

Характеристика параметров продолжительности жизни и стрессоустойчивости у *Drosophila melanogaster* с повсеместной и нейрональной сверхэкспрессией генов репарации ДНК

Коваль Л.А.^{1*}, Прошкина Е.Н.¹, Москалев А.А.^{1, 2}

¹ Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия

² Институт биологии старения, Нижний Новгород, Россия

* koval.l.a@ib.komisc.ru

Ключевые слова: старение; *Drosophila*; гены репарации ДНК; продолжительность жизни; стрессоустойчивость

Мотивация и цель: С возрастом происходит нарушение эффективности репарации ДНК [1]. Одной из причин этого является снижение экспрессии ферментов репарации ДНК или их активности. Мы предположили, что сверхэкспрессия генов репарации ДНК приведет к повышению длительности жизни и устойчивости дрозофил к различным видам стресса. Для этого исследовали роль повсеместной и нейрональной сверхэкспрессии генов репарации ДНК на продолжительность жизни (ПЖ) и устойчивость *Drosophila melanogaster* к различным повреждающим факторам окружающей среды (голодание, гипертермия, окислительный стресс). Сверхэкспрессировали гены, которые участвуют в распознавании повреждений ДНК (гомологи *HUS1*, *CHK2*, *GADD45*), репарации эксцизии нуклеотидов и оснований (гомологи *XPF*, *XPC* и *APE1*), а также репарации двуцепочечных разрывов ДНК (гомологи *BRCA2*, *XRCC3*, *KU80* и *WRNexo*).

Методы и алгоритмы: Культивировали и содержали дрозофил в стандартных условиях, описанных в [2]. Использовали линии с дополнительными копиями генов репарации ДНК под контролем промотора UAS: *w¹¹¹⁸,UAS-D-Gadd45*; *w¹¹¹⁸,UAS-Brca2*; *w¹¹¹⁸,UAS-Hus1*; *w¹¹¹⁸,UAS-mnk*; *w¹¹¹⁸,UAS-spn-B*, любезно предоставленные др. Ури Абду (Университет Бен-Гуриона в Негеве, Беер-Шева, Израиль), *w¹¹¹⁸,UAS-mei-9*; *w¹¹¹⁸,UAS-mus210*; *w¹¹¹⁸,UAS-Ku80*; *w¹¹¹⁸,UAS-Rrp1*; *w¹¹¹⁸,UAS-WRNexo*, были заказаны у компании GenetiVision (GenetiVision Houston, США). Линии с кондиционным (миферистон-индуцибельным) драйвером GAL4-GeneSwitch: *P{Act5C(-FRT) GAL4.Switch.PR}3/TM6B, Tb1* повсеместный и *y- w**; *P{ELAV-GeneSwitch}* нейрональный (BDSC, Университет Индианы, США). Для активации сверхэкспрессии использовали RU486-индуцибельную систему GeneSwitch [3], и систему GAL4/UAS, которая использует дрожжевой активатор транскрипции GAL4 и вышестоящую активирующую последовательность UAS, с которой он связывается, для управления экспрессией трансгена [4]. Анализ стрессоустойчивости и ПЖ вели по ранее описанным протоколам [2, 5].

Результаты: Изучили влияние сверхэкспрессии генов репарации ДНК на параметры ПЖ самцов и самок *Drosophila melanogaster*. Обнаружили увеличение ПЖ при нейрональной сверхактивации генов *Hus1* у самцов и самок и *mei-9* (гомолог *XPF*) у самцов. В то же время повсеместная сверхэкспрессия значительно снизила длительность жизни и параметры ПЖ. Как правило, ПЖ сопряжена с увеличением устойчивости к различным видам стресса. Поскольку гены репарации ДНК вовлечены в механизмы ответа на действие экзогенных и эндогенных факторов, мы предположили, что их сверхэкспрессия приведет к

повышению устойчивости дрозophil к различным видам стресса. Анализ стрессоустойчивости выявил улучшение выживаемости при гипертермии у дрозophil с нейрональной сверхэкспрессией генов *Rrp1* (гомолог *APE1*) у самцов, *Hus1* и *mei-9* у самок. В условиях окислительного стресса выживаемость повышалась у самок со сверхактивацией гена *mei-9*. Наиболее устойчивы к голоданию оказались самцы с нейрональной сверхэкспрессией гена *Rrp1* и самки со сверхактивацией гена *Ku80*. Повсеместная сверхэкспрессия также повышала устойчивость к гипертермии у трансгенных дрозophil с индукцией генов *Brca2*, *Hus1*, *Rrp1* у самцов и *mnk* (гомолог *chk2*) у самок. В условиях окислительного стресса были более устойчивы самцы со сверхэкспрессией генов *mus210* (гомолог *XPC*) и *spn-B* (гомолог *XRCC3*), у самок – *D-Gadd45*, *Hus1*, *spn-B*. При голодании самцы с повсеместной сверхактивацией генов *Brca2*, *D-Gadd45*, *spn-B* и *WRNexo*.

Выводы: Мы исследовали параметры продолжительности жизни и стрессоустойчивости у трансгенных особей *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией генов, которые участвуют в репарации ДНК. Обнаружили как положительные, так и отрицательные эффекты в зависимости от пола, ткани, в которой происходила индукция сверхэкспрессии и роли гена в процессе репарации ДНК.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных вмешательств на модели *Drosophila melanogaster*» № 122040600022-1.

Characterization of longevity and stress resistance parameters in *Drosophila melanogaster* with ubiquitous and neuronal overexpression of DNA repair genes

Koval L.A.^{1*}, Proshkina E.N.¹, Moskalev A.A.^{1,2}

¹ Institute of Biology of Komi Science Center of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

² Institute of Biology of Ageing, Nizhny Novgorod, Russia

* koval.l.a@ib.komisc.ru

Key words: aging; *Drosophila*; DNA repair gene; lifespan; stress resistance

Motivation and Aim: DNA repair declines with age [1]. One of the reasons for this is a decrease in the expression of DNA repair enzymes or their activity. We hypothesized that overexpression of DNA repair genes would lead to increased longevity and resistance of *Drosophila melanogaster* to various types of stress. Here we investigated the role of ubiquitous and neuronal overexpression of DNA repair genes on lifespan (LS) and resistance of *Drosophila melanogaster* to various damaging environmental factors (starvation, hyperthermia, oxidative stress). Overexpressed genes included those involved in recognition of DNA damage (homologs of HUS1, CHK2, GADD45), nucleotide and base excision repair (homologs of XPF, XPC and AP-endonuclease-1), and repair of double-stranded DNA breaks (homologs of BRCA2, XRCC3, KU80 and WRNexo).

Methods and Algorithms: *Drosophila* were cultured and maintained under standard conditions described in [2]. We used strains with additional copies of DNA repair genes under UAS control; $w^{1118}, UAS-Brca2$; $w^{1118}, UAS-Hus1$; $w^{1118}, UAS-mnk$; $w^{1118}, UAS-spn-$

B; *w¹¹¹⁸,UAS-D-Gadd45*, kindly provided by Dr. Uri Abdu (Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel). *w¹¹¹⁸,UAS-mei-9*; *w¹¹¹⁸,UAS-mus210*; *w¹¹¹⁸,UAS-Ku80*; *w¹¹¹⁸,UAS-Rrp1*; *w¹¹¹⁸,UAS-WRNexo*, were ordered from GenetiVision (GenetiVision Houston, USA). Strains with a conditioned (mifepristone-inducible) GAL4-GeneSwitch driver: *P{Act5C(-FRT) GAL4.Switch.PR}3/TM6B, Tb1* ubiquitous and *y- w**; *P{ELAV-GeneSwitch}* neuronal (BDSC, Indiana University, USA). The RU486-inducible GeneSwitch system [3] was used to activate overexpression, and the GAL4/UAS system, which uses the yeast activator of transcription GAL4 and the upstream activating sequence of UAS to which it binds to control transgene expression [4]. Stress resistance and LS were analyzed according to previously described protocols [2, 5].

Results: The effect of DNA repair gene overexpression on the parameters of *Drosophila melanogaster*'s were studied. We found an increase in LS parameters during neuronal overactivation of *Hus1* genes in males and females and *mei-9* (*XPF* homologue) in males. At the same time, ubiquitous overexpression significantly reduced LS parameters. Generally, LS is associated with increased resistance to various types of stress. Since DNA repair genes are involved in response mechanisms to exogenous and endogenous factors, we hypothesized that their overexpression would result in increased resistance of *Drosophila* to stress. Analysis of stress resistance revealed improved survival under hyperthermia in *Drosophila* with neuronal overexpression of the genes *Rrp1* (*APE1* homologue) in males, *Hus1* and *mei-9* in females. Under conditions of oxidative stress, survival was increased in females with *mei-9* gene overactivation. Males with neuronal overexpression of the *Rrp1* gene and females with overactivation of the *Ku80* gene were the most resistant to starvation. Ubiquitous overexpression also increased resistance to hyperthermia in transgenic *Drosophila* with induction of *Brca2*, *Hus1*, and *Rrp1* genes in males and *mnk* (*chk2* homologue) in females. Under oxidative stress, males with overexpression of *mus210* (*XPC* homologue) and *spn-B* (*XRCC3* homologue) genes were more resistant, while *D-Gadd45*, *Hus1*, and *spn-B* genes were more resistant in females. Under starvation, males with ubiquitous overactivation of *Brca2*, *D-Gadd45*, *spn-B*, and *WRNexo* genes.

Conclusion: We investigated the potential life-extending effects of increasing the expression of genes known to be involved in DNA repair in *Drosophila*. We found both positive and negative effects depending on sex, tissue in which overexpression was induced and the role of the gene in the DNA repair process.

Funding: The study was carried out within the framework of the state task on the theme «Genetic and functional studies of the effects of geroprotective interventions on the *Drosophila melanogaster* model» No. 122040600022-1.

Список литературы/References

1. Gorbunova V. et al. Changes in DNA repair during aging. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(22):7466-7474. doi 10.1093/nar/gkm756
2. Koval L. et al. The role of DNA repair genes in radiation-induced adaptive response in *Drosophila melanogaster* is differential and conditional. *Biogerontology.* 2020;21(1):45-56. doi 10.1007/s10522-019-09842-1
3. Osterwalder T. et al. A conditional tissue-specific transgene expression system using inducible GAL4. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(22):12596-12601. doi 10.1073/pnas.221303298
4. Weitzman J.B. Switching on genes with GeneSwitch. *Genome Biol.* 2001;2:spotlight-20011029-01. doi 10.1186/gb-spotlight-20011029-01
5. Moskalev A. et al. The role of D-GADD45 in oxidative, thermal and genotoxic stress resistance. *Cell Cycle.* 2012;11(22):4222-4241. doi 10.4161/cc.22545