

УДК 577.24

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЕНОВ ОПУХОЛЕВОЙ СУПРЕССИИ В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ И ДОЛГОЛЕТИЯ НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2013 г. С.А. Копыл<sup>1</sup>, Л.В. Омелянчук<sup>1</sup>,  
М.В. Шапошников<sup>2,3</sup>, А.А. Москалев<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия, e-mail: ome@mcb.nsc.ru;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар, Россия;

<sup>4</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

Поступила в редакцию 19 июля 2013 г. Принята к публикации 16 августа 2013 г.

Гены-супрессоры опухолей участвуют в контроле клеточной гибели и клеточного старения, однако их роль в регуляции продолжительности жизни организма изучена недостаточно. Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния гетерозиготности по генам онкосупрессоров на показатели продолжительности жизни и старение *Drosophila melanogaster*. Показано, что гетерозиготные мутации в генах *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* и *ft* ведут к снижению средней продолжительности жизни у самок и самцов. Анализ параметров уравнения Гомпертца (обычно используемого для описания кривой выживаемости у дрозофилы) выявил, что мутации *l(3)hem*, *hyd* и *gd* увеличивают возрастную компоненту ( $\alpha$ ) смертности у самок, в то время как мутация в гене *gd* вызывает увеличение фоновой компоненты смертности ( $R$ ), а *ex* – возрастной компоненты смертности у самок. Модулирующий эффект мутаций в генах онкосупрессоров на продолжительность жизни согласуется с их участием в контроле старение-ассоциированных сигнальных путей hedgehog (*hyd*), Notch (*gd*) и Hippo (*ex* и *ft*).

**Ключевые слова:** продолжительность жизни, опухолевые супрессоры, кривая Гомпертца, *Drosophila melanogaster*.

### ВВЕДЕНИЕ

Старение обуславливает развитие большого количества возраст-зависимых патологий, которые не только сокращают длительность, но и катастрофически ухудшают качество жизни человека (Harman, 1981). Поэтому поиск эволюционно консервативных генов, способных влиять на скорость старения, является приоритетной задачей биogerонтологии. По данным базы данных «GenAge» (<http://genomics.senescence.info/genes/>), идентифицировано более 1700 генов, регулирующих продолжительность жизни модельных организмов, и их перечень постоянно увеличивается (Tacutu *et al.*, 2013). Продукты «геронтогенов» (генов, конт-

ролирующих старение и продолжительность жизни) могут быть мишенями для процедуры молекулярного моделирования (computer-aided drug design), предназначенной для разработки новых лекарственных средств, направленных на лечение возраст-зависимых патологий.

Гены-супрессоры опухолей участвуют в контроле таких ассоциированных со старением эволюционно консервативных клеточных функций, как регуляция клеточного цикла и апоптоза, дифференцировка и клеточная адгезия, поддержание стабильности генома и репарация повреждений ДНК (Budovsky *et al.*, 2009; Вайсман, 2013). Анализ взаимосвязей между генами/белками, ассоциированными с долгожительством и канцерогенезом, позво-

лил выявить существующую от дрожжей до человека тенденцию: супрессоры опухолевого роста связаны с увеличением продолжительности жизни, тогда как онкогены связаны со снижением продолжительности жизни (Kinzler, Vogelstein, 1997; Вайсман и др., 2012).

Таким образом, функции опухолевых супрессоров тесно связаны с механизмами старения клетки и регуляции продолжительности жизни организма. В связи с этим цель настоящей работы состояла в исследовании влияния гетерозиготности по мутациям генов онкосупрессоров на показатели продолжительности жизни и старение *Drosophila melanogaster*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Линии *Drosophila melanogaster*

В работе использовались следующие линии. *w* (генотип: *w<sup>1118</sup>/w<sup>1118</sup>*) – лабораторная линия дикого типа, маркированная аллелем *w<sup>1118</sup>*, получена из коллекции Университета штата Индиана (Блумингтон, США).

В экспериментах также использовали линии с мутациями в генах опухолевых супрессоров:

*l(3)hem* (генотип: *l(3)hem<sup>2</sup>/TM6B, Tb<sup>1</sup>*) – содержит мутацию в гене *l(3)hem* (*lethal (3) hematopoiesis missing*). Мутация в гене *l(3)hem* ведет к нарушениям контроля клеточного деления, что вызывает отсутствие гемопоэза, остановку деления оптических нейробластов и изменения в имагинальных дисках (Gateff, 1994). Линия предоставлена доктором Гатефф (Университет Иоганна Гутенберга, Майнц, Германия).

*hyd* (генотип: *kni<sup>ri-1</sup> hyd<sup>15</sup> e<sup>1</sup>/TM3, Sb<sup>1</sup>*) – содержит мутацию в гене *hyd* (*hyperplastic discs*). Продуктом гена *hyd* является убиквитин-лигаза, которая подавляет экспрессию генов *hedgehog* и *decapentaplegic* (Lee et al., 2002) и участвует в регуляции клеточной пролиферации в имагинальных дисках и клетках зародышевой линии (Mansfield et al., 1994). Мутация в гене *hyd* вызывает гиперпролиферацию клеток имагинальных дисков, злокачественные образования и нарушение сперматогенеза (Pertceva et al., 2010). Получена из коллекции Блумингтоновского центра.

*gd* (генотип: *y w; l(2)gd<sup>d7</sup> ptc-lacZ/CyO, y<sup>+</sup>*) – содержит мутацию в гене *l(2)gd* (*lethal (2) giant discs*). Мутация в гене *l(2)gd* ведет к активации

Notch-сигналинга по лиганд-независимому механизму (Jaekel, Klein, 2006). Потеря функции гена *l(2)gd* вызывает гиперпролиферацию клеток имагинальных дисков (Bryant et al., 1993). Данная линия синтезирована в лаборатории клеточного цикла ИМКБ СО РАН на основе аллеля *l(2)gd<sup>d7</sup>*, предоставленного ранее доктором Бриант (Университет Калифорнии, Ирвин, США).

*ex* (генотип: *ex<sup>e1</sup>; Sb/TSTL, Tb*) – содержит мутацию в гене *l(2)ex* (*expanded*). Белок Expanded известен как начальный компонент Hippo-зависимого сигнального пути, ключевого регулятора размера органов у дрозофилы путем контроля баланса между клеточной пролиферацией и апоптозом (Hamaratoglu et al., 2006). Ген *l(2)ex* оказывает отрицательную регуляцию на рост тканей имагинальных дисков и индуцирует апоптоз (Blau Mueller, Mlodzik, 2000). Данная линия синтезирована в лаборатории клеточного цикла ИМКБ СО РАН на основе аллеля *ex<sup>e1</sup>*, полученного ранее из коллекции Блумингтоновского центра.

*ft* (генотип: *y w; l(2)ft<sup>d4</sup>/CyO, y<sup>+</sup>*) – содержит мутацию в гене *l(2)ft* (*fat*). Продуктом гена *l(2)ft* является атипичный кадгерин (Willecke et al., 2006), функционирующий как поверхностный рецептор зависимого от Hippo-сигнального пути (Silva et al., 2006). Потеря функции гена *fat* ведет к дерегуляции уровня экспрессии *Cyclin E* и *Diap1* и гипертрофии имагинальных дисков (Hamaratoglu et al., 2006; Silva et al., 2006). Линия *ft* синтезирована на основе аллеля *l(2)ft<sup>d4</sup>*, предоставленного доктором Гарсия-Беллидо (Автономный университет Мадрида, Испания).

Анализ продолжительности жизни проводили у гетерозигот – гибридов первого поколения, полученных от скрещиваний самок линии *w* с самцами мутантных линий *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* или *ft*. Контрольных и опытных мух содержали при температуре 25 ± 0,5 °C и искусственном режиме освещения 12 ч день : 12 ч ночь. В пробирки объемом 30 мл, содержащие 2 мл сахарно-дрожжевой среды, рассаживали по 20 особей одного пола и возраста (Ashburner, 1989). Мух пересаживали на свежую среду 2 раза в неделю. Продолжительность жизни анализировали ежедневно, раздельно у самцов и самок.

Оценивали среднюю, медианную, максимальную продолжительность жизни и возраст

гибели 90 % особей выборки. Для оценки достоверности различий по медианной продолжительности жизни применяли критерий Менделя–Кокса. При оценке статистической значимости отличий по максимальной продолжительности жизни использовали критерий Ван-Аллисона (Wang *et al.*, 2004). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы R, версия 2.15.1 (The R Foundation for Statistical Computing).

Кривые выживаемости для самцов и самок различных генотипов обрабатывали в специально разработанной программе, написанной в программной среде Mathcad 14 (PTC Inc.), которая позволяет определить параметры кривой Гомпертца. Траектория смертности в модели Гомпертца описывается выражением (Wilson, 1994):

$$F(t, R, \alpha) = \exp((R/\alpha) \times (1 - \exp(\alpha \times t))),$$

где  $t$  – возраст,  $R$  – скорость гибели при рождении особи (мы называем ее – фоновая компонента смертности),  $\alpha$  – скорость смертности в экспоненциальной фазе гибели (мы называем ее – возрастная компонента смертности). Для каждой экспериментальной кривой, заданной набором экспериментальных точек  $M_i$  (вероят-

ность гибели особи по достижению возраста  $i$ ), рассчитывали функцию:

$$F_n(R, \alpha) = \sum (M_i - F(i, R, \alpha))^2,$$

у которой далее находили минимум в координатах  $(R, \alpha)$  с использованием программной среды Mathcad 14 с помощью метода наименьших квадратов (LeastSquaresFit) из пакета обновлений для анализа данных (DataAnalysisExtensionPack).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты анализа влияния гетерозиготного состояния по генам онкосупрессоров на продолжительность жизни. Установлено, что гетерозиготность по мутациям в генах *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* или *ft* ведет к существенному снижению медианной продолжительности жизни (на 13–46 % и 7–28 %) и возраста гибели 90 % особей выборки (на 11–33 % и 11–22 %) самок и самцов соответственно.

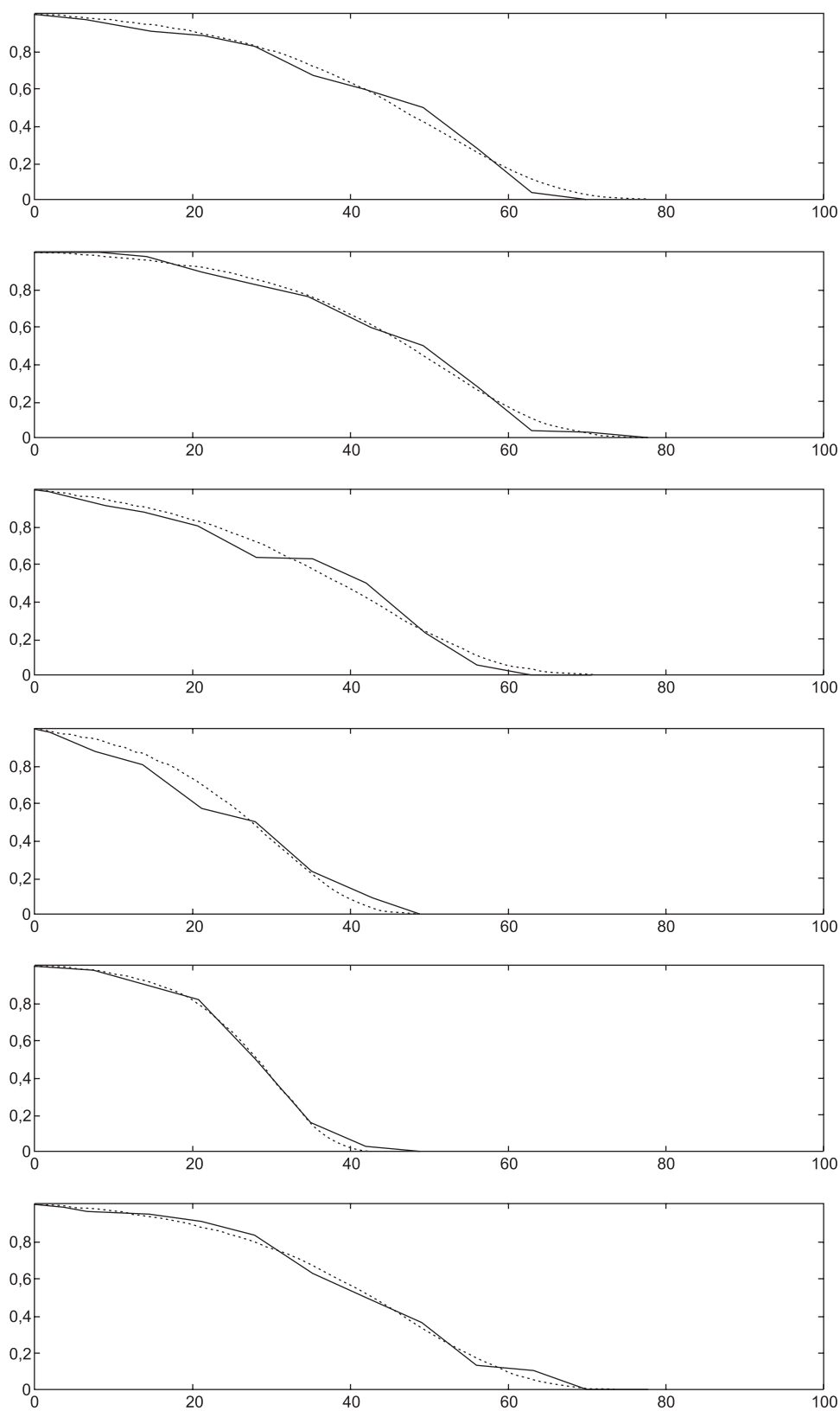
Дополнительно для оценки скорости старения исследуемых линий проводили расчет параметров уравнения Гомпертца. На рис. 1 и 2 приведены кривые выживаемости для самок и самцов, гетерозиготных по мутациям в

Таблица 1

Параметры продолжительности жизни у особей, гетерозиготных по мутациям в генах опухолевых супрессоров

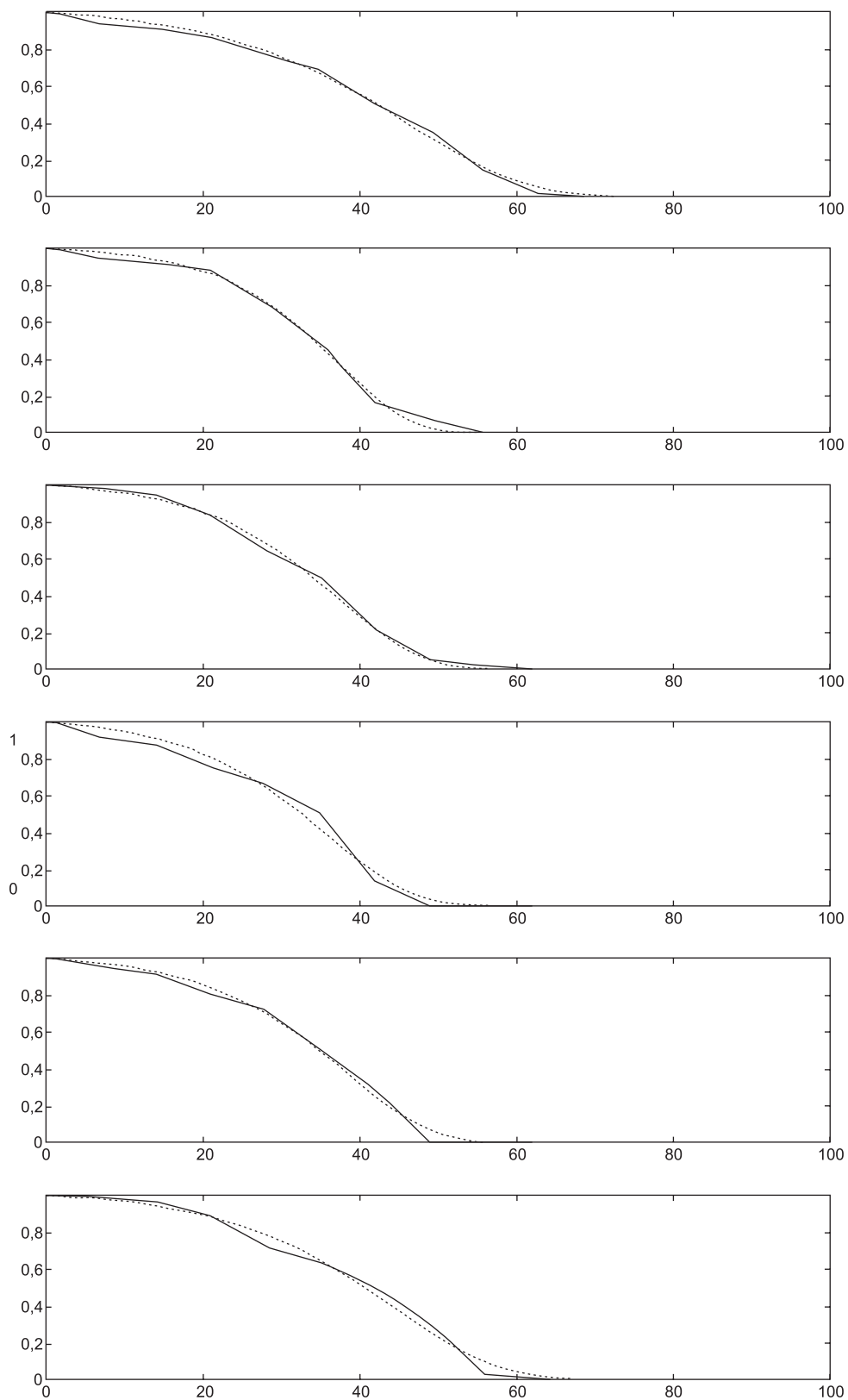
Вариант	Параметры продолжительности жизни					
	Mean ± SE	M	90 %	R	$\alpha$	$n$
<i>w</i>	46,8 ± 1,1	52,5	63	0,00246	0,0638	212
<i>w/l(3)hem</i>	41,5 ± 1	42**	56	0,00169	0,072735	245
<i>w/hyd</i>	35,5 ± 1	38,5**	49*	0,00267	0,095139	170
<i>w/gd</i>	34 ± 1	38,5**	56*	0,0107	0,0625	232
<i>w/ex</i>	30,6 ± 0,8	28**	42*	0,00262	0,0928	109
<i>w/ft</i>	44,7 ± 1,1	45,5	70*	0,00246	0,0767	216
<i>w</i>	43,2 ± 1,2	49	63	0,00279	0,0686	185
<i>w/l(3)hem</i>	36,3 ± 0,7	35**	49**	0,00180	0,109	241
<i>w/hyd</i>	36,4 ± 0,9	35**	49**	0,00267	0,095139	181
<i>w/gd</i>	33,9 ± 0,9	35**	49**	0,00369	0,0874	203
<i>w/ex</i>	36,4 ± 1,1	38,5	49**	0,002629	0,09287	130
<i>w/ft</i>	42,1 ± 0,9	45,5*	56**	0,00246	0,0767	210

Примечание. Mean ± SE – средняя продолжительность жизни и стандартная ошибка; M – медианная; 90 % – возраст смертности 90 % выборки;  $\alpha$  и R – параметры уравнения Гомпертца;  $n$  – количество особей в выборке. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$  – критерий Менделя–Кокса для медианной продолжительности жизни; критерий Ван-Аллисона для возраста смертности 90 % выборки.



**Рис. 1.** Экспериментальные (непрерывные линии) и теоретические кривые (пунктирные линии) выживаемости для самок, гетерозиготных по опухолевым супрессорам.

Сверху вниз: контроль *w*, *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex*, *ft*. Ось абсцисс – время (дни), ось ординат – доля выживших особей.



**Рис. 2.** Экспериментальные (непрерывные линии) и теоретические кривые (пунктирные линии) выживаемости для самцов, гетерозитных по опухолевым супрессорам.

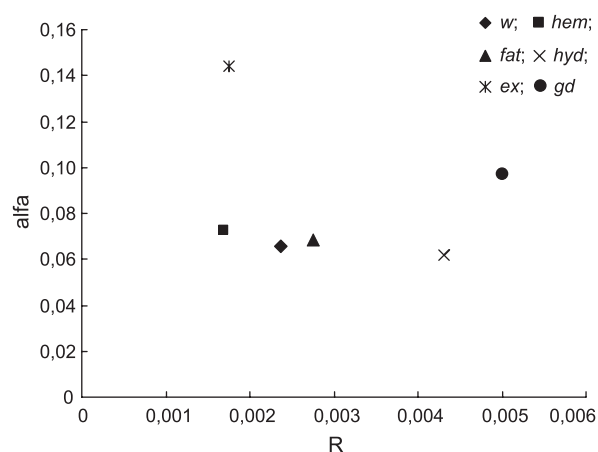
Сверху вниз: контроль *w*, *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex*, *ft*. Ось абсцисс – время (дни), ось ординат – доля выживших особей.

генах опухолевых супрессоров *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* и *fat*, и их теоретические аппроксимации в модели Гомпертца. Можно видеть, что как в контроле, так и в опытах оптимальные кривые соответствуют экспериментальным. Это согласуется с данными других авторов, утверждающих, что модель Гомпертца хорошо подходит для описания смертности особей дрозофилы (Гаврилов, Гаврилова, 1991). Каждая теоретическая кривая характеризуется двумя параметрами:  $R$  – фоновая компонента смертности и  $\alpha$  – возрастная компонента смертности. На рис. 3 и 4 приведены точечные графики, иллюстрирующие значения параметров  $R$  и  $\alpha$  для различных экспериментов. Визуальный анализ этих диаграмм показывает, что в случае самок опухолевый супрессор *ex* существенно отличается от контроля по параметру  $\alpha$  в сторону увеличения, а опухолевые супрессоры *gd* и *hyd* отличаются по значению параметра  $R$  в сторону его увеличения. У самцов гетерозиготы по *hem*, *hyd* и *ex* имеют увеличенный параметр  $\alpha$  относительно контроля. Гетерозиготы же по опухолевому супрессору *gd* имеют увеличенный параметр  $R$ .

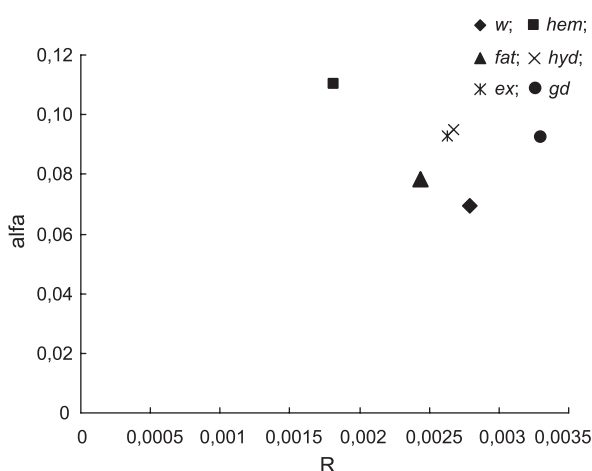
Для того чтобы проверить эти наблюдения, провели дополнительное исследование. Для каждого эксперимента (опухолевый супрессор, самцы и самки отдельно) были сформулированы две гипотезы. 1. Контроль и опыт не различаются по параметру  $\alpha$ , но могут иметь разные значения параметра  $R$  ( $\alpha$ -const). 2. Контроль и опыт не различаются по параметру  $R$ , но могут иметь разные значения параметра  $\alpha$  ( $R$ -const). В первом случае для каждой пары контроль–опыт проводили минимизацию суммарного значения функции  $F_n$  для опыта и контроля при варьировании общего для опыта и контроля параметра  $\alpha$  и двух параметров  $R$ , характеризующих опыт и контроль. Во втором – для каждой пары контроль–опыт проводили минимизацию суммарного значения функции  $F_n$  для опыта и контроля при варьировании общего для опыта и контроля параметра  $R$  и двух параметров  $\alpha$ , характеризующих опыт и контроль. Результаты расчетов приведены в табл. 2.

Анализ данных табл. 2 показывает, что для самок *gd* в сравнении с контролем предпочтительна гипотеза о различных значениях параметра  $\alpha$ , а для самок *ex* – противоположная гипотеза. Эти результаты совпадают с ожидаемыми из качественного рассмотрения, проведенного выше. В то же время очевидное из качественного рассмотрения увеличение параметра  $R$  для гетерозигот по *hyd* не находит подтверждения при количественном рассмотрении. У самцов для гетерозигот *hem*, *hyd* и *ex* подтверждается гипотеза о различиях в значении параметра  $\alpha$ , что хорошо совпадает с результатами визуального анализа.

Анализ данных табл. 2 показывает, что для самок *gd* в сравнении с контролем предпочтительна гипотеза о различных значениях параметра  $\alpha$ , а для самок *ex* – противоположная гипотеза. Эти результаты совпадают с ожидаемыми из качественного рассмотрения, проведенного выше. В то же время очевидное из качественного рассмотрения увеличение параметра  $R$  для гетерозигот по *hyd* не находит подтверждения при количественном рассмотрении. У самцов для гетерозигот *hem*, *hyd* и *ex* подтверждается гипотеза о различиях в значении параметра  $\alpha$ , что хорошо совпадает с результатами визуального анализа.



**Рис. 3.** Значения параметров ( $R$  – ось абсцисс и  $\alpha$  – ось ординат) модели Гомпертца, аппроксимирующей экспериментальные кривые выживаемости для самок, гетерозиготных по мутациям опухолевых супрессоров.



**Рис. 4.** Значения параметров ( $R$  – ось абсцисс и  $\alpha$  – ось ординат) модели Гомпертца, аппроксимирующей экспериментальные кривые выживаемости для самцов, гетерозиготных по мутациям опухолевых супрессоров.



**Таблица 2**  
Сравнение гипотез  $\alpha$ -const и R-const  
для пар контроль–опыт

Вариант	$\chi^2$ (Fn)	
	$\alpha$ -const	R-const
Самки		
<i>w/l(3)hem</i>	0,0269	0,0274
<i>w/hyd</i>	0,03853	0,0452
<i>w/gd</i>	0,02352*	0,0652
<i>w/ex</i>	0,06329	0,0190*
<i>w/ft</i>	0,02483	0,0251
Самцы		
<i>w/l(3)hem</i>	0,0279	0,0129*
<i>w/hyd</i>	0,0179	0,0092*
<i>w/gd</i>	0,0301	0,0236
<i>w/ex</i>	0,0211	0,0134*
<i>w/ft</i>	0,0205	0,0194

\* Значения, имеющие лучшее соответствие с экспериментальными данными.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Нами показано, что мутации в изученных генах супрессоров опухолей (*l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* и *ft*) ведут к снижению средней продолжительности жизни. Модулирующий эффект на продолжительность жизни может быть обусловлен вовлеченностью генов онкосупрессоров в старение-ассоциированный внутриклеточный сигналинг. Изученные нами гены опухолевых супрессоров вовлечены в старение-ассоциированные сигнальные пути *hedgehog*, *Notch* и *Nippo* (Carlson *et al.*, 2008; Cai *et al.*, 2010). Кроме того, супрессоры опухолей, включая белки семейства *p53/p63/p73*, *BRCA1*, *pVHL* и *WT1*, являются ингибиторами транскрипции гена рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 *IGF-1R* (Werner, 2012). Экспериментально установлено, что экспрессия *p53* с доминантно негативным эффектом (*DN-Dmp53-Ct* или *DN-Dmp53-259H*) в нейронах имаго дрозофил ведет к подавлению инсулинового сигналинга и увеличению медианной (на 11–26 %) и максимальной (на 10–16 %) продолжительности жизни (Bauer *et al.*, 2005). Увеличение уровня экспрессии гена опухолевого супрессора *Imp-L2* также ведет к подавлению инсулинового сигналинга, увеличе-

нию продолжительности жизни и устойчивости к окислительному стрессу у дрозофилы (Alic *et al.*, 2011). Полученные нами результаты согласуются с ролью супрессоров опухолей как генов, ассоциированных со здоровьем и долголетием (Budovsky *et al.*, 2009).

Проведенный в настоящей работе статистический анализ показал, что детектирование различий параметров возрастной и фоновой компонент смертности для линий дрозофилы с различными генотипами возможно при использовании усовершенствованного нами метода анализа особенностей кривой выживаемости Гомпертца. Мы показали, что в классе генов опухолевых супрессоров имеется ген *gd*, гетерозиготная мутация которого увеличивает фоновую компоненту смертности (R) по сравнению с контролем у самок. У самок также был обнаружен случай противоположного влияния – увеличение возрастной компоненты (*ex*). У самцов были обнаружены только случаи увеличения возрастной компоненты смертности.

Точный биологический смысл параметров R и  $\alpha$  уравнения Гомпертца пока еще не выяснен (Olshansky, Carnes, 1997; Sas *et al.*, 2012). Однако в рамках теории отработанной сомы (Kirkwood, 1988) фоновую компоненту смертности R можно интерпретировать как интенсивность гибели особей в начале взрослой жизни, в то время как возрастную компоненту смертности  $\alpha$  – как интенсивность лавинообразного накопления молекулярных и клеточных повреждений в стареющем организме (Kirkwood, 2005).

Наше исследование показывает, что гетерозиготные мутации по опухолевым супрессорам могут изменять как первый, так и второй процесс. Отметим, что в нашей выборке мутации, изменяющие возрастную смертность, встречались чаще. Это может говорить о том, что возраст-зависимая гибель более легко может подвергаться модификации как со стороны генетического фона, так и со стороны внешних факторов. Фоновая же компонента более константна; возможно, что мутации, вызывающие увеличение продолжительности жизни, увеличивают именно эту компоненту.

Разделение компонент смертности может быть проведено при помощи стандартных статистических пакетов программ. В этом случае необходимо определить границы варьирования

параметров R и  $\alpha$  для опыта и контроля, а затем показать, что опыт и контроль достоверно различаются по первому и второму параметрам. Границы варьирования параметров для опыта и контроля в экспериментах, подобных нашим, всегда велики и достоверность различий показать не удастся. Предложенный способ анализа, в котором сравниваются две альтернативные гипотезы, менее точен: действительно, выбирается только главный параметр, отвечающий за различия. Если при этом значения второго параметра тоже отличаются, то это будет проигнорировано. Однако наш опыт показал, что взамен этого упрощения мы получаем возможность детектирования довольно тонких различий между опытом и контролем.

Таким образом, полученные нами результаты показывают, что задача нахождения генов, преимущественно влияющих на возрастную или фоновую компоненты смертности, является разрешимой при дальнейшем расширении круга изученных мутаций различных генов.

Исследования поддержаны проектом УрО РАН № 12-С-4-1019 и проектом СО РАН № 81.

## ЛИТЕРАТУРА

- Вайсман Н.Я. Неожиданные эффекты генов-супрессоров опухоли в онтогенезе дрозофилы // Журн. общ. биологии. 2013. Т. 74. № 2. С. 83–98.
- Вайсман Н.Я., Евгеньев М.Б., Голубовский М.Д. Параллелизм и парадоксальность действия на жизнеспособность и продолжительность жизни мутаций регулятора белков теплового шока *hsf1* и онкосупрессора *l(2)gl* у *Drosophila melanogaster* // Изв. РАН. Сер. биол. 2012. № 1. С. 27–34.
- Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. М.: Наука, 1991. 280 с.
- Alic N., Hoddinott M.P., Vinti G. *et al.* Lifespan extension by increased expression of the *Drosophila* homologue of the IGF1R tumour suppressor // *Aging Cell*. 2011. V. 10. No. 1. P. 137–147.
- Ashburner M. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. V. 1. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. 1409 p.
- Bauer J.H., Poon P.C., Glatt-Deeley H. *et al.* Neuronal expression of p53 dominant-negative proteins in adult *Drosophila melanogaster* extends life span // *Curr. Biol*. 2005. V. 15. No. 22. P. 2063–2068.
- Blaumueller C.M., Mlodzik M. The *Drosophila* tumor suppressor expanded regulates growth, apoptosis, and patterning during development // *Mech. Dev*. 2000. V. 92. No. 2. P. 251–262.
- Bryant P.J., Watson K.L., Justice R.W. *et al.* Tumor suppressor genes encoding proteins required for cell interactions and signal transduction in *Drosophila* // *Dev. Suppl*. 1993. P. 239–249.
- Budovsky A., Tacutu R., Yanai H. *et al.* Common gene signature of cancer and longevity // *Mech. Ageing Dev*. 2009. V. 130. No. 1/2. P. 33–39.
- Cai J., Zhang N., Zheng Y. *et al.* The Hippo signaling pathway restricts the oncogenic potential of an intestinal regeneration program // *Genes Dev*. 2010. V. 24. No. 21. P. 2383–2388.
- Carlson M.E., Silva H.S., Conboy I.M. Aging of signal transduction pathways, and pathology // *Exp. Cell Res*. 2008. V. 314. No. 9. P. 1951–1961.
- Gateff E. Tumor-suppressor genes, hematopoietic malignancies and other hematopoietic disorders of *Drosophila melanogaster* // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1994. V. 712. P. 260–279.
- Hamaratoglu F., Willecke M., Kango-Singh M. *et al.* The tumour-suppressor genes NF2/Merlin and Expanded act through Hippo signalling to regulate cell proliferation and apoptosis // *Nat. Cell Biol*. 2006. V. 8. No. 1. P. 27–36.
- Harman D. The aging process // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1981. V. 78. No. 11. P. 7124–7128.
- Jaekel R., Klein T. The *Drosophila* Notch inhibitor and tumor suppressor gene lethal (2) giant discs encodes a conserved regulator of endosomal trafficking // *Dev. Cell*. 2006. V. 11. No. 5. P. 655–669.
- Kinzler K.W., Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers // *Nature*. 1997. V. 386. No. 6627. P. 761, 763.
- Kirkwood T.B. The nature and causes of ageing // *Ciba Found Symp*. 1988. V. 134. P. 193–207.
- Kirkwood T.B. Understanding the odd science of aging // *Cell*. 2005. V. 120. No. 4. P. 437–447.
- Lee J.D., Amanai K., Shearn A. *et al.* The ubiquitin ligase Hyperplastic discs negatively regulates hedgehog and decapentaplegic expression by independent mechanisms // *Development*. 2002. V. 129. No. 24. P. 5697–5706.
- Mansfield E., Hersperger E., Biggs J. *et al.* Genetic and molecular analysis of hyperplastic discs, a gene whose product is required for regulation of cell proliferation in *Drosophila melanogaster* imaginal discs and germ cells // *Dev. Biol*. 1994. V. 165. No. 2. P. 507–526.
- Olshansky S.J., Carnes B.A. Ever since Gompertz // *Demography*. 1997. V. 34. No. 1. P. 1–15.
- Pertceva J.A., Dorogova N.V., Bolobolova E.U. *et al.* The role of *Drosophila* hyperplastic discs gene in spermatogenesis // *Cell Biol. Int*. 2010. V. 34. No. 10. P. 991–996.
- Sas A.A., Snieder H., Korf J. Gompertz' survivorship law as an intrinsic principle of aging // *Med. Hypotheses*. 2012. V. 78. No. 5. P. 659–663.
- Silva E., Tsatskis Y., Gardano L. *et al.* The tumor-suppressor gene fat controls tissue growth upstream of expanded in the hippo signaling pathway // *Curr. Biol*. 2006. V. 16. No. 21. P. 2081–2089.
- Tacutu R., Craig T., Budovsky A. *et al.* Human Ageing Genomic Resources: integrated databases and tools for the biology and genetics of ageing // *Nucl. Acids Res*. 2013. V. 41. No. Database issue. P. D1027–1033.
- Wang C., Li Q., Redden D.T. *et al.* Statistical methods for



- testing effects on «maximum lifespan» // *Mech. Ageing Dev.* 2004. V. 125. No. 9. P. 629–632.
- Werner H. Tumor suppressors govern insulin-like growth factor signaling pathways: implications in metabolism and cancer // *Oncogene*. 2012. V. 31. No. 22. P. 2703–2714.
- Willecke M., Hamaratoglu F., Kango-Singh M. *et al.* The fat cadherin acts through the hippo tumor-suppressor pathway to regulate tissue size // *Curr. Biol.* 2006. V. 16. No. 21. P. 2090–2100.
- Wilson D.L. The analysis of survival (mortality) data: fitting Gompertz, Weibull, and logistic functions // *Mech. Ageing Dev.* 1994. V. 74. No. 1/2. P. 15–33.

## ROLE OF HETEROZYGOUS TUMOR SUPPRESSORS IN THE LIFE LONGEVITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

S.A. Kopyl<sup>1</sup>, L.V. Omelyanchuk<sup>1</sup>, M.V. Shaposhnikov<sup>2,3</sup>, A.A. Moskalev<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: ome@mcb.nsc.ru;

<sup>2</sup> Institute of Biology, Komi Center of UB RAS, Syktivkar, Russia;

<sup>3</sup> Syktivkar State University, Russia;

<sup>4</sup> Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

### Summary

Role of tumor-suppressor genes in the life longevity has not been studied in detail. The purpose of the current work is to study the influence of heterozygous tumor suppressors on the life span of *Drosophila*. We show that heterozygotes for *l(3)hem*, *hyd*, *gd*, *ex* or *ft*, both females and males, have a shorter life. The analysis of Gompertz curve parameters indicates that the *l(3)hem*, *hyd* or *gd* mutations increase age-related parameter ( $\alpha$ ) in males, while *gd* mutation increases the death background parameter (R) and the *ex* age-related parameter in females. The effects of the mutations on the life span are probably associated with hedgehog (*hyd*), Notch (*gd*) и Hippo (*ex* и *ft*) signal transduction pathways.

**Key words:** longevity, tumor suppressors, Gompertz curve, *Drosophila melanogaster*.