

УДК 577.24
DOI10.19110/1994-5655-2020-3-41-46

Е.Н. ПРОШКИНА*,
М.В. ШАПОШНИКОВ*, **Е.В. ЩЕГОЛЕВА***,
А.О. ЧЕРНЫШОВА*,
А.А. МОСКАЛЕВ*, **, ***

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *MITF* НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Институт биологии
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар

** Сыктывкарский государственный
университет им. Питирима Сорокина,
г. Сыктывкар

***Институт молекулярной биологии
им. В. А. Энгельгардта РАН,
г. Москва

amoskalev@list.ru

E.N. PROSHKINA*,
M.V. SHAPOSHNIKOV*,
E.V. SHCHEGOLEVA*,
D.O. CHERNYSHOVA*,
A.A. MOSKALEV*, **, ***

INFLUENCE OF *MITF* GENE OVEREXPRESSION ON THE LIFE SPAN OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar

** Pitirim Sorokin Syktyvkar State University,
Syktyvkar

*** V.A. Engelhardt Institute
of Molecular Biology, RAS,
Moscow

Аннотация

В работе исследована роль гена *Mitf*, кодирующего гомолог транскрипционного фактора TFEB и контролирующего лизосомально-аутофагический механизм клеточного гомеостаза в регуляции продолжительности жизни у *Drosophila melanogaster*. Показано, что кондиционная сверхэкспрессия *Mitf* в нервной системе приводит к снижению длительности жизни самок и самцов и угнетению репродуктивной функции самок, но не отражается на двигательной активности особей обоего пола.

Ключевые слова:

продолжительность жизни, MITF, TFEB, Drosophila melanogaster, сверхэкспрессия

Abstract

Transcription factor EB (TFEB) is a central regulator of lysosome biogenesis and functioning. It coordinates the autophagic flow and activates the expression of genes that provide all stages of the autophagy process. It is assumed that TFEB is one of the evolutionarily conserved longevity proteins. It mediates signaling pathways associated with aging and is essential for the life extension under geroprotective interventions. The ortholog of this transcription factor, MITF, has been identified in *Drosophila melanogaster*. We studied the effect of *Mitf* overexpression in the nervous system on the lifespan, reproductive ability and motor activity of *Drosophila melanogaster*.

The GAL4-UAS system was used for *Mitf* overexpression. Experimental individuals were obtained by crossing transgenic lines *UAS-Mitf* and *elav-GS-GAL4*, with subsequent activation of the conditioned driver using RU486 (Mifepristone, Sigma). In *Drosophila* with *Mitf* overexpression and without activation of overexpression, we studied the parameters of life span (average and median life span, age of 90 % mortality), reproduction parameters (fecundity and fertility), and average daily motor activity.

Conditioned *Mitf* overexpression in the nervous system led to a decrease in the average and median lifespan of females, as well as to 90% age-related mortality in both sexes. Besides, a decrease in fecundity and fertility was observed in females. However, the motor activity of males and females was not affected by *Mitf* overexpression. Thus, *Mitf* overexpression caused dysfunction and usually negative consequences. The mechanisms of these effects are difficult to explain based on the data obtained.

The negative effect of neuron-specific *Mitf* overexpression on the lifespan of *Drosophila* was revealed. However, it is necessary to conduct a research that identifies the mechanisms underlying the effects of *Mitf* gene activity and its orthologs, and look for ways to prolong life.

Keywords:

Lifespan, MITF, TFEB, Drosophila melanogaster, overexpression

Введение

Аутофагия является одним из основных процессов внутриклеточной деградаци и необходима для оборота макромолекул и органелл в клетке. Кроме того, она связывает метаболические и протеостатические сигналы, определяя ключевые физиологические стратегии клетки и детерминируя старение и продолжительность жизни (ПЖ) организма [1, 2]. Аутофагия усилена у многих долгоживущих модельных организмов и биологических видов (например, у голого землекопа) и в целом способствует долголетию [1, 3].

Транскрипционный фактор EB (TFEB) является центральным регулятором биогенеза и функционирования лизосом, лизосомального протеостаза и экзоцитоза. TFEB координирует аутофагический поток и активирует экспрессию генов, обеспечивающих все этапы процесса аутофагии, от образования везикул и аутофагосом до разрушения перевариваемого материала. Он также отвечает за регуляцию (β -окисления липидов, биогенеза и функционирования митохондрий, участвует в иммунном ответе [1, 4, 5, 6]. Предполагается, что TFEB является одним из эволюционно консервативных белков долголетия. Он опосредует связанные со старением сигнальные пути и необходим для увеличения ПЖ при геропротекторных интервенциях [1,2].

Лизосомы являются основным местом деградаци и утилизации поврежденных органоидов, липидов, модифицированных белков и белковых агрегатов. Старение клетки сопряжено с накоплением внутри лизосом неразлагаемого материала, называемого липофусцин [7]. Среди транскрипционных мишеней TFEB выявлены лизосомальные кислые гидролазы, участвующие в деградаци субстрата [8]. Возможно, TFEB играет ключевую роль в регуляции кислотности лизосом и, следовательно, в расщеплении липофусцина.

У *Drosophila melanogaster* идентифицирован ортолог TFEB – MTF. Он регулирует экспрессию генов, кодирующих субъединицы V-АТФазы, и многих генов, участвующих в лизосомально-аутофагическом механизме. Кроме того, он опосредует сигнальный путь mTOR [9, 10]. Мы предположили, что повышенная активность гена *Mitf* приведет к снижению уровня неразлагаемого материала в лизосомах, замедлению скорости клеточного старения, вызовет увеличение ПЖ и замедлит возрастзависимые изменения физиологических показателей. Цель данной работы – изучить влияние сверхэкспрессии *Mitf* на ПЖ, плодовитость и двигательную активность *Drosophila melanogaster*.

Материал и методы

Линии дрозофил и условия содержания

UAS-Mitf (генотип: w^{1118} , $P\{UAS-Mitf\}$) – трансгенная линия, в которой экспрессия дополнительной копии гена *Mitf* находится под контролем промотора UAS. Предоставлена Ф. Пигнони (Университет Апстейт, США).

Act5C-GS-GAL4 (генотип: $P\{Act5C(-FRT) GAL4.Switch.PR3\}/TM6B, Tb1$) – линия, у которой экс-

прессируется драйвер GAL4 во всех клетках организма в присутствии мифепристонa (RU486). Получена из коллекции дрозофилиного центра в Блумингтоне (Университет штата Индиана, Блумингтон, США).

Elav-GS-GAL4 (генотип: $P\{elav-GeneSwitch\}$) – линия с мифепристон-индуцибельным драйвером GAL4 в нервной системе (НС) дрозофилы. Предоставлена Х. Кешишаном (Йельский университет, Нью-Хейвен, США).

Дрозофил содержали в 20 мл пробирках с 5 мл питательной среды, содержащей манную крупу, дрожжи, сахар и агар-агар [11], при 25 °С, 60 % влажности воздуха, 12-часовом режиме освещения. Для поддержания стабильных условий использовали климатическую камеру Binder KBF720-ICH (Binder, Германия).

Активация сверхэкспрессии

Активацию экспрессии гена *Mitf* проводили с помощью GAL4-UAS системы [12]. Для получения экспериментальных особей производили скрещивание самцов с трансгеном *UAS-Mitf* с девственными самками драйверных линий *Act5C-GS-GAL4* и *elav-GS-GAL4*. Родительских особей рассаживали по 10 пар на пробирку (не менее 10 пробирок на каждый вариант скрещивания) и оставляли на 24 ч для откладки яиц. Так как потомство от скрещивания линий *UAS-Mitf* и *Act5C-GS-GAL4* оказалось нежизнеспособным, дальнейшую работу проводили только с потомками скрещивания *UAS-Mitf* и *elav-GS-GAL4* (анализировали эффекты нейрон-специфической сверхэкспрессии гена *Mitf*). Для активации сверхэкспрессии экспериментальных особей помещали на питательную среду, смазанную дрожжевой пастой с 25 мкг/мл RU486 (Mifepristone, Sigma) [13]. Для этого в пасту добавляли стоковый раствор мифепристонa с концентрацией 2,5 мг/мл в 100 %- ном этаноле в соотношении 1:100. На среду для контрольных мух наносили дрожжевую пасту с эквивалентным количеством этилового спирта.

Анализ продолжительности жизни

Для анализа ПЖ дрозофил отбирали 150–200 особей на вариант эксперимента (по 30 мух в пробирке). Самцы и самки жили отдельно. Начиная с первого дня жизни имаго, ежедневно вели подсчет числа умерших особей, два раза в неделю мух переносили на свежую среду. По полученным данным строили кривые дожития по методу Каплана-Мейера [14] и рассчитывали показатели ПЖ. Статистическую значимость различий между выборками оценивали с помощью непараметрических критериев Колмогорова-Смирнова [15], Мантеля–Кокса [16], Гехана–Бреслоу–Вилкоксона [17]. Достоверность различий по максимальной ПЖ оценивали методом Ванг–Аллисона [18]. Анализ статистических данных выполняли с помощью программы Statistica, версия 6.1 (StatSoft, США) и статистической среды R, версия 2.15.1 (The R Foundation).

Оценка показателей репродукции

Для каждого варианта эксперимента использовали по 50 самок со сверхэкспрессией гена *Mitf* и без активации сверхэкспрессии. До начала анализа их содержали в течение 24 ч с молодыми самцами линии дикого типа Canton-S для оплодотворения.

Далее самок рассаживали в отдельные пробирки с питательной средой, подкрашенной с помощью активированного угля, на 24 ч для откладки яиц. Подсчитывали количество яиц, отложенных самками за сутки (фекундность), и количество имаго, развившихся из яиц на 10–15 сут после кладки (фертильность). Фекундность и фертильность учитывали раз в неделю до возраста 59 сут. Статистическую значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и критерия χ^2 . Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel (Microsoft, США).

Анализ двигательной активности

Анализ двигательной активности у самцов и самок со сверхэкспрессией *Mitf* и без сверхэкспрессии проводили раз в неделю до возраста 42 сут. Для каждого варианта эксперимента отбирали по три пробирки с 30 мухами. Изучаемые показатели оценивали с помощью аппаратно-программного комплекса Locomotor Activity Monitor (TriKinetics Inc., США). Данные с монитора активности собирали в

течение 24 ч и представляли как среднесуточную активность в пересчете на одну особь. Для оценки статистической значимости различий локомоторной активности использовали t-критерий Стьюдента и критерий χ^2 . Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel (Microsoft, США).

Результаты и обсуждение

Влияние сверхэкспрессии гена *Mitf* на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*

Кондиционная сверхэкспрессия гена *Mitf* в НС привела к уменьшению средней и медианной ПЖ самок на 10 и 11 %, соответственно ($p < 0.001$). Кроме того, она вызывала снижение показателя максимальной ПЖ (возраста 90 % смертности) как у самцов, так и у самок на 3 и 8 %, соответственно ($p < 0.001$) (рис. 1, табл.). Таким образом, активация гомолога гена транскрипционного фактора EB в НС дрозофил не только не оказала геропротекторного действия, а напротив, вызвала негативный эффект.

Показатели продолжительности жизни у особей *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией гена *MITF* и без сверхэкспрессии

Indicators of life expectancy in *Drosophila melanogaster* individuals with *MITF* gene overexpression and without overexpression

Генотип	Пол	$\bar{X} \pm \Delta m$, сут	M, сут.	90%, сут	n
<i>UAS-Mitf>elav-GS-GAL4</i> (контроль)	♂	50.4±0.9	56	59	154
<i>UAS-Mitf>elav-GS-GAL4 + RU486</i> (сверхэкспрессия)	♂	48.7±0.9	56	57*	175
<i>UAS-Mitf>elav-GS-GAL4</i> (контроль)	♀	68.3±1.2	72	84	174
<i>UAS-Mitf>elav-GS-GAL4 + RU486</i> (сверхэкспрессия)	♀	62±1*	64*	77*	188

Примечание. ♂ – самцы, ♀ – самки, $\bar{X} \pm \Delta m$ – средняя ПЖ и ошибка средней, M – медианная ПЖ, 90% – возраст 90 % смертности, n – количество особей в выборке, * – различия между особями со сверхэкспрессией *Mitf* и без активации сверхэкспрессии достоверны при $p < 0.001$, критерий Мантеля–Кокса (третий столбец), критерий Гехана–Бреслоу–Вилкоксона (четвертый столбец) и тест Ванг–Аллисона (пятый столбец).

Note. ♂ – males, ♀ – females, $\bar{X} \pm \Delta m$ – average life span and error of the average, M – median life span, 90% – age of 90 % mortality, n – number of individuals in the sample, * – differences between individuals with *Mitf* overexpression and without activation of overexpression are significant at $p < 0.001$, the Mantel-Cox test (third column), the Gehan-Breslow-Wilcoxon test (fourth column) and the Wang-Allison test (fifth column).

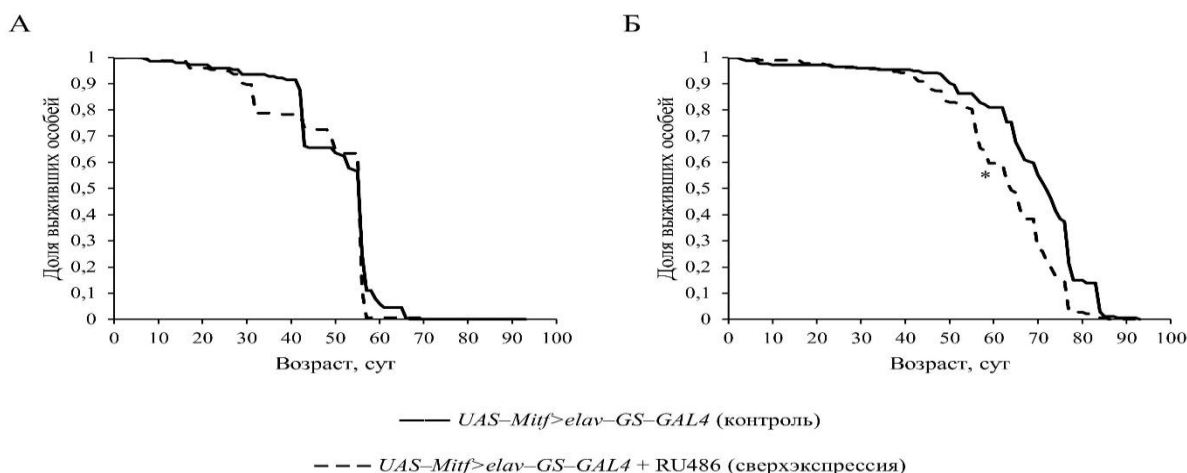


Рис. 1. Кривые выживаемости самцов (А) и самок (Б) *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией гена *Mitf* в нервной системе и без сверхэкспрессии; * – $p < 0.001$, критерий Колмогорова–Смирнова.

Fig. 1. Survival curves of males (A) and females (B) of *Drosophila melanogaster* with *Mitf* gene overexpression in the nervous system and without overexpression; * – $p < 0.001$, Kolmogorov-Smirnov test.

Тем не менее, ген *Tfeb* млекопитающих и его ортолог *hlf-30* у *Caenorhabditis elegans* ранее были идентифицированы как гены долголетия [1, 5]. Сверхэкспрессия *hlf-30* достаточна для активации аутофагии и умеренного увеличения ПЖ у нематод. Ген *hlf-30* необходим для долгожительства нематод с ингибированным mTOR [19]. TFEB опосредует сигнальные пути, определяющие клеточный метаболизм и старение организма, в частности, mTOR, AMPK, PPARα/PGCα и митоген-активируемых протеинкиназ, а также взаимодействует с транскрипционным фактором FOXO [1, 2, 5].

У дрозофил снижение функции *Mitf* приводит к формированию аномальных лизосом, ухудшает слияние аутофагосом и расщепление липидов в условиях голодания, нарушает работу митохондрий. Напротив, повышение активности *Mitf* в жировом теле вызывает увеличение количества лизосом, аутофагосом и аутолизосом и уменьшение размера липидных капель [9]. У мушек с нокаутом *Cdk5a* мягкая сверхэкспрессия гена *Mitf* в нервной ткани восстанавливает аутофагию и предотвращает потерю допаминовых нейронов [20]. Ингибирование TORC1 дрозофилы индуцирует транслокацию MITF в ядро, подчеркивая консервативные регуляторные механизмы между системами дрозофилы и млекопитающих [9]. Аналогичные данные были получены и в исследованиях на нематодах [6]. С другой стороны, экспрессия экзогенного *Mitf* приводит к повышению активности TORC1, способствуя перемещению MITF в цитоплазму [10]. Более того, сильная тканеспецифическая активация данного гена может вызывать грубые структурные и функциональные нарушения в соответствующих тканях дрозофил [10].

Нарушение аутофагии зачастую связано с развитием возрастзависимых заболеваний. Особенно это касается нарушения работы слабо пролиферирующих тканей, чувствительных к накоплению поврежденных макромолекул и неразлагаемого материала в лизосомах [1, 2]. Например, у крыс с моделью болезни Паркинсона нейродегенеративные процессы сопровождались снижением активности TFEB и изменением функционирования лизосом. При этом избыточная экспрессия TFEB обеспечивала нейропротекцию путем деградации

олигомеров α-синуклеина, а репрессия усугубляла патологические симптомы [21]. В то же время чрезмерная активация аутофагии может иметь отрицательные последствия, провоцируя клеточную гибель. Данный механизм связан с утратой нейронов при нейродегенеративных заболеваниях, в частности, при болезни Альцгеймера [2].

Наблюдаемое нами снижение ПЖ дрозофил со сверхэкспрессией гена *Mitf* могло быть связано с нарушениями функционирования НС или активацией гибели нейронов. Для проверки данного предположения нами оценены возрастзависимые изменения двигательной активности как показателя физиологического состояния НС дрозофил.

Влияние сверхэкспрессии гена *Mitf* на возрастзависимые изменения двигательной активности дрозофил

Активация экспрессии гена *Mitf* в НС не оказала статистически значимого влияния ($p > 0.05$) на двигательную активность дрозофил обоих полов (рис. 2). Таким образом, нами не обнаружено экспериментального подтверждения нашего предположения о нейродегенеративном эффекте сверхэкспрессии гена *Mitf*.

Так как ПЖ тесно взаимосвязана с репродуктивной функцией, нами оценено возрастзависимое изменение ее показателей у самок со сверхэкспрессией *Mitf*.

Влияние сверхэкспрессии гена *Mitf* на возрастзависимые изменения показателей репродукции дрозофил

Сверхэкспрессия гена *Mitf* в НС самок дрозофил привела к увеличению в молодом возрасте (13 сут) фекундности и фертильности на 30 и 27 %, соответственно ($p < 0.01$). Однако в целом у мух с повышенной активностью *Mitf* наблюдалось подавление плодовитости ($p < 0.001$). В возрасте 23–52 сут снижение фекундности и фертильности составило 10–44 и 14–42 %, соответственно ($p < 0.05$) (рис. 3).

У нематод HLF-30 является регулятором репродуктивной диапаузы у взрослых особей [22]. Соответственно, повышенная активность гена *Mitf* может быть связана со снижением плодовитости и у самок дрозофил. Стоит отметить, что наблюдаемое угнетение репродуктивных способностей самок со

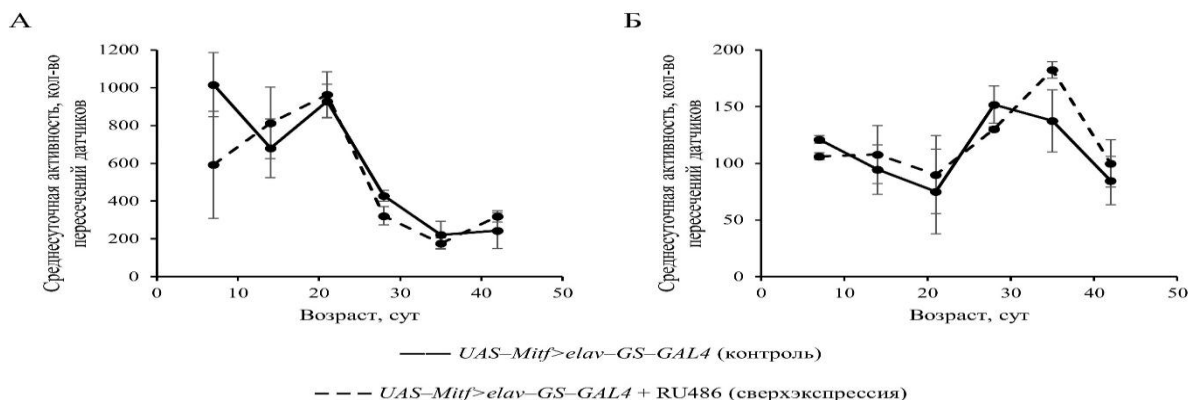


Рис. 2. Возрастная динамика двигательной активности у самцов (А) и самок (Б) *Drosophila melanogaster* со сверхэкспрессией гена *Mitf* в нервной системе и без сверхэкспрессии.

Fig. 2. Age dynamics of motor activity in males (A) and females (B) of *Drosophila melanogaster* with *Mitf* gene overexpression in the nervous system and without overexpression.

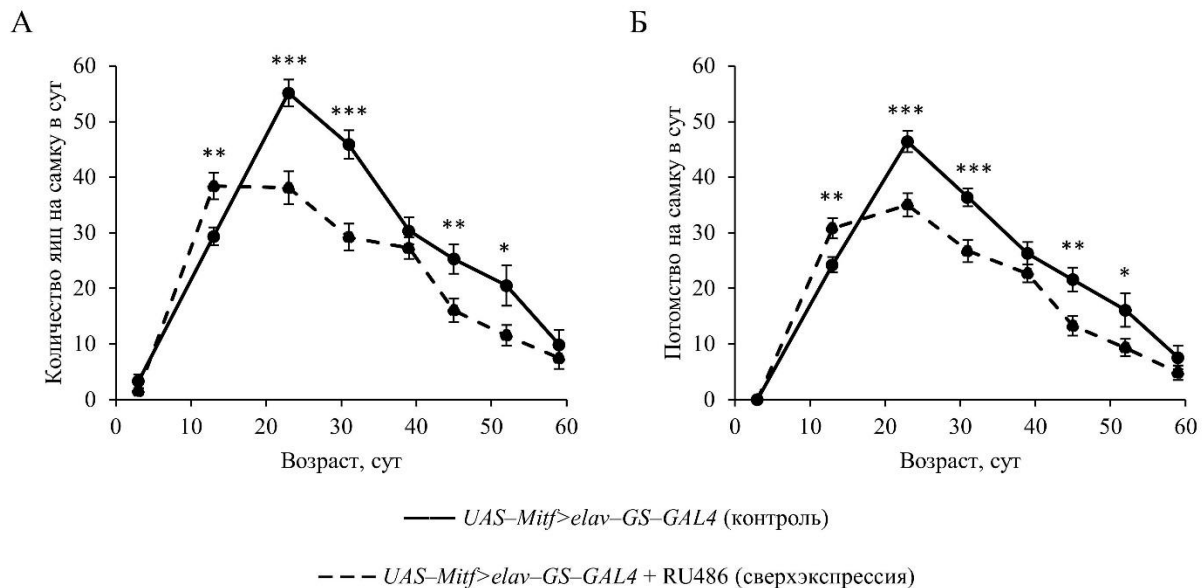


Рис. 3. Возрастная динамика фекундности (А) и фертильности (Б) у дрозофил со сверхэкспрессией гена *Mitf* в нервной системе и без сверхэкспрессии; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, t – критерий Стьюдента.
Fig. 3. Age dynamics of fecundity (A) and fertility (B) in fruit flies with *Mitf* gene overexpression in the nervous system and without overexpression; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, Student's t-test.

сверхэкспрессией *Mitf* может быть также вызвано действием мифепристона, используемого для активации кондиционного драйвера [23]. Как правило, снижение репродуктивных функций связано с увеличением ПЖ. Однако сверхэкспрессия *Mitf* ведет к нарушению этой закономерности, что может указывать на важную роль данного гена в регуляции компромисса между ПЖ и репродукцией.

Заключение

В экспериментах *in vivo* нами исследована роль гена *Mitf*, кодирующего гомолог транскрипционного фактора TFEB и контролирующего лизосомально-аутофагийный механизм клеточного гомеостаза, в регуляции ПЖ и физиологических показателей у *Drosophila melanogaster*. Показано, что кондиционная сверхэкспрессия *Mitf* в НС приводит к снижению ПЖ самок и самцов и угнетению репродуктивной функции самок, не оказывая эффекта на двигательную активность особей обоих полов. В то же время, основываясь на данных, полученных для млекопитающих и *Caenorhabditis elegans*, ортологи данного гена определяют долгожительство организма и являются потенциальными мишенями для геропротекторных вмешательств, направленных на замедление старения за счет стимуляции функционирования лизосом и аутофагийного потока. Следовательно, требуется проведение более детальных исследований для выявления механизмов, лежащих в основе эффектов активности гена *Mitf* и его ортологов, и поиск подходов к увеличению ПЖ.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по темам «Молекулярно-генетические механизмы старения, продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*» № АААА-А18-118011120004-5 и «Разработка геропротекторных и радиопротекторных препаратов» № АААА-А19-119021590022-2.

References

1. *Transcriptional and epigenetic regulation of autophagy in aging* / L.R.Lapierre, C.Kumsta, M.Sandri, A.Ballabio, M.Hansen // *Autophagy*. 2015. Vol. 11. № 6. P. 867–880.
2. *Autophagy in aging and longevity* / S.Q.Wong, A.V.Kumar, J.Mills, L.R.Lapierre // *Human genetics*. 2020. Vol. 139. № 3. P. 277–290.
3. *Stenvinkel P., Shiels P.G. Long-lived animals with negligible senescence: clues for ageing research* // *Biochemical Society transactions*. 2019. Vol. 47. № 4. P. 1157–1164.
4. *TFEB Links Autophagy to Lysosomal Biogenesis* / C. Settembre, C.Di. Malta, V.A. Polito, M.G. Arcencibia, F. Vetrini, S. Erdin, S.U. Erdin, T. Huynh, D. Medina, P. Colella, M. Sardiello, D.C. Rubinsztein, A.Ballabio // *Science*. 2011. Vol. 332. P. 1429–1433.
5. *Dali K.B., Faergeman N.J. Metabolic regulation of lifespan from a C. elegans perspective* // *Genes & nutrition*. 2019. Vol. 14. P. 25.
6. *Mitochondrial translation and dynamics synergistically extend lifespan in C. elegans through HLLH-30* / Y.J.Liu, R.L. McIntyre, G.E. Janssens, E.G. Williams, J. Lan, M. van Weeghel, B. Schomakers, H.van der Veen, N.N.van der Wei, P.Yao, W.B.Mair, R.Aebersold, A.W.MacInnes, R.H.Houtkooper // *J. of Cell Biology*. 2020. Vol. 219. № 6. P. e201907067.
7. *Reeg S., Grune T. Protein oxidation in aging: Does it play a role in aging progression?* // *Antioxidants & redox signaling*. 2015. Vol. 23. № 3. P. 239–255.
8. *Xiong J., Zhu M.X. Regulation of lysosomal ion homeostasis by channels and transporters* // *Science China. Life sciences*. 2016. Vol. 59. № 8. P. 777–791.
9. *Drosophila Mitf regulates the V-ATPase and the lysosomal-autophagic pathway* / V.Bouche, A.P. Espinosa, L.Leone, M.Sardiello, A.Ballabio, J.

- Botas // *Autophagy*. 2016. Vol. 12. №3. P.484–498.
10. *Mitf is a master regulator of the v-ATPase, forming a control module for cellular homeostasis with v-ATPase and TORC1* / T. Zhang,, Q.Zhou, M.H. Ogmundsdottir, K. Möller, R. Siddaway, L. Larue, M. Hsing, S.W. Kong, C.R. Goding, A. Palsson, E. Steingrimsso, F. Pignoni / *J. of Cell Science*. 2015. Vol. 128. № 15. P. 2938–2950.
11. *Ashburner M. Drosophila: A laboratory manual* // Cold Spring Harbor. N.Y., 1989. 1331 p.
12. *Tower J. Transgenic methods for increasing Drosophila life span* // *Mechanisms of ageing and development*. 2000. Vol. 118. № 1-2. P. 1–14.
13. *Poirier L., Shane A., Zheng J., Seroude L. Characterization of the Drosophila gene-switch system in aging studies: a cautionary tale* // *Aging cell*. 2008. Vol. 7. № 5. P. 758– 770.
14. *Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from Incomplete observations* // *Breakthroughs in statistics*. New York: Springer, 1992. P. 319–337.
15. *Fleming T.R., O'Fallon J.R., O'Brien P.C., Harrington D.P. Modified Kolmogorov-Smirnov test procedures with application to arbitrarily right-censored data* // *Biometrics*. 1980. Vol. 36. № 4. P. 607–625.
16. *Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration* // *Cancer chemotherapy reports*. Part 1. 1966. Vol. 50. № 3. P. 163–170.
17. *Breslow N., Zandstra R. A note on the relationship between bone marrow lymphocytosis and remission duration in acute leukemia* // *Blood*. 1970. Vol. 36. № 2. P. 246–249.
18. *Wang C., Li Q., Redden D.T., Weindruch R., Allison D.B. Statistical methods for testing effects on «maximum lifespan»* // *Mechanisms of ageing and development*. 2004. Vol. 125. № 9. P. 629– 632.
19. *The TFEB orthologue HLH-30 regulates autophagy and modulates longevity in Caenorhabditis elegans* / L.R. Lapierre, C.D.De Magalhaes Filho, P.R. McQuary, C.C.Chu, O. Visvikis, J.T. Chang, S. Gelino, B. Ong, A.. Davis, J.E. Irazoqui, A. Dillin, M. Hansen // *Nature communications*. 2013. Vol. 4. P. 2267.
20. *Shukla A.K., Spurrier J., Kuzina I., Giniger E. Hyperactive innate immunity causes degeneration of dopamine neurons upon altering activity of Cdk5 II* *Cell reports*. 2019. Vol. 26. № 1. P. 131–144.e4.
21. *TFEB-mediated autophagy rescues midbrain dopamine neurons from α -synuclein toxicity* / M.Decressac, B.Mattsson, P.Weikop, M.Lundblad, J.Jakobsson, A.Björklund // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. Vol. 110. № 19. P. E1817–E1826.
22. *HLH-30/TFEB is a master regulator of reproductive quiescence* / B. Gerisch, R.G.Tharyan, J. Mak, S.I. Denzel, T. Popkes-van Oepen, N. Henn, A. Antebi // *Developmental cell*. 2020. Vol. S1534-5807. № 20. P. 30223–30229.
23. *The progesterone antagonist mifepristone/RU486 blocks the negative effect on life span caused by mating in female Drosophila* / G.N.Landis, M.P. Salomon, D. Keroles, N. Brookes, T.Sekimura, J. Tower // *Aging*. 2015. Vol. 7. №1. P. 53–69.

Статья поступила в редакцию 19.02.2020