

УДК 575.11:591.465.12:595.773.4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОЙ ГИПОМОРФНОЙ МУТАЦИИ ГЕНА *Trithorax-like* И АНАЛИЗ ЕЕ ВЛИЯНИЯ НА ООГЕНЕЗ *Drosophila melanogaster*¹

© 2008 г. А. А. Огиенко, Д. А. Карагодин, Н. В. Павлова, С. А. Федорова, М. А. Волошина, Э. М. Баричева

Институт цитологии и генетики СО РАН

630090 Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д. 10

E-mail: barich@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 19.07.06 г.

Окончательный вариант получен 23.10.06 г.

Ген *Trithorax-like* (*Trl*) *Drosophila melanogaster* кодирует многофункциональный белок GAGA, который участвует во многих клеточных процессах. Мы изолировали и охарактеризовали новую гипоморфную мутацию гена *Trl* – *Trl^{en82}*. Мутация представляет собой вставку Р-элемента размером 1.4 т. п. н. в 5'-некодирующую область гена. В яйчиках мутантных мух экспрессия гена *Trl* снижена примерно на 30%, однако даже такое снижение экспрессии приводит к нарушениям оогенеза. Мутация *Trl^{en82}* в сочетании с нуль-аллелем гена *Trl* вызывает стерильность самок: они откладывают небольшое число маленьких яиц с измененной, по сравнению с нормой, формой. У мутантов *Trl^{en82}* многие яйцевые камеры характеризуются рядом отклонений от нормы: ооцит имеет неправильную форму и внедряется в область яйцевой камеры, где располагаются питающие клетки; нарушена фаза быстрого транспорта цитоплазмы питающих клеток в ооцит, в результате чего яйцевые камеры мутантов демонстрируют так называемый фенотип “dumpleless”; фолликулярные клетки часто не полностью покрывают ооцит, располагаясь только на его заднем конце; нарушено движение центрипетальных клеток. Предполагается, что стерильность самок *Trl^{en82}* обусловлена нарушением функционирования фолликулярных клеток, причиной которого является уменьшение экспрессии гена *Trl*. Наше предположение подтверждается тем, что при введении трансгенов, несущих кДНК гена *Trl*, происходит “спасение” мутантного фенотипа самок *Trl^{en82}*. Следует отметить, что даже незначительное снижение экспрессии гена *Trl* у таких самок приводит к серьезным нарушениям в функционировании соматических клеток, в то время как значительное снижение экспрессии этого гена у сильных гипоморфных мутантов приводит к нарушениям как в соматических, так и в половых клетках яйцевых камер.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, ген *Trithorax-like*, оогенез, фолликулярные клетки, фенотип “dumpleless”.

Оогенез насекомых представляет собой процесс координированного взаимодействия двух типов клеток – половых и соматических, результатом которого является формирование яйца. Оогенез *Drosophila melanogaster* подразделяется на 14 стадий (King et al., 1956). Начальные этапы формирования каждой яйцевой камеры проходят в передней части овариолы, называемой гермарием. Развитие половых клеток в гермарию начинается с неравного деления половых стволовых клеток, что приводит к формированию цистобласта. В результате четырех циклов деления цистобласта, которые сопровождаются неполным цитокинезом, образуется циста, состоящая из 16 клеток, соединенных между собой цитоплазматическими моста-

ми – кольцевыми каналами. Одна из этих клеток впоследствии становится ооцитом, а остальные 15 – питающими клетками. Ядра питающих клеток подвергаются нескольким циклам эндорепликации, что обеспечивает высокий уровень синтеза РНК в них. Напротив, в ооците уже на третьей стадии развития яйцевой камеры хромосомы становятся транскрипционно неактивными и конденсируются, формируя кариосому (Spradling, 1993). Соматические или фолликулярные клетки (ФК), образующиеся из двух стволовых клеток-предшественниц соматических клеток, окружают каждую сформировавшуюся цисту и разделяют их между собой (Margolis, Spradling, 1995). ФК претерпевают четыре-пять митотических делений, в результате чего к концу пятой стадии развития яйцевой камеры их число достигает 1000 (Spradling, 1993). На 7–9-й стадиях развития яйцевой камеры ДНК ФК

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 060449000) и СО РАН (молодежный проект № 110).

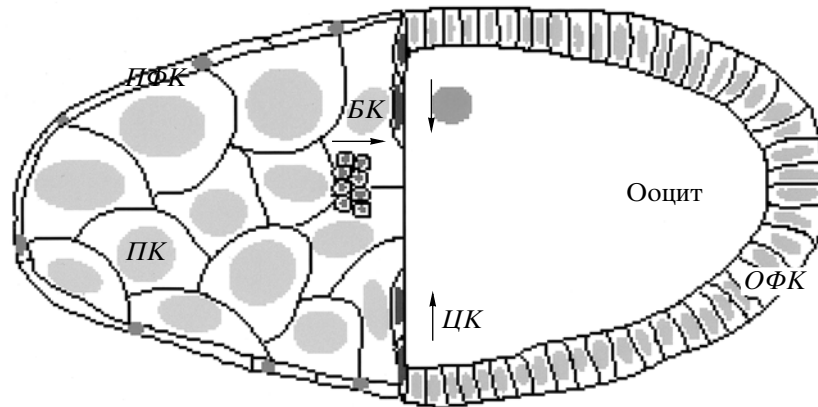


Рис. 1. Схема яйцевой камеры ранней 10-й стадии развития *Drosophila melanogaster* (по: Grammont, Irvine, 2002, с изменениями).

ПК – питающие клетки, ОФК – фолликулярные клетки однослойного цилиндрического эпителия вокруг ооцита, ПФК – фолликулярные клетки плоского однослойного эпителия вокруг питающих клеток, БК – бордюрные клетки, ЦК – центрипетальные клетки, (—→) – направление движения мигрирующих клеток.

подвергается трем циклам эндорепликации, в результате чего каждая клетка содержит 16 копий геномной ДНК (Lilly, Spradling, 1996; Calvi et al., 1998). В это же время начинается активная миграция ФК, что приводит к изменению их формы (Spradling, 1993; Horne-Badovinac, Bilder, 2005), к 10-й стадии развития в яйцевой камере наблюдаются три типа ФК (рис. 1).

Первую группу составляют 6–8 клеток, которые отделяются от эпителия, покрывающего переднюю часть яйцевой камеры, и мигрируют между питающими клетками по направлению к ооциту. Они получили название “бордюрных клеток” (border cells) (Montell et al., 1992). Во вторую группу входит большинство ФК, которые формируют однослойный цилиндрический эпителий вокруг ооцита; к третьей относятся около 50 ФК, формирующих однослойный плоский эпителий вокруг питающих клеток. Поведение ФК на 10-й стадии оогенеза тесно связано с событиями, происходящими в это время в питающих клетках. В этот период, называемый также стадией быстрого транспорта, содержимое питающих клеток начинает быстро перекачиваться в ооцит (Spradling, 1993). В то же самое время ФК, находящиеся на границе между питающими клетками и ооцитом, мигрируют внутрь яйцевой камеры, закрывая переднюю часть ооцита. Эти клетки назвали центрипетальными (centripetal cells) (рис. 1) (Montell et al., 1992). На последних стадиях развития яйцевой камеры ФК выделяют вещества, образующие оболочку яйца (Margaritis et al., 1980). Две группы ФК, расположенные на переднем конце ооцита, координированно мигрируют, давая начало дорсальным выростам хориона (Spradling, 1993). К концу развития яйцевой камеры ФК подвергаются апоптозу (Chao, Nagoshi, 1999).

Ранее был получен ряд данных, позволяющих предположить, что ген *Trithorax-like* (*Trl*) *Drosophila melanogaster*, кодирующий многофункциональный белок GAGA, необходим в процессе оогенеза мух (Liaw et al., 1995; Bejarano, Busturia, 2004). Мы показали, что мутации гена *Trl* вызывают ряд нарушений в ходе оогенеза дрозофилы (Трунова и др., 2001; Огиенко и др., 2006), здесь представлены результаты анализа нового гипоморфного аллеля гена *Trl* – *Trl^{en82}*: проведено молекулярно-генетическое картирование мутации и показано ее влияние на оогенез. Изучение этой более слабой, чем описанная ранее *Trl³⁶²*, мутации позволило выявить новые аспекты влияния белка GAGA на развитие яйцевой камеры дрозофилы. Установлено, что даже незначительное снижение экспрессии гена *Trl*, вызванное мутацией *Trl^{en82}*, ведет к серьезным нарушениям в функционировании соматических клеток на последних стадиях развития яйцевых камер дрозофилы. На основании полученных данных мы делаем заключение о том, что изменение экспрессии гена *Trl* приводит к нарушениям функционирования соматических клеток, что, вероятно, является причиной стерильности мутантных самок.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Все скрещивания проводили на стандартной среде при температуре 25°C. В экспериментах использовали следующие мутации *D. melanogaster*: *Trl^{R85}* (*Df(3L)Trl^{R85}/TM3, Sb¹ Ser y⁺*) – нуль-аллель гена, любезно предоставленная Ф. Каршем (Женевский университет, Швейцария) (Farkas et al., 1994); *Trl³⁶²*, полученная в нашей лаборатории (Огиенко и др., 2006); *Trl^{en82}*, полученная в лаборатории молекулярной биологии Института фунда-

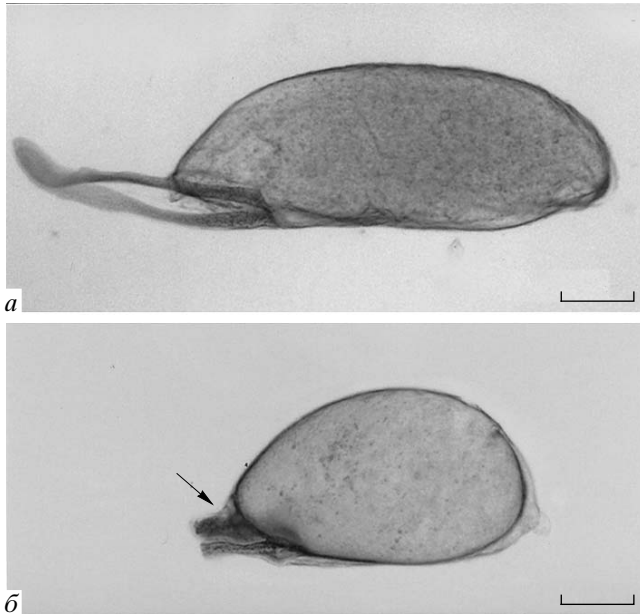


Рис. 3. Морфология яиц самок дикого типа (а) и мутантов Trl^{en82}/Trl^{R85} (б).

(\rightarrow) – укороченные дорсальные выросты хориона. Масштаб здесь и на рис. 4, 5: 100 мкм.

аллель гена Trl , не отличаются заметным снижением фертильности. Однако мутация Trl^{en82} в гомозиготном состоянии приводит к значительному снижению фертильности самок, а в сочетании с нуль-аллелем – к их полной стерильности. Мутантные самки откладывают одно-два яйца в сутки, в то время как самки дикого типа за этот период – 30–50. Размер яиц, продуцируемых мутантными самками, колеблется в интервале 320–400 мкм, что значительно меньше размера яиц у нормальных самок (более 500 мкм). Яйца, отложенные мутантными самками, круглые, а не овальные, как в норме, имеют укороченные дорсальные выросты хориона (рис. 3).

Поскольку мутантные самки отличаются значительным снижением фертильности, был проведен анализ структуры овариол и яйцевых камер в яичниках этих мух. По числу и структуре их овариолы практически не отличаются от таковых самок дикого типа (неопубл. данные). В то же время у самок Trl^{en82} начиная с 10-й стадии развития яйцевых камер мы обнаружили целый ряд нарушений в их структуре (рис. 4). Во-первых, отмечено, что ФК, которые в норме на последних стадиях созревания со всех сторон окружают ооцит (рис. 4, в, д), у мутантов Trl^{en82} часто располагают-

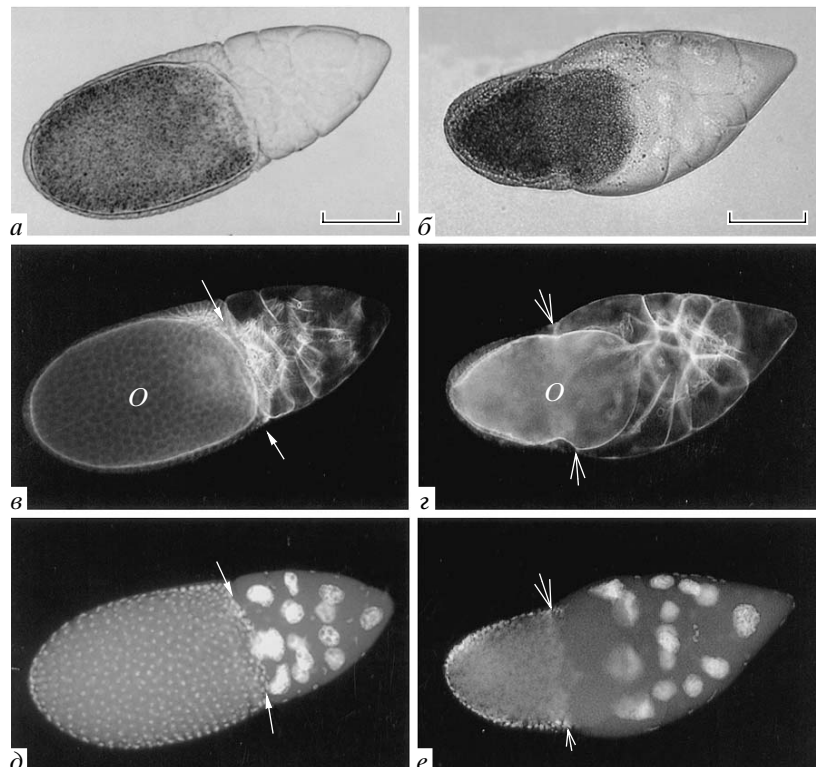


Рис. 4. Развитие яйцевой камеры стадии 10 *Drosophila melanogaster* дикого типа (а, в, д) и мутанта Trl^{en82}/Trl^{R85} (б, з, е).

Окраска: в, з – фаллоидином, конъюгированным Alexa; д, е – DAPI. В норме центрипетальные клетки (\rightarrow , в) глубоко проникают внутрь камеры между ооцитом (O) и питающими клетками; у мутантов миграция центрипетальных клеток нарушена (з) и фолликулярные клетки не покрывают поверхности всего ооцита (е); (\rightarrow) – граница, где кончается миграция фолликулярных клеток.

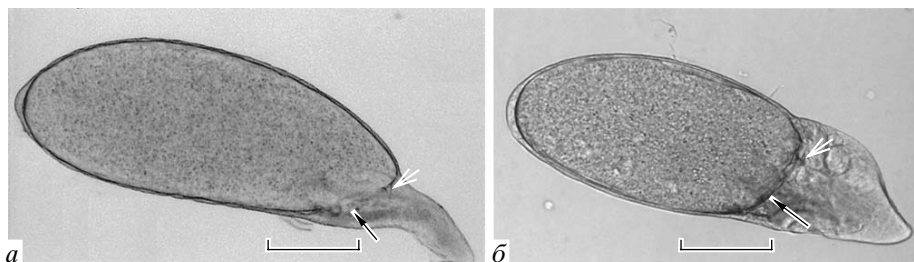


Рис. 5. Нарушение транспорта цитоплазмы питающих клеток в ооцит у мутантов Trl^{en82} . *a* – яйцевые камеры 13-й стадии у самок дикого типа (полный перенос цитоплазмы из питающих клеток в ооцит); *б* – у мутанта Trl^{en82}/Trl^{R85} (полный перенос отсутствует). (—→) – формирующиеся дорсальные выросты хориона – характерная черта яйцевых камер 13-й стадии развития; (⇒) – микропиле.

ся только на заднем конце, не покрывая передней поверхности ооцита (рис. 4, *г, е*). Во-вторых, у мутантов наблюдаются нарушения движения центрипетальных клеток (рис. 4, *г*), которые в норме формируют границу между ооцитом и питающими клетками (рис. 4, *в*). В-третьих, во многих яйцевых камерах мутантов заметны ооциты неправильной формы, часто ооцит располагается в области питающих клеток (рис. 4, *г*). В-четвертых, во многих яйцевых камерах мутантов на поздних стадиях оогенеза не вся цитоплазма питающих клеток переносится в ооцит, в результате чего яйцевые камеры приобретают так называемый фенотип “dumple” (рис. 5). И, наконец, яркой особенностью мутантов Trl^{en82} является наличие в их яичниках 9–10-й стадий развития многочисленных деградирующих яйцевых камер, в которых



Рис. 6. Яичники самок Trl^{en82} , окрашенные DAPI; показана аномальная конденсация хроматина питающих клеток в яйцевых камерах на 9–10-й стадиях развития.

наблюдается аномальная конденсация хроматина питающих клеток (рис. 6). Известно, что в норме случаи деградации яйцевых камер случаются на более ранней 8-й стадии (King et al., 1956).

Следует отметить, что в большинстве питающих клеток у мутантов Trl^{en82} мы не обнаружили значительных нарушений в структуре цитоплазматических актиновых филаментов, формирующихся перед фазой быстрого транспорта на стадии 10В, однако часто у мутантов эти филаменты выглядят более тонкими, менее организованными и неравномерно распределенными внутри яйцевой камеры (рис. 7, *б, г*) по сравнению с особями дикого типа (рис. 7, *а, в*). Известно, что такой тип актиновых филаментов требуется для удержания ядер питающих клеток в центре во время фазы быстрого транспорта. В случае нарушения их организации ядра питающих клеток физически блокируют кольцевые каналы (Cooley et al., 1992; Mahajan-Miklos, Cooley, 1994; Cant et al., 1994). Мы обнаружили, что в 1.8% яйцевых камер мутантов Trl^{en82} все же наблюдаются случаи полного отсутствия цитоплазматических актиновых филаментов (рис. 8, *а*), что сопровождается блокированием кольцевых каналов ядрами питающих клеток (рис. 8, *б*), однако это событие случается значительно реже, чем у мутантов, несущих более сильную гипоморфную мутацию Trl^{362} (18%).

Предполагается, что наблюдаемые нарушения в структуре яйцевых камер у мутантов Trl^{en82} вызваны снижением экспрессии гена Trl . Для проверки этого предположения мы провели эксперименты по “спасению” мух мутантного фенотипа Trl^{en82}/Trl^{R85} . С помощью генетических скрещиваний ввели транспозоны $hsp83:GAGA-519$ и $hsp83:GAGA-581$, экспрессирующие кДНК гена Trl (Greenberg, Schedl, 2001), в мух генотипа Trl^{en82}/Trl^{R85} . Установлено, что добавление даже одной копии любого из трансгенов приводит к восстановлению структуры яйцевых камер и фертильности самок. Это свидетельствует о том, что именно снижение экспрессии гена Trl приводит к описанным нарушениям в оогенезе и, как следствие, к стерильности самок Trl^{en82}/Trl^{R85} .

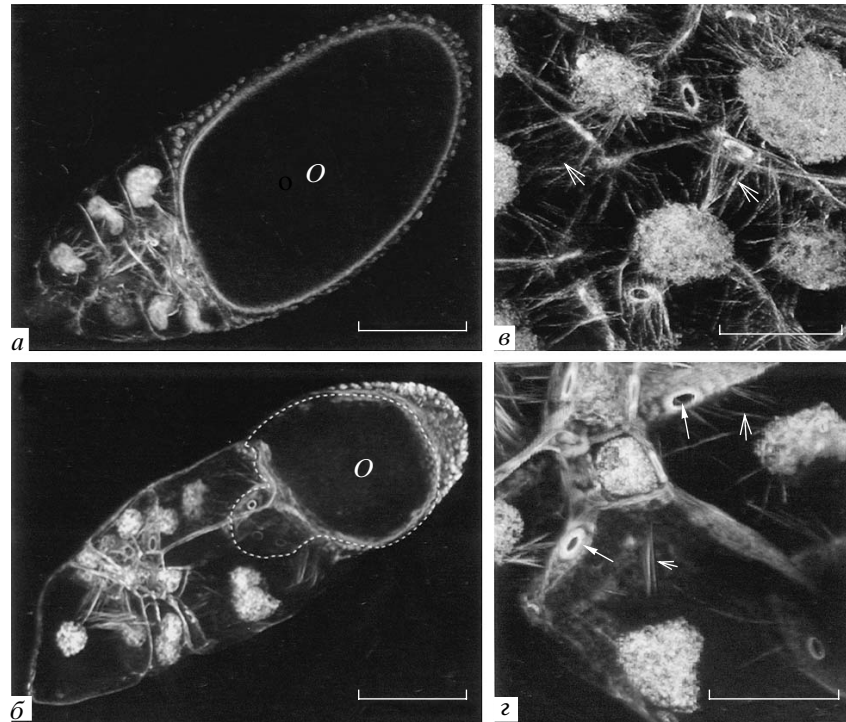


Рис. 7. Формирование цитоплазматических актиновых филаментов в питающих клетках мух дикого типа (*a, в*) и у мутантов *Trl^{en82}* (*б, г*).

a, в – отчетливо видно формирование цитоплазматических актиновых филаментов, они протягиваются от поверхности клеток радиально к ядрам; *б* – актиновые филаменты формируются неравномерно, ооцит (---) внедряется в область, занимаемую питающими клетками; *г* – питающие клетки, в которых нарушено формирование актиновых филаментов; (→) – кольцевые каналы, (⇨) – цитоплазматические актиновые филаменты.

Масштаб: *a, б* – 100, *в, г* – 50 мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мутация *Trl^{en82}* в сочетании с нуль-аллелем приводит к стерильности самок, так же как и другие описанные к настоящему времени гипоморфные мутации гена *Trl* – *Trl^{3c}* и *Trl³⁶²* (Bhat et al., 1996; Огиенко и др., 2006). Изученная нами ранее гипоморфная мутация *Trl³⁶²* влияет на число и структуру половых клеток в яйцевых камерах дрозофилы (Огиенко и др., 2006). В яичниках мутантов *Trl³⁶²* транскрипция гена *Trl* снижена как минимум в 10 раз, что сопровождается резким уменьшением концентрации белка GAGA в ядрах питающих клеток. На этом фоне у мутантов *Trl³⁶²* увеличивается число аномальных яйцевых камер, встречаются камеры с двумя и даже тремя ооцитами, увеличено число камер с отличным от нормы числом питающих клеток. Также для мутантов *Trl³⁶²* характерно значительное нарушение формирования цитоплазматических актиновых филаментов, образующихся перед стадией быстрого транспорта цитоплазмы питающих клеток в ооцит (Огиенко и др., 2006).

Мы обнаружили, что яйцевые камеры мутантов *Trl^{en82}* характеризуются рядом нарушений, наблюдаемых и у мутантов *Trl³⁶²*, но поскольку мутация *Trl³⁶²* вызывает снижение экспрессии гена *Trl* в яич-

никах как минимум в 10 раз, а мутация *Trl^{en82}* – только на треть, то и степень выявленных нарушений у мутантов *Trl³⁶²* и *Trl^{en82}* различна. Так, у самок *Trl^{en82}* только отдельные яйцевые камеры демонстрируют сильные нарушения в структуре цитоплазматических актиновых филаментов и обусловленное этим дефектом блокирование кольцевых каналов ядрами питающих клеток, тогда как у мутантов *Trl³⁶²* многие яйцевые камеры характеризуется подобным дефектом. Кроме того, у мутантов *Trl³⁶²* 26% камер имеют отличное от нормы число питающих клеток, тогда как у мутантов *Trl^{en82}* число таких камер практически не отличается от нормы (неопубл. данные).

Следует отметить, что у мутантов *Trl^{en82}* мы выявили значительные нарушения в структуре яйцевых камер, которые не выявлялись у сильных гипоморфных мутантов *Trl*, поскольку у последних они маскируются сильными нарушениями в половых клетках. Так, отличительной чертой большинства ооцитов самок *Trl^{en82}* является их неправильная форма, зачастую часть ооцита располагается между питающими клетками. Такое явление мы никогда не наблюдали у самок дикого типа. Мы полагаем, что проникновение

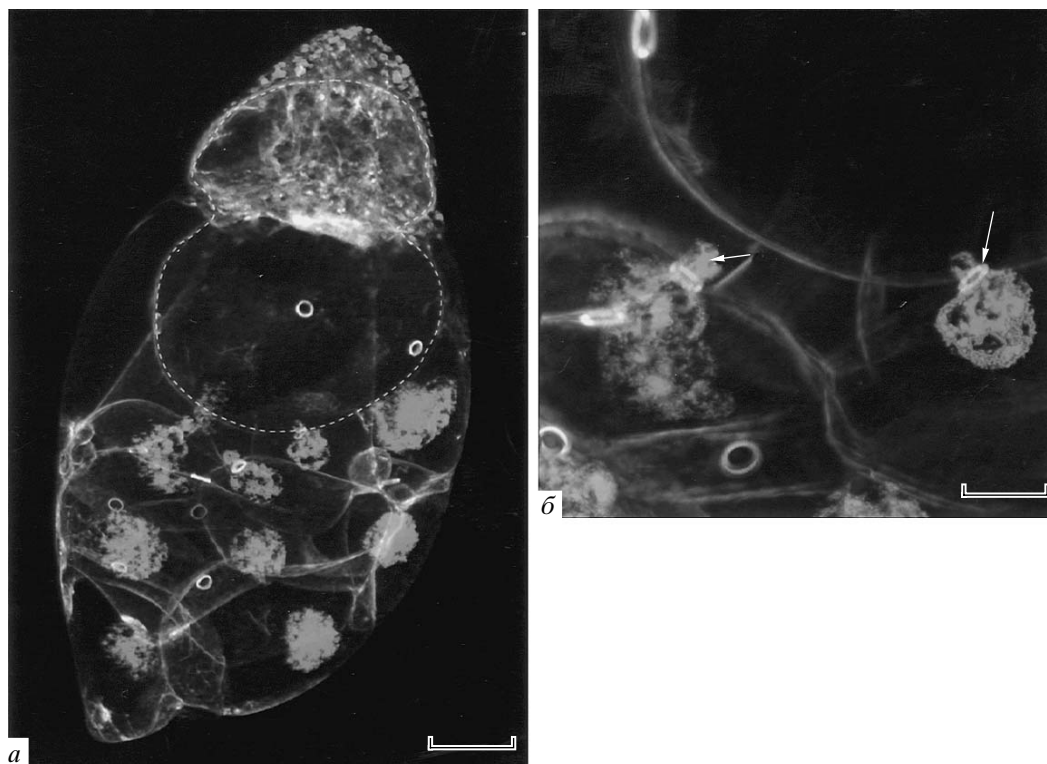


Рис. 8. Яйцевая камера мутанта Trl^{en82}/Trl^{R85} : *a* – изменена форма ооцита (---), он внедряется в область питающих клеток, фолликулярные клетки располагаются только на заднем конце ооцита, формируя многослойный эпителий, во всех питающих клетках полностью отсутствует формирование цитоплазматических актиновых филаментов; *б* – в отсутствие цитоплазматических актиновых филаментов ядра питающих клеток блокируют кольцевые каналы (—→). Масштаб: *a* – 50, *б* – 20 мкм.

ооцита в район, занимаемый питающими клетками, у мутантов Trl^{en82} может объясняться тем, что в яйцевой камере из-за нарушения миграции центрипетальных клеток не формируется полноценная перегородка между ооцитом и питающими клетками. Это приводит к тому, что ооцит, не встречая преграды, распространяется в зону питающих клеток. У более сильных мутантов Trl^{362} , которые характеризуются полным отсутствием миграции центрипетальных клеток, внедрение ооцита в область, занимаемую трофоцитами, наблюдается крайне редко (неопубл. данные), поскольку в результате нарушения фазы быстрого транспорта объем ооцита сильно уменьшен. Такой небольшой ооцит не оказывает значительно давления на не защищенную центрипетальными клетками границу между ооцитом и питающими клетками, и поэтому не распространяется в область, занимаемую питающими клетками.

Следует отметить, что самки Trl^{en82} откладывают маленькие яйца неправильной формы, обычно развивающиеся из яйцевых камер, которые демонстрируют фенотип “dumpless”; последний часто обусловлен нарушением фазы быстрого транспор-

та. Причиной этого является нарушение либо в формировании цитоплазматических актиновых филаментов (Cooley et al., 1992; Mahajan-Miklos, Cooley, 1994; Cant et al., 1994), либо в структуре кольцевых каналов, как это было продемонстрировано для мутантов по генам *kelch* и *hts* (Yue, Spradling, 1992; Xue, Cooley, 1993). У мутантов Trl^{en82} нарушения в формировании цитоплазматических актиновых филаментов в большинстве питающих клеток незначительны (рис. 8, *б*, *г*), а структура кольцевых канальцев не отличается от нормы (рис. 7, *a*, *б*). Мы полагаем, что формирование у этих мутантов дефектных яиц обусловлено другими причинами. В настоящее время появились сообщения о том, что яйца фенотипа “dumpless” формируются у мутантов, характеризующихся нарушением миграции центрипетальных клеток (Dobens, Raftery, 2000; Cavaliere et al., 2005). Мы полагаем, что у мутантов Trl^{en82} именно значительные нарушения миграции фолликулярных клеток, в частности центрипетальных, являются основной причиной формирования фенотипа “dumpless” и, как следствие, стерильности самок.

В нашей работе в результате анализа *Trl^{en82}* – нового гипоморфного аллеля гена *Trl* – было установлено, что даже незначительное снижение экспрессии гена *Trl* ведет к серьезным нарушениям в оогенезе дрозофилы на последних стадиях развития яйцевых камер. В яйцевых камерах мутантов *Trl^{en82}* нарушено движение фолликулярных клеток, в результате чего ооцит не полностью окружается ими и движется в область питающих клеток. Особенностью этой слабой гипоморфной мутации также является проявление нарушений преимущественно в соматических клетках, тогда как в более сильных мутациях эти нарушения маскируются аномалиями половых клеток.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН за помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Катохин А.В., Пиндюрин А.В., Федорова Е.В., Баричева Э.М. Молекулярно-генетический анализ гена *Trithorax-like*, кодирующего транскрипционный фактор GAGA *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2001. Т. 37. № 4. С. 467–474.
- Оуенко А.А., Карагодин Д.А., Федорова С.А. и др. Влияние гипоморфной мутации гена *Trithorax-like* на оогенез *Drosophila melanogaster* // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 3. С. 211–220.
- Трунова С.А., Федорова С.А., Лебедева Л.И. и др. Влияние некоторых мутаций по гену *Trl* на митоз в эмбриональной и личиночной тканях и морфологию яйцевых камер у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2001. Т. 37. № 12. С. 1604–1615.
- Bejarano F., Busturia A. Function of the *Trithorax-like* gene during *Drosophila* development // Devel. Biol. 2004. V. 268. P. 327–341.
- Bender W., Spierer P., Hogness D.S. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from the *Ace* and *rosy* loci and the bithorax complex in *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol. 1983. V. 168. P. 17–33.
- Bhat K.M., Farkas G., Karch F. et al. The GAGA factor is required in the early *Drosophila* embryo not only for transcriptional regulation but also for nuclear division // Development. 1996. V. 122. P. 1113–1124.
- Burnett W.V. Northern blotting of RNA denatured in glyoxal without buffer recirculation // Biotechniques. 1997. V. 22. P. 668–671.
- Calvi B.R., Lilly M.A., Spradling A.C. Cell cycle control of chorion gene amplification // Genes Devel. 1998. V. 12. P. 734–44.
- Cant K., Knowles B.A., Mooseker M.S., Cooley L. *Drosophila* *singed*, a fascin homolog, is required for actin bundle formation during oogenesis and bristle extension // J. Cell Biol. 1994. V. 125. P. 369–380.
- Cavaliere V., Donati A., Hsouna A. et al. dAkt kinase controls follicle cell size during *Drosophila* oogenesis // Devel. Dyn. 2005. V. 232. P. 845–854.
- Chao S., Nagoshi R.N. Induction of apoptosis in the germline and follicle layer of *Drosophila* egg chambers // Mech. Devel. 1999. V. 88. P. 159–172.
- Cooley L., Verheyen E., Ayers K. *chickadee* encodes a profilin required for intercellular cytoplasm transport during *Drosophila* oogenesis // Cell. 1992. V. 69. P. 173–184.
- Dobens L.L., Raftery L.A. Integration of epithelial patterning and morphogenesis in *Drosophila* ovarian follicle cells // Devel. Dyn. 2000. V. 218. P. 80–93.
- Farkas G., Gausz J., Galloni M. et al. The *Trithorax-like* gene encodes the *Drosophila* GAGA factor // Nature. 1994. V. 371. P. 806–808.
- Grammont M., Irvine K.D. Organizer activity of the polar cells during *Drosophila* oogenesis // Development. 2002. V. 129. P. 5131–5140.
- Greenberg A.J., Schedl P. GAGA factor isoforms have distinct but overlapping functions *in vivo* // Mol. Cell Biol. 2001. V. 21. P. 8565–8574.
- Guild G.L., Connelly P.S., Shaw M.K. et al. Actin filament cables in *Drosophila* nurse cells are composed of modules that slide passively past one another during dumping // J. Cell Biol. 1997. V. 138. P. 783–797.
- Horne-Badovinac S., Bilder D. Mass transit: epithelial morphogenesis in the *Drosophila* egg chamber // Devel. Dyn. 2005. V. 232. P. 559–574.
- King R.C., Rubinson A.C., Smith R.F. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster* // Growth. 1956. V. 20. P. 121–157.
- Liaw G.J., Rudolph K.M., Huang J.D. et al. The *torso* response element binds GAGA and NTF-1/Elf-1, and regulates *tailless* by relief of repression // Genes Devel. 1995. V. 9. P. 3163–3176.
- Lilly M.A., Spradling A.C. The *Drosophila* endocycle is controlled by Cyclin E and lacks a checkpoint ensuring S-phase completion // Ibid. 1996. V. 10. P. 2514–2526.
- Mahajan-Miklos S., Cooley L. The villin-like protein encoded by the *Drosophila* *quail* gene is required for actin bundle assembly during oogenesis // Cell. 1994. V. 78. P. 291–301.
- Margaritis L.H., Kafatos F.C., Petri W.H. The eggshell of *Drosophila melanogaster*. I. Fine structure of the layers and regions of the wild-type eggshell // J. Cell Sci. 1980. V. 43. P. 1–35.
- Margolis J., Spradling A. Identification and behavior of epithelial stem cells in the *Drosophila* ovary // Development. 1995. V. 121. P. 3797–3807.
- Montell D.J., Rorth P., Spradling A.C. Slow border cells, a locus required for a developmentally regulated cell migration during oogenesis, encodes *Drosophila* C/EBP // Cell. 1992. V. 71. P. 51–62.
- O'Hare K., Rubin G.M. Structures of P transposable elements and their sites of insertion and excision in the *Drosophila melanogaster* genome // Ibid. 1983. V. 34. P. 25–35.
- Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. A laboratory manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 479 p.
- Spradling A.C. Developmental genetics of oogenesis // The development of *Drosophila melanogaster* / Eds. Bate M., Martinez-Arias A. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1993. P. 1–70.

Xue F., Cooley L. *kelch* encodes a component of intercellular bridges in *Drosophila* egg chambers // Cell. 1993. V. 72. P. 681–693.

Yue L., Spradling A.C. *hu-li tai shao*, a gene required for ring canal formation during *Drosophila* oogenesis, encodes a homolog of adducin // Genes Devel. 1992 V. 6. P. 2443–2454.

Molecular and Genetic Description of a New Hypomorphic Mutation of *Trithorax-like* Gene and Analysis of Its Effect on *Drosophila melanogaster* Oogenesis

A. A. Ogienko, D. A. Karagodin, N. V. Pavlova, S. A. Fedorova,
M. A. Voloshina, and E. M. Baricheva

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
pr. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

e-mail: barich@bionet.nsc.ru

Abstract—The *Trithorax-like* (*Trl*) gene of *Drosophila melanogaster* encodes the multifunctional protein GAGA involved in many cellular processes. We have isolated and described a new hypomorphic mutation of the *Trl* gene—*Trl^{en82}*. The mutation is the insertion of a 1.4 kb P-element into the 5' untranslated region. *Trl* expression decreased in the ovaries of mutant flies by about 30%; however, it caused abnormalities. The *Trl^{en82}* mutation combined with the null allele of *Trl* caused female sterility: the females laid a few small eggs with abnormal shape. Many egg chambers demonstrated abnormalities in the *Trl^{en82}* mutants: the oocyte had a regular shape and intruded into the egg chamber region with nurse cells; the rapid transport of nurse cell cytoplasm into the oocyte was disturbed, which resulted in the “dumple” phenotype of the chambers in mutants; follicular cells often did not completely cover the oocyte and concentrated on its posterior end; and the migration of centripetal cells was affected. We propose that the sterility of the *Trl^{en82}* females is due to the abnormal functioning of follicular cells resulting from low *Trl* expression. This proposal is confirmed by normalizing the mutant phenotype of *Trl^{en82}* females after the transfection of *Trl* cDNA. Note that even an insignificant decrease in *Trl* expression in such females seriously affected the somatic cell functioning, while a significant decrease in its expression in strong hypomorphic mutants affected both somatic and germline cells in the egg chambers.

Key words: Drosophila melanogaster, Trithorax-like gene, oogenesis, follicular cells, dumple phenotype.