

УДК 575.162 + 577.24

ГЕН *SHAGGY*, КОДИРУЮЩИЙ ПРОТЕИНКИНАЗУ GSK3, КОНТРОЛИРУЕТ ЗАВИСИМОЕ ОТ ПОЛА ВЛИЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАСТЕРОВ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ *D. melanogaster* НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ

© 2024 Н. В. Рощина^{1, 2#}, Е. Р. Веселкина^{1#}, *, М. В. Тростников³, Е. Г. Пасюкова^{1, **}

¹Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, 123182 Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

³Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334 Россия

*e-mail: veselkinaer123@gmail.com

**e-mail: egpas@rambler.ru

Поступила в редакцию 25.03.2024 г.

После доработки 19.04.2024 г.

Принята к публикации 08.05.2024 г.

Дофаминергические нейроны контролируют поведение, память и подвижность, а причинно-следственная связь нарушения их работы с нейродегенеративными заболеваниями и старением привлекает внимание к исследованию участия дофаминергических нейронов в регуляции продолжительности жизни. Важную роль в работе дофаминергических нейронов играет высококонсервативная серин-треониновая протеинкиназа GSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3) — один из важнейших мультифункциональных ферментов клеток высших организмов, которую у *Drosophila melanogaster* кодирует ген *shaggy*. В этой статье впервые приведены доказательства того, что изменение уровня экспрессии *shaggy* всего лишь в нескольких кластерах дофаминергических нейронов может повлиять на продолжительность жизни. Это влияние может быть как отрицательным, так и положительным и зависит от пола. Полученные данные могут послужить основой для дальнейшего поиска сфокусированных на конкретных клетках-мишенях факторов, регулирующих темпы старения, а также для разработки высокоспецифичных подходов к терапии нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: продолжительность жизни, нервная система, дофаминергические нейроны, протеинкиназа GSK3, *Drosophila melanogaster*.

Авторы внесли равный вклад в работу.

DOI: 10.31857/S0016675824100127 EDN: WEIMKM

Дофаминергические (ДА) нейроны играют важную роль в формировании памяти, поведения, мотивации к обучению, подвижности, сна и других свойств организма, причем их функции весьма сходны у представителей разных таксонов [1]. Депрессия, шизофрения и нейродегенеративные заболевания, связанные с нарушением продолжительности жизни, связаны с нарушением работы ДА нейронов [1, 2]. Таким образом, ДА нейроны являются важным компонентом нервной системы, который поддерживает здоровое долголетие.

Действительно, в опытах с модельным объектом *Drosophila melanogaster* была продемонстрирована связь между свойствами дофаминергической

системы и продолжительностью жизни. Оказалось, что с возрастом в короткоживущих инбредных линиях природного происхождения наблюдается потеря ДА нейронов, тогда как в долгоживущих линиях их число сохраняется [3]. Опубликованы также результаты немногочисленных исследований, в которых показано, что изменение работы отдельных генов в ДА нейронах может привести к изменению продолжительности жизни дрозофилы [4, 5]. Более того, оказалось, что вклад отдельных групп ДА нейронов в продолжительность жизни может быть неравноценным [5].

Ранее мы продемонстрировали, что изменение экспрессии гена *shaggy*, кодирующего

протеинкиназу GSK3 (Glycogen Syntase Kinase 3), в различных типах нейронов, в том числе в ДА нейронах, приводит к разнонаправленным изменениям продолжительности жизни самцов и самок *D. melanogaster* [4]. GSK3 является высококонсервативной мультифункциональной серин-треониновой протеинкиназой, которая играет важную роль в поддержании функциональной целостности нервной системы [6, 7]. В частности, повышение активности GSK3 способствует патогенезу болезни Паркинсона и гибели ДА нейронов [8]. Напротив, снижение активности GSK3 рассматривается как потенциальный эффективный вариант терапии паркинсонизма [9]. GSK3 фосфорилирует транскрипционные факторы CREB и NURR1 [10, 11] и таким образом способна повлиять на экспрессию гена *pale*, кодирующего тирозингидроксилазу, ключевой фермент биосинтеза дофамина. Этим может объясняться значение GSK3 для правильной работы ДА нейронов. Мы решили проверить, повлияет ли изменение экспрессии *shaggy* в отдельных кластерах ДА нейронов на продолжительность жизни. Особый интерес представлял вопрос о том, можно ли, изменив экспрессию гена, добиться увеличения продолжительности жизни.

Для работы мы выбрали трансгенную конструкцию, в которой кДНК-копия основного транскрипта гена *shaggy* имеет аминокислотную замену А81Т (транскрипт *sggRB-A81T*), а эффект активации конструкции охарактеризован как доминантно-негативный по отношению к эндогенному пулу GSK3 [12]. Активация *sggRB-A81T*, т. е. уменьшение суммарной активности GSK3, во всех кластерах ДА нейронов приводила к снижению продолжительности жизни самцов и увеличению продолжительности жизни самок [4].

Дофаминергическая система *D. melanogaster* устроена достаточно просто и содержит 125 ДА нейронов в каждом полушарии мозга. Клеточные тела ДА нейронов сгруппированы в кластеры (*ram*, *pal*, *rpl1*, *rpl2ab*, *rpl2c*, *rpm1*, *rpm2*, *rpm3*, *T1* и *Sb*) и легко визуализируются [13] (рис. 1, а).

Для оценки влияния сверхэкспрессии транскрипта *sggRB-A81T* в отдельных кластерах ДА нейронов на продолжительность жизни в работе была использована модификация классической бинарной экспрессионной системы GAL4-UAS [14]. Выбранная модификация, которая основана на применении драйверов Split_GAL4, позволяет получать более ограниченные и специфические наборы клеток для активации трансгенных конструкций [15]. В настоящей работе были использованы Split_GAL4 драйверы, любезно предоставленные Марком Ву (Mark Wu, Johns Hopkins University School of Medicine, США) и обеспечивающие активацию трансгенных конструкций в разных кластерах ДА нейронов [13,

16]. Используя стандартные скрещивания с хромосомами-балансерами, мы получили линии, в геноме которых присутствовали комбинации Split_GAL4 драйверов, обеспечивающие экспрессию трансгенных конструкций в выбранных нами наборах кластеров ДА нейронов (см. рис. 1, б).

Линия *w[1118]; P{TH-C-GAL4.AD}attP40; P{TH-F-GAL4.DBD}attP2* (Д1) активирует трансгенные конструкции в одиночных нейронах кластеров *rpl1* и *rpl2ab*, во всех нейронах кластеров *rpm1* и *rpm2* и трех нейронах кластера *Sb* [13].

Линия *w[1118]; P{TH-D-GAL4.AD}attP40; P{TH-F-GAL4.DBD}attP2* (Д2) активирует трансгенные конструкции во всех нейронах кластеров *rpl1*, *rpl2c*, в нескольких нейронах кластера *rpm2* и во всех нейронах кластера *rpm3* [13].

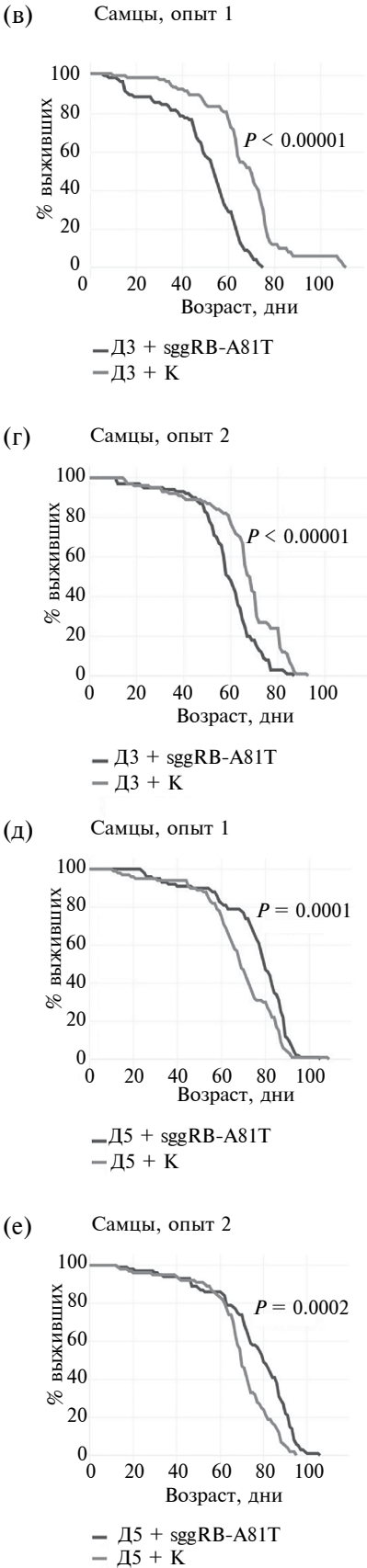
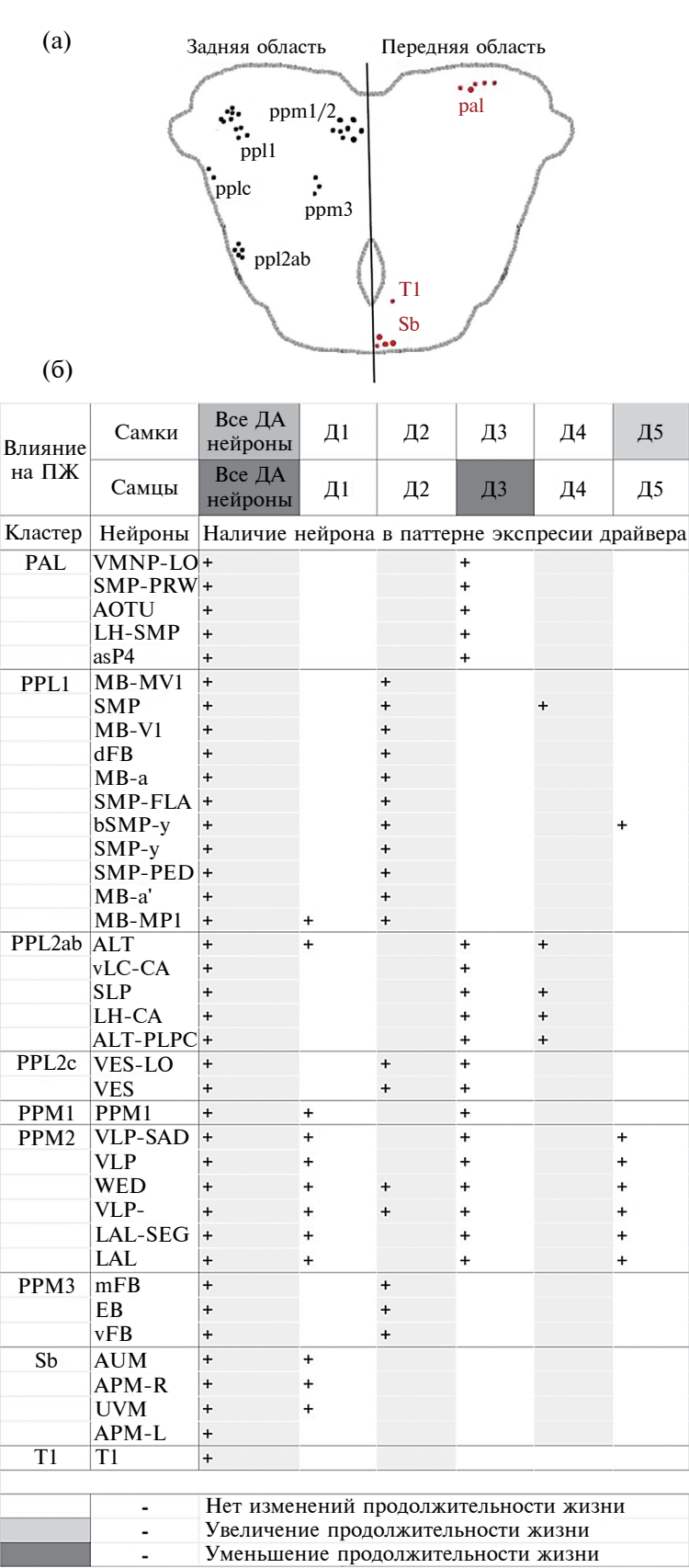
Линия *w[1118]; P{TH-C'-GAL4}* (Д3) активирует трансгенные конструкции во всех нейронах *rpl2*-кластера, в большей части нейронов кластеров *rpm1* и *rpm2* и нескольких нейронах (3–5 штук) *pal*-кластера [16].

Линия *w[1118]; P{VmatR76F02-GAL4.AD}attP40; P{TH-C-GAL4.DBD}attP2* (Д4) активирует трансгенные конструкции в одном ДА нейроне кластера *rpl1* и в четырех из пяти ДА нейронов кластера *rpl2ab* [13].

Линия *w[1118]; P{TH-D-GAL4.AD}attP40; P{VmatR76F05-GAL4.DBD}attP2* (Д5) активирует трансгенные конструкции в единичном нейроне *rpl1* и во всех нейронах *rpm2* [13].

Для изменения экспрессии *shaggy* и активности GSK3 была использована линия *w[1118]; P{w[+mC] = UAS-sgg.A81T}MB2* (*sggRB-A81T*). Она содержит трансгенную конструкцию, включающую кДНК-копию транскрипта *sggRB-A81T*, кодирующего изоформу РВ протеинкиназы GSK3 с аминокислотной заменой А81Т в киназном домене. Данная замена блокирует ферментативную активность белка и обеспечивает доминантно-негативный эффект активации *sggRB-A81T*. Линия *w[1118]* (К) без вставки трансгенной конструкции была использована в качестве контрольной [12].

Для индукции экспрессии трансгенной конструкции самцов линии *sggRB-A81T*, а также самцов линии К скрещивали с самками каждой из драйверных линий (Д1–Д5). Для измерения продолжительности жизни самцов и самок всех гибридных генотипов собирали в течение дня и помещали в пробирки с питательной средой (манная крупа, изюм, сахар, дрожжи, агар-агар, нипагин, пропионовая кислота), по пять мух каждого пола отдельно. Число мертвых особей в пробирках регистрировали ежедневно; все культуры вели при 25 °С. Выборка составила 100 особей на генотип/пол; некоторые опыты были повторены дважды.



Для оценки полученных данных использовали стандартный статистический анализ продолжительности жизни [17]. Для оценки статистической значимости различий между кривыми выживания использовали критерий Манна–Уитни.

В первом эксперименте была проведена оценка продолжительности жизни гибридных самцов и самок, полученных в результате скрещивания *sggRB-A81T* и *K* с драйверными линиями Д1, Д2 и Д3. Этот набор драйверов активирует экспрессию трансгенной конструкции в различных и частично перекрывающихся кластерах нейронов (см. рис. 1, б), включая все группы, кроме *ram*, *T1* и единственного нейрона *Sb*. Основной целью использования такого набора драйверных линий было выявление групп кластеров, изменение экспрессии *shaggy* в которых могло бы имитировать эффект изменения его экспрессии во всех нейронах.

Продолжительность жизни гибридных самок, паттерн экспрессии *sggRB-A81T* у которых определялся драйверами Д1 и Д2, не изменилась ($P = 0,1359$, $P = 0,2498$), а в эксперименте с драйвером Д3 снизилась только в одном из двух повторных экспериментов ($P = 0,0001$, $P = 0,3966$). Таким образом, изменение активности GSK3 в протестированных наборах кластеров ДА нейронов не привело к достоверному и воспроизводимому изменению продолжительности жизни самок. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что влияние измененной активности GSK3 на продолжительность жизни самок обеспечивается специфической комбинацией нейронов разных кластеров, которая не представлена ни в одном из трех экспериментов, но существующей в случае активации трансгенной конструкции во всех нейронах.

Продолжительность жизни гибридных самцов, паттерн экспрессии *sggRB-A81T* у которых определялся драйверами Д1 и Д2, не изменилась ($P = 0,3697$, $P = 0,4792$), но была достоверно снижена в случае паттерна, обеспечиваемого драйвером Д3 ($P < 0,00001$, $P < 0,00001$; см. рис. 1, в, г). Таким образом, изменение активности GSK3 в кластерах ДА нейронов *pal*, *ppl2ab* и *ppl2c*, *ppm1* и *ppm2*

привело к достоверному и воспроизводимому изменению продолжительности жизни самцов. Такой паттерн активации трансгенной конструкции полностью воспроизвел эффект активации во всех ДА нейронах. *sggRB-A81T* был активирован в нейронах кластеров *ppl2c*, *ppm1* и *ppm2* также с помощью драйверов Д1 и Д2, однако это не привело к изменению продолжительности жизни гибридных самцов. Возможно, изменение активности GSK3 в этих нейронах не влияет на продолжительность жизни, и важное значение имеет лишь модификация активности GSK3 в нейронах кластеров *pal* и *ppl2ab*. Однако нельзя исключить и того, что принципиальную роль в контроле продолжительности жизни самцов играет взаимодействие нейронов кластеров *ppl2c*, *ppm1* и *ppm2* с нейронами кластера *pal* и *ppl2ab*.

Чтобы уточнить набор кластеров ДА нейронов, изменение активности GSK3 в которых приводит к изменению продолжительности жизни, во втором эксперименте мы использовали драйверы Д4 и Д5, которые затрагивают небольшое количество кластеров и отдельные нейроны. Ранее мы показали, что изменение продолжительности жизни при активации *sggRB-A81T* во всех ДА нейронах связано с потерей единичных нейронов в кластере *ppl2ab* [4]. В связи с этим было принято решение оценить эффект измененной активности GSK3 в нейронах этого кластера на продолжительность жизни, используя драйвер Д4 (см. рис. 1, б). Кроме того, используя драйвер Д5 (см. рис. 1, б), мы оценили продолжительность жизни особей, у которых активность GSK3 изменялась только в единственном нейроне *ppl1* и кластере *ppm2*.

Продолжительность жизни гибридных самок, паттерн экспрессии *sggRB-A81T* у которых определялся драйвером Д4, слабо увеличилась в одном из экспериментов и не изменилась в повторном ($P = 0,0397$, $P = 0,9046$), что свидетельствует об отсутствии достоверного и воспроизводимого эффекта. Таким образом, изменение активности GSK3 в кластере *ppl2ab* не влияет на продолжительность жизни самок, что подтверждает результаты опыта с драйвером Д3. Продолжительность жизни гибридных самок, паттерн экспрессии *sggRB-A81T* у которых определялся драйвером Д5, увеличилась в обоих экспериментах ($P = 0,0001$, $P = 0,0002$; рис. 1, д, е), что свидетельствует о достоверном и воспроизводимом влиянии активации трансгенной конструкции в кластере *ppm2* и одном из нейронов кластера *ppl1* на исследуемый признак. Таким образом, изменение активности GSK3 только в нейронах кластера *ppm2* и одном нейроне *ppl1* полностью воспроизвело положительное влияние на продолжительность жизни самок, продемонстрированное ранее при изменении активности GSK3 во всех ДА нейронах. Следует отметить, однако,

Рис. 1. Роль дофаминергических нейронов в контроле продолжительности жизни. а — схема расположения дофаминергических нейронов в головном мозге взрослой особи *D. melanogaster*; б — паттерн экспрессии драйверов Д1–Д5 в дофаминергических нейронах (по [13, 16]). Кластер *ram*, включающий около 200 дофаминергических нейронов, расположенных в нижней части мозга, не представлен; в, г — кривые выживания самцов (первый и второй опыты); д, е — кривые выживания самок (первый и второй опыты) с измененной экспрессией гена *shaggy* в отдельных кластерах дофаминергических нейронов. ПЖ — продолжительность жизни. P — вероятность различий кривых выживания, критерий Манна–Уитни.

что изменение экспрессии *shaggy* в кластере *rrm2* одновременно с изменением в нейронах некоторых других кластеров (драйверы Д1, Д3, рис. 1, б) не привело к увеличению продолжительности жизни самок.

Продолжительность жизни гибридных самцов, паттерн экспрессии *sggRB-A81T* у которых определялся драйверами Д4 и Д5, снизилась в одном из проведенных экспериментов и не изменилась в другом ($P = 0.0001$, $P = 0.5574$; $P = 0.0001$, $P = 0.1566$), что свидетельствует об отсутствии достоверного и воспроизводимого эффекта. Таким образом, снижение активности GSK3 в единичных нейронах кластера *rpl1* и нейронах кластеров *rpl2ab* и *rrm2* не влияет на продолжительность жизни самцов. Формально, учитывая результаты опыта с драйвером Д3, можно предположить, что снижение продолжительности жизни самцов связано с изменением активности GSK3 в нейронах кластера *ral*.

Отметим, что продолжительность жизни — сложный признак, зависящий от работы многих генов в различных клетках, и надежно выявить влияние на него изменений в экспрессии определенного транскрипта одного гена в очень ограниченном количестве клеток достаточно трудно. В связи с этим мы опирались только на те результаты, которые воспроизвелись в независимых экспериментах. Обобщая, формальный анализ полученных результатов позволяет сказать, что изменение активности протеинкиназы GSK3 в нейронах кластера *rrm2* увеличивает продолжительность жизни самок, а изменение активности GSK3 в нейронах кластера *ral* уменьшает продолжительность жизни самцов так же, как изменение ее активности во всех ДА нейронах. Отметим также, что в целом наши эксперименты указывают на возможность взаимодействия различных кластеров нейронов в контроле продолжительности жизни.

Наличие у высших организмов сложной многокомпонентной сети нейронов различного типа предполагает высокий уровень функциональной специфичности различных их групп и даже отдельных нейронов. Например, проекция каждого ДА нейрона у дрозофилы индивидуальна, и даже находящиеся в одном кластере нейроны могут быть функционально гетерогенными [18]. Все больше данных указывают на то, что один нейрон или определенная группа нейронов могут влиять на сексуальное поведение [19], поиск пищи [20], агрессивность [21]. Так, активация определенных ДА нейронов в кластерах *rpl1* и *ram* приводила к запоминанию неприятного воздействия, тогда как активация других нейронов из этих кластеров не приводила к такому эффекту [22]. Известно, что нейроны *ral* и *rrm2* участвуют в формировании циркадных ритмов [23]. Неудивительно,

что влияние отдельных ДА нейронов и небольших их групп на продолжительность жизни также может различаться. Так, изменение экспрессии гена *Mask*, кодирующего предполагаемый скаффолд белок, в некоторых группах ДА нейронов приводило к увеличению продолжительности жизни, в то время как в других — нет [5]. Наши результаты свидетельствуют о том, что на продолжительность жизни влияет изменение экспрессии гена *shaggy* в нескольких кластерах ДА нейронов. Какие именно кластеры повлияют на продолжительность жизни, определяется тем, активность каких генов изменяется. Так, в наших экспериментах изменение экспрессии *shaggy*, индуцированное драйвером Д3, снизило продолжительность жизни самцов, в то время как в экспериментах, представленных в [5], изменение экспрессии *Mask*, индуцированное тем же драйвером, увеличило продолжительность жизни самцов.

Интересно, что продолжительность жизни самцов и самок зависит от разных нейронов с измененной экспрессией *shaggy*. Так, индукция трансгенной конструкции в кластере *rrm2* не влияет на продолжительность жизни самцов, но увеличивает продолжительность жизни самок, что полностью воспроизводит эффект активации трансгенной конструкции во всех ДА нейронах и, следовательно, указывает на ключевую роль кластера *rrm2* в контроле этого признака у самок. При этом эффект кластера *rrm2* проявляется только при отсутствии изменений экспрессии *shaggy* в других кластерах, что может свидетельствовать о разнонаправленном вкладе разных групп нейронов в контроль продолжительности жизни и их взаимодействии. В то же время активация трансгенной конструкции в кластере *rrm2* и кластерах *ral*, *rpl2* и *rrm1* приводит к снижению продолжительности жизни самцов. Учитывая, что изменение экспрессии *shaggy* в кластерах *rrm2*, *rpl2* и *rrm1* в разных комбинациях не повлияло на продолжительность жизни самцов, можно говорить о специфическом вкладе кластера *ral* в сокращение продолжительности жизни самцов. Высокая половая специфичность влияния кластеров ДА нейронов на продолжительность жизни может быть обусловлена особенностями функций отдельных нейронов у самцов и самок. Возможно, экспрессия двух транскрипционных факторов, участвующих в определении пола в ходе развития и кодируемых генами *fruitless* и *doublesex*, в нервной системе *D. melanogaster* может детерминировать половой диморфизм нервных клеток [24], который затем определяет особенности влияния различных белков, в том числе GSK3, на свойства нейронов и продолжительность жизни. Известно, например, что ДА нейроны кластера *rpl2ab* участвуют в восстановлении нормального полового поведения в старости [19].

Результаты, представленные в настоящей работе, доказывают, что активация экспрессии *sgg-RB-A81T* в отдельных кластерах дофаминергической системы *D. melanogaster* может приводить к эффектам, подобным эффектам активации экспрессии *sgg-RB-A81T* во всех ДА нейронах. Проведенные эксперименты позволили заключить, что роль разных кластеров ДА нейронов в контроле продолжительности жизни различна, и выделить те кластеры, изменение экспрессии гена *shaggy* в которых приводит к изменению этого признака.

Это открывает принципиальную возможность для дальнейшего поиска геропротекторных воздействий, направленных на конкретные клеточные мишени, что позволит повысить их эффективность и безопасность.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ “Курчатовский институт”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объектов позвоночных животных и людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chinta S.J., Andersen J.K. Dopaminergic neurons // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2005. V. 37. № 5. P. 942–946. doi:10.1016/j.biocel.2004.09.009
2. Zhou Z.D., Yi L.X., Wang D.Q. et al. Role of dopamine in the pathophysiology of Parkinson's disease // Transl. Neurodegener. 2023. V. 12. № 1. P. 44. doi:10.1186/s40035023-00378-6
3. Coleman C.R., Pallos J., Arreola-Bustos A. et al. Natural variation in age-related dopamine neuron degeneration is glutathione-dependent and linked to life span // bioRxiv. 2024. doi:10.1101/2024.02.12.580013
4. Trostnikov M.V., Veselkina E.R., Kremontsova A.V. et al. Modulated expression of the protein kinase GSK3 in motor and dopaminergic neurons increases female lifespan in *Drosophila melanogaster* // Front. Genet. 2020. V. 11. doi:10.3389/fgene.2020.00668
5. Tian X. Enhancing *mask* activity in dopaminergic neurons extends lifespan in flies // Aging Cell. 2021. V. 20. № 11. doi:10.1111/accel.13493
6. Beurel E., Grieco S.F., Jope R.S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): Regulation, actions, and diseases // Pharmacol. Ther. 2015. V. 148. P. 114–131. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.11.016
7. Patel P., Woodgett J.R. Glycogen synthase kinase 3: A kinase for all pathways? // Curr. Top. Dev. Biol. 2017. V. 123. P. 277–302. doi:10.1016/bs.ctdb.2016.11.011
8. Golpich M., Amini E., Hemmati F. et al. Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK-3 β) signaling: Implications for Parkinson's disease // Pharmacol. Res. 2015. V. 97. P. 16–26. doi:10.1016/j.phrs.2015.03.010
9. Duda P., Wiśniewski J., Wójtowicz T. et al. Targeting GSK3 signaling as a potential therapy of neurodegenerative diseases and aging // Expert. Opin. Ther. Targets. 2018. V. 22. № 10. P. 833–848. doi:10.1080/14728222.2018.1526925
10. Ilouz R., Kowalsman N., Eisenstein M. et al. Identification of novel glycogen synthase kinase-3 β substrate-interacting residues suggests a common mechanism for substrate recognition // J. Biol. Chem. 2006. V. 281. № 41. P. 30621–30630. doi:10.1074/jbc.M604633200
11. García-Yagüe Á.J., Lastres-Becker I., Stefanis L. et al. α -Synuclein induces the GSK-3-mediated phosphorylation and degradation of NURR1 and loss of dopaminergic hallmarks // Mol. Neurobiol. 2021. V. 58. № 12. P. 6697–6711. doi:10.1007/s12035-021-02558-9
12. Bourouis M. Targeted increase in shaggy activity levels blocks wingless signaling // Genesis. 2002. V. 34. № 1–2. P. 99–102. doi:10.1002/gene.10114
13. Xie T., Ho M.C.W., Liu Q. et al. A genetic toolkit for dissecting dopamine circuit function in *Drosophila* // Cell. Rep. 2018. V. 23. № 2. P. 652–665. doi:10.1016/j.celrep.2018.03.068
14. Brand A.H., Perrimon N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes // Development. 1993. V. 118. № 2. P. 401–415. doi:10.1242/dev.118.2.401
15. Luan H., Diao F., Scott R.L. et al. The *Drosophila* split Gal4 system for neural circuit mapping // Front. Neural. Circuits. 2020. V. 14. doi:10.3389/fncir.2020.603397
16. Liu Q., Liu S., Kodama L. et al. Two dopaminergic neurons signal to the dorsal fan-shaped body to promote wakefulness in *Drosophila* // Curr. Biol. 2012. V. 22. № 22. P. 2114–2123. doi:10.1016/j.cub.2012.09.008
17. Carey J.R. Longevity: The biology and demography of life span. Princeton, NT: Princeton Univ. Press, 2003. 304 p.
18. Busto G.U., Cervantes-Sandoval I., Davis R.L. Olfactory learning in *Drosophila* // Physiology (Bethesda). 2010. V. 25. № 66. P. 338–346. doi:10.1152/physiol.00026.2010
19. Kuo S.-Y., Wu C.-L., Hsieh M.-Y. et al. PPL2ab neurons restore sexual responses in aged *Drosophila* males through dopamine // Nat. Commun. 2015. V. 6. № 1. P. 7490. doi:10.1038/ncomms8490.

20. Landayan D., Feldman D.S., Wolf F.W. Satiation state-dependent dopaminergic control of foraging in *Drosophila* // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 5777. doi:10.1038/s41598-018-24217-1.
21. Alekseyenko O.V., Chan Y.-B., Li R., Kravitz E.A. Single dopaminergic neurons that modulate aggression in *Drosophila* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. № 15. P. 6151–6156. doi:10.1073/pnas.1303446110
22. Aso Y., Herb A., Ogueta M. et al. Three dopamine pathways induce aversive odor memories with different stability // PLoS Genet. 2012. V. 8. № 7. doi: 10.1371/journal.pgen.1002768
23. Liang X., Holy T.E., Taghert P.H. Polyphasic circadian neural circuits drive differential activities in multiple downstream rhythmic centers // Curr. Biol. 2023. V. 33. № 2. P. 351–363.e3. doi: 10.1016/j.cub.2022.12.025
24. Rezával C., Nojima T., Neville M.C. et al. Sexually dimorphic octopaminergic neurons modulate female postmating behaviors in *Drosophila* // Curr. Biol. 2014. V. 24. № 7. P. 725–730. doi: 10.1016/j.cub.2013.12.051.

The *shaggy* Gene Encoding the GSK3 Protein Kinase Controls the Sex-Dependent Effects of Specific Clusters of *D. melanogaster* Dopaminergic Neurons on Lifespan

N. V. Roshina^{1, 2}, E. R. Veselkina¹, M. V. Trostnikov³, E. G. Pasyukova^{1, *}

¹National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia

²Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

³Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

*e-mail: egpas@rambler.ru

Dopaminergic neurons control behavior, memory, and locomotion, and the causal relationship of their dysfunction to neurodegenerative diseases and aging has drawn attention to investigating the involvement of dopaminergic neurons in the regulation of lifespan. The highly conserved serine-threonine protein kinase GSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3), one of the most important multifunctional cellular enzymes in higher organisms, which in *Drosophila melanogaster* is encoded by the *shaggy* gene, plays an important role in the function of dopaminergic neurons. This paper provides the first evidence that altering *shaggy* expression levels in just a few clusters of dopaminergic neurons can affect lifespan. This effect can be either negative or positive and depends on sex. The data obtained may serve as a basis for further search for targeted cell-specific factors regulating the rate of aging, as well as for the development of highly specific approaches to the therapy of neurodegenerative diseases.

Keywords: lifespan, the nervous system, dopaminergic neurons, protein kinase GSK3, *Drosophila melanogaster*.