

**ВПЛИВ ГЕНА КАЛЬМОДУЛІНУ З ВТРАЧЕНОЮ ФУНКЦІЄЮ НА ПРОЯВ
ДЕЯКИХ ФЕНОТИПОВИХ ОЗНАК І РІВЕНЬ ІОНІВ Ca^{2+} У ДИСТРОФІНОВИХ
МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

В. Боруцька, Х. Дронська, Я. Черник, Н. Голуб

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: natalieholub@gmail.com*

Досліджено вплив гена *Cam*, із втраченою функцією на тривалість життя, рухову активність і рівень іонів Ca^{2+} у дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster*. Отримано гібриди, які несли у своєму генотипі мутантний ген *Cam* і ген дистрофіну з делецією. Показано, що у таких гібридів спостерігалось підвищення показників середньої тривалості життя (СТЖ) і максимальної тривалості життя (МТЖ), зростання показників локомоторної активності. Достовірної різниці у концентрації іонів кальцію та кількості білка у мутантних ліній і гібридів не виявлено.

Ключові слова: дрозофіла, дистрофія, тривалість життя, концентрація іонів Ca^{2+} .

М'язові дистрофії – це група спадкових захворювань, які характеризуються прогресуючою м'язовою слабкістю і втратою м'язових тканин. На даний час усі дистрофії вважаються невиліковними захворюваннями. М'язові дистрофії можуть призводити до втрати здатності пересуватися, труднощів із диханням і вживанням їжі [2]. Найважча форма дистрофій – м'язова дистрофія Дюшена – є серйозним розладом, зумовленим мутаціями у гені дистрофіну. Найчастіше такими мутаціями є делеції. Дистрофін є складовою частиною дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), основною функцією якого є стабілізація сарколеми під час скорочення м'язів [11–13].

Міодистрофія Дюшена трапляється з частотою 3: 10 000 новонароджених хлопчиків і виявляється в перші роки життя. Фенотипово захворювання проявляється неправильною походою, хворі відчувають важкість при підйомі по сходах. Характерними ознаками також є псевдогіпертрофія дельтоподібних м'язів, м'язів живота і язика за рахунок заміщення м'язової тканини сполучною та жировою [2]. Показано, що у *D. melanogaster* наявні усі компоненти ДГК людини, але з меншою кількістю ізоформ [10]. На сьогоднішній день немає ефективних методів лікування даного захворювання [7]. Одним із підходів до пошуку нових методів лікування дистрофій є пошук генів-модифікаторів. Вважається, що якщо гени задіяні в одному сигнальному шляху, то одночасні мутації в них можуть підсилювати одна одну і спричиняти появу мутантного фенотипу. Якщо гени функціонують у паралельних шляхах, то втрата однієї копії кожного гена є недостатньою для прояву такого фенотипу. Одним із модифікаторів функціонування ДГК може виступати Ca^{2+} -зв'язуючий білок кальмодулін. Ca^{2+} є важливим внутрішньоклітинним регулятором, і концентрація іонів Ca^{2+} відіграє важливу роль у процесі м'язового скорочення: при збудженні скелетних м'язів відбувається вивільнення кальцію зі саркоплазматичного ретикулуму, в результаті чого його концентрація поблизу міофіламентів зростає у кілька разів. Це призводить до усунення стеричного інгібування тропонін-тропоміозинним комплексом сайтів взаємодії актину з міозином. Розслаблення м'язів після зупинення їхнього подразнення є результатом швидкої рекамуляції звільненого кальцію елементами саркоплазматичного ретикулуму [8]. До-

ведено також, що збільшення чи зменшення зв'язаного кальцію в клітинних структурах визначає механізм гальмування або збудження м'язів. Саме тому кальцій відносять до найважливіших факторів молекулярного механізму м'язового скорочення. В інших клітинах іони кальцію також відіграють роль посередників, які передають сигнал про увімкнення чи вимкнення якоїсь внутрішньоклітинної системи [4, 8].

Метою нашої роботи було перевірити вплив мутантного гена *Cam* на рівень Ca^{2+} у дистрофінових мутантів *D. melanogaster*.

Матеріали та методи

Матеріалом досліджень слугували лабораторні лінії *D. melanogaster*, отримані з університету Дж. Вашингтона (м. Сіетл, США): *DysDf//Tm6,Tb* та *Cam//CyO*. Лінія *DysDf//Tm6,Tb* містить велику делецію в гені дистрофіну (рис. 1).

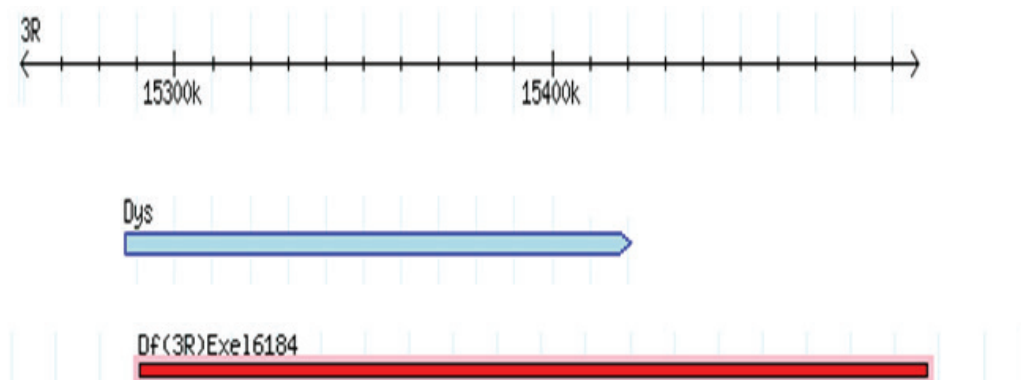


Рис. 1. Ген дистрофіну та делеція у лінії *DysDf//Tm6,Tb* *D. melanogaster*.

Особини лінії *Cam//CyO* – мутанти з втратою функції за геном кальмодуліну. Інсерція Р-елементу у цієї лінії призвела до делеції екзону 0 і 1, а також ініціюючого кодону. Лінія дикого типу *Oregon* слугувала контролем.

Мух утримували в термостаті при температурі 25°C, у пробірках, заповнених стандартним поживним середовищем. Для синхронізації культури через кожні три дні мух пересаджували на свіже середовище. Проводили синхронізацію культури для відбору мух певного віку. Для дослідження параметрів тривалості життя мух проводили тест на виживання з подальшою побудовою і аналізом кривих виживання. На основі побудованих кривих виживання визначали показники СТЖ і МТЖ. СТЖ мух визначали за такими параметрами: S_{75} – термін (у добах), на котрий залишаються живими 75% мух, S_{50} – 50% мух і S_{25} – 25% мух відповідно. Для характеристики локомоторної активності проводили climbing-тест і визначали індекс рухової активності за формулою:

$$\text{Інд. рух. акт.} = \frac{(n_2 \times 1) + (n_3 \times 2) + (n_4 \times 3) + (n_5 \times 4) + (n_6 \times 5)}{m \times 5},$$

де n_2, n_3, n_4, n_5, n_6 – кількість мух, що подолали дистанцію у кожній із серій; m – загальна кількість мух на початку експерименту.

Визначення концентрації іонів Ca^{2+} у гомогенатах проводили з використанням стандартного набору реактивів для визначення Ca^{2+} фірми Simko LTD (м. Львів). Нагромадження Ca^{2+} тканинами виражали у наномолях у перерахунку на сиру вагу. Визначення кількості білка проводили за методом Лоурі. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням порівняльного аналізу даних MS Excel.

Результати і їхнє обговорення

Дистрофін відповідає за передачу сигналів з позаклітинного простору через цитоскелет усередину клітини, і він є важливим для нормального функціонування м'язів [11, 12]. У людей відсутність дистрофіну несумісна з життям. Показана роль дистрофіну при патологіях м'язів і головного мозку [9, 14]. Мутації в гені дистрофіну призводять до розвитку важких захворювань м'язів – міопатій, котрі характеризуються прогресуючою м'язовою слабкістю, атрофією та псевдоатрофією проксимальних м'язів, нерідко супроводжуються кардіоміопатіями та порушенням інтелекту. Тому важливим напрямом досліджень є вивчення цих порушень і механізму функціонування ДГК.

Одним із підходів до вивчення функціонування ДГК на молекулярному рівні є дослідження впливу на його функціонування генів-модифікаторів [5]. На сьогоднішній день відомо 16 генів, які можуть виступати модифікаторами функціонування ДГК. Ці гени поділено на 6 груп (табл. 1).

У нашій роботі ми досліджували здатність гена *Cam* із втратою функції, який належить до I групи генів-модифікаторів, впливати на рівень іонів Ca^{2+} у дистрофінових мутантів лінії *D. melanogaster*. Ген *Cam* кодує білок кальмодулін, який виконує різноманітні функції, серед них функцію зв'язування зі специфічними білками, функцію активації зв'язування актину та міозину, функцію зв'язування іонів кальцію, а також задіяний у багатьох молекулярних процесах у клітині.

Таблиця 1

Групи генів-модифікаторів функціонування ДГК

I	II	III	IV	V	VI
Функціонування м'язів та цитоскелету (<i>Cam, nAchRa-30D</i>)	Міграція нейронів (<i>sema, slit, robo</i>)	Сигнальні шляхи			Інші (<i>POSH, kis, gam, vimar</i>)
		<i>Notch</i> (<i>notch</i>)	<i>TGF-β</i> (<i>Dad, tkv, dpp</i>)	<i>EGFR</i> (<i>kek, argos</i>)	

Для аналізу впливу гена *Cam* із втраченою функцією на рівень іонів кальцію у мутантних за геном дистрофіну особин *DysDf//Tm6, Tb* було проведене схрещування лінії *Cam // CyO*, яка містила мутантний ген *Cam*, із лінією, мутантною за геном дистрофіну з метою отримання гібридів, які в одному організмі містили досліджуваний ген-модифікатор і мутантний ген дистрофіну (рис. 2).

P: *Cam // CyO* x *DysDf // Tm6, Tb*

F₁: *Cam // + + // DysDf*

Рис. 2. Схема отримання гібридів першого покоління від схрещування ліній *Cam//CyO* та *DysDf//Tm6, Tb*.

Таким чином, ми отримували гібриди, які поєднували у собі мутантний ген *Cam* і ген дистрофіну з делецією.

Нами було побудовано криві виживання та проаналізовано тривалість життя ліній *Oregon*, *Cam//CyO*, *Dys Df//Tm6 Tb*, *DysDf//DysDf* та гібридів *DysDf//+ +//Cam*. Важливим під час побудови кривих виживання є наявність чи відсутність плато. Наявність плато є ознакою нормального старіння, а його відсутність свідчить про швидке відмирання особин і знижену життєздатність.

Як контроль було використано криву виживання лінії дикого типу *Oregon*. Із наведених графіків кривих виживання (рис. 3, табл. 2) видно, що у особин дикого типу наявне плато, перегин якого спостерігали з 19-го дня життя імаго. Показники середньої тривалості життя були такими: S_{75} – 22 дні, S_{50} – 29 днів, S_{25} – 43 дні; максимальна тривалість життя становила 51 день.

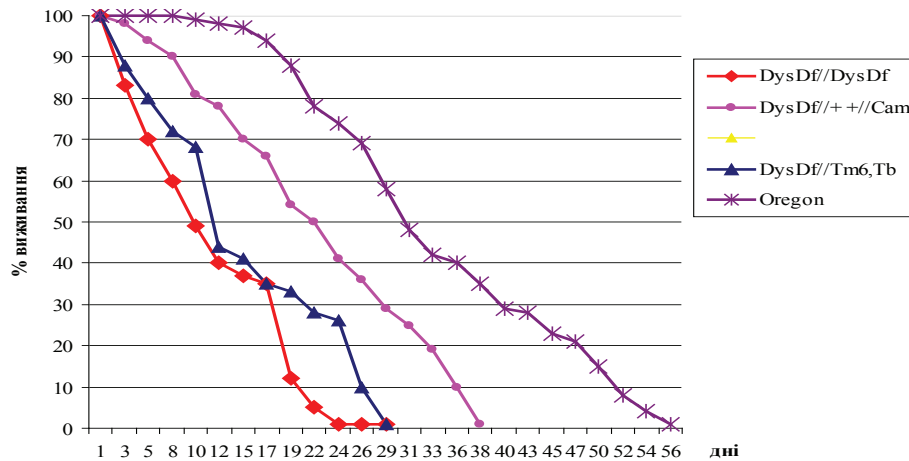


Рис. 3. Криві виживання мутантів *DysDf//Tm6,Tb*, *DysDf//DysDf*, гібридів *DysDf//+ +//Cam* і лінії дикого типу *Oregon*.

Для вихідної мутантної лінії *DysDf//Tm6, Tb* притаманне швидке відмирання особин і відсутність плато (рис. 3, табл. 2). Особини характеризувалися зниженими показниками тривалості життя порівняно з лінією дикого типу, які дорівнювали відповідно: S_{75} – 8 днів, S_{50} – 12 днів, S_{25} – 22 дні; максимальна тривалість життя становила 26 днів. Гомозиготні особини мутантів за геном дистрофіну *DysDf//DysDf* теж мали відсутнє плато і почали масово відмирати після третього дня (рис. 3, табл. 2). Середня тривалість життя у таких особин становила: S_{75} – 6 днів, S_{50} – 12 днів і S_{25} – 18 днів. Максимальна тривалість життя дорівнювала 22 дням, що є статистично менше, ніж у вихідної лінії *DysDf//Tm6, Tb*. У гібридів *DysDf//+ +//Cam* трохи покращувалися показники тривалості життя порівняно з вихідною мутантною лінією, проте не спостерігалось відновлення плато (рис. 3, табл. 2). Показники СТЖ дорівнювали S_{75} – 12 днів, S_{50} – 19 днів, S_{25} – 29 днів; МТЖ становила 36 днів. Ці показники були вищими ніж у вихідної мутантної лінії, але не досягали рівня значень лінії дикого типу *Oregon*.

Таким чином, наявність мутантного гена *Cam* призвела до підвищення показників тривалості життя гібридів *DysDf//+ +//Cam* порівняно з вихідною мутантною лінією *DysDf//Tm6,Tb*.

Таблиця 2

Параметри тривалості життя лінії *Oregon*, дистрофінових мутантів і гібридів F_1

Лінія	S_{75} ($M \pm m$)	S_{50} ($M \pm m$)	S_{25} ($M \pm m$)	S_{max} ($M \pm m$)
Oregon	22±0,27	29±0,24	43±0,29	51±0,2
DysDf/+ +//Cam	12±0,19**	19±0,26***	29±0,22**	36±0,29**
DysDf/Tm6,Tb	8±0,23**	12±0,27**	22±0,14***	26±0,24***
DysDf/DysDf	6±0,21*	12±0,31	18±0,29**	22±0,33**

Примітка: * $p \geq 0,95$; ** $p \geq 0,99$; *** $p \geq 0,999$.

Надалі було досліджено рухову активність методом climbing-тесту. Показники індексу рухової активності (IPA) лінії *Oregon* були такі: 1–3-й день – 0,540, 4–6-й день – 0,405, 7–9-й день – 0,306, 10–12-й день – 0,280 (табл. 3, рис. 4). Особини лінії *DysDf//Tm6,Tb* характеризувалися зниженими показниками індексу рухової активності порівняно з лінією дикого типу *Oregon* (табл. 3, рис. 4). Так, у особин лінії *DysDf//Tm6, Tb* IPA на 1–3-й

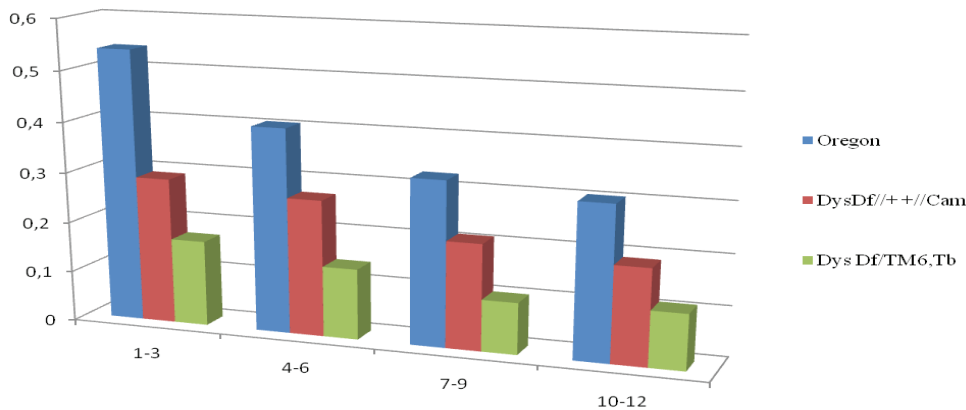
день становив 0,170; на 4–6-й день – 0,140; на 7–9-й день – 0,102; на 10–12-й день – 0,110. Проведений тест для гібридів *DysDf//+ +//Cam* покоління показав, що у них індекс рухової активності був достовірно вищий, ніж у вихідної мутантної лінії, і становив відповідно: на 1-3-й день – 0,290; на 4-6-й день – 0,270; на 7-9-й день – 0,210; на 10-12-й день – 0,190 (табл. 3, рис. 4).

Таблиця 3

Індекс рухової активності ліній *Oregon*, дистрофінових мутантів і гібридів *DysDf//+ +//Cam*

День	<i>Oregon</i> (M±m)	<i>DysDf//+ +//Cam</i> (M±m)	<i>DysDf//Tm6,Tb</i> (M±m)
1-3	0,540±0,21	0,290±0,30**	0,170±0,28**
4-6	0,405±0,24	0,270±0,24***	0,140±0,21***
7-9	0,326±0,2	0,210±0,11**	0,102±0,26**
10-12	0,304±0,21	0,190±0,21**	0,110±0,19***

Примітка: ** $p \geq 0,99$ висока імовірність наявності ефекту; *** $p \geq 0,99$.

Рис. 4. Динаміка рухової активності ліній *Oregon*, мутантів *DysDf//Tm6,Tb* та гібридів *DysDf//+ +//Cam*.

Таким чином, показники рухової активності гібридів були статистично вищими від показників вихідної мутантної лінії *DysDf//Tm6,Tb* протягом усього періоду проведення дослідження в середньому в 1,56 разу, проте нижчими, ніж у лінії дикого типу.

Було зроблено припущення, що на зміну прояву дистрофінового фенотипу може впливати рівень кальцію. Тому наступним етапом дослідження було вимірювання рівня кальцію у дистрофінових мутантів і гібридів першого покоління від схрещувань мутантів за геном дистрофіну та кальмодуліну. Вимірювання проводили у 1–3-денних та 10–12-денних імаго, окремо у тілах і головах, самок і самців (табл. 4).

Так, рівень кальцію у 1–3-денних особин вихідної мутантної лінії *DysDf//Tm6,Tb* становив 0,2 нмоль/0,1 мг, у 10–12-денних – 0,4 нмоль/0,1 мг. У лінії дикого типу *Oregon* ці значення дорівнювали 0,3 нмоль/0,1 мг і 0,6 нмоль/0,1 мг відповідно. У лінії *Cam//CyO* рівень іонів Ca^{2+} становив 0,3 нмоль/0,1 мг на 1–3-й день та 0,6 нмоль/0,1 мг на 10–12-й день життя імаго. У гібридів F_1 *DysDf//+ +//Cam* показник концентрації іонів кальцію у 1–3-денних імаго становив 0,3 нмоль/0,1 мг, у 10–12-денних – 0,4 нмоль/0,1 мг.

Отже, було встановлено, що рівень іонів Ca^{2+} статистично достовірно різнився у 1–3-денних і 10–12-денних імаго. Достовірної різниці між показниками рівня іонів кальцію у самок і самців, у тілах і головах особин одного віку не виявлено.

Таблиця 4

Рівень Ca^{2+} у тілах і головах 1-3-денних і 10-12-денних особин ліній *Oregon*, мутантів *DysDf//Tm6,Tb*, *Cam//CyO* та гібридів *DysDf//+ +//Cam* (концентрація у нмоль/0,1 мг сирової ваги, $M \pm m$)

Лінія	1-3-денні імаго		10-12 денні імаго	
	тіло	голова	тіло	голова
♀ <i>Oregon</i>	0,32±0,15	0,31±0,15	0,65±0,15	0,58±0,17
♂ <i>Oregon</i>	0,29±0,17	0,26±0,12	0,61±0,16	0,56±0,14
♀ <i>DysDf//Tm6,Tb</i>	0,23±0,13	0,21±0,11	0,39±0,18	0,36±0,15
♂ <i>DysDf//Tm6,Tb</i>	0,21 ±0,18	0,19±0,09	0,36±0,16	0,31±0,15
♀ <i>Cam//CyO</i>	0,39±0,11	0,30±0,13	0,72±0,09	0,68±0,18
♂ <i>Cam//CyO</i>	0,37±0,14	0,26±0,13	0,64±0,12	0,63±0,11
♀ <i>DysDf//+ +//Cam</i>	0,29±0,09	0,27±0,11	0,44±0,15	0,40±0,14
♂ <i>DysDf//+ +//Cam</i>	0,24±0,15	0,20±0,10	0,41±0,13	0,36±0,16

Наступним етапом дослідження було вимірювання рівня білка у вихідної мутантної лінії *DysDf//Tm6,Tb* та гібридів першого покоління. Рівень білка визначали у 1-3-денних та 10-12-денних особин окремо у самок і самців. Результати досліджень представлені в табл. 5.

Таблиця 5

Рівень білка у 1-3- та 10-12-денних особин ліній *Oregon*, мутантів *DysDf//Tm6,Tb*, *Cam//CyO* та гібридів *DysDf//+ +//Cam*

Лінія	Рівень білка, мг, ($M \pm m$)	
	1-3-денні імаго	10-12-денні імаго
♀ <i>Oregon</i>	0,105±0,10	0,091±0,030
♂ <i>Oregon</i>	0,097±0,04	0,085±0,032
♀ <i>DysDf//Tm6,Tb</i>	0,093±0,07	0,083±0,016
♂ <i>DysDf//Tm6,Tb</i>	0,090±0,11	0,075±0,014
♀ <i>Cam//CyO</i>	0,107±0,10	0,103±0,031
♂ <i>Cam//CyO</i>	0,099±0,04	0,100±0,084
♀ <i>DysDf//+ +//Cam</i>	0,099±0,11	0,091±0,042
♂ <i>DysDf//+ +//Cam</i>	0,090±0,07	0,080±0,069

Як видно з отриманих результатів, достовірної різниці між показниками рівня білка у 1-3-денних і 10-12-денних імаго та у самок і самців не виявлено.

Таким чином, у результаті проведених досліджень отримано гібриди, які несли у своєму генотипі мутантний ген *Cam* і ген дистрофіну з делецією. Показано, що у них спостерігається підвищення показників середньої тривалості життя: S_{75} – на 4 дні, S_{50} – на 7 днів, S_{25} – на 9 днів, максимальна тривалість життя зросла на 10 днів порівняно з вихідною мутантною лінією *DysDf//Tm6,Tb*. Відновлення плато у гібридів не спостерігалось. Такі гібридні особини характеризувалися збільшенням показників локомоторної активності протягом усього періоду життя у 3-6 разів порівняно з вихідною лінією дистрофінових мутантів. Вимірювання рівня іонів Ca^{2+} показало, що достовірної різниці у значеннях цього показника у самок і самців, а також у головах і тілах усіх досліджуваних ліній не виявлено, проте встановлено достовірне зростання цього показника у процесі старіння імаго. Результати вимірювання кількості білка не показали достовірної різниці між цим показником у 1-3-денних і 10-12-денних імаго, у самок та самців.

Кальмодулін – білок, який кальційзалежним способом регулює активність інших білків. Він містить чотири сайти зв'язування іонів Ca^{2+} . Сам кальмодулін не проявляє ферментативної активності, але є інтегральною субодиницею цілого ряду ферментів (протеїнкінази, протеїнфосфатази, фосфодіестерази, ферментів м'язової рухливості) [3]. Також кальмодулін взаємодіє і активує функціонування вбудованої в зовнішню мембрану

клітини транспортної АТФ-ази – ферменту, який здатний за рахунок енергії гідролізу АТФ викидати з клітини іони Ca^{2+} . Кальмодулін бере участь у передачі кальцієвого сигналу, яка можлива лише за умови конформаційних перебудов, що відбуваються після зв'язування кальцію [1]. Процеси м'язових скорочень залежать від рівня Ca^{2+} . Надходження скоротливого стимулу (наприклад, нервовий імпульс) ініціює відкриття кальцієвих каналів у мембрані саркоплазматичного ретикулуму гладком'язових клітин міоцита. Кальцій, який надходить через канали, з'єднується з кальмодуліном. Комплекс кальцій-кальмодулін активує кіназу, яка фосфорилує легкі ланцюги міозину, внаслідок чого вони отримують здатність зв'язувати й розщеплювати АТФ і зв'язуватися з актином [6].

Оскільки кальмодулін підвищує чутливість скоротливого апарату до кальцію, у особин із втратою функції кальмодуліну неможливим є нормальне утворення актин-міозинового комплексу. Можна припустити, що зростання рівня кальцію з віком зумовлене тим, що у процесі старіння у дистрофінових мутантів відбувається дегенерація м'язових волокон, що спричиняє вихід іонів кальцію з депо саркоплазматичного ретикулуму, або ж унаслідок пошкоджень не відбувається швидкої реаккумуляції кальцію елементами саркоплазматичного ретикулуму. Не виключено, що збільшення концентрації кальцію відбувається внаслідок зниження рівня метаболізму в мітохондріях, що є наслідком зниження активності Ca^{2+} -залежної піруватдегідрогенази. Ці механізми потребують подальшого вивчення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гусев Н. Б. Внутриклеточные Ca^{2+} -связывающие белки. Структура и механизм функционирования // Соросовский образов. журн. 1998. № 3. С. 20–27.
2. Казаков В. М. Клинико-молекулярно-генетическая классификация мышечных дистрофий // Неврология. 2001. № 4. С. 256–259.
3. Крахмалева И. Н., Шишкин С. С., Шаховская Н. И. Клинический полиморфизм, генетическая гетерогенность и проблемы патогенеза первичных миопатий // Журнал неврологии и психиатрии. 2002. № 5. С. 13–19.
4. Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб.: СПбГУ, 2003. 157 с.
5. Кучеренко М., Яценко А., Максимів Д., Черник Я. *Drosophila melanogaster* як модельна система пошуку модифікаторів дистрофін-дистрогліканового комплексу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 71–77.
6. Левицкий Д. О. Кальций и биологические мембраны. М.: Высшая школа, 1990. 118 с.
7. Сукач А. Н. Перспективы использования генной и клеточной терапии для лечения мышечных дистрофий // Клет. транспл. и тк. инж. 2006. Т. 2. № 4. Р. 44–50.
8. Bronstein-Sitton N. Ca^{2+} -dependent K^{+} channels at the crossroads of cell metabolism // Modulator. 2005. N 5. P. 10–14.
9. Davies K. E., Nowak K. J. Molecular mechanisms of muscular dystrophies: old and new players // Mol. Cell Biol. 2006. Vol. 7. P. 762–764.
10. Greener M. J., Roberts R. G. Conservation of components of the dystrophin complex in *Drosophila* // FEBS Lett. 2000. Vol. 482. N 1. P. 13–18.
11. Monique R. K., Fradkin G., Jasprina N. et al. *Drosophila* Dystrophin is required for integrity of the musculature // Mech. Dev. 2007. N 124. P. 617–630.
12. Plas M. C., Pilgram de Jong G. S., Bansraj M. et al. *Drosophila* Dystrophin is required for integrity of the musculature // Development. 2007. Vol. 10. P. 1016–1030.

13. Rybakova I. N., Patel J. R., Ervasti J. M. The dystrophin complex forms a mechanically strong link between the sarcolemma and costameric actin // J. Cell Biol. 2000. Vol. 150. P. 1209–1214.
14. Shcherbata H. R., Yatsenko A. S., Patterson L. Dissecting muscle and neuronal disorders in a *Drosophila* model of muscular dystrophy // EMBO. 2007. P. 1–13.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.14

доопрацьована 11.03.14

прийнята до друку 14.04.14

THE INFLUENCE OF LOSS-OF-FUNCTION GENE *CAM* ON MANIFESTATION OF SOME PHENOTYPE DETERMINANTS AND Ca^{2+} CONCENTRATION IN DYSTROPHY MUTANTS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

V. Borutska, C. Dronska, Ya. Chernyk, N. Holub

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: natalieholub@gmail.com*

The influence of loss-of-function gene *Cam* on life span, locomotor activity and Ca^{2+} concentration in dystrophy mutants of *Drosophila melanogaster* has been investigated. Hybrids are carried mutant gene *Cam* and gene *Dystrophin* with deletion have been received. It was revealed that these hybrids have increased indexes of median and maximum life span and moving activity. Reliable difference in Ca^{2+} concentration and total protein level in mutant strains and hybrids was not shown.

Keywords: Drosophila, dystrophy, life span, Ca^{2+} concentration.

ВЛИЯНИЕ ГЕНА КАЛЬМОДУЛИНА С ПОТЕРЕЙ ФУНКЦИИ НА ПРОЯВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И УРОВЕНЬ ИОНОВ Ca^{2+} У ДИСТРОФИНОВЫХ МУТАНТОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

В. Боруцкая, К. Дронская, Я. Черник, Н. Голуб

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

Исследовано влияние гена *Cam* с потерей функции на продолжительность жизни, двигательную активность и уровень ионов Ca^{2+} у дистрофиновых мутантов *Drosophila melanogaster*: Получены гибриды, несущие в своём генотипе мутантный ген *Cam* и ген дистрофина с делецией. Показано, что у таких гибридов наблюдалось увеличение показателей средней и максимальной продолжительности жизни и локомоторной активности. Статистически достоверной разницы в концентрации ионов Ca^{2+} и количестве белка у мутантных линий и гибридов не обнаружено.

Ключевые слова: дрозофила, дистрофия, продолжительность жизни, концентрация ионов Ca^{2+} .