

УДК 575.16:951.3595.773.4

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ МАКРОХЕТ У *Drosophila melanogaster*¹

© 2008 г. Д. П. Фурман*, **, Т. А. Бухарина*

*Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, д.10

**Новосибирский государственный университет
630090 Новосибирск, ул. Пирогова, д.2

E-mail: furman@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 14.05.07 г.
Окончательный вариант получен 18.07.07 г.

На голове и теле дрозофилы упорядоченным образом расположено строго определенное число наружных сенсорных органов – макрохет (больших щетинок), образующих характерный для каждого вида щетиночный узор. Его постоянство в сочетании со сравнительно простой организацией каждого щетиночного органа, состоящего всего из четырех специализированных клеток, делает макрохеты удобной моделью для исследования закономерностей формирования пространственных структур с фиксированным числом элементов в определенных позициях и механизмов клеточной дифференцировки. В обзоре систематизированы экспериментальные данные об основных генах и их продуктах, контролирующих три этапа развития макрохет – выделение пронеуральных кластеров в эктодерме имагинальных дисков, детерминацию родительской клетки внутри пронеуральных кластеров, специализацию клеток, составляющих дефинитивный сенсорный орган. Рассмотрена роль комплекса генов *achaete-scute*, сигнальных путей EGFR и Notch, а также генов-селекторов в реализации этих процессов. Анализ литературных данных позволяет предложить интегральную схему функционирования системы контроля развития макрохет у *D. melanogaster*.

Ключевые слова: комплекс *achaete-scute*, сигнальные пути, макрохеты, дрозофила.

Щетинки (механорецепторы), совокупное число которых достигает 6000, входят в состав периферической нервной системы дрозофилы. По размерам и характеру локализации на голове и теле мухи щетинки подразделяются на макро- и микрохеты. Микрохеты (щетинки малого размера) многочисленны, не имеют строгой локализации и располагаются более или менее правильными рядами. В отличие от них число и расположение макрохет (больших щетинок) жестко фиксировано, и щетиночный узор, который они формируют, является для дрозофилы видовым признаком (Simpson, Marcellini, 2006). Так, у *D. melanogaster* такой узор составляют 11 пар макрохет, имеющих закрепленные названия в зависимости от позиции.

Дефинитивный щетиночный орган состоит из собственно щетинки, цоколя, окужающего ее основание, нейрона и клетки глии. Все компоненты являются результатом специализации четырех

клеток, происходящих путем двух делений из единственной родительской клетки. Пространственное расположение щетинок на теле имаго идентично расположению родительских клеток в эктодермальном слое крылового имагинального диска, так что правильность их позиционирования определяет точность щетиночного узора (Campuzano, Modolell, 1992).

В формировании макрохет выделяются три этапа, два из которых связаны с определяющим моментом их морфогенеза – детерминацией родительской клетки щетиночного органа (SOP – Sensory Organ Precursor cell).

Первый этап состоит в обособлении из массы эпидермальных клеток крылового имагинального диска так называемых пронеуральных кластеров – групп из 20–30 клеток. На втором этапе происходит выделение родительской клетки и уточнение ее позиции внутри пронеурального кластера. Заключительным этапом является деление родительской клетки и специализация формирующих клеток щетиночного органа.

Каждый этап имеет собственное генетическое обеспечение. В морфогенезе щетинок участвуют три группы генов: пронеуральные, определяю-

¹ Работа поддержана Программой № 2 фундаментальных исследований РАН “Молекулярная и клеточная биология” (проект № 10.4) и Программой Президиума РАН “Происхождение и эволюция биосферы” (интеграционный проект СО РАН № 18.13).

щие обособление и положение пронеуральных кластеров; нейрогенные, от которых зависит детерминация родительской клетки и ее позиционирование в пределах кластера; и селекторные, конкретизирующие тип дифференцировки каждой из дочерних клеток.

Критическим фактором, предопределяющим нейральную судьбу клеток, является пороговый уровень содержания пронеуральных белков – продуктов генов комплекса *achaete-scute* (*AS-C*). Контроль достижения и поддержания этого уровня обеспечивается, с одной стороны, внутриклеточной регуляцией активности *AS-C*, а с другой – межклеточными событиями, опосредуемыми сигнальными путями EGFR и Notch. В процесс вовлечено несколько десятков генов.

На сегодняшний день существует значительное число работ, освещающих различные аспекты функционирования молекулярно-генетической системы контроля морфогенеза макрохет, однако ее систематизированное описание отсутствует. В обзоре приводятся результаты анализа существующих литературных данных и на их основе предлагается интегральная схема функционирования системы контроля развития макрохет у *D. melanogaster*.

ПЕРВЫЙ ЭТАП РАЗВИТИЯ МАКРОХЕТ: РОЛЬ ПРОНЕУРАЛЬНЫХ ГЕНОВ И СИГНАЛЬНОГО ПУТИ EGFR

На первом этапе развития каждого щетиночного органа происходит формирование пронеурального кластера – группы клеток, имеющих потенциальную возможность пойти по пути нейрального развития. Основная роль в этом процессе принадлежит пронеуральным генам комплекса *achaete-scute* (*AS-C*). Именно их экспрессия сообщает клеткам кластера компетентность – способность становиться клетками SOP (Reeves, Posakony, 2005).

Инактивация пронеуральных генов вызывает исчезновение некоторых или всех макрохет у взрослой особи. В случае их эктопической экспрессии за счет переключения онтогенетического механизма с развития по типу эпидермальных клеток на развитие по типу нейральных клеток возникают дополнительные щетинки в эктопических позициях.

Гены *AS-C* кодируют транскрипционные факторы так называемого семейства белков bHLH, содержащие в своем составе аминокислотные последовательности типа “спираль-петля-спираль” и основные домены, через которые они связываются со специфическими сайтами CANNTG в регуляторных областях контролируемых ими генов – E-боксами (Powell et al., 2004). К числу этих генов

относятся наряду с пронеуральными *Delta*, *scabrous*, *E(spl)-C*, *charlatan*, *groucho*, *senseless* и др.

AS-C занимает в геноме около 90 т.п.н. и содержит 9 транскрипционных единиц, разделенных нетранскрибируемыми участками. Важную для морфогенеза макрохет функцию комплекса определяет наличие транскриптов T5 (*ac*), T6 (*sc*) и T8 (T1a) (*asense* – *ase*). Каждый из транскриптов имеет собственный временной и пространственный профиль распределения. Специфичность экспрессии генов комплекса определяется энхансерами, расположенными на расстоянии до 100 т.п.н. от него (Gómez-Skarmeta et al., 1995).

Один тип энхансеров инициирует экспрессию генов *ac* и *sc* в пределах определенного пронеурального кластера, второй запускает этот процесс уже в каждой родительской клетке (Escudero et al., 2005). Активность энхансеров обоих типов определяется локальной комбинацией определенных транскрипционных факторов (в рамках гипотезы Штерна – факторами предструктуры) (Stern, 1954; Gómez-Skarmeta et al., 2003). Ими являются продукты как самих пронеуральных генов, так и других генов, в частности *u-shaped*, *pannier*, комплекса *iroquois* (*arauca*, *caupolican* и *mirror*), а также некоторые белки сигнального пути EGFR (Leysn et al., 1996; Haenlin et al., 1997; Garcia-Garcia et al., 1999; Culi et al., 2001).

Так, в средней части нотума комплекс *AS-C* активируется белком PANNIER, а в латеральной – белками генов комплекса *iroquois*. В свою очередь экспрессия генов *pannier* и *iroquois* регулируется продуктами генов, входящими в каскад генов сигнального пути EGFR – *decapentaplegic* и *wingless* соответственно (Tomoyasu et al., 1998; Garcia-Garcia et al., 1999; Phillips et al., 1999; Calleja et al., 2002).

Таким образом, точность позиционирования щетинок достигается скоординированной совместной пространственно ограниченной экспрессией генов *AS-C*, обусловленной, с одной стороны, предструктурой – набором соответствующих транскрипционных факторов, а с другой – системой ответа на предструктуру, включающей гены *AS-C* с набором энхансеров.

Клетки пронеурального кластера отличаются от окружающих его эктодермальных клеток содержанием белков *AS-C*: оно существенно выше, чем в окружающих клетках эктодермы, и достигает максимальных значений в родительской клетке. Кроме того, клетки SOP накапливают и белок ASE. В процесс вовлечено несколько десятков генов, объединенных сложными отношениями взаимной и авторегуляции с участием сигнальных путей.

Регуляция экспрессии генов AS-C. Поскольку белки *AS-C* являются транскрипционными факторами, они способны регулировать транскрип-

цию в том числе и генов, которые их кодируют. Регуляторную активность эти факторы приобретают в составе гетеродимеров с некоторыми другими белками. В зависимости от состава такие комплексы выступают либо как позитивные, либо как негативные регуляторы экспрессии генов *AS-C*.

Позитивную регуляцию собственной транскрипции генов *AS-C* осуществляют гетеродимеры *AS* и *SC* с белком *DA* – продуктом гена *daughterless (da)*, также представителем белков типа *bHLH*. Активация транскрипции происходит через связывание таких гетеродимеров с тремя *E*-боксами в регуляторной зоне *AS-C* (Cabrera, Alonso, 1991).

Гетеродимеры белков *AS-C* и *EMC* – продукта гена *extramacrochaete* – осуществляют негативную регуляцию экспрессии генов *AS-C*, поскольку *EMC* является белком *HLH*-типа, лишенным ДНК-связывающего основного домена. Комплексы, образованные пронейральными белками и *EMC*, не способны связываться с ДНК. Конкурируя с *DA* за связывание с белками *AS-C*, *EMC* понижает концентрацию функциональных гетеродимеров, что влечет и снижение уровня транскрипции генов комплекса *AS-C* (Van Doren et al., 1992; Vaessin et al., 1994; Cabrera et al., 1994; Smith, Cronmiller, 2001).

Регуляция активности пронейральных генов осуществляется не только гетеродимерами, в состав которых входят *AS* и *SC*, но и другими факторами.

Прямым активатором транскрипции пронейральных генов является *CHARLATAN (CHN)*. Этот транскрипционный фактор содержит домены типа “цинковых пальцев” и связывается с кластероспецифическими энхансерами в регуляторной зоне *AS-C*. Нарушения экспрессии гена *chn* приводят либо к утрате макрохет в случае недостатка белка *CHN*, либо к развитию добавочных макрохет, если белка *CHN* производится слишком много. В свою очередь транскрипция *chn* в клетках пронейральных кластеров активируется белками *AS-C* (Escudero et al., 2005).

Прямыми негативными регуляторами активности пронейральных генов являются белки – продукты нейрогенных генов комплекса *Enhancer of split (E(spl)-C)* и *hairy*.

В состав *E(spl)-C* входит как минимум одиннадцать транскрипционных единиц (Giebel, Campos-Ortega, 1997). Предполагается, что активация транскрипции генов комплекса происходит с участием пронейральных белков (Giagtzoglou et al., 2005). Семь транскриптов *E(spl)-C* кодируют белки типа *bHLH*, несущие на *C*-конце тетрапептиды *WRPW* (Artavanis-Tsakonas et al., 1995). Такая структура обеспечивает им, с одной стороны, возможность связывания с ДНК, а с другой – возможность участия в формировании белок-белковых комплексов (Giebel, Campos-Ortega, 1997). Ре-

прессия генов-мишеней осуществляется за счет прямого связывания с их регуляторными районами как самих гомо- и гетеродимеров *E(SPL)-C*, так и белков *E(SPL)-C* в составе гетеродимерных комплексов со *SC-DA* (Heitzler et al., 1996).

В качестве корепрессора при этом привлекается продукт нейрогенного гена *groucho (gro)*. Взаимодействие *GRO* с белками *E(SPL)-C* осуществляется при участии семи повторов высококонсервативного *C*-концевого домена *WD4* (Trp-Arg-Pro-Trp) белка *GRO* и района *WRPW* белков *E(SPL)-C* (Paroush et al., 1994; Culi et al., 2001; Giagtzoglou et al., 2003).

Прямым репрессором транскрипционной активности генов *AS-C* является и *HAIRY (H)* – белок класса *bHLH* с *C*-концевым районом *WRPW*. Этот транскрипционный фактор связывается с *C*-боксами (*CACNNG*) регуляторных районов генов-мишеней (Van Doren et al., 1994). Для функциональной активности *H* также нуждается в кофакторе *GRO* (Paroush et al., 1994; Fisher, Caudy, 1998; Bianchi-Frias et al., 2004). Предполагается, что комплекс *H* с *GRO* участвует в ремоделировании хроматина или взаимодействует с комплексом, осуществляющим транскрипцию гена-мишени (Courey, Jia, 2001).

Двойственную роль в регуляции активности пронейральных генов играет транскрипционный фактор *SENSELESS (SENS)*, содержащий четыре домена “цинковых пальцев”, через которые он способен связываться как с ДНК, так и с пронейральными белками – прямыми активаторами экспрессии *sens*. *SENS* является активатором или репрессором транскрипции пронейральных генов в зависимости от своего содержания в клетке. При низком содержании он выступает как репрессор активности пронейральных генов, непосредственно связываясь с ДНК в соответствующих сайтах энхансерных районов *AS-C*; при высоком – образует комплексы с пронейральными белками и *DA*, выступая в этом случае коактиватором экспрессии пронейральных генов. Процесс активации чувствителен к уровню содержания некоторых белков *E(SPL)*. Предполагается, что функциональная двойственность *SENS* связана с конформационным состоянием доменов “цинковые пальцы” и различной их аффинностью к ДНК и пронейральным белкам (Nolo et al., 2000, Jafar-Nejad et al., 2003, 2006; Acar et al., 2006). Таким образом, *SENS* действует как переключатель активности пронейральных генов и, следовательно, как переключатель пути развития клеток пронейрального кластера, способствуя выделению родительской клетки щетиночного органа.

Сигнальный путь EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) и его роль в регуляции развития макрохет дрозофилы. Наряду с прямой внутриклеточной регуляцией активности пронейраль-

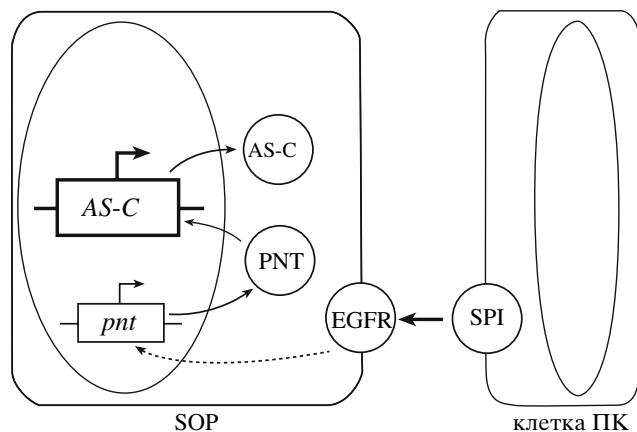


Рис. 1. Схема участия сигнального пути EGFR в активации генов *AS-C* (по: Bukharina et al., 2006). Овалами обозначены ядра клеток. SOP – родительская клетка щетиночного органа, ПК – клетка proneurального кластера, (→) – активирующие воздействия, ост. обозначения см. в тексте.

ных генов важную роль в морфогенезе макрохет играет сигнальный путь EGFR, посредством которого достигается эффект так называемой латеральной кооперации. Гены, формирующие этот сигнальный каскад, включаются на всех трех стадиях развития сенсорных органов – формировании proneurальных кластеров, детерминации клеток SOP внутри этих кластеров и специализации клеток щетиночного органа (Freeman, 1998; Culi et al., 2001).

В зависимости от выполняемых функций белки EGFR-сигнального пути можно разделить на следующие группы: 1) рецептор эпидермального фактора роста дрозофилы – EGFR, или DER, 2) его лиганды – SPITZ (SPI) и ARGOS (AOS); 3) белки, участвующие в процессинге лигандов – STAR (S) и RHOMBOID (RHO); 4) белки, осуществляющие передачу сигнала от поверхности клетки в ядро (Ras/Raf/MAP-киназный каскад, POINTED).

Трансмембранный рецептор DER принадлежит к семейству рецепторных тирозинкиназ – белков с внутренней киназной активностью. Внеклеточная часть белка состоит из четырех доменов. Два из них, обеспечивающие связывание рецептора с лигандами, – цистеинбогатые (Livneh et al., 1985). Рецептор представлен двумя изоформами, однако точное назначение каждой из них до сих пор не выяснено (Shilo, 2003).

Лигандами рецептора являются SPI и AOS. В зависимости от того, с каким из них свяжется рецептор, произойдет активация или блокирование межклеточной передачи сигнала (del Alamo et al., 2002; Klein et al., 2004).

Изначально SPI синтезируется как неактивный предшественник и аккумулируется в эндоплазматическом ретикулуме. Далее следует пере-

нос предшественника в аппарат Гольджи, где происходит его созревание. Доставку осуществляет белок STAR. В аппарате Гольджи комплекс “предшественник-STAR” расщепляется протеазой RHO, после чего зрелый лиганд перемещается на мембрану клетки (Tsruya et al., 2002; Shilo, 2003; Urban, 2006).

Передача сигнала начинается с присоединения лиганда SPI к внеклеточному домену DER. Затем в клетке-реципиенте происходит фосфорилирование внутриклеточного домена рецептора и активация Ras/Raf/MAP-киназного каскада. Результатом внутриклеточной передачи сигнала от мембраны клетки в ядро является инициация транскрипции гена *pointed* и последующий синтез двух изоформ белка POINTED – PNT-P1 и PNT-P2 (Gabay et al., 1997; Kumar et al., 2003). Детали процесса внутриклеточной передачи сигнала не исследованы до сих пор. Обе изоформы могут выступать в роли транскрипционных факторов для proneurальных генов, поскольку способны связываться с одними и теми же участками ДНК с помощью входящих в их состав Ets-доменов (Albagli et al., 1996; zur Lage et al., 2004). Изложенная последовательность событий представлена на рис. 1.

Секретируемый лиганд ARGOS является репрессором EGFR-сигнального пути. Активация гена *argos* происходит одновременно с активацией proneurальных генов, и его экспрессия наблюдается исключительно в клетках proneurальных кластеров. Секреция лиганда и его присоединение к рецептору влечет блокирование передачи EGFR-сигнала в клетки, соседние с клетками, активно экспрессирующими белки AS-C (Golembi et al., 1996; Culi et al., 2001).

Таким образом, локальная дифференциальная экспрессия генов *AS-C* и EGFR-сигнальный путь определяют точное местоположение proneurального кластера и обеспечивают накопление proneurальных белков в клетках кластера.

ВТОРОЙ ЭТАП РАЗВИТИЯ СЕНСОРНОГО ОРГАНА ДРОЗОФИЛЫ: РОЛЬ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ Notch

Второй этап формирования сенсорного органа связан с обособлением и уточнением позиции родительской клетки уже в пределах proneurального кластера и контролируется группой нейрогенных генов. При нарушении их функции нейральными становятся большинство или все клетки кластера. Обязательным условием выделения родительской клетки является достижение в ней максимального по сравнению с окружающими клетками уровня содержания белков AS-C. Клетки, не располагающие необходимой концентрацией proneurальных белков, остаются эпидермальными.

Определяющим на этом этапе является латеральное ингибирование – процесс, опосредуемый Notch-сигнальным путем, в результате которого только одна клетка кластера детерминируется как нейральная (Heitzler, Simpson, 1991; Artavanis-Tsakonas et al., 1995; Ghysen, Thomas, 2003). В остальных клетках происходит репрессия активности пронеуральных генов за счет прямого взаимодействия определенных регуляторных белков Notch-каскада с энхансерными районами AS-C (Culi, Modolell, 1998).

В Notch-сигнальный каскад вовлечено несколько десятков белков – продуктов нейрогенных генов, основных представителей которых условно можно разделить на следующие группы:

ген, кодирующий рецептор NOTCH – *Notch (N)*;

гены, кодирующие лиганды NOTCH – *Delta (Dl)* и *Serrate (Ser)*;

гены, продукты которых обеспечивают межклеточную передачу сигнала – *Presenilin (Ps)*, *kuzbanian (kuz)*, *polychaetoid (tamou) (pyd, tam)*, *big brain (bib)*, *sanpodo (spdo)* и другие;

гены, продукты которых осуществляют интернализацию рецептора и лигандов – *neuralized (neur)*, *Suppressor of Deltex (Su(dx))*, *shibire*, *numb* и другие;

гены, продукты которых участвуют во внутриклеточной передаче сигнала – гены комплексов *Enhancer of split (E(spl))* и *Bearded (Brd-C)*; *mastermind (mam)*, *Hairless (H)*, *Suppressor of Hairless (Su(H))*, *deltex (dx)* и ряд других.

Первые три группы генов кодируют в основном трансмембранные белки и белки, расположенные на поверхности клетки, а две другие – цитоплазматические и ядерные белки.

Основными звеньями Notch-сигнального пути являются рецептор NOTCH, его лиганд DELTA и внутриклеточная мишень – гены комплекса *Enhancer of split (E(spl)-C)*. Именно продукты генов этого комплекса далее действуют как репрессоры транскрипции пронеуральных генов.

Рассмотрим подробнее некоторые детали Notch-сигнального пути.

Рецептор NOTCH – центральный элемент одноименного сигнального пути – необходим для правильного развития нервной системы дрозофилы. NOTCH – типичный трансмембранный белок, состоящий из вне- и внутриклеточного доменов. Большой внеклеточный домен содержит 36 tandemно расположенных консервативных EGF-подобных повторов, участвующих в связывании с лигандами, и три повтора цистеинбогатой последовательности N/LIN 12 (Fortini, Artavanis-Tsakonas, 1993). Внутриклеточный домен состоит из шести tandemных анкириновых повторов, района, содержащего 30 глутаминовых остатков (ораповтор), и последовательности PEST, богатой

пролином, глутамином, серином и треонином. Полагают, что последовательности ора и PEST важны для регуляции стабильности белка (Wharton et al., 1985).

Изначально NOTCH синтезируется как белок с молекулярной массой примерно в 300 кДа. Затем в аппарате Гольджи под действием протеаз происходит его процессинг, и на поверхности клетки оказывается уже зрелый рецептор, состоящий из внутри- и внеклеточного доменов (Rand et al., 2000; Koran, 2002).

Лиганды рецептора NOTCH. DELTA является трансмембранным белком с большим внеклеточным доменом, содержащим девять EGF-повторов и консервативный повтор DSL (*Delta-Serrate-LAG-2*) (Artavanis-Tsakonas et al., 1995; Sun, Artavanis-Tsakonas, 1997).

Лиганд SER, функционально родственный белку DL, имеет внеклеточный домен, содержащий 14 EGF-подобных повторов, трансмембранный домен и небольшую внутриклеточную часть (Fleming et al., 1990). SER и DL являются альтернативными лигандами для рецептора NOTCH, поскольку взаимодействуют с одним и тем же его внеклеточным фрагментом, однако возможность их взаимного замещения сильно ограничена (Fortini, Artavanis-Tsakonas, 1993; Gu et al., 1995). Выбор между лигандами осуществляется с помощью гликозилтрансферазы FRINGE, ингибирующей способность NOTCH связываться с SER и усиливающей его связывание с DL (Panin et al., 1997; Schweisguth, 2004).

Именно взаимодействия в паре N-DL являются ключевыми при межклеточной передаче сигналов от клетки к клетке в пределах пронеурального кластера, обеспечивая правильный ход событий. Известно, что эмбрионы, гомозиготные по мутациям в локусе *Dl*, гибнут в результате гиперплазии нервной ткани. Экспрессия *Dl* активизируется пронеуральными белками AC-SC. Накопление лиганда DL в будущей родительской клетке и его соединение с рецепторами NOTCH, локализованными на мембранах соседних клеток, запускают механизм латерального ингибирования (Heitzler, Simpson, 1991; Kunisch et al., 1994).

Межклеточная передача сигнала. Этот процесс контролирует многочисленная группа генов, кодирующих белки, большая часть которых локализуется на поверхности или внутри клеточной мембраны. Наиболее полно изучены механизмы действия *Presenilin (Ps)*, *kuzbanian (kuz)*, *polychaetoid (tamou) (pyd, tam)*, *big brain (bib)*, *sanpodo (spdo)*.

Гены *Ps*, *kuz*, *pyd* кодируют одноименные протеазы, функция которых в Notch-сигнальном пути заключается в расщеплении зрелого рецептора NOTCH на вне- и внутриклеточный домены (Chen et al., 1996; Guo et al., 1999; Struhl, Greenwald, 2001; Lieber et al., 2002).

Ген *big brain* кодирует трансмембранный белок, принадлежащий к классу туннельных белков и гомологичный аквапоринам, участвующим в формировании каналцев в цитоплазматической мембране. Показано, что у мутантов *bib* удваивается количество сенсорных нейронов, т.е. его роль, как и других нейрогенных генов, состоит в определении пути развития клеток пронеурального кластера. Показано, что *VIB* необходим для приема сигнала латеральной ингибиции или ответа на него, но не для генерации такого сигнала. Эффект *VIB* синергичен по отношению к *DL* и *NOTCH*, возможно, он способствует их связыванию или участвует в следующей стадии передачи сигнала, однако точный механизм его действия неясен (Rao et al., 1992; Doherty et al., 1997).

Ген *spdo* кодирует трансмембранный белок – один из активаторов Notch-сигнального пути. У мутантов по этому гену вместо нейрона и глиальной клетки развиваются два нейрона (Dye et al., 1998). По одной из гипотез, образование комплекса N-SPDO позволяет протеазе PS правильно расщепить рецептор NOTCH (O'Connor-Giles, Skeath, 2003). Согласно другой точке зрения, функция белка SPDO состоит в регуляции эндоцитоза NOTCH (Hutterer, Knoblich, 2005).

Некоторые из нейрогенных генов кодируют белки, которые не только являются участниками Notch-пути, но и непосредственно влияют на экспрессию генов-регуляторов активности пронеуральных генов. Так, *pyd* ингибирует экспрессию пронеуральных генов, будучи прямым активатором транскрипции гена *extramacrochaete* (Chen et al., 1996).

Интернализация рецептора и лигандов. В этом процессе задействованы убиквитинлигазы NEURALIZED (NEUR) и SUPPRESSOR OF DELTEX (SU(DX)), а также белки DYNAMIN (DYN) и NUMB, которые функционируют как активаторы или ингибиторы сигнального пути.

NEUR и DYN поддерживают индуктивное состояние клетки-источника сигнала и являются позитивными регуляторами Notch-каскада. Присоединяя молекулы убиквитина к комплексу лиганда DL с внеклеточным доменом Notch, NEUR инициирует его транспортировку в клетку-индуктор (Lai et al., 2001; Seto et al., 2002; Le Borgne et al., 2005).

Интернализация комплекса “DL-внеклеточный домен NOTCH” в клетку-индуктор зависит и от белка DYN, который кодируется геном *shibire*. DYN обладает ГТФазной активностью и обеспечивает отщепление везикулы, в полости которой заключены транспортируемые белки, от клеточной мембраны. В результате на мембране клетки-индуктора освобождается место для новых молекул лиганда, становится возможным формирование новых комплексов лиганд-рецептор и тем са-

мым пролонгирование индуктивного состояния клетки (Seto et al., 2002; Le Borgne et al., 2005). Показано, что интернализация комплекса влияет на внутриклеточное прохождение сигнала и в клетке-реципиенте, однако механизм этого влияния пока не выяснен (Parks et al., 2000; Seto et al., 2002).

Убиквитинлигаза SU(DX) и белок NUMB осуществляют негативную регуляцию Notch-каскада через интернализацию и превращения рецептора NOTCH в клетке-реципиенте.

SU(DX) способствует проникновению полно-размерного рецептора в клетку. Внутри нее комплекс SU(DX)-N в поздней эндосоме запускает механизмы деградации рецептора. Таким образом обеспечивается отток рецептора с клеточной мембраны (Seto et al., 2002; Le Borgne et al., 2005).

Белок NUMB прерывает передачу Notch-сигнала и блокирует весь сигнальный путь. Показано, что этот эффект связан с инактивацией рецептора NOTCH, вызванной его прямым взаимодействием с NUMB (Frise et al., 1996). Недавно появились данные о том, что NUMB индуцирует эндоцитоз полноразмерного рецептора клеткой-реципиентом. В процессе участвует адаптерный белок α -ADAPTIN и, возможно, SPDO, образующий комплекс с рецептором (Santolini et al., 2000; Berdnik et al., 2002; Jafar-Nejad et al., 2002; O'Connor-Giles, Skeath, 2003; Le Borgne et al., 2005).

Внутриклеточная передача сигнала обеспечивается генами комплексов *Enhancer of split (E(spl)-C* и *Bearded (Brd-C); mastermind (mam), Suppressor of Hairless (Su(H)), Hairless (H), deltex (dx)* и рядом других.

Гены комплекса *E(spl)* являются внутриклеточной мишенью и финальным звеном Notch-каскада. В процессах нейрогенеза *E(spl)-C* выступает антагонистом пронеуральных генов как активаторов нейрального пути развития клеток. Белки *E(SPL)-C* выполняют репрессорную функцию, подавляя транскрипцию пронеуральных генов. Показано, что участие белков *E(SPL)-C* в нейрогенезе состоит в репрессии не только самих пронеуральных генов, но и их генов-мишеней, в частности *deadpan*, *neurolized*, *scabrous* и др. При этом непременным условием активности белков *E(SPL)-C* является наличие кофактора GRO (Giagtzoglou et al., 2003, 2005).

Bearded-комплекс (*Brd-C*) объединяет шесть генов, кодирующих небольшие белки, не принадлежащие к типу bHLH и несущие на N-конце α -спираль (Lai, Posakony, 1997; Leviten et al., 1997). Предполагается, что белки семейства BRD участвуют в регуляции Notch-каскада через влияние на эндоцитоз DL (Bardin, Schweisguth, 2006). Экспрессию *Brd-C* активируют SU(H) и пронеуральные белки (Wurmbach et al., 1999; Lai et al., 2000).

Еще один нейрогенный ген – *mastermind (mam)* – кодирует ядерный белок MAM, состоящий из че-

редующихся кислотных и основных доменов, что свидетельствует о его ДНК-связывающей способности (Petcherski, Kimble, 2000). В составе комплекса с SU(H), с которым MAM связывается только в присутствии внутриклеточного домена NOTCH, этот белок действует как сильный коактиватор транскрипции в отношении генов-мишеней Notch-сигнального пути, в частности *E(spl)-C* (Mumm, Kopan, 2000; Castro et al., 2005; Maier, 2006).

Исключительно важную роль в Notch-сигнальном пути играют антагонистично действующие гены *Suppressor of Hairless (Su(H))* и *Hairless (H)* (Lyman, Yedvobnick, 1995). У мутантов по гену *H* наблюдается нарушение детерминации клеток SOP и, как следствие, отсутствие щетинок. Доминантным супрессором фенотипа *H* выступает *Su(H)*. Повышенная экспрессия этих генов фенотипически проявляется одинаково и выражается в появлении добавочных щетинок.

Белок SU(H) занимает одну из ключевых позиций в Notch-сигнальном пути, поскольку участвует в передаче сигнала от мембраны в ядро клетки и является непосредственным активатором транскрипции *E(spl)-C*.

Трансдукция сигнала осуществляется комплексом "SU(H)-внутриклеточный домен NOTCH", который формируется при связывании SU(H) с анкириновыми повторами рецептора (Schweisguth, 1995). После перемещения этого комплекса в ядро и присоединения к нему белка MAM происходит специфичное связывание SU(H) в составе комплекса с консенсусной последовательностью 5'-GTGRGAR-3' в регуляторных областях генов *E(spl)-C* и инициация их транскрипции (Bailey, Posakony et al., 1995). Предполагается, что специфичность связывания обеспечивает интегративный домен SU(H) (Schweisguth et al., 1994).

Антагонистом SU(H) как активатора транскрипции генов *E(spl)-C* выступает основной белок HAIRY. Функционально активным репрессором его генов-мишеней является комплекс, состоящий из H, SU(H) и корепрессоров dCtBP (*Drosophila C-terminal binding protein*) и GRO (Maier, 2006). Взаимодействие H с корепрессором dCtBP осуществляется через C-концевую последовательность PLNLS, а с GRO – через последовательность YSIHSLLG (так называемый 'eh1'-мотив) (Morel et al., 2001; Varolo et al., 2000, 2002). Оба корепрессора обеспечивают привлечение в состав комплекса гистондеацетилазы, что ведет к понижению уровня ацетилирования хроматина в соответствующих районах и, как следствие, уменьшению их транскрипционной активности. Однако пока неясно, являются ли взаимодействия с комплексом обоих этих корепрессоров взаимоисключающими или корепрессоры обеспечивают количественно различные уровни репрессии генов-мишеней (Lai, 2002).

Важная функция белка GRO состоит в переключении активности разнонаправленных по действию сигнальных путей. Показано, что фосфорилирование GRO под действием MAPK (EGFR-сигнальный путь) приводит к ослаблению GRO-зависимой репрессии *E(spl)-C* (Notch-сигнальный путь) (Hasson et al., 2005; Hasson, Paroush, 2006). GRO является корепрессором для многих регуляторных молекул, поэтому изменение его активности может затрагивать широкий круг генов, в регуляции экспрессии которых он принимает участие. В морфогенезе макрохет GRO играет двойную роль: в клетках, которые детерминируются как родительские, GRO в комплексе с SU(H)-H подавляет активность генов *E(spl)-C*, тогда как в окружающих клетках пронейрального кластера в комплексе с белками E(SPL)-C он репрессирует транскрипцию генов *AS-C*. В первом случае результатом будет повышение, а во втором – понижение уровня содержания пронейральных белков в клетках кластера (Varolo et al., 2002; Castro et al., 2005).

DELTEX – продукт гена *deltex* – является основным белком и имеет три домена, разделенных участками богатой глутамином последовательности. На C-конце находится домен "цинковые пальцы", через который происходит его взаимодействие с другими белками, в частности связывание с внутриклеточным доменом NOTCH в области анкириновых повторов (Busseau et al., 1994; Diederich et al., 1994; Matsuno et al., 1995). Предполагается, что взаимодействие между NOTCH и DX способствует ускорению переноса в ядро реципиентной клетки комплекса "SU(H)-внутриклеточный домен NOTCH" (Matsuno et al., 1995). Недавно было показано, что DX может стабилизировать рецептор, предотвращая его деградацию в лизосомах и способствуя тем самым сохранению пула функционально полноценных молекул рецептора (Hori et al., 2004; Le Borgne et al., 2005). Таким образом, DX выступает как позитивный регулятор Notch-сигнального пути.

Суммируя приведенные данные, функционирование Notch-сигнального пути можно представить в виде следующей схемы (рис. 2).

Поскольку все клетки пронейрального кластера эктодермы экспрессируют пронейральные белки AS-C, рецептор NOTCH и лиганд DL, каждая из них имеет потенциальную возможность развития как по нейральному, так и по эпидермальному пути и может быть либо передающей, либо воспринимающей сигнал. Случайные флуктуации количественного содержания этих белков в клетках усиливаются через циклы обратных связей, в результате чего в одной из клеток создается надпороговая концентрация пронейральных белков, которые активируют синтез DL. Такая клетка в дальнейшем станет клеткой SOP. В осталь-

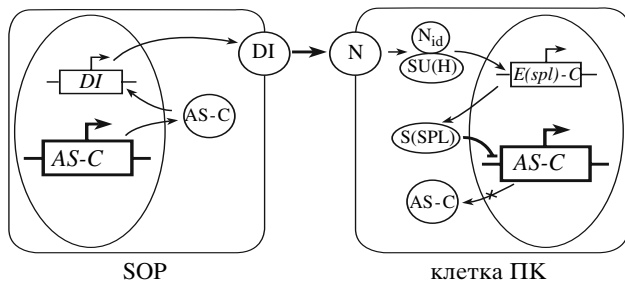


Рис. 2. Схема участия Notch-сигнального пути в регуляции транскрипционной активности генов *AS-C* (по: Bukharina et al., 2006). (—) — репрессорные воздействия, ост. обозначения см. на рис. 1.

ных клетках кластера запускается процесс латерального ингибирования, опосредуемый Notch-сигнальным путем.

Активация Notch-сигнального пути происходит при связывании внеклеточных доменов рецептора NOTCH, локализованного на поверхности клетки-реципиента сигнала, и лиганда DL, локализованного на мембране клетки-индуктора сигнала. Взаимодействие рецептор-лиганд происходит в межклеточном пространстве между двумя смежными клетками пронеурального кластера (Panin et al., 1997; Schweisguth, 2004).

В реципиентной клетке под действием протеаз KUZ и PS происходит отщепление внутриклеточного домена NOTCH (Ye et al., 1999; Struhl, Greenwald, 2001; Lieber et al., 2002; Seto et al., 2002). Затем внутриклеточный домен в составе комплекса с SU(H) транспортируется в ядро, где к этому комплексу присоединяется MAM. Передача сигнала по Notch-пути завершается активацией транскрипции *E(spl)-C* после сайтспецифического связывания SU(H) с его регуляторными районами. Белки E(SPL)-C подавляют транскрипцию своих генов-мишеней, в первую очередь пронеуральных генов, и лишают реципиентную клетку возможности дифференцироваться по нейральному типу (Mumm, Koran, 2000; Portin, 2002).

Комплекс внеклеточного домена рецептора с лигандом перемещается внутрь клетки-индуктора — будущей клетки SOP, где подвергается полной деградации. В интернализации комплекса участвуют DYNAMIN и NEUR (Parks et al., 2000; Pavlopoulos et al., 2001; Seto et al., 2002). Односторонняя передача Notch-сигнала запрещает появление в клетке-индукторе белков E(SPL)-C, и в ней продолжается синтез пронеуральных белков до уровня, обеспечивающего ее детерминацию как клетки SOP.

Таким образом, в результате функционирования Notch-сигнального пути определяется единственная клетка пронеурального кластера, которая пойдет по пути нейрального развития, тогда как остальные станут эпидермальными.

Процесс латерального ингибирования эффективен для клеток, непосредственно граничащих с презумптивной родительской клеткой. В определении судьбы более удаленных от нее клеток пронеурального кластера исключительную роль приобретает нейрогенный ген *scabrous (sca)*, экспрессия которого активируется гетеродимерами белков AS-C и DA (Mlodzik et al., 1990; Renaud, Simpson, 2001).

SCA принадлежит к секретируемым белкам. На карбоксильном конце молекулы имеется последовательность, сходная с β - и γ -цепями фибриногена (Mlodzik et al., 1990; Hu et al., 1995). Установлено, что SCA необходим для установления и поддержания адгезивных характеристик эктодермальных клеток. SCA способен связываться с NOTCH, но активным лигандом для NOTCH он не является. В его отсутствие не происходит блокировки развития по нейральному пути клеток, непосредственно не контактирующих с будущей родительской клеткой. В то же время SCA не нужен для латерального ингибирования клеток, контактирующих с родительской, для этого достаточно только наличия DL. Поскольку наблюдается градиент распределения SCA в границах пронеурального кластера, предполагается, что этим определяется и протяженность района, в пределах которого распространяется ингибирующий сигнал. Точный механизм участия SCA в процессе латерального ингибирования пока неясен. Возможно, он необходим для стабилизации комплекса N-DL (Renaud, Simpson, 2001).

ТРЕТИЙ ЭТАП ФОРМИРОВАНИЯ СЕНСОРНЫХ ОРГАНОВ: РОЛЬ ГЕНОВ-СЕЛЕКТОРОВ

Процесс латерального ингибирования завершается детерминацией единственной клетки пронеурального кластера как родительской клетки щетиночного органа. Далее проходят два последовательных деления, в результате которых возникают четыре специализированных клетки — трихоген, тормоген, нейронная клетка и текоген, которые далее дадут различные компоненты дефинитивного щетиночного органа — собственно щетинку, цоколь, окружающий ее основание, биполярный нейрон и глиальную клетку. Основным механизмом создания клеточного разнообразия является асимметричное деление клеток, в результате которого дочерние клетки становятся отличными от родительской и друг от друга по своим способностям к дифференцировке в определенном направлении.

Процесс происходит под контролем генов-селекторов *tramtrack (tk)*, *musashi (msi)* и *prospero (pros)*. На этом этапе функцию селекторных выполняют и два нейрогенных гена — *numb* и *neuralized (neur)*.

Гены *numb* и *neuralized (neur)* кодируют мембранные белки. Роль NUMB и NEUR в специализации дочерних клеток определяется их асимметричной локализацией в клетке SOP – они сосредоточены только на одном из ее полюсов. Таким образом в результате первого же митотического деления распределение NUMB и NEUR по дочерним клеткам оказывается различным вследствие преимущественной сегрегации белков в одну из них (Knoblich et al., 1995, 1997; Le Borgne et al., 2005). Как следствие этого асимметричного деления в дочерних клетках возникает различие и в содержании других белков, участвующих в реализации морфогенеза макрохет, в том числе и регуляторных, и модуляции в активностях их геномишеней.

Дочерняя клетка, в которую попали NUMB и NEUR, идет по пути нейральной специализации и дает начало нейрону и текогену, поскольку NUMB блокирует передачу Notch-сигнала внутрь нее, а NEUR – способствует передаче сигнала во вторую клетку, свободную от этих белков. Отсутствие NUMB и NEUR во второй дочерней клетке предопределяет возможность нормального восприятия ею Notch-сигнала, что закрывает для нее нейральный путь развития, так что при делении она дает начало трихо- и тормогену (Frise et al., 1996; Le Borgne et al., 2005).

Ген *ttk* кодирует ядерный белок, его мутации приводят к развитию дополнительных нейронов за счет остальных компонентов щетиночного органа. Впервые белок ТТК обнаруживается в одной из двух дочерних клеток, возникающих в результате деления клетки SOP. Именно эта клетка при последующем делении дает начало трихо- и тормогену. Показано, что появление в ней ТТК обусловлено активацией Notch-пути, однако механизм этой взаимосвязи неясен (Okabe et al., 2001; Badenhorst et al., 2002).

Хотя белок ТТК не обнаруживается во второй дочерней клетке, содержание мРНК *ttk* в обеих клетках примерно равное. Показано, что различия в содержании белка связаны с действием другого гена-селектора – *musashi* (Okabe et al., 2001; Badenhorst et al., 2002).

Ген *msi* кодирует ядерный белок, который экспрессируется на всех стадиях развития механорецепторов и способен препятствовать трансляции мРНК *ttk*, специфически связываясь с ее 3'-нетранслируемым районом. Мутации в гене *msi* проявляются формированием дополнительной глиальной клетки вместо нейрона (Sakakibara, Okano, 1997; Okabe et al., 2001; Okano et al., 2002). Белок MSI обнаруживается в обеих дочерних клетках после первого деления клетки SOP, но при этом запрещает трансляцию транскрипта *ttk* только в одной из них – той, которая дает нейральные компоненты щетиночного органа – нейрон и текоген.

Это та клетка, где в результате асимметричного деления оказался белок NUMB и произошла блокировка Notch-сигнала. Во второй дочерней клетке, где прохождение Notch-сигнала не заблокировано, активность MSI ингибируется, и происходит трансляция мРНК *ttk*. Эта клетка впоследствии дает начало трихо- и тормогену (Okabe et al., 2001).

Ген *pros* кодирует транскрипционный фактор, содержащий гомеодомен и консервативный PROS-домен, локализованные на карбоксильном конце молекулы (Hirata et al., 1995). В настоящее время оба эти домена рассматриваются как единый гомео-ProS-домен, необходимый для связывания со специфическими сайтами ДНК (Ryter et al., 2002; Yousef et al., 2005). Белок PROS обнаруживается как в ядре, так и в цитоплазме, причем его распределение между ядром и цитоплазмой – процесс динамический. Установлено, что за выведение белка из ядра ответствен гомео-ProS-домен, однако механизм процесса не исследован (Bi et al., 2003).

PROS определяет нейральный тип специализации производных родительской клетки. Впервые этот белок выявляется в ядре только одной из дочерних клеток SOP – той, которая после деления дает нейральные составляющие щетиночного органа. Во время митоза PROS переносится на мембрану, где локализуется совместно с NUMB; затем PROS выявляется в нейроне и текогене. Динамика изменения содержания PROS в этих клетках диаметрально противоположна: в нейроне наблюдается постепенное уменьшение, а в текогене – увеличение его содержания. Белок PROS никогда не обнаруживается в клетках SOP, их производных от первого деления, которые далее дифференцируются в тормо- и трихоген, и в самих тормо- и трихогенах (Manning, Doe, 1999).

Таким образом, асимметричное деление клеток и активность генов-селекторов определяют дальнейшую специализацию дочерних клеток SOP как различных компонентов сенсорного органа.

Формирование полноценного щетиночного рисунка на теле дрозофилы является результатом последовательного ограничения формообразовательных потенциалов эктодермальных клеток имагинального диска.

Контроль развития макрохет реализуется через систему динамических внутри- и межклеточных процессов. Функционирование системы обеспечивается широкой сетью генов, участники которой связаны механизмами перекрестной и авторегуляции, осуществляющими тонкую настройку их активностей. Правильное функционирование системы гарантирует формирование полноценного щетиночного узора – фиксированного числа макрохет в строго определенных позициях.

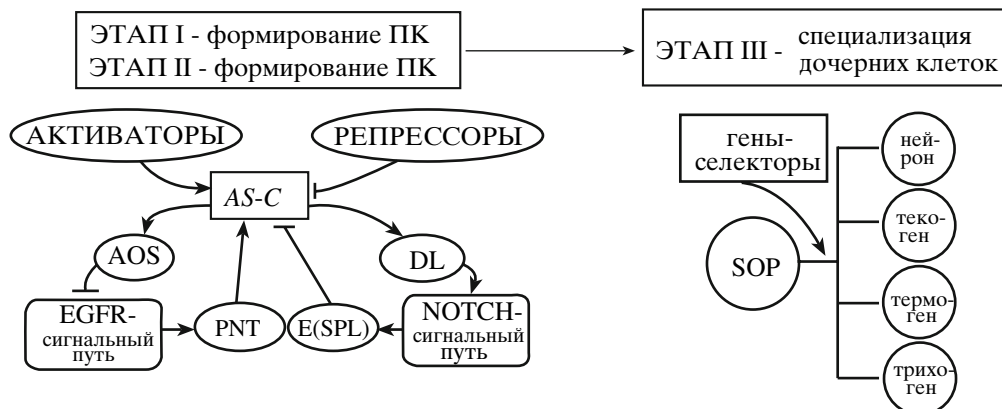


Рис. 3. Схема системы контроля развития макрохет у *D. melanogaster*. Обозначения см. на рис. 2.

На основе анализа литературных данных можно предложить следующую интегральную схему контроля трех этапов развития макрохет (рис. 3).

Ключевое положение в регуляции развития макрохет занимают гены комплекса *achaete-scute*. Им отводится двоякая роль. Во-первых, они инициируют процесс развития щетинок, обеспечивая первый его этап – обособление кластеров пронеуральных клеток. Компетентность клеток в пределах кластера определяется некоторым пороговым уровнем содержания в них пронеуральных белков, который создается и поддерживается путем контроля экспрессии генов комплекса через EGFR-сигнальный путь, их авторегуляцией гетеродимерами AS-C/DA и *транс*-регуляцией через взаимодействия с позитивными (SENSE, CHA, PNT) и негативными (H, EMC) регуляторами его транскрипционной активности.

Во-вторых, гены AS-C участвуют в обособлении родительской клетки щетиночного органа уже в пределах пронеурального кластера. Для детерминации клетки как SOP содержание в ней пронеуральных белков AS-C должно превысить пороговый уровень. Будучи транскрипционными факторами, пронеуральные белки активируют экспрессию *Delta*, инициирующего каскад генов Notch-сигнального пути, финальным событием которого является подавление белками-репрессорами E(SPL)-C экспрессии генов AS-C и/или их генов-мишеней во всех клетках пронеурального кластера, кроме клетки SOP, где содержание пронеуральных белков достигает требуемых надпороговых значений.

Таким образом, на AS-C замыкается круг взаимных отношений активации-ингибирования в цепи пронеуральных и нейрогенных генов, определяющих условия локальной экспрессии комплекса в клетках эктодермального слоя имагинальных дисков и приводящих к детерминации родительских клеток сенсорных органов.

Асимметричное деление этой родительской клетки и специализация дочерних клеток контролируются селекторными генами.

Макрохеты дрозофилы как модельная система для изучения механизмов специализации клеток используются уже более пятидесяти лет. За это время получено представление о молекулярно-генетической организации района AS-C и его роли в морфогенезе механорецепторов; выяснен характер экспрессии пронеуральных генов; частично конкретизировано понятие сигналов предструктуры, которые отождествляются с транскрипционными факторами, взаимодействующими с энхансерами комплекса AS-C; идентифицированы сигнальные пути и гены, обеспечивающие их реализацию; достигнут определенный прогресс в понимании механизмов латеральной кооперации, латерального ингибирования и асимметричного деления; существенно пополнен список генов, участвующих в морфогенезе макрохет, и детализированы функции многих известных участников этого процесса.

Тем не менее до сих пор не выяснены полностью ни состав генов, участвующих в программах становления щетиночного узора, ни механизмы функционирования этих программ. Для подавляющего большинства процессов неизвестны точные временные параметры и количественные характеристики.

В обзоре рассмотрены только основные звенья многомерного процесса развития макрохет дрозофилы. К настоящему времени накоплено огромное количество экспериментальных данных, всесторонний анализ которых возможен только с привлечением современных методов биоинформатики, позволяющих корректно описать, формализовать и промоделировать весь процесс формирования макрохет и щетиночного узора в целом.

Авторы выражают благодарность В.А. Мордвинову и А.В. Катохину за конструктивное обсуждение текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Acar M., Jafar-Nejad H., Giagtzoglou N. et al. Senseless physically interacts with proneural proteins and functions as a transcriptional co-activator // *Development*. 2006. V. 133. P. 1979–1989.
- Albagli O., Klaes A., Ferreira E. et al. Function of *ets* genes is conserved between vertebrates and *Drosophila* // *Mech. Devel.* 1996. V. 59. P. 29–40.
- Artavanis-Tsakonas S., Matsuno K., Fortini M.E. Notch signaling // *Science*. 1995. V. 268. P. 225–232.
- Badenhorst P., Finch J.T., Travers A.A. Tramtrack co-operates to prevent inappropriate neural development in *Drosophila* // *Mech. Devel.* 2002. V. 117. P. 87–101.
- Bailey A.M., Posakony J.W. Suppressor of Hairless directly activates transcription of *Enhancer of split complex* genes in response to Notch receptor activity // *Genes Devel.* 1995. V. 9. P. 2609–2622.
- Bardin A.J., Schweisguth F. Bearded family members inhibit Neuralized-mediated endocytosis and signaling activity of Delta in *Drosophila* // *Devel. Cell*. 2006. V. 10. P. 245–255.
- Barolo S., Walker R.G., Polyakovskiy A.D. et al. A Notch-independent activity of *Suppressor of Hairless* is required for normal mechanoreceptor physiology // *Cell*. 2000. V. 103. P. 957–969.
- Barolo S., Stone T., Bang A.G., Posakony J.W. Default repression and Notch signaling: Hairless acts as an adaptor to recruit the corepressors Groucho and dCtBP to Suppressor of Hairless // *Genes Devel.* 2002. V. 16. P. 1964–1976.
- Berdnik D., Torok T., Gonzalez-Gaitan M., Knoblich J.A. The endocytic protein alpha-Adaptin is required for Numb-mediated asymmetric cell division in *Drosophila* // *Devel. Cell*. 2002. V. 3. P. 221–231.
- Bi X., Kajava A.V., Jones T. et al. The carboxy terminus of Prospero regulates its subcellular localization // *Mol. Cell Biol.* 2003. V. 23. P. 1014–1024.
- Bianchi-Frias D., Orian A., Delrow J.J. et al. Hairy transcriptional repression targets and cofactor recruitment in *Drosophila* // *PLoS Biol.* 2004. V. 2. P. 975–990.
- Bukharina T.A., Katokhin A.V., Furman D.P. The gene network determining development of *Drosophila melanogaster* mechanoreceptors // *Proc. Fifth Int. Conf. BGRS*. 2006. V. 2. P. 190–193.
- Busseau I., Diederich R.J., Xu T., Artavanis-Tsakonas S. A member of the Notch group of interacting loci, *deltex* encodes a cytoplasmic basic protein // *Genetics*. 1994. V. 136. P. 585–596.
- Cabrera C.V., Alonso M.C. Transcriptional activation by heterodimers of the *achaete-scute* and *daughterless* gene products of *Drosophila* // *EMBO J.* 1991. V. 10. P. 2965–2973.
- Cabrera C.V., Alonso M.C., Huikeshoven H. Regulation of *scute* function by *extramacrochaete* in vitro and in vivo // *Development*. 1994. V. 120. P. 3595–3603.
- Calleja M., Renaud O., Usui K. et al. How to pattern an epithelium: lessons from *achaete-scute* regulation on the notum of *Drosophila* // *Gene*. 2002. V. 292. P. 1–12.
- Campuzano S., Modolell J. Patterning of the *Drosophila* nervous system: the *achaete-scute* gene complex // *Trends Genet.* 1992. V. 8. P. 202–206.
- Castro B., Barolo S., Bailey A.M., Posakony J.W. Lateral inhibition in proneural clusters: cis-regulatory logic and default repression by Suppressor of Hairless // *Development*. 2005. V. 132. P. 3333–3344.
- Chen C.M., Freedman J.A., Bettler D.R., Jr. et al. *polychaetoid* is required to restrict segregation of sensory organ precursors from proneural clusters in *Drosophila* // *Mech. Devel.* 1996. V. 57. P. 215–227.
- Courey A.J., Jia S. Transcriptional repression: the long and the short of it // *Genes Devel.* 2001. V. 15. P. 2786–2796.
- Culi J., Modolell J. Proneural gene self-stimulation in neural precursors: an essential mechanism for sense organ development that is regulated by Notch signaling // *Ibid.* 1998. V. 12. P. 2036–2047.
- Culi J., Martin-Blanco E., Modolell J. The EGF receptor and N signalling pathways act antagonistically in *Drosophila* mesothorax bristle patterning // *Development*. 2001. V. 128. P. 299–308.
- del Alamo D., Terriente J., Diaz-Benjumea F.J. Spitz/EGF signalling via the Ras/MAPK pathway mediates the induction of bract cells in *Drosophila* legs // *Ibid.* 2002. V. 129. P. 1975–1982.
- Diederich R.J., Matsuno K., Hing H., Artavanis-Tsakonas S. Cytosolic interaction between *deltex* and Notch ankyrin repeats implicates *deltex* in the Notch signaling pathway // *Ibid.* 1994. V. 120. P. 473–481.
- Doherty D., Jan L.Y., Jan Y.N. The *Drosophila* neurogenic gene *big brain*, which encodes a membrane-associated protein, acts cell autonomously and can act synergistically with *Notch* and *Delta* // *Ibid.* 1997. V. 124. P. 3881–3893.
- Dye C.A., Lee J.K., Atkinson R.C. et al. The *Drosophila* *santopodo* gene controls sibling cell fate and encodes a tropomodulin homolog, an actin / tropomyosin-associated protein // *Ibid.* 1998. V. 125. P. 1845–1856.
- Escudero L.M., Caminero E., Schulze K.L. et al. Charlatan, a Zn-finger transcription factor, establishes a novel level of regulation of the proneural *achaete / scute* genes of *Drosophila* // *Ibid.* 2005. V. 132. P. 1211–1222.
- Fisher A.L., Caudy M. The function of hairy-related bHLH repressor proteins in cell fate decisions // *BioEssays*. 1998. V. 20. P. 298–306.
- Fleming R.J., Scottgale T.N., Diederich R.J., Artavanis-Tsakonas S. The gene *Serrate* encodes a putative EGF-like transmembrane protein essential for proper ectodermal development in *Drosophila melanogaster* // *Genes Devel.* 1990. V. 4. P. 2188–2201.
- Fortini M.E., Artavanis-Tsakonas S. Notch: neurogenesis is only part of the picture // *Cell*. 1993. V. 75. P. 1245–1247.
- Freeman M. Complexity of EGF receptor signalling revealed in *Drosophila* // *Curr. Opin. Genet. Devel.* 1998. V. 8. P. 407–411.
- Frise E., Knoblich J.A., Younger-Shepherd S. et al. The *Drosophila* Numb protein inhibits signaling of the Notch re-

- ceptor during cell-cell interaction in sensory organ lineage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 11925–11932.
- Gabay L., Seger R., Shilo B.Z. *In situ* activation pattern of *Drosophila* EGF receptor pathway during development // Science. 1997. V. 277. P. 1103–1106.
- Garcia-Garcia M.J., Romain P., Simpson P., Modolell J. Different contributions of *pannier* and *wingless* to the patterning of the dorsal mesothorax of *Drosophila* // Development. 1999. V. 126. P. 3523–3532.
- GHYSEN A., THOMAS R. The formation of sense organs in *Drosophila*: a logical approach // BioEssays. 2003. V. 25. P. 802–807.
- Giagtzoglou N., Alifragis P., Koumbanakis K.A., Delidakis C. Two modes of recruitment of E(spl) repressors onto target genes // Development. 2003. V. 103. P. 259–270.
- Giagtzoglou N., Koumbanakis K.A., Fullard J. et al. Role of the Sc C terminus in transcriptional activation and E(spl) repressor recruitment // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 1299–1305.
- Giebel B., Campos-Ortega J.A. Functional dissection of the *Drosophila* Enhancer of split protein, a suppressor of neurogenesis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 6250–6254.
- Golembo M., Schweitzer R., Freeman M., Shilo B.Z. *argos* transcription is induced by the *Drosophila* EGF receptor pathway to form an inhibitory feedback loop // Development. 1996. V. 122. P. 223–230.
- Gómez-Skarmeta J.L., Rodríguez I., Martínez C. et al. Cis-regulation of *achaete* and *scute*: shared enhancer-like elements drive their coexpression in proneural clusters of the imaginal discs // Genes Devel. 1995. V. 9. P. 2598–2608.
- Gómez-Skarmeta J.L., Campuzano S., Modolell J. Half a century of neural pre-patterning: the story of a few bristles and many genes // Nat. Rev. Neurosci. 2003. V. 4. P. 587–598.
- Gu Y., Hukriede N.A., Fleming R.J. *Serrate* expression can functionally replace *Delta* activity during neuroblast segregation in the *Drosophila* embryo // Development. 1995. V. 121. P. 855–865.
- Guo Y., Livne-Bar I., Zhou L., Boulianne G.L. *Drosophila presenilin* is required for neuronal differentiation and affects notch subcellular localization and signaling // J. Neurosci. 1999. V. 19. P. 8435–8442.
- Haenlin M., Cubadda Y., Blondeau F. et al. Transcriptional activity of *pannier* is regulated negatively by heterodimerization of the GATA DNA-binding domain with a cofactor encoded by the *u-shaped* gene of *Drosophila* // Genes Devel. 1997. V. 11. P. 3096–3108.
- Hasson P., Egoz N., Winkler C. et al. EGFR signaling attenuates Groucho-dependent repression to antagonize Notch transcriptional output // Nat. Genet. 2005. V. 37. P. 101–105.
- Hasson P., Paroush Z. Crosstalk between the EGFR and other signalling pathways at the level of the global transcriptional corepressor Groucho/TLE // Br. J. Cancer. 2006. V. 94. P. 771–775.
- Heitzler P., Simpson P. The choice of cell fate in the epidermis of *Drosophila* // Cell. 1991. V. 64. P. 1083–1092.
- Heitzler P., Bourouis M., Ruel L. et al. Genes of the *Enhancer of split* and *achaete-scute* complexes are required for a regulatory loop between Notch and *Delta* during lateral signalling in *Drosophila* // Development. 1996. V. 122. P. 161–171.
- Hirata J., Nakagoshi H., Nabeshima Y., Matsuzaki F. Asymmetric segregation of the homeodomain protein Prospero during *Drosophila* development // Nature. 1995. V. 377. P. 627–630.
- Hori K., Fostier M., Ito M. et al. *Drosophila* Deltex mediates suppressor of Hairless-independent and late-endosomal activation of Notch signaling // Development. 2004. V. 131. P. 5527–5537.
- Hu X., Lee E.C., Baker N.E. Molecular analysis of *scabrous* mutant alleles from *Drosophila melanogaster* indicates a secreted protein with two functional domains // Genetics. 1995. V. 141. P. 607–617.
- Hutterer A., Knoblich J.A. Numb and alpha-Adaptin regulate Sanpodo endocytosis to specify cell fate in *Drosophila* external sensory organs // EMBO Rep. 2005. V. 6. P. 836–842.
- Jafar-Nejad H., Norga K., Bellen H. Numb: “Adapting” notch for endocytosis // Devel. Cell. 2002. V. 3. P. 155–156.
- Jafar-Nejad H., Acar M., Nolo R. et al. Senseless acts as a binary switch during sensory organ precursor selection // Genes Devel. 2003. V. 17. P. 2966–2978.
- Jafar-Nejad H., Tien A.C., Acar M., Bellen H.J. Senseless and Daughterless confer neuronal identity to epithelial cells in the *Drosophila* wing margin // Development. 2006. V. 133. P. 1683–1692.
- Klein D.E., Nappi V.M., Reeves G.T. et al. Argos inhibits epidermal growth factor receptor signalling by ligand sequestration // Nature. 2004. V. 430. P. 1040–1044.
- Knoblich J.A., Jan L.Y., Jan Y.N. Asymmetric segregation of Numb and Prospero during cell division // Ibid. 1995. V. 377. P. 624–627.
- Knoblich J.A., Jan L.Y., Jan Y.N. The N terminus of the *Drosophila* Numb protein directs membrane association and actin-dependent asymmetric localization // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 1305–1310.
- Kopan R. Notch: a membrane-bound transcription factor // J. Cell Sci. 2002. V. 115. P. 1095–1097.
- Kumar J.P., Hsiung F., Powers M.A., Moses K. Nuclear translocation of activated MAP kinase is developmentally regulated in the developing *Drosophila* eye // Development. 2003. V. 130. P. 3703–3714.
- Kunisch M., Haenlin M., Campos-Ortega J.A. Lateral inhibition mediated by the *Drosophila* neurogenic gene *Delta* is enhanced by proneural proteins // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 10139–10143.
- Lai E.C. Keeping a good pathway down: transcriptional repression of Notch pathway target genes by CSL proteins // EMBO Rep. 2002. V. 3. P. 840–845.
- Lai E.C., Posakony J.W. The Bearded box, a novel 3'UTR sequence motif, mediates negative post-transcriptional regulation of *Bearded* and *Enhancer of split* Complex gene expression // Development. 1997. V. 124. P. 4847–4856.
- Lai E.C., Bodner R., Kavalier J. et al. Antagonism of Notch signaling activity by members of a novel protein family encoded by the *Bearded* and *Enhancer of split* gene complexes // Ibid. 2000. V. 127. P. 291–306.
- Lai E.C., Deblandre G.A., Kintner C., Rubin G.M. *Drosophila* Neuralized is a ubiquitin ligase that promotes the internalization and degradation of *Delta* // Devel. Cell. 2001. V. 1. P. 783–794.

- Le Borgne R., Bardin A., Schweisguth F.* The roles of receptor and ligand endocytosis in regulating Notch signaling // *Development*. 2005. V. 132. P. 1751–1762.
- Liviten M.W., Lai E.C., Posakony J.W.* The *Drosophila* gene *Bearded* encodes a novel small protein and shares 3'UTR sequence motifs with multiple *Enhancer of split* complex genes // *Ibid.* 1997. V. 124. P. 4039–4051.
- Leyns L., Gómez-Skarmeta J.L., Dambly-Chaudiere C. iroquois*: a prepattern gene that controls the formation of bristles on the thorax of *Drosophila* // *Mech. Devel.* 1996. V. 59. P. 63–72.
- Lieber T., Kidd S., Young M.W.* Kuzbanian-mediated cleavage of *Drosophila* Notch // *Genes Devel.* 2002. V. 16. P. 209–221.
- Livneh E., Glazer L., Segal D. et al.* The *Drosophila* EGF receptor gene homolog: conservation of both hormone binding and kinase domains // *Cell*. 1985. V. 49. P. 599–607.
- Lyman D.F., Yedvobnick B.* *Drosophila* Notch receptor activity suppresses Hairless function during adult external sensory organ development // *Genetics*. 1995. V. 141. P. 1491–1505.
- Maier D.* Hairless: the ignored antagonist of the Notch signalling pathway // *Hereditas*. 2006. V. 143. P. 212–221.
- Manning L., Doe C.Q.* Prospero distinguishes sibling cell fate without asymmetric localization in the *Drosophila* adult external sense organ lineage // *Development*. 1999. V. 126. P. 2063–2071.
- Matsuno K., Diederich R.J., Go M.J. et al.* Deltex acts as a positive regulator of Notch signaling through interactions with the Notch ankyrin repeats // *Ibid.* 1995. V. 121. P. 2633–2644.
- Mlodzik M., Baker N.E., Rubin G.M.* Isolation and expression of *scabrous*, a gene regulating neurogenesis in *Drosophila* // *Genes Devel.* 1990. V. 4. P. 1848–1861.
- Morel V., Lecourtois M., Massiani O. et al.* Transcriptional repression by Suppressor of Hairless involves the binding of a Hairless-dCtBP complex in *Drosophila* // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 789–792.
- Mumm J.S., Kopan R.* Notch signaling: from the outside in // *Devel. Biol.* 2000. V. 228. P. 151–165.
- Nolo R., Abbott L.A., Bellen H.J.* Senseless, a Zn finger transcription factor, is necessary and sufficient for sensory organ development in *Drosophila* // *Cell*. 2000. V. 102. P. 349–362.
- O'Connor-Giles K.M., Skeath J.B.* Numb inhibits membrane localization of Sanpodo, a four-pass transmembrane protein, to promote asymmetric divisions in *Drosophila* // *Devel. Cell*. 2003. V. 5. P. 231–243.
- Okabe M., Imai T., Kurusu M. et al.* Translational repression determines a neuronal potential in *Drosophila* asymmetric cell division // *Nature*. 2001. V. 411. P. 94–98.
- Okano H., Imai T., Okabe M.* Musashi: a translational regulator of cell fate // *J. Cell Sci.* 2002. V. 115. P. 1355–1359.
- Panin V.M., Papayannopoulos V., Wilson R., Irvine K.D.* Fringe modulates Notch-ligand interactions // *Nature*. 1997. V. 387. P. 908–912.
- Parks A.L., Klueg K.M., Stout J.R., Muskavitch M.A.* Ligand endocytosis drives receptor dissociation and activation in the Notch pathway // *Development*. 2000. V. 127. P. 1373–1385.
- Paroush Z., Finley R.L., Jr., Kidd T. et al.* Groucho is required for *Drosophila* neurogenesis, segmentation, and sex determination and interacts directly with hairy-related bHLH proteins // *Cell*. 1994. V. 79. P. 805–815.
- Pavlopoulos E., Pitsouli C., Klueg K.M. et al.* Neuralized encodes a peripheral membrane protein involved in Delta signaling and endocytosis // *Devel. Cell*. 2001. V. 1. P. 807–816.
- Petcherski A.G., Kimble J.* Mastermind is a putative activator for Notch // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. P. R471–473.
- Phillips R.G., Warner N.L., Whittle J.R.* Wingless signaling leads to an asymmetric response to decapentaplegic-dependent signaling during sense organ patterning on the notum of *Drosophila melanogaster* // *Devel. Biol.* 1999. V. 207. P. 186–204.
- Portin P.* General outlines of the molecular genetics of the Notch signalling pathway in *Drosophila melanogaster*: a review // *Hereditas*. 2002. V. 136. P. 89–96.
- Powell L.M., zur Lage P.I., Prentice D.R. et al.* The proneural proteins Atonal and Scute regulate neural target genes through different E-box binding sites // *Mol. Cell Biol.* 2004. V. 24. P. 9517–9526.
- Rand M.D., Grimm L.M., Artavanis-Tsakonas S. et al.* Calcium depletion dissociates and activates heterodimeric Notch receptors // *Ibid.* 2000. V. 20. P. 1825–1835.
- Rao Y., Bodmer R., Jan L.Y., Jan Y.N.* The *big brain* gene of *Drosophila* functions to control the number of neuronal precursors in the peripheral nervous system // *Development*. 1992. V. 116. P. 31–40.
- Reeves N., Posakony J.W.* Genetic programs activated by proneural proteins in the developing *Drosophila* PNS // *Devel. Cell*. 2005. V. 8. P. 413–425.
- Renaud O., Simpson P.* Scabrous modifies epithelial cell adhesion and extends the range of lateral signalling during development of the spaced bristle pattern in *Drosophila* // *Devel. Biol.* 2001. V. 240. P. 361–376.
- Ryter J.M., Doe C.Q., Matthews B.W.* Structure of the DNA binding region of prospero reveals a novel homeo-prospero domain // *Structure*. 2002. V. 10. P. 1541–1549.
- Sakakibara S., Okano H.* Expression of neural RNA-binding proteins in the postnatal CNS: implications of their roles in neuronal and glial cell development // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. P. 8300–8312.
- Santolini E., Puri C., Salcini A.E. et al.* Numb is an endocytic protein // *J. Cell Biol.* 2000. V. 151. P. 1345–1352.
- Schweisguth F.* Suppressor of Hairless is required for signal reception during lateral inhibition in the *Drosophila* pupal notum // *Development*. 1995. V. 121. P. 1875–1884.
- Schweisguth F.* Regulation of Notch signaling activity // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. P. R129–138.
- Schweisguth F., Nero P., Posakony J.W.* The sequence similarity of the *Drosophila* Suppressor of Hairless protein to the integrase domain has no functional significance *in vivo* // *Devel. Biol.* 1994. V. 166. P. 812–814.
- Seto E.S., Bellen H.J., Lloyd T.E.* When cell biology meets development: endocytic regulation of signaling pathways // *Genes Devel.* 2002. V. 16. P. 1314–1336.

- Shilo B.Z. Signaling by the *Drosophila* epidermal growth factor receptor pathway during development // *Exp. Cell Res.* 2003. V. 284. P. 140–149.
- Simpson P., Marcellini S. The origin and evolution of stereotyped patterns of macrochaetes on the nota of cyclorraphous *Diptera* // *Heredity*. 2006. V. 97. P. 148–156.
- Smith J.E., 3rd, Cronmiller C. The *Drosophila* *daughterless* gene autoregulates and is controlled by both positive and negative cis regulation // *Development*. 2001. V. 128. P. 4705–4714.
- Stern C. Two or three bristles // *Am. Sci.* 1954. V. 42. P. 213–247.
- Struhl G., Greenwald I. Presenilin-mediated transmembrane cleavage is required for Notch signal transduction in *Drosophila* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98. P. 229–234.
- Sun X., Artavanis-Tsakonas S. Secreted forms of DELTA and SERRATE define antagonists of Notch signaling in *Drosophila* // *Development*. 1997. V. 124. P. 3439–3448.
- Tomoyasu Y., Nakamura M., Ueno N. Role of dpp signalling in prepattern formation of the dorsocentral mechanosensory organ in *Drosophila melanogaster* // *Ibid.* 1998. V. 125. P. 4215–4224.
- Tsruya R., Schlesinger A., Reich A. et al. Intracellular trafficking by Star regulates cleavage of the *Drosophila* EGF receptor ligand Spitz // *Genes Devel.* 2002. V. 16. P. 222–234.
- Urban S. Rhomboid proteins: conserved membrane proteases with divergent biological functions // *Ibid.* 2006. V. 20. P. 3054–3068.
- Vaessin H., Brand M., Jan L.Y., Jan Y.N. *daughterless* is essential for neuronal precursor differentiation but not for initiation of neuronal precursor formation in *Drosophila* embryo // *Development*. 1994. V. 120. P. 935–945.
- Van Doren M., Powell P.A., Pasternak D. et al. Spatial regulation of proneural gene activity: auto- and cross-activation of *achaete* is antagonized by *extramacrochaetae* // *Genes Devel.* 1992. V. 6. P. 2592–2605.
- Van Doren M., Bailey A.M., Esnayra J. et al. Negative regulation of proneural gene activity: hairy is a direct transcriptional repressor of *achaete* // *Ibid.* 1994. V. 8. P. 2729–2749.
- Wharton K.A., Johansen K.M., Xu T., Artavanis-Tsakonas S. Nucleotide sequence from the neurogenic locus *Notch* implies a gene product that shares homology with proteins containing EGF-like repeats // *Cell*. 1985. V. 43. P. 567–581.
- Wurmbach E., Wech I., Preiss A. The Enhancer of split complex of *Drosophila melanogaster* harbors three classes of Notch responsive genes // *Mech. Devel.* 1999. V. 80. P. 171–180.
- Ye Y., Lukinova N., Fortini M.E. Neurogenic phenotypes and altered Notch processing in *Drosophila presenilin* mutants // *Nature*. 1999. V. 398. P. 525–529.
- Yousef M.S., Matthews B.W. Structural basis of Prospero-DNA interaction: implications for transcription regulation in developing cells // *Structure*. 2005. V. 13. P. 601–607.
- zur Lage P.I., Powell L.M., Prentice D.R. et al. EGF receptor signaling triggers recruitment of *Drosophila* sense organ precursors by stimulating proneural gene autoregulation // *Devel. Cell*. 2004. V. 7. P. 687–696.

Genetic Control of Macrochaetae Development in *Drosophila melanogaster*

D. P. Furman^{a,b} and T. A. Bukharina^a

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

^b Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia

e-mail: furman@bionet.nsc.ru

Abstract—The *Drosophila* head and body have a regular species-specific pattern of strictly defined number of external sensory organs—macrochaetae (large bristles). The pattern constancy and relatively simple organization of each bristle organ composed of only four specialized cells makes macrochaetae a convenient model to study the developmental patterns of spatial structures with a fixed number of elements in specific positions as well as the mechanisms of cell differentiation. The experimental data on the major genes and their products controlling three stages of macrochaetae development—the emergence of proneural clusters in the imaginal disc ectoderm, the precursor cell determination in the proneural clusters, and the specialization of cells of the definitive sensory organ—were reviewed. The role of the *achaeta-scute* gene complex, EGFR and Notch signaling, and selector genes in these processes was considered. Analysis of published data allowed us to propose an integrated diagram of the system controlling macrochaetae development in *D. melanogaster*.

Key words: *achaeta-scute* complex, signaling pathways, macrochaetae, *Drosophila*