

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ


КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность 06.03.01 - Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙРОМЫШЕЧНОЙ
РЕАКЦИЙ В УСЛОВИЯХ ФОЛАТНОЙ ДИЕТЫ НА ДРОЗОФИЛИНОЙ
МОДЕЛИ АМИОТРОФИЧЕСКОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО СКЛЕРОЗА

Работа завершена:

«04» июня 2022 г.

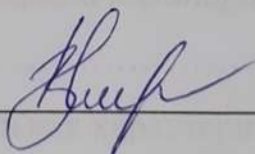


(Соколов Р. Д.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.б.н., стар. преп.

«5» июня 2022 г.




(Костенко В. В.)

И. о. заведующего кафедрой
гентики

д.б.н., доцент

«6» июня 2022 г.



(Каюмов А. Р.)

Казань-2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Формирование нервной системы <i>Drosophila melanogaster</i> на разных этапах онтогенеза.....	8
1.1.1. Формирование ЦНС на эмбриональной стадии развития <i>Drosophila melanogaster</i>	8
1.1.2. Формирование ЦНС на личиночной стадии развития <i>Drosophila melanogaster</i>	9
1.1.3. Формирование ЦНС на имагинальной стадии развития <i>Drosophila melanogaster</i>	10
1.1.4. Развитие эмбриональной и личиночной периферической нервной системы <i>Drosophila melanogaster</i>	15
1.2. Формирование поведенческих особенностей <i>Drosophila melanogaster</i>	18
1.2.1 Локомоторное поведение <i>Drosophila melanogaster</i>	18
1.2.2. Половое поведение <i>Drosophila melanogaster</i>	19
1.2.3. Обучение и память <i>Drosophila melanogaster</i> . Виды памяти насекомого.....	21
1.3. Структурно-функциональная характеристика гена <i>Sod</i> ¹ у <i>Drosophila melanogaster</i> . Дрозофилиновая модель бокового амиотрофического склероза.....	22
1.4. Роль фолиевой кислоты в организме.....	25
1.5. Экспрессионная система GAL4/UAS <i>Drosophila melanogaster</i>	28
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	32
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	32

2.1	Линии дрозофил, используемые в эксперименте.....	32
2.1.1.	Условия постановки скрещиваний и содержания мух.....	32
2.2	Методы оценки поведенческой активности <i>Drosophila melanogaster</i>	32
2.2.1	Метод оценки нервно-мышечной активности <i>Drosophila melanogaster</i>	32
2.2.2	Метод оценки условно-рефлекторного подавления ухаживания.....	34
2.2.3	Изучение параметров полового поведения самцов.....	35
2.3	Метод оценки продолжительности жизни.....	35
2.4	Метод математической обработки данных.....	36
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	37
3.1	Влияние фолатной диеты на жизнеспособность дрозофилы с дисфункцией гена <i>Sod¹</i>	37
3.2	Влияние фолатной диеты на формирование двигательной активности дрозофилы с дисфункцией гена <i>Sod¹</i>	40
3.3	Влияние фолатной диеты на формирование полового поведения дрозофилы с дисфункцией гена <i>Sod¹</i>	43
3.4	Оценка способности к обучению и формированию памяти самцов дрозофилы с дисфункцией гена <i>Sod¹</i> в условиях фолатной диеты.....	46
4	ВЫВОДЫ.....	50
5	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	50

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

VNC (БНТ) – брюшной нервный тяж	STM (shortterm memory) – кратковременная память
БСЭ – боковые соединительные элементы	MTM (middle-term memory) - среднесрочная память
ТК – тела клеток	ARM (anesthesia-resistant memory) – нечувствительность к анестезии
МСН – межсегментарный нерв	LTM (long-term memory) – долгосрочную память
СН – сегментарный нерв	БАС – боковой амиотрофический склероз
ЦНС – центральная нервная система	<i>Sod</i> ¹ – ген супероксидредуктазы I-го типа
НБ – нейробласты	ALS – амиотрофический латеральный склероз
БНШ - брюшной нервный шнур	АФК – активные формы кислорода
ПН – поперечный нерв	ГВ – гигантское волокно
ГТ – грибовидные тела	ДГФР – дигидрофолатредуктаза
ПНС – периферическая нервная система	ТГФ – тетрагидрофолиевая кислота
МДН – мультидендритные нейроны II типа	5,10-МТГФР – 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза
SAM – S-аденозилметионин	ТГФ – тетрагидрофолат
SAH – S-аденозилгомоцистеин	ПВФ1 – переносчик восстановленных фолатов
ДГФ – дигидрофолат	РФ – рецепторы фолата
ДМГ – диметилглицин	MTRR - редуктаза метионинсинтазы
ТГФ – тетрагидрофолат	PCFT - proton-coupled folate transporter
5-мТГФ – 5-метилтетрагидрофолат	RFC1 – переносчик восстановленных фолатов 1
АНСУ – аденозилгомоцистеиназа	SAH – S-аденозилгомоцистеин
ВНМТ – бетаин-гомоцистеин-метилтрансфераза	SAM – S-аденозилметионин
CBS - цистатионин-р-синтаза	SHMT – серингидроксиметилтрансфераза
СН – метилтетрагидрофолат-циклогидролаза	TYMS – тимидилатсинтаза.
DHFR – дигидрофолатредуктаза	ДНТ – дефекты нервной трубки
FPGS - фолилполиглутамат-синтаза	ВПР – врожденные пороки развития
FS - формилтетрагидрофолат-синтаза	MTHFD – метилен тетрагидрофолат дегидрогеназа
FTHFD – формилтетрагидрофолат дегидрогеназа	MTHFR – метилен тетрагидрофолат редуктаза
ГСРП – фолил-у-глутамат-карбоксипептидаза II	
МАТ – метионин аденозилтрансфераза	
MTR – метионинсинтаза	

ВВЕДЕНИЕ

Относительно небольшие размеры, жизненный цикл, составляющий 10-11 дней и простота содержания делает *Drosophila melanogaster* одним из лучших модельных объектов, наравне с бактериями *E. coli* и млекопитающими из семейства *Muridae*. В настоящее время полностью расшифрованы геномы 12 видов дрозофил и созданы сотни уникальных генных линий [Allosca *et al*, 2019]. Дрозофила широко используется в научных целях начиная с работ Томаса Ханта Моргана по генетике пола и хромосомной теории наследственности. Важными характеристиками *D. melanogaster* как модельного объекта является малое число хромосом, наличие политенных хромосом в ряде органов (например, слюнных железах личинки) и высокая генетическая гомология с человеком [Kumar and Lakhotia 2021]. Сегодня дрозофила используется как модель в изучении патогенеза ряда нейродегенеративных заболеваний человека, например мультисистемной атрофии, пароксизмальной дискинезии, синдрома Фара, болезни Вильсона [Haddadi, 2018]. Такого рода исследования стали возможны благодаря созданию трансгенных линий мух на основе системы UAS-Gal4, позволяющая оценивать подавление или гиперэкспрессию гена интереса [Нефедова, 2020].

Ген *Superoxide dismutase 1 (Sod¹)* кодирует антиоксидный фермент, роль которого заключается в защите внутриклеточного пространства от супероксид-анионов [Tanwir and Qasim, 2021]. Процесс созревания этого белка сложен и до конца не изучен, включая избирательное связывание ионов меди и цинка, образование внутрисубъединицы дисульфидная связь между Cys-57 и Cys-146 и димеризацией двух субъединиц [Lin, 2017]. Этот ген связан с возникновением болезни - боковым амиотрофическим склерозом (БАС) [Afnan *et al*, 2016].

Практически все известные мутации *Sod¹*, ассоциированные с развитием БАС, являются доминантными [Huai and Zhang, 2019]. Например,

одной мутантной копии гена *Sod*¹ достаточно, чтобы вызвать нейрологическую патологию [Hayashi *et al*, 2015]. Точный молекулярный механизм (или механизмы), с помощью которого мутации гена *Sod*¹ вызывают заболевание, неизвестен [Stoica, 2016]. Было выдвинуто предположение, что это может быть связано с токсическим усилением функции, поскольку многие ассоциированные с заболеванием мутанты *Sod*¹ (включая *G93A* и *A4V*) сохраняют ферментативную активность [Mondola *et al*, 2016]. Так, в опытах на мышах с нокаутом гена *Sod*¹ не развивается БАС (хотя они и проявляют сильную возраст-ассоциированную дистальную моторную невропатию) [Zhang, 2019].

Известно, что большинство метаболических путей у дрозофилы проявляют высокий консерватизм с биохимическими процессами у млекопитающих, включая и человека [Bayliak, 2020]. Фолиевая кислота относится к витаминам группы В и в организме человека синтезируется кишечной микрофлорой. Известно, что фолиевая кислота принимает участие в синтезе аминокислот, нуклеиновых кислот, пиримидинов, пуринов, обмене холина [Ramaekers, 2016]. В недавних исследованиях на мышах было продемонстрировано, что фолиевая кислота играет фундаментальную роль в функционировании ЦНС в любом возрасте, особенно в опосредованном метионинсинтазой превращении гомоцистеина в метионин, что необходимо для синтеза нуклеотидов, а также геномного и негеномного метилирования. Фолаты (гомологичные формы фолиевой кислоты) могут играть роль в профилактике нарушений развития ЦНС, расстройств настроения и деменции [Price *et al*, 2018].

Целью работы явилось определение особенностей формирования поведенческих реакций в условиях фолатной диеты у *Drosophila melanogaster* с мутацией в гене *Sod*¹, моделирующей амиотрофический латеральный склероз. Задачи работы:

- 1) Оценить выживаемость мутантов с функциональным нокаутом гена *Sod*¹ и нокдауном *Sod*¹ в нервной системе в условиях фолатной диеты.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Казанский (Приволжский) федеральный
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Соколов Р.Д.
Самоцитирование
рассчитано для: Соколов Р.Д.
Название работы: Генетический анализ формирования нейромышечных реакций в условиях фолатной диеты на дрозофилиной модели амиотрофического латерального склероза
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

ЗАИМСТВОВАНИЯ	20.75%	ЗАИМСТВОВАНИЯ	20.75%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	77.38%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	77.38%
ЦИТИРОВАНИЯ	1.87%	ЦИТИРОВАНИЯ	1.87%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 06.06.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 06.06.2022 16:02

Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Каюмов Айрат Рашитович
ФИО проверяющего

Дата подписи:



Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.