

ГЕНЕТИКА

УДК 595.773.4:575'113'224.4:591.139

**ВПЛИВ ІМОВІРНИХ ГЕНІВ-МОДИФІКАТОРІВ *nAchRa-30D* ТА *Cam* НА
ПРОЯВ МУТАНТНОГО ДИСТРОФІНОВОГО ФЕНОТИПУ У *DROSOPHILA
MELANOGASTER***

Ю. Шаловило^{1*}, Я. Черник¹, Р. Білий², Н. Голуб¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: yulya_shalovylo@mail.ru

Досліджено вплив генів-модифікаторів *nAchRa-30D* та *Cam*, що задіяні у функціонуванні м'язів і цитоскелету, на мутантний за геном дистрофіну фенотип у *Drosophila melanogaster*. Для вивчення їхнього впливу одержано особини, що в одному організмі містили ген-модифікатор і генетичну конструкцію для інактивації гена дистрофіну. Унаслідок аналізу таких гібридів виявлено відновлення структури вен крила та структури м'язів, збільшення показників максимальної тривалості життя (МТЖ), середньої тривалості життя (СТЖ), індексу рухової активності та збільшення довжини оматидіїв очей, порушення яких є характерними фенотиповими ознаками мутантів за геном дистрофіну. Ген *nAchRa-30D* виявився більш ефективним супресором мутантного дистрофінового фенотипу порівняно з геном *Cam*.

Ключові слова: дрозофіла, дистрофін, ген-модифікатор, *nAchRa-30D*, *Cam*.

До категорії спадкових невиліковних хвороб належать м'язові дистрофії [1, 2]. В основі їхнього розвитку лежать порушення у структурі та функціонуванні дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), що забезпечує зв'язок між цитоскелетом і зовнішньоклітинним матриксом [9]. Найважчою формою міопатій є м'язова дистрофія Дюшена (МДД), що зумовлена делеціями у гені дистрофіну, який є складовою частиною ДГК, локалізований в Х-хромосомі людини. МДД починається у віці 2–5 років і характеризується прогресуючою м'язовою слабкістю, атрофією та псевдоатрофією проксимальних м'язів, нерідко супроводжується кардіоміопатіями та порушенням інтелекту [2, 7]. На сьогодні таке захворювання лікується лише симптоматично. Для часткової корекції функціонування гена дистрофіну в людей з МДД застосовують генотерапевтичні методи, які виявляються не завжди ефективними. Тому ведуться пошуки нових методів у лікуванні м'язових дистрофій. Одним із таких підходів є дослідження впливу генів-модифікаторів на функціонування ДГК. Хорошим генетичним об'єктом для проведення таких досліджень є *Drosophila melanogaster*. Так, виявлено, що у дрозофіли є гомологи всіх компонентів ДГК людини, хоча з меншою кількістю ізоформ [3].

Метою роботи було перевірити вплив генів *nAchRa-30D* і *Cam*, задіяних у функціонуванні м'язів та цитоскелету, на мутантний дистрофіновий фенотип у лінії *tg6* і *NH2-Dys* *Drosophila melanogaster*.

Матеріали та методи

Матеріалом досліджень служили високоінбредні лабораторні лінії *D. melanogaster*, отримані з університету Дж. Вашингтона (м. Сіетл, США): *tg6 (dsDys(tg6)tubGal4//*
© Шаловило Ю., Черник Я., Білий Р., Голуб Н., 2011

TM6B, Tb) та *NH₂-Dys (NH₂-Dys ActGal4//CyO)*. Ці лінії були сконструйовані з використанням антисенс-РНК до N- та С-кінців мРНК дистрофіну. Лінія *tg6* характеризується зниженим синтезом усіх ізоформ дистрофіну на 70%, тоді як у лінії *NH₂-Dys* синтезуються лише короткі ізоформи. Тому в таких мух проявляється мутантний дистрофіновий фенотип, характерними ознаками якого є зниження показників тривалості життя, порушення мобільності особин, аномальний розвиток задньої поперечної вени крила (PCV), дегенерація м'язів тораксу, яка починається з 12-го дня імаго і прогресує з віком, а також порушення полярності овоцитів і фоторецепторних нейронів. Також було використано лінії, що несуть додаткові копії генів-модифікаторів *nAchRa-30D (nAchRa-30D//CyO)* та *Cam (Cam//CyO)*. Контролем служила лінія дикого типу *Oregon*.

Для дослідження параметрів тривалості життя мух проводили тест на виживання з подальшою побудовою й аналізом кривих виживання. Для побудови кривих виживання брали по сто мух відповідної лінії у кожному досліді. Вихідна кількість особин у кожній пробірці дорівнювала 10. Через кожні 3 дні здійснювали пересипання їх на свіже поживне середовище і фіксували кількість мух, які вижили. Цей процес тривав доти, поки всі мухи не загинули. На основі побудованих кривих виживання визначали показники СТЖ і МТЖ. Показники СТЖ визначали за такими параметрами: S_{75} – термін (у добах), на котрий залишаються живими 75% мух, S_{50} – 50% мух і S_{25} – 25% мух відповідно. Виготовлення гістологічних препаратів м'язів тораксу й очей проводили згідно з методикою Хейзенберга і Боля [4]. Фарбування препаратів зрізів здійснювали гематоксилін-еозином згідно з методикою Майєра [4]. Гістологічні препарати аналізували у видимому світлі з використанням об'єктива 20- та 40-кратного збільшення на мікроскопі Laboval-3 Carl Zeiss Jena. Дослідження вен крил особин першого покоління проводили з використанням біокулярної лупи 6-кратного збільшення. Для характеристики локомоторної активності визначали індекс рухової активності за допомогою climbing-тесту [8]. Довжину оматидій вимірювали за допомогою програми Image ProPlus. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакету аналізу даних MS Excel на персональному комп'ютері.

Результати і їхнє обговорення

Попередньо дослідниками з університету Дж. Вашингтона було визначено 37 генів, які можуть виступати модифікаторами функціонування ДГК. Ці гени були віднесені до 6 груп. До першої групи віднесли гени, задіяні у функціонуванні м'язів і цитоскелету (*nAchRa-30*, *Cam*, *mbl*, *Fhos*, *Lis-1*), до другої – гени, які беруть участь у міграції нейронів (*sema-1a*, *fra*, *slit*, *robo*, *stan*), до третьої, четвертої та п'ятої груп включили гени, задіяні в основних регуляторних шляхах клітини, а саме – *Notch*, *TGF- β* та *EGFR*-сигналюванні (*Notch*, *Dad*, *tkv*, *msk*, *Dl*, *kek1*, *argos*). Інші гени належать до шостої групи (*Nrk*, *kis*, *wun*) [6]. У роботі досліджено здатність генів першої групи, а саме *nAchRa-30D* та *Cam*, впливати на прояв дистрофінового фенотипу у лінії *tg6* та *NH₂-Dys D. melanogaster*.

Ген *nAchRa-30D D. melanogaster* цитологічно локалізований у 2L хромосомі, районі 9,796,948..9,886,214. У нього відомо 12 алельних варіантів. Ген транскрибується у дорослих імаго в нервовій системі, але не в ембріонах і личинках. У нього відомі 2 транскрипти і 2 поліпептиди: 64 амінокислоти і 21 амінокислота. Він бере участь у біологічних процесах (катіонно-іонного транспорту, м'язових скорочень), нейром'язових з'єднаннях [5].

Ген *Calmodulin* складається з чотирьох екзонів, розділених трьома інтронами, завдовжки 3,4–4,3 т.п.н. Він є цитологічно локалізований у 2R хромосомі, районі 8,146,913..8,162,130. У нього відомо 49 алельних варіантів. На відміну від інших генетичних об'єктів, у *D. melanogaster* є тільки один ген, що кодує білок *Cam*. Кальмодулін (*Cam*) –

це невеликий кальційзв'язувальний білок еукаріот. Основна функція кальмодуліну – активація ферментів: аденілатциклази, фосфодіестерази циклічних нуклеотидів, Ca^{2+} -залежної протеїнкінази цитоплазми та мембран, фосфоліпази A2 та ін. [5].

Для аналізу впливу генів-модифікаторів на мутантний фенотип за геном дистрофіну було проведено систему схрещувань ліній, які містили додаткові копії генів-модифікаторів з мутантними лініями для отримання гібридів, які би в одному організмі містили досліджуваний ген-модифікатор і генетичну конструкцію для інактивації гена дистрофіну. Аналізували таких потомків, у першу чергу, за фенотипом жилкування вен крила. Однією з характерних фенотипових ознак дистрофінових мутантів є порушення структури задньої поперечної вени крила (PCV) (рис. 1, Б, В), на відміну від особин дикого типу *Oregon*, у яких PCV є суцільною і з'єднує повздовжні вени L4 і L5 між собою (рис. 1, А).

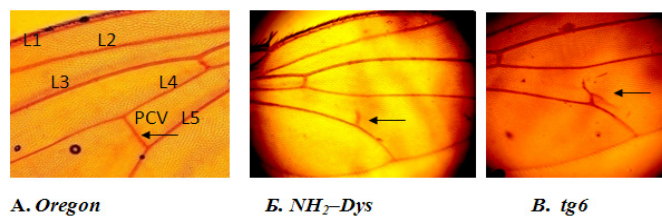


Рис. 1. Жилкування вен крила у особин дикого типу *Oregon* (А) і мутантних за геном дистрофіну ліній *NH₂-Dys* та *tg6* (Б, В).

При аналізі гібридів першого покоління з потрібним генотипом спостерігали відновлення нормального жилкування вен крила у всіх системах схрещувань, однак з неповною пенетрантністю. Так, у осіб із генотипом *nAchRa-30D//+ tg6//+* спостерігали відновлення PCV з частотою 52% (рис. 2, Б). Від схрещувань *NH₂-Dys* × *nAchRa-30D* з потрібним генотипом виявлено 867 імаго, серед яких 325 мали відновлений фенотип, що становить 38%. При внесенні додаткової копії гена *Cam* частота відновлення PCV була дещо нижчою: 20% для осіб генотипом *NH₂-Dys//Cam* та 43% для мух від схрещування *Cam* × *tg6* (табл. 1).

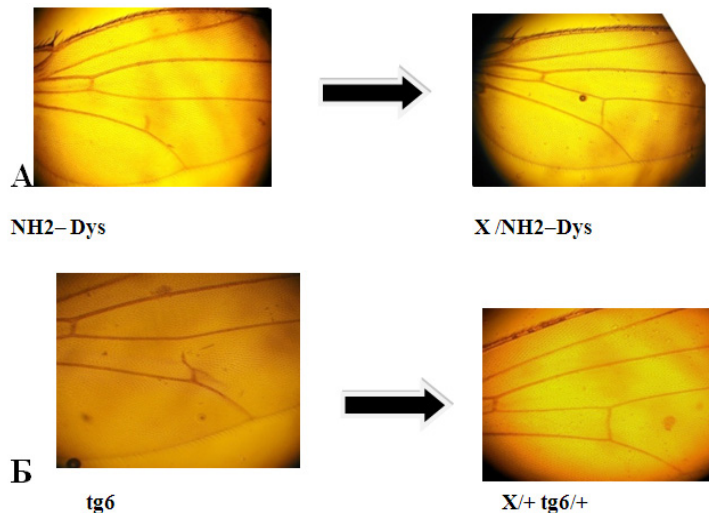


Рис. 2. Жилкування вен крила потомків першого покоління з генотипами *X/NH₂-Dys* (А), *X//+ tg6//+* (Б) (де X – ген-модифікатор *nAchRa-30D* або *Cam*) порівняно з особинами ліній *NH₂-Dys* та *tg6*.

Таблиця 1

Частота появи потомків F₁ з відновленим фенотипом жилкування вен крил

| F1 | Кількість імаго з потрібним генотипом | Кількість особин з відновленим фенотипом | Частота відновленого фенотипу, % | Частота мутантного фенотипу, % |
|---|---------------------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------|
| контроль <i>tg6</i> | 485 | 24 | 4,9±0,9 | 95,1±0,9 |
| <i>tg6</i> × <i>Cam</i> | 1120 | 479 | 43,0±1,5*** | 57,0±1,5*** |
| <i>tg6</i> × <i>nAchRα-30D</i> | 1101 | 572 | 52,0±1,8*** | 48,0±1,8*** |
| контроль <i>NH₂-Dys</i> | 300 | 31 | 10,3±1,8 | 89,7±1,8 |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>Cam</i> | 1676 | 337 | 20,0±0,9*** | 80,0±0,9*** |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>nAchRα-30D</i> | 867 | 325 | 38,0±1,7*** | 62,0±1,7*** |

*** $p \geq 0,999$ істотна ймовірність наявності ефекту.

Отже, гени *Cam* і *nAchRα-30D* певним чином супресують мутантний дистрофічний фенотип за ознакою жилкування вен крила. Підсилення мутантного фенотипу в жодному схрещуванні виявлено не було.

Оскільки надекспресія генів *Cam* і *nAchRα-30D* призводить до відновлення PCV у гібридів F₁, важливо було проаналізувати, чи будуть ці гени впливати на інші характеристики – структуру м'язів тораксу, локомоторну активність, тривалість життя і зміну довжини оматидій ока.

Було побудовано криві виживання й охарактеризовано параметри тривалості життя для контрольних ліній *Oregon*, *NH₂-Dys*, *tg6* та гібридів першого покоління (рис. 3, табл. 2). При аналізі кривих виживання особлива увага приділяється плато на кривій, наявність якого вважається характерною ознакою нормального старіння дрозофіли, а закінчення плато і перегин кривої свідчать про інтенсивне відмирання особин. Особливо важливими є показники середньої тривалості життя (СТЖ), високі значення яких свідчать про підтримання періоду активної життєздатності. Як видно з рис. 3, у особин дикого типу перегин плато спостерігався з 15-го дня життя імаго. Показники СТЖ становили: S_{75} – 22,6 дня, S_{50} – 24,8 дня, S_{25} – 38,0 днів; МТЖ становила 48,2 дня.

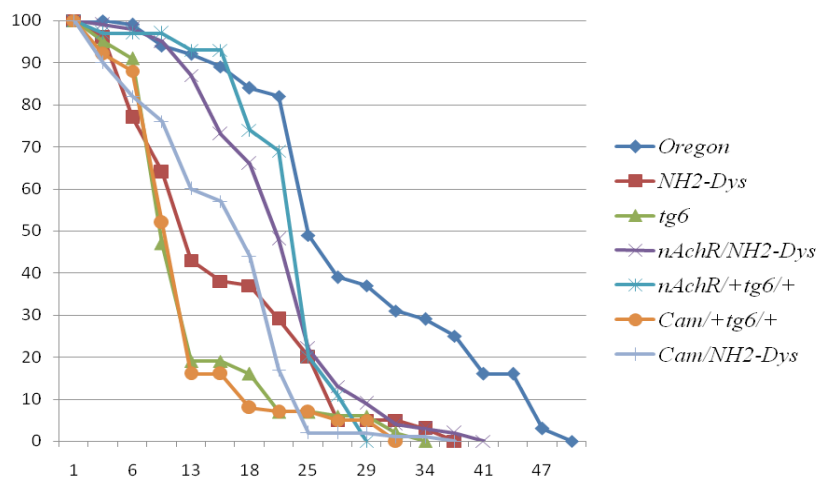


Рис. 3. Криві виживання мутантів *NH₂-Dys*, *tg6* та особин першого покоління від проведених схрещувань.

Таблиця 2

Показники тривалості життя імаго мутантних ліній і особин першого покоління

| Лінії | СТЖ, дні | | | МТЖ (дні) M ± m |
|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------------|
| | S75 M ± m | S50 M ± m | S25 M ± m | |
| <i>Oregon</i> | 22,6±0,46** | 24,8±0,20* | 38,0±0,37* | 48,2±0,56** |
| Контроль <i>NH2-Dys</i> | 6,5±0,15** | 10,6±0,17** | 23,8±0,13** | 29,0±0,34** |
| <i>Cam//NH2-Dys</i> | 8,2±0,98* | 16,3±1,05* | 19,5±0,72* | 24,7±1,30* |
| <i>nAchRa-30D//NH2-Dys</i> | 14,8±0,18** | 20,5±0,23** | 24,7±0,56* | 32,0±0,29** |
| Контроль <i>tg6</i> | 7,1±0,10** | 7,8±0,37** | 10,2±0,39** | 25,0±0,43* |
| <i>Cam//+ tg6//+</i> | 6,8±1,10* | 8,0±0,90* | 10,4±0,76* | 20,5±1,07* |
| <i>nAchRa-30D-/+ tg6//+</i> | 17,6±0,59* | 22,0±0,46** | 23,4±0,48** | 29,0±0,78* |

* $p \geq 0,95$ низький рівень достовірності, ** $p \geq 0,99$ високий рівень достовірності.

Мутанти за геном дистрофіну характеризувалися відсутністю плато на кривих виживання – особини відмирали вже на 5–7 день. Значно зниженими були показниками як СТЖ, так і МТЖ, порівняно з лінією *Oregon* (рис. 3, табл. 2). Так, показники СТЖ для мутантів лінії *NH2-Dys* становили відповідно: S75 – 6,5 дня, S50 – 10,6 дня, S25 – 23,8 дня. МТЖ дорівнювала 29,0 днів. Для особин лінії *tg6* ці параметри були такими: S75 – 7,1 дня, S50 – 7,8 дня, S25 – 10,1 дня. МТЖ дорівнювала 25,0 днів.

Надекспресія генів-модифікаторів у нащадків F1 призводить до збільшення виживання та до зростання параметрів як СТЖ, так і МТЖ. Так, у гібридів із генотипом *NH2-Dys//nAchRa-30D* перегин кривої виживання відбувся на 13-й день, а показники S75 та S50 зросли удвічі. Збільшення МТЖ на 10 і 16% виявлено для імаго з генотипом *NH2-Dys//nAchRa-30D* та *nAchRa-30D//+ tg6//+*, відповідно до показників тривалості життя вихідних ліній *NH2-Dys* та *tg6*, хоча значень контролю вони не досягли. Надекспресія гена *Cam* не збільшувала виживання отриманих гібридів, оскільки не спостерігалось відновлення плато, проте відбувалося зростання показників СТЖ на 23–56% у особин від схрещування *Cam* × *NH2-Dys* (табл. 2). У особин з генотипом *Cam//+ tg6//+* збільшення показників середньої тривалості життя не спостерігалось.

Одним із наступних завдань було дослідити структуру м'язів мутантних особин. Були проаналізовані гістологічні препарати зрізів м'язів тораксу мух на 12-й день після вильоту імаго, оскільки відомо [6], що саме з цього дня починається помітна дегенерація м'язів у дистрофінових мутантів. У вихідних ліній *NH2-Dys* та *tg6* структура м'язів виявилася порушеною (поява локальних ділянок відмирання клітин у структурі м'язової тканини), що не властиво особинам лінії *Oregon* такого ж віку (рис. 4, А, Б, В, табл. 3). Так, у особин лінії *tg6* частота появи сегментів з порушеною структурою м'язів становила 94,7%, у особин лінії *NH2-Dys* – 93,2%.

Проаналізувавши гістологічні зрізи м'язів тораксу в особин F₁ з відновленим фенотипом вен крила, спостерігали часткове відновлення структури м'язових волокон (рис. 4, Г, табл. 3). Так, у потомків від схрещування *NH₂-Dys* × *nAchRa-30D* та *tg6* × *nAchRa-30D* частота відновлення структури м'язів тораксу становила 61,5 і 53%, відповідно. Високу частоту відновлення структури м'язових волокон спостерігали також у гібридів від схрещування *Cam* × *tg6*, *Cam* × *NH2-Dys*, яка становила 63,2 і 55,2% відповідно. Отже, гени *Cam* та *nAchRa-30D* виявилися ефективними супресорами за даною ознакою.

Також виявили, що показники локомоторної активності у мутантів за геном дистрофіну впродовж усього життя були достовірно нижчими порівняно з імаго лінії *Oregon* (табл. 4). Аналіз локомоторної активності гібридів F₁ показав, що значення індексу рухової

активності достовірно зростали впродовж досліджуваного терміну життя (12 днів). Так, у потомків від схрещувань *NH₂-Dys* × *nAChRa-30D* спостерігали збільшення показників локомоторної активності у 3–5 разів, а в гібридів з генотипом *NH₂-Dys//Cam* у 2–3 рази порівняно зі значеннями динаміки рухової для мух лінії *NH₂-Dys*. У гібридів від схрещувань дистрофінового мутанта *tg6* з лініями, що несли додаткові копії генів-модифікаторів *Cam* і *nAChRa-30D* теж спостерігали зростання значень індексу рухової активності порівняно з контрольною лінією: у 3–4 рази в особин з генотипом *Cam//+ tg6//+* та у 4–7 рази для імаго з генотипом *nAChRa-30D//+ tg6//+*.

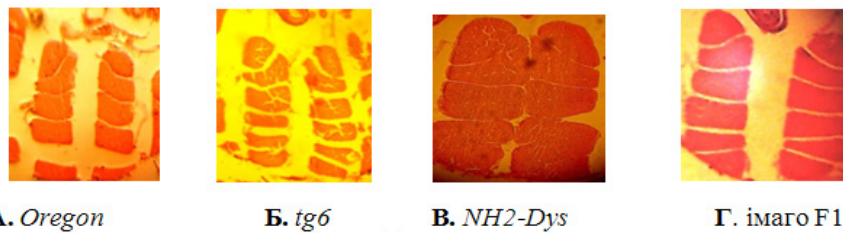


Рис. 4. Гістологічні зрізи м'язів тораксу осіб з інактивованим геном дистрофіну та потомків першого покоління (×400, світлова мікроскопія, фарбування гематоксилін-еозином): А – м'язи лінії дикого типу *Oregon*; Б, В – м'язи мутантів за геном дистрофіну – *NH₂-Dys*, *tg6*; Г – особи з відновленим фенотипом F₁.

Таблиця 3

Результати аналізу гістологічних зрізів м'язів потомків першого покоління від проведених схрещувань

| F1 | Кількість імаго з відновленою PCV | Кількість проаналізованих сегментів м'язів | Кількість сегментів з відновленою структурою м'язів | Частота відновлення фенотипу |
|---|-----------------------------------|--|---|------------------------------|
| Контроль <i>tg6</i> | 90 | 754 | 40 | 0,053±0,008 |
| <i>tg6</i> × <i>Cam</i> | 75 | 645 | 356 | 0,552±0,020*** |
| <i>tg6</i> × <i>nAChR-30D</i> | 72 | 573 | 306 | 0,530±0,021*** |
| Контроль <i>NH₂-Dys</i> | 77 | 890 | 61 | 0,068±0,008 |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>Cam</i> | 90 | 908 | 574 | 0,632±0,016*** |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>nAChRa-30D</i> | 90 | 767 | 487 | 0,615±0,018*** |

*** $p \geq 0,999$ дуже висока ймовірність наявності ефекту.

Таблиця 4

Динаміка рухової активності мутантів за геном дистрофіну та гібридів F₁

| F1 | Індекс рухової активності у особин певного віку (дні) | | | |
|--|---|---------------|---------------|---------------|
| | 1–3 | 4–6 | 7–9 | 10–12 |
| Контроль <i>NH₂-Dys</i> | 0,102±0,02*** | 0,170±0,03*** | 0,110±0,03*** | 0,140±0,03*** |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>Cam</i> | 0,370±0,07*** | 0,290±0,07*** | 0,190±0,06** | 0,310±0,03*** |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>nAChRa-30Da</i> | 0,540±0,11** | 0,500±0,05*** | 0,310±0,04** | 0,360±0,09** |
| Контроль <i>tg6</i> | 0,060±0,01* | 0,050±0,02* | 0,035±0,01* | 0,015±0,01* |
| <i>tg6</i> × <i>nAChRa-30Da</i> | 0,430±0,05** | 0,210±0,03** | 0,210±0,04** | 0,280±0,05** |
| <i>tg6</i> × <i>Cam</i> | 0,210±0,08** | 0,220±0,05** | 0,102±0,03* | 0,094±0,02* |
| <i>Oregon</i> | 0,560±0,05*** | 0,540±0,07*** | 0,410±0,06** | 0,390±0,03** |

* $p \geq 0,95$ низький рівень достовірності; ** $p \geq 0,99$ високий рівень достовірності; *** $p \geq 0,999$ дуже високий рівень достовірності.

Порушення у функціонуванні ДГК призводять до розвитку дефектної центральної нервової системи [7]. Дослідження виявили, що відбувається зміна довжини фоторецепторних клітин (R-клітин), які є основною складовою оматидій ока дрозофіли. Тому наступним нашим завданням було виготовити гістологічні зрізи очей дрозофіли та проаналізувати довжину оматидій. У проведених нами дослідженнях показано, що довжина оматидій у лінії *Oregon* становила в середньому 88,34 мкм, тоді як у вихідних мутантних ліній *NH₂-Dys* та *tg6* це значення було нижчим (61,03 мкм та 63,78 мкм відповідно (табл. 5, рис. 5)).

Проаналізувавши довжину фасеток ока у потомків F₁ від проведених схрещувань, спостерігали незначне відновлення цієї довжини порівняно з вихідними мутантними лініями *NH₂-Dys* та *tg6*. Так, при внесенні додаткової копії гена *Cam* ця величина зростала на 21% у всіх системах схрещування, тоді як у особин з генотипом *nAchRa-30D//+ tg6//+* спостерігали збільшення на 12,7%, а у імаго з генотипом *NH₂-Dys//nAchRa-30D* – на 31% (табл. 5, рис. 5).

Таблиця 5

Аналіз вимірів довжин оматидій на гістологічних зрізах очей *Drosophila melanogaster*

| Генотип ліній | Кількість проаналізованих мух | Середня довжина оматидій, мкм M±m |
|---|-------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Oregon</i> | 21 | 88,34±2,01 |
| контроль <i>tg6</i> | 33 | 63,78±1,21 |
| <i>tg6</i> × <i>Cam</i> | 32 | 77,68±1,33*** |
| <i>tg6</i> × <i>nAchRa-30D</i> | 23 | 71,90±1,63*** |
| контроль <i>NH₂-Dys</i> | 34 | 61,03±1,36 |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>Cam</i> | 27 | 74,04±1,61*** |
| <i>NH₂-Dys</i> × <i>nAchRa-30D</i> | 31 | 79,76±1,49*** |

*** Імовірність $p \geq 0,999$, статистично істотна наявність ефекту, порівняно з відповідним контролем.



Рис. 5. Гістологічні зрізи оматидій очей для осіб вихідних ліній (A, B, B) та імаго F₁ (Г).

Отже, надекспресія генів *Cam* і *nAchRa-30D* у мутантних ліній (*tg6*, *NH₂-Dys*) призводить до часткового відновлення нормального фенотипу. Спостерігали відновлення жилкування крил (з частотою 20–52%) та структури м'язів тораксу (з пенетрантністю 53–63%), а також збільшення показників тривалості життя (на 10–56%), індексу рухової активності (у 2–7 разів) та довжини фасеток ока (на 13–31%). У зв'язку з цим можна зробити висновок, що додаткові копії генів *Cam* і *nAchRa-30D*, задіяні у функціонуванні м'язів та цитоскелету, проявляють позитивний модифікуючий ефект за усіма фенотиповими проявами м'язової дистрофії у *D. melanogaster*; причому більш активним супресором мутантного дистрофічного фенотипу виявився ген *nAchRa-30D*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бадалян Л. О. Наследственные заболевания нервно-мышечной системы // М: Медицина, 1998. 176 с.
2. Гріню Л. П. М'язова дистрофія: факти. К.: Здоров'я, 1998. 250 с.
3. Кучеренко М., Яценко А., Максимів Д., Черник Я. *Drosophila melanogaster* як модельна система пошуку модифікаторів дистрофін-дистрогліканового комплексу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 71–77.
4. Heisenberg M., Bohl K. Isolation of anatomical brain mutants of *Drosophila* by histological means // Naturforsch [C]. 1979. Vol. 34. P. 143–147.
5. <http://flybase.org>
6. Kucherenko M. M. Genetic modifier screens reveal new components that interact with the *Drosophila* dystroglycan dystrophin complex // PLoS One. 2008. Vol. 3. Is. 6. P. 1–14.
7. Nudel U., Zuk D., Einat P. et al. Duchenne muscular dystrophy gene product in brain is not identical to its product in muscle // Nature. 1989. Vol. 737. P. 76–78.
8. Roberts D. B. *Drosophila*: a partial approach // Oxford University Press. 1998. P. 341.
9. Shcherbata H. R., Yatsenko A. S., Patterson L. et al. Dissecting muscle and neuronal disorders in a *Drosophila* model of muscular dystrophy // EMBO. 2007. Vol. 26. Is. 2. P. 481–493.
10. Zhan Y., Melian N., Pantoja M., Haines N. Dystroglycan and mitochondrial ribosomal protein L34 regulate differentiation in the *Drosophila* eye // PLoS One. 2010. Vol. 5. Is. 5. P. 10488.

Стаття: надійшла до редакції 27.04.11

доопрацьована 13.07.11

прийнята до друку 15.07.11

INFLUENCE OF VARIOUS GENES MODIFIERS *nAchRa-30D* AND *Cam* ON
MANIFESTATION OF MUTANT DYSTROPHIN PHENOTYPE
IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Yu. Shalovylo^{1*}, Ya. Chernyk¹, R. Bilyy², N. Holub¹

¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

²Danylo Halytskyi National Medical University of Lviv
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: yulya_shalovylo@mail.ru

Influence of genes-modifiers *nAchRa-30D* and *Cam* on mutant phenotype after the dystrophin gene in *Drosophila melanogaster* have been investigated. For the study of their action the individuals containing the probed gene-modifier and genetic construction for the diminished expression of dystrophin gene have been got. Partial restore of wing veins and muscle structure, increase of maximal and mean life-span, move activity index and R-cell elongation has been revealed. Changes of these attributes are the characteristic signs of mutants after the dystrophin gene.

Key words: *Drosophila*, dystrophin, gene-modifier, *nAchRa-30D*, *Cam*.

**ВЛИЯНИЕ ВЕРОЯТНЫХ ГЕНОВ-МОДИФИКАТОРОВ *nAchRa-30D* И *Cam* НА
ПРОЯВЛЕНИЕ ДИСТРОФИНОВОГО ФЕНОТИПА
В *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Ю. Шаловило^{1*}, Я. Черник¹, Р. Белый², Н. Голуб¹

¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

²Львовский национальный медицинский университет
имени Данила Галицкого
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина
e-mail: yulya_shalovylo@mail.ru

Исследовано влияние генов-модификаторов (*nAchRa-30D*, *Cam*), задействованных в функционировании мышц и цитоскелета, на мутантный фенотип по гену дистрофина у *Drosophila melanogaster*. Для изучения их влияния получены особи, которые в одном организме содержали исследуемый ген-модификатор и генетическую конструкцию для инактивации гена дистрофина. В результате анализа таких гибридов обнаружено восстановление структуры вен крыла и структуры мышц, увеличение показателей максимальной продолжительности жизни (МТЖ), средней продолжительности жизни (СТЖ), двигательной активности и увеличение длины омматидиев глаза, нарушение которых является характерными признаками мутантов по гену дистрофина.

Ключевые слова: дрозофила, дистрофин, гены-модификаторы, *nAchRa-30D*, *Cam*.