

果蝇模型与心脏衰老遗传机制

胡永艳, 孔申申

(北京大学第一医院实验动物中心, 北京 100034)

【摘要】 人类随着年龄的增加, 心脏功能逐渐减退, 作为主要致死病因的心脏疾病随年龄增加而大幅升高。在老龄化人口不断上涨的今天, 深入地了解遗传因素和调节因子在心脏衰老过程中所扮演的角色显得尤为必要。果蝇的心脏像人类一样随着年龄而功能减退, 为了更好的利用果蝇心脏模型研究心脏衰老的遗传学机制, 为老年性心脏病基于分子靶向的诊断和治疗提供更准确的证据, 我们从比较医学的角度总结了果蝇在心脏衰老过程中的特征, 特别是遗传因素对其的影响, 涉及离子交换、营养敏感和收缩功能相关的基因。这些研究成果将为心脏衰老相关疾病的分子靶向诊断和靶向药物治疗提供理论依据, 促进心血管疾病精准医疗的快速发展。

【关键词】 果蝇; 心脏衰老; 遗传机制

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)11-0085-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.11.016

Drosophila as a model to study genetics of cardiac aging

HU Yong-yan, KONG Shen-shen

(Laboratory animal facility, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

【Abstract】 With age, cardiac performance declines progressively and the risk of heart disease, a primary cause of mortality, rises dramatically. As the elderly population continues to increase, it is critical to gain a better understanding of the genetic influences and modulatory factors that impact cardiac aging. As for the human heart, Drosophila heart function also deteriorates with age. Here, In order to better utilize the Drosophila heart model for genetic mechanism studies of cardiac aging, and supply more reliable evidences for molecular-guided diagnostics and therapeutics of age-related heart disease, we sum up the characteristics of cardiac aging of Drosophila in comparative medicine and review genetic factors contributing to cardiac aging, including genes involved in ion exchange, nutrient sensing, and contractile function. These achievements will provide a theoretical basis for molecular guided diagnostics and targeted drug therapied for cardiac aging related diseases, and promote the rapid development of precision medicine of cardiovascular disease.

【Key words】 Drosophila; Cardiac aging; Genetic mechanisms

现代生物医药的发展已经进入精准医学时代, 人类基因及其变异对疾病表型和治疗反应的影响是靶向诊断和药物靶向治疗的工作基础之一, 通过对相关基因及其遗传变异的功能研究, 实现针对不同人群的精准医疗。对人类基因及其功能的研究是精准医疗发展的关键, 而模式动物是基因功能研

究的有力工具。

果蝇作为一种经典模式生物, 是遗传学研究的良好材料, 除了具有寿命短, 容易繁殖培养等特点外, 其优势还在于已经完成全基因组序列分析并积累了大量遗传学研究方法。通过相关遗传学方法和技术, 我们几乎可以在果蝇中对任何一个基因进

【基金项目】 北京大学第一医院科研基金。

【作者简介】 胡永艳(1986-), 女, 助理研究员, 研究方向: 心血管遗传学。E-mail: huyyg@163.com。

行特定时空的过表达及抑制表达或敲除,从而很方便地观察和分析一个基因在体内的生物学功能。从遗传的角度出发,尽管哺乳动物与果蝇亲缘关系较远,但果蝇与哺乳动物的多数信号传导通路相关基因都具有保守性,而往往一个基因在哺乳动物中会具有多个拷贝,但在果蝇中通常只有一个拷贝,这就为用果蝇作为模式生物研究哺乳动物基因的功能提供了可能和极大的便利。

人口老龄化使全球心血管疾病死亡人数不断增加^[1]。心脏衰老是老年心血管疾病发生的重要因素,其被认为是心脏功能的有害衰退。在哺乳动物中,心脏功能衰退伴随着许多与年龄相关的变化,如心肌细胞数量减少,左室肥大、纤维化和胶原蛋白的积累^[2-4]。心脏衰老导致老年人心血管死亡率和发病率增加。所以对心脏衰老机制的研究显得愈发重要。而随着遗传学和分子生物学的飞速发展,心脏衰老机制的研究获得很大进展。许多控制心脏发育的基因被证明在果蝇和哺乳动物中具有保守性。如第一个发现的果蝇 *tinman* 基因的脊椎动物同源基因 *Nkx2.5*,已被证明能够控制小鼠心脏发育^[5-7],成年果蝇心脏已经被用于研究心脏的功能和衰老^[8-9]。同时,果蝇具有开放的循环系统(图 1),有一个线性心管位于背中线的腹部,和一个向上延伸至头部的主动脉,三套内部瓣膜把腹部心脏分成前锥形腔和三个后腔室,四个心腔各包含一对外瓣膜,在舒张期允许血淋巴液进入心脏。由于果蝇使用导管系统直接向组织运输氧气,心脏功能不像脊椎动物那样和生存紧密联系,因此,果蝇能够承受比哺乳动物更严重的心脏生理机能的遗传改变,类似于脊椎动物心脏模型,也可以通过给予药物刺激来研究果蝇心脏衰老^[10-12]。这些发育特点和遗传优势,使得果蝇的这个模型非常适合心脏衰老的病理生理学和遗传学研究。本文将对果蝇模型在心脏衰老遗传机制方面的研究进行综述。

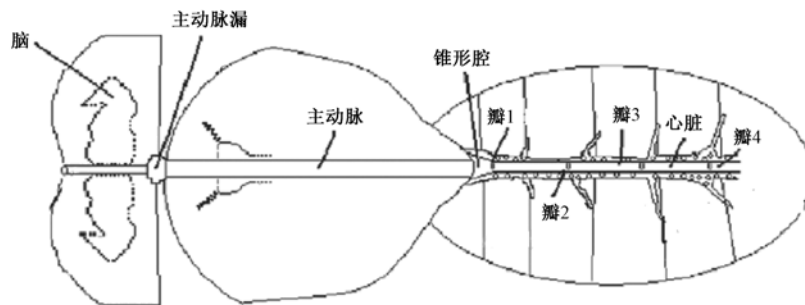


图 1 成年果蝇心脏示意图^[13]

Fig.1 Heart diagram of adult drosophila

1 果蝇心脏衰老的比较医学特征

1.1 随年龄增长抵抗应激能力减弱

采用电起搏,高温和缺氧处理等方法观察应激下心脏的性能。电起搏方法研究表明果蝇心脏性能随着年龄的增长而衰退^[14]。且果蝇在青年时接受运动训练能够减少老年时心脏功能的下降^[15],这与在哺乳动物中观察到的趋势类似^[16]。以类似电子起搏方式或者通过提高环境温度给予刺激,果蝇心脏的最大心率随年龄下降^[17]。这些结果类似于在人类观察到的最大心率下降与年龄相关^[18]。缺氧处理下,青年和老年果蝇的心脏都暂时停止跳动,但能够在短时间内恢复。青年果蝇恢复的要更快一些^[10]。氧化应激是导致老年人心衰的常见致病机制,果蝇模型中同样发现抑制氧化应激相关的基因,如 JNK 信号通路,随着年龄的增长表达增加^[19]。且发现在果蝇心脏过表达 *MafS* 基因能够抵抗随年龄增加的心律失常和心动周期,而 *MafS* 基因是氧化应激应答转录因子 *Nrf2* 的果蝇同源基因^[20]。慢性应激刺激导致脊椎动物产生应激诱导的心脏肥大。研究表明果蝇在慢性刺激下也会导致异常的纤维形态和降低的终末舒张期心腔大小^[21]。

1.2 随年龄增长心律失常增加

研究发现 1 周龄果蝇心脏以相对稳定的速率节律性收缩。高速率跳动方式随年龄增加减弱,到 5~7 周时,大多数野生型表现出非节律的心脏收缩方式,包括频繁的心搏停止和颤动^[9]。果蝇心脏节律性随年龄增长的变化类似于老年人房颤和心脏衰竭发病率的增加^[22]。

1.3 随年龄增长肌纤维组织排列不紧密

果蝇心管有两种类型的肌纤维,它们具有不同的心肌纤维结构^[23-24];代表进行收缩工作的心肌层的螺旋形或横向的肌原纤维表达转录因子 *tinman*;

心管腹侧面纵向的肌原纤维^[25],其起源和具体功能尚未确定。在青年果蝇中这两种类型的肌原纤维表现出紧密有序的排列,可以观察到肌小节标志物如 α -actinin^[23]。而在老年果蝇中,螺旋形肌原纤维在一定程度上变得紊乱,肌原纤维间可见空隙且排列更不紧密^[24]。同样发现在老年犬心房中心肌纤维排列也不紧密^[26],这表明果蝇心脏年龄相关的心肌纤维结构中变化的起因与哺乳动物的心脏衰老相关。是否哺乳动物心脏衰老中的其他方面的结构重构,如纤维化和胶原蛋白的集聚^[27-28],也与老年果蝇的心脏功能异常相关,这是值得我们进一步研究的。

2 与果蝇心脏衰老相关基因

2.1 离子交换

尽管果蝇心脏体积较小,也适合分析青年和老年果蝇心脏的基因表达变化。例如,心脏性能年龄相关性降低与编码钾通道 α 亚单位的人类电压门控钾通道亚家族 Q1 (potassium voltage-gated channel, subfamily Q, member 1, *KCNQ1*) 果蝇同系物及 ATP 敏感钾离子通道 (K_{ATP}) 亚单位 dSur 的心脏 RNA 水平年龄依赖性降低一致^[9]。在人类, *KCNQ1* 参与心肌复极化,这个通道功能的改变增加患心律失常和心源性猝死的风险^[29]。在果蝇,心脏 *KCNQ* 表达水平随着年龄的增长而减少, *KCNQ* 不足导致心脏功能受损,具体表现为年龄相关的心律失常不断增加,和起搏器诱导心脏功能障碍的高易感性。与人类一样,这些异常可以被解释为 *KCNQ* 异常导致的心脏动作电位复极化能力不足。老年野生果蝇中心脏特异 *KCNQ* 过表达抑制升高的心律失常水平,这表明通常发生的衰老心脏中减少的 *KCNQ* 表达导致心律失常发生率的增加^[9]。dSur 在 5 周龄果蝇心脏的表达也显著下降。心脏特异的 RNAi 调节的敲低或者 dSur 的药物处理提示 dSur 通过起搏应激和缺氧刺激诱导的机能障碍来保护心脏功能^[10],这哺乳动物 K_{ATP} 通道的作用相似^[30]。例如,将老年果蝇暴露于吡那地尔 (K_{ATP} 通道激活剂),能够减少它们对于起搏诱导障碍的敏感性^[10]。同时,这表明 dSur 活跃有助于年轻果蝇的心脏性能,然而它的活性随着年龄的增长而下降。

2.2 营养敏感

胰岛素-IGF 受体 (InR) 信号通路在调节寿命的过程中发挥着保守的作用。在酵母、秀丽隐杆线虫、果蝇和小鼠中系统地抑制这个通路已被证明能

够延长寿命^[31]。然而,它在各个器官中参与衰老过程的调控还有待研究。编码胰岛素受体或者其亚单位的基因变异能延长果蝇寿命,具体表现为 7 周龄变异果蝇和 1 周龄对照果蝇的心脏功能类似。通过心脏特异过表达 dPTEN (一种抑制 PI3 激酶的磷酸酶) 或者转录因子 dFoxO 这两种胰岛素信号转导通路负调控因子,致使胰岛素信号通路受损仅发生在心肌细胞中时,也能引起心脏功能的减弱。值得注意的是,心脏特异过表达 dPTEN 或 dFoxO 并不影响整体寿命^[14],这表明仅改变心脏性能不一定改变整体寿命以及胰岛素通路对心脏衰老的影响与其通路对寿命的系统影响是非耦合的。

营养敏感性雷帕霉素靶蛋白激酶 (TOR) 信号通路在心脏衰老中具有重要作用^[32-33],该通路相关基因表达降低能够延长寿命和延迟心脏衰老^[31]。在许多水平上, TOR 和胰岛素通路相互联系,提示这两个通路可能通过上位互作和对共同靶点的调节控制心脏衰老。

实验表明, d4eBP 作用于心脏组织这两个通路的下游。事实上,不管由 dFoxO 还是 dTOR 引起的心脏衰老表型皆能被 d4eBP/eif4E 抑制^[34]。因此,胰岛素或 TOR 信号通路下调引起的心脏衰老延迟,可能最终是由于 d4eBP 活动的增加。

2.3 收缩功能

直接参与形成收缩机制的结构蛋白变异与骨骼肌和心肌的不良表型相关^[35]。抗肌萎缩蛋白-糖蛋白复合物连接细胞外机制和亚细胞膜骨架,其主要成分抗肌萎缩蛋白 (*dystrophin*, *Dys*) 基因变异能够导致肌肉萎缩症^[36]。 *Dys* 基因缺陷的果蝇具有心肌扩张表型,以及幼年果蝇心肌纤维组织的过早破坏^[37]。此外,肌纤维组织破坏在老年 *Dys* 突变果蝇中更为严重,具体表现为心肌肌原纤维间隙增大。这表明 *Dys* 在维持心肌生理完整性方面的必要性,且 *Dys* 缺陷也促进心脏结构衰老。此外,尽管年老的野生型果蝇心率通常是降低的, *Dys* 突变果蝇心率更快且不会因年龄的增加而减少。总之,观察到的 *Dys* 缺陷果蝇随年龄而产生的变化表明哺乳动物类营养不良心脏可能表现出相似的随年龄下降,同时也提示这些变化至少加速心脏衰老的某些方面。较之于 *Dys* 突变,在体外抑制肌球蛋白活性的肌球蛋白变异 (D45) 能够导致老年果蝇心率减慢^[38]。较之于野生对照,早在中年 (3 周龄) 时突变体果蝇即表现出心律不齐,且突变果蝇随年龄增加的心率失常事件增多。较之于野生型,尽管果蝇的心肌纤维结构正常, D45 突变果蝇的心管在各个年

龄段都明显扩张。这些变异也会导致心脏收缩性的降低,具体表现为测量缩短分数(fractional shortening, FS)。同人类相似,尽管在野生型果蝇 FS 通常随年龄增长而下降,但是在功能减退的肌球蛋白变异中这个参数没有随年龄增长下降。

人类心脏衰老的特征是心肌细胞数量的减少以及适度的左室肥大^[4],但是野生型果蝇的心脏中没有观察到这种情况。可能是由于果蝇心脏中只有 50 对有丝分裂后细胞沿着心管分布,心肌细胞的减少会导致迅速和严重的损害。事实上,这种表型只在严重突变体中出现,如成年果蝇 *tinman* 缺陷^[5]。另一方面,也应考虑到果蝇具有外骨骼(外角皮),这导致成年果蝇羽化后难以进行额外的全身和组织生长。因此,老年昆虫生长相关的心脏肥大(传统意义上的)可能不容易诱导或发现。

3 果蝇模型在心脏衰老研究中的应用

由于果蝇这种模式动物的生理、遗传特性以及研究心脏功能新技术的开发,研究人员发现了一些重要的调控心脏衰老新基因,并在哺乳动物进行更深层次的基因功能研究。衰老的果蝇心脏还可以用来确定相关基因在调控机体衰老尤其是心脏功能方面发挥的显著作用,相互作用模式,以及心脏功能不同方面相互连接形式。例如,当通过减弱胰岛素或 TOR 通路活动延缓心脏衰老的时候,dSur 和 KCNQ 的表达是否如常。能够改善老年果蝇心脏功能的 KCNQ 过表达也能够改善年龄相关的心肌纤维损坏^[8]。在果蝇心脏中进行的基因及其相互作用的研究将为进一步的基因功能研究并进行分子靶向诊断疾病提供重要的工作基础。同时,由于具有开放的循环系统,果蝇能够承受比哺乳动物更严重的心脏生理机能的遗传改变,可以通过给予药物刺激来研究果蝇心脏衰老,所以果蝇心脏非常适合检验候选新药延缓或治愈衰老相关心脏功能降低的能力。通过将药物添加于食物,并通过完整的和半完整的心脏模型监测其在果蝇生存中对心脏功能的影响,或者直接将药物添加于人造血淋巴,并记录灌注后离体果蝇心脏的跳动过程,在果蝇中能够简易地评估药物对心脏功能的潜在影响^[9,10,39]。这些给药方法以及开发出的研究心脏功能和衰老的新的分析手段是定量分析药物对心脏功能影响的有前景的方法。果蝇和哺乳动物之间的心脏功能具有保守性也表明,果蝇心脏模型可以用来在器官/组织水平初步筛选潜在致心律失常物质,为靶向药物治疗提供理论基础。

4 总结

综上所述,果蝇模型操作简便、基因同源性高,且果蝇心脏与哺乳动物类似,会随着年龄增长而功能衰退,这些都使得果蝇这个模型非常适合心脏衰老遗传机制研究。果蝇模型已在心脏衰老相关离子交换、营养敏感和收缩功能等相关基因研究方面取得巨大进展,对果蝇模型心脏衰老遗传机制的研究将为进一步心脏衰老相关疾病的分子靶向诊断和靶向药物治疗提供理论依据,促进心血管疾病精准医疗的快速发展。

参考文献:

- [1] Roth GA, Forouzanfar MH, Moran AE, *et al.* Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality [J]. *N Engl J Med.* 2015, 372(14):1333–41.
- [2] Khan A S, Sane D C, Wannenburg T, *et al.* Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging cardiovascular system [J]. *Acta Paediatrica Supplement*, 2002, 54(1):25–35.
- [3] Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation.* 2003, 107(2):346–54.
- [4] Olivetti G, Melissari M, Capasso J M, *et al.* Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy. [J]. *Circulation Research*, 1991, 68(6):1560–1568.
- [5] Sun Z Y, Zhao Y F, Chen J, *et al.* Cardioblast-intrinsic Tinman activity controls proper diversification and differentiation of myocardial cells in *Drosophila* [J]. *Development*, 2006, 133(20):4073–83.
- [6] Bodmer R, T V V. Heart development in *Drosophila*, and vertebrates: Conservation of molecular mechanisms [J]. *Developmental Genetics*, 1998, 22(3):181–186.
- [7] Olson E N. Gene regulatory networks in the evolution and development of the heart. [J]. *Science*, 2006, 313(5795):1922–7.
- [8] Ocorr K, Perrin L, Lim H Y, *et al.* Genetic Control of Heart Function and Aging in *Drosophila* [J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2007, 17(5):177–182.
- [9] Ocorr K, Reeves N L, Wessells R J, *et al.* KCNQ potassium channel mutations cause cardiac arrhythmias in *Drosophila* that mimic the effects of aging. [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(10):3943–8.
- [10] Akasaka T, Klinedinst S, Ocorr K, *et al.* The ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channel-encoded dSUR gene is required for *Drosophila* heart function and is regulated by tinman [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(32):11999–2004.
- [11] Johnson E, Ringo J, Bray N, *et al.* Genetic and pharmacological

- identification of ion channels central to the *Drosophila* cardiac pacemaker. [J]. *Journal of Neurogenetics*, 1998, 12 (1): 1–24.
- [12] Johnson E, Ringo J, Dowse H. Modulation of *Drosophila* heartbeat by neurotransmitters [J]. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic & Environmental Physiology*, 1997, 167(2):89–97.
- [13] Piazza N, Wessells R J. *Drosophila* models of cardiac disease. [J]. *Progress in Molecular Biology & Translational Science*, 2011, 100:155–210.
- [14] A. Wessells, Pérez-Pomares J M. The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells [J]. *Anatomical Record Part A Discoveries in Molecular Cellular & Evolutionary Biology*, 2004, 276(1):43–57.
- [15] Piazza N, Gosangi B, Devilla S, *et al.* Exercise-Training in Young *Drosophila melanogaster* Reduces Age-Related Decline in Mobility and Cardiac Performance [J]. *Plos One*, 2009, 4 (6): e5886.
- [16] Ascens ão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise-induced cardioprotection - biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria [J]. *International Journal of Cardiology*, 2007, 117(1):16–30.
- [17] Paternostro G, Vignola C, Bartsch D U, *et al.* Age-associated cardiac dysfunction in *Drosophila melanogaster*. [J]. *Circulation Research*, 2001, 88(10):1053–8.
- [18] Fleg J L, O'Connor F, Gerstenblith G, *et al.* Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women. [J]. *Journal of Applied Physiology*, 1995, 78 (3):890–900.
- [19] Monnier V, Ichétorres M, Rera M, *et al.* dJun and Vri/dNFIL3 are major regulators of cardiac aging in *Drosophila*. [J]. *Plos Genetics*, 2011, 8(11):e1003081–e1003081.
- [20] Mohammed Mahidur Rahman, Gerasimos P. Sykiotis, Mayuko Nishimura, *et al.* Declinin signal dependence of Nrf2 – MafS-regulated gene expression correlates with aging phenotypes [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(4):554–562.
- [21] Yu L, Daniels J, Glaser A E, *et al.* Raf-mediated cardiac hypertrophy in adult *Drosophila*. [J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2013, 6(4):964–976.
- [22] Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises; Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*. 2003, 107(2):346–54.
- [23] Mery A, Taghli-Lamalle O, Clark K, *et al.* The *Drosophila* muscle LIM protein, Mlp84B, is essential for cardiac function. [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2008, 211 (Pt 1): 15–23.
- [24] Taghli – Lamalle O, Akasaka T, Hogg G, *et al.* Dystrophin deficiency in *Drosophila*, reduces lifespan and causes a dilated cardiomyopathy phenotype [J]. *Aging Cell*, 2008, 7 (2): 237–249.
- [25] Molina M R, Cripps R M. Ostia, the inflow tracts of the *Drosophila*, heart, develop from a genetically distinct subset of cardiac cells [J]. *Mechanisms of Development*, 2001, 109(1): 51–59.
- [26] Anyukhovsky E P, Sosunov E A, Plotnikov A, *et al.* Cellular electrophysiologic properties of old canine atria provide a substrate for arrhythmogenesis. [J]. *Cardiovascular Research*, 2002, 54(2):462–469.
- [27] Everett T H, Olgin J E. Atrial fibrosis and the mechanisms of atrial fibrillation. [J]. *Heart Rhythm the Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 2007, 4(3 Suppl):24–7.
- [28] Pellman J, Lyon R F. Extracellular matrix remodeling in atrial fibrosis: mechanisms and implications in atrial fibrillation. [J]. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, 2010, 48(3):461–467.
- [29] Jentsch T J. Neuronal KCNQ potassium channels: physiology and role in disease. [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2000, 1 (1):21–30.
- [30] Suzuki M, Sasaki N, Miki T, *et al.* Role of sarcolemmal K (ATP) channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 109 (4):509–516.
- [31] Kenyon C J. The genetics of ageing. [J]. *Nature*, 2010, 464 (7288):504–12.
- [32] Zhao Z C, Yan C S, Maiese K. Cardiovascular disease and mTOR signaling. [J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2011, 21(5):151–5.
- [33] Neill C O. PI3-kinase/Akt/mTOR signaling: Impaired on/off switches in aging, cognitive decline and Alzheimer's disease [J]. *Experimental Gerontology*, 2013, 48(7):647–653.
- [34] Eroglu F, Yavuz LCeylan B G, Sevin G, *et al.* d4eBP, acts downstream of both dTOR and dFoxO to modulate cardiac functional aging in *Drosophila* [J]. *Aging Cell*, 2009, 8(5):542–552.
- [35] Spletter M L, Schnorrer F. Transcriptional regulation and alternative splicing cooperate in muscle fiber-type specification in flies and mammals [J]. *Advanced Materials Research*, 2014, 321(1):90–98.
- [36] Emery A E. The muscular dystrophies. [J]. *Lancet*, 2002, 359 (273):2367–2370.
- [37] Taghli – Lamalle O, Akasaka T, Hogg G, *et al.* Dystrophin deficiency in *Drosophila*, reduces lifespan and causes a dilated cardiomyopathy phenotype [J]. *Aging Cell*, 2008, 7 (2): 237–249.
- [38] Cammarato A, Dambacher C M, Knowles A F, *et al.* Myosin Transducer Mutations Differentially Affect Motor Function, Myofibril Structure, and the Performance of Skeletal and Cardiac Muscles [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2008, 19(2):553–62.
- [39] Akasaka T, Ocorr K. Drug discovery through functional screening in the *Drosophila* heart. *Methods Mol Biol*. 2009, 577:235–49.