



© А. Н. Каминская<sup>1,2</sup>,  
А. В. Медведева<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

❖ **LIM-киназа 1 является ключевым ферментом сигнального каскада ремоделирования актина, необходимым для обеспечения синаптической пластичности, обучения и памяти. Делеция гена *limk1* приводит к развитию синдрома Уильямса, сопровождаемого когнитивными нарушениями и моторными дисфункциями и, который относится к болезням цитоскелета — кофилинопатиям. Кофилинопатии характеризуются образованием кофилин-актиновых комплексов в нейронах, которые нарушают везикулярный транспорт и выявляются на ранних стадиях деменции. В работе приведены данные о вкладе фермента LIM-киназы 1 в регуляцию локомоторного поведения, обучения и формирования памяти на модельном объекте *Drosophila melanogaster*.**

❖ **Ключевые слова:** *limk1*; поведение ухаживания; звукопродукция; обучение; память.

## LIM-КИНАЗА 1 В РЕГУЛЯЦИИ КОГНИТИВНЫХ И ЛОКОМОТОРНЫХ И ФУНКЦИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение моторных и когнитивных функций с применением современных генетических методов, позволяющих изучать вклад отдельных генов, вовлеченных в реализацию поведения, представляет огромный интерес для современной нейрогенетики. Высокую степень пластичности нервной системы обеспечивает реорганизация актинового цитоскелета нейронов. Ключевым ферментом данного процесса является LIM-киназа 1 (LIMK1) (Vamburg, Bloom, 2009). LIMK1 за счет фосфорилирования ее субстрата кофилина и перевода его в неактивную форму регулирует ремоделирование актина (Yang et al., 1998), что вызывает перестройку шипиков дендритов и модификацию аксонов, обеспечивая этим синаптическую пластичность. Кроме этого, LIMK1 фосфорилирует транскрипционный фактор CREB, тем самым стимулируя активацию CREB-зависимых сигнальных путей. Экспрессия гена *limk1* регистрируется преимущественно в нервных тканях. Делеция гена, кодирующего LIMK1 у мыши приводит к аномалиям в структуре синапса и нарушениям формирования шипиков дендритов (Meng et al., 2002). Делеция 7q11.23, затрагивающая ген *limk1* у человека, приводит к развитию синдрома Уильямса, сопровождаемого когнитивными нарушениями и моторными дисфункциями. Нейродегенеративные болезни, такие как болезнь Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона, также относят к болезням цитоскелета — кофилинопатиям. Это утверждение основано на том, что образование кофилин-актиновых комплексов в нейронах нарушает везикулярный транспорт и регистрируется на ранних стадиях деменции (Vamburg, Zheng, 2010). Среди диагностических признаков этих болезней выделяют три основных: 1) нарушение памяти, 2) моторную дисфункцию и 3) образование белковых агрегатов. Исследование механизмов нейродегенеративных заболеваний требует создания адекватной животной модели для разработки тест-систем и скрининга лекарственных средств с учетом диагностических признаков. Одним из наиболее удобных модельных объектов является *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*) (Moloney et al., 2010). Нервные сети насекомых устроены существенно проще, чем у млекопитающих, но обладают сходными функциональными возможностями. Их работа основана на использовании общих молекулярных компонентов, кодируемых гомологичными генами — параллелизм функций по М. Е. Лобашеву и Л. А. Орбели (Лобашев, 1960). Биоинформационный анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1 D. melanogaster* выявляет высокую степень идентичности (71 %) гомологичному гену *H. sapiens* (National Centre for Biotechnology Information), что позволяет изучать механизмы пластичности нейронов на *D. melanogaster* для понимания сложных когнитивных процессов у человека.

### LIMK1, КОФИЛИН И ИХ ФУНКЦИИ

LIMK1 и ее субстрат кофилин являются ключевыми регуляторами ремоделирования актинового цитоскелета и обеспечивают функционирование многих клеточных процессов, таких как миграцию, регуляцию

Поступила в редакцию 10.04.2013  
Принята к публикации 20.06.2013

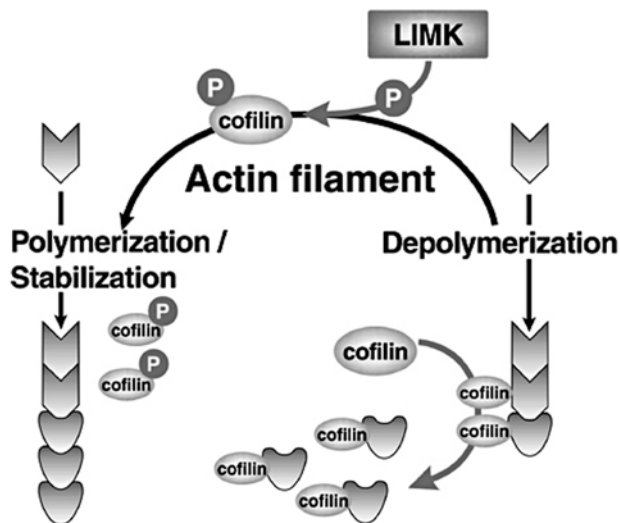


Рис. 1. Ремоделирование актинового цитоскелета посредством LIMK1 и кофилина (Takahashi et al., 2003)

клеточного цикла, клеточную инвазию, а также нейрональную дифференцировку (Manetti, 2011).

LIMK1 регулирует ремоделирование актина за счет фосфорилирования кофилина и перевода его в неактивную форму (Manetti, 2011), (рис. 1). Будучи в активном состоянии, кофилин в комплексе с АДФ (актин-деполимеризующим фактором, ADF) участвует в разборке F-актина (Gu et al., 2010). За связывание с актином кофилин конкурирует с Arp2/3 комплексом (Bernstein, Vamburg, 2010) и с дреблином, которые наоборот стабилизируют фибриллы актина. Создание баланса между основными компонентами регулирования перестройки актина играет важную роль при модуляции динамики шипиков дендритов, что, в свою очередь, определяет процессы обучения и памяти (Carlisle et al., 2008). LIMK1 также взаимодействует с тубулином и индуцирует дестабилизацию и разборку микротрубочек (Gorovoy et al., 2005). Таким образом, LIMK1 является ключевой молекулой в обеспечении взаимосвязи актинового и тубулинового цитоскелета в клетке и оказывает на перекрестке многих регуляторных путей.

#### ОСОБЕННОСТИ ГЕНА LIMK1 D. MELANOGASTER

Ген *limk1* является высоко консервативным и обнаружен в геноме различных организмов, таких как *Anopheles gambia*, *Xenopus laevis*, *Danio rerio*, *Gallus gallus*, *Mus musculus*, *Homo sapiens* и многих других (Scott, Olson, 2007).

В геноме *D. melanogaster* ген *limk1* (CG1848) локализован в X-хромосоме в районе 11 AB. Протяженность гена *limk1* составляет около 9 т. п. н., ген включает в себя четыре интрона и пять экзонов. Ген *limk1* дрозофилы расположен в локусе *agnostic*, который обрамлен A/T-богатыми областями, насыщенными палиндромны-

ми последовательностями и короткими нуклеотидными повторами. Вышеуказанные структурные особенности обеспечивают данному локусу возможность как для спонтанных перестроек, так и для инсерции мобильных элементов (Edelmann et al., 2001), в том числе и в разных природных популяциях.

С гена *limk1* считывается два сплайс-варианта киназ: LIMK1 и LIMK2, которые являются киназами с двойственной специфичностью к серин/треонину и тирозину (Manetti, 2011). Экспрессия *limk1* отмечается повсеместно в эмбриогенезе и тканях взрослого организма. LIMK2 присутствует почти во всех тканях за исключением глии и семенников и в основном сосредоточена в районе эндосом. В тоже время LIMK1 является нейроспецифическим ферментом и аккумулируется главным образом в области синапсов (Foletta et al., 2004). Кроме того, LIMK1 обнаружена в мезенхимальных клетках, окружающих периферические нервы у крыс, а также в эпителиально-мезенхимальных клетках мыши (Nils et al., 2010). Конусы роста аксонов и дендритов и перинуклеарные области пирамидных нейронов гиппокампа крысы богаты LIMK1 (Foletta et al., 2004). У *A. meliphera* LIMK1 была выявлена в грибовидных телах, антеннальных долях головного ганглия и центральном комплексе (Лопатина и др., 2010). У *D. melanogaster* LIMK1 преимущественно выявляется в нодулях и эллипсоидном теле центрального комплекса и в зрительных долях головного мозга (Савватеева-Попова и др., 2004).

#### ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА LIMK1

В состав белка LIMK1 входят два LIM-домена (LIM — аббревиатура от продуктов генов, где эти домены были впервые обнаружены: Lip-11, Isl-1 и Mec-3), каждый из которых содержит два мотива цинковых пальцев, один PDZ-домен (PDZ — аббревиатура от названий трех белков: PSD95, DLG, ZO-1), домен SMC-pork A (SMC — structural maintenance of chromosomes, домен для поддержания структуры хромосом) и киназный домен. LIM-домены играют важную роль в регуляции киназной активности (Nagata et al., 1999) и функционировании LIMK1 за счет формирования белок-белковых взаимодействий (Hiraoka et al., 1996). PDZ-домен в составе LIMK1 также обеспечивает белок-белковые взаимодействия, в частности связывание с тубулином (Gorovoy et al., 2005). SMC-pork A домен аналогичен белку SMC-pork A, который участвует в поддержании структуры хромосомы при их сегрегации во время клеточного деления. Было показано, что белки, содержащие PDZ-домен, являются ключевыми молекулами в организации постсинаптической области в нейромышечных контактах (Rivlin et al., 2004). Также PDZ-домены необходимы для образования супрамолекулярных комплексов сигнальной трансдукции и организации ядерно-цитоплазматического транспорта. Перенос LIMK1 в ядро

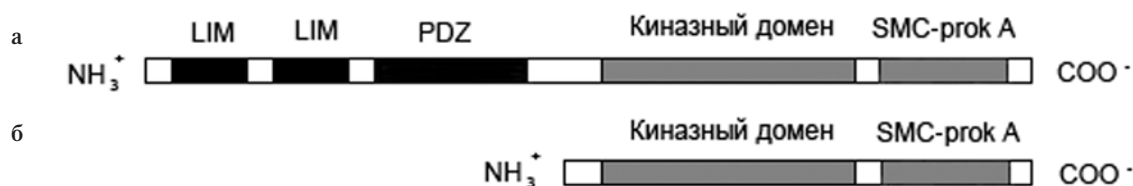


Рис. 2. Доменная структура изоформ LIMK1 *D. melanogaster*: а — изоформа С, б — изоформа D

осуществляется за счет сигнала ядерной локализации, который находится между PDZ и киназным доменами. Наличие сигналов ядерного импорта и экспорта делает возможным вовлечение LIMK1 в активацию экспрессии генов в ядре (Yokoo et al., 2003).

### ИЗОФОРМЫ LIMK1

LIMK1 в клетке представлена пятью изоформами — А, С, D, F и E. Наиболее значимыми из них являются С и D, различающиеся по функциональной активности (рис. 2). С-изоформа представляет собой полноразмерный белок длиной 1257 аминокислот, содержащий два LIM и один PDZ домена, а также киназный домен и домен SMC-prok A. В составе D-изоформы отсутствуют LIM и PDZ домены, эта форма примерно на 200 аминокислотных остатков короче, чем форма С. В экспериментах с альтернативным сплайсингом получены белковые продукты, не содержащие киназного домена. У этих форм LIMK1 ингибирована киназная активность (Edwards, Gill, 1999). LIM и PDZ-домены также ингибируют киназный домен. Делеция LIM домена приводит к значительному увеличению киназной активности *in vitro*. При мутации 2-го LIM и PDZ доменов наблюдается значительное увеличение LIM-киназной активности *in vivo*. Более того, делеция LIMK1, включающая LIM и PDZ домены также увеличивают активность LIMK1 (Nagata et al., 1999) *in vivo*, что выражается в усилении агрегации актиновых филаментов. Таким образом, N-терминальный район выполняет функцию конститутивного ингибитора LIM-киназной активности (Tomiyoshi et al., 2004). Поэтому D-изоформа LIMK1 обладает более высокой киназной активностью по сравнению с С-изоформой.

### ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ LIMK1

LIMK1, связываясь с мембраной аппарата Гольджи, принимает участие в регуляции внутриклеточного транспорта белков к аппарату Гольджи, стимулируя специализированную организацию актиновых филаментов (Rosso et al., 2004). Транспорт LIMK1 в ядро осуществляется за счет взаимодействия сигнала ядерной локализации, который находится между PDZ и киназным доменами, и ингибитора циклинзависимой киназы p57<sup>KIP2</sup>. При попадании в ядро данный комплекс маскирует сигнал экспорта из ядра на молекуле LIMK1, тем самым пре-

пятствуя ее выходу в цитоплазму. Взаимодействие p57<sup>KIP2</sup> с LIMK1 не снижает ее активности, перенос p57<sup>KIP2</sup> снижает интенсивность формирования LIMK1-индуцированных стресс-фибрилл (Yokoo et al., 2003). Оказавшись в ядре, LIMK1 фосфорилирует транскрипционный фактор CREB, тем самым вызывая активацию CREB-зависимых промоторов генов, принимающих участие в формировании долгосрочной памяти, таких как *c-fos*, *zif/268*, *somatostatin* и *BDNF* (Yang et al., 2004). Кроме того, LIMK1, возможно, фосфорилирует CREB и в конусах роста аксонов и в области шипиков дендритов напрямую и опосредованно через Rac/Cdc42 и PAK1 (Yang et al., 2004). Поскольку во время развития нервной системы в конусах роста аксонов содержится мРНК β-актина, кофилина, RhoA и CREB, которые избирательно транслируются в ответ на пришедший сигнал. На культуре клеток спинного ганлия крыс и мышей было показано, что мРНК CREB транслируется в ответ на стимуляцию нейрона фактором роста нерва NGF (nerve growth factor) и мРНК CREB обратно по аксонам транспортируется в тело нейрона. Низкий базальный уровень pCREB в ядрах нестимулированных нейронов увеличивается за счет поступления CREB из аксонов, что приводит к повышению pCREB-зависимой транскрипции (Cox et al., 2008).

Известно также, что CREB активирует транскрипцию гена *PEN-2*, являющегося компонентом γ-секретазы (Wang et al., 2006), которая разрезает предшественник β-амилоида APP (Amyloid precursor protein) до образования β-амилоида. Поэтому дисфункция pCREB — гипо- или гиперэкспрессия гена *creb* — приводит к сдвигу баланса секретаз, что может сопровождаться либо усилением экспрессии *PEN-2* и накоплением агрегатов β-амилоида при болезни Альцгеймера, либо уменьшением экспрессии *PEN-2*, снижением активности γ-секретазы и генерации β-амилоида. Возможно, образование агрегатов, за счет блокировки функционирования старых синапсов, обуславливает формирование новых связей внутри нейрональных ансамблей, что сопровождается стиранием предыдущего следа памяти.

### ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ LIMK1

Подобно многим другим киназам, фосфорилирование в районе петли активации киназного домена приводит к активации LIMK1. Активация LIMK1 начинается с ак-

тивации ионотропного рецептора глутамата, селективно связывающего N-метил-D-аспаратат (NMDA) и рецептора, связывающего альфа-аминометилизоксазолпропионовую кислоту (AMPA), посредством вторичных посредников — малых GTPases Rho-семейства: ROCK, PAK1, PAK2 и PAK4. В частности, ROCK фосфорилирует Thr 508 LIMK1, что приводит к увеличению ее ферментативной активности выше базального уровня. PAK1, PAK2, PAK4 и MRCK $\alpha$  активируют LIMK1 также посредством фосфорилирования (Manetti, 2011). Взаимодействие белка 14–3–3 непосредственно с LIMK1 и кофилином, препятствует взаимодействию последнего с F-актином, тем самым инактивируя кофилин (Birkenfeld et al., 2003). Кроме того, PAK-4, ROCK, MRCK $\alpha$  и белок 14–3–3 также увеличивают активность LIMK1 за счет непосредственного фосфорилирования и ингибирования фосфатазы Slingshot 1 (SSH1) — ингибитора LIMK1. Сигнальный каскад Rac — PAK — LIMK — кофилин модулируется белком клеточной адгезии MOCA (modifier of cell adhesion), фактором обмена гуанина для Rac1. Недостаточное количество MOCA приводит к гиперэкспрессии кофилина, его дисфункции и аномальному распределению в клетке, что приводит к развитию нейродегенерации. Отсутствие MOCA вызывает дегенерацию аксонов вследствие дисрегуляции полимеризации актина, что сопровождается формированием актин-кофилиновых комплексов (Chen et al., 2009). LIMK1 также активируется непосредственным взаимодействием с MK2 (MAPK-активированной протеинкиназой 2, Kobayashi et al., 2006), и с PKA (сАМФ-зависимой протеинкиназой A, Nadella et al., 2009). Стабильность белка LIMK1 главным образом обеспечивается за счет образования гомодимера и трансфосфорилирования, в котором непосредственное участие принимает молекула HSP90 (Li et al., 2006).

Было показано взаимодействие LIMK1 с нейрегулином. *In vivo* нейрегулин и LIMK1 колокализуются в зоне нейромышечных синапсов. Предположительно они играют важную роль в формировании и поддержании функционирования синапса (Wang et al., 1998). В то же время семафорин 3 А, активируя LIMK1, инициирует разрушение конуса роста нейрона, а при активации LIMK1 фибриллярным  $\beta$ -амилоидом вызывает деформацию нейронов (Heredia et al., 2006). Эти данные свидетельствуют о различном исходе активации LIMK1 для функционирования нейрона в зависимости от природы активатора.

#### НЕГАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ LIMK1

Белки, регулируемые фосфорилированием, переводятся в первоначальное нефосфорилированное состояние посредством фосфатаз. При высоком уровне F-актина (концентрации выше 1,2  $\mu$ M) в клетке или в определенном ее районе повышается уровень активности SSH1. SSH1 дефосфорилирует и инактивирует LIMK1, что приводит к снижению уровня фосфорилиро-

ванного кофилина и F-актина. (Soosairajah et al., 2005). SSH1 непосредственно связывается с киназным доменом и дефосфорилирует Thr 508. Белок нисхарин инактивирует LIMK1 через ингибирование PAK1. Кроме того, LATS1 (large tumor suppressor 1) непосредственно взаимодействует с LIMK1, вызывая ее инактивацию (Yang et al., 2004).  $\beta$ -аррестин через PAR2 опосредует дефосфорилирование кофилина. BMPRII (bone morphogenetic protein receptor II, рецептор белка морфогенеза костной ткани II) по-разному регулирует активность LIMK1 во время дендритогенеза. Непосредственное взаимодействие BMPRII с LIMK1 приводит к значительному снижению активности LIMK1. В то же время взаимодействие BMPRII с белком морфогенеза костной ткани 7 (BMP7), через Cdc42 активирует LIMK1 и индуцирует дендритогенез (Lee-Hoeflich et al., 2004). Связывание LIM доменов LIMK1 с BMPRII снимает аутоингибирование LIMK1. Таким образом, BMPRII участвует как в активации, так и в репрессии LIMK1 (Scott, Olson, 2007).

Было показано, что LIMK1 взаимодействует с каспазой 3 (Tomiyoshi et al., 2004) и в нейронах подвергается деградации в протеосоме. В аксонах развивающихся нейронов в период эмбриогенеза у мыши показан высокий уровень экспрессии гена Parkin, кодирующего убиквитин E3 лигазу — Rnf6. Rnf6 связывается с LIMK1 и катализирует полиубиквитинирование, что приводит к деградации LIMK1 в протеосоме.

#### РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ LIMK1 ПОСРЕДСТВОМ МИКРО РНК

Нормальное развитие и функционирование мозга зависит от функционирования сети микро РНК (miRNA), необходимых для создания баланса транскриптома и протеома в клетке. Широкая представленность микро РНК в мозге необходима для обеспечения не только его развития, но и функционирования у взрослых организмов при адаптивных перестройках в соответствии с текущими потребностями организма, изменениями внешней среды и индивидуальным опытом — обучением (Копорка et al., 2011). Микро РНК легко возникают *de novo*, а их чрезвычайная изменчивость и гибкость функционирования объясняет их успешность в регуляции генома (Liu et al., 2008). Уровень активности LIMK1 у мышей регулируется микро РНК — miRNA-134. Комплекс miRNA-134-мРНК LIMK1 транспортируется по отросткам нейронов для локальной трансляции мРНК LIMK1, которая осуществляется при стимуляции экстраклеточными нейротрофическими факторами, таким как BDNF (brain-derived neurotrophic factor) и в ответ на нейрональную активность (Schratt et al., 2006). Интересно то, что miRNA-134 также участвует в регуляции транскрипционного фактора CREB (сАМФ response element-binding protein), подавляя его экспрессию, тем самым

нарушая синаптическую пластичность (Gao et al., 2010), что указывает на роль этой микро РНК в формировании долгосрочной памяти.

Поскольку LIMK1 является нейроспецифичным ферментом, принимающим участие в функционировании различных процессов в нейронах, делеции, затрагивающие район локализации гена *limk1*, а также дисрегуляция активности фермента LIMK1 приводят к развитию заболеваний нервной системы, зачастую сопровождаемых нейродегенерацией.

### LIMK1, КОФИЛИН ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона широко распространены по всему миру среди лиц пожилого возраста. Данные заболевания характеризуются развитием деменции, т.е. прогрессивной потерей памяти с утратой в той или иной степени ранее усвоенных знаний и практических навыков и затруднением или невозможностью приобретения новых. Также болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона характеризуются нарушением моторной координации.

В настоящее время нейродегенеративные заболевания относят к болезням цитоскелета — кофилинопатиям. Это утверждение основано на том, что гиперактивация кофилина сопровождается образованием кофилин-актиновых комплексов, которые накапливаются в аксонах и дендритах нейронов, тем самым блокируют везикулярный транспорт, что может быть одной из причин атрофии нейритов (Stokin, Goldstein, 2006). Атрофия нейритов выявляется на ранних стадиях деменции и характеризуется потерей краткосрочной памяти (Maloney, Vamburg, 2007; Vamburg, Zheng, 2010). Синаптическая дисфункция напрямую коррелирует с нарушениями когнитивных функций у пациентов с болезнью Альцгеймера (Masliah et al., 2000). Данные на *Aplysia kurodai* показали, что микроинъекции кофилина в нейроны приводят к формированию кофилин-актиновых комплексов, потере синапсов и нарушению синаптической пластичности (Jang et al., 2005). Наибольшее количество кофилин-актиновых включений у крыс при обработке синтетическими димерами и тримерами амилоида  $\beta$  было обнаружено в области зубчатой извилины (зубчатой фасции), которая играет важную роль в ассоциативном обучении и формировании памяти (Davis et al., 2011).

Одной из возможных причин развития нейродегенерации служит образование актин-кофилиновых комплексов в теле или отростках нейрона (Minamide et al., 2000).

Актин-кофилиновые комплексы встречаются либо в виде оформленных палочек, либо неровных агрегатов (агреосом) или цитоплазматических паракристаллических включений (тельца Хирано). Однако четкой класси-

фикации актин-кофилиновых включений на настоящий момент пока не сформулировано. В составе актин-кофилиновых комплексов актин и кофилин представлены в соотношении 1 : 1, кроме них в этих комплексах выявлены Peroxiredoxin 1, Annexin A2 и Hsp60. Длина палочек варьирует от 22 до 1480 нм. Актин главным образом представлен в фибриллярной форме (Minamide et al., 2010).

В исследованиях на дрозофиле и мыши было показано, что нейродегенерация, инициированная tau, ассоциирована с накоплением F-актина и формированием актин-кофилиновых комплексов. Кроме того, наличие амилоида  $\beta$  усиливает взаимодействие tau с актиновым цитоскелетом (Fulga et al., 2007). Нерастворимые включения не влияют на жизнеспособность клетки, но перегораживают путь в отростки нейрона, разрушают микротрубочки, что приводит к дегенерации отростков. Вероятно, этот механизм лежит в основе потери синапсов и нарушении синаптической пластичности, характерной для нейродегенерации, которая не сопровождается изменением числа нейронов (Minamide et al., 2000).

В состав телец Хирано входят актин, кофилин и АДФ. Тельца Хирано главным образом встречаются среди пациентов с болезнью Альцгеймера и Паркинсона, но также и среди пожилых людей с нормальными когнитивными способностями. Разница заключается в количестве включений, у больных Альцгеймера и Паркинсона количество телец Хирано значительно превышает таковое относительно контрольной группы. Тельца Хирано помимо болезней Альцгеймера и Паркинсона сопутствуют и другим заболеваниям, сопровождающимся нейродегенерацией, включая Крейтцфельдт-Якоба, болезнь куру, скрэпи, а также хронический алкоголизм, диабет и мышечную атрофию. Показано, что нарушения в регуляции или функционировании актин-связывающих белков могут стать сигналом к формированию телец Хирано (Maselli et al., 2003). На культуре фибробластов мыши было показано, что тельца Хирано формируются при усилении сродства белка 34 kDa (белка *Dictyostelium*) к актину и потери им чувствительности к регулируемому влиянию со стороны ионов  $Ca^{2+}$  (Maselli et al., 2003).

Ремоделирование актина является АТФ-зависимым процессом, и для его поддержания клетка потребляет 50 % от общего уровня энергозатрат нейрона (Bernstein, Vamburg, 2003). Снижение уровня АТФ вызывает дефосфорилирование и активацию пула АДФ/кофилина, а также увеличение содержания АДФ-актина, у которого повышено сродство к кофилину. Образующийся комплекс актина и кофилина собирается в пучки, что приводит к образованию актин-кофилиновых палочек, при этом отмечается снижение интенсивности ремоделирования актина и сокращение потребления АТФ (Bernstein et al., 2006). Актин, в составе комплекса с кофилином, меньше подвергается ремоделированию по сравнению с фибриллярным актином в составе других структур цитоскелета.

При болезни Альцгеймера между нейронами образуются амилоидные бляшки, вокруг которых было показано скопление актин-кофилиновых комплексов. Кроме того, эти комплексы могут формировать и отдельные более мелкие включения (Minamid et al., 2000). Известно, что в небольших дозах амилоиды, расположенные между нейронами, активируют формирование актин-кофилиновых включений (Maloney et al., 2005), по-видимому, за счет стимуляции фосфатазы Slingshot (Heredia et al., 2006). На клеточной культуре нейронов гиппокампа крысы было показано, что гиперэкспрессия фосфатазы кофилина стимулирует формирование кофилин-актиновых включений, а при дополнительном наличии в среде амилоида  $\beta$ , образующего димеры или тримеры, этот эффект усиливается (Davis et al., 2011). В то же время высокие концентрации фибриллярного  $\beta$  амилоида вызывают высокий уровень pLIMK1 и фосфорилированного кофилина, что приводит к ремоделированию актина в aberrантном комплексе фокальной адгезии и изменению формы нейрона в зоне локализации амилоидного включения (Heredia et al., 2006). Гиперэкспрессия киназы кофилина ингибирует формирование кофилин-актиновых комплексов (Davis et al., 2009; Davis et al., 2011). Конститутивно высокий уровень LIMK1 сопровождается снижением количества актин-кофилиновых включений в аксонах, даже при добавлении в среду амилоида  $\beta$  (Davis et al., 2011).

В отличие от болезни Альцгеймера, при которой актин-кофилиновые комплексы аккумулируются главным образом в цитоплазме, при болезни Хантингтона мутантный белок хантингтин локализован в ядре (Landles et al., 2010). В то же время белок хантингтин дикого типа локализован преимущественно в цитоплазме (DiFiglia et al., 1995). При температурном воздействии отмечается перемещение хантингтина из эндоплазматического ретикулума в ядро, где он принимает участие в ремоделировании актина, после окончания действия стрессового фактора происходит возвращение к нормальным условиям. Однако мутантный хантингтин aberrантно ремоделирует актин, в результате этого образуемые им включения, в состав которых входит актин и кофилин, не исчезают после прекращения действия стрессового фактора (Munsie et al., 2011). Участие LIMK1 и кофилина также показано при болезни Паркинсона. Как было показано на клетках нейробластомы человека белок Parkin взаимодействует с LIMK1 посредством белков адаптеров Hsp70, CHIP и 14-3-3. Было показано, что Parkin и LIMK1 регулируют друг друга *in vitro*. Parkin усиливает убиквитинилирование LIMK1 и тем самым изменяет уровень фосфорилированного кофилина. С другой стороны, LIMK1 ингибирует убиквитинлигазную активность Parkin (Lim et al., 2007). Интересным представляется тот факт, что актин-кофилиновые палочки формируются не только в аксонах и дендритах нервных клеток, а также в ядрах мышечных клеток пациентов с прогрессирующей врожденной

нитеобразной миопатией (Minamide et al., 2010). Данное заболевание характеризуется нарушением сократительной способности мышечных волокон из-за скопления нитеобразных структур, эозинфильных и кристаллических включений в саркоплазме. Эти данные указывают на возможную роль LIMK1 и актин-кофилиновых комплексов при образовании и функционировании нейромышечных контактов.

### СТРУКТУРА НЕЙРОМЫШЕЧНЫХ КОНТАКТОВ D. MELANOGASTER

Изучение нейромышечных контактов беспозвоночных, в частности на *Drosophila melanogaster*, позволяет комбинировать генетические, физиологические и ультраструктурные (гистологические) методы анализа, поэтому нейромышечные контакты представляют собой удобную систему для исследования пластичности нейронов.

Формирование новых синапсов для образования нейронных сетей является первичным событием для обеспечения синаптической пластичности. Нейромышечные контакты являются типичными синапсами, опосредующими взаимодействие мотонейронов и скелетных мышц, а также глиальных клеток. Эти синапсы представляют собой асимметричные структуры, в которых молекулы нейротрансмиттера высвобождаются из пресинаптической мембраны и активируют рецепторы на постсинаптической мембране, таким образом осуществляя межклеточную коммуникацию. Каждый мотонейрон формирует связь со специфическим ему мышечным волокном посредством образования нейромышечных контактов. Терминалы ветвей аксона мотонейрона образуют нити бутонов, каждый из которых состоит из 10–20 синапсов (Schmid, Sigrist, 2008). Медиаторы, высвобождаемые мотонейронами, контролируют постсинаптическую дифференцировку напрямую, за счет стимуляции рецепторов мембран мышечных клеток, либо опосредованно за счет усиления дифференцировки и функционирования глиальных клеток.

При формировании нейромышечных контактов в клетках мышечных волокон у мышей отмечается экспрессия нейротрофина 3, который модулирует количество шванновских клеток, миелизирующих глиальных клеток периферической нервной системы (Hess et al., 2007). У дрозофилы показано наличие глиальных клеток, в частности аналога шванновских клеток, которые обозначают периферической глией, или оберточной глией, которая по морфологии и по функциональным характеристикам соответствует шванновским клеткам (Freeman, Doherty, 2006). Мотонейроны мышцы высвобождают нейрегулин 1 для усиления выживания и развития шванновских клеток (Hayworth et al., 2006). LIMK1, как было описано выше, взаимодействует с нейрегулином в области нейромышечных контактов и участвует в поддержании работы синапса (Wang et al., 1998).

Механизмы, посредством которых шванновские клетки вовлечены в процесс формирования и функционирования нейромышечных контактов, в настоящее время неясны. Однако известно, что шванновские клетки направляют конус роста мотонейрона (Reddy et al., 2003), подобно тому, как они стимулируют регенерацию нервных окончаний после травм. У *Drosophila* глиальные клетки высвобождают аксотактин, который контролирует электрические свойства аксонов и поддерживает передачу сигнала в области нейромышечных контактов. Кроме того, в исследованиях на грызунах и дрозофиле была выявлена еще одна роль глиальных клеток в развитии нейромышечных контактов: поглощение и очистка аксонов, которые фрагментировались во время разборки синапсов (Fuentes-Medel et al., 2009).

В настоящее время нейромышечные контакты имаго классифицируют по размерам бутонов и составу их синаптических везикул. Бутоны 1-го типа локализируются в узком определенном месте мышечного волокна, их диаметр составляет 0,8–15  $\mu\text{m}$ . В бутонах 1-го типа обнаружены нейротрансмиттер глутамат, белок мембраны синаптических везикул CSP (cysteine string protein), белок постсинаптической плотности DLG (Disc-Large), синаптотагмин (syt) и белок калиевых каналов Shaker (Rivlin et al., 2004). Бутоны 2-го типа часто располагаются по длине всего мышечного волокна, параллельно бутонам 1-го типа, а также образуют выросты в перпендикулярном направлении, их диаметр меньше бутонов 1-го типа и составляет 0,5–1,5  $\mu\text{m}$ . В бутонах 2-го типа как и в бутонах 1-го типа содержится syt и FasciclinII (FasII) — белок клеточной адгезии и октапамин — нейротрансмиттер/нейромодулятор, которые отсутствуют в бутонах 1-го типа (Rivlin et al., 2004).

#### **LIMK1 В НЕЙРОМЫШЕЧНЫХ КОНТАКТАХ D. MELANOGASTER**

LIMK1 является одним из компонентов регуляции ремоделирования актина, в том числе и в нейромышечных контактах. В нейромышечных контактах *Drosophila* в абдоминальной области отсутствие фермента LIMK1 приводит к увеличению количества отростков аксонов, в то время как усиление активности LIMK1 — к формированию маленьких терминалей с небольшим количеством синаптических бутонов (Ang et al., 2006). При мутациях в гене *limk* (с нарушением синтеза белка LIMK1) на личинке 3-й стадии *Drosophila* в абдоминальной области было показано большее количество бутонов на 73–112 % по сравнению с таковым у линий дикого типа. Однако зоны бутонов были менее функционально активны по сравнению с контролем. В то же время конститутивная экспрессия гена *limk1* препятствует росту нейромышечных контактов (Ang et al., 2006). Как было указано выше, снижение уровня экспрессии LIMK1 часто сопровождается образованием актин-ко-

филиновых комплексов вокруг агрегатов  $\beta$ -амилоида, предшественником которого является APP. На личинках *Drosophila melanogaster* было показано, что APPL (гомолог APP человека для дрозофилы) транспортируется в аксоны мотонейронов, где он, возможно, принимает участие в синаптогенезе и/или функционировании синапса. Гиперэкспрессия APPL приводит к значительному увеличению количества синаптических бутонов, а также к изменениям структуры синапса. Тем не менее дополнительные бутоны образуют функциональные синаптические контакты. У нуль-мутантов *Appl* наблюдалось снижение количества синаптических бутонов (Toggoja et al., 1999).

#### **НЕЙРОМЫШЕЧНАЯ КООРДИНАЦИЯ ПРИ УХАЖИВАНИИ САМЦА D. MELANOGASTER**

Точное улавливание сигналов из экстраклеточного окружения и их преобразование в аксонах, в том числе и посредством LIMK1-зависимых сигнальных каскадов в области нейромышечных контактов, определяет синхронизацию сокращений мышечных волокон, что обуславливает вибрацию крыла, необходимую для коммуникационного звукоизлучения самцов *Drosophila melanogaster* при ухаживании.

Основным назначением звуковой сигнализации является обеспечение встречи полов, идентификация особи своего вида и копуляция (Попов и др., 2000). Ритуал ухаживания самцов *Drosophila* состоит из ряда последовательных стадий. На первом этапе самец обнаруживает самку и приближается к ней, затем, с использованием хеморецепторных контактов, идентифицирует вид обнаруженной особи. После этого самец начинает преследовать самку. С помощью вибрации отведенного в сторону крыла он генерирует звуковые сигналы (брачную песню), улавливаемые аристами самки. Под влиянием «песни» двигательная активность самки замедляется, что позволяет самцу осуществить контакт с гениталиями самки, затем следует попытка копуляции и копуляция (Попов и др., 2000).

Репертуар брачной песни *Drosophila melanogaster* включает два типа звуковых сигналов, излучаемых самцом в процессе ухаживания — импульсную и синусоидальную песни, следующие друг за другом (Попов и др., 2000). Импульсная песня несет основную семантическую нагрузку и выполняет триггерную функцию, запуская копуляцию. Импульсная песня является видоспецифичным сигналом, играющим важную роль в изоляции видов при выборе потенциального партнера. Синусоидальная песня представляет собой жужжание, производимое самцом с частотой 140–170 Гц, которое увеличивает восприимчивость самок. Звукопродукция во время ухаживания, представляющая собой чередование импульсной и синусоидальной песни, требует от самца четкого переключения программ работы двух моторных центров —

импульсного и синусоидального пейсмекеров (Попов и др., 2000). На рисунке 3 приведена обобщенная схема нейромышечной регуляции звукопродукции самца *D. melanogaster* при ухаживании. Аксоны второго дорзального нерва при ветвлении образуют терминалы I и II типа, которые, в свою очередь, иннервируют мышцы крыла (аксилярные, базальные и стернобазальные), за счет сокращения которых осуществляется звукопродукция при ухаживании.

Звукопродукция самцом брачной песни является комплексным процессом, для выполнения которого необходимо участие генов, кодирующих компоненты многих сигнальных путей (Tauber, Eberl, 2001). Многокомпонентная звукопродукция песни ухаживания самца *Drosophila* регулируется функционированием генов, затрагивающих разные этапы преобразования сигнала: от его поступления через ионные каналы; транскрипционных факторов, инициирующих транскрипцию генов ответа на пришедший сигнал; компонентов сплайсинга, определяющих синтез конкретных сплайс-вариантов, необходимых в данных условиях; до убиквитинлигазы, определяющей деградацию белков.

LIMK1, как указано выше, вовлечена во взаимодействие со многими компонентами этих сигнальных каскадов, что указывает на ее, возможно, значимую роль в регуляции звукопродукции. Для проверки данной гипотезы нами был применен комплексный подход, включающий анализ поведения ухаживания и параметров звукопродукции у самцов *D. melanogaster* линий *Canton-S*, *Berlin*,

*Oregon-R* и *agn<sup>ts3</sup>*, полиморфных по гену *limk1* в сопоставлении с оценкой содержания LIMK1 в мозге анализируемых линий.

Ранее методом ПЦР-картирования в структуре гена *limk1* у линий *Berlin*, *Oregon-R* и *agn<sup>ts3</sup>* был выявлен ряд особенностей (Медведева и др., 2008). Так, для *Berlin* было показано отсутствие ПЦР-фрагментов в области 3, 4 и частично 5 экзонов, а также 2, 3 и 4 интронов; у *Oregon-R* наблюдалось отсутствие ПЦР-фрагментов в области 2 экзона, 1 и 2 интронов; у *agn<sup>ts3</sup>* была обнаружена инсерция 1,7 т.п.н. на расстоянии около 1 т.п.н. от 3'-UTR. При последующем секвенировании гена *limk1 Drosophila* у *Canton-S* и *Berlin* были зарегистрированы SNPs (single nucleotide polymorphisms, однонуклеотидные полиморфизмы) и у *Oregon-R* и *agn<sup>ts3</sup>* точечные мутации в регуляторной и структурной областях гена (Каминская, 2012).

С использованием метода Вестен-блот анализа количественная оценка содержания LIMK1 в мозге самцов *D. melanogaster* позволила выявить различия в линиях дикого типа полученных из различных природных популяций. Соотношение D- и C-изоформ LIMK1 у линий дикого типа *Berlin*, *Oregon-R* и *Canton-S* представлено по-разному при сходном общем уровне LIMK1. Содержание D-изоформы у *Berlin* в 2 раза превышало таковое у *Canton-S*, а у *Oregon-R* было в 2 раза меньше, чем у *Canton-S*. Содержание D- и C-изоформ LIMK1 у мутантной линии *agn<sup>ts3</sup>* в 3 раза превышало таковое у *Canton-S*, в то время как их соотношение у *agn<sup>ts3</sup>*

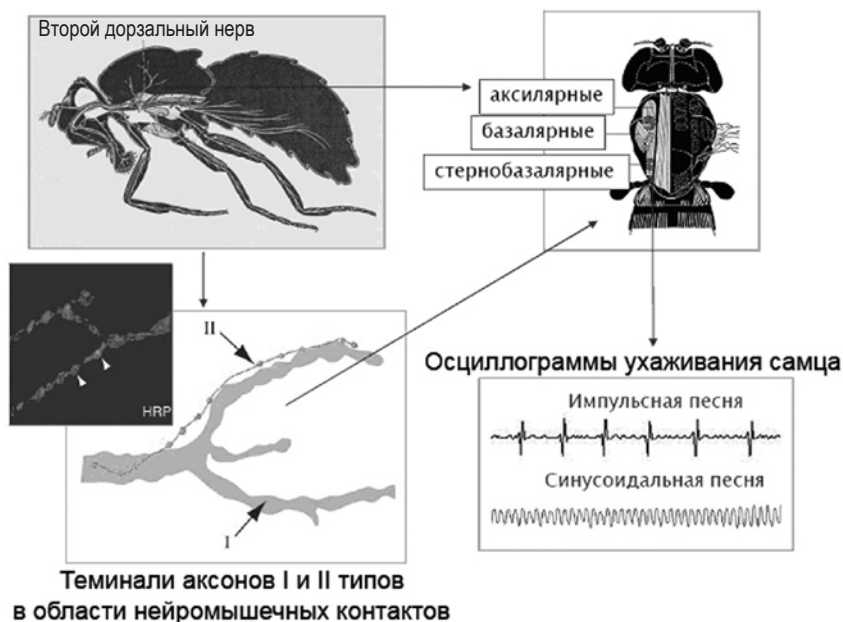


Рис. 3. Схема нейромышечной регуляции при ухаживании самца *D. melanogaster*. I — терминалы аксонов первого типа в области нейромышечных контактов; II — терминалы аксонов второго типа в области нейромышечных контактов. Белые стрелки указывают на синаптические бутоны аксонов, каждый бутон соответствует 10–20 синапсам. HRP — horseradish peroxidase, пероксидаза хрена (специфичный маркер пресинаптической области плазматической мембраны нервной ткани)



не отличалось от такового у *Canton-S* (Каминская и др., 2011). Затем мы проследили последствия изменений соотношения и содержания изоформ LIMK1 на уровне поведения. При характеристике поведения ухаживания у анализируемых линий были выявлены следующие особенности: латентный период ухаживания (ЛПУ) у *agn<sup>ts3</sup>Oregon-R* и *Berlin* достоверно превышал таковой у *Canton-S*, длительность ухаживания достоверно увеличивалась у *Oregon-R* и *Berlin*, вплоть до снижения эффективности ухаживания у *Berlin*. С помощью установки для регистрации звукопродукции при ухаживании самцов *Drosophila* у мутантной линии *agn<sup>ts3</sup>* выявлено усиление частоты импульсов и синусов, а также удлинение продолжительности импульсных посылок и синусоидальных отрезков. У линий дикого типа *Berlin* и *Oregon-R* наоборот показано снижение частоты импульсов.

Таким образом, изменения содержания и соотношения изоформ LIMK1 у *Drosophila* сопровождается изменением параметров звукопродукции и поведения ухаживания, что указывает на участие LIMK1 в реализации поведения ухаживания и звукопродукции (Попов и др., 2009; Каминская и др., 2011).

#### ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ У *D. MELANOGASTER*

На основе ритуала ухаживания самцов *Drosophila*, был разработан метод условно-рефлекторного подавления ухаживания (Siegel, Hall, 1979), с помощью которого оценивается способность к обучению и формированию памяти самцов *Drosophila*. Согласно данному методу, ухаживание девственного самца за оплодотворенной самкой в течение 30 мин в значительной степени подавляет его последующее ухаживание за самками. Это происходит за счет того, что оплодотворенная самка вырабатывает 2 типа феромонов — афродизиак, который стимулирует самца к ухаживанию и антиафродизиак, который подавляет ухаживание самца. По мере ухаживания самца содержание антиафродизиака возрастает, в то время как выработка афродизиака снижается. В результате афродизиак утрачивает аттрактивные свойства и становится аверсивным условным стимулом для самца. В тесте на сохранение памяти, когда в качестве тестерной самки после тренировки используется виргинная самка, индекс ухаживания самца (ИУ), рассчитываемый как процент времени, затраченного на ухаживание, остается сниженным в течение 1 ч после тренировки. В случае теста повторного обучения, когда в качестве тестерной самки после тренировки используется оплодотворенная самка, индекс обучения оказывается сниженным в течение 8 ч после тренировки (Kamyshov et al., 1999). При увеличении длительности тренировки самца с 30 мин до 5 ч сохранность памяти регистрируется и после 8 суток. В этом случае возможно формирование долгосрочной памяти. Таким образом, степень снижения ИУ прямо пропорциональна времени обучения, структура пове-

дения ухаживания при этом не изменяется (McBride et al., 1999). Преимуществом данной методики является ее естественность и физиологичность, в отличие от метода обучения с использованием искусственного ольфакторного стимула при негативном подкреплении электрошоком (Tully, 1996).

Формирование памяти в процессе классического Павловского ассоциативного обучения подразделяют на ряд ясно очерченных во времени периодов, выпадение каждого из которых связано с мутациями соответствующих генов (Tully, 1996).

Первым этапом представляется немедленная память, фиксирующая нововоспринятую информацию — обучение. Вторым — краткосрочная память, сохраняющаяся в течение 3–7 мин после обучения. Третий этап определяет среднесрочная память — от 30 мин до 3 ч. Четвертой является память, устойчивая к амнезии, сохраняющаяся до 4 суток. И долгосрочная память — более 3–6 ч — до 9 суток. Каждый из предшествующих этапов, по-видимому, является необходимым условием формирования последующих. Выпадение звена памяти устойчивой к амнезии, однако, не влияет на выработку долгосрочной памяти, что свидетельствует о параллельности их развития и о различии лежащих в их основе молекулярных механизмов (Tully et al., 1994).

Формирование краткосрочной памяти не требует синтеза белка *de novo* и обусловлено временными ковалентными модификациями белков, которые уже синтезированы в клетке. При формировании краткосрочной памяти наблюдается сАМР-зависимое фосфорилирование белков-мишеней, в частности ионных каналов, определяющих проводимость клеточной мембраны. Образование среднесрочной памяти связывают с зависимым от протеинкиназы А, блокированием специфических  $K^+$ -каналов, что приводит к деполяризации мембраны и увеличению поступления  $Ca^{2+}$  в клетку. Протеинкиназа А также влияет на экзоцитоз медиатора в синаптическую щель (Bailey et al., 1996).

Методом условно-рефлекторного подавления ухаживания самцов *Drosophila* с использованием установки записи звуковых сигналов ухаживания, автоматически регистрирующей звукопродукцию при ухаживании — вибрацию, соответствующую импульсной и синусоидальной песням (подробнее о методе см. Каминская и др., 2011), нами была проведена оценка способности к обучению самцов линий *Drosophila* полиморфных по гену *limk1* при двух режимах тренировки — 30 мин и 5 ч. Так, у *Berlin*, *Oregon-R* после 30 мин тренировки условно-рефлекторное подавление ухаживания не регистрируется, однако после 5 ч тренировки этот параметр сопоставим с таковым у *Canton-S*. Таким образом, для успешности обучения самцам линий *Berlin* и *Oregon-R* требуется большая длительность тренировки (5 ч) по сравнению с *Canton-S*, для которой достаточно 30 мин тренировки. У самцов *agn<sup>ts3</sup>* как после 30 мин, так и после 5 ч трени-

ровки условно-рефлекторного подавления ухаживания не наблюдается, соответственно обучение не происходит (Каминская и др., 2011). Неспособность к обучению у самцов *agn<sup>ts3</sup>*, по-видимому, связана с повышением содержания изоформ LIMK1, возможно, за счет изменений в структуре гена *limk1* (Каминская, 2012), а также из-за образования белковых агрегатов в мозге личинок (Медведева и др., 2008) и нейромышечных контактах имаго *agn<sup>ts3</sup>* (Каминская, 2012).

Выявленные изменения в содержании и соотношения изоформ LIMK1, а также параметрах звукопродукции, описанные нами ранее, отражаются на способности к обучению у линий *D. melanogaster*, полиморфных по гену *limk1*.

Таким образом, изучение полиморфизма генов, вовлеченных в механизмы нейрональной пластичности, в частности гена *limk1*, оценка характера его экспрессии, а также вклад данных изменений гена в функционирование нейромышечных контактов при обучении, будет способствовать созданию алгоритма поиска новых генов-мишеней для тестирования лекарственных препаратов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные данные указывают на значимую роль LIMK1 и ее субстрата кофилина в регуляции акустической коммуникации, обучения и формирования памяти *D. melanogaster* посредством регуляции механизмов нейрональной пластичности. Нервные сети насекомых устроены существенно проще, чем у млекопитающих, но обладают сходными функциональными возможностями и их работа основана на использовании общих молекулярных компонентов, кодируемых гомологичными генами (параллелизм функций по Л.А. Орбели и М.Е. Лобашеву). Поскольку молекулярные механизмы обучения и памяти консервативны среди организмов, находящихся на разных филогенетических уровнях, на мутантных линиях дрозофилы можно оценить вклад мутаций определенного гена в эти процессы. Это создаёт предпосылки для скрининга фармакологических агентов при восстановительной терапии. Препараты, прошедшие отбор на такой системе, можно переводить на следующий этап тестирования с использованием более близких к человеку позвоночных животных.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Каминская А.Н., Никитина Е.А., Паялина Т.Л., с соавт., 2011. Влияние соотношения изоформ LIMK1 на поведение ухаживания *Drosophila melanogaster*: комплексный подход // Экологическая генетика. Т. 9(4). С. 3–14.
2. Каминская А.Н., 2012. Особенности поведения *Drosophila melanogaster* при различной структуре гена *limk1*: Автореф. дис. канд. биол. наук. СПб, 20 с.

3. Лобашев М.Е., 1960. О параллельных — аналогичных и гомологичных рядах развития основных свойств высшей нервной деятельности в филогенезе животных // Материалы 2-го научного совещания, посвященного памяти Л.А. Орбели, Москва, Ленинград, С. 16–23.
4. Лопатина Н.Г., Зачевило Т.Г., Чеснокова Е.Г., Савватеева-Попова Е.В., 2010. Поведенческие и молекулярные последствия дефицита эндогенных кинуренинов у медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. Т. 60(2). С. 229–235.
5. Медведева А.В., Молотков Д.А., Никитина Е.А. с соавт., 2008. Системная регуляция генетических и цитогенетических процессов сигнальным каскадом ремоделирования актина: локус *agnostic* дрозофилы // Генетика. Т. 44(6). С. 669–681.
6. Попов А.В., Каминская А.Н., Савватеева-Попова Е.В., 2009. Поведение ухаживания, коммуникационное звукоизлучение и устойчивость к стрессу мутантов дрозофилы *Drosophila melanogaster* по гену *agnostic*, кодирующему LIMK1 // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. Т. 45(2). С. 184–190.
7. Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В., Камышев Н.Г., 2000. Особенности акустической коммуникации у плодовых мушек *Drosophila melanogaster* // Сенсорные системы. Т. 14. С. 60–74.
8. Савватеева-Попова Е.В., Переслени А.И., Шаргина Л.М. с соавт., 2004. Особенности архитектуры X-хромосомы, экспрессии LIM-киназы 1 и рекомбинации у мутантов дрозофилы локуса *agnostic*: модель синдрома Вильямса человека // Генетика. Т. 40(6). С. 749–769.
9. Ang L.H., Chen W., Yao Y. et al., 2006. Lim kinase regulates the development of olfactory and neuromuscular synapses // Dev. Biol. Vol. 293(1). P. 178–190.
10. Angeli S., Shao J., Diamond M.I., 2010. F-actin binding regions on the androgen receptor and huntingtin increase aggregation and alter aggregate characteristics // PLoS One. Vol. 5(2). P. e9053.
11. Bailey C.H., Bartsch D., Kandel E.R., 1996. Toward a molecular definition of long-term memory storage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 93(24). P. 13445–13452.
12. Bamburg J.R., Bloom G.S., 2009. Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease // Cell Motil Cytoskeleton. Vol. 66(8). P. 635–649.
13. Bamburg J.R., Zheng J.Q., 2010. ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity // Nat Neurosci. Vol. 13. N 10. P. 1208–1215.
14. Bernstein B.W., Bamburg J.R., 2003. Actin-ATP hydrolysis is a major energy drain for neurons // J. Neurosci. Vol. 23(1). P. 1–6.

15. *Bernstein B. W., Bamberg J. R.*, 2010. ADF/Cofilin: a functional node in cell biology // *Trends in Cell Biology*. Vol. 20. P. 187–195.
16. *Bernstein B. W., Chen H., Boyle J. A., Bamberg J. R.*, 2006. Formation of actin-ADF/cofilin rods transiently retards decline of mitochondrial potential and ATP in stressed neurons // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* Vol. 291 (5). P. 828–839.
17. *Birkenfeld J., Betz H., Roth D.*, 2003. Identification of cofilin and LIM-domain-containing protein kinase 1 as novel interaction partners of 14–3–3 zeta // *Biochem. J.* Vol. 369(Pt 1). P. 45–54.
18. *Boissonneault V., Plante I., Rivest S., Provost P.*, 2009. MicroRNA-298 and microRNA-328 regulate expression of mouse beta-amyloid precursor protein-converting enzyme 1 // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284. — P. 1971–1981.
19. *Carlisle H. J., Manzerra P., Marcora E., Kennedy M. B.*, 2008. SynGAP regulates steady-state and activity-dependent phosphorylation of cofilin // *J. Neurosci.* Vol. 28(50). P. 13673–13683.
20. *Chen Q., Peto C. A., Shelton G. D.* et al., 2009. Loss of modifier of cell adhesion reveals a pathway leading to axonal degeneration // *J. Neurosci.* Vol. 29(1). P. 118–130.
21. *Cox L. J., Hengst U., Gurskaya N. G.*, 2008. Intra-axonal translation and retrograde trafficking of CREB promotes neuronal survival // *Nature cell biology*. Vol. 10(2). P. 149–159.
22. *Davis R. C., Maloney M. T., Minamide L. S.* et al., 2009. Mapping cofilin-actin rods in stressed hippocampal slices and the role of cdc42 in amyloid-beta-induced rods // *J. Alzheimers Dis.* Vol. 18(1). P. 35–50.
23. *Davis R. C., Marsden I. T., Maloney M. T.* et al., 2011. Amyloid beta dimers/trimers potently induce cofilin-actin rods that are inhibited by maintaining cofilin-phosphorylation // *Mol. Neurodegener.* Vol. 6. P. 1–16.
24. *DiFiglia M., Sapp E., Chase K.* et al., 1995. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons // *Neuron*. Vol. 14. P. 1075–1081.
25. *Edelmann L., Spiteri E., Koren K.* et al., 2001. AT-rich palindromes mediate the constitutional t(11;22) translocation // *Am. J. Hum. Genet.* Vol. 68(1). P. 1–13.
26. *Edwards D. C., Gill G. N.*, 1999. Structural features of LIM kinase that control effects on the actin cytoskeleton // *J. Biol. Chem.* Vol. 274(16). P. 11352–11361.
27. *Foletta V. C., Moussi N., Sarmiere P. D.* et al., 2004. LIM kinase 1, a key regulator of actin dynamics, is widely expressed in embryonic and adult tissues // *Experimental Cell Research*. Vol. 294. P. 392–405.
28. *Freeman M. R., Doherty J.*, 2006. Glial cell biology in *Drosophila* and vertebrates // *Trends Neurosci.* 2006 Vol. 29(2) P. 82–90.
29. *Fuentes-Medel Y., Logan M. A., Ashley J.* et al., 2009. Glia and muscle sculpt neuromuscular arbors by engulfing destabilized synaptic boutons and shed presynaptic debris // *PLoS Biol.* Vol. 7(8). P. e1000184.
30. *Fulga T. A., Elson-Schwab I., Khurana V.* et al., 2007. Abnormal bundling and accumulation of F-actin mediates tau-induced neuronal degeneration in vivo // *Nat. Cell Biol.* Vol. 9(2). P. 139–149.
31. *Gao J., Wang W. Y., Mao Y. W.* et al., 2010. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134 // *Nature*. Vol. 466(7310). P. 1105–1114.
32. *Gorovoy M., Niu J., Bernard O.* et al., 2005. LIM kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells // *J. Biol. Chem.* Vol. 280(28). P. 26533–26542.
33. *Gu J., Lee C. W., Fan Y.* et al., 2010. ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity // *Nat. Neurosci.* Vol. 13(10). P. 1208–1215.
34. *Hayworth C. R., Moody S. E., Chodosh L. A.* et al., 2006. Induction of neuregulin signaling in mouse schwann cells in vivo mimics responses to denervation // *J. Neurosci.* Vol. 26(25). P. 6873–6884.
35. *Hebert S. S., Horre K., Nicolai L.* et al., 2008. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105. — P. 6415–6420.
36. *Heredia L., Helguera P., de Olmos S.* et al., 2006. Phosphorylation of actin-depolymerizing factor/cofilin by LIM-kinase mediates amyloid beta-induced degeneration: a potential mechanism of neuronal dystrophy in Alzheimer's disease // *J. Neurosci.* Vol. 26. P. 6533–6542.
37. *Hess D. M., Scott M. O., Potluri S.* et al., 2007. Localization of TrkC to Schwann cells and effects of neurotrophin-3 signaling at neuromuscular synapses // *J. Comp. Neurol.* Vol. 501(4). P. 465–482.
38. *Hiraoka J., Okano I., Higuchi O.* et al., 1996. Self-association of LIM-kinase 1 mediated by the interaction between an N-terminal LIM domain and a C-terminal kinase domain // *FEBS Lett.* Vol. 399(1–2). P. 117–121.
39. *Jang D. H., Han J. H., Lee S. H.* et al., 2005. Cofilin expression induces cofilin-actin rod formation and disrupts synaptic structure and function in *Aplysia* synapses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102(44). P. 16072–16077.
40. *Johnson R., Zuccato C., Belyaev N. D.* et al., 2008. A microRNA-based gene dysregulation // *Neurobiol. Dis.* 2008. Vol. 29(3). P. 438–445.
41. *Kamyshev N. G., Iliadi K. G., Bragina J. V.*, 1999. *Drosophila* conditioned courtship: two ways of testing memory // *Learn Mem* Vol. 6(1). P. 1–20.
42. *Kim J., Inoue K., Ishii J.* et al., 2007. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons // *Science*. 2007. Vol. 317(5842). P. 1220–1224.

43. Kobayashi M., Nishita M., Mishima T. et al., 2006. MAPKAPK-2-mediated LIM-kinase activation is critical for VEGF-induced actin remodeling and cell migration // *EMBO J.* Vol. 25(4). P. 713–726.
44. Konopka W., Schütz G., Kaczmarek L., 2011. The microRNA contribution to learning and memory // *Neuroscientist.* Vol. 17(5). P. 468–474.
45. Kuhn D.E., Nuovo G.J., Martin M.M. et al., 2008. Human chromosome 21-derived miRNAs are overexpressed in Down syndrome brains and hearts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol. 370(3). P. 473–477.
46. Landles C., Sathasivam K, Weiss A. et al., 2010. Proteolysis of mutant huntingtin produces an exon 1 fragment that accumulates as an aggregated protein in neuronal nuclei in Huntington disease // *J. Biol. Chem.* Vol. 285. P. 8808–8823.
47. Lee-Hoeflich S. T., Causing C. G., Podkowa M., 2004. Activation LIMK1 by binding to the BMP receptor, BMPII, regulates BMP-dependent dendritogenesis // *EMBO.* Vol. 23. P. 4792–4801.
48. Li R., Soosairajah J., Harari D. et al., 2006. Hsp90 increases LIM kinase activity by promoting its homo-dimerization // *FASEB J.* Vol. 20. P. 417–425.
49. Lim M.K., Kawamura T., Ohsawa Y. et al., 2007. Parkin interacts with LIM kinase 1 and reduces its cofilin-phosphorylation activity via ubiquitination // *Exp. Cell Res.* Vol. 313. P. 2858–2874.
50. Lindström N., Neves C., McIntosh R. et al., 2010. Tissue specific characterisation of Lim-kinase 1 expression during mouse embryogenesis // *Gene Expr. Patterns.* Vol. 11(3–4). P. 221–232.
51. Liu Z., Sall A., Yang D., 2008. MicroRNA: An emerging therapeutic target and intervention tool // *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 9(6). P. 978–999.
52. Maciver S.K., Harrington C.R., 1995. Two actin binding proteins, actin depolymerizing factor and cofilin, are associated with Hirano bodies // *Neuroreport.* 1995. Vol. 6(15). P. 1985–1993.
53. Maloney M. T., Bamberg J.R., 2007. Cofilin-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and other amyloidopathies // *Mol Neurobiol.* Vol. 35. (1). P. 21–44.
54. Manetti F., 2011. LIM Kinases are attractive targets with many macromolecular partners and only a few small molecule regulators // *Medicinal Research Reviews.* Vol. DOI 10.1002/med.20230. P. 1–31.
55. Maselli A., Furukawa R., Thomson S.A.M., et al., 2003. Formation of Hirano bodies induced by expression of an actin cross-linking protein with again-of-function mutation // *Eukariotic Cell.* Vol. 2(4). P. 778–787.
56. Masliah E., 2000. The role of synaptic proteins in Alzheimer's disease // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* Vol. 924. P. 68–75.
57. McBride S.M.J., Giuliani G., Choi C. et al., 1999. Mushroom body ablation impairs short-term memory and long-term memory of courtship conditioning in *Drosophila melanogaster* // *Neuron.* Vol. 24(4). P. 967–977.
58. Meng Y., Zhang Y., Tregoubov V. et al., 2002. Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK-1 knockout mice // *Neuron.* Vol. 35. P. 121–133.
59. Minamide L. S., Maiti S., Boyle J.A. et al., 2010. Isolation and Characterization of Cytoplasmic Cofilin-Actin Rods // *Journal of biological chemistry.* Vol. 285. — P. 5450–5460.
60. Minamide L. S., Striegl A.M., Boyle J.A. et al., 2000. Neurodegenerative stimuli induce persistent ADF / cofilin-actin rods that disrupt distal neurite function // *Nat. Cell Biol.* Vol. 2. P. 628–636.
61. Moloney A., Sattelle D.B., Lomas D. A., Crowther D. C. 2010. Alzheimer's disease: insights from *Drosophila melanogaster* models // *Trends Biochem Sci.* Vol. 35(4). P. 228–235.
62. Munsie L., Caron N., Atwal R.S. et al., 2011. Mutant huntingtin causes defective actin remodeling during stress: defining a new role for transglutaminase 2 in neurodegenerative disease // *Hum. Mol. Genet.* Vol. 20(10). P. 1937–1951.
63. Nadella K. S., Saji M., Jacob N.K. et al., 2009. Regulation of actin function by protein kinase A-mediated phosphorylation of Limk1 // *EMBO Rep.* Vol. 10(6). P. 599–605.
64. Nagata K., Ohashi K., Yang N., Mizuno K., 1999. The N-terminal LIM domain negatively regulates the kinase activity of LIM-kinase 1 // *Biochem. J.* Vol. 343 Pt1. P. 99–105.
65. Packer A.N., Xing Y., Harper S.Q., Jones L., Davidson B.L. et al., 2008. The bifunctional microRNA miR-9/miR-9\* regulates REST and CoREST and is downregulated in Huntington's disease // *J. Neurosci.* 2008. Vol. 28(53). P. 14341–14346.
66. Perkins D. O., Jeffries C. D., Jarshog L.F. et al., 2007. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder // *Genome Biol.* 2007. Vol. 8(2). P. R27.
67. Reddy L. V., Koirala S., Sugiura Y. et al., 2003. Glial cells maintain synaptic structure and function and promote development of the neuromuscular junction in vivo // *Neuron.* Vol. 40(3). P. 563–580.
68. Rivlin P.K., St Clair R.M., Vilinsky I., Deitcher D.L., 2004. Morphology and molecular organization of the adult neuromuscular junction of *Drosophila* // *J. Comp. Neurol.* Vol. 468(4). P. 596–613.
69. Rosso S., Bollati F., Bisbal M. et al., 2004. LIMK1 regulates goldgi dynamics, traffic of goldgi-derived vesicles, and process extension in primary cultured neurons // *Mol. Biol. Cell.* Vol. 15. P. 3433–3449.

70. Schmid A., Sigrist S.J., 2008. Analysis of neuromuscular junctions: histology and in vivo imaging // *Methods Mol. Biol.* Vol. 420. P. 239–251.
71. Schratt G.M., Tuebing F., Nigh E.A. et al., 2006. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development // *Nature*. Vol. 439(7074). P. 283–289.
72. Scott R.W., Olson M.F., 2007. LIM kinase: function, regulation and association with human disease // *J. Mol. Med.* Vol. 85. P. 555–568.
73. Siegel R.W., Hall J.C., 1979. Conditioned responses in courtship behavior of normal and mutant *Drosophila* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 76(1). P. 3430–3434.
74. Soosairajah J., Maiti S., Waggan O. et al., 2005. Interplay between components of a novel LIM kinase-slingshot phosphatase complex regulates cofilin // *EMBO*. Vol. 24. P. 473–486.
75. Stokin G.B., Goldstein L.S., 2006. Axonal transport and Alzheimer's disease // *Annu. Rev. Biochem.* Vol. 75. P. 607–627.
76. Takahashi H., Funakoshi H., Nakamura T., 2003. LIM-kinase as a regulator of actin dynamics in spermatogenesis // *Cytogenet Genome Res.* Vol. 103(3–4). P. 290–298.
77. Tauber E., Eberl D.F., 2001. Song production in auditory mutants of *Drosophila*: the role of sensory feedback // *J. Comp. Physiol. A*. Vol. 187(5). P. 341–348.
78. Tomiyoshi G., Horita Y., Nishita M. et al., 2004. Caspase-mediated cleavage and activation of LIM-kinase 1 and its role in apoptotic membrane blebbing // *Genes Cells*. Vol. 9(6). P. 591–600.
79. Torroja L., Packard M., Gorczyca M. et al., 1999. The *Drosophila* beta-amyloid precursor protein homolog promotes synapse differentiation at the neuromuscular junction // *J. Neurosci.* Vol. 19(18). P. 7793–7803.
80. Tully T., 1996. Discovery of genes involved with learning and memory: An experimental synthesis of Hirschman and Benzerian perspectives // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 93(24). P. 13460–13467.
81. Tully T., Preat T., Boynton S.C., Del Vecchio M., 1994. Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila* // *Cell*. Vol. 79(1). P. 35–47.
82. Wang H., Hu Y., Tsien J.Z., 2006. Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage // *Prog. Neurobiol.* Vol. 79(3). P. 123–135.
83. Wang J.Y., Frenzel K.E., Wen D., Falls D.L., 1998. Transmembrane Neuregulins Interact with LIM Kinase 1, a Cytoplasmic Protein Kinase Implicated in Development of Visuospatial Cognition // *J. Biol. Chem.* Vol. 273. P. 20525–20534.
84. Yang E.J., Yoon J.H., Min do S., Chung K.C., 2004. LIM kinase 1 activates cAMP-responsive element-binding protein during the neuronal differentiation of immortalized hippocampal progenitor cells // *J. Biol. Chem.* Vol. 279. P. 8903–8910.
85. Yang N., Higuchi O., Ohashi K. et al., 1998. Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization // *Nature*. Vol. 393(6687). P. 809–812.
86. Yao J., Hennessey T., Flynt A. et al., 2010. MicroRNA-Related Cofilin Abnormality in Alzheimer's Disease // *PLoS ONE*. Vol. 5(12). P. 15546–15554.
87. Yokoo T., Toyoshima H., Miura M. et al., 2003. p57kip2 regulate actin dynamics by binding and translocating LIM-kinase 1 to the nucleus // *J. Biol. Chem.* Vol. 278. P. 52919–52923.

#### LIM-KINASE 1 IN REGULATION OF COGNITIVE AND LOCOMOTOR FUNCTIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Kaminskaya A.N., Medvedeva A.V.

✳ **SUMMARY: Background:** LIM-kinase 1 is the key enzyme of actin remodeling which is necessary for synaptic plasticity during learning and memory formation. Deletion of *limk1* leads to the development of Williams syndrome, accompanied by cognitive impairment and motor dysfunction, which refers to cytoskeleton diseases – cofilinopatia. Cofilinopatias are characterized by the formation of cofilin-actin complexes in neurons that disrupt vesicular transport and identify the early stages of dementia. **Conclusion:** In the present article, we briefly reviewed data about role of LIMK1 function in communicative sound production during courtship behavior, learning acquisition and memory formation.

✳ **KEY WORDS:** *limk1*; courtship; sound production; learning; memory.

#### ✳ REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Kaminskaya A.N., Nikitina E.A., Payalina T.L., Molotkov D.A., Zakharov G.A., Popov A.V., Savateeva-Popova E.V. *Journal of Ecological genetics*. 2011. Vol. 9(4). P. 3–14.
2. Kaminskaya A.N. 2012. Avtoreferat. St.Petersburg, 20 p.
3. Lobashov M.E. 2d Meeting, devoted to L.A Orbeli. 1960. Moscow, Leningrad, P. 16–23.
4. Lopatina N.G., Zachepilo T.G., Chesnokova E.G., Savateeva-Popova E.V. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2010. Vol. 60(2). P. 229–235.
5. Medvedeva AV, Molotkov DA, Nikitina EA, Popov AV, Karagodin DA, Baricheva EM, Savateeva-Popova EV. *Genetika*. 2008. Vol. 44(6). P. 669–681.
6. Popov A.V., Kaminskaya A.N., Savateeva-Popova E.V. *Zh Evol Biokhim Fiziol.*, 2009. Vol. 45(2). P. 184–90.
7. Popov A.V., Savateeva E.V., Kamyshev N.G. *Sensory systems*. 2000. Vol.14. P. 60–74.
8. Savateeva-Popova EV, Peresleni AI, Sharagina LM, Medvedeva AV, Korochkina SE, Grigor'eva IV, Diuzhikova NA, Popov AV, Baricheva EM, Karagodin D, Heisenberg M. *Genetika*. 2004. Vol. 40(6). P. 749–769.

9. Ang L.H., Chen W., Yao Y. et al., 2006. Lim kinase regulates the development of olfactory and neuromuscular synapses // *Dev. Biol.* Vol. 293 (1). P. 178–190.
10. Angeli S., Shao J., Diamond M.I., 2010. F-actin binding regions on the androgen receptor and huntingtin increase aggregation and alter aggregate characteristics // *PLoS One.* Vol. 5 (2). P. e9053.
11. Bailey C.H., Bartsch D., Kandel E.R., 1996. Toward a molecular definition of long-term memory storage // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 93 (24). P. 13445–13452.
12. Bamberg J.R., Bloom G.S., 2009. Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease // *Cell Motil Cytoskeleton.* Vol. 66 (8). P. 635–649.
13. Bamberg JR, Zheng JQ., 2010. ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity // *Nat Neurosci.* Vol. 13. № 10. P. 1208–1215.
14. Bernstein B.W., Bamberg J.R., 2003. Actin-ATP hydrolysis is a major energy drain for neurons // *J. Neurosci.* Vol. 23 (1). P. 1–6.
15. Bernstein B.W., Bamberg J.R., 2010. ADF/Cofilin: a functional node in cell biology // *Trends in Cell Biology.* Vol. 20. P. 187–195.
16. Bernstein B.W., Chen H., Boyle J.A., Bamberg J.R., 2006. Formation of actin-ADF/cofilin rods transiently retards decline of mitochondrial potential and ATP in stressed neurons // *Am.J. Physiol. Cell Physiol.* Vol. 291 (5). P. 828–839.
17. Birkenfeld J., Betz H., Roth D., 2003. Identification of cofilin and LIM-domain-containing protein kinase 1 as novel interaction partners of 14–3-3 zeta // *Biochem. J.* Vol. 369 (Pt 1). P. 45–54.
18. Boissonneault V, Plante I, Rivest S, Provost P., 2009. MicroRNA-298 and microRNA-328 regulate expression of mouse beta-amyloid precursor protein-converting enzyme 1 // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284. — P. 1971–1981.
19. Carlisle H.J., Manzerra P., Marcora E., Kennedy M.B., 2008. SynGAP regulates steady-state and activity-dependent phosphorylation of cofilin // *J. Neurosci.* Vol. 28 (50). P. 13673–13683.
20. Chen Q., Peto C.A., Shelton G.D. et al., 2009. Loss of modifier of cell adhesion reveals a pathway leading to axonal degeneration // *J. Neurosci.* Vol. 29 (1). P. 118–130.
21. Cox L.J., Hengst U., Gurskaya N.G., 2008. Intraxonal translation and retrograde trafficking of CREB promotes neuronal survival // *Nature cell biology.* Vol. 10 (2). P. 149–159.
22. Davis R.C., Maloney M.T., Minamide L.S. et al., 2009. Mapping cofilin-actin rods in stressed hippocampal slices and the role of cdc42 in amyloid-beta-induced rods // *J. Alzheimers Dis.* Vol. 18 (1). P. 35–50.
23. Davis R.C., Marsden I.T., Maloney M.T. et al., 2011. Amyloid beta dimers/trimers potently induce cofilin-actin rods that are inhibited by maintaining cofilin-phosphorylation // *Mol. Neurodegener.* Vol. 6. P. 1–16.
24. DiFiglia M, Sapp E, Chase K. et al., 1995. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons // *Neuron.* Vol. 14. P. 1075–1081.
25. Edelman L., Spiteri E., Koren K. et al., 2001. AT-rich palindromes mediate the constitutional t(11;22) translocation // *Am. J. Hum. Genet.* Vol. 68 (1). P. 1–13.
26. Edwards D.C., Gill G.N., 1999. Structural features of LIM kinase that control effects on the actin cytoskeleton // *J. Biol. Chem.* Vol. 274 (16). P. 11352–11361.
27. Foletta V.C., Moussi N., Sarmiere P.D. et al., 2004. LIM kinase 1, a key regulator of actin dynamics, is widely expressed in embryonic and adult tissues // *Experimental Cell Research.* Vol. 294. P. 392–405.
28. Freeman MR, Doherty J. 2006 Glial cell biology in *Drosophila* and vertebrates // *Trends Neurosci.* 2006 Vol. 29 (2) P. 82–90.
29. Fuentes-Medel Y., Logan M.A., Ashley J. et al., 2009. Glia and muscle sculpt neuromuscular arbors by engulfing destabilized synaptic boutons and shed presynaptic debris // *PLoS Biol.* Vol. 7 (8). P. e1000184.
30. Fulga T.A., Elson-Schwab I., Khurana V. et al., 2007. Abnormal bundling and accumulation of F-actin mediates tau-induced neuronal degeneration in vivo // *Nat. Cell Biol.* Vol. 9 (2). P. 139–149.
31. Gao J., Wang W.Y., Mao Y.W. et al., 2010. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134 // *Nature.* Vol. 466 (7310). P. 1105–1114.
32. Gorovoy M., Niu J., Bernard O. et al., 2005. LIM kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells // *J. Biol. Chem.* Vol. 280 (28). P. 26533–26542.
33. Gu J., Lee C.W., Fan Y. et al., 2010. ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity // *Nat. Neurosci.* Vol. 13 (10). P. 1208–1215.
34. Hayworth C.R., Moody S.E., Chodosh L.A. et al., 2006. Induction of neuregulin signaling in mouse schwann cells in vivo mimics responses to denervation // *J. Neurosci.* Vol. 26 (25). P. 6873–6884.
35. Hebert SS, Horre K, Nicolai L. et al., 2008. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2008. — Vol. 105. — P. 6415–6420.
36. Heredia L., Helguera P., de Olmos S. et al., 2006. Phosphorylation of actin-depolymerizing factor/cofilin by LIM-kinase mediates amyloid beta-induced degeneration: a potential mechanism of neuronal dystrophy in Alzheimer's disease // *J. Neurosci.* Vol. 26. P. 6533–6542.
37. Hess D.M., Scott M.O., Potluri S. et al., 2007. Localization of TrkC to Schwann cells and effects of

- neurotrophin-3 signaling at neuromuscular synapses // *J. Comp. Neurol.* Vol. 501 (4). P. 465–482.
38. Hiraoka J., Okano I., Higuchi O. et al., 1996. Self-association of LIM-kinase 1 mediated by the interaction between an N-terminal LIM domain and a C-terminal kinase domain // *FEBS Lett.* Vol. 399 (1–2). P. 117–121.
39. Jang DH, Han JH, Lee SH. et al., 2005. Cofilin expression induces cofilin-actin rod formation and disrupts synaptic structure and function in *Aplysia* synapses // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2005. — Vol. 102 (44). — P. 16072–16077.
40. Johnson R, Zuccato C, Belyaev ND. et al., 2008. A microRNA-based gene dysregulation // *Neurobiol. Dis.* — 2008. — Vol. 29 (3). — P. 438–445.
41. Kamyshev N. G., Iliadi K. G., Bragina J. V., 1999. *Drosophila* conditioned courtship: two ways of testing memory // *Learn Mem.* Vol. 6 (1). P. 1–20.
42. Kim J, Inoue K, Ishii J. et al., 2007. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons // *Science.* — 2007. — Vol. 317 (5842). — P. 1220–1224.
43. Kobayashi M., Nishita M., Mishima T. et al., 2006. MAPKAPK-2-mediated LIM-kinase activation is critical for VEGF-induced actin remodeling and cell migration // *EMBO J.* Vol. 25 (4). P. 713–726.
44. Konopka W., Sch tz G., Kaczmarek L., 2011. The microRNA contribution to learning and memory // *Neuroscientist.* Vol. 17 (5). P. 468–474.
45. Kuhn DE, Nuovo GJ, Martin MM. et al., 2008. Human chromosome 21-derived miRNAs are overexpressed in Down syndrome brains and hearts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2008. — Vol. 370 (3). — P. 473–477.
46. Landles C, Sathasivam K, Weiss A. et al., 2010. Proteolysis of mutant huntingtin produces an exon 1 fragment that accumulates as an aggregated protein in neuronal nuclei in Huntington disease // *J Biol Chem.* Vol. 285. P. 8808–8823.
47. Lee-Hoeflich S. T., Causing C. G., Podkowa M., 2004. Activation LIMK1 by binding to the BMP receptor, BMPRII, regulates BMP-dependent dendritogenesis // *EMBO.* Vol. 23. P. 4792–4801.
48. Li R., Soosairajah J., Harari D. et al., 2006. Hsp90 increases LIM kinase activity by promoting its homodimerization // *FASEB J.* Vol. 20. P. 417–425.
49. Lim M. K., Kawamura T., Ohsawa Y. et al., 2007. Parkin interacts with LIM kinase 1 and reduces its cofilin-phosphorylation activity via ubiquitination // *Exp. Cell Res.* Vol. 313. P. 2858–2874.
50. Lindstr m N., Neves C., McIntosh R. et al., 2010. Tissue specific characterisation of Lim-kinase 1 expression during mouse embryogenesis // *Gene Expr. Patterns.* — Vol. 11 (3–4). — P. 221–232.
51. Liu Z., Sall A., Yang D., 2008. MicroRNA: An emerging therapeutic target and intervention tool // *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 9 (6). P. 978–999.
52. Maciver SK, Harrington CR. 1995. Two actin binding proteins, actin depolymerizing factor and cofilin, are associated with Hirano bodies // *Neuroreport.* — 1995. — Vol. 6 (15). — P. 1985–1993.
53. Maloney M. T., Bamburg J. R., 2007. Cofilin-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and other amyloidopathies // *Mol Neurobiol.* Vol. 35. (1). P. 21–44.
54. Manetti F., 2011. LIM Kinases are attractive targets with many macromolecular partners and only a few small molecule regulators // *Medicinal Research Reviews.* Vol. DOI 10.1002/med.20230 P. 1–31.
55. Maselli A., Furukawa R., Thomson S. A. M., et al., 2003. Formation of Hirano bodies induced by expression of an actin cross-linking protein with again-of-function mutation // *Eukariotic Cell.* Vol. 2 (4). P. 778–787.
56. Masliah E., 2000. The role of synaptic proteins in Alzheimer's disease // *Ann N Y Acad Sci.* Vol. 924. P. 68–75.
57. McBride S. M. J., Giuliani G., Choi C. et al., 1999. Mushroom body ablation impairs short-term memory and long-term memory of courtship conditioning in *Drosophila melanogaster* // *Neuron.* Vol. 24 (4). P. 967–977.
58. Meng Y., Zhang Y., Tregoubov V. et al., 2002. Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK-1 knockout mice // *Neuron.* Vol. 35. P. 121–133.
59. Minamide L. S., Maiti S., Boyle J. A. et al., 2010. Isolation and Characterization of Cytoplasmic Cofilin-Actin Rods // *Journal of biological chemistry.* Vol. 285. — P. 5450–5460.
60. Minamide L. S., Striegl A. M., Boyle J. A., et al., 2000. Neurodegenerative stimuli induce persistent ADF/cofilin-actin rods that disrupt distal neurite function // *Nat. Cell Biol.* Vol. 2. P. 628–636.
61. Moloney A, Sattelle DB, Lomas DA, Crowther DC. 2010. Alzheimer's disease: insights from *Drosophila melanogaster* models // *Trends Biochem Sci.* Vol. 35 (4). P. 228–235.
62. Munsie L., Caron N., Atwal R. S. et al., 2011. Mutant huntingtin causes defective actin remodeling during stress: defining a new role for transglutaminase 2 in neurodegenerative disease // *Hum. Mol. Genet.* Vol. 20 (10). P. 1937–1951.
63. Nadella K. S., Saji M., Jacob N. K. et al., 2009. Regulation of actin function by protein kinase A-mediated phosphorylation of Limk1 // *EMBO Rep.* Vol. 10 (6). P. 599–605.
64. Nagata K., Ohashi K., Yang N., Mizuno K., 1999. The N-terminal LIM domain negatively regulates the kinase activity of LIM-kinase 1 // *Biochem. J.* Vol. 343 Pt1. P. 99–105.
65. Packer AN, Xing Y, Harper SQ, Jones L, Davidson BL. et al., 2008. The bifunctional microRNA miR-9/miR-9\* regulates REST and CoREST and is downregulated in

- Huntington's disease // *J. Neurosci.* 2008. Vol. 28 (53). P. 14341–14346.
66. Perkins DO, Jeffries CD, Jarskog LF. et al., 2007. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder // *Genome Biol.* 2007. Vol. 8 (2). P. R27.
67. Reddy L. V., Koirala S., Sugiura Y., et al., 2003. Glial cells maintain synaptic structure and function and promote development of the neuromuscular junction in vivo // *Neuron.* Vol. 40 (3). P. 563–580.
68. Rivlin P.K., St Clair R. M., Vilinsky I., Deitcher D. L., 2004. Morphology and molecular organization of the adult neuromuscular junction of *Drosophila* // *J. Comp. Neurol.* Vol. 468 (4). P. 596–613.
69. Rosso S., Bollati F., Bisbal M. et al., 2004. LIMK1 regulates goldgi dynamics, traffic of goldgi-derived vesicles, and process extension in primary cultured neurons // *Mol. Biol. Cell.* Vol. 15. — P. 3433–3449.
70. Schmid A., Sigrist S.J., 2008. Analysis of neuromuscular junctions: histology and in vivo imaging // *Methods Mol. Biol.* Vol. 420. P. 239–251.
71. Schrott G. M., Tuebing F., Nigh E. A. et al., 2006. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development // *Nature.* Vol. 439. (7074). P. 283–289.
72. Scott R.W., Olson M.F., 2007. LIM kinase: function, regulation and association with human disease // *J. Mol. Med.* Vol. 85. — P. 555–568.
73. Siegel R. W., Hall J. C., 1979. Conditioned responses in courtship behavior of normal and mutant *Drosophila* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 76 (1). P. 3430–3434.
74. Soosairajah J., Maiti S., Waggon O., et al., 2005. Interplay between components of a novel LIM kinase-slingshot phosphatase complex regulates cofilin // *EMBO.* Vol. 24. P.473–486.
75. Stokin G. B., Goldstein L. S., 2006. Axonal transport and Alzheimer's disease // *Annu. Rev. Biochem.* Vol. 75. P. 607–627.
76. Takahashi H., Funakoshi H., Nakamura T., 2003. LIM-kinase as a regulator of actin dynamics in spermatogenesis // *Cytogenet Genome Res.* Vol. 103 (3–4). P. 290–298.
77. Tauber E., Eberl D.F., 2001. Song production in auditory mutants of *Drosophila*: the role of sensory feedback // *J. Comp. Physiol. A.* Vol. 187 (5). — P. 341–348.
78. Tomiyoshi G., Horita Y., Nishita M. et al., 2004. Caspase-mediated cleavage and activation of LIM-kinase 1 and its role in apoptotic membrane blebbing // *Genes Cells.* Vol. 9 (6). P. 591–600.
79. Torroja L., Packard M., Gorczyca M., et al., 1999. The *Drosophila* beta-amyloid precursor protein homolog promotes synapse differentiation at the neuromuscular junction // *J. Neurosci.* Vol. 19 (18). P. 7793–7803.
80. Tully T., 1996. Discovery of genes involved with learning and memory: An experimental synthesis of Hirschman and Benzerian perspectives // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 93 (24). — P. 13460–13467.
81. Tully T., Preat T., Boynton S. C., Del Vecchio M., 1994. Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila* // *Cell.* Vol. 79 (1). — P. 35–47.
82. Wang H., Hu Y., Tsien J. Z., 2006. Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage // *Prog. Neurobiol.* Vol. 79 (3). P. 123–135.
83. Wang J. Y., Frenzel K. E., Wen D., Falls D. L., 1998. Transmembrane Neuregulins Interact with LIM Kinase 1, a Cytoplasmic Protein Kinase Implicated in Development of Visuospatial Cognition // *J. Biol. Chem.* Vol. 273. P.20525–20534.
84. Yang E. J., Yoon J. H., Min do S., Chung K. C., 2004. LIM kinase 1 activates cAMP-responsive element-binding protein during the neuronal differentiation of immortalized hippocampal progenitor cells // *J. Biol. Chem.* Vol. 279. P.8903–8910.
85. Yang N., Higuchi O., Ohashi K. et al., 1998. Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization // *Nature.* Vol. 393 (6687). — P. 809–812.
86. Yao J., Hennessey T., Flynt A. et al., 2010. MicroRNA-Related Cofilin Abnormality in Alzheimer's Disease // *PLoS ONE.* Vol. 5 (12). P. 15546–15554.
87. Yokoo T., Toyoshima H., Miura M. et al., 2003. p57kip2 regulate actin dynamics by binding and translocating LIM-kinase 1 to the nucleus // *J. Biol. Chem.* Vol. 278. — P. 52919–52923.

✉ Информация об авторах

**Каминская Алена Николаевна** — к. б. н., м. н. с., лаб. сравнительной физиологии сенсорных систем. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук. 194223, Санкт-Петербург, пр-т. М. Тореца, д. 44. E-mail: kaminskayaan@mail.ru.

**Медведева Анна Владимировна** — к. б. н., н. с., лаб. нейрогенетики. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук. 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. E-mail: avmed56@mail.ru.

**Kaminskaya Alena Nikolayevna** — Ph.D., junior research worker, Lab. of comparative physiology of sensory systems. Sechenov Institute of Comparative Physiology and Biochemistry, RAS. 194223, Saint-Petersburg, M. Torez prospect, 44. Russia. E-mail: kaminskayaan@mail.ru.

**Medvedeva Anna Vladimirovna** — Ph.D., research worker, Lab. of neurogenetics. Pavlov Institute of Physiology, RAS. 199034, Saint-Petersburg, Makarova nab., 6. Russia. E-mail: avmed56@mail.ru.