

УДК 575.16

МЕХАНИЗМЫ ДЕТЕРМИНАЦИИ ЩЕТИНОЧНОГО УЗОРА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2015 г. Т. А. Бухарина¹, Д. П. Фурман^{1,2}¹Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, д. 10²Новосибирский государственный университет
630090 Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

E-mail: bukharina@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 03.04.2014 г.

Окончательный вариант получен 05.12.2014 г.

Макрохеты (большие щетинки) располагаются на голове и нотуме дрозофилы упорядоченным образом, образуя щетиночный узор. Число и расположение составляющих узор макрохет строго постоянны, что делает этот признак ценной видовой характеристикой, которая задается строгим позиционированием пронеиральных кластеров в эктодерме имагинальных дисков на стадии личинки третьего возраста и предкуколки. В свою очередь, позиционирование пронеиральных кластеров зависит от распределения т.н. факторов предструктуры, создающего прообраз щетиночного узора. Согласно современным представлениям, факторы предструктуры отождествляются с транскрипционными факторами, инициирующими локальную экспрессию генов комплекса *achaete-scute (AS-C)*. Именно ограниченная определенными районами эктодермы экспрессия генов комплекса определяет характер расположения макрохет на теле имаго. В обзоре рассмотрены и систематизированы данные, касающиеся становления предструктуры как заключительного этапа функционирования иерархически организованной молекулярно-генетической системы, результатом которого является локальная экспрессия генов *AS-C* в эктодерме имагинальных дисков.

Ключевые слова: дрозофила, макрохеты, предструктура, морфогенез.

DOI: 10.7868/S0475145015030027

ВВЕДЕНИЕ

Формирование пространственных структур является важнейшим аспектом реализации программы развития многоклеточных организмов. В качестве одного из модельных объектов для исследования закономерностей этого процесса и лежащих в его основе молекулярных механизмов используется щетиночный узор нотума *Drosophila melanogaster*. Узор образован 11 парами внешних сенсорных органов — макрохет, занимающих строго фиксированные позиции на теле мухи. Число и постоянство расположения макрохет позволяют присвоить каждой из них персональное название, а сам признак использовать в качестве одного из критериев таксономической классификации.

Сенсорный орган взрослой мухи состоит из четырех специализированных клеток: щетинковой, гнездовой, нейрона и клетки оболочки нерва. Все они происходят из одной клетки-предшественницы — родительской клетки сенсорного органа. Каждая такая клетка обособляется из пронеиральных кластеров — групп из 20–30 эктодермальных клеток имагинальных дисков, отличительной особенностью которых является наличие

белков *Achaete* и *Scute (AS-C)* (Romani et al., 1989; Cubas et al., 1991; Skeath and Carroll, 1991; Gomez-Skarmeta et al., 2003). Для каждого сенсорного органа формируется свой пронеиральный кластер. Закладка пронеиральных кластеров и последующее выделение родительских клеток происходит на стадии третьего личиночного и раннего кукольного возраста. Совокупное расположение пронеиральных кластеров и родительских клеток определяет геометрию щетиночного узора на теле взрослой мухи.

Ключевое место в детерминации узора принадлежит гену *achaete-scute (ac-sc)*, который представлен серией ступенчатых аллелей. Мухи-носители различных аллелей характеризуются отсутствием определенных щетинок из стандартного набора. У особей, гетерозиготных по различным мутациям *ac-sc*, отсутствуют только те щетинки, которые отсутствуют у мух, гомозиготных и по одной, и по другой мутации, и развиваются те из них, которые наличествуют хотя бы у одной из гомозигот.

Феномен ступенчатого аллелизма позволил впервые сформулировать принципиально новый взгляд на ген как на протяженную линейно упо-

рядоченную сложно организованную структурно-функциональную единицу и связать формирование щетинок в строго определенных позициях с его локальной активностью в соответствующих точках эктодермы имагинальных дисков (Dubinin, 1929, 1932). В то же время вопрос о механизмах локальной активации гена *achaete-scute* оставался открытым. Наибольшее распространение для интерпретации наблюдаемых фенотипических эффектов получила гипотеза Штерна, сформулированная им в 1954 г. (Stern, 1954). В рамках гипотезы постулировалось, что локальная активация гена *achaete-scute* происходит в ответ на индуцирующее действие т. н. факторов предструктуры, распределенных дискретным образом в эктодерме имагинальных дисков. В зависимости от наличия этих факторов клетки в определенных районах диска приобретают способность к развитию по нейральному пути (Reeves, Posakony, 2005).

На современном этапе развития представлений о морфогенезе макрохет и механизмах становления стереотипного щетиночного узора гипотеза Штерна получила свое подтверждение на молекулярно-генетическом уровне. Была выяснена тонкая организация генного комплекса *achaete-scute* (*AS-C*) и идентифицированы транскрипционные факторы, инициирующие его экспрессию – U-shaped (*USH*), *Pannier* (*PNR*), белки генов комплекса *iroquois* (*Araucan*, *Scupolican* и *Mirror*) и др. (Ruiz-Gomez, Modolell, 1987; Gomez-Skarmeta et al., 1995; Gomez-Skarmeta et al., 1996; Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997; Calleja et al., 2000; Ramain et al., 2000; Calleja et al., 2002; Aldaz et al., 2003; Gomez-Skarmeta et al., 2003; Joshi et al., 2006; Ikmi et al., 2008). Именно с ними отождествляются факторы предструктуры в терминах гипотезы Штерна.

В свою очередь, экспрессия генов *u-shaped*, *pannier* и комплекса *iroquois* изначально определяется своим набором транскрипционных факторов – белков, кодируемых генами сегментации, действующих на ранних стадиях компартиментализации имагинальных дисков: *Decapentaplegic* (*DPP*), *Hedgehog* (*HH*), *Engrailed* (*EN*), *Invected* (*INV*), *Wingless* (*WG*).

Таким образом активация транскрипции *AS-C* включает иерархию событий, которая обеспечивается координированным действием генов и генных ансамблей и завершается появлением щетинок в строго определенной локализации (Ruiz-Gomez, Modolell, 1987; Gomez-Skarmeta et al., 1995; Gomez-Skarmeta et al., 1996; Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997; Calleja et al., 2000; Ramain et al., 2000; Calleja et al., 2002; Aldaz et al., 2003; Gomez-Skarmeta et al., 2003; Joshi et al., 2006; Ikmi et al., 2008).

В обзоре систематизированы литературные данные, касающиеся генов и белков, прямо или опосредованно определяющих условия инициа-

ции локальной экспрессии генов комплекса *achaete-scute*, и взаимодействий между ними.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КОМПАРТИМЕНТАЛИЗАЦИИ КРЫЛОВЫХ ИМАГИНАЛЬНЫХ ДИСКОВ

Основные события, обуславливающие формирование щетиночного узора на нотуме дрозофилы, связаны с крыловыми имагинальными дисками.

Крыловой диск развивается из 20 клеток, уже на стадии клеточной бластодермы преддетерминированных к тому, чтобы дать начало крыловым структурам и нотуму имаго.

Как оформленная морфологическая структура диск идентифицируется на стадии личинки первого возраста. Вскоре после формирования диска происходит его подразделение на компартменты, границы которых определяют дальнейшую онтогенетическую судьбу находящихся внутри них клеток (рис. 1).

Судьба каждой клетки диска задается набором транскрипционных факторов, которые в ней экспрессируются. Уже на стадии закладки диска клетки эмбриона различаются содержанием транскрипционных факторов, впоследствии определяющих основные этапы компартиментализации: *Engrailed* (*EN*), *Decapentaplegic* (*DPP*), *Distal-less* (*DLL*), *Vestigial* (*VG*), *Wingless* (*WG*) и *Hedgehog* (*HH*) (Held, 2002; Chanas et al., 2004). Схема распределения этих белков в клетках развивающегося зачатка имагинального диска приведена на рис. 2.

На этом этапе локализация белка *EN* ограничена узкой зоной шириной в одну клетку, тогда как белки *DPP*, *WG* и *HH* такого ограничения не имеют и распределяются по градиенту концентраций в более широкой области. Из области зачатка с наибольшим содержанием *DPP*, где происходит активация гена *vestigial*, в дальнейшем разовьется крыловой диск. В остальной части клеток зачатка, где *DPP* мало или вообще нет, инициируется экспрессия *Distal-less*. Эта область даст в дальнейшем ножной диск.

Характер распределения транскрипционных факторов на ранних стадиях развития крылового диска создает предпосылки для дифференциальной активности генов, функционирующих на более поздних этапах (в т.ч. и генов *AS-C*), предопределяя формирование тех или иных морфологических структур имаго, в частности, макрохет.

Первичное выделение компартментов обусловлено дифференциальной экспрессией гена-селектора *engrailed* (*en*), а также генов *invected* (*inv*) и *cubitus interruptus* (*ci*) (рис. 3).

Дальнейшие события компартиментализации связаны с созданием градиента концентрации белка *DPP*, выполняющего функцию морфогена. Область экспрессии соответствующего гена, откуда морфоген диффундирует в окружающие

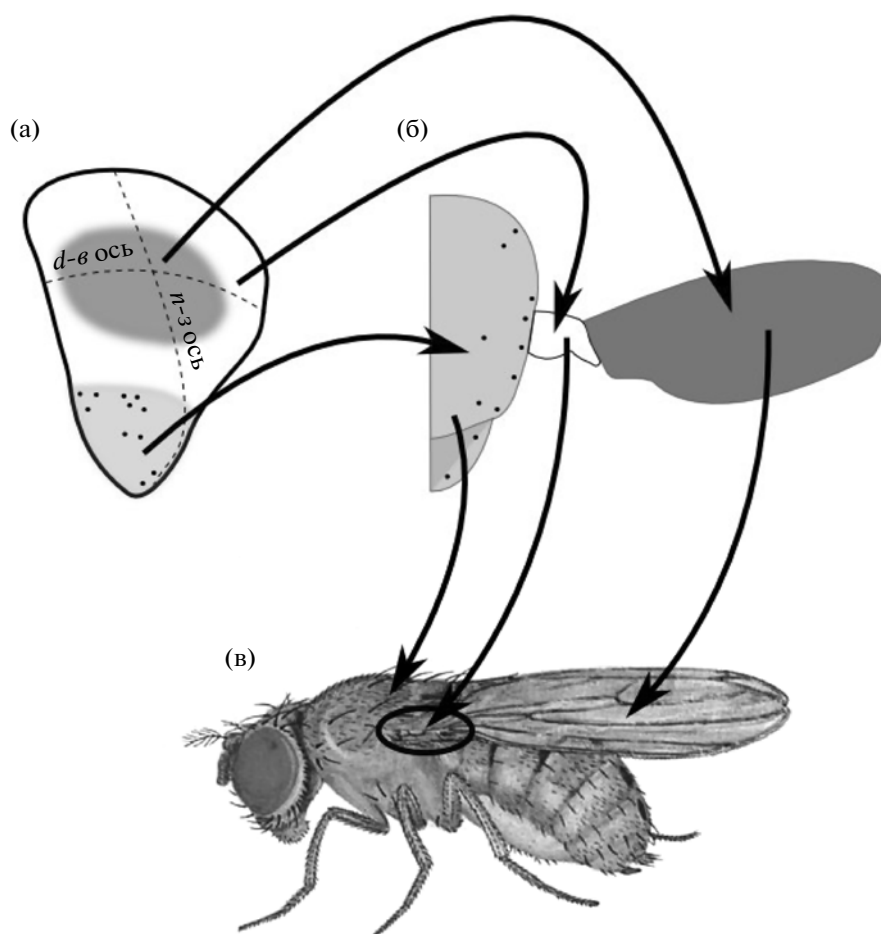


Рис. 1. Онтогенетическая судьба различных частей крылового имагинального диска. Клетки зон имагинального диска, обозначенных темно-серым и белым цветом, сформируют крыловые структуры (поверхность и шарнир крыла соответственно); клетки области, маркированной светло-серым цветом – нотумную часть полуторакса имаго (Crick, Lawrence, 1975; Garcia-Bellido, 1975; 2009). (a) – схематическое изображение крылового имагинального диска; (б) – схематическое изображение правой половины взрослой мухи; (в) – взрослая муха. Черные точки на схемах – места закладки proneуральных кластеров (схема имагинального диска) и места расположения макрохет (схема правой половины взрослой мухи). *n-z* – передне-задняя, *d-v* – дорзо-вентральная оси.

клетки, ограничивается узкой полосой, разделяющей диск на две части (рис. 3а).

Экспрессия *dpp* в этом районе зависит от транскрипционных факторов НН и EN, причем НН активирует экспрессию *dpp*, тогда как EN репрессирует ее (рис. 3б). Экспериментально показано, что в клетках, где одновременно присутствуют оба этих фактора, экспрессия *dpp* запрещена. Однако НН, в отличие от EN, является секретиремым белком, способным диффундировать в соседние клетки, где не экспрессируются ни *en*, ни *hh*. Благодаря этому, в них создаются условия для экспрессии *dpp* даже при отсутствии собственной экспрессии *hh*. В результате формируется ограниченная зона накопления белка DPP (Zecca et al., 1995; Layalle et al., 2011).

В дальнейшем DPP распространяется в клетки, расположенные по обе стороны от этой зоны. Через одноименный сигнальный путь DPP кон-

тролирует экспрессию генов, участвующих в компартиментализации диска. Генами-мишенями DPP являются, в частности, *brk*, *pnr*, *ush*, *salm*, *sal-r*, *tup*. В зависимости от градиента концентрации морфогена и спектра белков, наработанных в клетках ранее, происходит активация различных наборов генов. Комбинаторика их экспрессии создает условия, определяющие направление развития соответствующих областей диска (Zecca et al., 1995; Gomez-Skarmeta et al., 2003; Garcia-Bellido, 2009).

Нотум разовьется из тех частей диска, где в клетках отсутствует белок Apterous (AP) и где DPP репрессирует ген *brinker* и в то же время активирует ген *pannier*.

Наличие же Apterous в клетках диска является признаком того, что они в дальнейшем дадут начало структурам крыла. Apterous формирует гетерогексамер с белками Chip и SSDP (Sequence-spe-

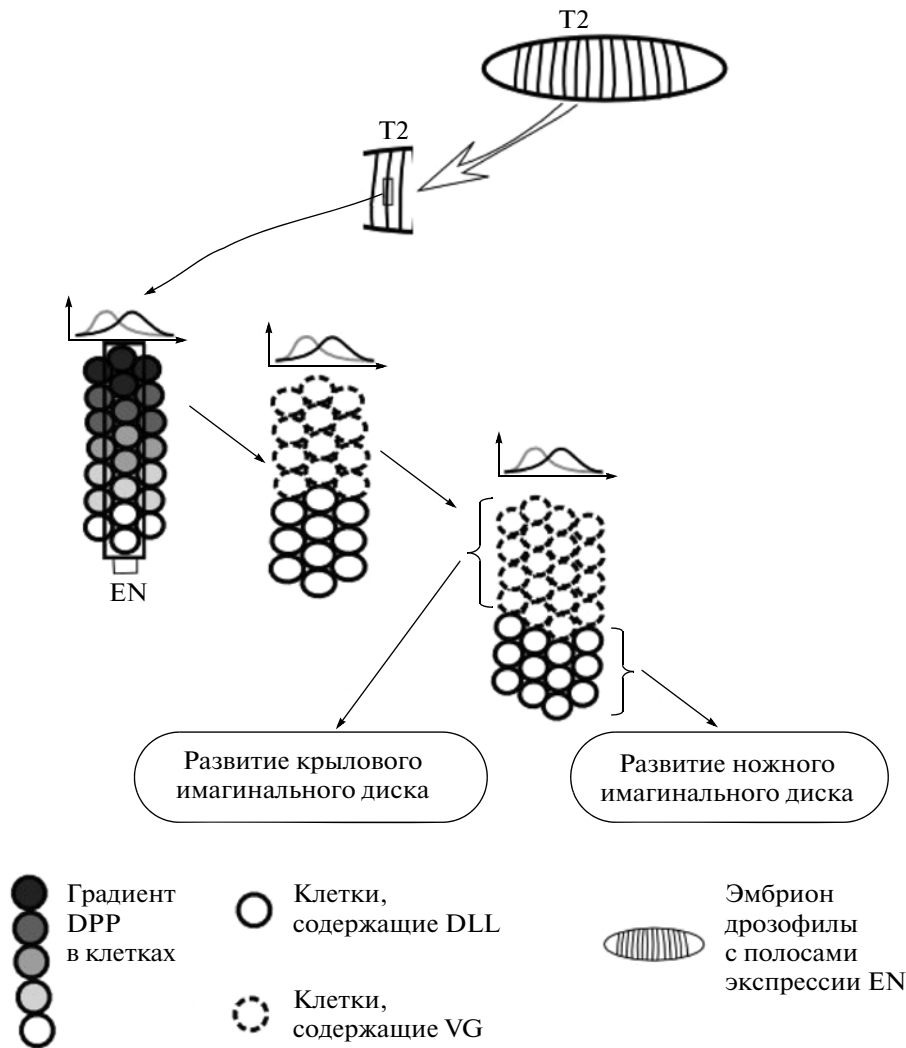


Рис. 2. Распределение и закономерности изменения в содержании белков DPP, EN, WG, VG, DLL, HH в развивающемся зачатке крылового имажинального диска. T2 – сегмент эмбриона, в котором закладывается диск. Графики отражают характер распределения белков WG (кривая серого цвета) и HH (кривая черного цвета) в этом районе. EN – полоса локализации белка EN.

cific single-stranded DNA-binding protein), и комплекс 2Chip/2AP/2SSDP запускает экспрессию генов-мишеней *Arterous*, обеспечивая реализацию программы развития крыловых структур.

На границе между зонами будущих крыла и нотума имеется группа клеток, в которых присутствует как AP, так и PNR и в которых потенциально могут экспрессироваться гены-мишени обоих факторов. Судьба таких клеток зависит от наличия белка Beadex (Bx, другое название dLMO, *Drosophila* LIM-only), который замещает AP в гетерогексамере. Поскольку AP обеспечивает связывание с ДНК, а Bx такой способностью не обладает, транскрипции генов-мишеней AP не происходит, и транскрибируются только гены-

мишени PNR, предопределяя “нотумный” путь развития этой области диска. (Gomez-Skarmeta et al., 1995; Ramain et al., 2000; Matthews, Visvader, 2003; Nishioka et al., 2005; de Navascues, Modolell, 2007; Bronstein et al., 2010) (рис. 4).

Более тонкое структурирование презумптивного нотума находится под контролем генов *eyegone* (*eyg*) и *twin of eyegone* (*toe*), *spalt* (*sal*) и *spalt-related* (*sal-r*), *Bar H1* и *Bar H2*. Экспрессия этих генов регулируется транскрипционными факторами DPP (*sal*, *sal-r*, *Bar*), IRO-C и PNR (*eyg* и *toe*) и определяет районы, из которых впоследствии разовьется щиток (*scutum*) (Barrio et al., 1999; de Celis et al., 1999; Sato et al., 1999; Aldaz et al., 2003).

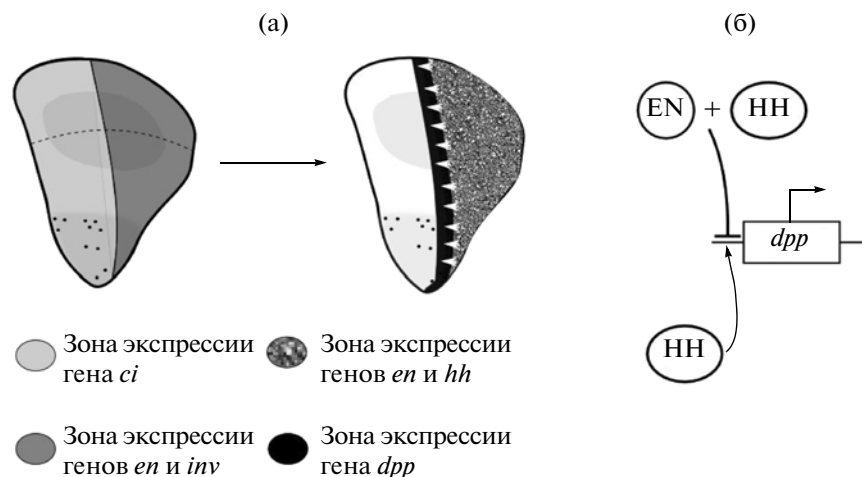


Рис. 3. (а) Схема расположения областей экспрессии генов *engrailed* (*en*), *invected* (*inv*) и *cubitus interruptus* (*ci*), *hedgehog* (*hh*) и *decapentaplegic* (*dpp*) в развивающемся крыловом имагинальном диске. Белые стрелки указывают направление диффузии белка HH. (б) Схема влияния HH и EN на экспрессию *dpp*. Стрелки с острыми концами – активирующие, а с обрубленными – репрессирующие воздействия.

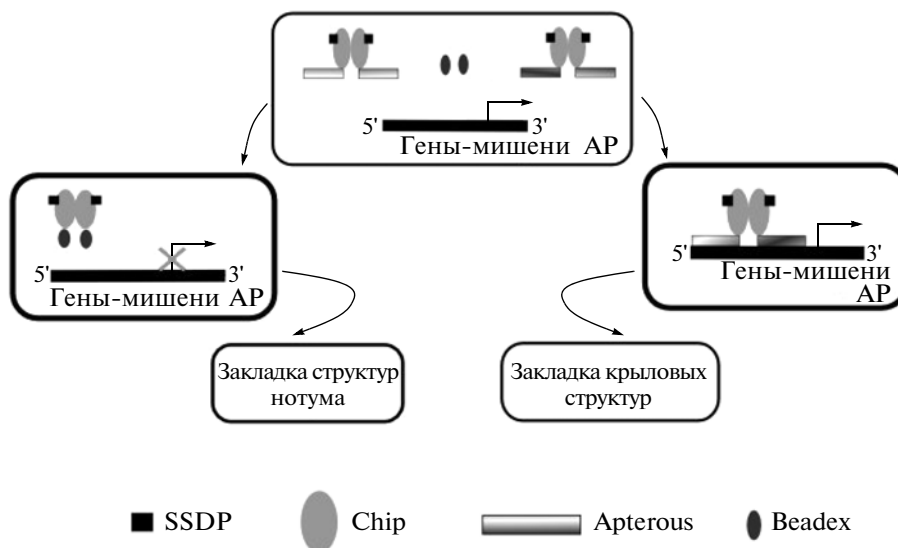


Рис. 4. Участие белка Beadex в определении судьбы клеток крылового имагинального диска.

ФОРМИРОВАНИЕ ПРООБРАЗА ЩЕТИНОЧНОГО УЗОРА

Прообраз щетиночного рисунка на нотуме, соответствующий местам закладки пронеуральных кластеров для разных макрохет и их групп, создается с участием транскрипционных факторов PNR, USH, WG и IRO-C, определяющими характер функционирования *AS-C*.

Ген *pnr* экспрессируется в презумптивном районе нотума под контролем морфогена DPP (Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997). Белок PNR существует в двух изоформах – PNR α и PNR β . Зоны локализации изоформ частично перекрыва-

ются, но в дорзальной части будущего нотума преобладает PNR β , тогда как в латеральной – PNR α (Ramain et al., 1993; Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997). Экспрессия изоформ определяется различными регуляторными районами гена. Обе изоформы служат активаторами транскрипции своих генов-мишеней – *u-shaped*, *AS-C* и *wg*, причем *ush* является мишенью обеих изоформ, *AS-C* представляет мишень для PNR β , а *wg* – для PNR α .

Экспрессия гена *u-shaped* наблюдается в районах диска, соответствующих дорзальной части будущего нотума и будущему щитку, и также зави-

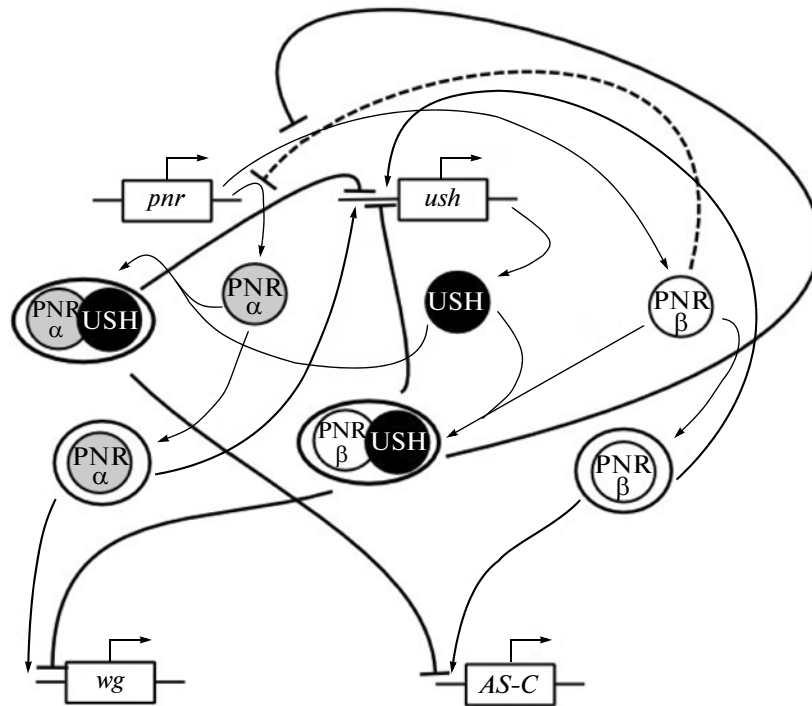


Рис. 5. Схема регуляторных взаимодействий между изоформами белка PNR, USH и их генами-мишенями. Круги, вписанные в овалы, — белковые комплексы.

сит от DPP (Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997). Образуя комплекс с PNR, USH превращает его из активатора в репрессор транскрипции: PNR β /USH подавляет экспрессию изоформы PNR α , комплексы PNR α /USH и PNR β /USH репрессируют транскрипцию *u-shaped* (Hannon et al., 1991; Tsai et al., 1991; Fromental-Ramain et al., 2010), а PNR β /USH — экспрессию *wg* (Fromental-Ramain et al., 2008; 2010).

Описанные взаимодействия схематично представлены на рис. 5.

Различное содержание изоформ определяет характер экспрессии *AS-C* в разных частях презумптивного нотума: в его латеральной части, где содержание PNR α велико, комплекс PNR α /USH репрессирует экспрессию *AS-C*, тогда как в дорзальной его части, где содержание PNR α мало, изоформа PNR β активирует экспрессию *AS-C* (Fromental-Ramain et al., 2008; Fromental-Ramain et al., 2010).

Дальнейшие исследования механизмов компартиментализации диска и детерминации пронейральных кластеров позволили детализировать участие PNR в этих процессах. Было показано, что регуляторную функцию PNR выполняет не сам по себе, а в комплексах с белками семейства bHLH (в частности AS-C и DA), Chip и SSDP (Ramain et al., 2000; Matthews, Visvader, 2003; de Navascues, Modolell, 2007; Bronstein et al., 2010). При этом собственно активатором транскрипции яв-

ляется SSDP, тогда как остальные белки комплекса играют вспомогательную роль: адаптер Chip необходим для объединения в комплекс белков из разных семейств, белки bHLH обеспечивают сайт-специфичность связывания комплекса с ДНК, определяя круг генов-мишеней; а PNR усиливает взаимодействие между энхансерами и промоторами генов-мишеней (Bronstein et al., 2010). Возможные схемы взаимодействий между перечисленными белками и влияние образованных ими комплексов на судьбы клеток имажинального диска представлены на рис. 6.

Показано, что влияние таких комплексов на транскрипционную активность генов *achaete-scute* модулируется белками Toutatis (TOU) и Osa. Предполагается, что они участвуют в обеспечении взаимодействий “энхансер-промотор” через изменение структуры хроматина. При этом TOU усиливает, а Osa ослабляет влияние комплекса на экспрессию *AS-C* (Heitzler et al., 2003; Vanolst et al., 2005).

Участие WG в создании прообраза щетиночного рисунка также заключается в регулировании активности генов *achaete-scute*, но в отличие от PNR и USH, WG влияет на этот процесс опосредованно — через репрессию гена *daughterless* (*da*) и модификацию PNR. Как известно, DA образует гетеродимеры с AS-C и необходим для инициации транскрипции генов *AS-C*, что является необходимым условием формирования пронейральных кластеров (Cadigan et al., 2002). Кроме того,

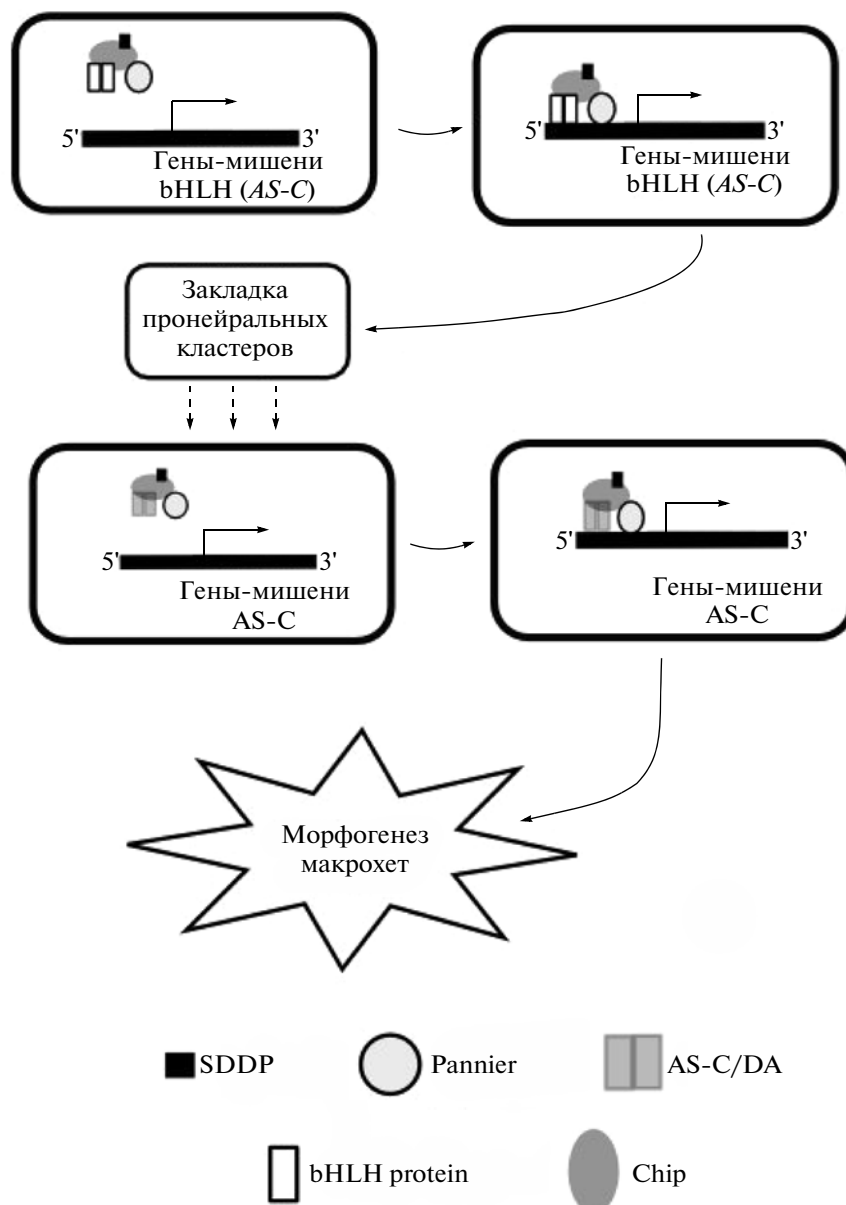


Рис. 6. Комплексы, образуемые с участием белка Chip и их влияние на судьбы клеток крылового имажинального диска.

WG запускает процесс фосфорилирования PNR, активируя экспрессию гена *shaggy* (*sgg*), кодирующего киназу, которая фосфорилирует PNR. Модифицированная форма PNR теряет способность связываться с регуляторным районом комплекса *AS-C* и активировать его транскрипцию (Yang et al., 2012).

Таким образом в дорзальной части нотума комбинаторика PNR, USH и WG определяет топографию proneуральных кластеров, причем непременным условием закладки кластеров является наличие изоформы PNR β и отсутствие WG.

Закладка proneуральных кластеров в латеральной части нотума контролируется тремя ге-

нами комплекса *Iroquois* (*Iro-C*) – *araucan*, *caupolican* и *mirror* (Leyns et al., 1996). Одноименные белки напрямую взаимодействуют с регуляторными районами генов комплекса *achaete-scute* (Gomez-Skarmeta et al., 1996; Kehl, 1998). Экспрессия генов *Iro-C* начинается в конце второго личиночного возраста и заметно усиливается в третьем. Процесс контролируется рядом транскрипционных факторов, в т.ч. PNR, USH, Spalt и Spalt-related.

Районы экспрессии генов *ara* и *scoupr* полностью идентичны и отличаются от районов экспрессии гена *mirr*, определяя развитие макрохет различной локализации. Показано, что позиции будущих нотоплевральных и супраалярных щети-

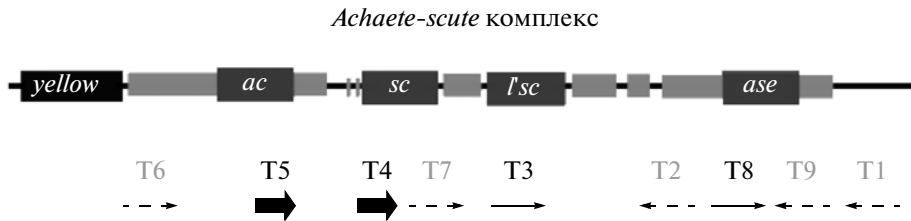


Рис. 7. Схема строения *achaete-scute* комплекса (модифицированный рисунок из Torres, Sanchez, 1989; Modolell, Campuzano, 1998; Gomez-Skarmeta et al., 2003). Прямоугольниками обозначены гены, стрелками – транскрипты. Транскрипты, соответствующие пронейральным генам, обозначены сплошными стрелками, их названия написаны черным цветом. Толстыми стрелками обозначены транскрипты (T5 и T4), соответствующие генам *achaete* и *scute*, участвующим в морфогенезе макрохет. Серые прямоугольники – энхансерные районы комплекса.

нок характеризуются наличием белка MIRR и отсутствием белков ARA и COUP (Gomez-Skarmeta et al., 1996; Leyns et al., 1996; Kehl, 1998).

Позиционирование пронейральных кластеров для нотоплевральных макрохет происходит с участием генов *sal* и *sal-r*. Гены объединены в комплекс, регуляторная зона которого состоит из нескольких блоков. Транскрипционная активность комплекса контролируется DPP- и WNT-сигнальными путями (Barrio et al., 1999; de Celis et al., 1999). Считается, что влияние белков Spalt и Spalt-related на закладку пронейральных кластеров заключается в репрессии транскрипции генов *Iro-C* (de Celis et al., 1999; Sweetman, Münsterberg, 2006).

В формировании пронейральных кластеров пресутуральных макрохет играют роль гены *BarH1* и *BarH2*. Регуляцию их экспрессии осуществляет белок DPP. Показано, что *BarH1* и *BarH2* активируют экспрессию генов *AS-C*, хотя механизм активации не выяснен (Sato et al., 1999).

Наряду с рассмотренными транскрипционными факторами, определяющими позиционирование отдельных щетинок и/или их групп, известны факторы более широкого спектра действия, оказывающие влияние на формирование щетиночного узора в целом.

К ним относятся белки семейства NFκB/Rel. У дрозофилы найдено три белка, принадлежащих к этому семейству: Dorsal (DL), Dorsal related immunity factor (DIF) и Relish (Rel). Их влияние на экспрессию *AS-C* реализуется либо через прямое связывание с регуляторными районами *AS-C*, либо через пост-транскрипционные взаимодействия с мРНК *AS-C*, модифицирующие ее стабильность и эффективность трансляции. Известно, что нейральные потенции клеток диска обеспечиваются низким уровнем содержания белков семейства NFκB/Rel в сочетании с высоким уровнем белков *AS-C* (Ayuar et al., 2007; 2010).

В становлении щетиночного узора заметную роль играет EGFR-сигнальный путь. В зависимости от лиганда конечной мишенью передачи сигнала являются гены *Iro-C* (лиганд Vein) (Gomez-

Skarmeta et al., 2003) или гены *AS-C* (лиганд Spitz) (Shilo, 2003).

Существует группа генов, мутации которых фенотипически выражаются в появлении дополнительных макрохет. Все они кодируют негативные регуляторы экспрессии *AS-C*. К их числу принадлежит фактор прямого действия Hairy (Skeath, Carroll, 1991; Ohsako et al., 1994; Gomez-Skarmeta et al., 1995), корепрессор dCtBP (*Drosophila* C-terminal binding protein), действие которого опосредуется его взаимодействием с белковым комплексом PNR/USH (Stern et al., 2009); Tailup (TUP, синоним Islet), функционирующий в составе гексагетеромеров с участием Chip и SSDP (van Meyel et al., 1999; Biryukova, Heizler, 2005; de Navascues, Modolell, 2007; 2010) и ацетилтрансфераза Chameau (CHM), модифицирующая PNR, USH и Chip (Ramain et al., 2000).

AS-C – ЦЕНТРАЛЬНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ МАКРОХЕТ

Центральная роль в морфогенезе макрохет принадлежит комплексу пронейральных генов *achaete-scute* (*AS-C*). Локальная экспрессия этих генов обеспечивает формирование щетинок в строго фиксированных позициях, а их инактивация ведет к отсутствию у взрослой мухи некоторых или всех макрохет стандартного набора (Campuzano et al., 1986). В случае эктопической экспрессии генов *AS-C* в эктодерме имагинальных дисков и переключения за счет этого онтогенетического механизма развития клеток в соответствующей зоне на нейральный путь возникают либо дополнительные щетинки, либо щетинки в эктопических позициях.

Комплекс занимает в геноме около 90 kb и содержит девять транскрипционных единиц, разделенных нетранскрибируемыми участками. Каждый из транскриптов имеет собственный временной и пространственный профиль распределения. В морфогенезе макрохет ведущая роль принадлежит двум транскриптам – T5 (*achaete*, *ac*) и T4 (*scute*, *sc*), определяющим формирование элементарных наборов щетинок (рис. 7) (Campu-

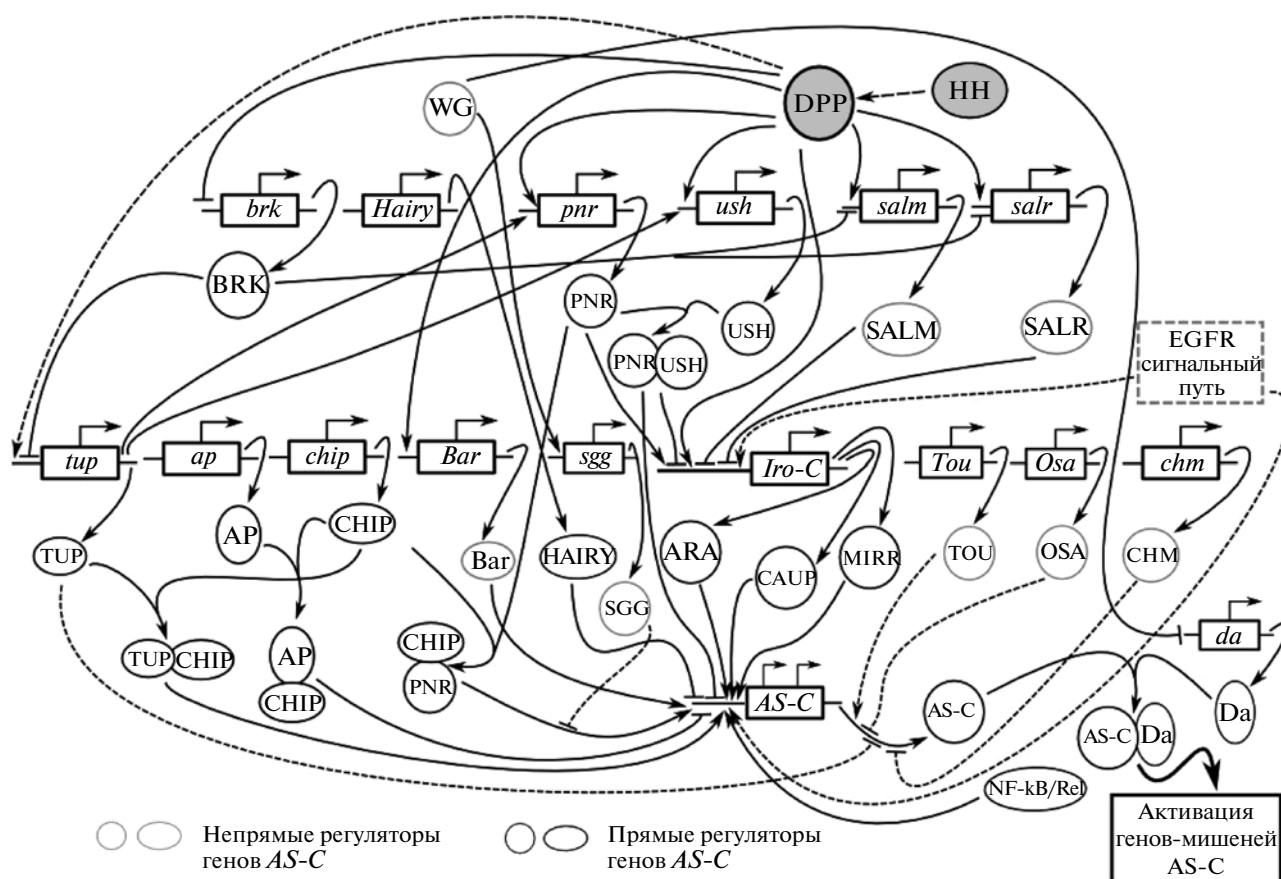


Рис. 8. Схема молекулярно-генетической системы, контролирующей позиционирование макрочет.

zano et al., 1985; Alonso, Cabrera, 1988; García-Bellido, de Celis, 2009). При этом “зоной ответственности” *achaete* является в основном формирование дорзоцентральных макрочет, тогда как экспрессия *scute* достаточна для развития полноценного щетиночного рисунка (Rodríguez et al., 1990).

Специфичность времени и места экспрессии *AS-C* определяется энхансерами двух типов. Энхансеры первого типа расположены вне комплекса на расстоянии около 100 bp и инициируют экспрессию генов *ac* и *sc* в клетках пронейральных кластеров (Ruiz-Gomez, Modolell, 1987; Leysn et al., 1989; Ruiz-Gomez, Ghysen, 1993, Gomez-Skarmeta et al., 1995; Leysn et al., 1996). В частности, дорзоцентральный энхансер (DC-энхансер) определяет экспрессию генов комплекса в кластерах, позиционирующих одноименные щетинки. Показано, что с DC-энхансером могут связываться белки DPP, WG, PNR, USH (Gomez-Skarmeta et al., 1995; Cubadda et al., 1997), а также белки IRO-C (Gomez-Skarmeta et al., 1996; Leysn et al., 1996; Kehl, 1998; Ikmi et al., 2008) и некоторые белки EGFR-сигнального пути (Culi et al., 2001).

Второй тип энхансеров – SOPE (sensory organ precursor enhancer) – ответственен за экспрессию генов *AS-C* в родительских клетках (Escudero et al., 2005; Ayyar et al., 2010). Каждый из генов, входящих в комплекс *achaete-scute*, располагает собственным SOPE (Culi, Modolell, 1998; Giagtzoglou et al., 2003; Jafar-Nejad et al., 2003; Escudero et al., 2005; Ayyar et al., 2010). Эти энхансеры содержат сайты связывания для целого ряда транскрипционных факторов: E-боксы (CANNTG) для связывания с пронейральными белками AS и SC; α-боксы (ACTACAG) для связывания с транскрипционными факторами семейства NF-kB/Rel; AT-обогащенные β-боксы, функции которых до сих пор не выяснены; N-боксы – сайты связывания с белками Hairy (CACGCG) и Enhancer-of-split E(spl) (CACGAG and CACAAG); S-боксы (AATC), с которыми связывается Senseless (SENS). Известно, что с не установленными пока сайтами в SOPE связывается и Charlatan (CHN). Наборы специфических последовательностей в энхансерах второго типа для каждого из генов комплекса *achaete-scute* различны. В частности, SOPE гена *achaete* лишены α-боксов (Van Doren et al., 1994; Jafar-Nejad et al., 2003; Ayyar et al., 2007; 2010).

Все гены комплекса *achaete-scute* кодируют белки типа bHLH, выполняющие роль транскрипционных факторов. В их составе содержатся аминокислотные последовательности, формирующие структуру типа “спираль—петля—спираль”, и основные домены, через которые они связываются с E-боксами (Powell et al., 2004). К числу генов, регуляторные зоны которых содержат E-боксы, относятся собственные гены AS-C комплекса, а также *Delta*, *scabrous*, *E(spl)-C*, *charlatan*, *groucho*, *senseless* и др. Функцию активаторов экспрессии своих генов-мишеней белки AS-C осуществляют в составе гетеродимеров с белком Daughterless.

Белки AS-C – абсолютно необходимый атрибут для реализации нейральной судьбы клеток: впервые они появляются в клетках proneйральных кластеров и достигают максимальной концентрации в родительской клетке щетиночного органа (Skeath, Carroll, 1991).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Макрохеты образуют стереотипный узор на нотуме дрозофилы, прообраз которого задается локализацией proneйральных кластеров и родительских клеток в эктодерме имагинального диска. От других клеток диска эти структуры отличает экспрессия генов AS-C. За точность локализации кластеров отвечает молекулярно-генетическая система, контролирующая процесс их закладки с самых ранних стадий развития дрозофилы через распределение специфичных транскрипционных факторов. Общая схема регуляторных взаимодействий в рамках системы приведена на рис. 8.

Функционирование контролирующей системы организовано по иерархическому принципу, и вектор ее действия ориентирован на наработку и поддержание уровня proneйральных белков AS-C в клетках кластера, обеспечивающих формирование макрохет как органов периферической нервной системы дрозофилы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Проекта Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № VI.61.1.2. и Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 80.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aldaz S., Morata G., Azpiazu N. The Pax-homeobox gene *eyegone* is involved in the subdivision of the thorax of *Drosophila* // *Development*. 2003. V. 130. P. 4473–4482.
- Alonso M.C., Cabrera C.V. The *achaete-scute* gene complex of *Drosophila melanogaster* comprises four homologous genes // *The EMBO J*. 1988. V. 7. P. 2585–2591.
- Ayyar S., Negre B., Simpson P. et al. An arthropod cis-regulatory element functioning in sensory organ precursor development dates back to the Cambria // *BMC Biol*. 2010. V. 24. P. 127.
- Ayyar S., Pistillo D., Calleja M. et al. NF-kappaB/Rel-mediated regulation of the neural fate in *Drosophila* // *PLoS One*. 2007. V. 2. P. e1178.
- Barrio R., de Celis J.F., Bolshakov S. et al. Identification of regulatory regions driving the expression of the *Drosophila spalt* complex at different developmental stages // *Dev. Biol*. 1999. V. 215. P. 33–47.
- Biryukova I., Heitzler P. The *Drosophila* LIM-homeo domain protein Islet antagonizes pro-neural cell specification in the peripheral nervous system // *Dev. Biol*. 2005. V. 288. P. 559–570.
- Bronstein R., Levkovitz L., Yosef N. et al. Transcriptional regulation by CHIP/LDB complexes // *PLoS Genetics*. 2010. V. 6. P. e1001063.
- Cadigan K.M., Jou A.D., Nusse R. Wingless blocks bristle formation and morphogenetic furrow progression in the eye through repression of Daughterless // *Development*. 2002. V. 129. P. 3393–3402.
- Calleja M., Herranz H., Estella C. et al. Generation of medial and lateral dorsal body domains by the *pannier* gene of *Drosophila* // *Development*. 2000. V. 127. P. 3971–3980.
- 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., Balcells L., Villares R. et al. Excess function *Hairy-wing* mutations caused by *gypsy* and *copia* insertion within structural genes of the *achaete-scute* locus of *Drosophila* // *Cell*. 1986. V. 44. P. 303–312.
- Campuzano S., Carramolino L., Cabrera C.V. et al. Molecular genetics of the *achaete-scute* gene complex of *D. melanogaster* // *Cell*. 1985. V. 40. P. 327–338.
- Chanas G., Lavrov S., Iral F. et al. Engrailed and polyhomeotic maintain posterior cell identity through cubitus-interruptus regulation // *Dev. Biol*. 2004. V. 272. P. 522–535.
- Crick F.H., Lawrence P.A. Compartments and polyclones in insect development // *Science*. 1975. V. 189. P. 340–347.
- Cubadda Y., Heitzler P., Ray R.P. et al. *u-shaped* encodes a zinc finger protein that regulates the proneural genes *achaete* and *scute* during the formation of bristles in *Drosophila* // *Genes Dev*. 1997. V. 11. P. 3085–3095.
- Cubas P., de Celis J.F., Campuzano S. et al. Proneural clusters of *achaete-scute* expression and the generation of sensory organs in the *Drosophila* imaginal wing disc // *Genes Dev*. 1991. V. 5. P. 996–1008.
- 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. 996–1008.
- Culi J., Modolell J. Proneural gene self-stimulation in neural precursors: an essential mechanism for sense organ development that is regulated by *Notch* signaling // *Genes Dev*. 1998. V. 12. P. 2036–2047.
- de Celis J.F., Barrio R., Kafatos F.C. Regulation of the *spalt/spalt-related* gene complex and its function during sensory organ development in the *Drosophila* thorax // *Development*. 1999. V. 126. P. 2653–2662.

- de Navascués J., Modolell J. The pronotum LIM-HD gene *tailup* is both a positive and a negative regulator of the proneural genes *achaete* and *scute* of *Drosophila* // *Mech. Dev.* 2010. V. 127. P. 393–406.
- de Navascués J., Modolell J. *tailup*, a LIM-HD gene, and Iro-C cooperate in *Drosophila* dorsal mesothorax specification // *Development.* 2007. V. 134. P. 1779–1788.
- Dubinín N.P. Allelomorphentreppen bei *Drosophila melanogaster* // *Biol. Zbl.* 1929. V. 49. P. 328–339.
- Dubinín N.P. Step-allelomorphism and the theory of centres of the gene *achaete-scute* // *J. Genet.* 1932. V. 26. P. 37–58.
- 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* // *Development.* 2005. V. 132. P. 1211–1222.
- Fromental-Ramain C., Taquet N., Ramain P. Transcriptional interactions between the pannier isoforms and the cofactor U-shaped during neural development in *Drosophila* // *Mech. Dev.* 2010. V. 127. P. 442–457.
- Fromental-Ramain C., Vanolst L., Delaporte C. et al. *pannier* encodes two structurally related isoforms that are differentially expressed during *Drosophila* development and display distinct functions during thorax patterning // *Mech. Dev.* 2008. V. 125. P. 43–57.
- García-Bellido A. Genetic control of wing disc development in *Drosophila* // *Ciba Found. Symp.* 1975. V. 0(29). P. 161–182.
- García-Bellido A. The cellular and genetic bases of organ size and shape in *Drosophila* // *Int. J. Dev. Biol.* 2009. V. 53. P. 1291–1303.
- García-Bellido A., de Celis J.F. The complex tale of the *achaete-scute* complex: a paradigmatic case in the analysis of gene organization and function during development // *Genetics.* 2009. V. 182. P. 631–639.
- Giagtzoglou N., Alifragis P., Koumbanakis K.A. et al. Two modes of recruitment of E(spl) repressors onto target genes // *Development.* 2003. V. 130. P. 259–270.
- Gómez-Skarmeta J.L., Campuzano S., Modolell J. Half a century of neural prepatterning: the story of a few bristles and many genes // *Nat. Rev. Neurosci.* 2003. V. 4. P. 587–598.
- Gomez-Skarmeta J.L., Diez del Corral R., de la Calle-Mustienes E. et al. *araucan* and *caupolican*, two members of the novel *iroquois* complex, encode homeoproteins that control proneural and vein-forming genes // *Cell.* 1996. V. 85. P. 95–105.
- Gomez-Skarmeta J.L., Rodriguez I., Martinez C. et al. Cis-regulation of *achaete* and *scute*: shared enhancer-like elements drive their coexpression in proneural clusters of the imaginal discs // *Genes Dev.* 1995. V. 9. P. 2598–2608.
- 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 Dev.* 1997. V. 11. P. 3096–3108.
- Hannon R., Evans T., Felsenfeld G. et al. Structure and promoter activity of the gene for the erythroid transcription factor GATA-1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 3004–3008.
- Heitzler P., Vanolst L., Biryukova I. et al. Enhancer-promoter communication mediated by Chip during Pannier-driven proneural patterning is regulated by *Osa* // *Genes Dev.* 2003. V. 17. P. 591–596.
- Held L.I., Jr. *Imaginal discs: the genetic and cellular logic of pattern formation.* Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 476 p.
- Ikmi A., Netter S., Coen D. Prepatterning the *Drosophila* notum: the three genes of the *iroquois* complex play intrinsically distinct roles // *Dev. Biol.* 2008. V. 317. P. 634–648.
- Jafar-Nejad H., Acar M., Nolo R. et al. Senseless acts as a binary switch during sensory organ precursor selection // *Genes Dev.* 2003. V. 17. P. 2966–2978.
- Joshi M., Buchanan K.T., Shroff S. et al. Delta and Hairy establish a periodic prepatter that positions sensory bristles in *Drosophila* legs // *Dev. Biol.* 2006. V. 293. P. 64–76.
- Kehl B.T., Cho K.O., Choi K.W. *mirror*, a *Drosophila* homeobox gene in the *Iroquois* complex, is required for sensory organ and alula formation // *Development.* 1998. V. 125. P. 1217–1227.
- Layalle S., Volovitch M., Mugat B. et al. Engrailed homeoprotein acts as a signaling molecule in the developing fly // *Development.* 2011. V. 138. P. 2315–2323.
- Leyns L., Dambly-Chaudière C., Ghysen A. Two different sets of cis elements regulate *scute* to establish two different sensory patterns // *Roux's Arch. Dev. Biol.* 1989. V. 198. P. 227–232.
- Leyns L., Gomez-Skarmeta J.L., Dambly-Chaudière C. *iroquois*: a prepatter gene that controls the formation of bristles on the thorax of *Drosophila* // *Mech. Dev.* 1996. V. 59. P. 63–72.
- Matthews J.M., Visvader J.E. LIM-domain-binding protein 1: a multifunctional cofactor that interacts with diverse proteins // *EMBO Rep.* 2003. V. 4. P. 1132–1137.
- Modolell J., Campuzano S. The *achaete-scute* complex as an integrating device // *Int. J. Dev. Biol.* 1998. V. 42. P. 275–282.
- Nishioka N., Nagano S., Nakayama R. et al. Ssdp1 regulates head morphogenesis of mouse embryos by activating the Lim1-Ldb1 complex // *Development.* 2005. V. 135. P. 2535–2546.
- Ohsako S., Hyer J., Panganiban G. et al. *hairy* function as a DNA-binding helix-loop-helix repressor of *Drosophila* sensory organ formation // *Genes Dev.* 1994. V. 8. P. 2743–2755.
- 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.
- Ramain P., Heitzler P., Haenlin M. et al. *pannier*, a negative regulator of *achaete* and *scute* in *Drosophila*, encodes a zinc finger protein with homology to the vertebrate transcription factor GATA-1 // *Development.* 1993. V. 119. P. 1277–1291.
- Ramain P., Khechumian R., Khechumian K. et al. Interactions between chip and the *achaete/scute*-daughterless heterodimers are required for *pannier*-driven proneural patterning // *Mol. Cell.* 2000. V. 6. P. 781–790.

- Reeves N., Posakony J.W. Genetic programs activated by proneural proteins in the developing *Drosophila* PNS // *Dev. Cell*. 2005. V. 8. P. 413–425.
- Rodríguez I., Hernández R., Modolell J. et al. Competence to develop sensory organs is temporally and spatially regulated in *Drosophila* epidermal primordium // *EMBO J*. 1990. V. 9. P. 3583–3592.
- Romani S., Campuzano S., Macagno E.R. et al. Expression of *achaete* and *scute* genes in *Drosophila* imaginal discs and their function in sensory organ development // *Genes Dev*. 1989. V. 3. P. 997–1007.
- Ruiz-Gomez M., Ghysen A. The expression and role of a proneural gene, *achaete*, in the development of the larval nervous system of *Drosophila* // *The EMBO J*. 1993. V. 12. P. 1121–1130.
- Ruiz-Gomez M., Modolell J. Deletion analysis of the *achaete-scute* locus of *Drosophila melanogaster* // *Genes Dev*. 1987. V. 1. P. 1238–1246.
- Sato M., Kojima T., Michiue T. et al. *Bar* homeobox genes are latitudinal prepatterning genes in the developing *Drosophila* notum whose expression is regulated by the concerted functions of *decapentaplegic* and *wingless* // *Development*. 1999. V. 126. P. 1457–1466.
- Sato M., Saigo K. Involvement of *pannier* and *u-shaped* in regulation of decapentaplegic-dependent *wingless* expression in developing *Drosophila* notum // *Mech. Dev*. 2000. V. 93. P. 127–138.
- Shilo B.Z. Signaling by the *Drosophila* epidermal growth factor receptor pathway during development // *Exp. Cell Res*. 2003. V. 284. P. 140–149.
- Skeath J.B., Carroll S.B. Regulation of *achaete-scute* gene expression and sensory organ pattern formation in the *Drosophila* wing // *Genes Dev*. 1991. V. 5. P. 984–995.
- Stern C. Two or three bristles // *Am. Sci*. 1954. V. 42. P. 213–247.
- Stern M.D., Aihara H., Roccaro G.A. et al. CtBP is required for proper development of peripheral nervous system in *Drosophila* // *Mech. Dev*. 2009. V. 126. P. 68–79.
- Sweetman D., Münsterberg A. The vertebrate *spalt* genes in development and disease // *Dev. Biol*. 2006. V. 293. P. 285–293.
- Torres M., Sanchez L. The *scute* (T4) gene act as a numerator element of the X:A signal that determines the state of activity of *Sex-lethal* in *Drosophila* // *The EMBO J*. 1989. V. 8. P. 3079–3086.
- Tsai S.F., Strauss E., Orkin S.H. Functional analysis and in vivo footprinting implicate the erythroid transcription factor GATA-1 as a positive regulator of its own promoter // *Genes Dev*. 1991. V. 5. P. 919–931.
- Van Doren M., Bailey A.M., Esnayra J. et al. Negative regulation of proneural gene activity: *hairy* is a direct transcriptional repressor of *achaete* // *Genes Dev*. 1994. V. 8. P. 2729–2742.
- van Meyel D.J., O'Keefe D.D., Jurata L.W. et al. Chip and apterous physically interact to form a functional complex during *Drosophila* development // *Mol. Cell*. 1999. V. 4. P. 259–265.
- Vanolst L., Fromental-Ramain C., Ramain P. Toutatis, a TIP5-related protein, positively regulates Pannier function during *Drosophila* neural development // *Development*. 2005. V. 132. P. 4327–4338.
- Yang M., Hatton-Ellis E., Simpson P. The kinase Sgg modulates temporal development of macrochaetes in *Drosophila* by phosphorylation of Scute and Pannier // *Development*. 2012. V. 139. P. 325–334.
- Zecca M., Basler K., Struhl G. Sequential organizing activities of *engrailed*, *hedgehog* and *decapentaplegic* in the *Drosophila* wing // *Development*. 1995. V. 121. P. 2265–2278.

The Mechanisms Determining Bristle Pattern in *Drosophila melanogaster*

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

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

^b Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk 630090, Russia
e-mail: bukharina@bionet.nsc.ru

Macrochaetes (large bristles) are arranged on the *drosophila* head and notum in a specific bristle pattern. The number and positions of the macrochaetes forming the pattern are important species-specific characteristics, which are determined by a strict positioning of the proneural clusters in the in the imaginal disc ectoderm in the third instar larvae and prepupae. In turn, the positioning of proneural clusters depends on the distribution of the so-called prepatterning factors, responsible for the bristle prepatterning. The current concept identifies the prepatterning factors with the transcription factors that initiate the local expression of the *achaete-scute* complex (*AS-C*) genes. Expression of these genes confined to certain regions of the ectoderm is the particular factor that determines the macrochaete pattern on the adult fly body. The review considers and systematizes the data on establishment of the prepatterning as the final stage in the functioning of hierarchically organized molecular genetic system resulting in the local expression of *AS-C* genes in the ectoderm of imaginal discs.

Keywords: *drosophila*, macrochaetes, prepatterning, morphogenesis