз підтверджує очевидну важ-



ливість функціонування продуктів цих генів у одному/одних сигнальних шляхах з *Dys* та *Dg*.

### Висновки

Здійснено функціональний нокаут генів *Dys*, *Dg*, *Sam* та *cap1* і показано, що нестача продуктів цих генів у нервовій тканині призводить до зниження життєздатності, показників середньої тривалості життя та індексу локомоторної активності імаго *Drosophila melanogaster*.

### Перелік літератури

1. Davies K. E., Nowak K.J. Molecular mechanisms of dystrophies: old and new players // *Nat. Rev. of Mol. Cell Biol.* – 2006. – Vol. 7, N 10. – P. 762–773.
2. Rando T.A. The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of cell survival in the muscular dystrophies // *Muscle Nerve.* – 2001. – Vol. 24, N 12. – P. 1575–1594.
3. Cibis G.W., Fitzgerald K.M., Harris D.J. et al. The effects of dystrophin gene mutations on the ERG in mice and humans // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1993. – Vol. 34, N 13. – P. 3646–3652.
4. Pillers D.A., Bulman D.E., Weleber R.G. et al. Dystrophin expression in the human retina is required for normal function as defined by electroretinography // *Nat. Genet.* – 1993. – Vol. 4, N 1. – P. 82–86.
5. Pillers D.A., Weleber R.G., Woodward W.R. et al. *mdx*Cv3 mouse is a model for electroretinography of Duchenne/Becker muscular dystrophy // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* – 1995. – Vol. 36, N 2. – P. 462–466.
6. Greener M.J., Roberts R.G. Conservation of components of the dystrophin complex in *Drosophila* // *FEBS Lett.* – 2000. – Vol. 482, N 1-2. – P. 13–8.
7. Shcherbata H.R., Yatsenko A.S., Patterson L. et al. Dissecting muscle and neuronal disorders in a *Drosophila* model of muscular dystrophy // *EMBO J.* – 2007. – Vol. 26, N 2. – P. 481–493.
8. Рішко В.М., Голуб Н.Я., Черник Я.І. Фенотипи у *Drosophila melanogaster*, зумовлені порушеннями функціонування дистрофіну та дистроглікану // *Biopolymers and Cell.* – 2011. – Vol. 27, № 6. – P. 423–431.
9. Kucherenko M.M., Pantoja M., Yatsenko A.S. et al. Genetic modifier screens reveal new components that interact with the *Drosophila* dystroglycan-dystrophin complex // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, N 6. – e2418.
10. Kucherenko M.M., Marrone A.K., Rishko V.M. et al. Stress and muscular dystrophy: a genetic screen for dystroglycan and dystrophin interactors in *Drosophila* identifies cellular stress response components // *Dev. Biol.* – 2011. – Vol. 352, N 2. – P. 228–242.
11. Marrone A.K., Kucherenko M.M., Rishko V.M., Shcherbata H.R. New Dystrophin/Dystroglycan interactors control neuron behavior in *Drosophila eye* // *BMC Neuroscience.* – 2011. – Vol. 12, N 93. – P. 1–14.
12. Deng W.M., Schneider M., Frock R. et al. Dystroglycan is required for polarizing the epithelial cells and the oocyte in *Drosophila* // *Development.* – 2003. – Vol. 130, N 1. – P. 173–184.
13. Duffy J.B. GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife // *Genesis.* – 2002. – Vol. 34, N 1–2. – P. 1–15.
14. Хромых Ю.М. Некоторые методы культивирования дрозофилы в генетическом эксперименте // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. – Новосибирск: Наука, 1977. – С. 204–225.
15. Van Der Plas M.C., Pilgram G.S., Plomp J.J. et al. Dystrophin is required for Appropriate Retrograde Control of Neurotransmitter Release at the *Drosophila* Neuromuscular Junction // *J. of Neurosci.* – 2006. – Vol. 26, N 1. – P. 333–344.
16. Van der Plas M.C., Pilgram G.S. de Jong, et al. *Drosophila* Dystrophin is required for integrity of the musculature // *Mech. of Dev.* – 2007. – Vol. 124, N 7–8. – P. 617–630.
17. Bogdanik L., Framery B., Frölich A. et al. Muscle dystroglycan organizes the postsynapse and regulates presynaptic neurotransmitter release at the *Drosophila* neuromuscular junction // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, N 4. – e2084.
18. Fradkin L.G., Baines R.A., van der Plas M.C., Noordermeer J.N. The dystrophin Dp186 isoform regulates neurotransmitter release at a central synapse in *Drosophila* // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28, N 19. – P. 5105–5114.
19. Wairkar Y.P., Fradkin L.G., Noordermeer J.N., DiAntonio A. Synaptic defects in a *Drosophila* model of congenital muscular dystrophy // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28, N 14. – P. 3781–3789.
20. Saito F., Moore S.A., Barresi R. et al. Unique role of dystroglycan in peripheral nerve myelination, nodal structure, and sodium channel stabilization // *Neuron.* – 2003. – Vol. 38. – P. 747–758.
21. VanBerkum M.F., Goodman C.S. Targeted disruption of Ca(2+)-calmodulin signaling in *Drosophila* growth cones leads to stalls in axon extension and errors in axon guidance // *Neuron.* – 1995. – Vol. 14, N 1. – P. 43–56.

22. Medina P.M., Worthen R.J., Forsberg L.J., Brenman J.E. The actin-binding protein capulet genetically interacts with the microtubule motor kinesin to maintain neuronal dendrite homeostasis // PLoS One. – 2008. – Vol. 3, N 8. – e3054.
23. Lints F.A., Stoll J., Gruwez G., Lints C.V. An attempt to select for increased longevity in *Drosophila melanogaster* // Gerontology. – 1979. – Vol. 25. – P. 192–204.
24. Яценко А.С. Молекулярно-генетичний аналіз дистрофін-дистрогліканового комплексу у модельного об'єкта *Drosophila melanogaster*: Дис... канд. наук: спец. 03.00.22 "молекулярна генетика". – К., 2009. – 19 с.
25. McQuilton P., St. Pierre S. E., Thurmond J. FlyBase Consortium. FlyBase 101 – the basics of navigating FlyBase // Nucleic Acids Research. – 2011. – 39:21. – doi: 10.1093/nar/gkr1030
26. Balcer H.I., Goodman A.L., Rodal A.A. et al. Coordinated regulation of actin filament turnover by a high-molecular-weight Srv2/CAP complex, cofilin, profilin, and Aip1 // Curr. Biol. – 2003. – Vol. 13, N 24. – P. 2159–2169.
27. Moriyama K., Yahara I. Human CAP1 is a key factor in the recycling of cofilin and actin for rapid actin turnover // J. Cell Sci. – 2002. – Vol. 115, N 8. – P.1591–1601.
28. Fukushima N., Ishii I., Habara Y. et al. Dual regulation of actin rearrangement through lysophosphatidic acid receptor in neuroblast cell lines: actin depolymerization by Ca(2+)-alpha-actinin and polymerization by rho // Mol. Biol. Cell. – 2002. – Vol. 13, N 8. – P. 2692–2705.
29. Lloyd T.E., Taylor J.P. Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease // Ann. NY Acad. Sci. – 2010 – Vol. 1184. – P.1–20.

Представлено І.А. Козерецькою  
Надійшла 16.12.2011

ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НОКАУТА  
ГЕНОВ *DYS*, *DG*, *CAM*, *CAPT* В НЕРВНОЙ  
ТКАНИ НА ЛОКОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ И  
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANO-*  
*NOGASTER*

В.М.Ришко, Я.И.Черник

Львовский национальный университет имени  
Ивана Франко  
Украина, 79005, г. Львов, ул. Грушевского, 4  
e-mail: valentyana.rishko@gmail.com

**Цель.** Для изучения роли главных компонентов Дистрофин-гликопротеинового комплекса дистрофина (*Dys*) и дистрогликана (*Dg*), а также их модификаторов – кальмодулина (*Cam*) и капюлета (*Capt*) в нервной системе *Drosophila melanogaster*, было осуществлено функциональный нокаут генов, кодирующих эти белки. **Методы.** Взрослых особей с функциональным нарушением указаний генов исследовали на локомоторную активность и продолжительность жизни. **Результаты и выводы.** Установлено, что нехватка продуктов генов *Dys*, *Dg*, *Cam*, *capt* в нервной ткани приводит к нарушениям локомоторной активности и снижению показателей средней продолжительности жизни мух.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, дистрофин, дистрогликан, продолжительность жизни, локомоторная активность.

INFLUENCE OF FUNCTIONAL KNOCKOUT OF  
GENES *DYS*, *DG*, *CAM*, *CAPT* IN NERVOUS  
TISSUE ON LOCOMOTOR ACTIVITY AND  
LIFESPAN OF *DROSOPHILA MELANO-*  
*GASTER*

V.M. Rishko, YA.I. Chernykh

Ivan Franko National University of L'viv  
Ukraine, 79005, Lviv, Grushevskogo str., 4  
e-mail: valentyana.rishko@gmail.com

**Aim.** To elucidate the role of the main Dystrophin-Glycoprotein complex components – Dystrophin (*Dys*), Dystroglycan (*Dg*) and their modifiers – Calmodulin (*Cam*) and Capulet (*capt*) in nervous system of *Drosophila melanogaster*, the functional knockout of the genes encoding these proteins was performed. **Methods.** Adult flies with functional defects of these genes were tested for locomotor activity and lifespan. **Results and conclusions.** It was found that lack of products encoded by genes *Dys*, *Dg*, *Cam*, *capt* in nervous system lead to changes in locomotor activity and decrease of average lifespan indexes of flies.

**Key words:** *Drosophila melanogaster*, Dystrophin, Dystroglycan, lifespan, locomotor activity.