

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУКИ

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П.ПАВЛОВА РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК

Научный доклад по результатам проведенного научного исследования на тему

«РОЛЬ ГЕНА *limk1* В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ  
СТРУКТУРЫ ЯДРА ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ У  
*Drosophila melanogaster*»

Аспирант Васильева Светлана Александровна

Научный отдел физиологии и патологии высшей нервной деятельности

Лаборатория нейрогенетики

Направление 06.06.01 Биологические науки

Профиль 03.02.07 Генетика

Санкт-Петербург

2020

## Общая характеристика научно-квалификационной работы

### **Актуальность и степень разработанности темы исследования**

Актуальной проблемой современной нейрофизиологии и медицины является изучение предпосылок возникновения социально-значимых болезней, в том числе нейродегенеративных заболеваний (НДЗ) и геномных болезней, зачастую возникающих спорадически в результате протяженных делеций и дупликаций, при неравной рекомбинации в районах хромосом со специфической архитектурой.

Необходимым условием функционирования нервной системы является поддержание стабильности генома. Многочисленные разрывы ДНК сопровождают интенсивную репликацию ДНК при нейрогенезе. Геном дифференцированных неделяющихся нейронов, возраст которых равен возрасту организма, также уязвим в процессе транскрипции и подвержен повреждающему действию свободных радикалов – продуктов окислительного метаболизма. Одноцепочные и двухцепочные разрывы ДНК репарируются с привлечением белков клеточного цикла при гомологичной рекомбинации или при негомологичном слиянии свободных концов, что имеет различные последствия для организма, в том числе развитие болезней старения. Однако в последнее время появляются сведения о двухцепочных разрывах как показателе физиологической активности нейронов. Предполагается, что разрывы ДНК являются необходимым этапом ремоделирования хроматина и экспрессии генов, вовлеченных в процессы формирования памяти и обучения. Поскольку разрывы ДНК характеризуют как норму, так и патологию, то познание механизмов их формирования и роли в функционировании нейронов позволит направить эти процессы в русло физиологической нормы.

Пластичность генома обеспечивается архитектурой конкретных локусов ядра и локализацией транскрипционного аппарата. При этом приоритетным является организация хроматина. Конформационная

организация пространства ядра, хромосом, генов является фактором лабильности, определяющим процессы детерминации, дифференцировки и адаптации, в том числе высшей формы — обучения и памяти. Считается, что 3D архитектура хроматина имеет решающее значение в интеллектуальных и нейропсихиатрических заболеваниях. Таким образом, эпигенетическая составляющая является пока недооцененным источником психомоторных расстройств и нейронного разнообразия. В связи с этим особое значение приобретает изучение роли генетических и эпигенетических факторов в формировании пространственной структуры ядра.

Удобной моделью для сопряжения организации генетического аппарата и физиологических последствий являются мутации с известным биохимическим проявлением, в частности, по гену *limk1 – agnostic*. LIMK1 – ключевой фермент ремоделирования актина - за счет наличия двух LIM-доменов и PDZ-домена, обеспечивающих белок-белковое взаимодействие, участвует в клеточной сигнализации и узнает белки семейств рецепторов и ионных каналов. LIMK1 контролирует баланс между мономерным и полимерным актином, что определяет его функции в цитоплазме и ядре. Актин непосредственно взаимодействует с комплексами ремоделирования хромосом, транскрипционными факторами и РНК-полимеразами, регулируя транскрипционный выход клетки. Велико значение актина и в активации «молчавших» генов при транскрипционном репрограммировании. Переключение актина с мономерного на полимерное состояние регулирует активность гистондеацетилазы 1 и 2.

Взрослые муhi *agn<sup>ts3</sup>* демонстрируют три диагностических признака НДЗ: дефекты памяти, локомоторные нарушения и наличие амилоидо-подобных включений при нормальной температуре. Стессорное воздействие (12-ти часовая экспозиция в условиях слабого статического магнитного поля (ССМП)) нивелирует мутантное проявление.

Согласно нашим данным, специфичная структура ДНК в локусе *agn<sup>ts3</sup>* обусловлена наличием вставки 28 п.н. в 1 инtronе, а также наличием S-элемента на расстоянии 460 п.н. от 3'UTR. Также мутация *agn<sup>ts3</sup>* приводит к: 1) увеличению уровня LIMK1 и р-кофилина в мозге взрослых мух или в слюнных железах личинок 3 стадии при 22<sup>0</sup> -25<sup>0</sup>C и к падению до уровня дикого типа при 29<sup>0</sup> - 37<sup>0</sup>C; 2) высокому уровню температурозависимой рекомбинации в районе локализации гена, 3) трехкратному увеличению частоты формирования негомологичных контактов в 2L плече хромосомы 2 и в районе локализации гена 11AB X-хромосомы. Мутация *agn<sup>ts3</sup>* не только изменяет активность соответствующего гена, но также структуру хроматина и, как показано в наших исследованиях, профиль экспрессии miRNAs. Существование сети взаимодействий miR-хроматин свидетельствует о вовлечении трехмерной организации хроматина в регуляцию транскрипции miRNAs.

Показано, что характерная для мутанта организация ядра закладывается на ранних этапах эмбриогенеза, совпадающих с формированием гетерохроматиновых районов хромосом, также выявлен материнский эффект наследования изучаемого признака.

Влияние родительского происхождения аллелей (parent-of-origin effects POE) на фенотип потомства рассматривается в качестве существенного фактора предрасположенности к психиатрическим заболеваниям. При синдроме Уильямса, обусловленного 1.5MB делецией, включающей от 24 до 28 генов, в том числе и гены *limk1* и GTF2I (GeneraltranscriptionfactorII-I), в хромосоме 7q11.23 человека, показано, что отклонения в развитии и микроцефалия сильнее выражены в случае передачи делецииированной хромосомы от матери. Более того, при отцовском происхождении аллели гена GTF2I снижается его экспрессия, что влияет на активность и ряда других генов, входящих в состав делеции. Продукт гена GTF2I необходим

для развития мозга человека и регулирует транскрипцию, непосредственно связываясь с ДНК и гистоновой деацетилазой (HDAC).

На модели синдрома Уильямса дрозофилы, несущей мутацию *agn<sup>ts3</sup>* гена для LIMK1 (ключевой фермент ремоделирования актина) с использованием реципрокных гибридов с линиями дикого типа *Canton-S* и *Berlin*, был изучен вклад материнского и отцовского геномов в процессы обучения и памяти, формирование перестроек хромосом у нейробластов, обусловленных ДЦР и нарушениями митотического аппарата в норме и при стрессорном воздействии слабым статическим магнитным полем (ССМП), а также исследованы параметры звукопродукции и для выяснения биохимических последствий стрессорного воздействия был использован иммунофлуоресцентный анализ распределения гистона Н3, монометилированного по лизину 9 в клетках слюнных желез личинок дрозофилы.

Среди факторов возникновения нейродегенеративных заболеваний большое значение имеют различные стрессорные воздействия. Одним из новых и малоизученных стрессорных факторов являются электрические и магнитные поля низкой интенсивности, которые способны оказывать заметное воздействие на живые организмы. Экранирование живых объектов от естественного геомагнитного поля оказывает пагубное, и пока непонятое воздействие на нервную систему.

Таким образом, исследование механизмов возникновения спорадических нейродегенеративных и геномных заболеваний, сопровождаемых нарушениями сигнального каскада ремоделирования актина, с привлечением животных моделей представляет существенный интерес для современной биологии и медицины.

## **Цели и задачи исследования**

Цель данного исследования – изучить роль гена *limk1* в ремоделировании пространственной структуры ядра при реализации поведенческих функций у *Drosophila melanogaster*.

Для достижения вышеуказанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить особенности формирования обучения и памяти у линий *Canton-S, Berlin, agn<sup>ts3</sup>* и у реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Canton-S, Berlin × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Berlin* в нормальных условиях и при стрессорном воздействии.
2. Проанализировать частоты хромосомных перестроек у линий *Canton-S, Berlin, agn<sup>ts3</sup>* и у реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Canton-S, Berlin × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Berlin* в нормальных условиях и при стрессорном воздействии.
3. Изучить модификации гистонов хромосом слюнных желез личинок линий *Canton-S, Berlin, agn<sup>ts3</sup>* и у реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Canton-S, Berlin × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> × Berlin* в нормальных условиях и при стрессорном воздействии.
4. Провести анализ параметров звукопродукции у линий *Canton-S, Berlin, agn<sup>ts3</sup>* и у реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / Canton-S, Berlin / agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / Berlin* в нормальных условиях и при стрессорном воздействии.

### **Научная новизна и практическая значимость результатов исследований**

В данной работе впервые на мутационной модели WBS дрозофилы был изучен вклад родительских аллелей в наследование способности к обучению и формирование памятного следа с использованием реципрокных гибридов *agn<sup>ts3</sup>* с линиями дикого типа, а также в регуляцию генома в норме и при воздействии ССМП.

Показано, что воздействие ослабленного (например, за счет экранирования) статического магнитного поля (МП) Земли оказывает пагубное влияние на поведенческие и внутриклеточные процессы у дрозофилы.

Функциональные различия нейронов обусловлены геномной гетерогенностью за счет двухцепочечных разрывов ДНК (ДЦР) и нарушений митоза. При обучении и формировании памяти происходят ДЦР как в норме, так и при нейропатологии. Изучение формирования ДЦР необходимо для разработки способов уменьшения риска геномных болезней. На модели синдрома Уильямса (мутация дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>* гена для LIMK1) изучен вклад материнского и отцовского геномов в обучение, память и формирование перестроек хромосом нервных ганглиев в норме и в слабом статическом магнитном поле (ССМП). В потомстве самцов *agn<sup>ts3</sup>* наблюдается патроклиновое наследование формирования памяти и ее зависимости от ССМП, частоты перестроек и ДЦР в норме, а также мостов в ССМП. В потомстве самок *agn<sup>ts3</sup>* по материнскому типу наследуются нарушения аппарата деления клетки.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Локус *limk1* является одним из факторов родительского эффекта формирования пространственной организации ядра. Нейропластичность когнитивных функций и возникновение нейропсихиатрических расстройств определяется архитектурой ядра.

2. Родительские аллели гена *agnostic* вносят вклад в наследование способности к обучению и формирование памятного следа, а также в регуляцию матричных процессов в норме и при воздействии слабым статическим магнитным полем (ССМП).

3. Ген LIMK1 играет важную роль в целостности генетического аппарата. От родительского происхождения аллелей гена *agnostic* зависит расхождение хромосом, а также формирование перестроек, обусловленных

двуихцепочечными разрывами (ДЦР) и нарушениями аппарата деления клетки в норме и при стрессорном воздействии ССМП.

## **Методология и методы исследования**

### **Предъявление стрессорного фактора (экранирование электромагнитного поля)**

Одними из самых плохо изученных с биологической точки зрения воздействий являются электромагнитные поля низкой интенсивности, которые могут оказывать заметное воздействие на живые организмы, в том числе и человека. Ранее считалось, что слабые электромагнитные поля безопасны для здоровья человека. Однако за последнее время накопилось много информации, которая показывает потенциальную опасность таких полей. Воздействие низкочастотного магнитного поля интенсивностью 300 нТл и более оказывает канцерогенный эффект на живые организмы. Известно, что слабое статическое магнитное поле (ССМП) оказывает влияние на работу многих систем организма. Были обнаружены эффекты ССМП на сердечнососудистую, эндокринную, иммунную и нервную системы. Особенно чувствительна к ССМП нервная система.

Для экранирования МП Земли была изготовлена цилиндрическая камера (Рисунок 1), покрытая экранирующим материалом АМАГ- 172. Конструкция съемной крышки цилиндра позволяет избежать появления «магнитных дыр» в экране. Коэффициент экранирования по постоянному МП равен 30. Все измерения МП были выполнены с помощью магнитометров Fluxmaster (StefanMayerInstruments, Dinslaken, Германия) (1нТл--200 мкТл с разрешением 1нТл) и НВ0302.1А (Санкт- Петербург, Россия) (0.1 мкТл--100 мкТл с разрешением 0.1 мкТл).

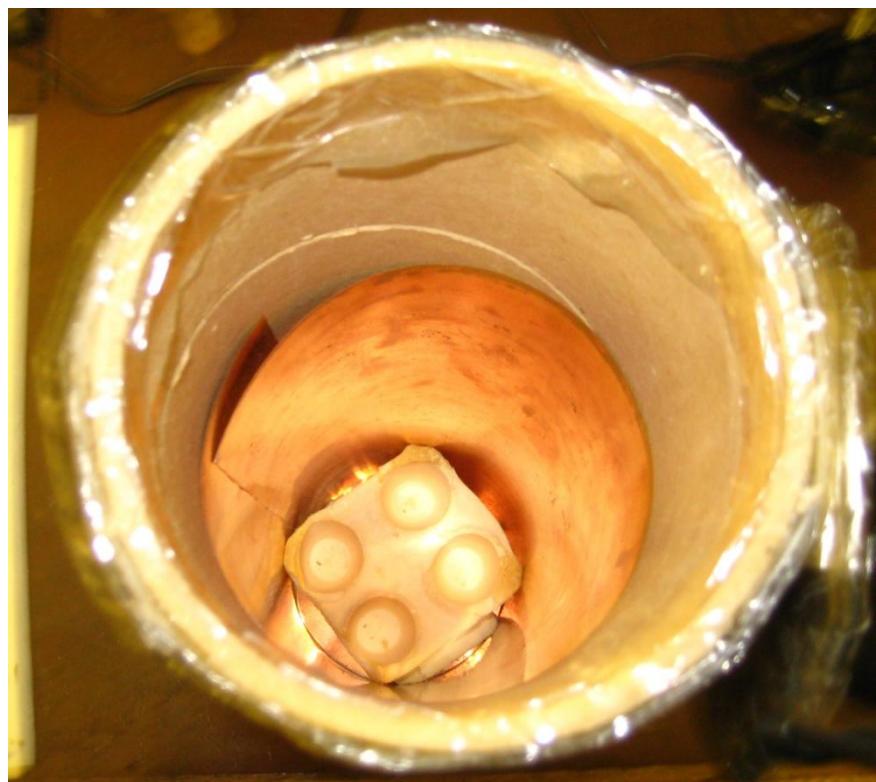


Рисунок 1 - Камера для экранирования магнитного поля Земли

Экранирование проводили в течение 12 ч, при этом нахождение объектов в экранирующей камере совпадало по времени с темновой фазой циркадного ритма мух. После воздействия ССМП мух оставляли в течение 1 ч при температуре 25°C и нормальном уровне МП Земли, а затем использовали в эксперименте.

Для изучения влияния ССМП на характер хромосомных перестроек экранирование проводили на стадии личинки 3-го возраста (Рисунок 2). Отбирали личинок 3 возраста по физиологическим критериям (активному перемещению по стенкам пробирок и по размерам). Чтобы оценить влияние стресс-фактора на способность к обучению и формированию среднесрочной памяти, воздействие проводили на имаго.

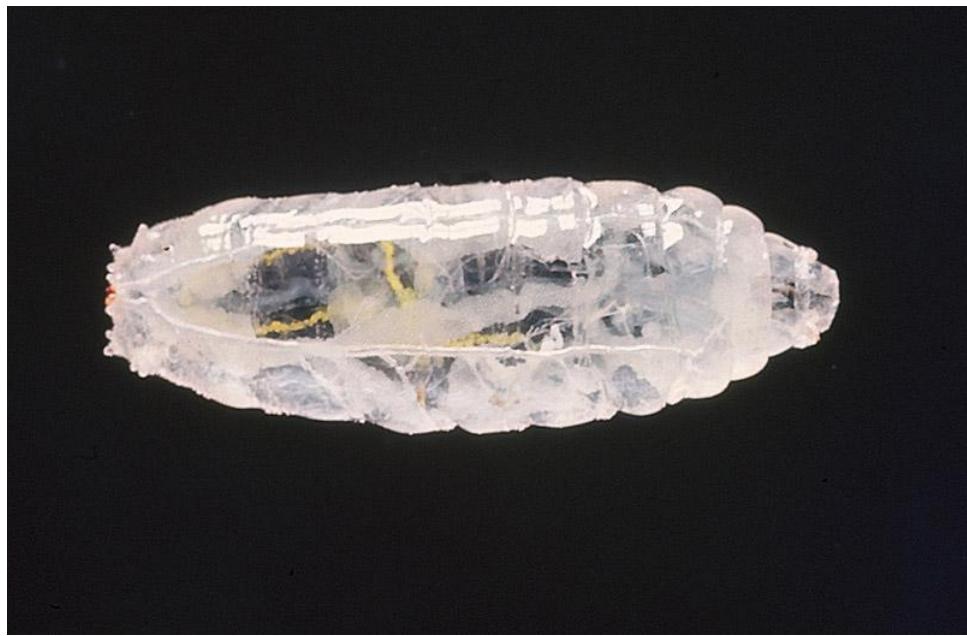


Рисунок 2 - Личинка 3 возраста *D. melanogaster*

Во всех вариантах эксперимента применяли интактный контроль (без воздействия).

#### **Анализ когнитивного поведения**

При анализе когнитивного поведения дрозофилы использовали два подхода: метод условно–рефлекторного подавления ухаживания и регистрация параметров звукопродукции при ухаживании.

#### Оценка способности к обучению и формированию среднесрочной памяти самцов.

В качестве модели для тестирования памяти использовали метод условно– рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). При ухаживании самца за оплодотворенной самкой сочетаются два безусловных стимула – аттрактивный (стимулирующий ухаживание феромон - афродизиак) и аверсивный (подавляющий ухаживание феромон - антиафродизиак). Антиафродизиаком обладают только оплодотворенные самки и высвобождают его в ответ на ухаживание самца. В результате сочетания аттрактивный стимул становится аверсивным условным стимулом, что снижает его аттрактивные свойства. Степень аттрактивности или аверсивности стимула определяется по таким реакциям животного, как

приближение к стимулу или удаление от него. Для поведенческих опытов вылупившихся насекомых без наркотизации сортировали по полу. Отбирали самцов исследуемых линий и содержали их индивидуально на изюмно-дрожжевой среде. В качестве объектов ухаживания для самцов всех анализируемых линий использовали оплодотворенных за сутки до опыта самок линии *CS* в возрасте пяти суток. Исследования проводили на взрослых мухах в возрасте 5 дней при температуре  $+25\pm0,5^{\circ}\text{C}$  в первой половине дня. Обучение и тестирование проводили в экспериментальных камерах из оргстекла (диаметр – 15 мм, высота – 5 мм). Была использована методика условно-рефлекторного подавления ухаживания. Для выработки УРПУ (тренировки) пятисуточного самца тестируемой линии, не имеющего опыта полового поведения, помещали в экспериментальную камеру вместе с оплодотворённой пятисуточной самкой *CS*. Память тестировали через разные интервалы времени. В качестве контроля использовали самцов, не имеющих опыта полового поведения. Этограмму поведения самца регистрировали в течение 300 с, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация и преследование, вибрация, лизание, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, не связанных с ухаживанием (активность (побежка), прининг, покой). Регистрацию начинали через 45 с после помещения муhi в камеру. В каждой группе (контрольной, сразу после тренировки и через определенные интервалы времени после тренировки) тестировали не менее 20 пар мух. Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор программ - Н.Г. Камышев). Для каждого самца вычисляли индекс ухаживания (ИУ), т.е. время ухаживания самца за самкой, выраженное в процентах от общего времени наблюдения. Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО) по следующей формуле:

$$\text{ИО} = [(\text{ИУн} - \text{ИУт}) / \text{ИУн}] \times 100\% = (1 - \text{ИУт} / \text{ИУн}) \times 100\%,$$

где ИУн и ИУт - средние индексы ухаживания для независимых

выборок самцов, не имеющих опыта полового поведения, и самцов, прошедших тренировку.

Методика условно-рефлекторного подавления ухаживания была использована для оценки способности к обучению и формированию среднесрочной памяти самцов дрозофилы. Для оценки способности к обучению и формированию среднесрочной памяти пятисуточного самца тестируемой линии, не имеющего опыта полового поведения, помещали в экспериментальную камеру вместе с оплодотворённой пятисуточной самкой *CS* и оставляли на 30 мин. Обучение и память тестировали сразу (0 мин) и через 3 часа (180 мин) после тренировки, используя новых оплодотворенных самок *CS* в возрасте 5 суток.

#### Регистрация параметров звукопродукции при ухаживании.

Для регистрации звуковых сигналов самца и оплодотворенную самку помещали в камеру из оргстекла диаметром 8 и высотой 4 мм. Одновременно регистрировали пение четырех пар мух. Четыре микрофона были установлены внутри бокса из пенопласта (25x25x30 см) с толщиной стенок 3,7 см, расположенного в звукоизолирующей камере. Для гашения вибрации бокс устанавливали на поролоновой подушке толщиной 2 см. Встроенные электронные фильтры позволяли ограничить частотную полосу записи канала в пределах 100 - 800 Гц, для исключения посторонних шумов. На уровне микрофона устанавливали датчик электронного термометра (Greisinger electronic GTH 175/MO, Германия). Продолжительность регистрации звуков составляла 300 с. Регистрацию звуковых сигналов проводили с помощью аналого-цифрового преобразователя и записывали как звуковые файлы с использованием программы Н.Г. Камышева (Рисунок 3). Анализ звуковых сигналов проводили с использованием программы Fly43, разработанной Н.Г. Камышевым и П.В. Озерским.

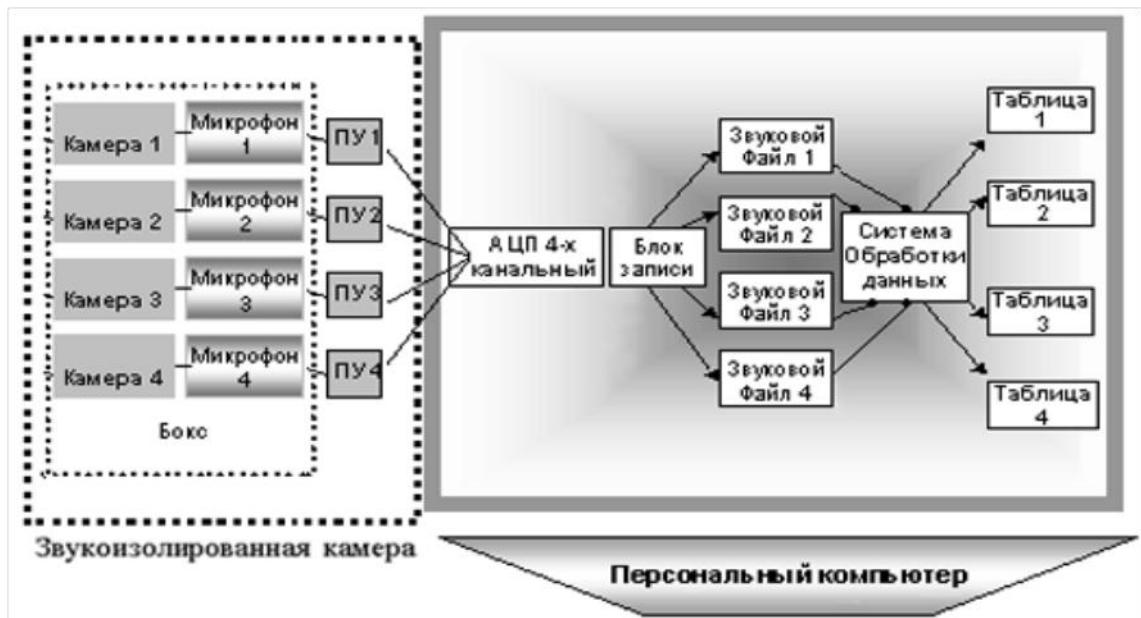


Рисунок 3 - Блок-схема биоакустической установки для регистрации звуковых сигналов, издаваемых самцами дрозофилы при ухаживании за самкой.

Проводили детальный анализ импульсной и синусоидальной песен самца при ухаживании по отдельным параметрам. В каждой линии тестировали не менее 20 пар мух. При анализе параметров импульсного сигнала в каждой пятиминутной записи последовательно измеряли все посылки и межимпульсные интервалы. Интервалы короче 80 мс рассматривали как межимпульсные, а интервалы более 80 мс – как межпосылочные. Оценивали дисперсию межимпульсного интервала, процент искаженных импульсов, среднюю длительность импульсных посылок. При оценке синусоидальной песни учитывали длительность синусоидальных отрезков, несущую частоту синусоидальной песни и суммарное число пульсов. В анализ брали синусоидальные отрезки по длительности не менее 100 мс.

### Иммуногистохимические методы

#### Анализ перестроек хромосом нервного ганглия личинок на стадии анафазы и телофазы митоза

Анализ хромосомных перестроек на стадии анафазы митоза у линий

*Canton-S, Berlin* и *agn<sup>ts3</sup>* и их реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup> × Canton-S.*; *Berlin × agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup> × Berlin* осуществляли с использованием давленых препаратов нервных ганглиев, окрашенных 4%-ным ацетоорсенином.

*Методика приготовления препаратов хромосом нервного ганглия личинок дрозофилы для анализа перестроек в анафазе и телофазе митоза*

1. Выделяли нервные ганглии в физиологическом растворе Эффруси – Бидла (на 1л дистиллированной воды 7,5 г NaCl, 0,35 г KCl, 0,21 г CaCl<sub>2</sub>).
2. Помещали несколько ганглиев в каплю 4 % ацетоорсена на предметное стекло и оставляли там для окрашивания на 20 минут.
3. Переносили ганглии в каплю 45 % уксусной кислоты на предметное стекло.
4. Накрывали каплю покровным стеклом и, придерживая стекло за уголок фильтровальной бумагой, растирали каждый ганглий круговым движением до монослоя затупленным концом деревянной палочки.
5. Заклеивали покровное стекло по контуру лаком.

*Приготовление ацетоорсена*

2-4 г орсена заливали 45 мл ледяной уксусной кислоты и нагревали до появления первых пузырьков на поверхности жидкости, снимали с плитки, помешивали и снова нагревали до пузырьков. Процедуру повторяли 15 раз. Добавляли 55 мл дистиллированной воды, нагревали до первых пузырьков, снимали, помешивали и снова нагревали. Процедуру повторяли 15 раз, охлаждали раствор, профильтровывали.

Для каждой особи вычисляли частоту таких перестроек — отношение числа анафаз с перестройками к общему числу анафазных клеток в нервном ганглии личинки. Кроме того, вычисляли профиль перестроек каждого типа — мостов, фрагментов и отстающих хромосом. Для этого рассчитывали отношение числа каждого из типов перестроек к общему числу aberrантных анафаз. Для обработки результатов вычислений применяли двухфакторный

рандомизационный анализ. На каждую экспериментальную точку было проанализировано от 20 до 30 особей.

Иммунофлуоресцентный анализ распределения гистона H<sub>3</sub>,  
монометилированного по лизину 9

Для выяснения биохимических последствий стрессорного воздействия был использован иммунофлуоресцентный анализ распределения гистона H<sub>3</sub>, монометилированного по лизину 9 в клетках слюнных желез личинок дрозофилы.

*Методика иммунофлюоресцентного окрашивания органов дрозофилы  
wholemount для работы на конфокальном микроскопе*

В работе использовали первичные антитела anti-histon-H3 monomethyl<sup>k9</sup> (ad 9045 Abcam); вторичные антитела donkeyantirabbit 565 (Atto).

1. Слюнные железы выделяли из самок личинок третьего возраста в фосфатном буфере (PBS).
2. Фиксировали в 4 % растворе параформальдегида на PBS 20 минут.
3. Отмывали фиксатор раствором PBS три раза по 1 минуте и три раза по 5 минут. Затем в растворе РВТ (0,2 % Tween 20 в PBS) три раза по 1 минуте и три раза по 5 минут.
4. Инкубировали в 10 % блокировочной сыворотке (donkeynormalserum), приготовленной на РВТ в течение 1 часа при комнатной температуре.
5. Инкубировали с первичным антителом (АТI, разведение 1:100) в 1 % блокировочной сыворотке, приготовленной на РВТ, в течение 12 часов при 4°.
6. Препараты вынимали из холодильника и прогревали до комнатной температуры 1 час.
7. Отмывали АТ I в растворе РВТ три раза по 1 минуте и четыре раза по 20 минут.

8. Инкубировали с вторичным антителом (АТII, 1:100) в 10 % блокировочной сыворотке, приготовленной на РВТ три часа в темноте при комнатной температуре.
9. Удаляли АТII и промывали РВТ три раза по 1 минуте и 4 раза по 10 минут. Отмывали в PBS три раза по 1 минуте и два раза по 15 минут.
- 10.Окрашивали ядра раствором DAPI (1 мкг/мл) в течение 40 минут.
- 11.Отмывали в PBS три раза по 1 минуте и два раза по 5 минут.
- 12.Заключали препараты в 50 %-ый раствор глицерина на фосфатном буфере.

### **Структура диссертации**

Диссертация имеет традиционную структуру: введение, затем следует основная часть, изложенная в четырех главах, каждая из которых соответствует логике исследования и последовательно описывает анализ литературных данных, методику выполнения поставленных задач, постановку экспериментов и их обсуждение.

Первая глава посвящена анализу литературных данных, связанных с исследованиями механизмов возникновения спорадических нейродегенеративных и геномных заболеваний, сопровождаемых нарушениями сигнального каскада ремоделирования актина, с привлечением животных моделей представляет существенный интерес для современной биологии и медицины; общей характеристикой; изучением стрессорного фактора ССМП (слабого статического магнитного поля).

Вторая глава описывает материал и методы исследования, необходимые для достижения цели исследования.

В третьей главе излагаются результаты исследования.

Четвертая глава посвящена обсуждению результатов исследования.

Диссертация заканчивается общим заключением, в котором подводятся итоги исследования, резюмируются полученные результаты, намечаются возможные пути продолжения работы и приводятся основные выводы. Далее

следует список использованной литературы, оформленный в соответствии с требованиями ГОСТ Р7.05-2008.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности исследования определяется адекватностью выбранных методов, достаточным объемом полученных экспериментальных данных, их статистической достоверностью и соответствием с имеющимся литературным данным. Выводы основаны на полученных результатах. Результаты согласуются с данными исследований других авторов, описанными в литературных источниках.

Результаты исследования прошли апробацию на 13 конференциях. Доклады были изложены в устной и стендовой форме.

1. Межвузовская конференция молодых ученых «Герценовские чтения» (2016 г.).
2. XVIII межвузовская студенческая научная конференция «Студент – Исследователь – Учитель» (2016 г.).
3. Герценовские чтения, посвященные вкладу В.В. Половцова в развитие методики обучения биологии и экологии (Санкт-Петербург, 19 апреля 2017 г.).
4. Всероссийская конференция «Дрозофила в генетике и медицине» (4-6 октября 2017 года Г. Гатчина).
5. Всероссийский симпозиум с международным участием «Стресс: физиологические эффекты, патологические последствия и способы их предотвращения» (Санкт-Петербург, Россия 10 – 13 октября 2017 г.).
6. XXIII Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, Россия 18 - 22 сентября 2017 г.).
7. XXIV Всероссийская конференция молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, 12-13 апреля 2018 г.).

8. XIV Международный междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии»(30 мая-10 июня 2018 г., Судак).
9. Всероссийская молодежная конференция с международным участием "Современные аспекты интегративной физиологии" (9-11 октября 2018 г. Санкт-Петербург).
10. VIII Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в медицине» (Санкт-Петербург, 10-14 сентября 2018 г.)
11. XVIII Всероссийский симпозиум с международным участием «Структура и функции клеточного ядра» (Санкт-Петербург, 16 – 18 октября 2018 г.).
12. VII Съезд ВОГиС. (Санкт-Петербург. 18 – 22 июня 2019 г.).
13. Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург. 24– 26 сентября 2019 г.).

Всего по теме диссертации опубликовано 33 печатных работ (полный перечень приведен в конце доклада), из них 2 в рецензируемых журналах.

Часть исследования была выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 63).

Участие в грантах и конкурсах:

1. Грант РФФИ «Влияние LIM-киназы 1, ключевого фермента каскада ремоделирования актина, на процессы активного забывания при сохранении памяти на модели дрозофилы» (№ 20-015-00300 А, 2020-2022);
2. Программа научных исследований президиума РАН П.42 «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

Подпрограмма "Фундаментальные исследования для технологий профилактики заболеваний, реабилитации человека и целевого повышения устойчивости к неблагоприятным факторам". Проект «Создание новых подходов для дононозологической диагностики дезадаптивных состояний, их профилактики и коррекции с использованием модельных объектов от беспозвоночных до приматов». (2018 — 2020);

3. Международный конкурс выпускных квалификационных работ 2018.

### **Основное содержание диссертации**

Диссертационная работа имеет титульный лист, содержание, введение, в котором раскрыты актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, апробация работы, публикации и описание структуры и объема диссертации. Затем следует основная часть работы, состоящая из глав, имеющих свои разделы и подразделы.

Глава 1 носит название "Обзор литературных источников". Эта глава является результатом сбора и изучения научной литературы и электронных источников информации с дальнейшей подготовкой литературного обзора по разрабатываемой теме (3D организация ядра; структурная организация хромосом; LIMK1 как ключевой фермент ремоделирования актина; особенности гена *limk1* *D. melanogaster*; роль каскада ремоделирования актина в регуляции динамики клеточных процессов; двухцепочечные разрывы ДНК и хромосомный мозаицизм в функционировании нервной системы; эпигенетические факторы организации ядра; родительский эффект; роль микро-РНК в регуляции экспрессии генов; дрозофилы как модельный объект; дана характеристика структурам мозга дрозофилы, ответственным за формирование, сохранение и воспроизведение различных форм памяти в парадигме УРПУ; определены преимущества

метода УРПУ сравнительно с классическим павловским обучением, а также нейрофизиологические и молекулярные основы УРПУ; дана общая характеристика электромагнитных полей; классификация электромагнитных полей; экранирование естественного магнитного поля Земли, как стрессорный фактор, влияющий на биологические системы).

2 глава Материал и методы исследования посвящена характеристике объекта исследования и используемым методам. Описаны экспериментальные установки, способы тестирования, оценки параметров, экспериментальные протоколы и методы статистической обработки данных.

Глава 3 Результаты исследования описывает полученные результаты.

1. У линий с полиморфизмом по гену *limk1* наблюдали следующее: самцы *CS, Berlin* не проявляют нарушений обучения, среднесрочной памяти, тогда как линия *agn<sup>ts3</sup>* характеризуется выраженным дефектами, как обучения, так и памяти. Обращает на себя внимание тот факт, что при действии ССМП у *agn<sup>ts3</sup>*, восстанавливается способность к обучению, что свидетельствует как о необходимости, так и о достаточности для этого стрессорных воздействий. Таким образом, LIMK1 вносит существенный вклад в функционирование нервной системы как центральной, так и периферической, обеспечивая формирование новых связей между нейронами в зависимости от полученного опыта, и, возможно, обеспечивает компенсаторный эффект, направленный на достижение результата.

В экспериментах были использованы реципрокные гибриды, образованные линией *agn<sup>ts3</sup>* и двумя линиями дикого типа *CS* и *Berlin*. Это обусловлено тем, что линия *agn<sup>ts3</sup>* была получена на генетическом фоне *CS*, вместе с тем, по результатам секвенирования гена *limk1* оказалось, что нуклеотидная последовательность гена у *Berlin* наиболее соответствует референсной. Это давало возможность изучить роль генетического фона и структуры гена в становлении признака. Независимо от используемой линии дикого типа у гибридов наблюдается патроклиническое наследование

формирования памятного следа. Согласно литературным данным, наследование экспрессии генов по отцовскому типу связано, по большей части, с транс-действующими факторами.

2. В нормальных условиях между линиями *Berlin* (контроль) и *agn<sup>ts3</sup>* (дефект гена *limk1*) не обнаружено различий по частоте перестроек, однако, при анализе их профиля (отношения количества перестроек каждого типа к общему числу перестроек) оказалось, что у *agn<sup>ts3</sup>* достоверно увеличено количество мостов (частота слияний негомологичных концов хромосом). После воздействия слабого статического магнитного поля частота аберраций у линий остается неизменной, количество мостов достоверно увеличивается, а количество фрагментов у *agn<sup>ts3</sup>* (дефект гена *limk1*) снижается.

В норме самцы и самки контрольной линии *CS* не различаются по показателям перестроек, кроме фрагментов (у самцов *CS* — 0). Самцы и самки *agn<sup>ts3</sup>* достоверно различаются по всем параметрам, которые выше у самок, за исключением превалирующей частоты мостов у самцов. Межлинейные различия выражены достоверно высоким уровнем перестроек и фрагментов у самок и самцов *agn<sup>ts3</sup>*, а также мостов у самцов *agn<sup>ts3</sup>*.

Спектр перестроек у гибридов F1 скрещивания *CS x agn<sup>ts3</sup>* достоверно не отличается по частоте перестроек и фрагментов от самцов *agn<sup>ts3</sup>*, что свидетельствует о патроклином наследовании уровня перестроек и двухцепочечных разрывов.

У гибридов F1 скрещивания *agn<sup>ts3</sup> x CS* частота отставаний хромосом не отличаются от самок *agn<sup>ts3</sup>*, таким образом, наблюдается матропатропное наследование признака, характерного для *agn<sup>ts3</sup>*.

При 12-ти часовой экспозиции в ССМП не наблюдается достоверных различий по частоте перестроек у самок *CS*. У самцов достоверно увеличилась частота перестроек и отставших хромосом.

У самок *agn<sup>ts3</sup>* достоверно увеличился профиль фрагментов и мостов, у самцов — отставших хромосом.

У самок и самцов F1 скрещивания  $CS \times agn^{ts3}$  частоты возникновения перестроек и мостов достоверно не отличаются от таковых у самцов  $agn^{ts3}$ , демонстрируя патроклиновое наследование при стрессе.

У самок и самцов F1 скрещивания  $agn^{ts3} \times CS$  частота отставаний хромосом не отличаются от самок  $agn^{ts3}$ , можно предположить эпигенетическое наследование признака отставания хромосом через цитоплазму яйцеклетки  $agn^{ts3}$  при стрессе.

В потомстве самцов  $agn^{ts3}$  выявлено отцовское наследование высокой частоты перестроек у гибридов F1. В нормальных условиях таким же способом наследуется низкий уровень двухцепочечных разрывов, а при стрессе — высокая частота формирования мостов.

В потомстве самок  $agn^{ts3}$  наблюдается эпигенетическое материнское наследование у гибридов F1 высокой частоты отставших хромосом в норме и при стрессе.

Критерием влияния родительских аллелей служило отсутствие достоверных различий между гибридом и одним из родителей по соответствующему параметру и, наоборот, достоверные различия с другим родителем.

3. В нормальных условиях у линий *Berlin* (контроль) и  $agn^{ts3}$  (дефект гена *limk1*) интенсивность окрашивания антителом к монометилированному гистону H<sub>3</sub> низкая, что является показателем активной транскрипции генов.

После воздействия слабого статического магнитного поля у обеих линий, особенно у мутанта  $agn^{ts3}$ , интенсивность окрашивания антителом к монометилированному гистону H<sub>3</sub> значительно увеличивается, что свидетельствует о подавлении транскрипции в гипомагнитном поле.

4. С использованием установки автоматической регистрации звукопродукции самцов *Drosophila* проведен сравнительный анализ звуковых сигналов ухаживания самцов линий  $agn^{ts3}$ , *Berlin*, *Canton-Si* и их реципрокных гибридов. Оценивали 9 параметров звуковых коммуникационных сигналов:

индекс пения, суммарное число импульсов за 5 мин, отношение индекса импульсной песни к индексу синусоидальной, межимпульсный интервал, дисперсию межимпульсного интервала, основную частоту синусоидальной песни, процент искаженных импульсов, среднюю длительность импульсных посылок и длительность синусоидальных отрезков.

Основным параметром звуковых сигналов, характеризующим уровень половой мотивации, является индекс пения (ИП) и суммарное число импульсов за период тестирования (СЧп). ИП и СЧп у *agn<sup>ts3</sup>* не отличались от таковых у *Canton-S*, в то время как для *Berlin* характерно почти трехкратное снижение обоих параметров. Наиболее значимым параметром для распознавания самкой сигнала ухаживания самца своего вида является межимпульсный интервал (МИИ). У самцов *agn<sup>ts3</sup>* МИИ короче, чем у самцов *Canton-S*, что свидетельствует о более высоком ритме пения самцов *agn<sup>ts3</sup>*. Для *Berlin*, напротив, характерно увеличение этого параметра. Дисперсия МИИ, отражающая степень стабильности работы пейсмекера импульсной песни, у самцов *agn<sup>ts3</sup>*, *Berlin* меньше по сравнению с таковой у *Canton-S*. Этот факт означает, что пейсмекеры импульсной песни самцов *agn<sup>ts3</sup>*, *Berlin* работают более стабильно. Основная частота (ОЧ) синусоидальной песни анализируемых линий также отличается от таковой у *Canton-S*. Так, для *agn<sup>ts3</sup>* характерно увеличение значения этого параметра, в то время как у самцов *Berlin* ОЧ короче, чем у *Canton-S*.

При генерации звуковых сигналов в процессе ухаживания возникают искажения формы звуковых импульсов, в том числе и у мух дикого типа. Процент искаженных импульсов характеризует стабильность работы пейсмейкеров пения, отражая частоту нарушений режима работы крыловых мышц. *agn<sup>ts3</sup>* по этому параметру не отличается от *Canton-S*. *Berlin* демонстрируют более высокий процент искаженных импульсов, что, возможно, связано со значительным удлинением времени импульсных посылок ( $T_{пос}$ ) и синусоидальных отрезков ( $T_{co}$ ).  $T_{пос}$  и  $T_{co}$  самцов *agn<sup>ts3</sup>* также

превышают таковые у *Canton-S*. Искажения с увеличенной длительностью импульса наиболее часто встречаются у самцов *Berlin*, в то время как у *agn<sup>ts3</sup>* они возникают реже. У самцов *agn<sup>ts3</sup>* наиболее часто возникают искажения с полициклическими импульсами, вызванные, по-видимому, трепором мышц пения.

#### Глава 4. Обсуждение результатов

Данные проведенного исследования изменений когнитивного поведения у дрозофилы, ассоциированных с нарушением в сигнальном каскаде ремоделирования актина – LIM киназа 1 (LIMK1) – кофилин – актин, в нормальных и стрессорных условиях соотнесены с литературными данными о влиянии гена *limk1* на развитие нейропатологий.

Функциональные различия нейронов обусловлены геномной гетерогенностью за счет двухцепочечных разрывов ДНК (ДЦР) и нарушений митоза. При обучении и формировании памяти происходят ДЦР как в норме, так и при нейропатологии. Изучение формирования ДЦР необходимо для разработки способов уменьшения риска геномных болезней. На модели синдрома Уильямса (мутация дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>* гена для LIMK1) изучен вклад материнского и отцовского геномов в обучение, память и формирование перестроек хромосом нервных ганглиев в норме и в ССМП. В потомстве самцов *agn<sup>ts3</sup>* наблюдается патреклиновое наследование формирования памяти и ее зависимости от ССМП, частоты перестроек и ДЦР в норме, а также мостов в ССМП. В потомстве самок *agn<sup>ts3</sup>* по материнскому типу наследуются нарушения аппарата деления клетки.

Современная предиктивная и персонифицированная медицина при построение прогностических моделей характера экспрессии генов потомства диктует необходимость учитывать роль родительских геномов, то есть оценивать как материнские, так и отцовские эффекты. Выяснено, что нейропластичность когнитивных функций и возникновение нейропсихиатрических расстройств зависит от пластичности генома, в

которой ведущую роль играет 3D архитектура хроматина ядра. Анализ этого явления удобнее всего проводить на простом модельном объекте – дрозофиле. В этой связи представлены результаты изучения роли родительского происхождения аллелей гена *limk1*, в формировании конформационной организации ядра, памятного следа. Полученные данные позволяют предположить, что локус *limk1* является одним из факторов родительского эффекта формирования 3D конформации ядра.

В современном мире в связи с увеличением продолжительности жизни, ростом социально-значимых заболеваний и ухудшением экологической обстановки, важны исследования, направленные на изучение распространения, этиологии, патогенеза, течения наследственных болезней, разработку системы диагностики, лечения, профилактики и реабилитации больных. Современные данные указывают на то, что нарушения актинового цитоскелета в возникновении и развитии нейродегенеративных заболеваний и геномных болезней играют не последнюю роль.

Изучение пространственной организации ядра приобретает особенное значение в ранней диагностике геномных заболеваний, в частности обусловленных вариациями генетического материала, к которым относится синдром Уильямса. Ген *limk1*, кодирующий LIM kinase 1 - регулятор динамики актина в клетках, обеспечивающий высокую пластичность нервной системы. Делеция 7q11.23, затрагивающая ген *limk1* у человека, приводит к развитию синдрома Уильямса, сопровождаемого когнитивными нарушениями и моторными дисфункциями.

Использование хорошо изученного нейрогенетического объекта дрозофилы для комплексного исследования механизмов возникновения и протекания подобных нарушений позволяет применять современные генетические и нейрофизиологические методы для изучения их этиологии на разных уровнях - от молекулярно-генетического до поведенческого.

Заканчивается диссертация общим заключением, выводами и списком литературы.

## **Выводы и рекомендации**

Были проведены эксперименты с привлечением линий дрозофилы *CS, Berlin, agn<sup>ts3</sup>*, а также реципрокных гибридов *CantonS /agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / CantonS, Berlin /agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / Berlin*. На модели синдрома Уильямса (мутация дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>* гена для LIMK1) изучен вклад материнского и отцовского геномов в обучение, память, формирование перестроек хромосом нервных ганглиев в норме и в ССМП.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. ССМП оказывает тормозящее действие на деятельность нервной системы у линии дикого типа *Canton-S, Berlin*. Напротив, у мутантной линии *agn<sup>ts3</sup>* это стрессовое воздействие на стадии имаго приводит к восстановлению способности к обучению и формированию памяти. Показано патротоклиное наследование формирования памятного следа. Индекс обучения гибридов через 3 часа после обучения не отличается от показателя отцовских линий *Canton-S, Berlin* или *agn<sup>ts3</sup>*. Продемонстрировано патротоклиное наследование и реакции на стресс у гибридов. В случае отцовской линии *agn<sup>ts3</sup>* происходит восстановление способности к обучению и формированию памяти при стрессе, в то время как у гибридов *agn<sup>ts3</sup> × CS* показатели существенно ниже.

2. В цитологических экспериментах было показано, что воздействие ССМП изменяет характер хромосомных перестроек. У мутанта *agn<sup>ts3</sup>*, так же как и у контрольной линии дикого типа, в клетках нервного ганглия у личинок увеличивается количество aberrаций типа «мост» в анафазе митоза, что можно рассматривать как нарушение механизмов reparации двунитевых разрывов. В потомстве самцов *agn<sup>ts3</sup>* выявлено отцовское наследование высокой частоты перестроек у гибридов F1. В нормальных условиях таким же образом наследуется низкий уровень двухщепочных разрывов, а при

стрессе — высокая частота формирования мостов. В потомстве самок  $agn^{ts3}$  наблюдается эпигенетическое материнское наследование у гибридов F1 высокой частоты отставших хромосом в норме и при стрессе.

3. Анализ модификации гистонов хромосом слюнных желез личинок дрозофилы показал, что в нормальных условиях интенсивность окрашивания антителом к монометилированному гистону H3 низкая, что является показателем активной транскрипции генов. После воздействия слабого статического магнитного поля у линий, особенно у мутанта  $agn^{ts3}$ , интенсивность окрашивания антителом к монометилированному гистону H3 значительно увеличивается, что свидетельствует о подавлении транскрипции в гипомагнитном поле. Наблюданное при ослаблении геомагнитного поля изменение транскрипционной активности может быть связано с нарушениями работы сигнального каскада ремоделирования актина.

4. Анализ звукопродукции, направленный на тонкую диагностику ранних моторных нарушений, показал, что нарушение структуры гена *limk1* чаще всего приводит к возникновению искажений с полициклическими импульсами, что может быть связано с tremором мышц пения.

Полученные результаты согласуются с литературными данными.

### **Личный вклад в проведенное исследование**

Лично автором выполнен анализ УРПУ у линии дикого типа *Berlin*, у реципрокных гибридов *CantonS /agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / CantonS*, *Berlin /agn<sup>ts3</sup>*, *agn<sup>ts3</sup> / Berlin* в нормальных условиях и при стрессорном воздействии ССМП;

Анализ характера хромосомных перестроек на стадии анафазы митоза у линий *Canton-S*, *Berlin* и *agn<sup>ts3</sup>* и их реципрокных гибридов *Canton-S × agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup> × Canton-S*; *Berlin × agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup> × Berlin*; а также иммунофлуоресцентный анализ распределения гистона H<sub>3</sub>, монометилированного по лизину 9 в клетках слюнных желез личинок дрозофилы (для выяснения биохимических последствий стрессорного

воздействия) проводили с помощью научного руководителя и сотрудников лаборатории нейрогенетики. Материалы, вошедшие в работу, обсуждали и публиковали совместно с научным руководителем.

### **Основные научные публикации по теме диссертационного исследования**

#### **Статьи в рецензируемых журналах:**

1. Никитина Е.А., Медведева А.В., Журавлев А.В., **Васильева С.А.**, Токмачева Е.В., Захаров Г.А., Савватеева-Попова Е.В. Формирование пространственной организации ядра: роль гена *limk1* дрозофилы / Е.А. Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, С.А. Васильева, Е.В. Токмачева, Г.А. Захаров, Е.В. Савватеева-Попова // Цитология. - 2018. - № 11. - Т.60. - С. 895-898.

2. **Васильева, С.А.**, Токмачева, Е.В., Медведева, А.В., Ермилова, А.А., Никитина, Е.А., Щеголев, Б.Ф., Сурма, С.В., Савватеева-Попова, Е.В. Роль родительского происхождения хромосом в нестабильности соматического генома клеток мозга дрозофилы и формировании памятного следа в норме и при стрессе / С.А. Васильева, Е.В. Токмачева, А.В. Медведева, А.А. Ермилова, Е.А. Никитина, Б.Ф. Щеголев, С.В. Сурма, Е.В. Савватеева-Попова // Цитология – 2019. - Том 61. - №12 – С. 951-963.

#### **Публикации в материалах конференций и сборниках научных трудов**

1. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А. БТШ70 как фактор регуляции поведения у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, Е.А. Никитина // Материалы межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские чтения». - Санкт-Петербург. - 2014. – Вып. 14. - С. 34 – 35.

2. Захаров, Г.А., Медведева, А.В., Никитина, Е.А., **Горохова, С.А.**, Долгая, Ю.Ф., Щеголев, Б.Ф., Токмачева, Е.В., Фуников, С.В., Зацепина, О.Е., Савватеева-Попова, Е.В. Влияние ослабления магнитного поля земли на экспрессию генов и профиль перестроек хромосом у *Drosophilamelanogaster* / Г.А. Захаров, А.В. Медведева, Е.А. Никитина, С.А. Горохова, Ю.Ф. Долгая, Б.Ф. Щеголев, Е.В. Токмачева, С.В. Фуников, О.Е. Зацепина, Е.В.

Савватеева-Попова // Научные труды VII Международного конгресса "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине". - Санкт-Петербург. - 2015. - С. 156.

3. Медведева, А.В., Никитина, Е.А., **Горохова, С.А.**, Долгая, Ю.Ф., Токмачева, Е.В., Щеголев, Б.Ф., Сурма, С.В., Савватеева-Попова, Е.В. Двухцепочечные разрывы ДНК в нервных ганглиях дрозофилы: роль каскада ремоделирования актина и экранирования магнитного поля / А.В. Медведева, А.А. Никитина, С.А. Горохова, Ю.Ф. Долгая, Е.В. Токмачева, Б.Ф. Щеголев, С.В. Сурма, Е.В. Савватеева-Попова // Труды X Ежегодной Всероссийской научно-практ. конференции с междунар. участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения». - Санкт-Петербург. - 2015. - Т. 10. Ч. 2. - С. 778 – 780.

4. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В. Роль гена *limk1* в организации хромосомного аппарата при действии стресса у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, Е.А. Никитина, А.В. Медведева //Материалы межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские чтения». - Санкт-Петербург. - 2016. - Вып. 16. - С. 11-12.

5. **Горохова, С.А.**, Медведева, А.В., Никитина, Е.А., Савватеева-Попова, Е.В. Влияние гена *limk1* на транскрипционную активность генома при действии стресса у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, А.В. Медведева, Е.А. Никитина // Тезисы XX научной школы-конференции по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. - Москва. – 2016. - С. 36.

6. Медведева, А.В., Никитина, Е.А., Журавлев, А.В., **Горохова, С.А.**, Токмачева, Е.В., Щеголев, Б.Ф., Сурма, С.В., Савватеева-Попова, Е.В. Двухцепочечные разрывы ДНК в нервных ганглиях дрозофилы: структура гена *limk1* и экранирование магнитного поля / А.В. Медведева, Е.А. Никитина, А.В. Журавлев, С.А. Горохова, Е.В. Токмачева, Б.Ф. Щеголев, С.В. Сурма, Е.В. Савватеева-Попова // Труды XI Ежегодной Всероссийской

научно-практ. конференции с междунар. участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения». Санкт-Петербург. - 2016. - Т. 11. Ч. 2. - С. 753 – 755.

7. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В. Организация хроматина при действии стресса у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, Е.А. Никитина, А.В. Медведева // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. - 2016. - № 2. - Т. 16. - С. 40 – 48.

8. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В. Частота формирования эктопических контактов как подход к анализу пространственной организации ядра / С.А. Горохова, Е.А. Никитина, А.В. Медведева // Сборник статей Герценовских чтений, посвященных вкладу В.В. Половцова в развитие методики обучения биологии и экологии. - Санкт-Петербург. - 2017. - С. 182-185.

9. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Роль гена LIMK1 в регуляции хромосомных перестроек при действии стресса у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Труды XIII международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». - Судак. - 2017. - С. 130 - 131.

10. Никитина, Е.А., Медведева, А.В., **Горохова, С.А.**, Герасименко, М.С., Трофимова, К.Е., Долгая, Ю.Ф., Щеголев, Б.Ф., Савватеева-Попова, Е.В. Ослабленное магнитное поле Земли: влияние на когнитивные процессы у *Dr. melanogaster* / Е.А. Никитина, А.В. Медведева, С.А. Горохова, М.С. Герасименко, К.Е. Трофимова, Ю.Ф. Долгая, Б.Ф. Щеголев, Е.В. Савватеева-Попова // Материалы XXIII Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. - Воронеж. - 2017. - С. 555 - 557.

11. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Токмачева, Е.В., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Родительский эффект при генезисе когнитивных нарушений у *Drosophilamelanogaster*: роль гена *limk1* / С.А. Горохова, Е.А.

Никитина, Е.В. Токмачева, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы Всероссийской конференции «Дрозофила в генетике и медицине». - Гатчина. - 2017. - С. 18.

12. Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Журавлев, А.В., Захаров, Г.А., Токмачева, Е.В., **Горохова, С.А.**, Иванова, П.Н., Щеголев, Б.Ф., Савватеева-Попова, Е.В. Дрозофилы как модель нейродегенеративных заболеваний // Е.А. Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, Г.А. Захаров, Е.В. Токмачева, С.А. Горохова, П.Н. Иванова, Б.Ф. Щеголев, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы Всероссийской конференции «Дрозофилы в генетике и медицине». - Гатчина. - 2017. - С. 36.

13. Герасименко, М.С., Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Журавлев, А.В., Захаров, Г.А., **Горохова, С.А.**, Щеголев, Б.Ф., Савватеева-Попова, Е.В. Слабое статическое магнитное поле как стрессорный фактор, влияющий на транскрипционную активность генома, обучение и память у *Drosophilamelanogaster* / М.С. Герасименко, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, Г.А. Захаров, С.А. Горохова, Б.Ф. Щеголев, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы Всероссийской конференции «Дрозофилы в генетике и медицине». - Гатчина. - 2017. - С. 64.

14. **Горохова, С.А.**, Медведева, А.В., Никитина, Е.А., Савватеева-Попова, Е.В. Слабое статическое магнитное поле как фактор стресса, влияющий на транскрипционную активность у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Горохова, А.В. Медведева, Е.А. Никитина // Тезисы Всероссийского симпозиума с междунар. участием «Стресс: физиологические эффекты, патологические последствия и способы их предотвращения». - Санкт-Петербург. - 2017. - С. 106 – 107.

15. Никитина, Е.А., Захаров, Г.А., Журавлев, А.В., Медведева, А.В., **Горохова, С.А.**, Иванова, П.Н., Герасименко, М.С., Щеголев, Б.Ф., Савватеева-Попова, Е.В. Стресс: влияние на когнитивные и локомоторные процессы у *Drosophilamelanogaster* / Е.А. Никитина, Г.А. Захаров, А.В.

Журавлев, А.В. Медведева, С. А. Горохова, П.Н Иванова, М.С. Герасименко, Б.Ф. Щеголев, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы Всероссийского симпозиума с междунар. участием «Стресс: физиологические эффекты, патологические последствия и способы их предотвращения». Санкт-Петербург. - 2017. - С. 161 – 163.

16. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Токмачева, Е.В., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Влияние родительского эффекта на локомоторную активность у *Drosophilamelanogaster*: роль гена *limk1* / С. А. Горохова, Е.А. Никитина, Е.В. Токмачева, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы XXI научной школы-конференции по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. - Москва. - 2017. - С. 19.

17. **Горохова, С.А.**, Никитина, Е.А., Стефанов, В.Е., Герасименко, М.С., Щеголев, Б.Ф., Медведева, А.В., Сурма, С.В., Савватеева-Попова, Е.В. Воздействие ослабленного в космическом пространстве магнитного поля Земли на транскрипционную активность генома, обучение и память / С.А. Горохова, Е.А. Никитина, В.Е. Стефанов, М.С. Герасименко, Б.Ф. Щеголев, А.В. Медведева, С.В. Сурма, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы XII Международной научно-практической конференции «Пилотируемые полеты в космос». Россия, Звездный городок. - 2017. - С. 87 - 89.

18. Медведева, А.В., Никитина, Е.А., Токмачева, Е.В., Каминская, А.Н., **Горохова, С.А.**, Журавлев, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Роль родительского происхождения аллелей гена *limk1* дрозофилы в 3D организации ядра и формировании памяти / А.В. Медведева, Е.А. Никитина, Е.В. Токмачева, А.Н. Каминская, С.А. Горохова, А.В. Журавлев, Е.В. Савватеева-Попова // Труды XII Ежегодной Всероссийской научно-практ. конференции с междунар. участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения». - Санкт-Петербург. - 2017. – Т. 12. Ч. II. - С. 464 – 467.

19. **Васильева, С.А.**, Токмачева, Е.В., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Влияние родительского эффекта на профиль перестроек хромосом и когнитивные нарушения у *Drosophilamelanogaster*: роль гена *limk1* / С.А. Васильева, Е.В. Токмачева, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Материалы XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2018». - Санкт-Петербург. - 2018. - С. 56 – 57.

20. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Слабое статическое магнитное поле как стрессорный фактор, вызывающий когнитивные нарушения у *Drosophilamelanogaster*: роль гена *limk1* / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Труды XIV международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». - Судак. - 2018. - С. 131 - 132.

21. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В., Щёголев, Б.Ф., Стефанов, В.Е. Влияние слабого статического магнитного поля на когнитивные функции у реципрокных гибридов *Drosophilamelanogaster* / С.А. Васильева, Е. А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова, Б.Ф. Щёголев, В.Е. Стефанов // Научные труды VIII междунар. Конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург. - 2018. - Т. 8. - С. 16 – 17.

22. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Токмачева, Е.В., Савватеева-Попова, Е.В. Когнитивные нарушения у *Drosophilamelanogaster*: влияние гена *limk1* / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Токмачева, Е.В. Савватеева-Попова // Материалы Всероссийской молодежной конференции с международным участием "Современные аспекты интегративной физиологии". - Санкт-Петербург. - 2018. - С. 29 – 30.

23. Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Журавлев, А.В., **Васильева, С.А.**, Токмачева, Е.В., Захаров, Г.А., Савватеева-Попова, Е.В. Роль гена *limk1* дрозофилы в формировании пространственной организации ядра / Е.А.

Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, С.А. Васильева, Е.В. Токмачева, Г.А. Захаров, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы XVIII Всероссийского симпозиума с международным участием «Структура и функции клеточного ядра». Санкт-Петербург.- 2018. - С. 43 – 44.

24. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А, Медведева, А.В., Токмачева, Е.В., Савватеева-Попова, Е.В. Роль родительского эффекта в формировании когнитивных нарушений у *Drosophilamelanogaster* в условиях слабого статического магнитного поля / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Токмачева, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы XXII научной школы-конференции по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии.- Москва. - 2018. - С. 57 - 58.

25. Медведева, А.В., Никитина, Е.А., Токмачева, Е.В., Захаров, Г.А., **Васильева, С.А.**, Журавлев, А.В., Ермилова, А.А., Савватеева-Попова, Е.В. Апробирование методов экспресс-диагностики геномных болезней на модели синдрома Уильямса у дрозофилы / А.В. Медведева, Е.А. Никитина, Е.В. Токмачева, Г.А. Захаров, С.А. Васильева, А.В. Журавлев, А.А. Ермилова, Е.В. Савватеева-Попова // Труды XIII Ежегодной Всероссийской научно-практ. конференции с междунар. участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения». - Санкт-Петербург, - 2018. - Т. 13. Ч. II. - С.1024 - 1030.

26. Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Журавлев, А.В., Токмачева, Е.В., **Васильева, С.А.**, Заломаева, Е.С., Иванова, П.Н., Захаров, Г.А., Савватеева-Попова, Е.В. Генетические и эпигенетические факторы развития нейродегенеративных заболеваний: использование моделей на дрозофиле / Е.А. Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, Е.В. Токмачева, С.А. Васильева, Е.С. Заломаева, П.Н. Иванова, Г.А. Захаров, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы докладов VII Съезда ВОГиС. Санкт-Петербург. - 2019. - С. 350.

27. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Поведение реципрокных гибридов *Drosophilamelanogaster* с нарушением синтеза LIMK1 при действии стресса / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы докладов VII Съезда ВОГиС. - Санкт-Петербург. - 2019. - С. 1047.
28. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Журавлев, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Влияние стресса на звукопродукцию у *Drosophilamelanogaster* / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, А.В. Журавлев, Е.В. Савватеева-Попова // Тезисы Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология». - Санкт-Петербург. - 2019. - С. 57 – 58.
29. **Васильева, С.А.**, Никитина, Е.А., Медведева, А.В., Савватеева-Попова, Е.В. Вклад материнского и отцовского геномов в формирование хромосомных аберраций у *Drosophilamelanogaster* в условиях слабого статического магнитного поля / С.А. Васильева, Е.А. Никитина, А.В. Медведева, Е.В. Савватеева-Попова // XXIII Школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии - 2019. - С. 62-63.
30. Nikitina, E.A., **Gorohova, S.A.**, Medvedeva, A.V., Savvateeva-Popova, E.V. Genome transcriptional activity under stress in *Drosophila melanogaster*: the role of the *limk1* gene / E.A. Nikitina, S.A. Gorohova, A.V. Medvedeva, E.V. Savvateeva-Popova, //Abstracts of 58th Annual Drosophila Research Conference. - San-Diego, USA. – 2017. - P. 331.
31. Nikitina E.A., Medvedeva A.V., **Gorokhova S.A.**, Gerasimenko M.S., Tokmacheva E.V., Zakharov G.A., Zhuravlev A.V., Schegolev B.F., Savvateeva-Popova E.V. Shielding of a geomagnetic field as a new type of stress: from nuclear organization to complex behavior / E.A. Nikitina, A.V. Medvedeva, S.A. Gorokhova, M.S. Gerasimenko, E.V. Tokmacheva, G.A. Zakharov, A.V. Zhuravlev, B.F. Schegolev, E.V. Savvateeva-Popova // Materials of International

Symposium «Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics». Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, Russia. – 2017. - P. 28.