



СТАРЕНИЕ И ДОЛГОЛЕТИЕ

УДК [574 : 539.163 + 615.916.1 : 546.16] + 591.1 + 575.1

© А. А. Москалев,
О. А. Малышева

Институт биологии Коми
НЦ УрО РАН, Сыктывкар

✿ Исследована роль генов стрессоустойчивости (*dFOXO*, *dSir2*, *Hsp70*) в регуляции продолжительности жизни дрозophil в ответ на изменение режимов освещения. Выявлен *FOXO*-зависимый механизм увеличения продолжительности жизни при содержании особей дрозophil в темноте. Различия ПЖ в темноте и на свету у мутантов-гомозигот *FOXO* в трех случаях из четырех не наблюдались. Обнаружено, что особи-гомозиготы с мутацией в гене *dSir2* имеют более значительную разницу продолжительности жизни в темноте и на свету по сравнению с особями дикого генотипа и гетерозиготной линией. У линий с делециями генов *Hsp70* также наблюдается тенденция к снижению продолжительности жизни на свету. Представлены доказательства в пользу существования двух механизмов влияния светового режима на продолжительность жизни животных: интенсификация метаболизма при содержании на свету и нейроэндокринно обусловленное увеличение продолжительности жизни в условиях затемнения.

✿ **Ключевые слова:**
продолжительность жизни; *Drosophila melanogaster*; световой режим; транскрипционный фактор *FOXO*; сиртуины; белки теплового шока.

Поступила в редакцию 03.06.2010.
Принята к публикации 13.07.2010.

РОЛЬ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА *dFOXO*, *dSIR2* И *HSP70* В ИЗМЕНЕНИИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ОСВЕЩЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно исследуется влияние на продолжительность жизни (ПЖ) различных экологических факторов — температуры (Helfand, Rogina, 2003; Huang et al., 2004), качества пищи (Helfand, Rogina 2003; Cheng et al., 2005; Partridge et al., 2005), ионизирующей радиации (Москалев, 2004, 2008; Sasaki, Fukuda, 2006; Moskalev, 2007; Moskalev et al., 2008), ведется поиск генетических механизмов их влияния на скорость старения организма. В то же время работы, касающиеся проблем генетического контроля влияния на ПЖ различных режимов освещения, крайне немногочисленны.

Известно, что искусственное увеличение длины светового дня уменьшает ПЖ *Drosophila melanogaster* и мышей, тогда как его укорочение увеличивает ее (Москалев и др., 2006; Анисимов, 2008; Виноградова и др., 2007, 2008; Москалев и др., 2008; Москалев, Малышева, 2009; Massie, Whitney, 1991; Massie, Aiello, Williams, 1993; Sheeba et al, 2000; Majercak, 2002; Anisimov et al., 2004; Vinogradova et al., 2009). Однако механизмы влияния света на долгожительство изучены слабо. Существует несколько основных предположений о механизмах влияния измененных условий освещения на ПЖ: интенсификация метаболизма (Massie, Whitney, 1991; Sheeba et al., 2002; Helfand Rogina 2003), увеличение плодовитости (Sheeba et al, 2000; Sheeba et al, 2002), нарушение циркадных ритмов (Hardeland et al., 2003; Kondratov et al., 2007; Antoch, 2008). Согласно главенствующей точке зрения, увеличение длины светового дня может приводить к более высокому уровню метаболизма вследствие интенсификации двигательной активности и изменения температуры тела дрозophil (Sheeba et al., 2002). Свободнорадикальная теория старения (Harman, 1956) постулирует, что интенсификация метаболизма ведет к дополнительной продукции свободных радикалов, повреждающих митохондриальную и ядерную ДНК, мембраны и белки клетки (Анисимов, 1999, 2000), что обуславливает ускоренное старение и укорочение продолжительности жизни. В предыдущих исследованиях нами было показано, что снижение активности гена фермента Cu/Zn супероксиддисмутазы приводит к значительному увеличению разницы значений ПЖ дрозophil в темноте и на свету по сравнению с линией дикого типа (Москалев и др., 2006), а добавление в корм антиоксиданта мелатонина снижает эти различия (Москалев и др., 2008).

В настоящее время установлено, что в регуляции оксидативного стресс-ответа и продолжительности жизни ключевая роль принадлежит белкам семейства сиртуинов (Guarente, Kenyon, 2000; Fabrizio et al., 2005; Berdichevsky et al., 2006; Xiangzhong et al., 2007). Деацетилируя гистоны и различные транскрипционные факторы (p53, *FOXO*), сиртуины приводят к активации экспрессии генов стресс-ответа, ингибированию апоптоза, способствуя выживаемости клетки и увеличению продолжительности жизни организма (Tanno et al., 2007; Niedernhofer et al., 2008). Роль сиртуинов в изменении

ПЖ при влиянии разных режимов освещения прежде не изучалась. В данной работе мы исследовали ПЖ у линий гетеро- и гомозиготных по делеции гена *dSir2* в условиях стандартного освещения и затемнения. Нами показано, что особи-гомозиготы с мутацией в гене *dSir2* имеют более значительную разницу в ПЖ в темноте и на свету по сравнению с носителями дикого генотипа и гетерозиготной линией.

Не менее важное значение в реакциях стресс-ответа клетки имеют белки теплового шока (Hsp), участвующие в процессах репарации и протеолиза поврежденных белков (Панасенко, 2003; Coffey, 2003; Hunt et al., 2004; Arya et al., 2007). Кроме того, более высокая активность Hsps сопряжена с долгожительством у различных модельных животных (Mogrow et al., 2004; Kimura et al., 2006). Было показано, что в отсутствии функциональной копии гена *Hsp70* исчезает адаптивный ответ к воздействию индуктора свободных радикалов параквата (Турешева и др., 2008; Moskalev, Shaposhnikov, Turysheva, 2008). Экспрессия гена *Hsp70* усиливается при окислительных повреждениях (Guo et al., 2007; Soti, Csermely, 2007), что способствует улучшению окислительно-восстановительного состояния клетки и увеличению активности антиокислительных ферментов (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) (Guo et al., 2007). Кроме того, в экспериментах у мутантов дрозофилы по генам каталазы и Cu, Zn-Sod при старении уменьшалось время индукции гена *Hsp70*, что свидетельствует о его участии в ответе на окислительный стресс (Landis et al., 2004). Мы предположили, что делеции генов семейства *Hsp70* у линий дрозофил, содержащихся при 12-часовом режиме освещения, могут способствовать снижению ПЖ по сравнению с затемнением. Нами установлено, что у линий с мутациями в генах белков теплового шока наблюдается тенденция к уменьшению продолжительности жизни на свету по сравнению с линией дикого типа.

Перечисленные механизмы рассматривают лишь эффекты, связанные с повреждающим воздействием дополнительного освещения. Нельзя исключить и другой механизм, при котором уменьшение длины светового дня (содержание в условиях затемнения) как мягкий стресс-фактор может дополнительно стимулировать защитные системы организма, не оказывая при этом повреждающего действия, что приводит к увеличению ПЖ при содержании в темноте (рис. 1). Согласно предложенной нами нейроэндокринной гипотезе влияния света на ПЖ животных (Москалев, Малышева, 2009), в ответ на укорочение длины светового дня, которое в естественных условиях местообитаний предвещает скорое наступление холодов, у животных подавляется активность инсулин/IGF-1 сигнального механизма, но деблокируются процессы стресс-ответа с участием транскрипционного фактора FOXO. Известно, что транскрипционные факторы семейства FOXO играют важную роль в регуляции стрессоустойчивости и ПЖ животных (Boudewijn et al.,



Рис. 1. Механизмы влияния изменения длины светового дня на продолжительность жизни дрозофилы. Обозначения: → — индукция; ⊥ — ингибирование; ↑ — увеличение; ↓ — снижение

2003; Lee et al., 2003; Kramer et al., 2003; Lam et al., 2006). При стресс-реакции FOXO запускает экспрессию генов ферментов детоксикации свободных радикалов и репарации ДНК, белков теплового шока, ингибиторов циклин-зависимых киназ (Giannakou, Partridge, 2004; Huang, Tindall, 2006). Клетка становится более устойчивой к стрессам, лучше справляется со спонтанными повреждениями, что снижает скорость старения организма в целом. Согласно литературным данным, постоянная сверхэкспрессия *dFOXO* в жировом теле взрослой особи дрозофилы снижает темп смертности, увеличивает устойчивость к индуктору свободных радикалов параквату и увеличивает ПЖ мух (Giannakou, Partridge 2004; Giannakou et al., 2007), тогда как нарушение в работе *dFOXO* повышает чувствительность к окислительному стрессу и уменьшает их ПЖ (Junger et al., 2003). Мы изучили ПЖ особей дрозофилы, гомозиготных по гипоморфным аллелям гена FOXO при разных условиях освещения. Нами показан FOXO-зависимый механизм увеличения ПЖ дрозофил в темноте.

Таким образом, цель данной работы состояла в изучении роли генов транскрипционного фактора FOXO, *dSir2* и *Hsp70* в изменении продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* при различных режимах освещения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Лабораторные линии *Drosophila melanogaster*:

- 1) линия дикого типа *Canton-S*;
- 2) линия дикого типа ω^{1118} , которая в качестве маркера гомозиготности несет на хромосоме X рецессивную мутацию гена *white*;

Таблица 1

Параметры продолжительности жизни самцов и самок лабораторных линий дрозофилы ω^{1118} , $Sir2^{17}/+$ и $Sir2^{2A-7-11}$ при различных режимах освещения

Линия	Пол	Освещение, ч	MeПЖ	90%	min	max	MRDT	α	R	N
ω^{1118}	♂♂	12	36,0	44	9	50	5,9	0,1177	0,0012	237
		0	43,0*	51*	9	68	8,7	0,0796	0,0021	270
	♀♀	12	43,0	56	15	65	7,1	0,0989	0,0008	259
		0	50,0*	66*	9	67	7,7	0,0903	0,0006	242
$Sir2^{17}/+$	♂♂	12	44,0	55	4	69	8,7	0,0797	0,0019	188
		0	50,0*	66**	9	78	11,6	0,0620	0,0021	214
	♀♀	12	45,0	64	9	71	9,0	0,0769	0,0015	227
		0	45,0	61	9	69	8,1	0,0857	0,0010	176
$Sir2^{2A-7-11}$	♂♂	12	29,0	44	8	44	8,7	0,0840	0,0049	167
		0	43,0*	66*	9	69	11,7	0,0593	0,0039	185
	♀♀	12	29,0	44	8	54	6,8	0,1016	0,0027	171
		0	43,0*	58***	15	63	7,4	0,0941	0,0011	213

Различия между 0 ч и 12 ч статистически значимы: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,004$; *** — $p < 0,05$. Здесь и далее: MeПЖ — медианная продолжительность жизни; 90% — время жизни 90% когорты; min и max — минимальная и максимальная продолжительность жизни в выборке; MRDT — время удвоения интенсивности смертности; α и R — параметры уравнения Гомперца; N — количество особей в выборке; ♂♂ — самцы; ♀♀ — самки

- 3) линия $Sir2^{17}/+$ (генотип ω^{1118} ; $Sir2^{17}/SM6a$) содержит в гетерозиготе гипоморфную аллель гена $Sir2$;
- 4) линия $Sir2^{2A-7-11}$ (ω^{1118} ; $Sir2^{2A-7-11}$) несет в гомозиготе делецию гена $Sir2$;
- 5) линия $Df(3R)Hsp70A, Df(3R)Hsp70B$ (ω^{1118} ; $Df(3R)Hsp70A, Df(3R)Hsp70B$) содержит в гомозиготе делеции нескольких генов семейства $Hsp70$ ($Hsp70Aa, Hsp70Ab, Hsp70Ba, Hsp70Bb, Hsp70Bbb$ и $Hsp70Bc$);
- 6) линия $Df(3R)Hsp70A$ (ω^{1118} ; $Df(3R)Hsp70A$) имеет делеции генов $Hsp70A$ ($Hsp70Aa$ и $Hsp70Ab$);
- 7) линия $FOXO^{21}$ ($y, \omega; Sp/CyO; dFOXO^{21}/TM6B Tb, Hu$) содержит в гомозиготе гипоморфную аллель гена транскрипционного фактора FOXO;
- 8) линия $FOXO^{25}$ ($y, \omega; FRT 82 dFOXO^{25}/TM6B Tb, Hu$) содержит в гомозиготе гипоморфную аллель гена транскрипционного фактора FOXO.

Для получения особей с пониженной активностью гена FOXO (с генотипом $FOXO^{21}/FOXO^{25}$) производили скрещивание родительских линий $FOXO^{21}$ и $FOXO^{25}$.

Линии *Drosophila melanogaster* любезно предоставлены коллекцией Bloomington Drosophila Stock Center (университет штата Индиана, США) и Dr. Ernst Hafen (Institute for Molecular Systems Biology, Switzerland).

Условия эксперимента

Культивирование родительских линий проводили в термостате при температуре 25°C и стандартном 12 ч режиме освещения, в баночках 100 мл, содержащих 25 мл дрожжевой питательной среды (Ashburner, 1989). После появления имаго в течение суток производили отбор необходимого количества особей (50 штук на баночку), пред-

варительно наркотизировав их эфиром. Самцы и самки содержались отдельно. Общее количество баночек каждой линии было разделено на несколько групп. Одну часть индивидуумов каждой линии подвергали воздействию 12 ч освещения при интенсивности 120–130 LX, другая часть находилась в постоянной темноте на протяжении всей жизни. Подсчет числа умерших мух проводили ежедневно (за исключением субботы и воскресенья). Выживших мух еженедельно перемещали на свежую среду.

Статистическая оценка продолжительности жизни

Известно, что распределение продолжительности жизни не подчиняется нормальному закону (Гаврилов, Гаврилова, 1986). Ненормальность распределения исключает использование параметрических критериев (Лакин, 1990). Поэтому для оценки достоверности различий по продолжительности жизни в опыте и контроле применяли непараметрический критерий Гехана-Бреслоу-Вилкоксона (для оценки различий медианной продолжительности жизни, MeПЖ) и Колмогорова–Смирнова (сравнение кривых выживаемости) (Ермаков, 1987). Дополнительно оценивали и другие характеристики продолжительности жизни: минимальную, максимальную продолжительность жизни когорты (смертность 100% всех особей) и время 90%-й гибели. Последний показатель использовался по причине того, что он менее зависим от случайных факторов, чем максимальная продолжительность жизни. Для оценки статистической значимости различий 90%-й гибели применяли метод Ванг–Аллисона (Wang–Allison test)

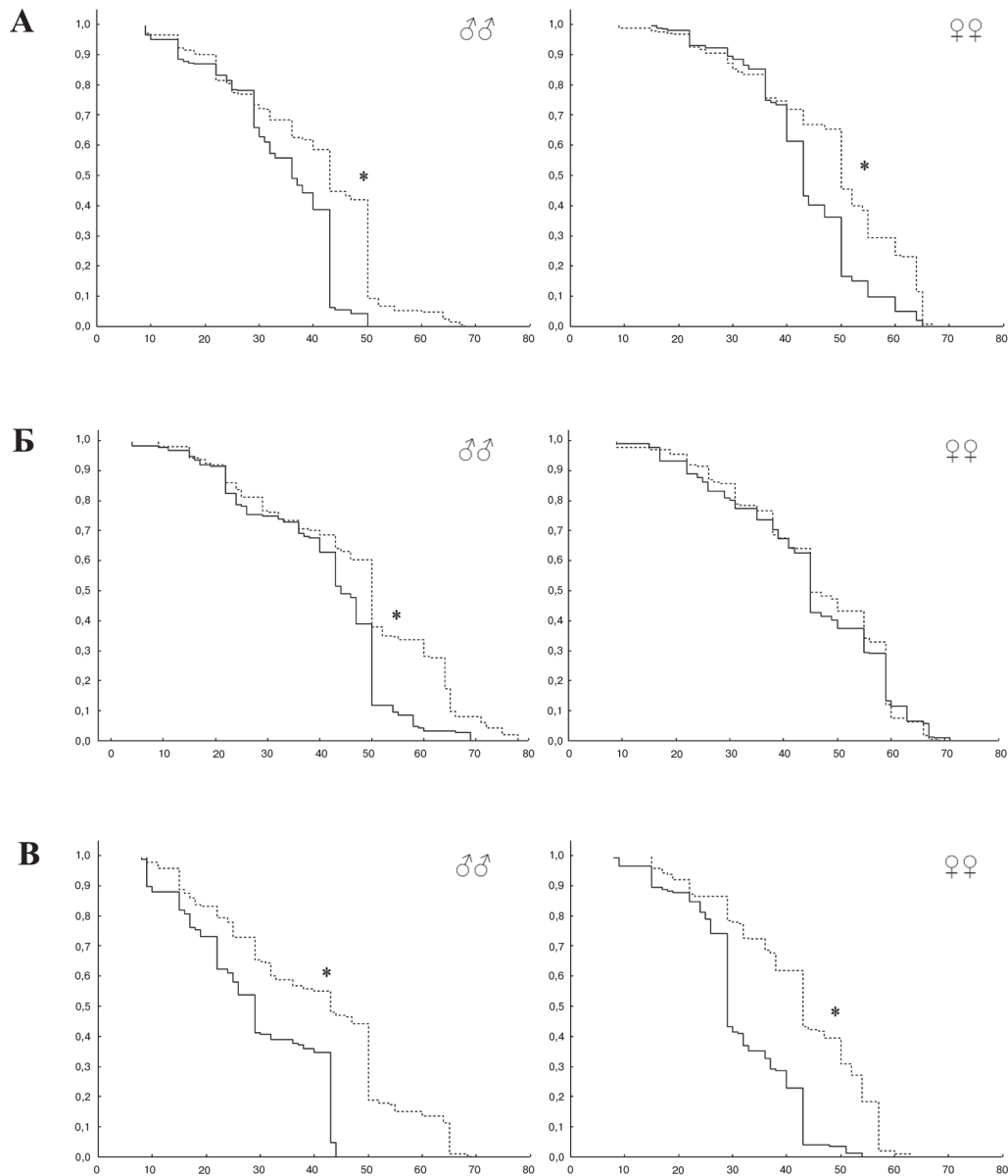


Рис. 2. Кривые выживаемости самцов (♂♂) и самок (♀♀) дрозофилы линий w^{1118} (А), $Sir2^{17/+}$ (Б) и $Sir2^{2A-7-11}$ (В)
 Обозначения: — 12 ч, - - - 0 ч, * — различия достоверны при $p < 0,001$ (по критерию Колмогорова–Смирнова)

(Wang et al., 2004). Функции дожития оценивали с помощью процедуры Каплана–Мейера и представляли в виде кривых дожития (Крутько, Славин, Смирнова, 2002). Для этой цели была применена программа Statistica 6.1 (Statsoft, США).

Для анализа скорости старения в экспериментальной популяции оценивали параметры смертности α и R из уравнения Гомпертца $\mu(x) = Re^{\alpha x}$ и время удвоения интенсивности смертности (MRDT) по формуле $MRDT = \ln 2 / \alpha$. Достоверность отличий параметра α анализировали с использованием метода максимального правдоподобия (Pletcher, 1999) по критерию Хи-квадрат в программе Winmodest, любезно предоставленной С. Плетчером (Институт Макса–Планка).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В одном из экспериментов проводили анализ влияния различных режимов освещения у линий, гомозиготных и гетерозиготных по мутации гена $dSir2$ в сравнении с линией дикого типа w^{1118} (табл. 1). При содержании особей контрольной линии дикого типа w^{1118} в условиях постоянного затемнения наблюдали достоверное ($p < 0,001$) увеличение МеПЖ (на 17 % у самцов и на 3 % у самок) и времени 90 %-гибели особей (на 14 % у самцов и на 15 % у самок) по сравнению с 12-ти часовым режимом освещения. Также в темноте происходило увеличение времени удвоения интенсивности смертности (MRDT) и снижение угла наклона

Таблица 2

Параметры продолжительности жизни самцов и самок лабораторных линий дрозофилы *Canton-S*, *Df(3R)Hsp70A*, *Df(3R)Hsp70B* и *Df(3R)Hsp70A* при различных режимах

Линия	Пол	Освещение, ч	МеПЖ	90%	min	max	MRDT	α	R	N
<i>Canton-S</i>	♂♂	12	52,0	60	10	72	6,3	0,1094	0,0003	248
		0	52,0	67*	10	80	7,1	0,0971	0,0003	236
	♀♀	12	59,0	67	11	73	5,5	0,1266	0,0001	250
		0	59,0	70**	10	84	5,7	0,1208	0,0001	220
<i>Df(3R)Hsp70, Df(3R)Hsp70B</i>	♂♂	12	24,0	32	5	49	5,5	0,1255	0,0038	292
		0	31,0*	45*	10	57	7,2	0,0967	0,0034	259
	♀♀	12	38,0	49	4	59	8,0	0,0866	0,0031	210
		0	38,0	53	4	59	8,7	0,0799	0,0028	246
<i>Df(3R)Hsp70A</i>	♂♂	12	44,0	56	5	59	8,3	0,0835	0,0018	254
		0	52,0*	60*	10	66	7,1	0,0971	0,0006	255
	♀♀	12	52,0	62	10	68	6,9	0,1002	0,0005	241
		0	52,0	69*	10	73	8,6	0,0803	0,0008	261

Различия между 0 и 12 ч статистически значимы: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,004$.

траектории смертности α на 32 % у самцов ($p < 0,001$ по критерию Хи-квадрат) и на 9 % у самок. Кривые выживаемости (рис. 2А) достоверно различаются как у самцов, так и у самок ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова). У самцов гетерозиготной по гипоморфной аллели гена *dSir2* линии *Sir2^{17/+}*, также как и у контрольной линии, в темноте происходило достоверное ($p < 0,001$) увеличение МеПЖ (на 12 %), времени 90%-й гибели особей (на 17 %, $p < 0,004$), MRDT, а параметр α уравнения Гомпертца в темноте уменьшился на 22 % ($p < 0,007$ по критерию Хи-квадрат). У самок гетерозиготной линии *Sir2^{17/+}* в темноте наблюдалось незначительное снижение времени 90 %-гибели особей (на 5 %), MRDT, медиана не изменилась, а значение параметра α увеличилось на 10 %. Кривые выживаемости в темноте и на свету достоверно различались лишь у самцов ($p < 0,001$) (рис. 2Б). В то же время у особей гомозиготной линии *Sir2^{2A-7-11}* с делецией гена *dSir2* мы наблюдали более значительную разницу между ПЖ в темноте и на свету по сравнению с контрольной и гетерозиготной линиями. Так, МеПЖ в темноте достоверно ($p < 0,001$) возросла на 33 % как у самцов, так и у самок, время 90%-й гибели особей у самцов увеличилось на 33 % ($p < 0,001$), у самок — на 24 % ($p < 0,05$). Также в темноте наблюдали увеличение MRDT и снижение параметра α на 29 % у самцов ($p < 0,003$ по критерию Хи-квадрат) и на 7 % у самок (табл. 1). Кривые выживаемости особей, содержащихся в темноте и на свету, достоверно различаются как у самцов, так и у самок ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 2В).

В следующем эксперименте исследовали влияние делеций генов семейства *Hsp70* на изменение продолжительности жизни при разных режимах освещения в сравнении с реакциями у линии дикого типа *Canton-S*.

В данном варианте эксперимента при содержании особей линии дикого типа *Canton-S* в условиях постоянной темноты МеПЖ не изменилась у обоих полов, однако достоверно увеличилось время 90%-й гибели особей (на 10 % при $p < 0,001$ у самцов и на 4 % при $p < 0,004$ — у самок), MRDT, тогда как значение параметра α уравнения Гомпертца в темноте уменьшилось на 11 % у самцов и на 7 % у самок (табл. 2). Кривые выживаемости в темноте и на свету достоверно различались как у самцов ($p < 0,001$), так и у самок ($p < 0,05$ по критерию Колмогорова-Смирнова) (рис. 3А). У линий с мутациями в генах семейства *Hsp70* (*Df(3R)Hsp70A*, *Df(3R)Hsp70B*; *Df(3R)Hsp70A*) более выражено, чем у линии дикого типа *Canton-S*, наблюдали тенденцию к увеличению параметров ПЖ в темноте по сравнению с 12 ч режимом освещения. В частности, у особей линии *Df(3R)Hsp70A*, *Df(3R)Hsp70B* в темноте достоверно ($p < 0,001$) увеличилась МеПЖ (на 23 % у самцов, у самок не изменилась), время 90%-й гибели особей (на 29 % у самцов при $p < 0,001$, и на 8 % у самок), MRDT, в то же время значение параметра α в темноте у самцов уменьшилось на 23 % ($p < 0,001$ по критерию Хи-квадрат), а у самок — на 8 % (табл. 2). Кривые выживаемости самцов и самок исследуемых линий достоверно различались ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 3Б). У особей другой гомозиготной линии *Df(3R)Hsp70A* в темноте МеПЖ увеличилась на 15 % у самцов ($p < 0,001$), у самок не изменилась, время 90 %-й гибели особей увеличилось на 7 % у самцов и на 10 % у самок. При этом у самцов в темноте снижается MRDT и увеличивается значение параметра α уравнения Гомпертца (на 14 %). У самок MRDT увеличивается, а параметр α уменьшается на 20 % ($p < 0,004$ по критерию Хи-квадрат) (табл. 2).

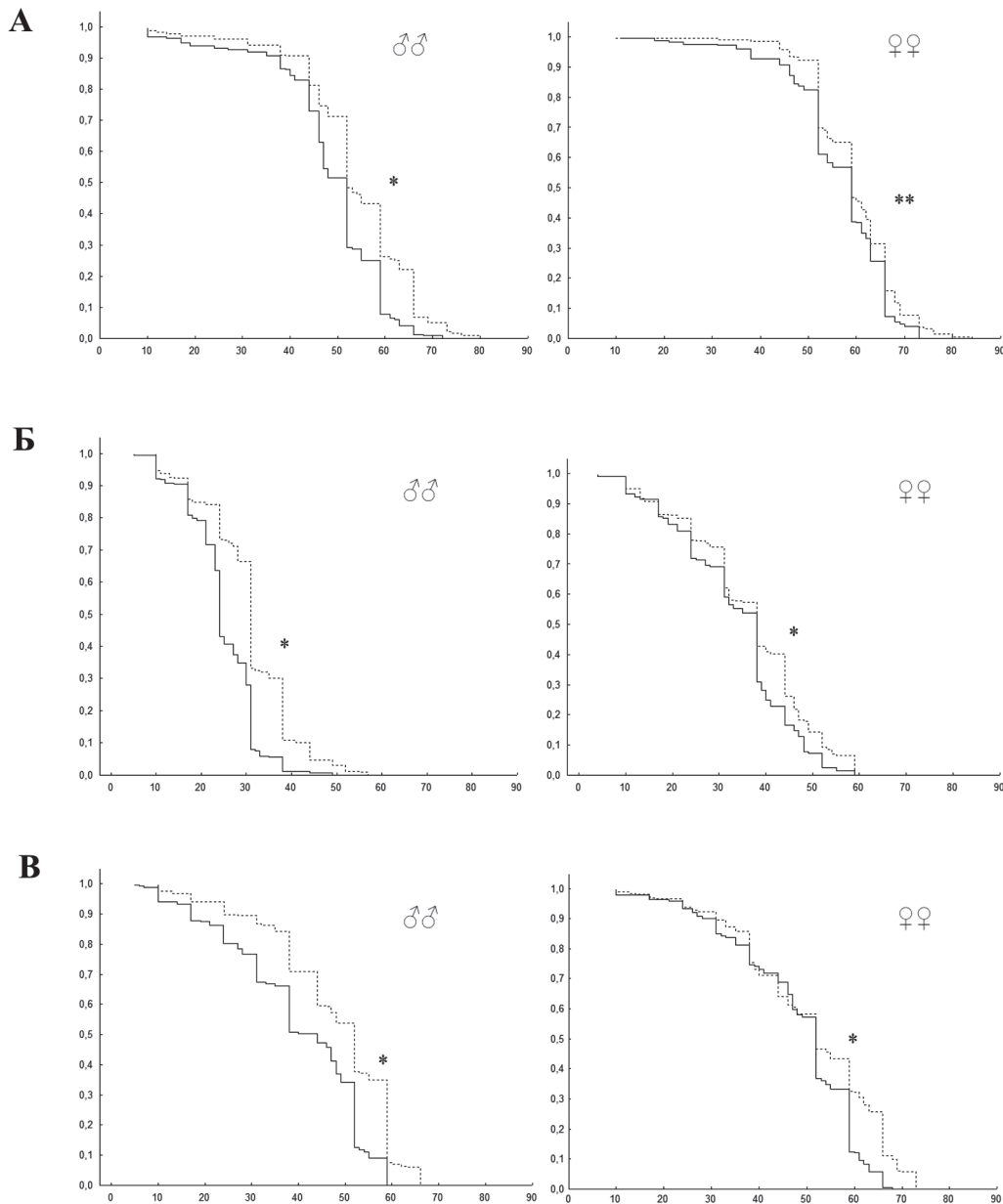


Рис. 3. Кривые выживаемости самцов (♂♂) и самок (♀♀) дрозофилы линий *Canton-S* (А), *Df(3R)Hsp70A*, *Df(3R)Hsp70B* (Б) и *Df(3R)Hsp70A* (В)
 Обозначения: — 12 ч, - - - 0 ч, различия достоверны (по критерию Колмогорова—Смирнова): * — $p < 0,001$, ** — $p < 0,05$

Кривые выживаемости самцов и самок достоверно различаются ($p < 0,001$) (рис. 3В).

В последнем эксперименте сравнивали эффекты влияния гипоморфных мутаций гена транскрипционного фактора FOXO в гомозиготе с эффектами разных световых режимов у гетерозигот и линии дикого типа *Canton-S*. В данном эксперименте при содержании особей *Canton-S* в условиях постоянной темноты в двух независимых повторностях эксперимента наблюдали достоверное ($p < 0,001$) увеличение МеПЖ самцов (на 26–35 %) и самок (на 5–19 %), времени 90 %-ной гибели

особей (при $p < 0,001$) на 7–25 % у самцов и на 6 % в одной из повторностей у самок. Значение параметра α при содержании в темноте у самцов и самок, соответственно, в одной повторности увеличивается на 44 % ($p < 0,001$) и 24 % ($p < 0,002$ по критерию Хи-квадрат), а в другой уменьшается на 28 % ($p < 0,001$ по критерию Хи-квадрат) и 8 %. Аналогично изменяется и значение MRDT (табл. 2). Кривые выживаемости достоверно различаются как у самцов, так и у самок в обеих экспериментальных повторностях ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 4–5А). У гетерозиготных по гену FOXO

Таблица 3

Параметры продолжительности жизни самцов и самок лабораторных линий дрозофилы *Canton-S*, *FOXO²¹*, *FOXO²⁵* и *FOXO²¹/FOXO²⁵* при различных режимах освещения

Линия	Пол	Освещение, ч	МеПЖ	90%	min	max	MRDT	α	R	N
Повторность 1										
<i>Canton-S</i>	♂♂	12	33,0	52	8	54	7,5	0,0922	0,0024	203
		0	51,0*	56*	8	58	4,2	0,1636	0,0004	203
	♀♀	12	35,0	52	8	58	8,6	0,0802	0,0028	206
		0	43,0*	52	8	68	6,6	0,1052	0,0007	201
<i>FOXO²¹</i>	♂♂	12	50,0	55	8	71	6,6	0,1047	0,0007	273
		0	52,0*	67*	15	93	12,4	0,0554	0,0025	196
	♀♀	12	51,0	67	10	87	11,6	0,0597	0,0024	206
		0	54,0*	80**	11	99	11,3	0,0610	0,0013	195
<i>FOXO²⁵</i>	♂♂	12	37,0	55	4	58	7,9	0,0869	0,0022	229
		0	44,0*	65*	8	87	9,4	0,0735	0,0014	212
	♀♀	12	36,0	58	4	80	11,6	0,0595	0,0045	207
		0	57,0*	65	8	79	9,9	0,0700	0,0015	213
<i>FOXO²¹/FOXO²⁵</i>	♂♂	12	22,0	36	4	50	7,2	0,0956	0,0092	201
		0	24,0*	52*	4	64	10,6	0,0651	0,0068	267
	♀♀	12	34,0	52	8	52	9,1	0,0761	0,0044	272
		0	38,0****	53****	8	64	11,1	0,0623	0,0052	218
Повторность 2										
<i>Canton-S</i>	♂♂	12	37,0	49	9	61	5,7	0,1219	0,0007	211
		0	50,0*	65*	6	77	7,9	0,0877	0,0007	236
	♀♀	12	57,0	65	4	78	4,9	0,1424	0,0004	282
		0	60,0*	69*	8	78	5,3	0,1310	0,0004	288
<i>FOXO²¹</i>	♂♂	12	46,0	68	6	96	12,2	0,0569	0,0028	227
		0	60,0*	75	9	86**	8,6	0,0803	0,0005	168
	♀♀	12	53,0	86	6	95	15,2	0,0456	0,0025	124
		0	71,0*	89	15	103**	9,5	0,0728	0,0003	350
<i>FOXO²⁵</i>	♂♂	12	47,0	58	9	71	7,8	0,0893	0,0011	195
		0	50,0*	69	8	77*	8,3	0,0836	0,0006	195
	♀♀	12	39,0	69	8	81	15,4	0,0451	0,0061	146
		0	50,0*	79	8	89***	17,3	0,0401	0,0043	190
<i>FOXO²¹/FOXO²⁵</i>	♂♂	12	21,0	30	6	36	6,5	0,1067	0,0095	210
		0	22,0	37	8	50*	7,5	0,0918	0,0010	237
	♀♀	12	29,0	40	6	47	6,3	0,1087	0,0036	237
		0	29,0	48	8	50*	8,7	0,0798	0,0054	198
Различия между 0 и 12 ч статистически значимы: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,005$; *** — $p < 0,02$; **** — $p < 0,05$.										

родительских линий (*FOXO²⁵* и *FOXO²¹*) наблюдали более значительное увеличение исследуемых параметров ПЖ как в темноте, так и на свету по сравнению с контрольной линией дикого типа *Canton-S*. Так у особей линии *FOXO²¹* в условиях постоянной темноты в двух независимых повторностях эксперимента наблюдали достоверное

($p < 0,001$) увеличение МеПЖ (на 4 % у самцов и 6–25 % у самок), времени 90%-й гибели особей (на 15–18 % у самцов при $p < 0,001$ и на 4–16 % у самок при $p < 0,005$). Значение параметра α уравнения Гомпертца в темноте в одной из повторностей уменьшилось на 47 % у самцов ($p < 0,001$ по критерию Хи-квадрат) и на 8 % у самок, а в

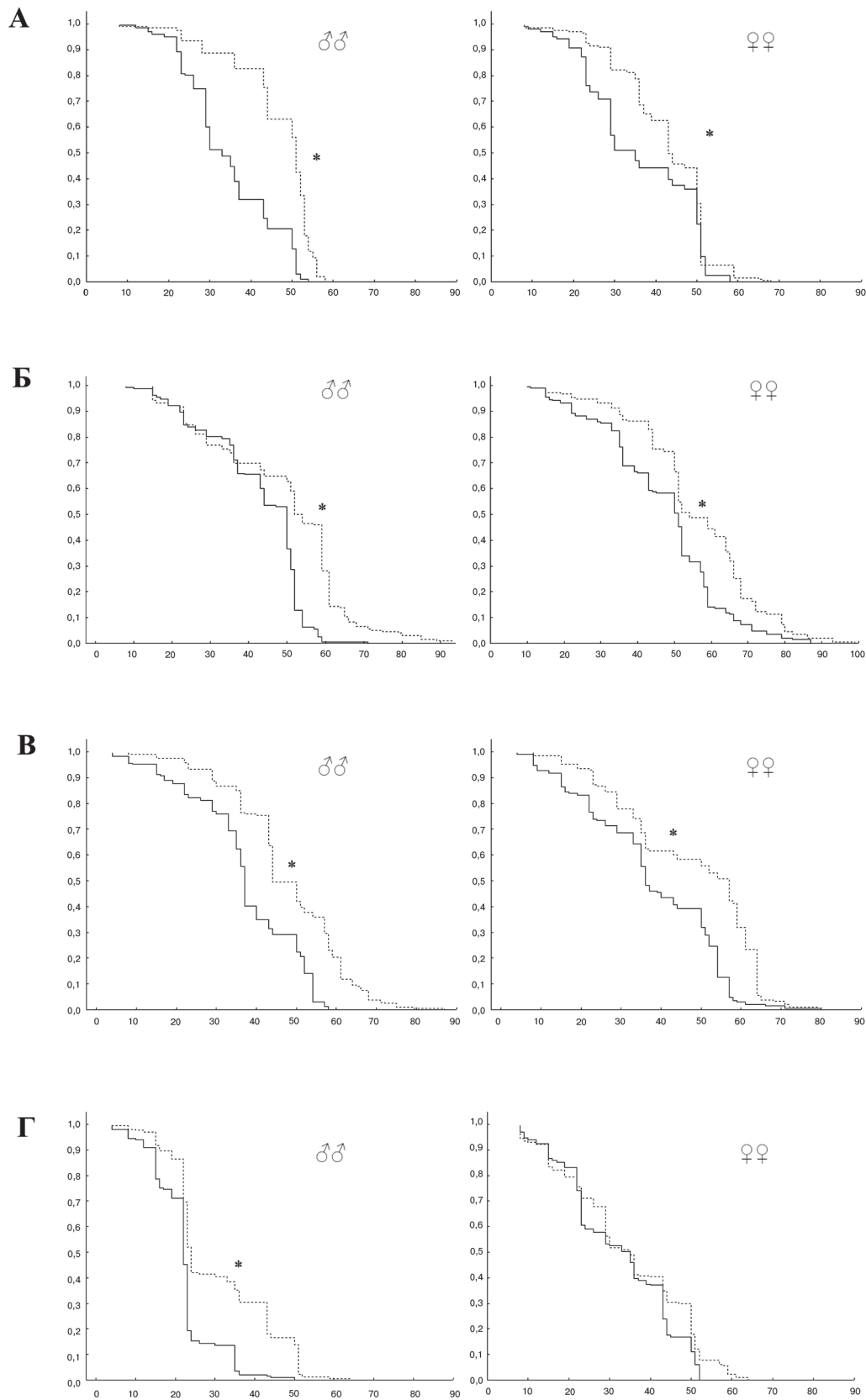


Рис. 4. Кривые выживаемости самцов (♂♂) и самок (♀♀) дрозофилы линий *Canton-S* (А), *FOXO²¹* (Б), *FOXO²⁵* (В) и *FOXO²¹/FOXO²⁵* (Г) в первой экспериментальной повторности

Обозначения: — 12 ч, - - - 0 ч, * — различия достоверны при $p < 0,001$ (по критерию Колмогорова–Смирнова)

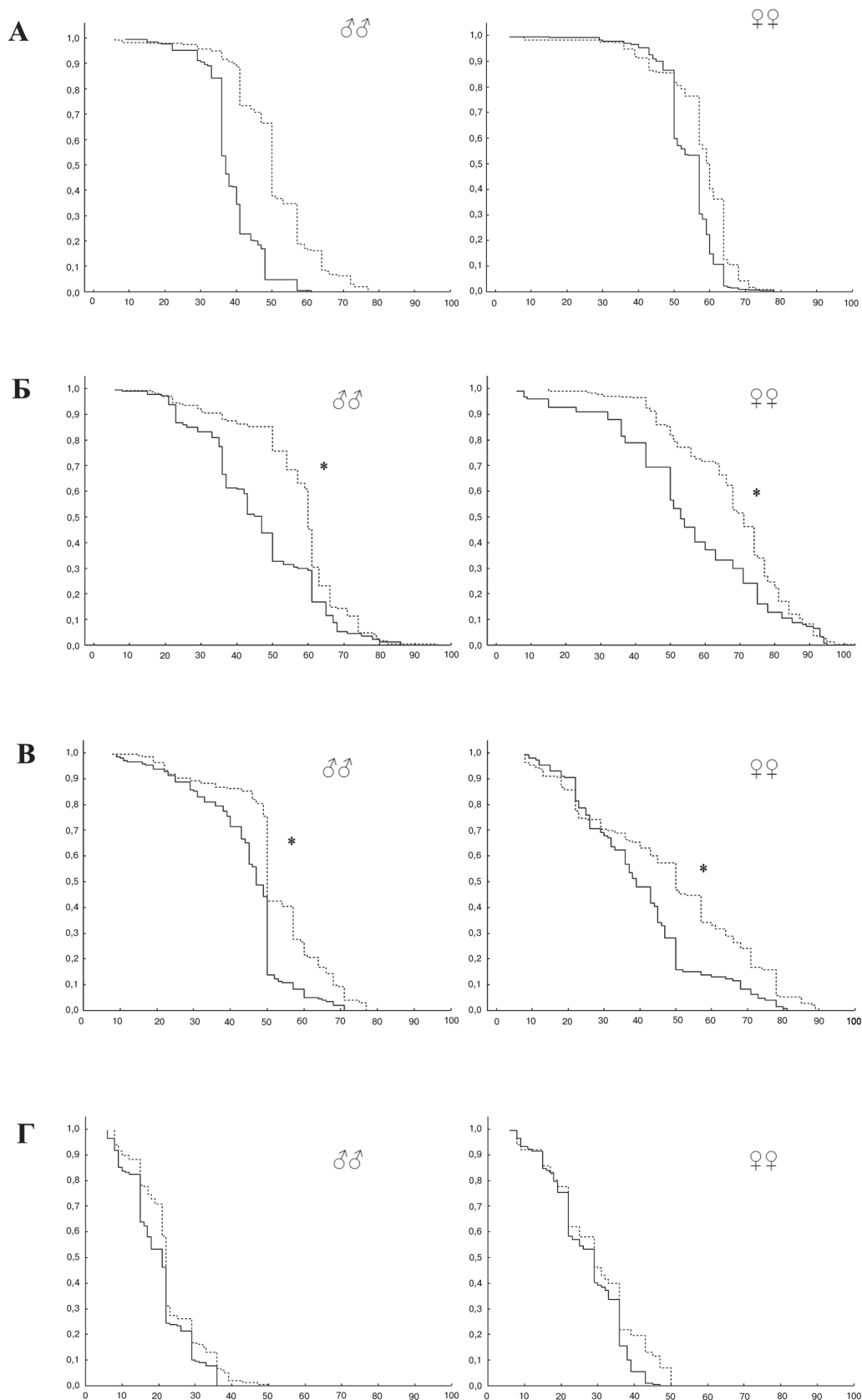


Рис. 5. Кривые выживаемости самцов (♂♂) и самок (♀♀) дрозофилы линий *Canton-S* (А), *FOXO²¹* (Б), *FOXO²⁵* (В) и *FOXO²¹/FOXO²⁵* (Г) во второй экспериментальной повторности.

Обозначения: ———— 12 ч, - - - - 0 ч, * — различия достоверны при $p < 0,001$ (по критерию Колмогорова–Смирнова)

другой увеличилось (на 29 % у самцов и на 37 % у самок при $p < 0,001$ по критерию Хи-квадрат) (табл. 3). Кривые выживаемости достоверно различаются в обоих повторностях эксперимента как у самцов, так и у самок ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 4–5Б). При содержании самцов и самок другой гетерозиготной родительской линии *FOXO*²⁵ в темноте в двух независимых повторностях эксперимента МеПЖ самцов и самок в темноте достоверно ($p < 0,001$) возросла на 6–16 % и 20–22 %, соответственно, время 90 %-ной гибели особей увеличилось на 15–16 % ($p < 0,001$) и 11–13 %, соответственно. При этом у самцов в темноте на 6–15 % уменьшилось значение параметра α уравнения Гомпертца по сравнению с самцами, содержащимися при стандартном режиме освещения, и соответственно увеличилось MRDT. У самок в темноте параметр α в одном эксперименте увеличился на 15 %, а в другом уменьшился на 11 %. В соответствии с этим изменялось и значение MRDT (табл. 3). Кривые выживаемости достоверно различались в обоих повторностях эксперимента как у самцов, так и у самок ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 4–5). У особей с гипоморфным генотипом (линия *FOXO*²¹/*FOXO*²⁵) в двух повторностях эксперимента различия в ПЖ в темноте и на свету наблюдались в меньшей степени по сравнению с родительскими линиями и линией дикого типа (табл. 3). Кривые выживаемости достоверно различались лишь у самцов в одном из вариантов экспериментов ($p < 0,001$ по критерию Колмогорова—Смирнова) (рис. 4–5Г). У самок в обеих повторностях и у самцов в одной из экспериментальных повторностей кривые выживаемости на свету и в темноте практически совпадают.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существует два относительно независимых генетических механизма изменения продолжительности жизни при разных условиях освещения. Согласно главенствующей точке зрения (рис. 1, слева), увеличение длины светового дня может приводить к более высокому уровню метаболизма вследствие интенсификации двигательной активности и изменения температуры тела дрозофил, что сопровождается дополнительным образованием токсичных побочных продуктов — свободных радикалов (Sheeba et al., 2002). Для проверки данного предположения мы исследовали линии с мутациями в генах *dSir2* и *Hsp70*, участвующих в борьбе с последствиями окислительного стресса. Ожидалось, что у исследуемых линий произойдет увеличение различия ПЖ в темноте и на свету по сравнению с аналогичной разницей у линии дикого типа.

Согласно нашим результатам, у линии, несущей в гомозиготе делецию гена *dSir2*, разница МеПЖ в темноте и на свету была более значительна — 24–33 %, чем у гетерозиготной линии *Sir2/+* (0–12 %) и контрольной линии ω^{1118} (3–17 %). Таким образом, делеция гена *dSir2*,

регулирующего устранение окислительных повреждений (Balaban, Nemoto, Finkel, 2005), обеспечивает более значимое снижение ПЖ на свету, чем это ожидается, основываясь на эффектах у линии дикого типа или мутантов-гетерозигот. Стоит отметить, что мутация в гене *dSir2* в нашем эксперименте привела к значительному снижению ПЖ по сравнению с линией дикого типа, что согласуется с литературными данными. Гены сиртуинов играют ключевую роль в регуляции скорости старения и долголетия. В частности, повсеместное подавление экспрессии *dSir2* и двух *dSir2*-подобных генов (*CG5085* и *CG6284*) методом интерференции РНК в нейронах дрозофил снижает ПЖ, а увеличение активности сиртуинов у дрожжей, червей или мух значительно продлевает ПЖ (Kusama et al., 2006; Li et al., 2008; Niedernhofer et al., 2008; Russell, Kahn, 2007).

Существенное снижение МеПЖ на свету происходит и у линий с мутациями в генах семейства *Hsp70*. Если в контроле (у линии дикого типа *Canton-S*) в данном варианте эксперимента время 90 %-й гибели особей при содержании в условиях затемнения возросло на 4–10 %, у линий с различными делециями *Hsp70* время 90 %-й гибели в темноте увеличилось на 7–29 % в зависимости от пола и линии. Белки семейства *Hsp70* отличаются консервативностью последовательности в эволюционном ряду от *Escherichia coli* до человека. В клетке *Hsp70* выполняют функцию молекулярных шаперонов, защищая белки от неправильной укладки третичной структуры, денатурации и агрегации. Они предотвращают нарушение нормальных клеточных процессов — митоза, мейоза или защищают клетки от повреждения внешними стрессами (Hunt et al., 2004). Стресс-индуцибельный *Hsp70B* стимулирует эксцизионную репарацию оснований (активность урацилгликозилазы). Воздействие малыми интерферирующими РНК, ингибирующими синтез *Hsp70*, напротив, снижает репарацию. Аналогично меняется и выживаемость клеток (Bases, 2006). Согласно литературным данным, сверхэкспрессия генов *Hsp27*, *Hsp70*, или *Hsp90* предотвращает апоптоз, вызванный различными стимулами, включая окислительный стресс, в то время как ингибирование этих белков делает клетку чувствительной к апоптозу (Lanneau et al., 2007). Сверхэкспрессия *Hsp90* и *Hsp70* у дрозофилы приводит к увеличению ПЖ. Сверхэкспрессия митохондриального *Hsp22* увеличивает ПЖ и устойчивость к окислительному стрессу у *D. melanogaster* (Guo et al., 2007; Soti, Csermely, 2007). Таким образом, белки теплового шока играют важную роль в ответе на окислительный стресс и в детерминации ПЖ у животных. Об этом свидетельствуют и наши данные: особи с мутациями в генах семейства *Hsp70* имеют значительно меньшую ПЖ по сравнению с линией дикого типа.

В предыдущих наших работах (Москалев и др., 2006; Москалев и др., 2008; Москалев, Малышева, 2009) было установлено, что линии с мутациями в дру-

гих генах, участвующих в устранении внутриклеточных повреждений, в частности гена *Sod*, отвечающего за детоксификацию свободных радикалов и *mus210*, вовлеченного в репарацию ДНК, характеризуются более выраженной разницей между продолжительностью жизни в темноте и на свету по сравнению с диким типом. Таким образом, предыдущие и представленные в настоящей работе результаты подтверждают предположение, согласно которому снижение ПЖ при содержании на свету связано с дополнительной выработкой свободных радикалов.

Второй возможный механизм влияния светового режима на выживаемость (рис. 1, справа) может быть связан с индукцией стресс-ответа при ухудшении условий жизни, поскольку укорочение длины светового дня в естественных условиях обитания сигнализирует о необходимости физиологической перестройки с целью подготовиться к переживанию зимних условий, либо к длительной миграции. Например, бабочка-монарх *Danus plexipus* в ответ на осеннее укорочение длины светового дня вступает в состояние репродуктивной диапаузы (Tatar, 2004). В таком состоянии взрослые особи выживают 5–6 месяцев. Напротив, не находящиеся в диапаузе взрослые особи летней популяции живут менее 6 недель. Значительной продолжительности жизни диапаузных бабочек-данаид способствуют физиологическое состояние замедленного старения, регулируемого нейроэндокринно. Установлено, что хирургическое удаление *corpis allata*, нейроэндокринной ткани, вырабатывающей ювенильный гормон, снижает темп смертности этих бабочек и увеличивает их продолжительность жизни (Tatar, 2004). Взрослые особи, обработанные ювенильным гормоном, напротив, характеризуются возросшей смертностью (Tatar, 2004). У диких видов рода *Drosophila*, например у *Drosophila triauraria* из Северной Японии и *Drosophila littoralis* из Финляндии, короткая фотофаза индуцирует взрослую репродуктивную диапаузу, наподобие той, что встречается у бабочек-данаид (Tatar, 2004). Приведенные выше примеры подтверждают тот факт, что ПЖ находится в прямой зависимости от стрессоустойчивости. Предполагается, что в ответ на разные виды стрессоров у животных подавляется активность инсулин/IGF-1 сигнального пути и снижается синтез вторичных гормонов (например, ювенильного гормона у насекомых). Такого рода изменения сопровождаются разблокировкой активности транскрипционного фактора FOXO, контролирующего работу эффекторных генов клеточной защиты (Huang, Tindall, 2006). FOXO опосредует ответ на окислительный и другие виды стресса, что зачастую связано с увеличением ПЖ (Giannakou, Partridge, 2004; Vogt et al., 2005; Lam et al., 2006). В зависимости от интенсивности неблагоприятного воздействия происходят пострепликационная модификация и связывание FOXO со специфическими белками мишенями, что определяет изменение

экспрессии генов-мишеней и дифференциальную реакцию клетки: слабый стресс приводит к интенсификации метаболизма, умеренный — запускает процессы восстановления, сильный — индуцирует апоптоз (Boudewijn et al., 2003; Kramer, 2003; Lee et al., 2003; Lam et al., 2006; Saunders, Verdin, 2009; Vogt et al., 2005). Сверхэкспрессия гена FOXO у особей *C. elegans* и в клетках млекопитающих приводила к повышению активности супероксиддисмутазы и резистентности к окислительному стрессу (Coffer, 2003; Liu et al., 2005; Lam et al., 2006). Постоянная сверхэкспрессия dFOXO в жировом теле взрослых особей дрозофил снижает темп смертности, увеличивает устойчивость к индуктору свободных радикалов — параквату и увеличивает ПЖ мух (Giannakou et al., 2007). Таким образом, FOXO играет важную роль в поддержании баланса между процессами роста и размножения, с одной стороны, и стрессоустойчивостью и долгожительством — с другой (Calnan, Brunet, 2008).

Мы предположили, что ключевая роль в увеличении ПЖ в темноте принадлежит FOXO. Вероятно, укорочение длины светового дня подавляет выработку нейросекреторными клетками инсулина, что сопровождается активацией FOXO и его генов-мишеней, повышающих уровень защиты клеток от спонтанных повреждений. В нашем эксперименте особи, гетерозиготные по гипоморфным аллелям гена FOXO, а также особи линии дикого типа отличались существенным изменением продолжительности жизни при разных условиях освещения, однако у особей-гомозигот с гипоморфным генотипом (линия *FOXO²¹/FOXO²⁵*) в двух повторностях эксперимента различия ПЖ в темноте и на свету были незначительными — кривые выживаемости достоверно различались лишь в одном из вариантов экспериментов у самцов. По-видимому, минимальные различия сохранялись по той причине, что индукция FOXO-зависимых механизмов стрессоустойчивости может осуществляться не только в ответ на подавление выработки инсулиноподобных пептидов в темноте, но и в ответ на окислительный стресс при освещении, что усугубило эффект снижения ПЖ при освещении.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные говорят о существовании двух относительно независимых путей регуляции ответа на изменение режимов освещения (рис. 1). С одной стороны, увеличение длины светового дня через более активную выработку свободных радикалов оказывает повреждающее действие и снижает ПЖ дрозофилы. Действительно, у линии с делецией по гену *dSir2* разница в ПЖ в темноте и на свету значительно увеличивается по сравнению с контрольными линиями, а у линий с мутациями в генах белков теплового шока наблюдается выраженная тенденция к снижению ПЖ на свету. С другой стороны, снижение длины светового дня, не приводя к повреждающим эффектам, стимулирует стресс-ответ и увеличивает ПЖ. В то время как у линии дикого типа

и мутантов-гетерозигот по транскрипционному фактору *FOXO* сохранялась значительная разница в ПЖ при содержании в темноте и на свету, у мутантов-гомозигот ПЖ в темноте и на свету в трех случаях из четырех изменялась незначительно.

Исследования поддержаны грантом РФФИ (08-04-00456-а), грантом Президиума РАН, молодежным научным грантом УрО РАН на 2009–2010 гг.

Литература

1. Анисимов В. Н., 2008. Молекулярные и физиологические механизмы старения. Т.2. СПб.: Наука. 434 с.
2. Анисимов В. Н., 2000. Фундаментальные исследования в геронтологии: основные направления и перспективы // Генетика. Т.36. №8. С. 1013–1016.
3. Анисимов В. Н., Соловьев М. В., 1999. Эволюция концепций в геронтологии. СПб.: Эскулап. 130 С.
4. Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А., Семенченко А. В., Анисимов В. Н., 2007. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самок крыс // Успехи геронтологии. Т.20. №4. С. 40–47.
5. Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А., Семенченко А. В., Анисимов В. Н., 2008. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс // Вопросы онкологии. Т.54. №1. С. 70–77.
6. Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С., 1986. Биология продолжительности жизни. Количественные аспекты. М.: Наука, 169 С.
7. Ермаков С.П., Гаврилов Н. С., 1987. Первичная статистическая обработка данных по выживаемости организмов // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Общие проблемы биологии. Т.6. С. 230–276.
8. Крутько В. Н., Славин М. Б., Смирнова Т.М., 2002. Математические основания геронтологии. М.: Редакционный УРСС. 384 С.
9. Лакин Г. Ф., 1990. Биометрия. М.: Высш. шк. 352 С.
10. Москалев А. А., 2004. Радиационно-индуцированное изменение продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*. Сыктывкар. 104 С.
11. Москалев А. А., 2008. Старение и гены. СПб.: Наука. 358 С.
12. Москалев А. А., Кременцова А. В., Мальшева О. А., 2008. Влияние мелатонина на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* при различных режимах освещения Экологическая генетика // Т.6. №3. С. 22–30.
13. Москалев А. А. Мальшева О. А., 2009. Роль светового режима в регуляции продолжительности жизни // Экология. №3. С. 221–226.
14. Москалев А. А., Шосталь О. А., Зайнуллин В. Г., 2006. Генетические аспекты влияния различных режимов освещения на продолжительность жизни дрозофилы // Успехи геронтол. Вып. 18. С. 55–58.
15. Панасенко О. О., Ким М. В., Гусев Н. Б., 2003. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биологической химии. Т.43. С. 59–98.
16. Турьшева Е. В., Шапошников М. В., Москалев А. А., 2008. Адаптивный ответ по продолжительности жизни у линий *Drosophila melanogaster* с мутациями генов фактора теплового шока и белков теплового шока // Радиационная биология. Радиоэкология. Т.48. №5. С. 580–587.
17. Anisimov V. N., Baturin D. A., Popovich I. G. et al., 2004. Effect of exposure to light-at-night on life span and spontaneous carcinogenesis in female CBA mice // Int. J. Cancer. Vol. 111. P.475–479.
18. Antoch M. P., Gorbacheva V. Y., Vykhovanets O. et al., 2008. Disruption of the circadian clock due to the Clock mutation has discrete effects on aging and carcinogenesis // Cell Cycle. Vol. 7. №9. P.1197–1204.
19. Arya R., Mallik M., Lakhota S. C., 2007. Heat shock genes — integrating cell survival and death // J. Biosci. Vol. 32. P. 595–610.
20. Ashburner M., 1989. *Drosophila*: A laboratory handbook. Cold Spr. Harb. Lab. Press, 1331 P.
21. Balaban R. S., Nemoto S., Finkel T., 2005. Mitochondria, oxidants and aging // Cell. Vol. 120. P.483–495.
22. Berdichevsky A., Viswanathan M., Horvitz H. R., Guarante L., 2006. *C. elegans* SIR-2. 1 interacts with 14-3-3 proteins to activate DAF-16 and extend life span // Cell. Vol. 125. P. 1165–1177.
23. Boudewijn M. T., Medema B. R. H., 2003. Decisions on life and death: FOXO Forkhead transcription factors are in command when PKB/Akt is off duty // Journal of Leukocyte Biology. N. 73. P.689–701.
24. Calnan D. R., Brunet A., 2008 // Oncogene. Vol. 27. N 16. P.2276–2288.
25. Coffey P., 2003. OutFOXing the grim reaper: Novel mechanisms regulating longevity by Forkhead transcription factors // Sci. STKE. P.39.
26. Cheng C.-L., Gao T. -Q., Wang Z., Li D.-D., 2005. Role of insulin/insulin-like growth factor 1 signaling pathway in longevity // World J. Gastroenterol. Vol. 11. N 13. P. 1891–1895.
27. Fabrizio P., Gattazzo C., Battistella L. et al., 2005. Sir2 blocks extreme life-span extension // Cell. Vol. 123. P. 655–667.
28. Giannakou M. E., Partridge L., 2004. The interaction between FOXO and SIRT1: tipping the balance towards survival // Trends in Cell Biology. Vol. 14. N 8. P.408–412.
29. Giannakou M. E., Jacobson G. M. et al., 2007. Dynamics of the action of *dFOXO* on adult mortality in *Drosophila* // Aging Cell. Vol. 6. N 4. P.429–438.

30. *Guarente L., Kenyon C.*, 2000. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms // *Nature*. Vol. 409. P. 255–262.
31. *Guo S., Wharton W., Moseley P., Shi H.*, 2007. Heat shock protein 70 regulates cellular redox status by modulating glutathione-related enzyme activities // *Cell Stress and Chaperones*. Vol. 12. N. 3. P. 245–254.
32. *Hardeland R., Coto-Montes A., Poeggeler B.*, 2003. Circadian rhythms, oxidative stress and antioxidative defense mechanisms // *Chronobiol. Int.* Vol. 20. P. 921–962.
33. *Harman D.*, 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry // *J. Gerontol.* Vol. 11. N. 3. P. 298–300.
34. *Helfand S. L., Rogina B.*, 2003. Genetics of aging in the fruit fly *Drosophila melanogaster* // *Annu. Rev. Genet.* N. 37. P. 329–348.
35. *Huang C., Tindall D. J.*, 2006. FOXO factors: a matter of life and death // *Future Oncol.* Vol. 2. N. 1. P. 83–89.
36. *Huang C., Xiong C., Kornfeld K.*, 2004. Measurement of age-related changes of physiological processes that predict lifespan of *Caenorhabditis elegans* // *proc. Nat. Acad. Sci. USA*. Vol. 101. N. 21. P. 8084–8089.
37. *Hunt C. R., Dix D. J., Sharma G. G., Pandita R. K et al.*, 2004. Genomic Instability and Enhanced Radiosensitivity in Hsp70. 1- and Hsp70. 3-Deficient Mice. // *Molecular and cellular biology*. Vol. 24. N. 2. P. 899–911.
38. *Junger M. A., Rintelen F., Stocker H. et al.*, 2003. The *Drosophila* Forkhead transcription factor FOXO mediates the reduction in cell number associated with reduced insulin signaling // *J. Biol.* Vol. 2. N. 3. P. 20.
39. *Kimura K., Tanaka N., Nakamura N., Takano S., Ohkuma S.*, 2006. Knock-down of mitochondrial heat shock protein 70 promotes progeria-like phenotypes in *C. elegans* // *J. Biol. Chem.* Vol. 282. N. 8. P. 5910–5918.
40. *Kondratov R. V.*, 2007. A role of the circadian system and circadian proteins in aging // *Aging Res. Rev.* Vol. 6. N. 1. P. 12–27.
41. *Kramer J. M., Davidge J. T., Staveley L., Staveley B. E.*, 2003. Expression of *Drosophila* FOXO regulates growth and can phenocopy starvation // *BMC Developmental Biology*. Vol. 3. N. 5. P. 1–14.
42. *Kusama S., Ueda R., Suda T., Nishihara S., Matsuu- ra E.*, 2006. Involvement of *Drosophila* Sir2-like genes in the regulation of life span // *Genes Genet Syst.* Vol. 81. N. 5. P. 341–348.
43. *Lam E. W. -F., Francis R. E., Petkovic M.*, 2006. FOXO transcription factors: key regulators of cell fate // *Biochem. J Soc. Transact.* Vol. 34. N. 5. P. 722–726.
44. *Landis G. N., Abdueva D., Skvortsov D. et al.*, 2004. Similar gene expression patterns characterize aging and oxidative stress in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 101. N. 20. P. 7663–7668.
45. *Lanneau D., Thonel A., Maurel S., Didelot C., Garrido C.*, 2007. Apoptosis Versus Cell Differentiation Role of Heat Shock Proteins HSP90, HSP70 and HSP27 // *Landes Bioscience*. P. 53–60.
46. *Lee S. S., Kennedy S., Tolonen A. C., Ruvkun G.*, 2003. DAF-16 Target Genes That Control *C. elegans* Life-Span and Metabolism // *Science*. Vol. 300. N. 644. P. 644–647.
47. *Li J. E. A., Dong Y. R. G., Iwata T., Lee S. S.*, 2008. *Caenorhabditis elegans* HCF-1 functions in longevity maintenance as a DAF-16 regulator // *PLoS Biol.* Vol. 6. N. 9. P. 1870–1886
48. *Liu J.-W., Chandra D., Rudd M. D. et al.*, 2005. Induction of prosurvival molecules by apoptotic stimuli: involvement of FOXO3a and ROS // *Oncogene*. Vol. 24. P. 2020–2031.
49. *Majercak J. M.*, 2002. The effects of light and temperature on the *Drosophila* circadian clock // *Dissertation Abstracts International*. Vol. 62. N. 1. P. 98.
50. *Massie H. R., Aiello V. R., Williams T. R.*, 1993. Influence of photosensitizers and light on the life span of *Drosophila* // *Mech. Ageing Dev.* Vol. 68, N. 1–3. P. 175–182.
51. *Massie H. R., Whitney S. J.*, 1991. Preliminary evidence for photochemical ageing in *Drosophila* // *Mech. Ageing Dev.* Vol. 58. N. 1. P. 37–48.
52. *Morrow G., Samson M., Michaud S., Tanguay R. M.*, 2004. Overexpression of the small mitochondrial Hsp22 extends *Drosophila* life span and increases resistance to oxidative stress // *FASEB J.* Vol. 18. N. 3. P. 598–599.
53. *Moskalev A.*, 2007. Radiation-induced life span alteration of *drosophila* lines with genotype differences // *Biogerontology*. Vol. 8. N. 5. P. 499–504.
54. *Moskalev A., Shaposhnikov M., Turysheva E.*, 2008. Life span alteration after irradiation in *Drosophila melanogaster* strains with mutations of Hsf and Hsps // *Biogerontology*. Vol. 10. N. 1. P. 3–11.
55. *Niedernhofer L. J., Robbins P. D.*, 2008. Signaling mechanisms involved in the response to genotoxic stress and regulating lifespan // *Biochem Cell Biol.* Vol. 40. N. 2. P. 176–180.
56. *Partridge L., Gems D., Withers D. J.*, 2005. Sex and Death: What Is the Connection? // *Cell*. Vol. 120. P. 461–472.
57. *Pletcher S. D.*, 1999. Model fitting and hypothesis testing for age specific mortality data // *Journal of Evolutionary Biology*. N. 12. P. 430–439.
58. *Rogina B., Helfand S. L.*, 2004. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction // *PNAS*. Vol. 101. N. 45. P. 15998–16003.
59. *Russell S. J., Kahn C. R.*, 2007. Endocrine regulation of ageing // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* Vol. 8. N. 9. P. 681–691.
60. *Sasaki S., Fukuda N.*, 2006. Dose-response relationship for life-shortening and carcinogenesis I mice irradiated at day 7 postnatal age with dose range be-

- low 1 Gy of gamma rays // *J. Radiat. Res.* Vol. 47. P. 135–145.
61. *Saunders L. R., Verdin E.*, 2009. Cell biology. Stress response and aging // *Science*. Vol. 323. N 5917. P. 1021–1022.
62. *Sheeba V., Sharma V. K., Shubha K., Chandrashekar M. K., Joshi A.*, 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output // *J. Biol. Rhythms*. Vol. 15. N5. P. 380–392.
63. *Sheeba V., Chandrashekar M. K., Joshi A., Sharma V. K.*, 2002. Developmental plasticity of the locomotor activity rhythm of *Drosophila melanogaster* // *J. Insect Physiol.* Vol. 48. N 1. P. 25–32.
64. *Soti C., Csermely P.*, 2007. Protein stress and stress proteins: implications in aging and disease // *J. Biosci.* N. 32. P. 511–515.
65. *Tanno M., Sakamoto J., Miura T., Shimamoto K., Horio Y.*, 2007. Nucleocytoplasmic Shuttling of the NAD-dependent Histone Deacetylase SIRT1 // *J. Biol. Chem.* Vol. 282. N 9. P. 6823–6832.
66. *Tatar M.*, 2004. The neuroendocrine regulation of *Drosophila* aging // *Experimental Gerontology*. N 39. P. 1745–1750.
67. *Vogt P. K., Jiang H., Aoki M.*, 2005. Triple layer control: Phosphorylation, acetylation and ubiquitination of FOXO proteins // *Cell Cycle*. Vol. 4. N 7. P. 908–913.
68. *Vinogradova I. A., Anisimov V. N., Bukalev A. V. et al.*, 2009. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats // *Aging*. Vol. 1. N. 10. P. 855–865.
69. *Wang C., Li Q., Redden D. T. et al.*, 2004. Statistical methods for testing effects on "maximum lifespan" // *Mech. Ageing Dev.* Vol. 125. № 9. P. 629–632.
70. *Xiangzhong Z., Yang Z., Yue Z. et al.*, 2007. FOXO and insulin signaling regulate sensitivity of the circadian clock to oxidative stress // *PNAS*. Vol. 104. N. 40. P. 15899–15904.

THE ROLE OF TRANSCRIPTION FACTORS *DFOXO*, *DSIR2* AND *HSP70* IN LIFESPAN ALTERATION OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* IN DIFFERENT LIGHT CONDITIONS

Moskalev A. A., Malysheva O. A.

✿ **SUMMARY:** It was investigated the role of stress-response genes (*dFOXO*, *dSir2*, *Hsp70*) in regulation of life span of *Drosophila* in response to light regime alteration. It was revealed the FOXO-dependant mechanism of lifespan increasing at darkness conditions. The distance of lifespan of FOXO homozygous mutants at different light conditions were absent 3 times from 4 times. It was shown, that homozygotes with deletion of *dSir2* have more significant difference between lifespan at standard light and darkness conditions with comparing to wild type and heterozygous strain. The same tendency was also detected in the strains with *Hsp70* deletions. It was produced the evidences of two mechanisms of light regime influence on lifespan: metabolism intensification at light conditions and neuroendocrine-determined lifespan increasing at darkness conditions.

✿ **KEY WORDS:** life span; *Drosophila melanogaster*; light regime; FOXO; sirtuins; Hsp.

✿ Информация об авторах

Москалев Алексей Александрович — д. б. н.
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
167982 г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28
E-mail: amoskalev@list.ru.

Малышева Ольга Андреевна —
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
167982 г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28
E-mail: directorat@ib.komisc.ru.

Moskalev Alexey Alexandrovich — doctor of biological science.
Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian
Academy of Science. Kommunisticheskaya, 28, Syktyvkar, 167982,
Russia. E-mail: amoskalev@list.ru.

Malysheva Olga Andreevna —
Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian
Academy of Science. Kommunisticheskaya, 28, Syktyvkar, 167982,
Russia. E-mail: directorat@ib.komisc.ru.