

УДК 575.16

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СЕТИ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ ЗИГОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ В РАННЕМ ЭМБРИОНЕ ДРОЗОФИЛЫ

© 2016 г. С. Ю. Суркова¹, Е. В. Голубкова², Л. А. Мамон², М. Г. Самсонова¹

¹Санкт-Петербургский политехнический университет,
лаборатория “Математическая биология и биоинформатика”
195251 Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29

²Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

E-mail: surkova.spb@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2015 г.

Окончательный вариант получен 12.01.2016 г.

В обзоре рассматриваются работы последних лет, расширяющие представления об установлении позиционной информации в раннем эмбриогенезе *Drosophila melanogaster*. Предыдущие исследования показали, что в процессе детерминации сегментов у дрозофилы информация, создаваемая градиентами продуктов материнских координатных генов, не “считывается” статически, а интерпретируется их зиготическими генами-мишенями посредством регуляторных взаимодействий. Это приводит к пространственным сдвигам областей экспрессии генов-мишеней относительно исходных позиций, а также к динамическому снижению варибельности зиготической экспрессии. Однако, согласно новейшим данным, интерпретация позиционной информации включает взаимодействия не только между зиготическими генами-мишенями, но и между самими материнскими координатными генами. При этом, между собой могут взаимодействовать разные системы материнских координатных генов (материнские системы): anteriorno-posteriorная, терминальная и dorso-ventральная. Как правило, это выражается в регуляции зиготических генов-мишеней одной материнской системы другими материнскими системами. Для обозначения взаимодействия материнских систем при детерминации пространственной экспрессии генов в раннем эмбрионе дрозофилы было введено понятие “морфогенетическая сеть”.

Ключевые слова: материнские градиенты, позиционная информация, морфогенез, эмбрион дрозофилы, сегментация, Bicoid, Torso.

DOI: 10.7868/S0475145016040091

ВВЕДЕНИЕ

На ранних стадиях эмбрионального развития многоклеточных организмов отдельные клетки получают информацию о своем положении в эмбрионе путем интерпретации концентраций транскрипционных факторов или сигнальных молекул, формирующих морфогенетический градиент (Gurdon, Bourillot, 2001; Tabata, Takei, 2004). Существуют две основные концепции относительно характера интерпретации таких градиентов генами-мишенями (Liu et al., 2013). Первая базируется на классической “модели французского флага” Льюиса Вольперта (Wolpert, 1969), и предполагает, что пороговые концентрации морфогенетических градиентов предоставляют всю необходимую пространственную информацию для экспрессии генов-мишеней и, в дальнейшем, для формирования соответствующей структуры развивающегося организма. В соответ-

ствии со второй концепцией, градиенты выполняют только инструктирующую роль, и создаваемая ими позиционная информация в дальнейшем существенно уточняется посредством кросс-регуляции в сетях генов-мишеней.

Эмбрион *Drosophila melanogaster* является исключительно удобным модельным объектом для изучения действия материнских градиентов. В раннем эмбрионе пространственные координаты устанавливаются системами материнских координатных генов (материнскими системами), действующими вдоль anteriorno-posteriorной (А-П) и dorso-ventральной (Д-В) осей эмбриона. Информация, заданная этими системами, впоследствии интерпретируется зиготическими генами. Материнские системы, действующие вдоль оси А-П, подразделяются на anteriorno-posteriorную и терминальную.

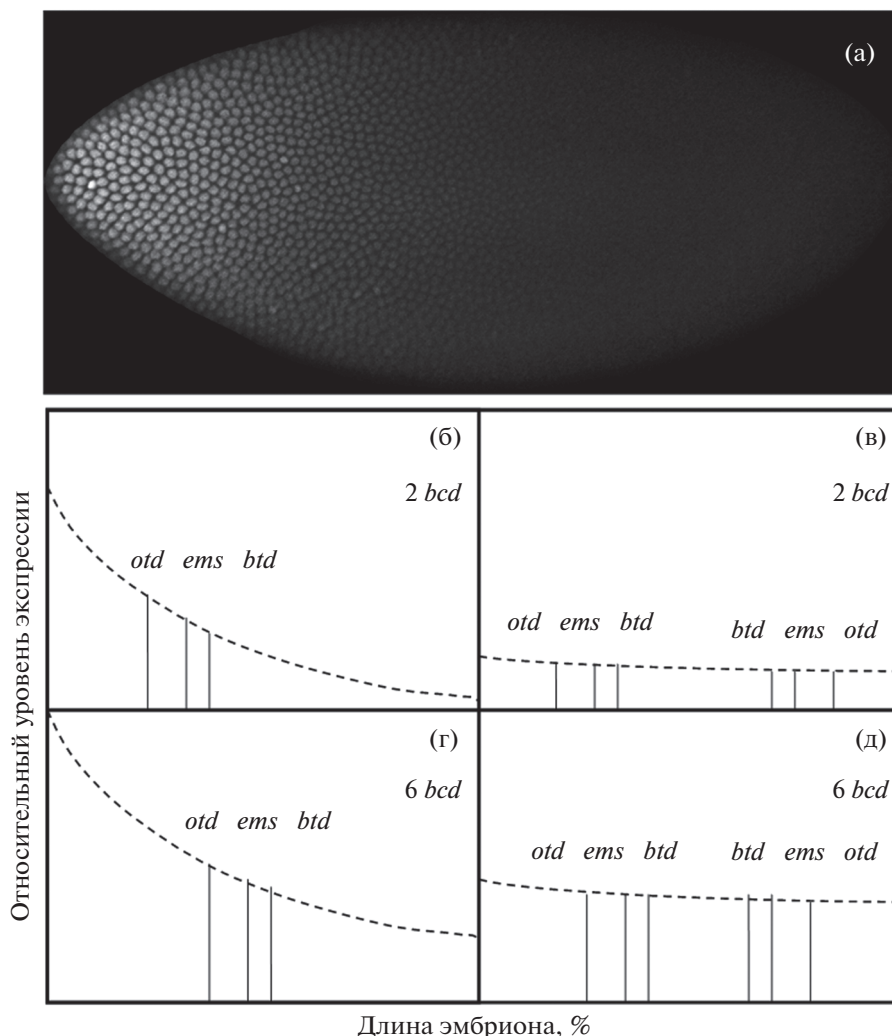


Рис. 1. Влияние изменения концентрации Bcd на установление границ экспрессии генов-мишеней у *Drosophila melanogaster*. а – Изображение картины экспрессии *bcd* в эмбрионе дикого типа из базы данных FlyEx (<http://urchin.spbcas.ru/flyex/>) (Pisarev et al., 2009). Схематически показаны взаимное расположение и А-П позиции границ экспрессии антериорных генов-мишеней Bcd, таких как *otd*, *ems* и *btd* в эмбрионе дикого типа (б), эмбрионе, несущем 6 копий гена *bcd* (г), в эмбрионе с равномерным распределением белка Bcd (в) и в эмбрионе с равномерным распределением белка Bcd, несущем 6 копий гена *bcd* (д) (Ochoa-Espinosa et al., 2009).

Антериорная материнская система представлена градиентом концентрации транскрипционного фактора Bicoid (Bcd), имеющим максимум на антериорном полюсе эмбриона, где локализуется мРНК *bcd* (Frohnhofer, Nusslein-Volhard, 1986; Driever, Nusslein-Volhard, 1988a). Белок Bcd распространяется почти вдоль всей А-П оси и влияет на пространственную экспрессию многочисленных генов-мишеней (рис. 1а). При этом Bcd имеет свойства классического морфогена – области экспрессии зиготических генов-мишеней Bcd смещаются вдоль А-П оси в зависимости от дозы *bcd* в эмбрионе. При увеличении дозы *bcd* картины экспрессии генов-мишеней смещаются в постериорном направлении, а при ее уменьшении – в антериорном (Driever, Nusslein-Volhard, 1988b; Namba et al., 1997). Таким образом, можно

говорить о том, что позиции этих областей зависят от пороговых уровней концентрации Bcd. Льюис Вольперт в свое время использовал это свойство градиента Bcd в качестве иллюстрации модели французского флага. Однако более поздние результаты внесли изменения в эту модель и показали, что считывание зиготическими генами-мишенями позиционной информации, заложенной в градиенте Bcd, не является пассивным, а требует взаимодействий между этими генами-мишенями. Было выявлено, что после инициализации областей экспрессии зиготических генов *gar* и *pair-rule* происходит уточнение их А-П позиций, выражающееся в сдвигах и сужении областей экспрессии этих генов, а также снижении их пространственной вариабельности со временем. Эксперименты *in silico* показали, что в сети взаи-

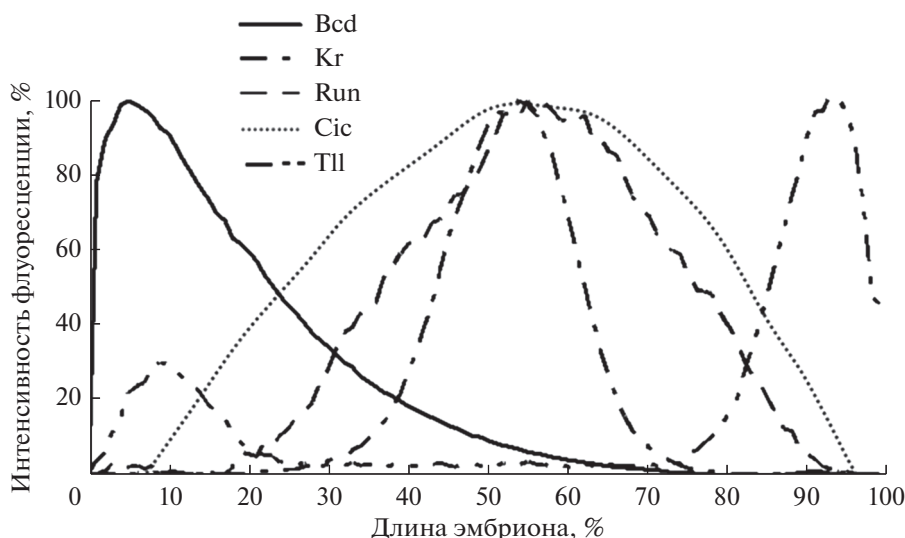


Рис. 2. Репрессоры, устанавливающие границы генов-мишеней *Bcd* у *Drosophila melanogaster*. Представлены усредненные картины экспрессии *bcd*, *run* и *Kr* для начала цикла 14А (временной класс 1) из базы данных FlyEx (Pisarev et al., 2009). Область экспрессии *cic* представлена схематически в соответствии с данными Chen et al. (2012). Также показана экспрессия терминального гена *gap ill* на полюсах эмбриона. Ген *hkb* экспрессируется аналогичным образом. В центре эмбриона экспрессия *ill* и *hkb* репрессируется *Cic*.

модействий генов *gap* такие процессы обусловлены взаимной регуляцией между этими генами (Jaeger et al., 2004a; Суркова и др., 2008, 2011; Surkova et al., 2008; Manu et al., 2009).

Постериорная материнская система в эмбрионе дрозофилы представлена белком Nanos (Nos), функция которого заключается в формировании А-П градиента материнского транскрипционного фактора Hunchback (Hb), который совместно с *Bcd* участвует в установлении границ экспрессии абдоминальных генов *gap* (Lehmann, Akam, 1989; Yu, Small 2008; Porcher et al., 2010; Jaeger 2011). Терминальная система ответственна за формирование терминальных структур эмбриона — акрона и тельсона. Она представляет собой сигнальный путь, ключевым компонентом которого является тирозин-киназный рецептор Torso (Tor) (Weigel et al., 1990). Тор активирует экспрессию зиготических генов на полюсах эмбриона при помощи непрямого механизма, основанного на репрессии репрессоров. В частности, активность равномерно распределенного материнского репрессора *Capicua* (*Cic*) остается максимальной в центре эмбриона, позволяя терминальным генам, таким как *tailless* (*ill*) и *huckebein* (*hkb*) экспрессироваться на полюсах (рис. 2) (Jimenez et al., 2000).

Формирование пространственной экспрессии зиготических генов вдоль Д-В оси эмбриона дрозофилы зависит от градиента *Dorsal* (Dl), который является транскрипционным фактором и регулирует более 50-ти генов-мишеней (Stathopoulos, Levine, 2002).

Как было показано на примере *Bcd*, материнские градиенты имеют скорее инструктирующую,

чем определяющую роль в формировании пространственной экспрессии генов-мишеней, которая в дальнейшем уточняется путем взаимодействий в сетях зиготических генов. Тем не менее, в ряде исследований были получены результаты, указывающие на то, что в эмбрионе происходят взаимодействия между самими материнскими системами.

Например, показано, что материнская терминальная система (Тог) совместно с *Bcd* отвечает за формирование картин экспрессии генов в головной области эмбриона. При этом взаимодействие *Bcd* и Тог может быть как синергичным, так и антагонистическим. Каскад Тог и градиент *Bcd* могут независимо активировать экспрессию таких терминальных генов, как *hkb*. Интересно, что эта функция Тог может быть избыточной, т.к. дефекты головы, наблюдаемые у нуль-мутантов по *tor*, могут быть восстановлены при высоких концентрациях *Bcd* (Schaeffer et al., 2000). Помимо этого, существует гипотеза, что активность Тог фосфорилирует *Bcd* (Ronchi et al., 1993), усиливая его морфогенетическую функцию вдоль А-П оси (Gao et al., 1996; Janody et al., 2000). В то же время, на anteriорном конце эмбриона Тог может иметь негативное влияние на *Bcd*, и это приводит к репрессии таких генов как *hb* и *orthodenticle* (*otd*) (Ronchi et al., 1993; Bellaïche et al., 1996).

В данном обзоре представлены работы последних лет, в которых исследованы механизмы, лежащие в основе взаимодействия между разными материнскими системами в раннем эмбрионе дрозофилы. Для обозначения взаимодействия материнских систем при детерминации про-

пространственной экспрессии зиготических генов введено понятие “морфогенетическая сеть” (Lohr et al., 2009, 2010). Очевидно, что действие морфогенетической сети как механизма интерпретации пространственной информации подлежит дальнейшему изучению.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ VCD И ТЕРМИНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НЕОБХОДИМО ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В АНТЕРИОРНОЙ ОБЛАСТИ

В 2009 году двумя группами исследователей были опубликованы результаты экспериментов, которые, во-первых, во многом прояснили роль Vcd как морфогена, а во-вторых, раскрыли механизмы его взаимодействия с генами терминальной системы (Ochoa-Espinosa et al., 2009; Lohr et al., 2009). Суть экспериментов заключается в том, что были созданы эмбрионы, у которых белок Vcd распределяется практически равномерно по оси А-П, не образуя градиента концентрации (Ochoa-Espinosa et al., 2009). Таким образом, модель французского флага, где пороговые концентрации морфогенетического градиента определяют позиции областей экспрессии генов-мишеней, в данной экспериментальной системе не работает.

Это позволяло проверить, действительно ли экспрессия генов-мишеней Vcd строго зависима от пороговых концентраций градиента, а также, является ли Vcd единственным морфогеном, функционирующим в антериорной области. В случае если изначальные А-П позиции генов-мишеней Vcd определяются исключительно пороговыми концентрациями, то у эмбрионов с равномерным распределением белка Vcd отсутствовала бы четкая локализация областей экспрессии генов-мишеней, а также изменилось бы их взаимное расположение.

Эксперименты дали неожиданные результаты — у эмбрионов с равномерным распределением белка Vcd антериорные гены-мишени Vcd, такие, как *otd*, *empty spiracles (ems)* и *buttonhead (btd)*, формируют пространственно четкие области экспрессии, а самое главное, сохраняют их взаимное расположение вдоль А-П оси (рис. 1б, 1в) (Ochoa-Espinosa et al., 2009).

При увеличении дозы Vcd в три раза границы экспрессии генов-мишеней сдвигаются к центру эмбриона, но остаются такими же четкими (рис. 1г, 1д). Это говорит о том, что чувствительность регуляторных элементов к различным концентрациям Vcd не является главным механизмом, обеспечивающим порядок установления границ экспрессии генов-мишеней вдоль А-П оси (Ochoa-Espinosa et al., 2009).

Кроме того, важным результатом является то, что у эмбрионов с равномерным распределением

Vcd антериорная экспрессия генов-мишеней дублирована в зеркальном отображении в постериорной части эмбриона (рис. 1в, 1д) (Ochoa-Espinosa et al., 2009). В связи с этим авторами было выдвинуто предположение, что экспрессия этих генов может зависеть от терминальной системы, что согласуется с результатами предыдущих работ (Wimmer et al., 1995; Gao et al., 1996).

Исследование механизма влияния терминальной системы на позиционирование генов-мишеней Vcd было проведено в работе Lohr et al. (2009). В системе UASp/Gal4 с равномерным распределением белка Vcd рассматривали влияние мутаций в генах терминальной системы на позиционирование генов-мишеней Vcd.

Репрессор материнского происхождения Ctc регулируется сигнальным каскадом Ttg таким образом, что высокая концентрация Ctc сохраняется в центре эмбриона, но убывает к полюсам (рис. 2). Выявлено, что позиции головных областей экспрессии генов-мишеней Vcd (*giant (gt)*, *hkb*, *knirps (kni)*, *otd*, *slp2*, *ems*, *cap-n-collar (cnc)*) зависят от активности Ctc (Lohr et al., 2009). Ctc может осуществлять репрессию посредством определенных сайтов связывания в энхансере, зависящем от Vcd, и является антагонистом активации генов, осуществляемой Vcd.

Однако действие Ctc ограничивается антериорной областью, а в постериорной половине эмбриона (60–100% длины эмбриона) границы областей экспрессии генов-мишеней Vcd, предположительно устанавливают другие гены, зависящие от Ttg.

Эксперименты с равномерным распределением белка Vcd также показали, что в антериорной области концентрация Vcd в эмбрионе выше, чем необходимо для активации генов-мишеней (Ochoa-Espinosa et al., 2009). Т.к. антериорная экспрессия таких генов, как *cnc* и *gt* в отсутствие Ctc распространяется более постериорно (рис. 3), предложена гипотеза, что в передней части эмбриона Vcd активирует гены-мишени в виде широких областей, которые затем уточняются Ctc и другими репрессорами (Lohr et al., 2009).

СИСТЕМА РЕПРЕССОРОВ, УСТАНОВЛИВАЮЩИХ ГРАНИЦЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ VCD

Приведенный выше результат, показавший, что экспрессия генов-мишеней Vcd может активироваться намного меньшими его концентрациями, чем те, что присутствуют в эмбрионе дикого типа (Ochoa-Espinosa et al., 2009), позволил предположить, что существует целая система репрессоров, устанавливающих границы экспрессии генов-мишеней Vcd (Chen et al., 2012). Помимо компонента терминальной системы, материнского репрессора Ctc, на эту роль претендует ген

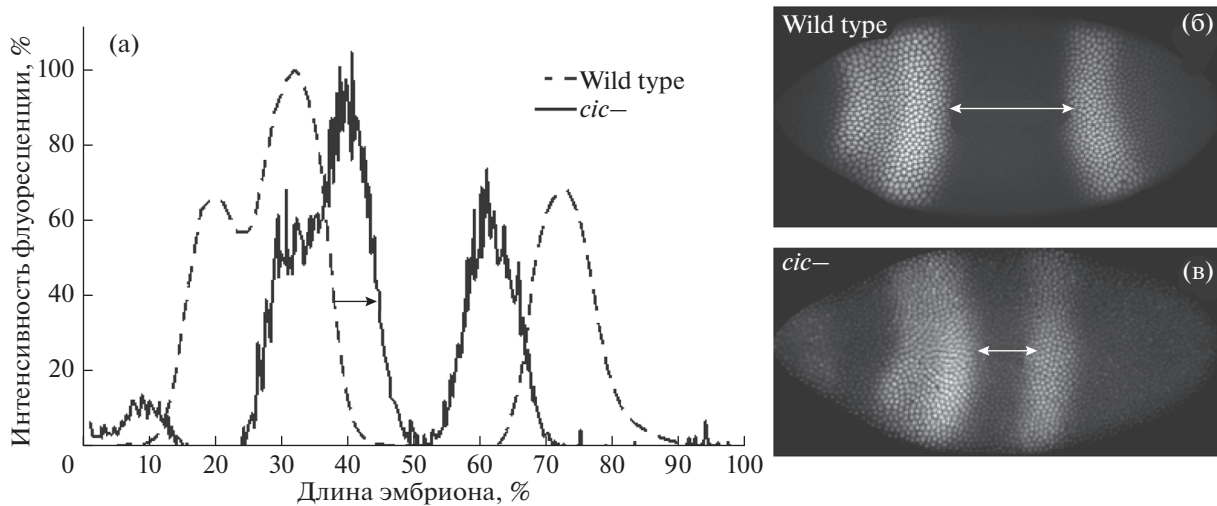


Рис. 3. Существенное смещение областей экспрессии *gt*, являющегося геном-мишенью *Vcd*, у нуль-мутантов по материнскому терминальному гену *cic*. Показаны количественные данные (а) и изображения картин экспрессии (б) гена *gt* у эмбрионов дикого типа из базы данных FlyEx (Pisarev et al., 2009) и нуль-мутантов по материнскому репрессору *cic* (данные получены авторами обзора) для временного класса 6 цикла 14А (а, в). Черной стрелкой на рисунке (а) обозначено смещение anteriорной экспрессии *gt* у эмбрионов *cic*– по сравнению с эмбрионами дикого типа (wild type), а белыми стрелками на рисунках (б) и (в) показано уменьшение расстояния между anteriорной и постериорной областями экспрессии *gt* у эмбрионов *cic*–.

гар – *Krüppel* (*Kr*), как устанавливающий границы anteriорных полос генов pair-rule – *even skipped* (*eve*) и *sloppy paired 1* (*slp1*) (Andrioli et al., 2004; Small et al., 1991; Stanojevic et al., 1991). Другим возможным кандидатом на роль антагониста *Vcd* мог стать ген pair-rule – *runt* (*run*). Ранее было выявлено, что *run* имеет свойства гена гар. Эктопическая экспрессия *run* во всем эмбрионе меняла характер экспрессии абдоминальных и головных генов гар (Tsai, Gergen, 1994).

Важно отметить, что в раннем эмбрионе *Kr* и *run*, аналогично *cic*, экспрессируются в виде широких областей с максимумом в центре и убыванием на полюсах эмбриона (рис. 2).

В работе Chen et al. (2012) были проанализированы 66 регуляторных элементов, зависимых от *Vcd*, и показано, что действительно границы их экспрессии позиционируются градиентами репрессоров, направленных противоположно градиенту *Vcd*. При этом представлены экспериментальные свидетельства, что *Run* играет важнейшую роль и функционирует совместно с *Cic* и *Kr*.

К примеру, границы головных областей экспрессии генов-мишеней *Vcd*, таких как *otd*, *slp1* и *gt* у одиночных мутантов по *cic* или *run* существенно смещаются в постериорном направлении (рис. 3), однако порядок их взаимного расположения не меняется. Напротив, у двойных мутантов *run; cic* все три границы экспрессии сливаются, что приводит к радикальным дефектам формирования головы. Т.к. у этих двойных мутантов градиент *Vcd* не изменен, это служит доказательством необходимости совместного действия репрессоров

для правильного позиционирования границ экспрессии, зависимых от *Vcd* (Chen et al., 2012). Интересно, что репрессоры, устанавливающие границы генов-мишеней *Vcd*, представлены разными классами генов: материнским терминальным геном *cic* и двумя зиготическими А-П генами *Kr* и *run*, принадлежащими к разным классам гар и pair-rule соответственно.

ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ СДВИГИ ОБЛАСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ У ЭМБРИОНОВ С ИЗМЕНЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ *VCD* ЗАВИСЯТ ОТ ТЕРМИНАЛЬНОЙ И ПОСТЕРИОРНОЙ СИСТЕМ

Как уже упоминалось ранее, классическим доказательством морфогенетической роли градиента *Vcd* служит смещение картин экспрессии генов-мишеней в зависимости от дозы *bcd* в эмбрионе. При увеличении дозы *bcd*, головная борозда смещается в постериорную область и область сегментированной зародышевой полоски сужается, т.к. в наибольшей степени сдвигаются anteriорные области экспрессии генов-мишеней в районе с наибольшей концентрацией *Vcd*. Соответственно, при уменьшении дозы *bcd* области экспрессии генов-мишеней смещаются anteriорно и область сегментированной зародышевой полоски расширяется (Driever, Nusslein-Volhard, 1988b; Namba et al., 1997).

В работе Liu et al. (2013) исследовалась динамика смещения паттерна не в соответствии с числом копий *bcd* в материнском геноме, а непосред-

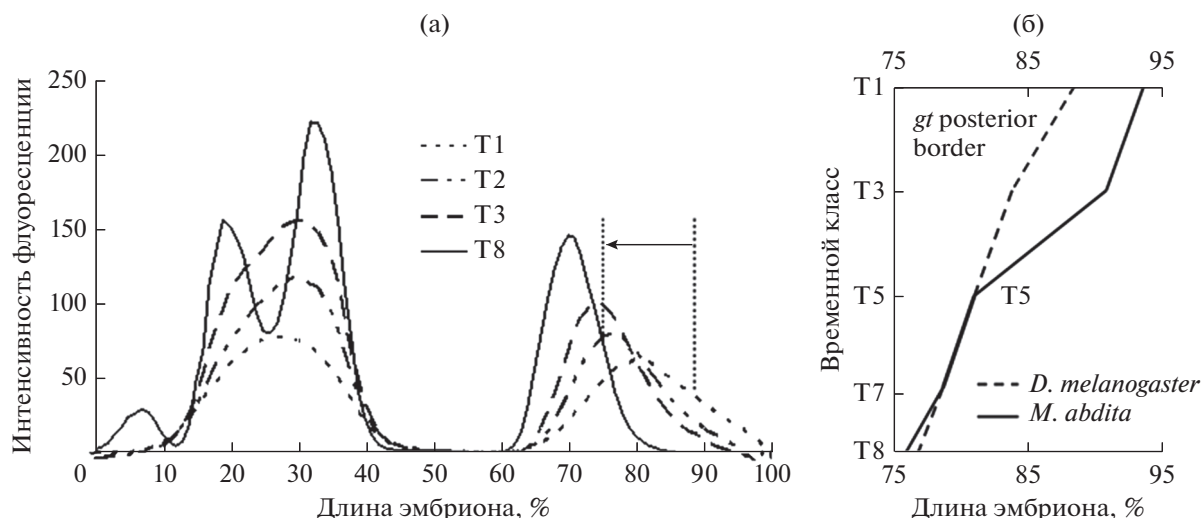


Рис. 4. Динамическое смещение постериорной области экспрессии *gt* в ходе развития у *D. melanogaster* и *M. abdita*. (а) Стрелкой показан пространственный сдвиг постериорной области экспрессии *gt* у *D. melanogaster* в ходе цикла 14А у эмбрионов дикого типа из базы данных FlyEx (Pisarev et al., 2009). (б) Задняя граница постериорной области экспрессии *gt* у *M. abdita* в начале цикла 14А расположена существенно ближе к постериорному полюсу эмбриона, чем у *D. melanogaster*. Однако к временному классу 5 (Т5) позиции этой границы у двух видов совпадают за счет более сильного сдвига области экспрессии *gt* у *M. abdita* (показано схематически по Wotton et al., 2015a).

ственно в зависимости от концентрации Vcd. Для этого были созданы трансгенные линии мух с различными абсолютными уровнями экспрессии *bcd* (Liu et al., 2013). Результаты показали, что в раннем эмбрионе А-П позиции генов-мишеней смещаются в точном соответствии со степенью изменения концентрации Vcd, однако позже система частично адаптируется к измененному уровню Vcd и области экспрессии генов-мишеней смещаются обратно, в направлении своих позиций в эмбрионе дикого типа. Таким образом, в эмбрионе за счет каких-то регуляторных механизмов происходит компенсация действия повышенной концентрации Vcd.

Оказалось, что этот эффект не наблюдается, если аналогичные измерения проводить в эмбрионах с измененными уровнями Vcd, но при этом мутантных по другим материнским факторам *torso-like* (*tsl*) и *nos*. Ген *tsl* является компонентом терминальной системы и ответственен за активацию рецептора Tor, отключение *tsl* блокирует функцию Tor. Таким образом, в данном случае динамика позиционирования генов-мишеней Vcd зависит от действия генов, представляющих постериорную и терминальную материнские системы. Интересно, что интеграция взаимодействий этих систем не достигается изначально, во время формирования границ областей экспрессии зиготических генов под действием материнских факторов, а происходит в ходе развития эмбриона.

В более ранних исследованиях было выявлено, что у эмбрионов дикого типа в постериорной части эмбриона области экспрессии генов *gar* и

pair-rule динамически сдвигаются после изначального установления их позиций материнскими градиентами (рис. 4а, Jaeger et al., 2004a; Surkova et al., 2008). Эти динамические сдвиги обусловлены асимметричной репрессией между самими зиготическими генами, а именно, гены, экспрессирующиеся более постериорно, репрессируют гены, экспрессирующиеся более антериорно — но не наоборот (Jaeger et al., 2004a, 2004b).

Как видно из результатов исследований Liu et al. (2013), позиционная динамика экспрессии генов-мишеней Vcd может также зависеть и от других материнских факторов.

БОЛЕЕ ВЫСОКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МОРФОГЕНА ТРЕБУЮТ БОЛЕЕ ИНТЕНСИВНОЙ ИНТЕРПРЕТАЦИИ

С эволюционной точки зрения было бы важно узнать механизмы интерпретации действия антериорных морфогенов у других насекомых. Vcd является уникальным для отряда двукрылых и помимо дрозофилы в последние годы его роль в развитии изучали у более примитивной, чем дрозофила, мухи-фориды *Megaselia abdita*. Характерной чертой установления позиционной информации у *M. abdita* является намного больший уровень градиента Vcd, чем у дрозофилы. Градиент Vcd в эмбрионах дикого типа *Megaselia* по интенсивности сходен с таковым у эмбрионов дрозофилы с увеличенным числом копий *bcd* в геноме. Потеря функции *bcd* приводит не только к отсутствию головных и торакальных структур, как это наблюдается у дрозофилы, но помимо

этого еще и к делеции от трех до четырех абдоминальных сегментов (Stauber et al., 2000).

В недавней работе Воттона и др. (Wotton et al., 2015a) рассмотрена интерпретация позиционной информации в раннем эмбрионе *M. abdita* на уровне зиготических генов *gap*. Повышенный уровень *Vcd* закономерно приводит к смещению картин экспрессии генов-мишеней в постериорную область по сравнению с их А-П позициями в эмбрионе дрозофилы (рис. 4б). Как уже было описано выше, в процессе развития эмбриона дрозофилы области экспрессии генов *gap* сдвигаются в anteriорном направлении, что обусловлено взаимной репрессией, существующей между этими генами (рис. 4а, Jaeger et al., 2004a, 2004b; Surkova et al., 2008). Интересно, что у *M. abdita* эти сдвиги проявляются гораздо сильнее и, в результате, постериорные границы областей экспрессии абдоминальных генов *gap* со временем приходят к тем же пространственным координатам, что и у *D. melanogaster* (рис. 4). Однако, в случае *M. abdita*, это требует более сильной репрессии при взаимодействиях между генами *gap* (Wotton et al., 2015a).

Если даже у дрозофилы уровень *Vcd* превосходит необходимый для активации генов-мишеней, то у *M. abdita* концентрация *Vcd* изначально существенно завышена. Вероятно, это объясняется отсутствием материнского градиента *Cad* в постериорной области, и, в результате, anteriорный морфоген должен брать на себя функцию активатора зиготической экспрессии в постериорной области эмбриона (Wotton et al., 2015b).

Детальный анализ всех материнских факторов, участвующих в установлении позиционной информации у *M. abdita*, пока не осуществлялся. Однако было бы интересно узнать механизмы установления пространственной экспрессии anteriорных генов-мишеней *Vcd* (например, приведенных на рис. 1б для *D. melanogaster*) при столь высоком уровне его концентрации.

ТЕРМИНАЛЬНАЯ СИСТЕМА УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ ДОРСО-ВЕНТРАЛЬНОГО ПАТТЕРНА

Важно отметить, что взаимодействия материнских систем выявлены не только вдоль А-П оси эмбриона. Например, в работе Helman et al. (2012) описан механизм взаимодействия сигнального каскада *Tog* с градиентом *Dorsal* (DI), который определяет формирование пространственной экспрессии генов вдоль Д-В оси. DI является транскрипционным фактором. В зависимости от уровня DI эмбрион разделяется на три зародышевых слоя — мезодерму, нейроэктодерму и дорсальную эктодерму (Reeves, Stathopoulos, 2009). Ранее было выявлено, что активность *Tog* контролирует экспрессию генов-мишеней DI на полю-

сах эмбриона (Rush, Levine, 1994). Новейшие исследования показывают, что сигнальный путь *Tog* оказывает влияние и на сам градиент DI. Выключая действие репрессоров *Cic* и *Gro*, *Tog* индуцирует экспрессию гена *wnt inhibitor of Dorsal* (*wntD*), который принадлежит к семейству сигнальных факторов *Wingless/Wnt*. Последний репрессирует градиент DI в ядрах и экспрессию его генов-мишеней на полюсах эмбриона (Helman et al., 2012).

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК КАК КОМПОНЕНТЫ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ СЕТЕЙ

Недавние исследования показывают, что микроРНК представляют собой важную составляющую регуляторных сетей, контролирующих экспрессию генов. Было выявлено, что в раннем эмбрионе дрозофилы транскрипционные факторы взаимодействуют с микроРНК, причем, экспрессия микроРНК регулируется посредством тканеспецифичных энхансеров, аналогичных таковым у генов, кодирующих белки (Viemar et al., 2005). Показано, что РНК-предшественник кластера *miR-309* активируется транскрипционным фактором *Zelda* (*Zld*; *Zink-finger early Drosophila activator*) (Liang et al., 2008; Fu et al., 2014). Несмотря на то, что *Zld* экспрессируется равномерно во всем эмбрионе, активируемый им транскрипт *miR-309* имеет неравномерный характер экспрессии вдоль А-П оси эмбриона. Выявлено, что *Vcd*, как и *Zelda*, оказывают регуляторное влияние на энхансер *miR-309*. Предполагается, что вначале *miR-309* активируется *Zld*, но в дальнейшем требуется регуляция со стороны других факторов, зависящих от *Vcd* (Fu et al., 2014). Помимо этого, высказано предположение, что в терминальных областях эмбриона *miR309* регулируется терминальной системой, а именно, геном *hkb*, зиготической мишенью каскада *Tog* (Viemar et al., 2005, рис. 2). Таким образом, результаты указывают на то, что в регуляции микроРНК могут быть задействованы компоненты разных материнских систем, действующих в раннем эмбриогенезе дрозофилы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре рассмотрены результаты исследований, показывающие роль взаимодействий материнских систем в установлении позиционной информации в эмбриогенезе модельного объекта — плодовой мушки дрозофилы.

В раннем эмбрионе дрозофилы основным морфогеном является *Vcd*, anteriорный градиент, распространяющийся практически вдоль всей А-П оси эмбриона. Приведены доказательства в пользу того, что для точного установления позиций генов-мишеней *Vcd* требуется действие дополнительных регуляторов. Возникает вопрос —

все ли морфогенетические градиенты требуют дополнительных механизмов интерпретации? В работе Chen et al. (2012) высказана идея о том, что это может зависеть от количества границ областей экспрессии генов-мишеней, которое устанавливает градиент. К примеру, показано, что внеклеточный сигнальный белок activin активирует гены-мишени в зависимости от своей концентрации в изолированных анимальных частях эмбрионов лягушки (Gurdon et al., 1998). В то же время, в имагинальном диске крыла у дрозофилы сигнал Decapentaplegic (Dpp) образует градиент активности, который в дальнейшем уточняется путем взаимодействий со многими внеклеточными факторами (Affolter, Basler, 2007).

Приведенные в данном обзоре результаты, описывающие особенности формирования картины экспрессии генов в эмбриогенезе мухи-фориды *Megaselia* указывают на то, что более интенсивная интерпретация материнского градиента может требоваться в случае избыточности его концентрации при том же самом количестве границ генов-мишеней.

Исследования механизмов установления позиционной информации у различных насекомых еще не проводились полномасштабно на уровне генных сетей, однако в целом результаты указывают на сохранение важной роли антериорного морфогена в эволюции. При этом стоит отметить, что выявлена консервативность функции антериорного морфогена при отсутствии его консервативности на молекулярном уровне. Например, у насекомого, представляющего переход от типа развития с короткой зародышевой полоской к развитию с длинной зародышевой полоской *Nasonia*, роль Vcd выполняет *otd*, ортолог головного гена *gar* двукрылых (Rosenberg et al., 2009). Гомодомен *Otd* способен присоединяться к той же последовательности, что и *Vcd* (Treisman, 1989; Weisbrod et al., 2013). Интересно, что у дрозофилы *otd* как раз является геном-мишенью *Vcd*, что описано в данном обзоре. В то же время, у комара *Chironomus riparius* роль антериорного морфогена выполняет продукт гена *panish*, имеющий другой тип ДНК-связывающего домена чем *Vcd*, так называемый C-clamp домен (Klomp et al., 2015).

Помимо этого, данные, приведенные в обзоре, подчеркивают роль терминальной системы в установлении пространственной информации в эмбрионе дрозофилы. Терминальные гены взаимодействуют как с антериорно-постериорной, так и дорсо-вентральной материнскими системами, кроме того, участвуют в регуляции микроРНК. Это может быть следствием важной роли, которую терминальная система, предположительно, играла в эволюции, координируя постериорную зону роста у насекомых с короткой зародышевой полоской (Weisbrod et al., 2013).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-01522-а, Программы Роснаука (НШ-6455.2010.4, НШ-5345.2012.4 и НШ-5115.2014.4) и Федеральной Целевой Программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (8045). Изображения картин экспрессии генов получены в Центре коллективного пользования оборудованием “Хромас” СПбГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Суркова С.Ю., Мясникова Е.М., Райниц Дж. и др. Динамическая фильтрация варибельности картин экспрессии зиготических генов сегментации у дрозофилы // Биофизика. 2008. Т. 53. № 3. С. 475–481.
- Суркова С.Ю., Гурский В.В., Райниц Дж. и др. Изучение механизмов устойчивости раннего эмбрионального развития плодовой мушки дрозофилы // Онтогенез. 2011. Т. 42. № 1. С. 3–19.
- Affolter M., Basler K. The Decapentaplegic morphogen gradient: from pattern formation to growth regulation // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. P. 663–674.
- Andrioli L.P., Oberstein A.L., Corado M.S. et al. Groucho-dependent repression by *sloppy-paired 1* differentially positions anterior pair-rule stripes in the *Drosophila* embryo // Dev. Biol. 2004. V. 276. P. 541–551.
- Bellaïche Y., Bandyopadhyay R., Desplan C. et al. Neither the homeodomain nor the activation domain of Bicoid is specifically required for its down-regulation by the Torso receptor tyrosine kinase cascade // Development. 1996. V. 122. P. 3499–3508.
- Biemar F., Zinzen R., Ronshaugen M. et al. Spatial regulation of microRNA gene expression in the *Drosophila* embryo // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2005. V. 102. P. 15907–15911.
- Chen H., Xu Z., Mei C. et al. A system of repressor gradients spatially organizes the boundaries of Bicoid-dependent target genes // Cell. 2012. V. 149. P. 618–629.
- Driever W., Nusslein-Volhard C. A gradient of bicoid protein in *Drosophila* embryos // Cell. 1988a. V. 54. P. 83–93.
- Driever W., Nusslein-Volhard C. The Bicoid protein determines position in the *Drosophila* embryo in a concentration-dependent manner // Cell. 1988b. V. 54. P. 95–104.
- Fronhofer H.G., Nusslein-Volhard C. Organisation of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene *bicoid* // Nature. 1986. V. 324. P. 120–125.
- Fu S., Nien C., Liang H. et al. Co-activation of microRNAs by Zeldin is essential for early *Drosophila* development // Development. 2014. V. 141. P. 2108–2118.
- Gao Q., Wang Y., Finkelstein R. Orthodenticle regulation during embryonic head development in *Drosophila* // Mech. Dev. 1996. V. 56. P. 3–15.
- Gurdon J.B., Dyson S., St Johnston D. Cells' perception of position in a concentration gradient // Cell. 1998. V. 95. P. 159–162.
- Gurdon J.B., Bourillot P.Y. Morphogen gradient interpretation // Nature. 2001. V. 413. P. 797–803.
- Helman A., Lim B., Andreu M.J. et al. RTK signaling modulates the Dorsal gradient // Development. 2012. V. 139. № 16. P. 3032–3039.

- Jaeger J., Surkova S., Blagov M. et al. Dynamic control of positional information in the early *Drosophila* embryo // Nature. 2004a. V. 430. P. 368–371.
- Jaeger J., Blagov M., Kosman D. et al. Dynamical analysis of regulatory interactions in the gap gene system of *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2004b. V. 167. P. 1721–1737.
- Jaeger J. The gap gene network // Cell Mol. Life Sci. 2011. V. 68. P. 243–274.
- Janody F., Sturny R., Catala F. et al. Phosphorylation of bicoid on MAP-kinase sites: Contribution to its interaction with the torso pathway // Development. 2000. V. 127. № 2. P. 279–289.
- Jimenez G., Guichet A., Ephrussi A. et al. Relief of gene repression by Torso RTK signaling: Role of *capicua* in *Drosophila* terminal and dorsoventral patterning // Genes Dev. 2000. V. 14. P. 224–231.
- Klomp J., Athy D., Kwan C.W. et al. A cysteine-clamp gene drives embryo polarity in the midge *Chironomus* // Science. 2015. V. 348. № 6238. P. 1040–1042.
- Lehmann I.R., Akam M. The *Drosophila* posterior group gene *nanos* functions by repressing *hunchback* activity // Nature. 1989. V. 338. P. 646–648.
- Liang H., Nien C., Liu H. et al. The zinc-finger protein Zelda is a key activator of the early zygotic genome in *Drosophila* // Nature. 2008. V. 456. P. 400–403.
- Liu F., Morrison A.H., Gregor T. Dynamic interpretation of maternal inputs by the *Drosophila* segmentation gene network // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2013. V. 110. № 17. P. 6724–6729.
- Löhr U., Chung H.R., Beller M. et al. Antagonistic action of Bicoid and the repressor Capicua determines the spatial limits of *Drosophila* head gene expression domains // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2009. V. 106. № 51. P. 21695–21700.
- Löhr U., Chung H.R., Beller M. et al. Bicoid morphogen function revisited // Fly. 2010. V. 4. № 3. P. 236–240.
- Manu Surkova S., Spirov A.V. et al. Canalization of gene expression in the *Drosophila* blastoderm by gap gene cross regulation // PLoS Biology. 2009. V. 7. № 3. P. e1000049.
- Ochoa-Espinosa A., Yu D., Tsirigos A. et al. Anterior-posterior positional information in the absence of a strong Bicoid gradient // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2009. V. 106. № 10. P. 3823–3828.
- Namba R., Pazdera T.M., Cerrone R.L. et al. *Drosophila* embryonic pattern repair: how embryos respond to bicoid dosage alteration // Development. 1997. V. 124. P. 1393–1403.
- Pisarev A., Poustelnikova E., Samsonova M. et al. FlyEx, the quantitative atlas on segmentation gene expression at cellular resolution // Nucl. Acids Res. 2009. V. 37. P. D560–D566.
- Porcher A., Abu-Arish A., Huart S. et al. The time to measure positional information: maternal Hunchback is required for the synchrony of the Bicoid transcriptional response at the onset of zygotic transcription // Development. 2010. V. 137. P. 2795–2804.
- Reeves G.T., Stathopoulos A. Graded dorsal and differential gene regulation in the *Drosophila* embryo // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2009. V. 4. P. a000836.
- Ronchi E., Treisman J., Dostatni N. et al. Downregulation of the *Drosophila* morphogen Bicoid by the Torso receptor-mediated signal transduction cascade // Cell. 1993. V. 74. P. 347–355.
- Rosenberg M.I., Lynch J.A., Desplan C. Heads and tails: evolution of antero-posterior patterning in insects // Biochim. Biophys. Acta. 2009. V. 1789. № 4. P. 333–342.
- Rusch J., Levine M. Regulation of the *dorsal* morphogen by the Toll and *torso* signaling pathways: a receptor tyrosine kinase selectively masks transcriptional repression // Genes Dev. 1994. V. 8. P. 1247–1257.
- Schaeffer V.I., Killian D., Desplan C. et al. High bicoid levels render the terminal system dispensable for *Drosophila* head development // Development. 2000. V. 127. № 18. P. 3993–3999.
- Small S., Kraut R., Hoey T. et al. Transcriptional regulation of a pair-rule stripe in *Drosophila* // Genes Dev. 1991. V. 5. P. 827–839.
- Stanojevic D., Small S., Levine M. Regulation of a segmentation stripe by overlapping activators and repressors in the *Drosophila* embryo // Science. 1991. V. 29. № 254. P. 1385–1387.
- Stathopoulos A., Levine M. Dorsal gradient networks in the *Drosophila* embryo // Dev. Biol. V. 246. P. 57–67.
- Stauber M.I., Taubert H., Schmidt-Ott U. Function of *bicoid* and *hunchback* homologs in the basal cyclorrhaphan fly *Megaselia* (Phoridae) // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2000. V. 97. P. 10844–10849.
- Surkova S., Kosman D., Kozlov K. et al. Characterization of the *Drosophila* segment determination morpheme // Dev. Biol. 2008. V. 313. P. 844–862.
- Tabata T., Takei Y. Morphogens, their identification and regulation // Development. 2004. V. 131. P. 703–712.
- Treisman J., Gönczy P., Vashishtha M. et al. A single amino acid can determine the DNA binding specificity of homeodomain proteins // Cell. 1989. Nov. 3. V. 59 (3). P. 553–562.
- Tsai C., Gergen J.P. Gap gene properties of the pair-rule gene *runt* during *Drosophila* segmentation // Development. 1994. V. 120. P. 1671–1683.
- Weigel D., Jürgens G., Klingler M. et al. Two gap genes mediate maternal terminal pattern information in *Drosophila* // Science. 1990. V. 248. P. 495–498.
- Weisbrod A., Cohen M., Chipman A.D. Evolution of the insect terminal patterning system—insights from the milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* // Dev. Biol. 2013. V. 380. P. 125–131.
- Wimmer E.A., Simpson-Brose M., Cohen S.M. et al. Trans- and cis-acting requirements for blastodermal expression of the head gap gene *buttonhead* // Mech. Dev. 1995. V. 53. P. 235–245.
- Wolpert L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation // J. Theor. Biol. 1969. V. 25. P. 1–47.
- Wotton K.R., Jiménez-Guri E., Crombach A. et al. Quantitative system drift compensates for altered maternal inputs to the gap gene network of the scuttle fly *Megaselia abdita* // Elife. 2015a. V. 4. P. e04785.
- Wotton K.R., Jiménez-Guri E., Jaeger J. Maternal coordinate gene regulation and axis polarity in the scuttle fly *Megaselia abdita* // PLoS Genetics. 2015b. V. 11. P. e1005042.
- Yu D., Small S. Precise registration of gene expression boundaries by a repressive morphogen in *Drosophila* // Curr. Biol. 2008. V. 18. P. 868–876.

Morphogenetic Networks which Determine the Spatial Expression of Zygotic Genes in Early *Drosophila* Embryo

S. Yu. Surkova^a, E. V. Golubkova^b, L. A. Mamon^b, and M. G. Samsonova^a

^a*St. Petersburg Polytechnic University, Mathematical Biology and Bioinformatics Laboratory, ul. Politekhnicheskaya 29, St. Petersburg, 195251 Russia*

e-mail: surkova.spb@mail.ru

^b*St. Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia*

Received November 2, 2015; in final form, December 1, 2016

This review deals with the recent studies expanding the idea of positional information in the early embryogenesis of *Drosophila melanogaster*. Previous studies showed that, in the course of segment determination in *Drosophila*, information created by gradients of products of maternal coordinate genes is not “read” statically, being interpreted by their zygotic target genes via regulatory interactions. This leads to spatial shifts in the expression of target genes relative to the original positions as well as to dynamic reduction in the zygotic expression variability. However, according to recent data, interpretation of positional information includes the interaction between not only zygotic target genes but also the maternal coordinate genes themselves. Different systems of maternal coordinate genes (maternal systems) – the posterior-anterior, terminal, and dorsoventral – can interact with each other. This is usually expressed in the regulation of zygotic target genes of one maternal system by other maternal systems. The concept of a “morphogenetic network” was introduced to define the interaction of maternal systems during determination of spatial gene expression in the early *Drosophila* embryo.

Keywords: maternal gradients, positional information, morphogenesis, *Drosophila* embryo, segmentation, Bicoid, Torso