

ВПЛИВ ТКАНИНОСПЕЦИФІЧНОЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ У КЛІТИНАХ МОЗКУ НА ЧУТЛИВІСТЬ ДО УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ І ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

М.В. ВІТУШИНСЬКА, Н.П. МАТІЙЦІВ, Я.І. ЧЕРНИК

Львівський національний університет імені Івана Франка
E-mail: m.vitushynska@gmail.com

У результаті дослідження виявлено, що функціональний нокаут генів Sod1 та Sod2, які кодують супероксиддисмутазу, і їхня надекспресія у гліальній тканині та нейронах підвищують чутливість Drosophila melanogaster до умов оксидативного стресу (ОС). Найнижчий відсоток виживання (20,5 %) був у комах з нокаутом гена Sod2 в нейронах. Порівняльний аналіз кривих виживання показав, що імаго з порушеною тканиноспецифічною експресією досліджуваних генів характеризуються зниженими параметрами середньої та максимальної тривалості життя. За умов ОС, індукованого 5%-ним розчином перексиду водню, достовірно скорочуються показники тривалості життя як контрольної лінії дикого типу Oregon R, так і трансгенних особин. Нейродегенеративний фенотип спостерігається вже у триденному віці імаго із функціональною інактивациєю генів Sods у гліальній тканині. При старінні комах та за дії прооксиданту відбувається посилення нейродегенеративних змін.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, гени Sods, оксидативний стрес, прооксиданти, тривалість життя, нейродегенерація.

Вступ. Оксидативний стрес – це стан організму, за якого його тканини характеризуються надлишковим рівнем активних форм кисню (АФК) [1]. За нормальних умов захист від дії АФК здійснюється ферментами (супероксиддисмутаз, каталаза, пероксидаза), а також низькомолекулярними акцепторами кисневих радикалів (аскорбінова кислота, α -токоферол, β -каротин, глутатіон) [2, 3]. Пусковим ферментом антиоксидантної системи захисту організму є супероксиддисмутаз (СОД), яка відіграє важливу роль у внутрішньоклітинному захисті від активних форм кисню. У дрозофіли, як і у людини, існує декілька ізоформ цього ферменту, зокрема це CuZn СОД (кодується геном *Sod1*, який локалізується в районі 68A7 на хромосомі 3L) та Mn СОД (кодується геном *Sod2*, який знаходиться

в районі 53C8 хромосоми 2R) [4–6]. Обидві ізоформи каталізують дисмутацію супероксиданіону в менш реакційно здатний пероксид водню та кисень.

Супероксид-опосередковане пошкодження біомолекул у клітині залучене у низку біологічних процесів, у тому числі при старінні та нейродегенеративних захворюваннях, таких як хвороби Паркінсона, Альцгеймера та аміотрофічний латеральний склероз [2, 7]. Знижена експресія СОД у мишей призводить до дисфункції мітохондрій, кардіопатій, відмирання рухових нейронів, передчасного старіння. Мутації у генах *Sod1* та *Sod2* призводять до ініціації процесу перекисного окиснення ліпідів, зниження параметрів життєздатності та виникнення нейродегенеративних змін у нейропілі мозку дрозофіли [5, 8, 19].

Використання модельного об'єкта *D. melanogaster* дозволяє досліджувати молекулярні і клітинні механізми нейродегенерації із використанням тканиноспецифічної експресії генів в організмі. У людини біля 70 % генів, причетних до виникнення нейродегенеративних захворювань, мають щонайменше одного гомолога у дрозофіли [10]. Широкий спектр методів трансгенезу, секвенований геном, та добре відома будова нервових гангліїв, короткий життєвий цикл комах та велика кількість потомків робить її незамінним модельним об'єктом у вивченні впливу СОД на стан антиоксидантної системи захисту організму, процеси старіння та розвиток нейродегенерацій [11]. Залишається відкритим питання, чи ОС є наслідком нейродегенеративних процесів або тригером, що запускає їх [3, 7, 8]. Тому дослідження нейродегенеративних процесів, залежних від рівня експресії генів *Sods* у різних клітинах нервової системи, є важливим для розуміння ролі ОС у дегенерації мозку.

© М.В. ВІТУШИНСЬКА, Н.П. МАТІЙЦІВ, Я.І. ЧЕРНИК, 2015

Метою роботи було дослідити вплив тканиноспецифічної експресії генів *Sod1* та *Sod2* у нервовій системі на чутливість до умов оксидативного стресу, тривалість життя та розвиток нейродегенеративних змін у тканині мозку *D. melanogaster*. Для досягнення поставленої мети використано низку трансгенних ліній та систему експресії генів *UAS-Gal4* [12].

Матеріали і методи. Матеріалом дослідження слугували трансгенні лінії *D. melanogaster*, одержані від Bloomington Stock Center (США, штат Індіана). *UAS*-лінії: *UAS-Sod1-RNAi* експресує dsRNA для RNA інтерференції гена *Sod1*, під контролем промотора *UAS*; *UAS-Sod1* експресує додаткову копію гена *Sod1*, під контролем промотора *UAS*; *UAS-Sod2-RNAi* експресує dsRNA для RNA інтерференції гена *Sod2*, під контролем промотора *UAS*. Драйверні лінії: *Repo-Gal4* специфічно експресує Gal4 у гліальній тканині; *elav-Gal4* специфічно експресує Gal4 у нейронах; *Ddn-Gal4* специфічно експресує Gal4 в дофамінергічних і серотонінергічних нейронах. Як контроль використовували лінію дикого типу *Oregon R* та вихідні трансгенні лінії у гетерозиготному стані — *UAS-Sod1-RNAi/Oregon R*, *UAS-Sod2-RNAi/Oregon R*, *UAS-Sod1/Oregon R*, *Repo-Gal4/Oregon R*, *Ddn-GAL4/Oregon R*, *elav-GAL4/Oregon R*. Культури дрозофіли утримували на стандартному середовищі в термостаті за температури 25 °C [13, 14]. Тканиноспецифічну експресію генів здійснювали за допомогою бінарної системи *UAS-Gal4* [11].

Тест на стійкість до умов ОС проводили за методикою Ландера [15]. Як прооксидант використовували 5%-ний розчин пероксиду водню, позитивним контролем слугував 10%-ний розчин сахарози. Вибірка становила 200 самців триденного віку. Особин, затравлених прооксидантом, використовували для побудови кривих виживання та виготовлення гістологічних зрізів мозку.

Для побудови кривих виживання 160 самців триденного віку розсаджували по 20 особин у пробірки на поживне середовище. Пересаджування на свіже поживне середовище та підрахунок живих мух здійснювали кожних два дні. Будували криві виживання, визначали показники максимальної тривалості життя (МТЖ) та середньої тривалості життя (СТЖ): S_{75} — термін в днях, на який залишилися живими 75 % мух,

S_{50} — термін в днях, на який залишилися живими 50 % мух, S_{25} — термін в днях, на який залишилися живими 25 % мух [16].

Гістологічні зрізи мозку виготовляли за методикою Хайзенберга [17]. Виготовлені препарати аналізували в ультрафіолетовому світлі на мікроскопі Laboval-3 («Carl Zeiss», Німеччина) Jena при збільшенні 15×40.

Для статистичної обробки використовували пакет аналізу даних прикладної програми MS Excel.

Чутливість до умов оксидативного стресу визначали у відсотках виживання особин. У разі дослідження тривалості життя кожна точка на кривій виживання відповідала середньому значенню M . Розраховували стандартну середню похибку m . Статистичну обробку параметрів тривалості життя проводили з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. У попередніх дослідженнях [8, 9] встановлено, що у лінії *D. melanogaster*, мутантних за генами *Sod1* та *Sod2*, відбувається зростання чутливості до умов ОС, скорочення тривалості життя, інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів, а також виникають дегенеративні зміни у мозку імаго. Тому важливо дослідити вплив тканиноспецифічної експресії генів супероксиддисмутази на чутливість, життєздатність і появу нейродегенерацій в нервовій системі *D. melanogaster*.

За допомогою системи експресії генів *UAS-Gal4* [12] одержано особини з функціональним нокаутом і надекспресією генів *Sod1* та *Sod2* у гліальній тканині та нейронах головного мозку дрозофіли. Позитивним контролем на даному етапі досліджень слугували вихідні трансгенні лінії у гетерозиготному стані для виключення фенотипового ефекту конструктів *UAS* та *Gal4*; негативним контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon R*.

Насамперед нами була визначена чутливість до умов ОС при тканиноспецифічній інактивації генів *Sod1* та *Sod2*. Як прооксидант використовували 5%-ний розчин пероксиду водню. На середовищі із 10%-ним розчином сахарози у всіх дослідних комах спостерігали незначне коливання відсотка виживання порівняно із контролем (рис. 1). За дії прооксиданту в контрольних трансгенних особин у гетерозиготному стані (*UAS-Sod1-RNAi/Oregon R*, *UAS-*

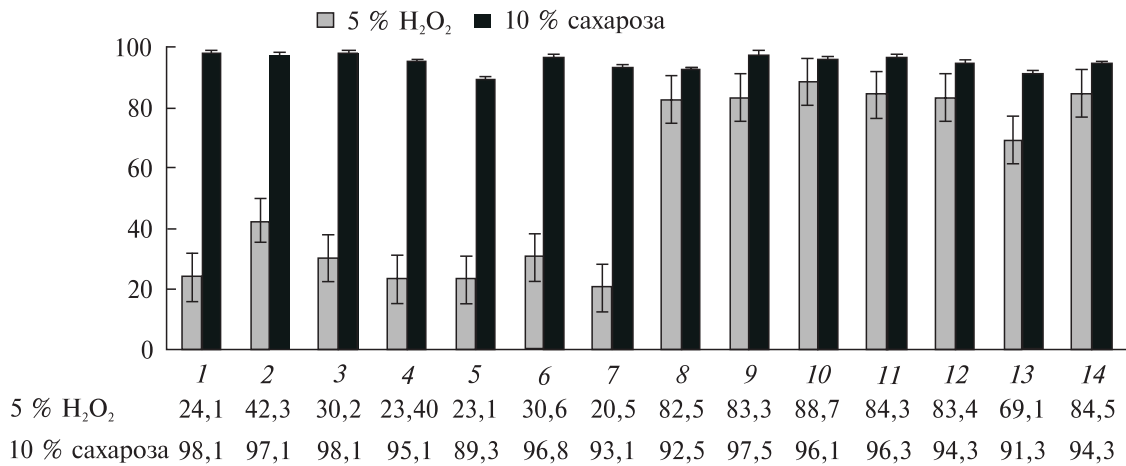


Рис. 1. Виживання (по вертикалі, %) особин *D. melanogaster* із тканиноспецифічною експресією генів *Sod1* та *Sod2* за умов оксидативного стресу. По горизонталі – 1 – *UAS-Sod1-Repo-Gal4*; 2 – *UAS-Sod1-RNAi/Repo-Gal4*; 3 – *UAS-Sod2-RNAi/Repo-Gal4*; 4 – *UAS-Sod1-RNAi/Ddn-Gal4*; 5 – *UAS-Sod1-RNAi/elav-Gal4*; 6 – *UAS-Sod1/elav-Gal4*; 7 – *UAS-Sod2-RNAi/elav-Gal4*; 8 – *UAS-Sod1/Oregon*; 9 – *UAS-Sod1-RNAi/Oregon*; 10 – *UAS-Sod2-RNAi/Oregon*; 11 – *Repo-Gal4/Oregon*; 12 – *Ddn-Gal4/Oregon*; 13 – *elav-Gal4/Oregon*; 14 – *Oregon*. Рівень імовірності $P \leq 0,05$

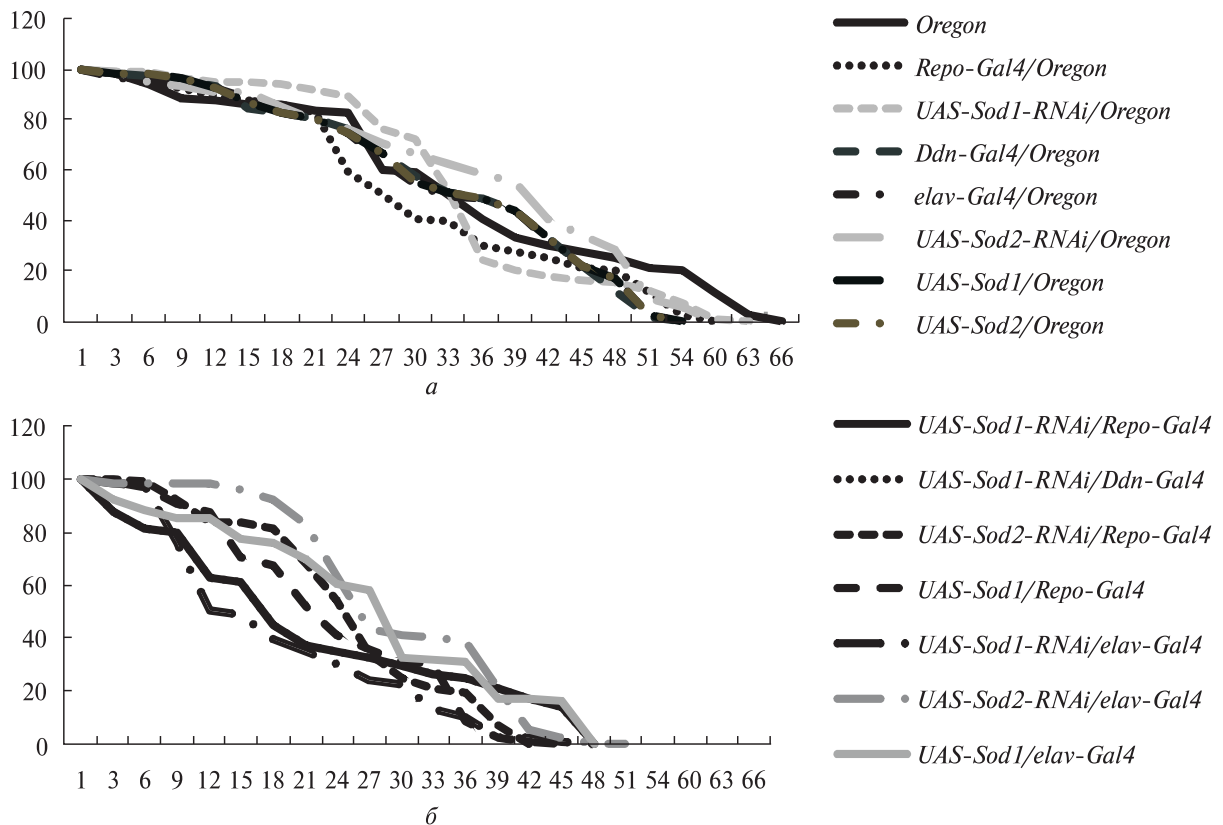


Рис. 2. Криві виживання (по вертикалі, %) імаго *D. melanogaster* із тканиноспецифічною експресією генів *Sod1* та *Sod2* на стандартному середовищі: *а* – контрольних особин; *б* – дослідних особин. По горизонталі – тривалість життя, дні. Рівень імовірності $P \leq 0,05$

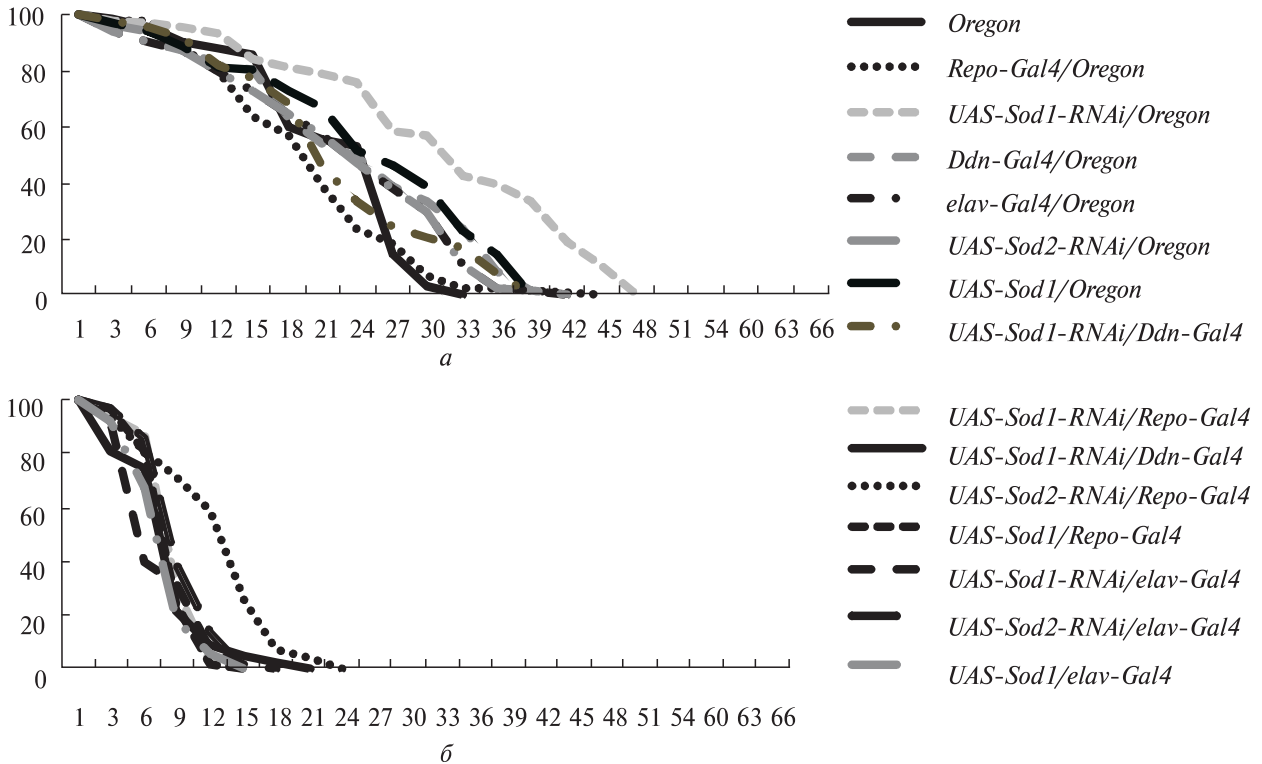


Рис. 3. Криві виживання імаго *D. melanogaster* із тканиноспецифічним нокаутом генів *Sod1* та *Sod2* за дії 10%-ного розчину сахарози: *a* – контрольних особин, *б* – дослідних особин. По горизонталі – тривалість життя, дні. Рівень імовірності $P \leq 0,05$

Sod1/Oregon R, *UAS-Sod2-RNAi/Oregon R*, *Repo-Gal4/Oregon R*, *Ddc-Gal4/Oregon R*, *elav-Gal4/Oregon R*) чутливість до умов ОС була на тому ж рівні, що і в мух дикого типу *Oregon R*. Тому можна стверджувати, що ні конструкт UAS, ні конструкт Gal4 не впливають на чутливість до ОС у дослідних особин (рис. 1). За дії 5%-ного розчину пероксиду водню на контрольних мух рівень виживання коливався від 69,0 до 88,7 %, в той час як дослідні комахи різко відмирили. У випадку функціонального нокаута гена *Sod1* у гліальній тканині виживало 42,3 %, а за нокаута гена *Sod2* в цій же тканині – лише 30,2 %. Аналогічно різко відмирили особини за дії прооксиданту у випадку тканиноспецифічної експресії генів *Sod1* та *Sod2* у нейронах головного мозку дрозофіли. Найнижчий відсоток виживання (20,5 %) зафіксовано у комах з нокаутом гена *Sod2* (рис. 1). Рівень виживання імаго із нокаутом гена *Sod1* у групі дофа-

мінергічних та серотонінергічних нейронів за дії 5%-ного розчину пероксиду водню становив 23,4 %. Цікаво, що у разі надекспресії гена *Sod1* у глії та нейронах цей показник також знижувався і досягав всього 24,1 та 30,6 % відповідно.

У попередніх наших дослідженнях на делеційних мутантах *D. melanogaster* за генами *Sod1* та *Sod2*, а саме лінії *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02*, що характеризуються зниженим рівнем експресії СОД, також спостерігалася підвищена чутливість до умов ОС, як і у даному випадку, однак відсоток виживання особин за дії прооксидантів був вищим, ніж у разі тканиноспецифічної експресії цих генів [9]. Результати даної роботи свідчать про те, що і функціональний нокаут досліджуваних генів, і їхня надекспресія у гліальній тканині та нейронах порушують функціонування нервової системи і призводять до зниження життєздатності *D. melanogaster*.

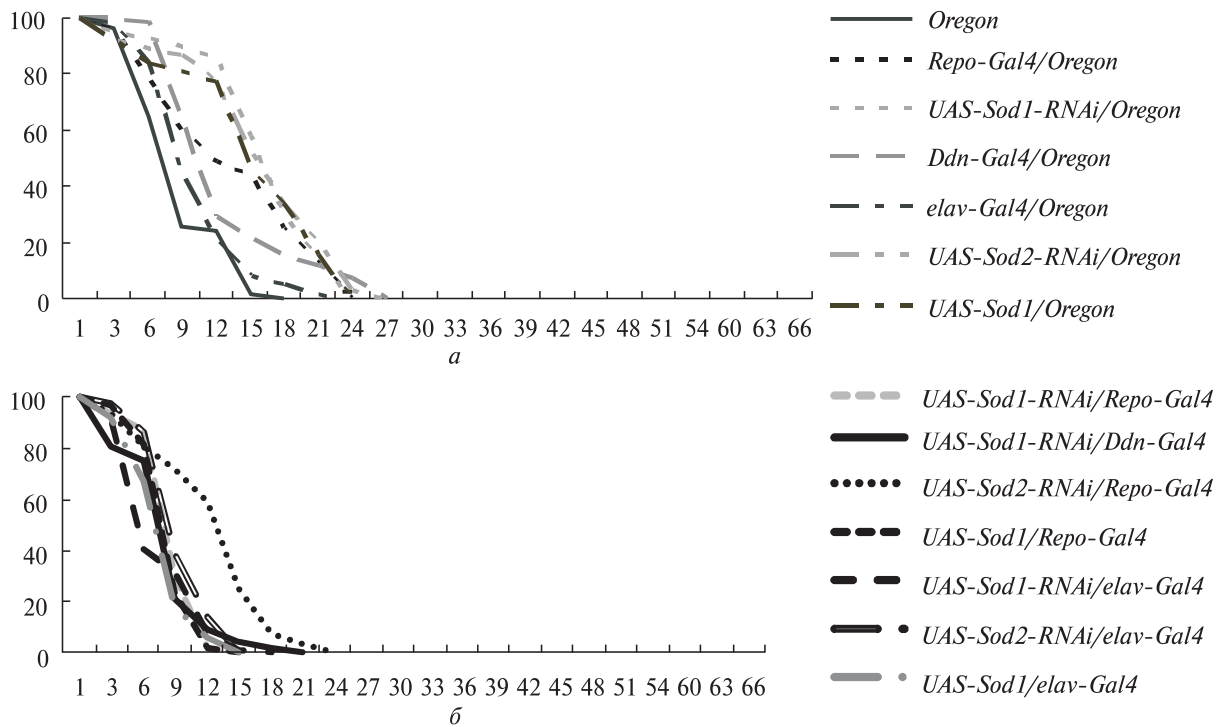


Рис. 4. Криві виживання (по вертикалі, %) імаго *D. melanogaster* із тканиноспецифічною експресією генів *Sod1* та *Sod2* за дії 5%-ного розчину перексиду водню: *a* – контрольних особин; *б* – дослідних особин. По горизонталі – тривалість життя, дні. Рівень імовірності $P \leq 0,05$

Надалі ми вирішили з'ясувати, якими будуть наслідки зміненої тканиноспецифічної експресії генів СОД на життєздатність і параметри тривалості життя дрозоділи в нормі та за умов ОС. Для цього побудували та проаналізували криві виживання дослідних комах на стандартному середовищі з 10%-ним розчином сахарози та 5%-ним розчином перексиду водню. Результати експериментальних досліджень наведені на рис. 2–4.

МТЖ при культивуванні контрольних мух на стандартному середовищі становила від $52,2 \pm 0,04$ до $56,4 \pm 0,02$ діб. Для особин *UAS-Sod1-RNAi/Repo-Gal4* цей показник дорівнював $48,6 \pm 0,05$ діб, а для особин з генотипом *UAS-Sod2-RNAi/Repo-Gal4* та *UAS-Sod1-RNAi/Ddn-GAL4* – $42,2 \pm 0,03$ доби. Потрібно зазначити, що показники середньої тривалості життя (S_{75} , S_{50} , S_{25}) незначно коливались у контрольних зразках, в той час як у всіх дослідних особин спостерігали значну відмінність. Для комах із функціональним нокаутом гена *Sod1* у гліальній тканині S_{50} становив лише $16,5 \pm 0,03$ діб, а у

разі нокаута гена *Sod2* в цій же тканині – $25,2 \pm 0,03$ діб. Щодо мух із функціональним нокаутом *Sod1* в дофамінергічних та серотонінергічних нейронах S_{50} дорівнював $20,4 \pm 0,08$ діб (рис. 2, *a*, *б*). У разі функціонального нокауту, а також надекспресії генів *Sod1* та *Sod2* в нейронах головного мозку дрозоділи спостерігали зниження МТЖ і СТЖ. Найнижчими параметрами характеризувались особини із нокаутом гена *Sod1* у гліальній тканині: МТЖ – $39,3 \pm 0,04$ діб, S_{50} – $17,1 \pm 0,02$ діб. Потрібно також зазначити, що для всіх контрольних комах було характерне плато на кривих виживання, яке свідчило про період активної життєздатності, після чого відбувалося плавне поступове відмирання мух. Для дослідних особин плато на кривих не спостерігали (тільки у разі нокауту гена *Sod1* в гліальній тканині наявне незначне плато), відмирання мало різкий характер (рис. 2, *a*, *б*).

На середовищі з 10%-ним розчином сахарози, що слугувало позитивним контролем, коливання МТЖ та СТЖ як дослідних, так і

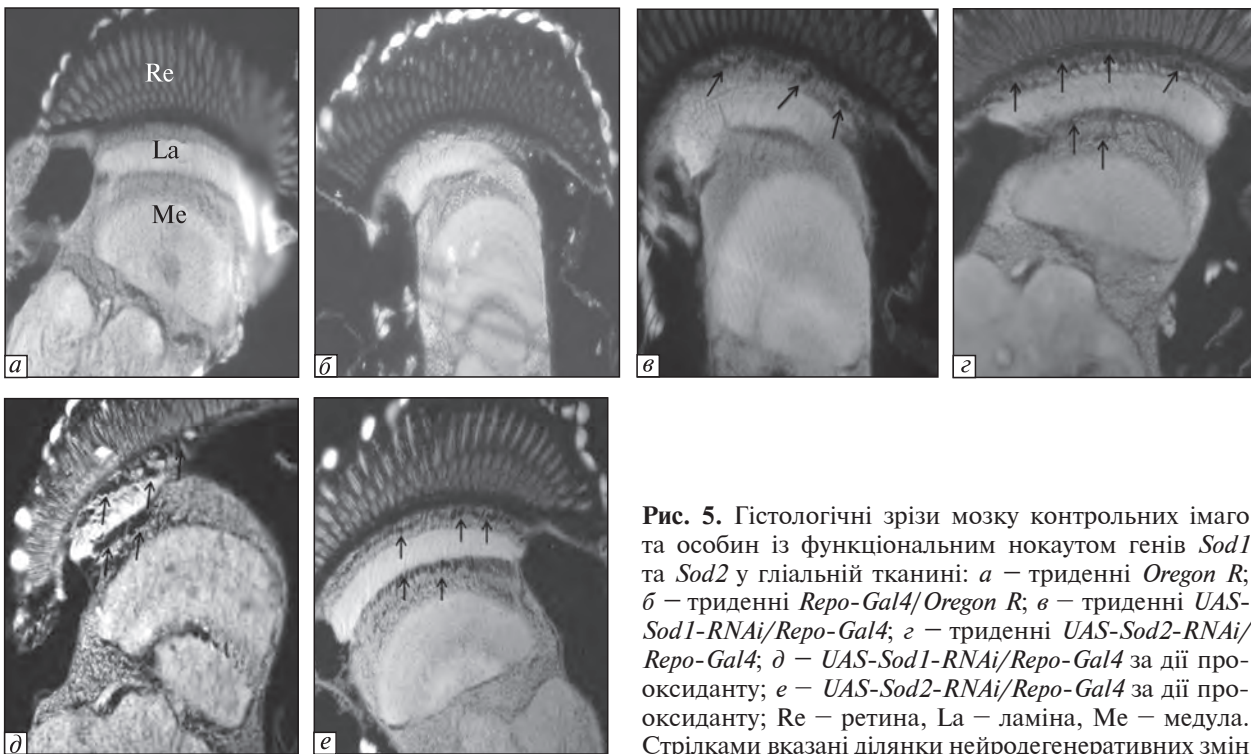


Рис. 5. Гістологічні зрізи мозку контрольних імаго та особин із функціональним нокаутом генів *Sod1* та *Sod2* у гліальній тканині: *a* – триденні *Oregon R*; *б* – триденні *Repo-Gal4/Oregon R*; *в* – триденні *UAS-Sod1-RNAi/Repo-Gal4*; *г* – триденні *UAS-Sod2-RNAi/Repo-Gal4*; *д* – *UAS-Sod1-RNAi/Repo-Gal4* за дії прооксиданту; *е* – *UAS-Sod2-RNAi/Repo-Gal4* за дії прооксиданту; Re – ретина, La – ламіна, Me – медула. Стрілками вказані ділянки нейродегенеративних змін

контрольних комах відбувалося в межах похибки порівняно з культивуванням на стандартному середовищі (рис. 3, *a, б*).

Найбільш значне скорочення життя всіх особин спостерігалось за дії прооксиданту (рис. 4, *a, б*). Показники МТЖ в контролі коливались від $21,4 \pm 0,07$ до $30,5 \pm 0,04$ днів, що вдвічі нижче, ніж на стандартному середовищі. Різко знижувались і показники СТЖ. Найбільш чутливими виявились особини із нокаутом гена *Sod1* у гліальній тканині, МТЖ для яких становила лише $15,2 \pm 0,06$ діб, що втричі менше порівняно із культивуванням цих же комах на стандартному середовищі та вдвічі менше порівняно із контрольними зразками на середовищі з прооксидантом. У разі функціонального нокауту гена *Sod2* в цій же тканині МТЖ досягала $24,6 \pm 0,03$ доби. В обох випадках відбувалося різке відмирання мух без наявності плато на кривих виживання.

Аналогічний ефект спостерігався у комах із генотипами *UAS-Sod1-RNAi/elav-Gal4* (нокаут гена *Sod1* у нейронах), *UAS-Sod1/elav-Gal4* (надекспресія гена *Sod1* у нейронах), *UAS-Sod2-RNAi/elav-Gal4* (нокаут гена *Sod2* у нейронах).

Найнижчими параметрами характеризувались мухи із нокаутом гена *Sod2* у нейронах (МТЖ – $15,2 \pm 0,09$ діб). Для імаго із нокаутом гена *Sod1* в дофамінергічних і серотонінергічних нейронах також було характерне різке відмирання особин. МТЖ становила всього $21,5 \pm 0,05$ діб, що вдвічі менше порівняно із культивуванням таких самих особин на стандартному середовищі; параметри середньої тривалості життя (S_{25} , S_{50} , S_{75}) становили лише $6,1 \pm 0,01$; $6,5 \pm 0,05$ та $8,0 \pm 0,06$ діб відповідно (рис. 4).

Порівняльний аналіз кривих виживання показав, що імаго з тканиноспецифічною експресією генів *Sod1* та *Sod2* у гліальній тканині та нейронах характеризувалися достовірно скороченими показниками тривалості життя порівняно з контролем. За умов ОС, індукованого 5%-ним розчином перексиду водню, знижувались життєздатність і тривалість життя не лише у трансгенних особин, але й у контрольних мух та лінії дикого типу *Oregon R*.

Відомо [14, 18, 19], що винятково чутливою до активних форм кисню є нервова тканина, зокрема нейрони. У дослідженнях на точкових мутантах [8, 9] визначено переважний розви-

ток вакуолізації тканини мозку в центральній частині – нейропілі, який представлений переважно тілами нейронів. В той же час на сьогоднішній день відсутні дані про функціональну роль *Sods* у гліоцитах. У дрозофіли, як і у людини, гліальна тканина має важливе значення для розвитку, трофіки, утворення навігаційних сигналів для росту аксонів, електричної ізоляції нейронів, контролю екстрацелюлярного гомеостазу. Наявність генетичного маркера для гліоцитів у мозку імаго дрозофіли, наприклад експресія генів *reserved polarity (repo)*, дає можливість чітко відрізнити їх від нейронів [20]. Тому ми виготовили і проаналізували гістологічні зрізи головного мозку імаго лінії дикого типу *Oregon R* та трансгенних особин із тканиноспецифічною експресією у цій тканині. Як у комах, що слугували позитивним контролем, так і в мух дикого типу *Oregon R* не виявлено жодних змін у структурі мозку ні у триденному віці, ні за дії 5%-ного розчину пероксиду водню (рис. 5).

У випадку функціональної інактивації гена *Sod1* у гліальній тканині специфічний нейродегенеративний фенотип виявлений нами вже у молодих імаго. Зони відмерлої тканини проявлялися у вигляді овальних ділянок, іноді були у формі тяжів; локалізувалися вони в лобулі та медулі. За дії прооксиданту вони посилювалися, збільшувалась їх кількість та розмір (рис. 5). Аналогічний ефект, як у випадку інактивації гена *Sod1*, спостерігався і за нокауту гена *Sod2* у цій же тканині. Вивчення впливу тканиноспецифічної експресії генів супероксиддисмутази як в нормі, так і за дії прооксидантів на нейрональну тканину в різних ділянках мозку дрозофіли потребує подальших досліджень.

Висновки. Функціональна інактивація та надекспресія генів супероксиддисмутази у нейронах та гліальній тканині головного мозку *D. melanogaster* виявляє пряму залежність від зростання чутливості до умов ОС та скорочення параметрів життєздатності. Зміна експресії цих генів у гліоцитах призводить до появи специфічного нейродегенеративного фенотипу в мозку особин дрозофіли вже у триденному віці імаго (зони відмерлих клітин локалізуються в медулі, ламіні). В процесі старіння комах з тканиноспецифічною зміною експресії генів *Sod1* та *Sod2* та за дії прооксиданту спостерігається посилення нейродегенеративних змін.

Робота виконана за підтримки гранту West-Ukrainian BioMedical Research Center.

INFLUENCE OF TISSUE-SPECIFIC SUPEROXID DISMUTASE GENES EXPRESSION IN BRAIN CELLS ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* SENSITIVITY TO OXIDATIVE STRESS AND VIABILITY

M.V. Vitushynska, N.P. Matiytsiv, Y.I. Chernyk

Ivan Franko National University of Lviv

E-mail: m.vitushynska@gmail.com

The study has shown that both functional gene knockout *Sod1* and *Sod2* and their overexpression in neurons and glial tissue increase the sensitivity of *Drosophila melanogaster* to oxidative stress (OS) conditions. The lowest survival rate was only 20.5 % in insects with *Sod2* knockout in neurons. Comparative analysis of the survival curves showed that adults with altered tissue-specific expression of the studied genes had reduced average and maximum life span. Under OS conditions induced by 5 % hydrogen peroxide the life spans of wild type *Oregon R* and transgenic insects were significantly reduced. Altered *Sod* gene expression in glial tissue leads to degenerative changes in *Drosophila* brain at the young age. During the aging of insects and the action of pro-oxidants increasing of neurodegenerative phenotype is observed.

ВЛИЯНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В КЛЕТКАХ МОЗГА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К УСЛОВИЯМ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

M.V. Витушинская, Н.П. Матийцив, Я.И. Черник

В результате исследования установлено, что функциональный нокаут генов *Sod1* и *Sod2*, а также их надэкспрессия в глиальной ткани и нейронах повышают чувствительность *Drosophila melanogaster* к условиям оксидативного стресса (ОС). Самый низкий процент выживаемости (20,5 %) был у насекомых с нокаутом гена *Sod2* в нейронах. Сравнительный анализ кривых выживания показал, что для имаго с измененной тканеспецифической экспрессией исследуемых генов характерно уменьшение средней и максимальной продолжительности жизни. При ОС, индуцированном 5%-ным раствором перекиси водорода, достоверно сокращаются показатели продолжительности жизни как линии дикого типа *Oregon R*, так и трансгенных особей. Измененная экспрессия генов, кодирующих супероксиддисмутазу (СОД), в глиальной ткани приводит к появлению дегенеративных изменений мозга дрозофилы уже в

молодом візасті. При старінні наіекомых и при действии прооксидантов набуадається усилення нейродегенеративного фенотипа.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соросовский образоват. журн. – 2001. – 7, № 4. – С. 21–25.
2. Pérez V.I., Bokov A., Remmen H. van. Is the oxidative stress theory of aging dead? // Biochim. et biophys. acta. – 2009. – 1790, № 10. – P. 1005–1014.
3. Fridovich I. Superoxide radicals and superoxide dismutases // Annu. Rev. Biochem. – 1995. – 64. – P. 97–112.
4. Miao L., St. Clair D.K. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease // Free Radic. Biol. Med. – 2009. – 47, № 4. – P. 344–356.
5. Allen M.J., Lacroix J.J., Capone R. et al. Mutant SOD1 forms ion channel: implications for ALS pathophysiology // Neurobiol. Dis. – 2012. – 45, № 3. – P. 831–838.
6. Wan X., Devalaraja M.N., St. Clair D.K. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene // DNA Cell Biol. – 1994. – 13, № 11. – P. 1127–1136.
7. Andersen J.K. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? // Nat. Med. – 2004. – 10. – P. 18–25.
8. Celotto A.M., Liu Z., Vandemark A.P., Palladino M.J. A novel *Drosophila* SOD2 mutant demonstrates a role for mitochondrial ROS in neurodevelopment and disease // Brain Behav. – 2012. – 2, № 4. – P. 424–434.
9. Вітушинська М.В., Матійців Н.П., Черник Я.І. Чутливість до умов оксидативного стресу, тривалість життя та нейродегенеративні зміни у структурі мозку у мутантів *Drosophila melanogaster* за генами супероксиддисмутази // Вісн. Львів. ун-ту ім. І. Франка. – 2013. – № 62. – С. 108–116.
10. Могіляк І.І., Матійців Н.П., Груник Н.І., Черник Я.І. Чутливість нейродегенеративних мутантів *Drosophila melanogaster* групи *Swiss cheese* до умов оксидативного стресу // Biopolym. Cell. – 2011. – 27, № 6. – С. 453–458.
11. Kretschmar D. Neurodegenerative mutants in *Drosophila*: a means to identify genes and mechanisms involved in human diseases? // Invert. Neurosci. – 2005. – 5, № 3/4. – P. 97–109.
12. Jones W.D. The expanding reach of the GAL4/UAS system into the behavioral neurobiology of *Drosophila* // BMB Rep. – 2009. – 42, № 11. – P. 705–712.
13. Медведев Н.Н. Практическая генетика. – М.: Наука, 1966. – 238 с.
14. Sharma S.K., Babitch J.A. Application of Bradford's protein assay to chick brain subcellular fractions // J. Biochem. Biophys. Meth. – 1980. – 2, № 4. – P. 247–250.
15. Ausubel F.M. Current Protocols in Molecular Biology. – New York : Greene Publ. Ass. and Wiley-Interscience, 1990. – 2. – 534 p.
16. Ashburner M. *Drosophila*: A Laboratory Manual. – Gold Spring Harbor Lab., 1989. – 434 p.
17. Heisenberg M., Bohl K. Isolation of anatomical brain mutants of *Drosophila* by histological means // Z. Naturforsch. C. – 1979. – 34. – P. 143–147.
18. Sun J., Folk D., Bradley T.J., Tower J. Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the life span of adult *Drosophila melanogaster* // Genetics. – 2002. – 161, № 2. – P. 661–672.
19. Pratico D., Delanty N. Oxidative injury in diseases of the central nervous system : Focus on Alzheimer's disease // Amer. J. Med. – 2000. – 109, № 7. – P. 577–585.
20. Edwards T.N., Meinertzhagen I.A. The functional organisation of glia in the adult brain of *Drosophila* and other insects // Prog. Neurobiol. – 2010. – 90, № 4. – P. 471–497.

Надійшла 18.09.13