

УДК 57.017.642

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДВИЖЕНИЕ КЛЕТОК В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ *Drosophila melanogaster*: МЕХАНИЗМЫ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ¹

© 2009 г. О. Б. Симонова, Н. В. Бурдина

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

119334 Москва, ул. Вавилова, д. 26

E-mail: osimonova@hotmail.com

Поступила в редакцию 13.04.09 г.

Окончательный вариант получен 23.04.09 г.

Велик тот, кто дал направление.
Фридрих Вильгельм Ницше

Морфогенетическое движение клеток играет большую роль в эмбриогенезе. Оно необходимо для определения окончательного местоположения и конфигурации тканей зародыша и передает позиционную информацию при дифференцировке. У взрослых организмов благодаря движению клеточных пластов происходит заживление тканевых повреждений, а направленная миграция макрофагов в очаг инфекции способствует нейтрализации воспалительных процессов. В силу хорошей изученности плодовая мушка *Drosophila melanogaster* является прекрасным модельным объектом для исследования генетического контроля морфогенетических событий эмбриогенеза, связанных с движением клеток. Дано описание эмбриогенеза дрозофилы, механизмов формирования вентральной борозды, удлинения зародышевой полоски и ее сокращения, сопровождаемого спинным закрытием. Во время этих процессов происходит движение групп эпителиальных клеток и целых эпителиальных пластов. Представлена имеющаяся на данный момент информация о генетической регуляции морфогенетического движения у *D. melanogaster* с учетом степени эволюционного консерватизма основных сигнальных каскадов, контролирующих эти процессы у позвоночных животных.

Ключевые слова: эмбриогенез, вентральная борозда, зародышевая полоска, амниосероза, трахея, адгерентные связи, клеточная интеркаляция, поляризация клетки, *D. melanogaster*.

Эмбриональное развитие *D. melanogaster* является привлекательной модельной системой для изучения морфогенеза. Морфогенетические события, охарактеризованные у *D. melanogaster*, имеют много общего с подобными процессами позвоночных животных. Например, морфогенез во время спинного закрытия (dorsal closure) у эмбриона *D. melanogaster* схож с процессами эпиволюции и заживления ран у позвоночных. В обоих случаях ткань окружается слоем эктодермальных клеток. В результате эпиволюции желток оказывается внутри эмбриона, а при ранозаживлении обнаженная мезодермальная ткань покрывается эпителиальными клетками. Считается, что эти морфогенетические процессы происходят благодаря ведущим эктодермальным краевым клеткам, в которых включается специфическая экспрессия определенных генов (Ring, Mar-

tinez-Arias, 1993). Эмбриональное ранозаживление у позвоночных животных, в отличие от ранозаживления у взрослых особей, происходит без формирования рубца и является примером феномена, подобного спинному закрытию *D. melanogaster* (Martin, 1997). В настоящее время ведется активный поиск генов-участников этого процесса, а *D. melanogaster* при этом выступает в качестве удобного модельного объекта.

Другим морфогенетическим событием эмбриогенеза *D. melanogaster* является инвагинация мезодермы в вентральной борозде (ВБ) (Pilot, Lecuit, 2005). Во время гаструляции у части вентральных мезодермальных прекурсорных клеток происходит высококоординированное сокращение (сжатие) апикальной поверхности. Именно это событие вызывает инвагинацию и формирование трубки, состоящей из клеток ВБ; далее эти клетки вступают на путь эпителио-мезенхимного развития. В результате сближения клеток ВБ происходит соединение двух рядов мезоэктодермальных клеток срединной линии центральной нервной системы. У эмбриона

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 08-04-01768а, 07-04-00701а) и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН "Биологическое разнообразие" (подпрограмма "Генофонды и генетическое разнообразие").

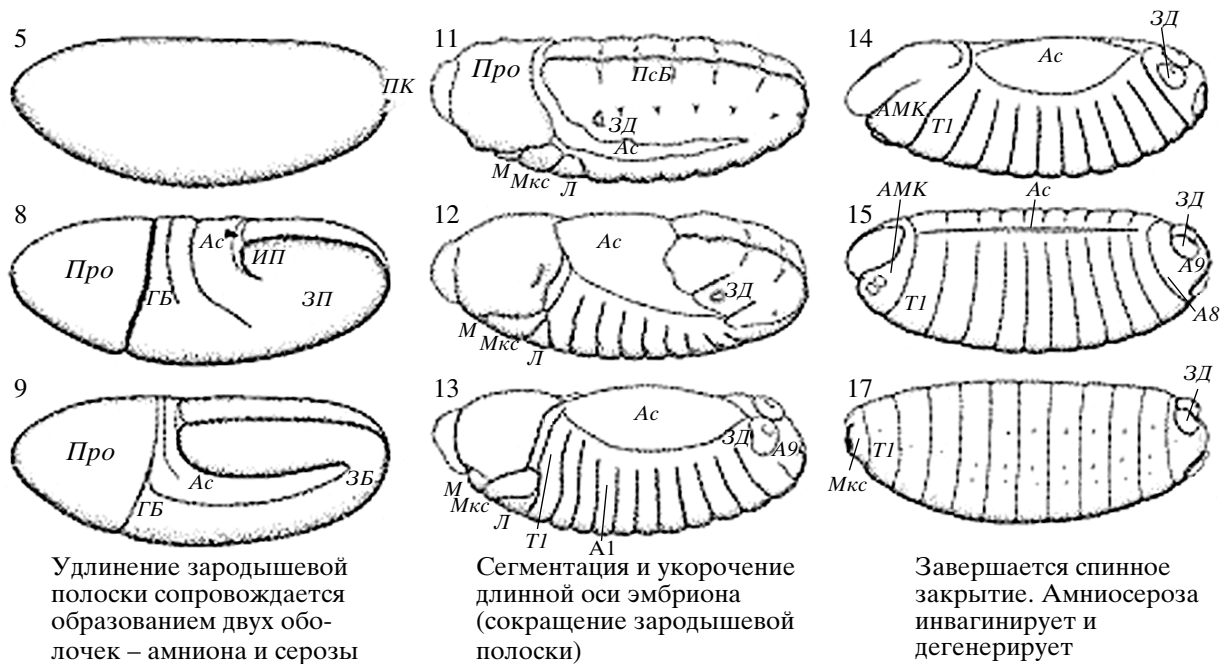


Рис. 1. Стадии эмбриогенеза *D. melanogaster* (по: Hartenstein, 1993, с изменениями).

А1, А8, А9 – первый, восьмой и девятый абдоминальные сегменты, *АМК* – антенно-максиллярный комплекс, *Ас* – амниосероза, *ГБ* – головная борозда, *ЗП* – зародышевая полоска, *Л* – лабиум, *М* – мандибула, *Мкс* – максилла, *ПК* – полярные клетки, *ИП* – инвагинация проктодеума, *Про* – процефалон, *ЗД* – задние дыхальца, *ПсБ* – парасегментные борозды, *Т1* – первый торакальный сегмент.

мышцы смыкание нервной трубки зеркально отражает формирование ВБ *D. melanogaster* (Koleske et al., 1998). То есть инвагинации, после которой следует образование трубки, формирующей нейроэктодерму мышцы, также предшествует сжатие апикальной поверхности клеток.

Эти факты позволяют предполагать, что молекулярные программы, лежащие в основе таких событий как спинное закрытие и формирование ВБ, консервативны и были повторно использованы в эволюционном развитии. Каковы механизмы этих морфогенетических процессов? Какие сигнальные пути задействованы в ходе их реализации? Ответы на эти вопросы были получены после выявления и исследования фенотипических особенностей ряда мутантов *D. melanogaster*. Изолирование конкретных мутаций помогло исследователям выделить гены, контролирующие формирование цитоскелета клетки, межклеточную адгезию и клеточную поляризацию. Изучение молекулярной структуры белковых продуктов этих генов позволило выявить степень их эволюционного консерватизма, универсальность сигнальных путей, компонентами которых они являются, и смоделировать схемы, описывающие детали и специфические особенности конкретных морфогенетических процессов. Так как множество данных, продвинувших исследования в области генетического контроля морфогенетического движения и миграции клеток, было получено

с помощью исследований *D. melanogaster*, начнем с описания стадий эмбрионального развития этого модельного организма.

СТАДИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ *D. melanogaster*

На ранних этапах развития (стадии 1–4) зародыш *D. melanogaster* представляет собой многоядерный синцитий в силу того, что после объединения про-нуклеусов быстрые синхронные деления ядер не сопровождаются формированием клеточных перегородок. Во время девятого цикла около пяти ядер мигрируют в цитоплазму заднего полюса яйца. Здесь они окружаются клеточными мембранами, становясь полярными клетками, дающими начало гаметам взрослого насекомого. К десятому циклу оставшиеся ядра достигают периферии яйца и претерпевают здесь четыре парасинхронных деления.

На стадии 5 после 13-го деления клеточные мембраны окружают каждое ядро, в результате чего формируется клеточная бластодерма, состоящая из 6 тыс. клеток (рис. 1; Turner, Mahowald, 1977; Foe, Alberts, 1983). Таким образом, в этот период развития в зародыше можно выделить три группы ядер: бластодермальные, расположенные на периферийной границе зародыша; ядра желточных клеток, локализованные в центральной части эмбриона; и ядра первичных полярных клеток. Эти три группы

ядер дают начало всем клеточным линиям, дифференцирующимся в течение эмбрионального периода в ткани и органы личинки и имагинальные диски (Полуэктова и др., 1975). Вскоре бластодерма дифференцируется в утолщенную зародышевую полосу и более тонкую внезародышевую часть.

На стадии 6 начинается гастрюляция, которая происходит в результате ивагинации вентральной части бластодермы. Образуются три зародышевых листка. Большинство клеток, остающихся на периферии, формирует эктодерму. Около 1 тыс. клеток вдоль вентральной срединной линии, составляющие проспективную мезодерму, формируют *вентральную борозду*, края которой сходятся, и она замыкается в трубку. Энтодерма образуется из двух независимых впячиваний на переднем и заднем концах зародышевой полосы, где позднее формируются стомо- и проктодеум. В ходе гастрюляции длинная ось эмбриона начинает вытягиваться. Во время *удлинения зародышевой полосы* формируется несколько борозд. Самая глубокая из них, головная борозда, полностью окружает эмбрион. Удлинение и сегментация зародышевой полосы сопровождаются образованием двух оболочек – амниона и серозы. Внезародышевая складка образует кольцевую амниотическую складку, которая нарастает на зародыш спереди, сзади и с боков. После замыкания амниопора наружный листок этой складки создает серозу, а внутренний листок – амнион (Иванова-Казас, Кричинская, 1988).

На стадиях 9–10 зародышевая полоска продолжает удлиняться. Эктодерма начинает разделяться на различные примордиальные органы: передний и задний отделы кишечника, центральную нервную систему, эпидермис.

Стадия 11 характеризуется наличием парасегментных борозд, делящих зародышевую полосу на метамерные единицы. Появляются трахеальные углубления. Далее на стадиях 12–13 происходит укорачивание длинной оси эмбриона (*сокращение зародышевой полосы*) и начинается *спинное закрытие*, во время которого латеральные эпидермальные клетки удлиняются вдоль дорсовентральной оси и движутся дорсально, закрывая спинную поверхность эмбриона. Амниосерозные клетки, занимающие дорсальное положение в развивающемся эмбрионе, сжимаются во время спинного закрытия. Таким образом, увеличение площади эпидермальной поверхности связано с сокращением площади поверхности амниосерозы.

На стадии 14 продолжается спинное замыкание и начинается завертывание (инволюция) головы, в ходе которого большинство головных структур переходит с поверхности внутрь эмбриона. Спинное закрытие завершается на стадии 15, тогда же амниосероза ивагинирует и дегенерирует.

На стадии 17 завершается завертывание головы. Поверхность эмбриона достигает конечной личиночной морфологии. Дифференцируются кутику-

лярные структуры, в частности вентральные зубчатые полосы.

Формирование вентральной борозды. Первое морфогенетическое событие при гастрюляции – образование мезодермы. При взгляде на поперечный срез эмбриона во время начала гастрюляции видно, что 16 вентральных клеток (клетки ВБ) – по восемь с обеих сторон от вентральной срединной линии – ивагинируют, формируя желобок – трубку, которая затем уплощается. Это морфогенетическое событие сопровождается изменением формы клеток ВБ, которое происходит благодаря координированному апикальному сокращению их поверхности. Каковы молекулярные механизмы этого процесса? Суть их удалось прояснить после того, как с помощью генетического скрининга идентифицировали два регулятора ВБ: сигнальный белок **F**olded **g**astrulation (**Fog**) (Costa et al., 1994) и белок семейства G_{α} -**C**oncertina (**Cta**) (Parks, Wieschhaus, 1991). У мутантов по этим генам апикальное сокращение клеток происходит, но оно не скоординировано, поэтому формирование трубки нарушается. Специфически экспрессию *fog* в ВБ контролируют мезодермальные транскрипционные факторы **T**wist и **S**naill (рис. 2), затем активируется **C**ta (Morize et al., 1998). Рецептор для **Fog** пока не идентифицирован. Еще один регулятор ВБ – **R**ho**G**EF2 (**G**EF – **G**uanine nucleotide-**E**xchange **F**actor) – активирует малую ГТФазу **R**ho1 и устанавливает связь между сигнальным путем **Fog-Cta** и цитоскелетом клетки (Hacker, Perriemon, 1998).

У разных организмов семейство белков **R**ho из сверхсемейства **R**as представлено более чем 20 членами, включая **C**DC42, **R**AC1 и **R**hoA5. ГТФазы **R**ho регулируют и координируют ремоделирование цитоскелета, индуцируя, например, полимеризацию актиновых филаментов в линейные волокна или разветвленную сеть (Nobes, Hall, 1999). Все малые ГТФазы обеспечивают цикл белков **R**ho между активным (ГТФ-связанным) и неактивным (ГДФ-связанным) состоянием при содействии факторов **G**EFs. **G**EFs активируют белки **R**ho, в то время как **G**APs (**G**TP-**A**ctivating **P**roteins) инактивируют белки **R**ho. В дополнение к огромному количеству регуляторов обнаружено и описано более 70 эффекторных белков ГТФазы **R**ho. Большинство этих эффекторов являются киназами или действуют как каркасные белки, необходимые для того, чтобы увязать активацию ГТФаз **R**ho с нижестоящими путями передачи сигналов.

У *D. melanogaster* активация **R**ho1 способствует накоплению гладкомышечного миозина II. На клеточной культуре **S**2 было показано, что для накопления миозина II в клетках и для сокращения последних необходима экспрессия белков **C**ta, **R**ho1 и **R**ho**G**EF2 (Rogers et al., 2004). Также было показано, что выключение генов *fog*, *cta* или *RhoGEF2* нарушает апикальную локализацию миозина в ВБ (Nikolaidou, Barrett, 2004), однако после изучения

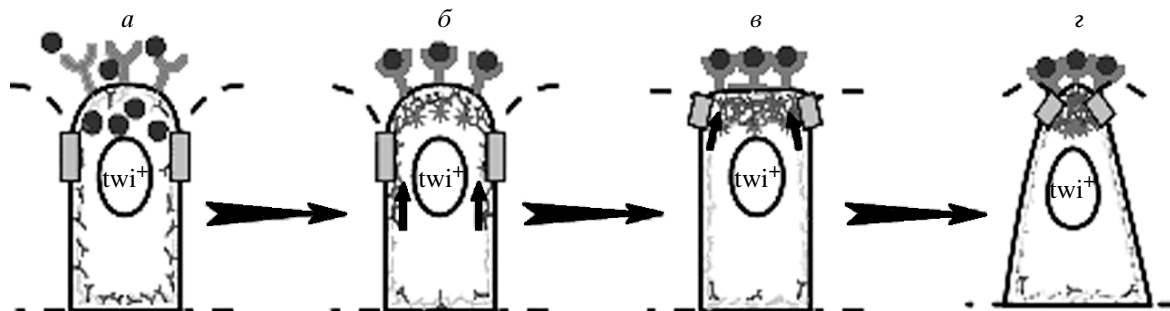


Рис. 2. Модель, объясняющая, как с помощью гена *fog* происходит апикальное сокращение поверхности клеток вентральной борозды *D. melanogaster* (по: Dawes-Hoang et al., 2005, с изменениями).

a – экспрессия транскрипционного фактора Twist (twi^+), определяющего мезодермальную судьбу вентральных клеток, активирует транскрипцию *fog*, что приводит к накоплению и секреции белка Fog на их апикальной поверхности (●); *б* – связавшись на апикальной поверхности с белком Fog, неизвестный рецептор (Y) включает сигнальный путь Spc-ertina-RhoGEF2, активирующий Rho1, формируя киназу ROK (*), которая в свою очередь способствует взаимодействию миозина (γ) с актином (δ) и направляет сократимость актомиозина в сторону апикального кортекса клетки (↑); *в* – актомиозиновый компонент цитоскелета связан с клеточной поверхностью через адгерентные связи (□); сила, вызванная сокращением апикально расположенного актомиозинового комплекса, распрямляет и делает плоской куполовидную апикальную поверхность клетки и тянет вверх адгерентные связи (↑); *г* – продолжающееся сокращение апикального актомиозина направлено далее на адгерентные связи, сближая их, в результате чего происходит апикальное сокращение клеток.

эффекта потери функций отдельных генов оказалось, что существуют неидентифицированные участники этого процесса. У нуль-мутантов по генам *fog* и *cta* сокращение апикальной поверхности клеток происходит некоординированно, но мезодерма в трубку (хотя и неправильную) все-таки замыкается. У нуль-мутантов по гену *RhoGEF2*, наоборот, апикальное сокращение полностью отсутствует, и мезодерма остается на поверхности. Это говорит о том, что RhoGEF2 регулирует апикальное сокращение как Cta-зависимым, так и Cta-независимым путем. Cta-независимый механизм оставался неизученным, пока не обнаружился еще один компонент, контролирующей апикальное сокращение клеток ВБ (Gertler et al., 1995). Им оказалась киназа Abelson (Abl), о которой было известно, что она содержит С-концевой актинсвязывающий домен и поэтому является уникальной среди нерцепторных тирозинных киназ. У *D. melanogaster* Abl регулирует

как формирование аксонов, так и морфогенез эпителия. В центральной нервной системе Abl негативно контролирует модулятор накопления актина Enabled (Ena) через кооперацию с другими регуляторами роста аксонов, например с фактором семейства GEF – Trio (Lanier, Gertler, 2000). Нехватка Abl нарушает организацию актина в различных видах эпителия, включая фолликулярные клетки яичника (Baum, Perrimon, 2001) и эмбриональный эпидермис, участвующий в спинном закрытии (Grevengoed et al., 2001). Было обнаружено, что Abl негативно регулирует апикальную локализацию Ena в формирующихся клетках на стадии бластомеры, модулируя тем самым полимеризацию актиновых волокон (Fox, Peifer, 2007). Отсутствие Abl нарушает смыкание нервной трубки у эмбриона мыши (Koleske et al., 1998), механизм которого схож с таковым формирования ВБ у *D. melanogaster*. Интересно, что этот процесс также регулируется сигнальным путем Rho (Brouns et al., 2000).

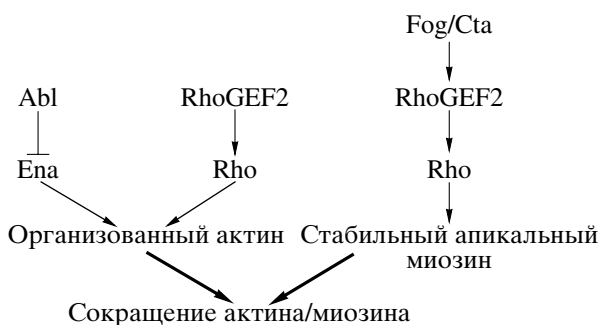


Рис. 3. Модель генетического контроля формирования вентральной борозды *D. melanogaster* (по: Fox, Peifer, 2007, с изменениями). Обозначения см. в тексте.

Исследование роли Abl позволило развить механистическую модель регуляции апикального сокращения клеток во время формирования ВБ (рис. 3). В соответствии с ней накопление актина в отличие от накопления миозина происходит Cta-независимым путем, при этом в регуляции этих процессов RhoGEF2 играет двойную роль. Как это происходит? Организации сети апикального актина в сокращающихся клетках кроме RhoGEF2 способствует киназа Abl, которая регулирует кортикальный Ena в мезодерме, что приводит к поляризованному накоплению актина по принципу, описанному ранее для фолликулярных клеток (Baum, Perrimon, 2001). Для эффективной активации апикального миозина нужен сигнал Fog-Cta. Этот сигнал стабилизирует

апикальный RhoGEF2, необходимый для накопления апикального стабильного миозина. Совместное действие этих двух сигналов, контролирующих организацию актинового кольца в апикальной зоне клетки и стабильную активацию апикального миозина, способствует высококоординированному быстрому сжиманию пласта мезодермальных клеток.

Сейчас ведется поиск генов, мутации которых приводят к характерному – складчатому (folded) – фенотипическому проявлению в эмбриогенезе. Недавно, например, была открыта новая мутация *ziehharmonika* (*zih*) с подобным фенотипом, которая пока остается не изученной (Luschnig et al., 2004).

Удлинение и сокращение зародышевой полоски. Эмбрионы *D. melanogaster* в раннем эмбриогенезе испытывают тканевую элонгацию (конвергентное удлинение): зародышевая полоска (ЗП), которая отвечает за формирование сегментированного строения личинки, удваивается в длину и соответственно этому сужается. Элонгирующая ткань натягивается наружными мембранами, а ЗП начинает перемещаться к заднему полюсу, огибает его и продолжает движение на дорсальной стороне в направлении переднего полюса. В конце элонгации задняя половина ЗП (абдоминальные сегменты А3-А9) оказывается на дорсальной стороне яйца, а передняя (грудные и абдоминальные сегменты Т1-А2) – на вентральной. В результате презумптивные структуры задних отделов личинки на дорсальной стороне зародыша располагаются в непосредственной близости от будущих головных структур (рис. 4, а). Вскоре ЗП начинает сокращаться, что приводит к восстановлению ее исходной топологии (рис. 4, б). В конце этого процесса на дорсальной стороне эмбриона разрастается амниосероза, состоящая из полиплоидных клеток чешуйчатого эпителия, который покрывает желточный мешок.

Как и в эмбриогенезе других видов животных, у *D. melanogaster* процесс конвергентного удлинения реализуется с помощью клеточной интеркаляции (Schoenwolf, Alvarez, 1989). Ирвин и Вишаус (Irvine, Wieschaus, 1994) предположили, что интеркаляция эктодермальных клеток происходит благодаря адгезивным силам, которые должны различаться в соседних сегментах. Различия в силе адгезии между клетками чередующихся сегментов должны контролировать скорость интеркаляции. Фактически во время гастрюляции клетки не деламинируют, не мигрируют сквозь ткань, а вместо этого перестраивают свои специфические контакты в ответ на установление кратковременного механизма упорядоченной коррекции межклеточных связей. Каким образом это происходит?

Известно, что ось удлинения эмбриона *D. melanogaster* устанавливается среди клеток однородного поля через стереотипические изменения формы поверхности группы клеток. Для полной элонгации во время осевого удлинения необходим не один, а множество раундов клеточной интеркаляции. Недавно

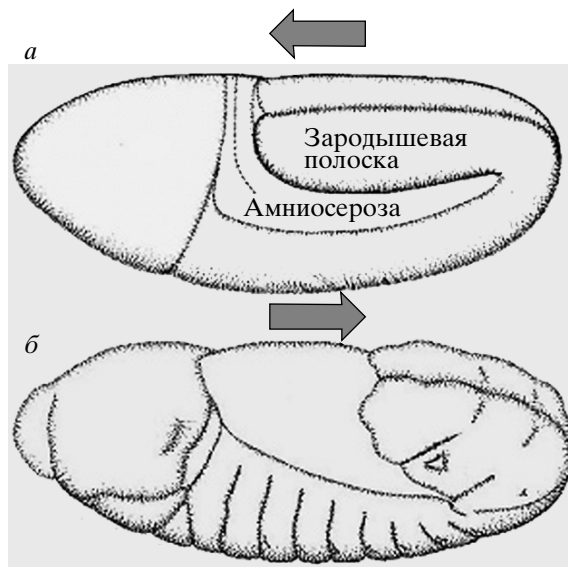


Рис. 4. Схема удлинения (а) и сокращения (б) зародышевой полоски *D. melanogaster*, (→) – направление движения.

было показано, что во время тканевой элонгации клетки ведут себя поляризовано, т.е. на их поверхности асимметрично распределяются цитоскелетные и интегральные белки, контролирующие процесс поляризации клеток. На латеральной стороне в апикальной области мембраны эктодермальных клеток находятся молекулы DE-кадгерина, участвующие в клеточной адгезии (Oda et al., 1998). Оказалось, что регуляция этого процесса с помощью DE-кадгерина играет важную роль во время удлинения ЗП. Заллен и Вишаус (Zallen, Wieschaus, 2004) продемонстрировали, что полосатая экспрессия генов сегментации группы “правила парности” (*pair-rule genes*) является необходимым и достаточным условием для ориентации планарной полярности (см. ниже). Первичной полярностью во время удлинения ЗП считается асимметричное распределение F-актина, за ним следует накопление белков миозина II и Vazooka/Par-3 в различных комплементарных районах на поверхности клетки (рис. 5). Далее в районы новых межклеточных контактов, где впоследствии будет накапливаться Vazooka, должны рекрутироваться DE-кадгерин и Armadillo/ β -катенин. Локальная дестабилизация DE-кадгериновых адгезивных связей может вызвать локальную дестабилизацию поляризованного поведения клеток во время тканевой элонгации.

Регуляторы такого феномена оставались неидентифицированными, пока не было обнаружено, что на процесс удлинения ЗП влияет гормон серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ), который, являясь высокоактивным биогенным амином, нейротрансмиттером и нейромодулятором, может выступать в роли морфогенетического фактора во время раннего эмбриогенеза (Schaerlinger et al., 2007). Сначала появились сообщения, что у эмбрионов

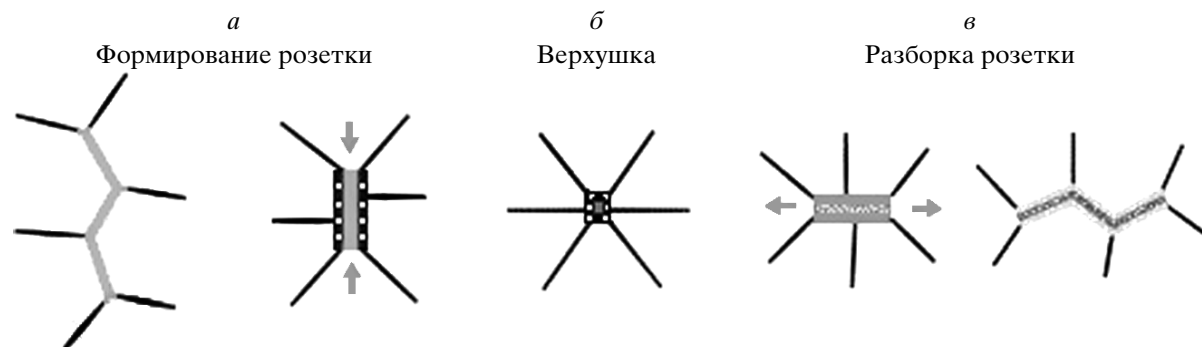


Рис. 5. Схема формирования розеточной структуры клеток и осевого удлинения *D. melanogaster* (слева направо; по: Blankenship et al., 2006, с изменениями).

a – накопление F-актина (■) на стыке клеток вдоль переднезадней оси является первым свидетельством планарной поляризации клеток; затем в этой области накапливается миозин II (▨), который координирует сокращение прилегающих поверхностей клеток, способствуя формированию розеточных структур; *б* – F-актин и миозин II совместно локализованы в районе верхушечного схождения; в дальнейшем розетка разбирается таким образом, что между клетками, которые прежде были пространственно разграничены вдоль дорсовентральной оси, устанавливаются контакты; *в* – на ранних этапах в районе новых контактах накапливается E-кадгерин (■), который совпадает с формированиями кратковременных F-актиновых структур; с небольшой задержкой в район вновь сформированных стыков рекрутируется белок Vazooka (▨), который создает локальное различие в адгезивности клеток, что может играть решающую роль при разборке розеточной структуры.

D. melanogaster, мутантных по гену *5-HT_{2Dro}*, который кодирует рецептор серотонина (5-HT), нарушаются процессы, связанные с морфогенетическим движением клеток во время гастрюляции (Colas et al., 1995, 1999a). В этих работах было показано, что картина экспрессии серотонинового рецептора *5-HT_{2Dro}*, с одной стороны, напоминает полосатый паттерн экспрессии генов “правила парности” в эктодермальных клетках, а с другой – совпадает с апикально-базальной локализацией β -катенина *D. melanogaster* Armadillo, который осуществляет связь цитоскелета клетки с молекулой DE-кадгерина. Далее было обнаружено, что серотониновый рецептор способен влиять на сигналы поляризованной адгезии, которые контролируют удлинение ЗП через клеточную интеркаляцию (Colas et al., 1999b). Затем выяснилось, что раз DE-кадгерин и Armadillo/ β -катенин рекрутируются в места новых контактов до “прихода” туда белка Vazooka, устанавливающего поляризацию, то 5-HT-зависимая DE-кадгериновая адгезия, возможно, регулирует стабильность поведения поляризованных клеток во время тканевой элонгации.

Исследование фенотипов кутикулы мутантных эмбрионов с нарушенной экспрессией рецептора серотонина, названных “призрак” (ghost) и “двойная линия” (double line), показало, что они вызваны различной силой дефектами удлинения ЗП, величина которой отрицательно коррелирует с концентрацией 5-HT. Оказалось, что снижение концентрации 5-HT снижает скорость передачи сигнала к началу поляризованной адгезии (Colas et al., 1999b). Похожие фенотипы кутикулы демонстрировали эмбрионы с недостаточной экспрессией генов, которые кодируют ферменты, контролирующие биосинтез се-

ротонина, – *Punch (Pu)*, *Tryptophan hydroxylase (TPH)*, *DOPA decarboxylase (DDC)* (Colas et al., 1999b).

Таким образом, предположительная роль рецептора *5-HT_{2Dro}* в регуляции процесса удлинения ЗП состоит в синхронизации клеточной интеркаляции через трансдукцию экстраклеточного сигнала биогенного 5-HT на цитоскелет клетки. В результате осуществляется как временной контроль, так и интенсивность (скорость) клеточной интеркаляции и удлинения ЗП. В качестве эффектора для рецептора *5-HT_{2Dro}* предположительно может выступать комплекс Rho/киназа Rho, так как рецептор *5-HT_{2Dro}* является ортологом рецепторов млекопитающих *5-HT_{2A, B, C}*, которые вовлечены в контроль сокращения клеток гладкой мускулатуры с помощью Rho-зависимой регуляции киназы легкой цепи миозина. К тому же оказалось, что фармакологический ингибитор Rho-киназы и специфический регулятор миозина II Y-27632 способен прекращать клеточную интеркаляцию при микроинъекции его в эмбрионы *D. melanogaster* (Schaeferling et al., 2007).

Следующим этапом эмбриогенеза *D. melanogaster* является сокращение ЗП. С помощью новых технологий удалось обнаружить интересные детали этого морфогенетического события. Например, с помощью цейтраферной киносъемки (time-lapse photography) было показано, что во время сокращения амниосерозы и ЗП движутся согласованно, как единый пласт клеток (Schock, Perrimon, 2002). К тому же оказалось, что сокращение ЗП связано с формированием клетками амниосерозы ламеллоподий, которые распространяются в сторону апикального внеклеточного матрикса ЗП. Было показано, что в этом процессе участвуют белки внеклеточного матрикса ламинины (ламинин $\alpha 1,2$, кодируемый геном

wing blister (Martin et al., 1999)) и взаимодействующие с ним трансмембранные белки интегрин (α PS3 β PS) (Schock, Perrimon, 2003). Их мутации нарушают сокращение ЗП, в результате чего погибшие эмбрионы имеют U-образный фенотип.

Спинное закрытие. Спинное закрытие (СЗ) начинается в середине эмбриогенеза и длится около 2 ч (Campos-Ortega, Hartenstein, 1985). Эпидермис *D. melanogaster* представляет собой одноклеточный эпителиальный пласт. Сначала он покрывает только вентральную и латеральную стороны эмбриона, затем начинает расширяться к дорсальной поверхности и, наконец, охватывает эмбрион со всех сторон (рис. 1, 6). В процессе СЗ можно выделить три фазы: 1) дорсально расположенные клетки эпидермиса, названные лидирующими клетками краевой зоны (*leading edge cells*), удлиняются вдоль дорсо-вентральной оси; 2) латеральные клетки эпидермиса тоже начинают удлиняться, перемещая дорсально весь эпителиальный пласт; 3) лидирующие клетки краевой зоны обеих сторон встречаются на дорсальной поверхности и сливаются в области ее срединной линии. Считается, что в качестве движущей силы, начинающей СЗ, могут выступать молекулярные моторы; затем компоненты цитоскелета передают движущую энергию соседним клеткам, которые в ответ меняют свою форму. При этом важно, чтобы эпителиальный слой сохранял свою целостность, которая достигается установлением сильных межклеточных контактов. Регулировать же все эти процессы должны молекулярные переключатели.

У *D. melanogaster* идентифицировано несколько мутаций, которые нарушают СЗ (Knust, 1996). Общая черта фенотипа мутантных эмбрионов – дыры на дорсальной поверхности, поэтому фенотип назвали “открытая спина”. Была исследована молекулярная природа отдельных генов, мутации которых вызывают такой фенотип. Один из них, *zipper*, кодирует тяжелую цепь гладкомышечного миозина (*myosin heavy chain*) (Young et al., 1993). Во время СЗ этот белок сконцентрирован в лидирующих клетках краевой зоны латерального эпидермиса, поэтому ему отводят роль в создании движущей силы, необходимой для удлинения клеток и перемещения латерального эпидермиса к дорсальной поверхности эмбриона. Характерное фенотипическое проявление мутаций гена *coracle* (Fehon et al., 1994), который кодирует белок, гомологичный мультиадапторным белкам семейства 4.1 позвоночных животных, и гена *myspheroid* (MacKrell et al., 1988), кодирующего субъединицу β -интегрина, предполагает участие в этом процессе молекул, входящих в состав цитоскелета, и белков, ответственных за межклеточную адгезию. В отличие от этих мутантов у эмбрионов с мутацией *puckered* (*puc*) процесс движения в дорсальном направлении не нарушается, но лидирующие клетки, тем не менее, дезорганизируются, краевая зона становится морщинистой

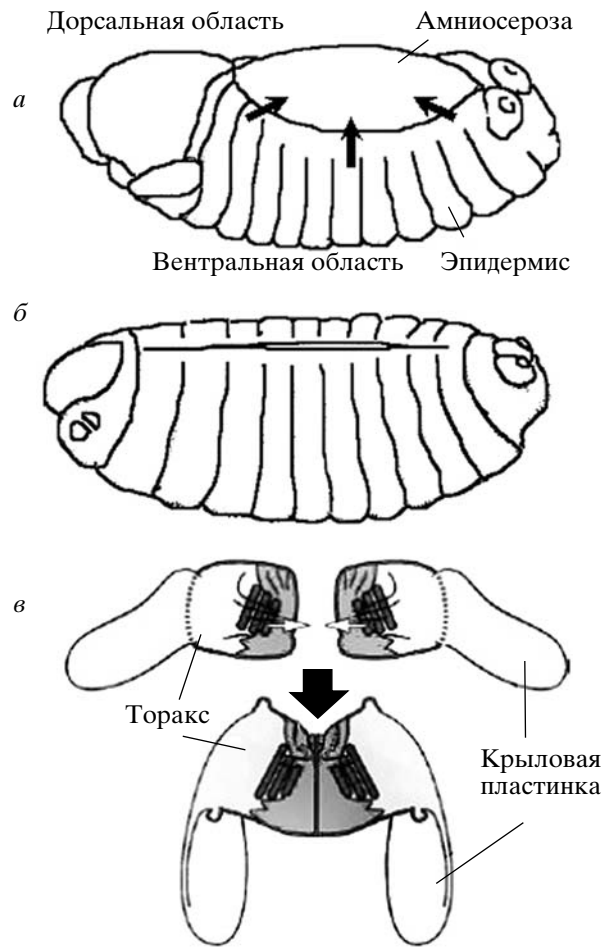


Рис. 6. Спинное (эмбрион) и грудное (предкуколка) закрытие *D. melanogaster*.

a – на стадии 13 эмбрион покрыт слоем эпидермальных клеток лишь с вентральной и латеральных сторон, а на дорсальной находится амниосероза; далее эпидермис перемещается в дорсальном направлении (→), при этом сначала удлиняются лидирующие клетки краевой зоны, а затем клетки, расположенные латерально; *б* – в конце процесса (стадия 15) два ряда лидирующих клеток встречаются на дорсальной поверхности и сливаются в области срединной линии; *в* – во время формирования пупария два крыловых имажинальных диска сближаются друг с другом (⇔) и сливаются по средней линии (→), формируя торакс взрослого насекомого.

(*puckered*), в результате происходит нарушение гладкой поверхности в области дорсальной срединной линии (Ring, Martinez-Arias, 1993). Эти наблюдения указывают на особую роль в финальной фазе СЗ лидирующих клеток краевой зоны. Открытие и молекулярная характеристика гена *hemipterous* (*hep*) (Glise et al., 1995) привели к созданию гипотетической модели, отображающей молекулярный механизм, контролирующий переход эпителия от

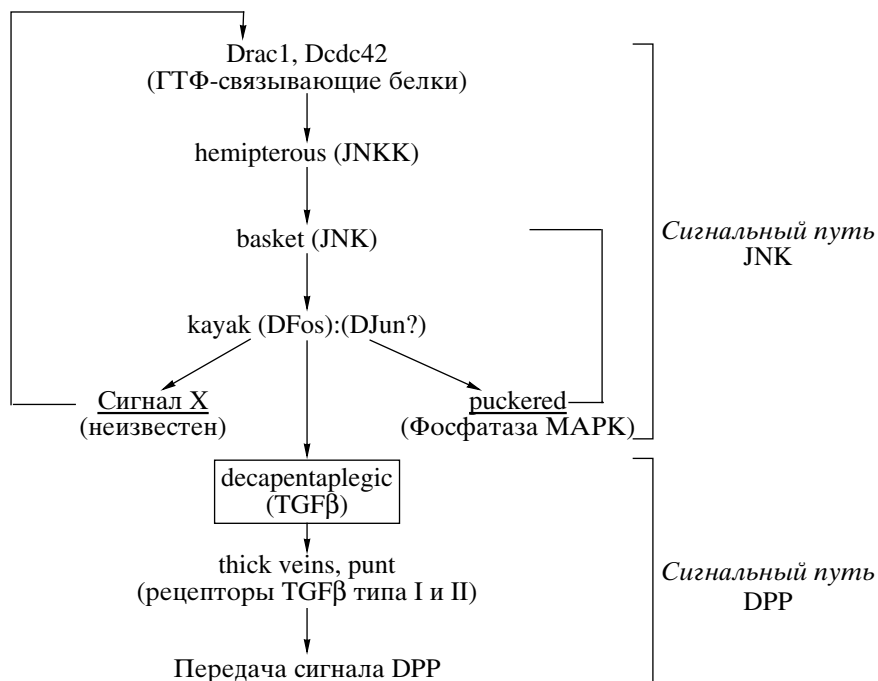


Рис. 7. Объединение сигнальных путей JNK и DPP в лидирующих клетках краевой зоны во время спинного закрытия у *D. melanogaster* (по: Glise, Nosell, 1997, с изменениями). Обозначения см. в тексте.

статичного состояния в скоординированно движущийся пласт клеток. У гомозиготных мутантов *her* СЗ нарушено, как у вышеописанных мутантов, на поверхности эмбриона формировались дыры, но оказалось, что удлинение лидирующих клеток краевой зоны у них происходит нормально. Дальнейшие исследования выяснили причину неполного СЗ у *her*-мутантов, коей явилось отсутствие удлинения не краевых, а латерально расположенных клеток. Таким образом, продукт гена *her* необходим на второй стадии СЗ. Ген *her* кодирует гомолог киназы JNKK (**J**un **k**inase **k**inase) *D. melanogaster*, принадлежащий суперсемейству митогенактивируемых протеиновых киназ MAPKK/MEK, и является компонентом сигнального каскада JNK, активирующегося в ответ на стресс (Marshall, 1994). Другой компонент этого каскада – ген *basket* (*bsk*) – кодирует Jun-киназу дрозофилы JNK, которая в клетках лидирующего края неизвестным образом передает предполагаемый аутокринный сигнал, активирующий СЗ. На рис. 7 представлена модель генетического контроля этого процесса.

Как было упомянуто, главной движущей силой миграции клеток животных является координированная сборка и разборка актиновых филаментов. Этот процесс регулируют малые ГТФазы Rho, Rac и Cdc42 (Nobes, Hall, 1999). Предполагаемый аутокринный сигнал X, инициируемый в лидирующих клетках белком JNK, активирует целый каскад, включающий малые ГТФазы, киназу Her (JNKK) и киназу Bsk (JNK). Последняя через предполагаемо-

го посредника посылает три специфических ответных сигнала: поддержание аутокринного сигнала X, а также активацию генов *puc* и *decapentaplegic* (*dpp*). Предполагаемым посредником, активирующим сигнал JNK в ядре, является фактор транскрипции DJun, кодируемый геном *Jun-related antigen* (*Jra*) (Goldstein et al., 2001). Ген *puc*, кодирующий гомолог специфической фосфатазы CL100 позвоночных, контролирует уровень активности JNK через ее дефосфорилирование. В лидирующих клетках краевой зоны также включается ген *dpp*, кодирующий гомолог трансформирующего фактора роста TGFβ, который через активацию своих рецепторов типа I (Tkv) и II (Punt) передает сигнал клеткам амниосерозы и (или) эктодермальным клеткам к началу миграции (Riesgo-Escovar, Hafen, 1997). Было показано, что для активации транскрипции своих генов-мишеней белок Jun димеризуется (Perkins et al., 1990) либо в гомодимер, либо в гетеродимер с белком Fos. У *D. melanogaster* белок D-Fos кодируется геном *kayak*. Исследование фенотипа мутантных эмбрионов (особенности фенотипа остроумно отражены в названии гена – лодка каяк) показали, что *kayak* также участвует в СЗ (Jürgens et al., 1984). Эти и другие гены-участники СЗ приведены в табл. 1.

У позвоночных животных примером феномена, подобного СЗ *D. melanogaster*, является эмбриональное ранозаживление, которое в отличие от взрослых особей происходит без формирования рубца (Martin et al., 1993; Martin, 1997). Интересно, что после повреждения кожи эмбрионов мыши или

Таблица 1. Гены, мутации которых нарушают дорсальное закрытие у *D. melanogaster*

Ген (символ)	Белок	Особенности
Строительные компоненты клетки		
<i>zipper (zip)</i>	Немышкульный миозин	Белок цитоскелета клетки
<i>coracle (cora)</i>	Гомолог белка 4.1 позвоночных	Белок клеточных мембран
<i>yurt (yrt)</i>	То же	То же
<i>shotgun (shg)</i>	Е-кадгерин	Белок межклеточных контактов
<i>armadillo (arm)</i>	β-Катенин	То же
<i>Fasciclin 3 (Fas3)</i>	Молекула гомофильной адгезии	»
<i>mysospheroid (mys)</i>	β-Субъединица	Входит в состав интегрина
<i>scab (scb)</i>	α-Субъединица	То же
<i>Collagen type IV (Cg25C)</i>	Коллаген типа IV	Белок экстраклеточного матрикса
<i>pericardin (prc)</i>	То же	То же
Сигнальные пути		
<i>decapentaplegic (dpp)</i>	Гомолог трансформирующего фактора роста β (TGFβ)	Сигнальный путь DPP/TGFβ
<i>thickveins (tkv)</i>	Рецептор TGFβ типа I	То же
<i>punt (put)</i>	Рецептор TGFβ типа II	»
<i>mothers against dpp (mad)</i>	Медиатор TGFβ, R-SMAD, компонент комплекса SMAD	»
<i>medea (med)</i>	Медиатор TGFβ, CO-SMAD, компонент комплекса SMAD	»
<i>armadillo (arm)</i>	β-Катенин	Сигнальный путь Wingless
<i>hemipterous (hep)</i>	Киназа киназы Jun	Сигнальный путь JNK
<i>basket (bsk)</i>	Киназа Jun	То же
<i>Jun-related antigen (Jra)</i>	Фактор транскрипции, гомологичный JUN	»
<i>kayak (kay)</i>	Фактор транскрипции, гомологичный FOS	»
<i>misshapen (msn)</i>	Киназа киназы MAPK (MAPK кодируется геном <i>mushroom bodies tiny – mbt</i>)	»
<i>puckered (puc)</i>	Фосфатаза	»
<i>canoe (cno)</i>	Белок имеет домен PDZ	»
<i>Sac1</i>	Щелочная фосфатаза	»
<i>anterior open (aop)/yan</i>	Домен ETS, негативный регулятор малых ГТФаз	Сигнальный путь RAS
<i>Notch (N)</i>	Трансмембранный рецептор	Сигнальный путь Notch
<i>polychaetoid (pyd)</i>	PDZ/гуанилаткиназа	Регулятор многих сигнальных каскадов
<i>ribbon (rib)</i>	ВТВ/POZ	Фактор транскрипции
<i>discs large (dlg)</i>	PDZ/гуанилаткиназа	Регулятор многих сигнальных каскадов
Малые ГТФазы Rho/эффекторы		
<i>Rho1</i>	Малая ГТФаза	
<i>Cdc42</i>	То же	
<i>Rac1</i>	»	
<i>Rac2</i>	»	
<i>Mig-2-like (mtl)</i>	»	
<i>myoblast city (mbc)</i>	DOCK180 (белок с молекуляр. массой 180 кДа – downstream of CRK)	Эффектор
<i>Protein kinase related to protein kinase N (Pkn)</i>	Протеинкиназа	То же
<i>p21-activated kinase (Pak) -kinase (Pak)</i>	Серин/треониновая киназа	»
<i>disembodied (dib)</i>	Экдистероид 22-гидроксилазная активность	Биосинтез экдистероидов
<i>N-myristoyl transferase (Nmt)</i>	Трансфераза	

крысы по краю раны начинают быстро активироваться и *c-fos*, и *TGFβ-1* – гомологи генов *D. melanogaster kayak* и *dpp* соответственно (Martin, Nobes, 1992).

Недавно стало известно, что кроме СЗ эмбриона сигнальный путь JNK нужен для правильного формирования торакса взрослой мухи, которое происходит от слияния двух крыловых имагинальных дисков (Zeitlinger, Bohmann, 1999; Pastor-Pareja et al., 2004). Этот процесс похож на спинное закрытие и, чтобы отличить его от последнего, был назван грудным закрытием (*thorax closure*). В отличие от удлинения ЗП в процессе эмбрионального СЗ происходит изменение формы клеток, но не их пролиферация и перегруппировка. Во время морфогенеза на стадии предкуколлки пролиферация и клеточные перегруппировки также не являются главными. К этому выводу пришли после анализа результатов эксперимента по подавлению пролиферации клеток имагинальных дисков с помощью облучения личинок поздних стадий. У мух после такой обработки торакс формировался нормально. С другой стороны, обработка цитохалазином В, деполимеризующим микрофиламенты актина, ингибировала морфогенез имагинальных дисков. Следовательно, главную роль в этом морфогенетическом движении играет цитоскелет клетки; на рис. 6 легко заметить сходство этих двух эпителиальных движений даже на морфологическом уровне.

Интересно, что сигнальный путь Notch наряду с JNK- и DPP-сигнальными каскадами тоже регулирует СЗ. Оказалось, что *Notch*-мутанты могут частично восстанавливать фенотип, вызванный нарушением JNK-пути (Zecchini et al., 1999). Предполагается, что трансмембранный рецептор Notch негативно контролирует один из вероятных альтернативных сигнальных путей (возможно, MAPK), способный каким-то образом частично возместить утрату сигнала JNK у *bsk*- и *hep*-мутантов при условии отсутствия этого негативного контроля на фоне мутации *Notch*.

Развитие трахеи. Развитие трахеи у *D. melanogaster* требует удлинения клеточных ветвей, которые связываются и сливаются в сложную сеть. Формирование ее как трубчатой структуры индуцируется напрямую через внутриклеточные сигналы эпителиального зачатка и в результате индуктивного сигнала, возникающего между соседствующими эпителием и мезенхимой. Оба процесса иерархически контролируются регуляторами транскрипции, факторами роста и их рецепторами, которые направляют миграцию клеток и их реорганизацию, контролируемую перестройкой цитоскелета и белковым транспортом (Nelson, 2003).

В настоящее время известно, что контроль миграции и слияния трахейных клеток у дрозофилы осуществляется геном *dysfusion* (*dys*). Белок *Dys* – bHLH-PAS-транскрипционный фактор, который специфически экспрессируется в сливающихся тра-

хейных клетках во время ветвления и слияния. Ген *dys* участвует в слиянии клеток и ингибирует клеточные миграции в конце процесса ветвления. Мишенями *dys* являются гены *tracheiless* (*trh*) и *breathless* (*btl*). Было показано, что мутация *dys* приводит к увеличению концентрации РНК генов *trh* и *btl* (Jiang, Crews, 2007). Существует модель, объясняющая, каким образом осуществляется регуляция миграции трахейных клеток. В соответствии с ней миграция происходит в результате соревнования между белками *Dys* и *Tango* за связывание с белком *Trh*. Если *Trh* связывается с *Tango*, то происходит активация транскрипции *btl* и миграция. Если же *Trh* связывается с *Dys*, то уровень экспрессии *bhl* снижается, в результате уменьшается миграция трахейных клеток (Ghabrial, Krasnow, 2006).

Роль поляризации эпителиальных клеток в морфогенетическом движении. Любое активное изменение формы эпителиального пласта, например в период гастрюляции, начинается с того, что составляющие его клетки поляризуются, т.е. вытягиваются в перпендикулярном или косом направлении по отношению к поверхности пласта. Поляризация клеток основана на сложных перестройках цитоскелета и клеточной мембраны: сборке микротрубочек и микрофиламентов и их ориентации по длинной оси поляризующейся клетки, а также движениях интегральных белков. Эти молекулы эволюционно консервативны и могут реагировать на внешние (например, градиенты ростовых факторов) и внутренние (микрофиламенты цитоскелета) сигналы полярности. Путем сборки мультипротеиновых комплексов они индуцируют передачу нижестоящих сигналов, чтобы запустить формирование асимметрии клетки. Из трех описанных комплексов белков полярности – *partitioning defective* (*PAR*), *Crumbs* и *Scribble* – комплексы *PAR* обладают наиболее широкой функцией (Suzuki, Ohno, 2006). При некоторых процессах поляризации эти комплексы кооперируются, чтобы индуцировать полярность, в то время как в других системах они противостоят друг другу, в результате чего и устанавливается или поддерживается асимметрия клетки. Найдены компоненты регуляции комплексов полярности. Малые ГТФазы, принадлежащие суперсемейству RAS, которые действуют как молекулярные переключатели во многих сигнальных путях, по-видимому, играют критическую роль в процессах клеточной поляризации.

Поляризация затрагивает не одну клетку, а целый клеточный пласт, т.е. поляризация одной клетки побуждает соседнюю к такому же превращению. Этот процесс осуществляется лишь при наличии клеточных контактов и поэтому называется *контактной клеточной поляризацией*. Клетки не могут оставаться в состоянии поляризации неограниченно долго. Через определенное время происходит деформация поляризованной клетки, которая уменьшает отношение ее поверхности к объему

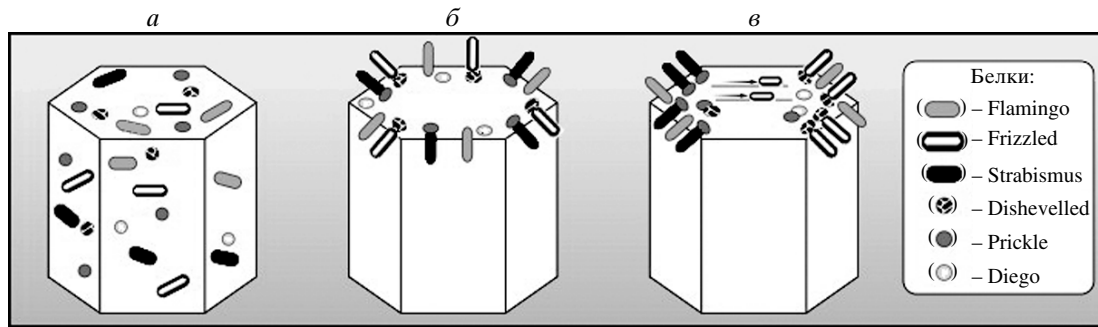


Рис. 8. Сигнальный путь основных белков, участвующих в планарной клеточной полярности *D. melanogaster* (по: Zallen, Wieschaus, 2004, с изменениями). Эпителиальная клетка крыла ранней (а, б) и поздней (в) куколки. Апикулярная область – вверху, дистальная – справа.

а – сначала все РСР-белки распределены в цитоплазме; б – белок Flamingo рекрутирует на апикальную поверхность клетки белки Frizzled и Strabismus, которые в свою очередь привлекают туда Dishevelled и Prickle соответственно; в – основные РСР-белки сортируются на проксимальные и дистальные в результате процесса, который требует активности всех шести белков.

(сокращение). Этот процесс осуществляется сократительным аппаратом клетки – микрофиламентами. В ходе последовательных сокращений пласт изгибается, происходит элементарное морфогенетическое перемещение.

Существует другой тип поляризации клеток, который называется планарная клеточная полярность (Planar cell polarity – PCP). Эта разновидность поляризации организуется в эпителиальной клетке планарно, т.е. в двумерной плоскости, перпендикулярно апикально/базальной поляризации, от которой она отличается тем, что для своей активации не требует межклеточных и субстратклеточных контактных сигналов. В результате формируются обширные эпителиальные пласты, состоящие из одинаково ориентированных клеток. РСР способствует формированию множества повторяющихся структурно-одинаковых морфологических элементов, например чешуек рыб, перьев птиц и волосков шерсти млекопитающих. У дрозофилы сигнал РСР используется при формировании точного расположения структуры глаза, а также волосков и щетинок на поверхности мух. К примеру, каждая из ~30 тыс. клеток крыловой пластинки производит единственный волосок, который формируется на дистальной поверхности клетки и вытягивается в дистальном направлении, а глаз состоит из более чем 700 поляризованных омматидиев и сенсорных щетинок, которые ориентированы, подобно волоскам. Эти элементарные единицы развития различаются по числу клеток. Волосок крыла является частью единственной клетки, которая поляризуется в плоскости эпителиального пласта. Щетинки и омматидии – это многоклеточные структуры, использующие поляризацию для создания упорядоченной организации клеток.

Было показано, что планарная поляризация клеток устанавливается благодаря процессу, в основе которого лежит активация трансмембранным ре-

цептором Frizzled консервативного сигнального пути РСР (Mlodzik, 2002). Интересно, что Frizzled является одним из рецепторов, связывающих секреторные белки семейства WNT (Logan, Nusse, 2004), однако, участвуя в РСР, он функционирует независимо от WNT (Lawrence et al., 2002).

Открытие консервативного Frizzled-зависимого сигнального пути РСР способствовало исследованию эпителиальных тканей *D. melanogaster*, ответственных за производство внешних структур тела насекомого: крыловые волоски, формирующиеся в дистальной области эпителиальной клетки крыла, и абдоминальные волоски, возникающие в постериорной зоне эпидермальной клетки брюшка. Изолирование и изучение мутантов, нарушающих упорядоченное расположение волосков, продвинуло исследования в области РСР (Gubb, Garcia-Bellido, 1982; Wong, Adler, 1993). У таких мутантов крыловые волоски располагаются не дистально, а в центре апикальной поверхности клетки и “враспырку” (Wong, Adler, 1993). Оказалось, что в основе полярно ориентированных волосков крыла *D. melanogaster* лежит молекулярная полярность, вызванная асимметричным распределением основных белков РСР. Эти белки первыми собираются на апикальной поверхности клетки (рис. 8).

Основу сигнального пути РСР составляют три белка, ассоциированных с клеточной поверхностью – Frizzled, Strabismus (или Van Gogh), Flamingo (или Starry night), и три цитоплазматических белка – Dishevelled, Prickle, Diego (рис. 8, табл. 2). Flamingo локализуется в клетке проксимально и дистально (Usui et al., 1988), тогда как Frizzled, Dishevelled и Diego – только дистально (Axelrod, 2001; Das et al., 2004), а Prickle и Strabismus – только проксимально (Tree et al., 2002; Bastock et al., 2003). Flamingo является атипичным кадгерином со семью трансмембранными доменами. Frizzled также имеет семь трансмембранных доменов, а Strabismus – четыре.

Таблица 2. Гены, вовлеченные в планарную поляризацию клеток у *D. melanogaster* (по: Adler, 2002)

Ген (символ)	Белок	Орган	Особенности
<i>frizzled (fz)</i>	Рецептор, имеет семь трансмембранных доменов	В, Ш, О	Накапливается на дистальной поверхности клетки крыла
<i>dishevelled (dsh)</i>	Имеет домены PDZ, DIX и DEP	В, Ш, О	То же
<i>starry night (stan)/flamingo (fmi)</i>	Рецептор, имеет семь трансмембранных доменов и кадгериновые повторы	В, Ш, О	Накапливается на проксимальной и дистальной поверхностях клетки крыла
<i>Van Gogh (Vang)/strabismus (stbm)</i>	PDZ, мембранный белок	В, Ш, О	Неавтономное доминирующее действие, комплементарное <i>fz</i>
<i>prickle (pk)/spiny legs (sple)</i>	ЛИМ-домен	В, Ш, О	Сложный ген. Белок накапливается на проксимальной поверхности клетки крыла
<i>diego (dgo)</i>	Анкириновые повторы	В, О	Накапливается на дистальной поверхности клетки крыла
<i>dachsous (ds)</i>	Кадгериновые повторы	В, Ш, О	Дополнительно влияет на форму тела
<i>fat (ft)</i>	То же	В, Ш, О	Мутации способны вызывать опухоль
<i>four jointed (fj)</i>	Секреторный белок	В, ?, О	Имеет градиент экспрессии, фенотип слабый
<i>unpaired (upd)</i>	Лиганд, включающий каскад JAK/STAT	В, ?, О	Имеет градиент экспрессии в тканях глаза
<i>hopscotch (hop)</i>	Киназа Janus	О	Регулируется геном <i>unpaired</i> , фосфорилирует STAT
<i>Stat92E/marelle</i>	Транскрипционный фактор	О	Регулируется JAK
<i>Notch (N)</i>	Трансмембранный рецептор	О	Участует в латеральном ингибировании, рецептор для Dl
<i>Delta (Dl)</i>	Лиганд	О	Связывается с N
<i>wingless (wg)</i>	Секретируемый лиганд сигнального пути WNT	О	Имеет градиент экспрессии в тканях глаза
<i>fringe (fng)</i>	Гликозилтрансфераза	О	Вовлечен в формирование экваторной области глаза
<i>mirror (mirr)</i>	Гомеобоксодержащий транскрипционный фактор	О	Экспрессируется в дорсальном отделе глаза
<i>inturned (in)</i>	Слабая гомология с доменом PDZ	В, Ш, О, wk	Затрагивает поляризацию клеток крыловых волосков, вызывает множественность волосков. Глазной фенотип слабый
<i>fuzzy (fy)</i>	Не идентифицирован	В, Ш	Схожий с <i>in</i> фенотип
<i>fritz (fritz)</i>	Не известен	В, Ш	То же
<i>multiple wing hairs (mwh)</i>	То же	В	Множественность клеток крыловых волосков. Сильный фенотип
<i>RhoA</i>	ГТФаза	В, О	Множественность клеток крыловых волосков, но нарушения полярности крыловых клеток нет
<i>Rho kinase</i>	Эффектор RhoA	В, О	То же, нарушение ротации омматидиев
<i>Rac</i>	ГТФаза	В, О	Множественность клеток крыловых волосков, вызванных экспрессией белка DN. Мутанты с аллелями потери функции не проявляют мутантного фенотипа
<i>Dcdc42</i>	То же	В	Множественность клеток крыловых волосков; короткие волоски, вызванные экспрессией белка DN
<i>tricornered (trc)</i>	Киназа	В	Кластеризация и расщепление волосков
<i>furry (fry)</i>	Крупный белок	В	То же
<i>basket (bsk)</i>	МАРК	В?, О?	Компонент сигнального пути киназы Jun (JNK).
<i>hemipterous (hep)</i>	МАРКК	В?, О?	То же
<i>misshapen (msn)</i>	МАРКККК	В, О	»
<i>jun</i>	Транскрипционный фактор	О, wk	Мишень сигнального пути JNK

Примечание: В – волоски; Ш – щетинки; О – омматидии; ? – неопределенный фенотип; wk – слабый фенотип.



Рис. 9. Схема событий в лидирующих клетках краевой зоны во время спинного закрытия у *D. melanogaster* (по: Kaltschmidt et al., 2002, с изменениями).

a – распределение белков Fmi, Fz и Dsh (клеточные стенки и центры накопления актина на дорсальной поверхности – ■) и тубулина (■); *б* – распределение белков Dgl и FasIII (клеточные стенки кроме районов формирования ламеллоподий – ■) и актина (клеточные стенки и ламеллоподии – ■). Wg, JNK и DPP – сигнальные пути, активные во время этих событий, сигнал “X” до сих пор не идентифицирован, предполагается, что он должен определять начало поляризации лидирующих клеток краевой зоны (интенсивность окраски линий отражает временной период и интенсивность действия сигнала на разных стадиях).

В состав цитоплазматического белка Dishevelled входят домены DIX (Dishevelled-Axin), PDZ (PSD-95, Discs large, ZO-1) и DEP (Dishevelled, EGL-10, Pleckstrin). Цитоплазматический белок Prickle (известный также как Spiny legs) имеет один PET-домен и три LIM-домена. Цитоплазматический белок Diego несет шесть анкириновых повторов. Было показано, что Frizzled может напрямую взаимодействовать с Dishevelled, а Strabismus – с Prickle. Кадгерин Flamingo, который опосредует гомофильную адгезию, рекрутирует остальные коровые белки PCP в районы адгерентных связей (Strutt, 2002).

Как происходит асимметричное распределение белков PCP, показали Шимада с соавторами (Shimada et al., 2006): во время раннего развития крыла микротрубочки выстраиваются вдоль проксимально-дистальной оси, параллельно апикальной поверхности клетки. Проводя исследования с использованием зеленого флуоресцентного белка (GFP), они увидели, что гибридный белок Frizzled:GFP предпочтительно транспортируется в дистальном направлении и находится в везикулах, которые также содержат Flamingo. Авторы обратили внимание на то, что этот транспорт похож на зависимое от микротрубочек движение везикул, содержащих белок Dishevelled, которое ранее наблюдали в яйце шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (Miller et al., 1999). Оказалось, что везикулы, содержащие Flamingo, тоже ассоциированы с микротрубочками, разрушение которых приводит к исчезновению Frizzled и Flamingo с поверхности клетки и нарушению транспорта Frizzled:GFP. Эти исследования показали, что планарная полярность устанавливается благодаря направленному транспорту к дистальной

поверхности клетки вдоль поляризованной сети микротрубочек белка Frizzled.

Кроме того, белки PCP способны также ориентировать группы постмитотических клеток во время формирования глаза *D. melanogaster*. К ним относятся фоторецепторные клетки R3 и R4, которые входят в состав омматидия. Они дифференцируются асимметрично, в результате чего в дорсальной и вентральной половинках глаза формируются структуры, которые ротированы по отношению друг к другу в противоположных направлениях. Таким образом, ориентированное деление клеток и ротация группы клеток представляют два механизма, посредством которых сигнальный путь PCP регулирует организацию клеточных ансамблей. Иными словами, планарная полярность присуща не только клеткам, находящимся в состоянии покоя. Детальное изучение экспрессии белков PCP во время СЗ у *D. melanogaster* подтвердило сделанный вывод. Оказалось, что в клетках лидирующего края на их дорсальной поверхности идет формирование центров накопления актина. Эти клетки удлиняются вдоль дорсовентральной оси эмбриона и накапливают большое количество миозина и F-актина в зоне лидирующего края. Было показано, что прогрессирующее накопление F-актина в лидирующем крае является следствием упорядоченного распределения белков планарной полярности (рис. 9). Сначала они симметрично окружают клетку, а затем ближе к завершению дорсального закрытия распределяются специфически: некоторые полностью исчезают из лидирующего края (FasIII и Dlg), другие остаются в центрах накопления актина (Fmi, Fz, Dsh и Cno) (Kaltschmidt et al., 2002). Важную роль генов *cno*, *dsh*, и *dlg* в дорсальном закрытии подтверждает

фенотип мутантов с нарушенной экспрессией этих генов, выраженный в формировании дыр на дорсальной поверхности (Perrimon, Mahowald, 1987). В лидирующих клетках краевой зоны, вдоль их дорсо-вентральной оси, происходит поляризованное распределение Fmi, Fz и Dsh, похожее на динамичное распределение этих белков в клетках, формирующих волоски крыла. Это говорит о том, что лидирующие клетки краевой зоны являются еще одним примером планарной полярности. Оба процесса имеют много общего, а различия заключаются лишь в том, что в крыле накопление волокон актина в местах локализации Fmi, Fz и Dsh приводит к формированию волосков, а во время дорсального закрытия он собирается в районах формирования филоподий и ламеллоподий. В обоих процессах поляризации предшествует определенная ориентация микротрубочек.

Как говорилось выше, природа сигнала, который управляет поляризацией лидирующих клеток краевой зоны, изучена не до конца. Предположительно, сигнал JNK напрямую контролирует сборку актиновых филаментов либо необходим для формирования актиннакопительных центров, которые являются функциональными детерминантами динамики актина в лидирующем крае. В отличие от ограниченного действия JNK-сигнала, сигнал Wg необходим на нескольких этапах дорсального закрытия, в частности, для поддержания экспрессии *dpp* в лидирующих клетках краевой зоны, для их удлинения и поляризации вдоль дорсовентральной оси, для организации центров накопления актина и его динамики. Некоторые из функций Wg, такая, например, как контроль экспрессии *dpp*, могут быть связаны с β -катенином *D. melanogaster* Armadillo и, возможно, опосредованы каноническим сигнальным путем β -катенина. Другие, как, например, планарная полярность, не опосредованы этим сигналом, так как Armadillo не является его участником (Kaltschmidt et al., 2002).

Роль сигнального пути PCP в организации не только статичного, но и подвижного эпителия консервативна и у позвоночных животных. Трансмембранные белки PCP – Frizzled, Strabismus и Flamingo – и цитоплазматические белки PCP – Dishevelled и Prickle – нужны также для удлинения эмбриональных осей тела у шпорцевой лягушки и у *Danio rerio* (Keller, 2002). Некоторые белки PCP необходимы для элонгации улитки внутреннего уха (cochlea) и для элонгации и закрытия нервной трубки млекопитающих (Jones, Chen, 2007). Этот процесс требует дополнительных исследований.

Было показано, что от поляризации делящихся клеток зависит структура тканей. Например, ориентированное клеточное деление способствует элонгации крыла дрозофилы и почки млекопитающих (Fischer et al., 2006). У *Danio rerio* после деления клеток во время нейруляции белок Trilobite – гомолог Strabismus – необходим для локализации дочерних

клеток на противоположных сторонах нервной трубки (Ciruna et al., 2006). Деление во время этого процесса идет необычно, с формированием дочерних клеток, обладающих зеркально-отраженной симметрией, заметной по поляризованной локализации белка, гомологичного Vazooka/PAR-3. Ингибирование клеточных делений восстанавливает дефекты нервной трубки у мутантов *trilobite* (Ciruna et al., 2006), демонстрируя, что в данном случае функция сигнала PCP состоит в сохранении структуры ткани во время делений клеток.

Интересные данные, свидетельствующие в пользу того, что на поляризацию клеток и их движение во время раннего развития может влиять такой универсальный регулятор процессов жизнедеятельности как окись азота (NO), были получены недавно. В экспериментах на *X. laevis* было показано, что ингибирование NO-синтазы (NOS) усиливает пролиферацию клеток нейроэктодермы и супрессирует конвергентное удлинение мезодермы и нейроэктодермы (Reunova et al., 2007). Выяснилось, что NO контролирует пролиферацию и движение клеток посредством двух сигнальных путей. Оба они относятся к сигнальному каскаду RhoA-ROCK, но действуют тканеспецифически, отличаясь по составу промежуточных компонентов: в нейроэктодерме в передаче сигнала участвует растворимая гуанилатциклаза (сGC), а в мезодерме – центральный белок поляризации клетки Dishevelled. Если же сигнал NO передается с участием сGC, то деление клеток супрессируется через инактивацию малой ГТФазы RhoA. Если сGC в передаче сигнала NO не участвует, то контроль активности RhoA, ремоделирование актинового цитоскелета клетки и морфогенетическое движение (конвергентное удлинение) регулируются через клеточную поляризацию при взаимодействии белка Dishevelled с NO-синтазой, которая, очевидно, участвует в его созревании.

У *D. melanogaster* NO-синтаза представлена полноразмерной и усеченными сплайс-формами, которые регионспецифически контролируют пролиферацию клеток (Kuzin et al., 1996, 2000; Stasiv et al., 2001, 2004). Оказалось, что этот фермент *D. melanogaster* также может участвовать в регуляции поляризации клеток и морфогенетическом движении (Слезингер, Кузин, 2009). Эктопическое подавление активности полноразмерной изоформы NOS вызвало многочисленные морфологические дефекты органов, подвергнувшихся такому воздействию. Было выявлено нарушение распределения белков поляризации в клетках, формирующих глазные структуры дрозофилы. Эти факты явились дополнительным свидетельством эволюционно консервативной вовлеченности NOS в сигнальные пути, контролирующие не только клеточную пролиферацию, но и морфогенетическое движение, и поляризацию клеток у позвоночных и беспозвоночных животных.

Гены, определяющие план строения организма вдоль переднезадней оси, контролируют поляризованное поведение клетки. Во время удлинения зародышевой полоски вдоль А/Р-оси тела у *D. melanogaster* и *X. laevis* идет активная интеркаляция планарно-поляризованных, формирующих двумерные розеточные структуры клеток (рис. 5). Этот процесс контролируется альтернативным механизмом, отличным от основного сигнального пути PCP, и связан с работой генов, имеющих полосатый паттерн экспрессии и определяющих сегментацию тела эмбриона вдоль А/Р-оси поляриности, – так называемых генов “правила парности” (Irvine, Wieschaus, 1994). Заллен и Вишаус (Zallen, Wieschaus, 2004) обнаружили, что эктопическая экспрессия двух генов “правила парности”, *even-skipped* и *runt*, приводит к накоплению специфических маркеров поляризации в межклеточном пространстве – немышечного миозина (миозина II) на переднезадней (А/Р) и *Vazooka/PAR-3* на дорсовентральной (D/V) границах. Согласно данным этих авторов, гены, контролирующие судьбу клеток, которые расположены вдоль А/Р-оси, определяют длину и ориентацию актин-миозиновых волокон во время конвергентного осевого удлинения. Бланкеншип с соавторами (Blankenhip et al., 2006) показали, что нарушение экспрессии этих генов нарушает специфическую розеточную организацию клеток во время удлинения зародышевой полоски, вызванную отсутствием поляризованного распределения цитоскелетных (F-актин, миозин II) и интегральных (DE-кадгерин, *Vazooka/PAR-3*) белков.

Система, определяющая поляризацию эмбриона вдоль А/Р-оси, устанавливает планарную поляриность во время осевого удлинения также и у позвоночных животных. Исследования на культуре клеток показали, что соседство эксплантов, взятых из различных районов, расположенных вдоль хорды *X. laevis*, влияет на интеркалярное поведение клеток, тогда как комбинирование эксплантов, взятых из мест с одинаковым положением, не производит никакого эффекта (Ninomiya et al., 2004). Очевидно, у *X. laevis* сигнальная система А/Р функционирует либо раньше, либо независимо от сигнальной системы PCP, так как клетки с недостаточной экспрессией *Frizzled* способны индуцировать интеркаляцию соседних клеток, но не могут отвечать на сигнал системы А/Р (Ninomiya et al., 2004). Как отмечалось выше, у *D. melanogaster* экспрессия генов системы А/Р нужна для поляризованной локализации белков, входящих в состав адгерентных связей (Zallen, Wieschaus, 2004), но у *X. laevis* клетки мезенхимы не имеют адгерентных связей и ведут себя по-иному (Keller et al., 2000). Однако Хиодо-Миура с соавторами (Hyodo-Miura et al., 2006) показали, что, несмотря на эти различия, клетки хорды *X. laevis* в районах формирования ламеллоподий накапливают белок поляризации *PAR-6*, связывающий *Vazooka/PAR-3* и атипичную протеинкиназу *C* вместе с *ARF-GTP* Фа-

заактивированным белком (*ARF-GAP* или *XGAP*). Эксперименты этих авторов, выполненные с применением генетического нокдауна, демонстрируют, что *XGAP* необходим для поляризованной двигательной активности. Остается надеяться, что идентификация конкретных генов, которые участвуют в преобразовании сигналов системы А/Р в сигналы к поляризации клеток и последующему их поведению, покажет степень консерватизма этих особенностей систем у позвоночных и беспозвоночных животных.

Отдельные изменения формы клеток, свойственные каждому морфогенетическому процессу, сейчас хорошо описаны, однако как это происходит механистически, до конца неясно. Изменение формы клеток зависит от актина и миозина, а то, какую форму примет клетка, зависит от регуляторных белков цитоскелета. Координирующее влияние на морфогенетическое движение оказывают некоторые биореактивные молекулы (NO, биогенный амин серотонин). Однако роль конкретных факторов транскрипции, включающих гены-мишени, кодирующие регуляторы морфогенетического движения, изучена недостаточно. Эти трудности часто связаны с отсутствием удобных для исследования мутаций этих генов. Например, недавно было показано, что гомолог гена человека, кодирующего альтернативный фактор базовой транскрипции **TBP (TATA-box Binding Protein) Related Factor 2 (TRF2)**, у *D. melanogaster* проявляет заметную специфичность и может контролировать определенный набор генов, участвующих в развитии. Исследовать *in vivo* функции этого гена помогло открытие многочисленных видимых и летальных мутаций *D. melanogaster*, названных *lawc (leg-arista-wing complex)* и локализованных на достаточном расстоянии от его открытой рамки считывания, однако основательно снижающих его экспрессию (Симонова и др., 1992; Симонова, 2000; Модестова и др., 2003, 2005; Воронцова и др., 2007). Фенотипическое проявление этих мутаций достаточно четко указывает на участие комплекса *lawc-trf2* в сигнальных путях, контролирующей морфогенез на всех этапах развития *D. melanogaster*. Были выявлены гены-кандидаты, экспрессию которых он контролирует; среди них оказался ген *kayak*, который у *D. melanogaster* является гомологом гена *c-fos* позвоночных. Исследования на культуре клеток человека показали, что *TRF2* способен репрессировать транскрипцию *c-fos*, конкурируя с *TBP* за связывание с его промотором (Chong et al., 2005). Выяснение того, как взаимодействуют морфогенетические регуляторы и, в частности, эволюционно консервативные факторы транскрипции и сигнальные молекулы, синхронизирующие морфогенетическое движение эпителиальных пластов, поможет понять процесс формирования органов и тканей.

Авторы глубоко признательны Б.А. Кузину за ценные советы по оформлению данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Воронцова Ю.Г., Модестова Е.А., Бурдина Н.В., Симонова О.Б. Восстановление жизнеспособности летальных мутантов гена *leg-arista-wing complex* на фоне конструкций, экспрессирующих домены гена *trf2*, у *Drosophila melanogaster* // Докл. АН. 2007. Т. 417. № 1. С. 133–135.
- Иванова-Казас О.М., Кричинская Е.Б. Курс сравнительной эмбриологии беспозвоночных животных. Л.: ЛГУ, 1988. 352 с.
- Модестова Е.А., Копытова Д.В., Георгиева С.Г., Симонова О.Б. Использование генетической системы химерного белка Р-Ph для репрессии транскрипции гена *leg-arista-wing complex* у дрозофилы // Генетика. 2003. Т. 39. № 5. С. 713–716.
- Модестова Е.А., Воронцова Ю.Е., Корочкин Л.И., Симонова О.Б. Получение летальных мутаций гена *leg-arista-wing complex* у *Drosophila melanogaster* // Докл. АН. 2005. Т. 403. № 4. С. 564–565.
- Полужикова Е.В., Митрофанов В.Г., Бурыченко Г.М. и др. Объекты биологии развития. Дрозофила – *Drosophila*. М.: Наука, 1975. 580 с.
- Симонова О.Б. Новый транс-регуляторный локус дрозофилы // Генетика. 2000. Т. 36. № 11. С. 1464–1474.
- Симонова О.Б., Кузин Б.А., Георгиев П.Г., Герасимова Т.И. Новая регуляторная мутация *Drosophila melanogaster* // Там же. 1992. Т. 28. № 2. С. 164–167.
- Слезингер М.С., Кузин Б.А. NO-синтаза участвует в регуляции поляризации клеток и их движения в морфогенезе *Drosophila* // Онтогенез. 2009. Т. 40. № 1. С. 40–47.
- Adler P.N. Planar signaling and morphogenesis in *Drosophila* // Devel. Cell. 2002. V. 2. P. 525–535.
- Axelrod J.D. Unipolar membrane association of Dishevelled mediates Frizzled planar cell polarity signaling // Genes Devel. 2001. V. 15. P. 1182–1187.
- Bastock R., Strutt H., Strutt D. Strabismus is asymmetrically localised and binds to Prickle and Dishevelled during *Drosophila* planar polarity patterning // Development. 2003. V. 130. P. 3007–3014.
- Baum B., Perrimon N. Spatial control of the actin cytoskeleton in *Drosophila* epithelial cells // Nat. Cell Biol. 2001. V. 3. P. 883–890.
- Blankenship J.T., Backovic S., Sanny J.S.P. et al. Multicellular rosette formation links planar cell polarity to tissue morphogenesis // Devel. Cell. 2006. V. 11. P. 459–470.
- Brouns M.R., Matheson S.F., Hu K.Q. et al. The adhesion signaling molecule p190 RhoGAP is required for morphogenetic processes in neural development // Development. 2000. V. 127. P. 4891–4903.
- Campos-Ortega J.A., Hartenstein V. The embryonic development of *Drosophila melanogaster*. Berlin: Springer-Verlag, 1985.
- Chong J.A., Moran M.M., Teichmann M. et al. TATA-binding protein (TBP)-like factor (TLF) is a functional regulator of transcription: Reciprocal regulation of the neurofibromatosis type 1 and *c-fos* genes by TLF/TRF2 and TBP // Mol. Cell. Biol. 2005. V. 25. P. 2632–2643.
- Ciruna B., Jenny A., Lee D. et al. Planar cell polarity signaling couples cell division and morphogenesis during neurogenesis // Nature. 2006. V. 439. P. 220–224.
- Colas J.F., Launay J.M., Kellermann O. et al. *Drosophila* 5-HT2 serotonin receptor: coexpression with *fushi-tarazu* during segmentation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 5441–5445.
- Colas J.F., Launay J.-M., Maroteaux L. Maternal and zygotic control of serotonin biosynthesis are both necessary for *Drosophila* germband extension // Mech. Devel. 1999a. V. 87. P. 67–76.
- Colas J.F., Launay J.-M., Vonesch J.-L. et al. Serotonin synchronises convergent extension of ectoderm with morphogenetic gastrulation movements in *Drosophila* // Ibid. 1999b. V. 87. P. 77–91.
- Costa M., Wilson E.T., Wieschaus E. A putative cell signal encoded by the *folded gastrulation* gene coordinates cell shape changes during *Drosophila* gastrulation // Cell. 1994. V. 76. P. 1075–1089.
- Das G., Jenny A., Klein T.J. et al. Diego interacts with Prickle and Strabismus/Van Gogh to localize planar cell polarity complexes // Development. 2004. V. 131. P. 4467–4476.
- Dawes-Hoang R.E., Parmar K.M., Christiansen A.E. et al. Folded gastrulation, cell shape change and the control of myosin localization // Ibid. 2005. V. 132. P. 4165–4178.
- Fehon R.G., Dawson I.A., Artavanis-Tsakonas S.A. *Drosophila* homologue of membrane-skeleton protein 4.1 is associated with septate junctions and is encoded by the coracle gene // Ibid. 1994. V. 120. P. 545–557.
- Fischer E., Legue E., Doyen A. et al. Defective planar cell polarity in polycystic kidney disease // Nat. Genet. 2006. V. 38. P. 21–23.
- Foe V.E., Alberts B.M. Studies of nuclear and cytoplasmic behaviour during the five mitotic cycles that precede gastrulation in *Drosophila* embryogenesis // J. Cell Sci. 1983. V. 61. P. 31–70.
- Fox D.T., Peifer M. Abelson kinase (Abl) and RhoGEF2 regulate actin organization during cell constriction in *Drosophila* // Development. 2007. V. 134. P. 567–578.
- Gertler F.B., Comer A.R., Juang J.L. et al. Enabled, a dosage-sensitive suppressor of mutations in the *Drosophila* Abl tyrosine kinase, encodes an Abl substrate with SH3 domain-binding properties // Genes Devel. 1995. V. 9. P. 521–533.
- Ghabrial A.S., Krasnow M.A. Social interactions among epithelial cells during tracheal branching morphogenesis // Nature. 2006. V. 441. P. 746–749.
- Glise B., Nosell S. Coupling of Jun amino-terminal kinase and Decapentaplegic signaling pathways in *Drosophila* morphogenesis // Genes Devel. 1997. V. 11. P. 1738–1747.
- Glise B., Bourbon H., Noselli S. hemipterous encodes a novel *Drosophila* MAP kinase kinase, required for epithelial cell sheet movement // Cell. 1995. V. 83. P. 451–461.
- Goldstein E.S., Treadway S.L., Stephenson A.E. et al. A genetic analysis of the cytological region 46C-F containing the *Drosophila melanogaster* homolog of the jun proto-oncogene // Mol. Genet. Genomics. 2001. V. 266. P. 695–700.
- Grevengoed E.E., Loureiro J.J., Jesse T.L. et al. Abelson kinase regulates epithelial morphogenesis in *Drosophila* // J. Cell Biol. 2001. V. 155. P. 1185–1198.
- Gubb D., Garcia-Bellido A. A genetic analysis of the determination of cuticular polarity during development in *Drosophila melanogaster* // J. Embryol. Exp. Morphol. 1982. V. 62. P. 37–57.
- Hacker U., Perrimon N. DRhoGEF2 encodes a member of the Dbl family of oncogenes and controls cell shape changes during gastrulation in *Drosophila* // Genes Devel. 1998. V. 12. P. 274–284.

- Hartenstein V. Atlas of *Drosophila* development. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1993. 57 p.
- Hyodo-Miura J., Yamamoto T.S., Hyodo A.C. et al. XGAP, an ArfGAP, is required for polarized localization of PAR proteins and cell polarity in *Xenopus* gastrulation // *Devel. Cell*. 2006. V. 11. P. 69–79.
- Irvine K., Wieschaus E. Cell intercalation during *Drosophila* germband extension and its regulation by pair-rule segmentation genes // *Development*. 1994. V. 120. P. 827–841.
- Jiang L., Crews S.T. Transcriptional specificity of *Drosophila* Dysfusion and the control of tracheal fusion cell gene expression // *J. Biol. Chem*. 2007. V. 282. P. 28659–28668.
- Jones C., Chen P. Planar cell polarity signaling in vertebrates // *BioEssays*. 2007. V. 29. P. 120–132.
- Jürgens G., Wieschaus E., Nusslein-Volhard C. et al. Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*: II. Zygotic loci on the third chromosome // *Roux's Arch. Devel. Biol*. 1984. V. 193. P. 283–295.
- Kaltschmidt J.A., Lawrence N., Morel V. et al. Planar polarity and actin dynamics in the epidermis of *Drosophila* // *Nat. Cell Biol*. 2002. V. 4. P. 937–944.
- Keller R. Shaping the vertebrate body plan by polarized embryonic cell movements // *Science*. 2002. V. 298. P. 1950–1954.
- Keller R., Davidson L., Edlund A. et al. Mechanisms of convergence and extension by cell intercalation // *Philos. Trans. R. Soc. L. B. Biol. Sci*. 2000. V. 355. P. 897–922.
- Knust E. *Drosophila* morphogenesis: follow-my-leader in epithelia // *Curr. Biol*. 1996. V. 6. P. 379–381.
- Koleske A.J., Gifford A.M., Scott M.L. et al. Essential roles for the Abl and Arg tyrosine kinases in neurulation // *Neuron*. 1998. V. 21. P. 1259–1272.
- Kuzin B., Roberts I., Peunova N., Enikolopov G. Nitric oxide regulates cell proliferation during *Drosophila* development // *Cell*. 1996. V. 87. P. 639–649.
- Kuzin B., Regulski M., Stasiv Y. et al. Nitric oxide intersects with retinoblastoma pathway to control eye development in *Drosophila* // *Curr. Biol*. 2000. V. 10. P. 459–462.
- Lanier L.M., Gertler F.B. From Abl to actin: Abl tyrosine kinase and associated proteins in growth cone motility // *Curr. Opin. Neurobiol*. 2000. V. 10. P. 80–87.
- Lawrence P.A., Casal J., Struhl G. Towards a model of the organisation of planar polarity and pattern in the *Drosophila* abdomen // *Development*. 2002. V. 129. P. 2749–2760.
- Logan C.Y., Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease // *Annu. Rev. Cell Devel. Biol*. 2004. V. 20. P. 781–810.
- Luschig S., Moussian B., Krauss J. et al. An F₁ genetic screen for maternal-effect mutations affecting embryonic pattern formation in *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. 2004. V. 167. P. 325–342.
- MacKrell A.J., Blumberg B., Haynes S.R. et al. The lethal myospheroid gene of *Drosophila* encodes a membrane protein homologous to vertebrate integrin β subunits // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. V. 85. P. 2633–2637.
- Marshall C.J. MAP kinase kinase kinase, MAP kinase kinase and MAP kinase // *Curr. Opin. Genet. Devel*. 1994. V. 4. P. 82–89.
- Martin P. Wound healing – aiming for perfect skin regeneration // *Science*. 1997. V. 276. P. 75–81.
- Martin P., Nobes C.D. An early molecular component of the wound healing process in rat embryos: induction of c-fos protein in cells at the epidermal wound margin // *Mech. Devel*. 1992. V. 38. P. 209–215.
- Martin P., Dickson M.C., Milan F.A. et al. Rapid induction and clearance of TGF β -1 is an early response to wounding in the mouse embryo // *Devel. Genet*. 1993. V. 14. P. 225–238.
- Martin D., Zusman S., Li X. et al. Wing blister, a new *Drosophila* laminin alpha chain required for cell adhesion and migration during embryonic and imaginal development // *J. Cell Biol*. 1999. V. 145. P. 191–201.
- Miller J.R., Rowning B.A., Larabell C.A. et al. Establishment of the dorsal-ventral axis in *Xenopus* embryos coincides with the dorsal enrichment of dishevelled that is dependent on cortical rotation // *J. Cell Biol*. 1999. V. 146. P. 427–437.
- Mlodzik M. Planar cell polarization: do the same mechanisms regulate *Drosophila* tissue polarity and vertebrate gastrulation? // *Trends Genet*. 2002. V. 18. P. 564–571.
- Morize P., Christiansen A.E., Costa M. et al. Hyperactivation of the folded gastrulation pathway induces specific cell shape changes // *Development*. 1998. V. 125. P. 589–597.
- Nelson W.J. Tube morphogenesis: closure, but many openings remain // *Trends Cell Biol*. 2003. V. 13. P. 615–621.
- Nikolaidou K.K., Barrett K. A Rho GTPase signaling pathway is used iteratively in epithelial folding and potentially selects the outcome of Rho activation // *Curr. Biol*. 2004. V. 14. P. 1822–1826.
- Ninomiya H., Elinson R.P., Winklbauer R. Antero-posterior tissue polarity links mesoderm convergent extension to axial patterning // *Nature*. 2004. V. 430. P. 364–367.
- Nobes C.D., Hall A. Rho GTPases Control Polarity, Protrusion, and Adhesion during Cell Movement // *J. Cell Biol*. 1999. V. 144. P. 1235–1244.
- Oda H., Tsukita S., Takeichi M. Dynamic behavior of the cadherin-based cell-cell adhesion system during *Drosophila* gastrulation // *Devel. Biol*. 1998. V. 203. P. 435–450.
- Parks S., Wieschaus E. The *Drosophila* gastrulation gene *concertina* encodes a G alpha-like protein // *Cell*. 1991. V. 64. P. 447–458.
- Pastor-Pareja J.C., Grawe F., Martin-Blanco E. et al. Invasive cell behavior during *Drosophila* imaginal disc eversion is mediated by the JNK signaling cascade // *Devel. Cell*. 2004. V. 7. P. 387–399.
- Perkins K.K., Admon A., Patel N. et al. The *Drosophila* fos-related AP-1 protein is a developmentally regulated transcription factor // *Genes Devel*. 1990. V. 4. P. 822–834.
- Perrimon N., Mahowald A. Multiple functions of segment polarity genes in *Drosophila* // *Devel. Biol*. 1987. V. 119. P. 587–600.
- Peunova N., Sheinker V., Ravi K., Enikolopov G. Nitric oxide coordinates cell proliferation and cell movements during early development of *Xenopus* // *Cell Cycle*. 2007. V. 6. P. 3132–3144.
- Pilot F., Lecuit T. Compartmentalized morphogenesis in epithelia: from cell to tissue shape // *Devel. Dyn*. 2005. V. 232. P. 685–694.
- Riesgo-Escovar J.R., Hafen E. *Drosophila* Jun kinase regulates expression of decapentaplegic via the ETS-domain protein Aop and the AP-1 transcription factor, DJun, during dorsal closure // *Genes Devel*. 1997. V. 11. P. 1717–1727.
- Ring J.M., Martinez-Arias A. Puckered a gene involved in position-specific cell differentiation in the dorsal epidermis of the *Drosophila* larva // *Development*. 1993. V. 119. P. 251–259.
- Rogers S.L., Wiedemann U., Hacker U. et al. *Drosophila* RhoGEF2 associates with microtubule plus ends in an EB1-dependent manner // *Curr. Biol*. 2004. V. 14. P. 1827–1833.

- Schaerlinger B., Launay J.M., Vonesch J.L. et al.* Gain of affinity point mutation in the serotonin receptor gene 5-HT_{2Dr0} accelerates germband extension movements during *Drosophila* gastrulation // *Devel. Dyn.* 2007. V. 236. P. 991–999.
- Schock F., Perrimon N.* Cellular processes associated with germ band retraction in *Drosophila* // *Devel. Biol.* 2002. V. 248. P. 29–39.
- Schock F., Perrimon N.* Retraction of the *Drosophila* germ band requires cell-matrix interaction // *Genes Devel.* 2003. V. 17. P. 597–602.
- Schoenwolf G.C., Alvarez I.S.* Roles of neuroepithelial cell rearrangement and division in shaping of the avian neural plate // *Development.* 1989. V. 106. P. 427–439.
- Shimada Y., Yonemura S., Ohkura H. et al.* Polarized transport of Frizzled along the planar microtubule arrays in *Drosophila* wing epithelium // *Devel. Cell.* 2006. V. 10. P. 209–222.
- Stasiv Y., Regulski M., Kuzin B. et al.* The *Drosophila* nitric oxide synthase gene (dNOS) encodes a family of proteins that can modulate NOS activity by acting as dominant negative regulators // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 42241–42251.
- Stasiv Y., Kuzin B., Regulski M. et al.* Regulation of mRNAs via truncated isoforms: a novel mechanism to control nitric oxide signaling // *Genes Devel.* 2004. V. 18. P. 1812–1823.
- Strutt D.I.* The asymmetric subcellular localisation of components of the planar polarity pathway // *Semin. Cell Devel. Biol.* 2002. V. 13. P. 225–231.
- Suzuki A., Ohno S.* The PAR–aPKC system: lessons in polarity // *J. Cell Sci.* 2006. V. 119. P. 979–987.
- Tree D.R., Shulman J.M., Rousset R. et al.* Prickle mediates feedback amplification to generate asymmetric planar cell polarity signaling // *Cell.* 2002. V. 109. P. 371–381.
- Turner F.R., Mahowald A.P.* Scanning electron microscopy of *Drosophila melanogaster* embryogenesis. II. Gastrulation and segmentation // *Devel. Biol.* 1977. V. 57. P. 403–416.
- Usui T., Shima Y., Shimada Y. et al.* Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin, regulates planar cell polarity under the control of Frizzled // *Cell.* 1988. V. 98. P. 585–595.
- Wong L.L., Adler P.N.* Tissue polarity genes of *Drosophila* regulate the subcellular location for prehair initiation in pupal wing cells // *J. Cell Biol.* 1993. V. 123. P. 209–221.
- Young P.E., Richman A.M., Ketchum A.S., et al.* Morphogenesis in *Drosophila* requires nonmuscle myosin heavy chain function // *Genes Devel.* 1993. V. 7. P. 29–41.
- Zallen J.A., Wieschaus E.* Patterned gene expression directs bipolar polarity in *Drosophila* // *Devel. Cell.* 2004. V. 6. P. 343–355.
- Zecchini V., Brennan K., Martinez-Arias A.* An activity of Notch regulates JNK signalling and affects dorsal closure in *Drosophila* // *Curr. Biol.* 1999. V. 9. P. 460–469.
- Zeitlinger J., Bohmann D.* Thorax closure in *Drosophila*: involvement of Fos and the JNK pathway // *Development.* 1999. V. 126. P. 3947–3956.

Morphogenetic Movement of Cells in Embryogenesis of *Drosophila melanogaster*: Mechanism and Genetic Control

O. B. Simonova, N. V. Burdina

Institution of developmental biology named after N.K. Koltsov RAS, 119334 Moscow, Vavilova str., 26

E-mail: osimonova@hotmail.com

Abstract—Morphogenetic movement of cells is of significant importance in embryogenesis. It is necessary to identify the final position and configuration of the embryo's tissues and share the positional information in differentiation. The healing of tissular injuries happens in the adult organism due to the cell layers' movement, and the directed macrophages migration to the nidus of infection assists the neutralization of inflammatory processes. Owing to the good level of knowledge, the fruit fly *D. melanogaster* is a perfect model object for the study of morphogenetic events in embryogenesis in connection with the cells movement. The description of *Drosophila* embryogenesis, mechanisms of ventral furrow formation, elongation of the germ band, and its contraction accompanied by dorsal closure was given. During these processes the movement of epithelial cells and the entire epithelial strata happens. The information about the genetic regulation of morphogenetic movement of *D. melanogaster* taking into consideration the scale of evolutionary conservatism of the cascades of the main signal, which control these processes in vertebrates, is presented.

Key words: embryogenesis, ventral furrow, germ band, amnioserosa, trachea, adherent relations, cellular intercalation, cells polarization, *D. melanogaster*.