

Анализ генной сети Neurogenesis:Prepattern, контролирующей первый этап формирования щетиночного узора у *Drosophila melanogaster*

Д.П. Фурман^{1,2}, Т.А. Бухарина¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Хитиновый покров насекомых не способен реагировать на раздражители, и приемниками сигналов из окружающей среды для них служат специализированные рецепторы. Дрозофила воспринимает тактильные стимулы посредством внешних сенсорных органов – микро- и макрохет, расположенных на голове и спинке (нотуме). Микрохеты многочисленны и образуют правильные ряды, ориентированные вдоль тела. Число макрохет относительно невелико, и их расположение на голове и нотуме строго определено. Макрохеты выполняют функцию механорецепторов, обеспечивающих мухе сохранение равновесия в полете. Набор макрохет называют щетиночным узором. Полноценный щетиночный узор взрослой *Drosophila melanogaster* складывается в результате многоступенчатого процесса. Основополагающая его стадия состоит в создании прообраза расположения будущих макрохет – препаттерна (предструктуры), представленного proneуральными кластерами. Пронеуральные кластеры обособляются из массы клеток крыловых имагинальных дисков на стадии личинки третьего возраста и ранней предкуколки под действием факторов предструктуры, отождествляемых с транскрипционными факторами, направленными регулируемыми экспрессию своих генов-мишеней в соответствующих районах. В статье впервые приведены результаты реконструкции и анализа генной сети, обеспечивающей процесс становления предструктуры, рассмотрены принципы ее организации и функционирования. Сеть насчитывает 80 объектов, связанных 109 регуляторными взаимодействиями. Ключевыми объектами сети, показывающими наибольшую связность с другими ее компонентами, являются proneуральные белки ASC, кодируемые генами *achaete* и *scute*, а также белки Decapentaplegic (Dpp) и Wingless (Wg). Структура сети характеризуется иерархической организацией и имеет по крайней мере три уровня управления. Функционирование сети как ансамбля генов в целом достигается координированной работой регуляторных контуров, осуществляющих как внутри-, так и межуровневый контроль активности генов. Результирующий эффект действия сети состоит в активации proneуральных генов комплекса AS-C, экспрессия которых отличает клетки proneурального кластера от окружающих клеток эктодермы.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*; макрохеты; щетиночный узор; предструктура; *achaete-scute* комплекс; генная сеть; регуляторные контуры.

Analysis of the Neurogenesis: Prepattern gene network controlling the first stage in *Drosophila melanogaster* bristle pattern development

D.P. Furman^{1,2}, T.A. Bukharina¹ 

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

The external insect chitinous skeleton is unable to respond to stimuli; the external signals are received by specialized receptors. *Drosophila* perceives the tactile stimuli by its external sensory organs, the microchaetes and macrochaetes residing on the head and back (notum). The microchaetes (hairs) are numerous and arranged in perfect rows along the body. The macrochaetes (bristles) are rather few and are strictly positioned on the head and notum, being referred to as bristle pattern. Bristles act as mechanoreceptors, providing balance for flying *Drosophila*. The proper bristle pattern of an adult fly develops through several stages. Its basic stage is formation of prepattern for the future bristles, represented by proneural clusters. The proneural clusters separate from the ectodermal cells in imaginal discs in the third instar larvae and early prepupae. They are induced by prepattern factors, identified with the transcription factors driving expression of their target genes in certain disc regions. Reconstruction of the gene network controlling prepattern development and its analysis are for the first time described as well as the principles underlying arrangement and function of this network. The hierarchical structure of the network, its key components, and regulatory circuits are identified. The network comprises 80 entities interconnected via 109 regulatory interactions. The key objects of the network, displaying the greatest connectivity with its other components, are the ASC proneural proteins encoded by the *achaete* and *scute* genes, and the proteins Decapentaplegic (Dpp) and Wingless (Wg). The structure of the network is hierarchical and has at least three control levels. The network acts as a gene ensemble owing to coordinated functioning of the regulatory circuits

controlling activities of the corresponding genes both within and between the levels. The resulting effect of the network operation consists in activation of the *AS-C*, proneural genes, the expression of which distinguishes the cells of proneural cluster from the surrounding ectodermal cells.

Key words: *Drosophila melanogaster*; bristles; bristle pattern; prepatter; *achaete-scute* complex; gene network; regulatory circuits.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Фурман Д.П., Бухарина Т.А. Анализ геной сети Neurogenesis:Prepattern, контролирующей первый этап формирования щетиночного узора у *Drosophila melanogaster*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(6):832-839. DOI 10.18699/VJ16.199

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Furman D.P., Bukharina T.A. Analysis of the Neurogenesis:Prepattern gene network controlling the first stage in *Drosophila melanogaster* bristle pattern development. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(6):832-839. DOI 10.18699/VJ16.199

Под щетиночным узором подразумевается набор макрохет (больших щетинок), расположенных на голове и нотуме дрозофилы. Макрохеты – это внешние сенсорные органы, механорецепторы, воспринимающие тактильные раздражители. Они необходимы для сохранения равновесия мухи в полете. Характеристические признаки щетиночного узора (число и позиции макрохет) строго фиксированы, что позволяет использовать его для классификации видов дрозофилид.

У *Drosophila melanogaster* щетиночный узор нотума образован одиннадцатью парами макрохет, имеющими собственные названия в соответствии с локализацией. Каждая из макрохет входит как один из компонентов в состав механорецептора, состоящего из собственно щетинки, окружающего ее основание цоколя, биполярного нейрона и покрывающей нейрон оболочка. Щетинка и цоколь видны на поверхности тела, иннервирующий нейрон лежит в полости тела под механорецептором. Компоненты механорецептора формируются четырьмя специализированными клетками: щетинковой (трихогеном), гнездовой (тормогеном), нейральной и клеткой оболочки нерва (текогеном). Все эти клетки происходят путем последовательных делений единственной родительской клетки, которая обособляется из пронеуральных кластеров – групп из 20–30 клеток крыловых имагинальных дисков (Lai, Orgogozo, 2004).

Именно позиционирование пронеуральных кластеров однозначно задает топографию щетиночного узора. Закладка кластеров с последующим выделением родительских клеток происходит на стадии третьего личиночного и раннего куколичного возраста. Кластеры для каждого механорецептора закладываются независимо, так что мутации генов *AS-C* фенотипически проявляются в утрате отдельных щетинок или их комбинаций (Серебровский, Дубинин, 1929).

Клетки кластеров отличаются от окружения наличием белков *Achaete* и *Scute* (Romani et al., 1989; Cubas et al., 1991; Skeath, Carroll, 1991; Gómez-Skarmeta et al., 2003). Кодрующие эти белки гены *achaete* (*ac*, *sc*) входят в одноименный комплекс *AS-C*, и им отводится центральное место в формировании узора. Механизмы, обеспечивающие локальную активность комплекса в кластерах, долгое время оставались предметом дискуссий. В 1954 г. К. Штерном (Stern, 1954) была предложена гипотеза, согласно которой экспрессия генов *AS-C* начинается

в ответ на действие неких факторов, пространственно распределенных в эктодерме имагинальных дисков. В результате клетки в районах присутствия этих факторов предетерминируются к развитию по нейральному пути, формируя пронеуральные кластеры и создавая тем самым предструктуру – прообраз щетиночного узора (Reeves, Posakony, 2005). Таким образом, постулировалось, что щетиночный узор возникает вследствие взаимодействия двух компонентов: предструктуры и системы ответа на предструктуру – генов комплекса *achaete-scute*.

Дальнейшее изучение закономерностей становления щетиночного узора позволило конкретизировать понятие факторов предструктуры. В настоящее время с ними отождествляются транскрипционные факторы, регулирующие активность *AS-C*: U-shaped (*Ush*), *Pannier* (*Pnr*), белки генов комплекса *iroquois* (*Iro-C*) (*Araucan*, *Scapolican* и *Mirgor*) и др. Экспрессия генов, кодирующих эти транскрипционные факторы, определяется своим набором регуляторных белков, в том числе *Decapentaplegic* (*Dpp*), *Hedgehog* (*Hh*), *Engrailed* (*En*), *Wingless* (*Wg*) (Ruiz-Gomez, Modolell, 1987; Gómez-Skarmeta et al., 1995, 1996, 2003; Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997; Calleja et al., 2000, 2002; Ramain et al., 2000; Aldaz et al., 2003; Joshi et al., 2006; Ikmi et al., 2008).

Основные морфогенетические события, обуславливающие формирование щетиночного узора на нотуме дрозофилы, связаны с парой крыловых имагинальных дисков, каждый из которых дает полуторакс взрослой мухи.

В ходе многолетнего исследования молекулярно-генетических механизмов, детерминирующих формирование щетиночного узора, накоплен значительный объем экспериментальных данных. На основе их систематизации и анализа нами реконструирована геновая сеть, обеспечивающая процесс становления предструктуры. Выявлена иерархическая организация и ключевые объекты сети, показано наличие регуляторных контуров, управляющих ее функционированием.

Материалы и методы

Имеющиеся данные по генетическому контролю развития макрохет сведены в базу данных Neurogenesis (Furman, Bukharina, 2008; Бухарина, Фурман, 2009). Ресурс создан путем ручного аннотирования более 350 литературных первоисточников, позволяющего наиболее полно экстрагировать содержащиеся в них экспериментальные данные.

В настоящее время в базе сосредоточена информация о 110 генах, 158 продуктах этих генов (147 белках и 11 РНК) и 13 типах клеток.

На основе этой базы данных с помощью технологии GeneNet (Колчанов и др., 2000) реконструирована генная сеть Neurogenesis:Prepattern, осуществляющая управление процессом становления предструктуры как набора пространственно распределенных транскрипционных факторов в клетках крыловых имагинальных дисков, которая и определит возможность формирования макрохет в строго определенных районах нотума дрозофилы.

Структура сети анализировалась на предмет поиска ключевых объектов и замкнутых регуляторных контуров – основных характеристик генных сетей.

Результаты и обсуждение

Реконструированная генная сеть Neurogenesis:Prepattern, роль которой состоит в позиционировании районов расположения будущих макрохет, сформирована 80 объектами, в число которых входят 44 белка, 34 гена, 2 РНК. Объекты объединены 109 связями. Сеть охватывает события, происходящие на стадии третьего личиночного и раннего кукольного возраста дрозофилы.

В структуре сети выявляются три ключевых объекта, показывающих наибольшую связность с другими ее компонентами – это белки Decapentaplegic (Dpp) и Wingless (Wg) с 11 и 8 связями соответственно, а также *AS-C*, на долю которого приходится 23 связи (рис. 1, а). Первые два выступают в основном как регулирующие факторы: Dpp направляет 9, а Wg – 7 процессов. В отличие от них *AS-C* фокусирует на себе действие большинства компонентов сети и выступает объектом 18 прямых и 6 опосредованных регуляторных воздействий, осуществляющих контроль его экспрессии.

Структура сети характеризуется иерархической организацией и имеет по меньшей мере три уровня управления, осуществляющих каскадную регуляцию комплекса *AS-C* как финальной мишени координированного действия ее элементов (см. рис. 1, б).

Основные фигуранты **первого уровня управления** представлены двумя из трех ключевых объектов сети – морфогенами Dpp и Wg, участниками одноименных сигнальных путей, определяющих дифференцировку клеток, рост, компартиментализацию и метаморфоз имагинальных дисков начиная с самых ранних этапов их развития – времени установления дорзо-вентральной и антерио-постериорной осей диска. Кроме них, в число элементов первого уровня входят белки Engrailed (En) и Hedgehog (Hh) – регуляторы активности гена *dpp* с антагонистическим эффектом на его экспрессию (Serrano, O'Farrell, 1997; Affolter, Basler, 2007; Akiyama, Gibson, 2015).

Присутствие в клетке Hh инициирует экспрессию *dpp*, тогда как присутствие En ее запрещает. При наличии обоих белков экспрессии *dpp* также не происходит (Zessa et al., 1995; Layalle et al., 2011). Таким образом, En служит одним из лимитирующих факторов при функционировании первого уровня каскадной регуляции комплекса *achaete-scute*.

Содержание белков Wg и Dpp подчинено отношениям взаимной регуляции, основанным на перекрестном по-

давлении экспрессии генов друг друга. Посредниками в этом процессе выступают протеинкиназа GSK-3 (glycogen synthase kinase-3), кодируемая геном *shaggy* (*sgg*), и белок Dishevelled (Dsh), внутриклеточный передатчик сигнала в Wnt сигнальном пути (Komiya, Habas, 2008).

Схема взаимодействий, регламентирующих содержание морфогенов Wg и Dpp, представлена на рис. 2 (Penton, Hoffmann, 1996; Heslip et al., 1997).

Районы имагинального диска, в которых экспрессируется ген *dpp*, потенциально способны дать начало как нотуму, так и крыловым структурам, а дальнейшая их судьба зависит от уровня экспрессии *wg*. Зоны диска, где *wg* экспрессируется слабо или не экспрессируется вовсе, дадут начало имагинальному нотуму и шарниру крыла, тогда как высокий уровень экспрессии жестко детерминирует развитие зачатка дефинитивного крыла.

Компоненты первого уровня системы – белки Dpp и Wg – осуществляют контроль функционирования соподчиненных генов *brinker* (*brk*), *pannier* (*pnr*), *u-shaped* (*ush*), *spalt* (*sal*) и *spalt-related* (*salr*), кодирующих белки, принадлежащие **второму уровню управления** регуляцией комплекса *AS-C*. Этот уровень определяет рост диска и дальнейшую компартиментализацию презумптивного нотума, в том числе места закладки пронеуральных кластеров.

Известно, что большая часть пронеуральных кластеров сосредоточена в тех частях диска, где в клетках под контролем морфогена Dpp произошла активация генов *pannier* и *u-shaped* с одновременным подавлением экспрессии *brinker* (Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997; Campbell, Tomlinson, 1999; Martín et al., 2004).

При совместном участии сигнальных белков Dpp, Wg и Hh осуществляется регуляция экспрессии генов комплекса *sal/salr* – еще двух компонентов второго уровня регуляции, конфигурирующих локализацию большинства будущих макрохет нотума. Показано, что Dpp и Hh активируют, а Wg подавляет их экспрессию (de Celis et al., 1999).

Таким образом, основную часть элементов второго уровня контролирует Dpp. На долю Wg приходится лишь регуляция активности белка Pnr. Известно, что Wg инициирует экспрессию гена *sgg*, кодирующего киназу, которая фосфорилирует Pnr. Модифицированная форма Pnr теряет способность связываться с регуляторными районами генов-мишеней и выполнять функцию транскрипционного фактора (Yang et al., 2012).

Наряду с вертикалью регуляции активности генов этого уровня за счет вышестоящих в иерархии Dpp и Wg, существует и горизонтальный внутриуровневый контроль их активности за счет регуляторного контура, устанавливающего баланс белков Pnr и Ush (рис. 3), от которого, в свою очередь, зависит состояние активации – репрессии подконтрольных контуру генов *AS-C*.

Белок Pnr кодируется одним геном, но существует в двух изоформах – Pnr α и Pnr β , экспрессия которых контролируется двумя разными районами промотора. Зоны локализации изоформ в имагинальном диске частично перекрываются, но в дорзальной части презумптивного нотума преобладает Pnr β , тогда как в латеральной – Pnr α . Образуя комплекс с Pnr, Ush превращает его из активатора в репрессор транскрипции: Pnr β /Ush подавляет наработку изоформы Pnr α , комплексы Pnr α /Ush и Pnr β /Ush репресси-

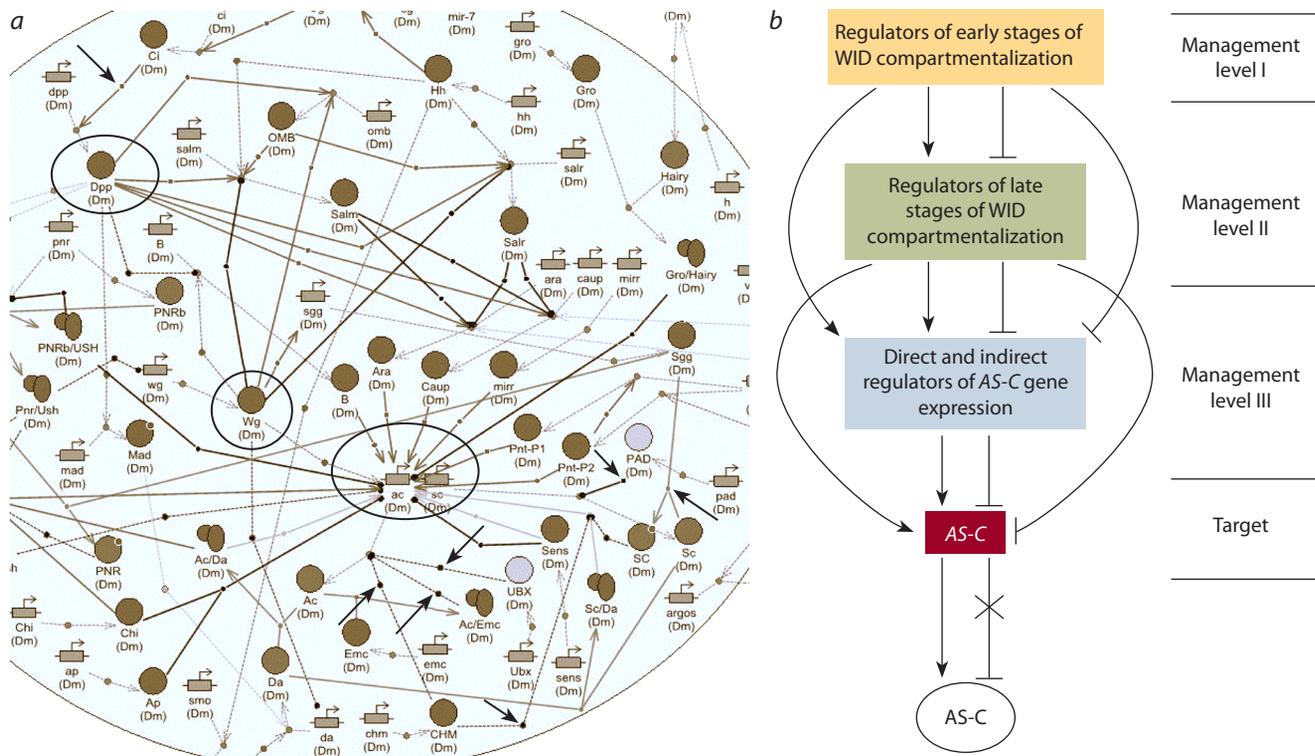


Fig. 1. A fragment and schematic organization of the Neurogenesis:Prepattern gene network.

(a) Key components of the network: proteins Dpp, Wg, and the *achaete-scute* gene complex (enclosed in ovals). Black arrows indicate the points of application of indirect regulatory impacts on the complex expression. (b) Hierarchical organization of the Neurogenesis:Prepattern gene network and the scheme of interactions between management levels. WID, wing imaginal disk. Here and in Figs. 2 and 3 sharp-ended arrows → indicate activation, blunt-ended ⊥, repression.

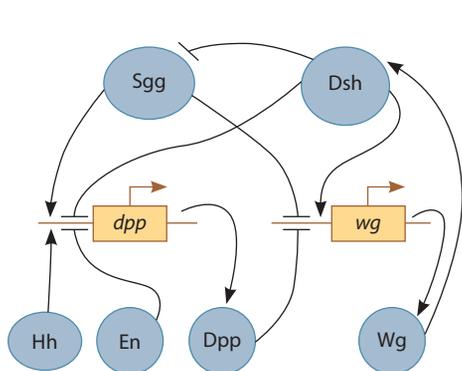


Fig. 2. Regulation of the *dpp* and *wg* genes.

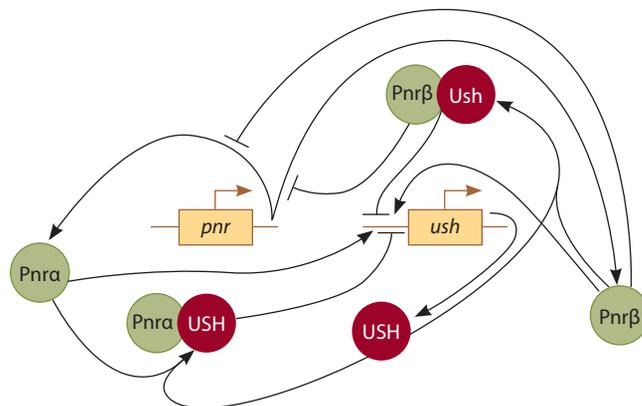


Fig. 3. Regulatory circuit determining the balance between proteins Pnr and Ush.

руют транскрипцию *u-shaped* (Hannon et al., 1991; Tsai et al., 1991; Ramain et al., 1993; Cubadda et al., 1997; Haenlin et al., 1997; Fromental-Ramain et al., 2008, 2010).

На третьем уровне управления сосредоточены элементы контроля за функционированием основного ключевого объекта сети с максимальной связностью – пронейральных генов комплекса *achaete-scute*.

Активность объектов этого уровня регулируется элементами предыдущего. Так, *spalt/spalt-related* участвуют в каскадной регуляции, кодируя транскрипционные факторы, репрессирующие гены *Iro-C* (de Celis et al., 1999). Pannier активирует, а комплекс Pnr/Ush репрессирует

экспрессию *Iro-C* (Calleja et al., 2000). Ограничение зон экспрессии *Iro-C* – один из обязательных факторов, обеспечивающий правильное позиционирование пронейральных кластеров. Транскрипционный фактор Brinker репрессирует ген *tailup* (*tup*), а одноименный белок, в свою очередь, репрессирует активность *AS-C* в одном районе нотума (будущем щитке), но активирует в другом (дорзо-центральном нотуме) (de Navascués, Modolell, 2007, 2010).

Основные объекты третьего уровня представлены регуляторами активности *AS-C*. Прежде всего это транскрип-

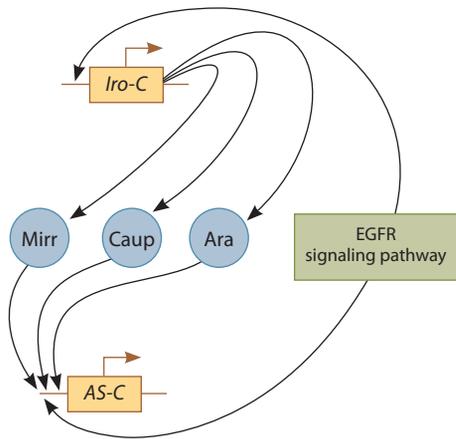


Fig. 4. EGFR signaling pathway is an activator of gene complexes *achaete-scute* и *iroquois*.

ционные факторы – активаторы/репрессоры экспрессии, места посадки которых в энхансерных и промоторных зонах комплекса создают «рисунок», определяющий функциональное состояние его генов. В качестве регуляторов могут выступать не только самостоятельные транскрипционные факторы, имеющие сайты связывания в регуляторных областях генов *achaete-scute*, но и гетерогенные белковые комплексы с ДНК-связывающей активностью, сформированные из белков, принадлежащих к семействам bHLH и Zinc-finger. Функцию адаптера в этих случаях выполняет белок Chip (Ramain et al., 2000; Matthews, Visvader, 2003; de Navascués, Modolell, 2007; Bronstein et al., 2010).

Транскрипция *AS-C* инициируется транскрипционными факторами семейства NF-kB/Rel (Ayuar et al., 2007, 2010), белками комплексов *iroquois* (Araucan, Caupolican и Mirror) (Leyns et al., 1996) и Bar (BarH1 и BarH2) (Sato et al., 1999), а также дуэтом Chip/Pnr в составе гетеромера (de Navascués, Modolell, 2007; Bronstein et al., 2010).

Репрессию транскрипции *AS-C* осуществляет транскрипционный фактор Hairy (Gómez-Skarmeta et al., 1995) и гексамер 2Chip/2AP/2SSDP, в состав которого наряду с Chip и Ap входит SSDP (Sequence-specific single-stranded DNA-binding protein) (Bronstein et al., 2010).

Особняком в ряду регуляторов стоит Tailup – он может оказывать как активирующее, так и репрессирующее влияние на экспрессию *AS-C*. В составе сложных гексамеров, содержащих также белки Chip и SSDP, Tur выполняет функцию активатора экспрессии *AS-C* в дорзоцентральном районе презумптивного нотума (de Navascués, Modolell, 2007, 2010). Однако в составе других белковых комплексов Tur подавляет развитие щетинок в районе презумптивного щитка. Точный механизм этого эффекта до сих пор не выяснен (de Navascués, Modolell, 2007, 2010).

Регуляция функциональной активности *AS-C* может происходить за счет прямых связей ДНК-транскрипционного фактора в регуляторном районе комплекса, но может обеспечиваться и другими механизмами. Одним из них является изменение архитектуры регуляторных зон комплекса и взаимодействий «энхансер–промотор» в результате ремоделирования хроматина. На этом механизме

базируется активаторный эффект белка Toutatis (Tou) (Heitzler et al., 2003) и репрессорный эффект белка Osa (Vanolst et al., 2005).

Другой механизм основан на модификационном изменении транскрипционных факторов, контролирующих активность *AS-C*. Так, фосфорилирование Pnr киназой Sgg приводит к утрате способности Pnr инициировать транскрипцию генов комплекса (Yang et al., 2012). Ацетилтрансфераза Chameau (CHM), модифицирующая Pnr, Ush и Chip (Ramain et al., 2000), обладает функцией репрессора активности *AS-C*, но фокус ее действия неизвестен (Hainaut et al., 2012; Nakagawa et al., 2015).

Наряду с рассмотренными отношениями контроля элементами вышележащих уровней элементов соседних нижележащих уровней, формирующих вертикальный вектор управления, в системе существуют **регуляторные взаимодействия иного характера**.

В частности, возможны взаимодействия, нарушающие строгую иерархичность управления. Отмечены случаи прямой связи между объектами первого и третьего уровней, когда Dpp и Wg активируют соответственно *tup*, *bar*, *Iro-C* и *sgg*. Другим примером такого рода служит управление транскрипцией ключевого элемента генной сети (*AS-C*) объектами второго уровня – транскрипционными факторами Pnr и Ush.

Нарушение принципа регуляции «сверху вниз» может происходить и благодаря участникам сети, которые присутствуют более чем на одном уровне управления генами *AS-C* и играют вспомогательную роль в функционировании сети. К ним относятся киназа Sgg и адаптер Chip.

Белки сигнальных путей занимают особое место в функционировании генных сетей, поскольку осуществляют межклеточные взаимодействия, необходимые для инициации и регуляции процессов, определяющих морфофункциональное состояние клеток. В становлении предструктуры щетиночного узора заметную роль играет EGFR-сигнальный путь. Конечной мишенью передачи сигнала являются гены *Iro-C* или *AS-C*. Активация генов этих комплексов зависит от разных лигандов-трансдукторов. Для генов *Iro-C* это Vein, а для генов *AS-C* – Spitz (рис. 4).

Таким образом EGFR-сигнальный путь является активатором как объекта третьего уровня управления *Iro-C*, так и подчиненным белкам этого комплекса *AS-C* (Gómez-Skarmeta et al., 2003; Shilo, 2003).

Уровни регуляции могут взаимодействовать по принципу не только прямой, но и обратной связи, когда элементы нижележащих уровней определяют состояние объектов, расположенных на вышележащих уровнях. В рассматриваемой сети обнаружено два таких случая. Первый – это влияние изоформ Pnr и Ush на экспрессию *wg*, а второй – влияние Tur на экспрессию *pnr* и *ush* (рис. 5).

Наличие регуляторных контуров – одна из характеристик генных сетей. Как отмечено выше, в сети Neurogenesis:Prepattern контуры выявляются не только в пределах одного уровня. По крайней мере два контура связывают элементы разных уровней. Первый контур представлен белками Dpp, Brk, Tur и генами *brk*, *pnr*, *ush*, *salm/salr* и *tup* (см. рис. 5, а). В рамках контура Dpp репрессирует ген *brk* и активирует гены *pnr* и *tup*, а белок Tur, в свою

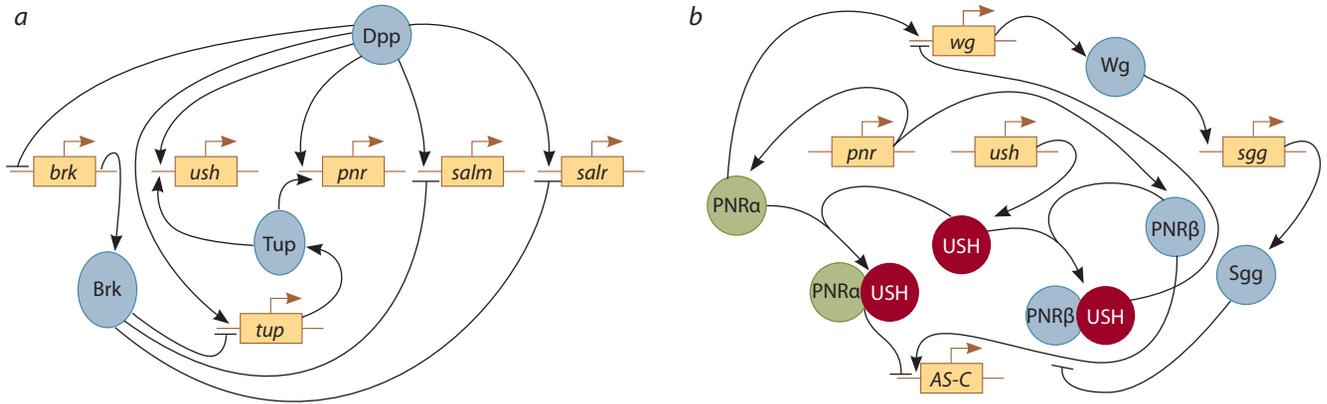


Fig. 5. Interactions between regulators at different management levels: (a) Interactions between the regulators of the first (Dpp), second (*brk*, *pnr*, *ush*, *salm*, and *salr*) and third (Tup) management levels. (b) Interactions between regulators of the first (Wg) and second (*sgg*, *pnr*, and *ush*) management levels and AS-C.

очередь, усиливает экспрессию *pnr*. Функционирование контура обеспечивает достаточное содержание в клетках транскрипционных факторов Pnr, Ush, Tup при одновременном отсутствии Brk и завершает морфофункциональную компартментализацию имагинального диска установлением района презумптивного нотума.

Во второй контур входят белки Wg, обе изоформы Pnr, Ush, Sgg и гены *AS-C*, *sgg* (см. рис. 5, б). В зависимости от преобладания в клетках той или иной изоформы Pnr происходит активация *AS-C* (при преобладании Pnrβ) или *wg* (при преобладании Pnrα). Одновременно образуются гетеромеры изоформ с Ush, негативно влияющие на транскрипцию *AS-C* (комплекс Pnrα/Ush) или *wg* (комплекс Pnrβ/Ush). Нароботка Wg приводит к активации *sgg*, а киназа Sgg фосфорилирует Pnrβ, преобразуя его в неактивную форму. Таким образом, превышение содержания Pnrα над содержанием Pnrβ в клетках имагинального диска закрывает для них нейтральный путь дифференцировки, полностью исключая возможность активации генов *AS-C*. Этот контур функционирует в пределах презумптивного нотума и обеспечивает уточнение взаимного расположения пронеуральных кластеров (Sato, Saigo, 2000; Fromental-Ramain et al., 2008, 2010; Yang et al., 2012).

Заключение

Постоянство щетиночного рисунка имаго дрозофилы достигается точностью числа и локализации в имагинальных дисках пронеуральных кластеров – районов расположения будущих макрохет. Топографию кластеров определяет молекулярно-генетическая система, контролирующая процесс их закладки с самых ранних стадий развития диска путем распределения специфичных транскрипционных факторов, отвечающих за экспрессию генов комплекса *achaete-scute*. Функционирование этой системы может быть описано в терминах генной сети Neurogenesis:Prepattern. Фокусом ее действия является *AS-C* – объект с максимальной связностью.

Рассмотрение совокупности элементов сети и их взаимодействий позволяет сделать вывод, что в рамках парадигмы «предструктура – система ответа на предструктуру» понятие предструктуры, видимо, должно быть расширено

и должно включать не только набор транскрипционных факторов, непосредственно контролирующих экспрессию *AS-C* как системы ответа на предструктуру по Штерну (белки Iro-C, Bar, Tup, Hairy, Pnr и Pnr/Ush, NF-kB/Rel, Ap, Pointed – белок EGFR-пути).

Сюда же следует отнести белки, определяющие или модифицирующие как функциональное состояние этих транскрипционных факторов (Sgg, Chip, Shm, SSDP), так и архитектуру регуляторных районов *AS-C* (Osa, Tou) (рис. 6), а также набор регуляторов экспрессии самих факторов предструктуры в существующем на сегодня понимании этого термина (Dpp, Wg, Hh, En, Brk, Salm/Salr, белки EGFR-пути).

Neurogenesis:Prepattern, как и другие генные сети морфогенеза, демонстрирует каскадную регуляцию процессов и сопряженную с этим иерархическую организацию. Главный вектор действия сети ориентирован на наработку и поддержание уровня пронеуральных белков ASC в клетках кластера, обеспечивающих формирование макрохет как органов периферической нервной системы дрозофилы. Механизм каскадной регуляции комплекса *AS-C* включает не менее трех уровней управления, каждый из которых содержит регуляторные контуры, детерминирующие состояние активации–репрессии его генов. Именно от правильного функционирования комплекса зависит приобретение клетками потенциалов к нейральному пути развития.

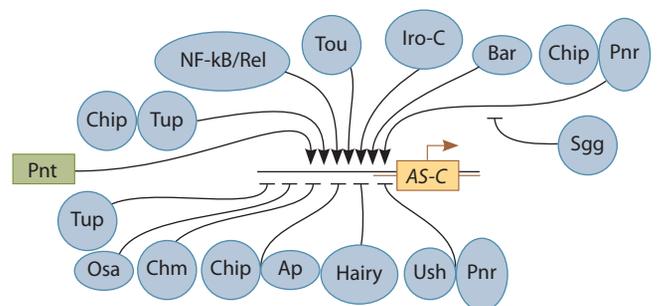


Fig. 6. Regulators of the AS-C complex.

Acknowledgments

Database provisioning was supported by State Budgeted Project 0324-2015-0003. The gene network reconstruction was supported by the Russian Science Foundation, project 14-24-00123.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Affolter M., Basler K. The Decapentaplegic morphogen gradient: from pattern formation to growth regulation. *Nat. Rev. Genet.* 2007;8(9):663-674.
- Akiyama T., Gibson M.C. Decapentaplegic and growth control in the developing *Drosophila* wing. *Nature.* 2015;527(7578):375-8. DOI 10.1038/nature15730.
- Aldaz S., Morata G., Azpiazu N. The Pax-homeobox gene *eyegone* is involved in the subdivision of the thorax of *Drosophila*. *Development.* 2003;130:4473-4482.
- Ayyar S., Negre B., Simpson P., Stollewerk A. An arthropod cis-regulatory element functioning in sensory organ precursor development dates back to the Cambria. *BMC Biol.* 2010;24:127. DOI 10.1186/1741-7007-8-127.
- Ayyar S., Pistillo D., Calleja M., Brookfield A., Gittins K., Goldstone C., Simpson P. NF- κ B/Rel-mediated regulation of the neural fate in *Drosophila*. *PLoS One.* 2007;2:e1178.
- Bronstein R., Levkovitz L., Yosef N., Yanku M., Ruppin E., Sharan R., Westphal H., Oliver B., Segal D. Transcriptional regulation by CHIP/LDB complexes. *PLoS Genetics.* 2010;6:e1001063. DOI 10.1371/journal.pgen.1001063.
- Bukharina T.A., Furman D.P. Genetical control of mechanoreceptors formation in *Drosophila melanogaster* – the description in database “Neurogenesis”. *Informatsionnyy vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeders.* 2009;13(1):186-193 (in Russian).
- Calleja M., Herranz H., Estella C., Casal J., Lawrence P., Simpson P., Morata G. Generation of medial and lateral dorsal body domains by the *pannier* gene of *Drosophila*. *Development.* 2000;127:3971-3980.
- Calleja M., Renaud O., Usui K., Pistillo D., Morata G., Simpson P. How to pattern an epithelium: lessons from *achaete-scute* regulation on the notum of *Drosophila*. *Gene.* 2002;292(1-2):1-12.
- Campbell G., Tomlinson A. Transducing the Dpp morphogen gradient in the wing of *Drosophila*: regulation of Dpp targets by *brinker*. *Cell.* 1999;96(4):553-562.
- Cubadda Y., Heitzler P., Ray R.P., Bourouis M., Romain P., Gelbart W., Simpson P., Haenlin M. *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;11:3085-3095.
- Cubas P., de Celis J.F., Campuzano S., Modolell J. Proneural clusters of *achaete-scute* expression and the generation of sensory organs in the *Drosophila* imaginal wing disc. *Genes Dev.* 1991;5:996-1008.
- 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;126:2653-2662.
- de Navascués J., Modolell J. *tailup*, a LIM-HD gene, and Iro-C cooperate in *Drosophila* dorsal mesothorax specification. *Development.* 2007;134:1779-1788.
- 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. Development.* 2010;127:393-406. DOI 10.1016/j.mod.2010.05.001.
- Fromental-Romain C., Taquet N., Romain P. Transcriptional interactions between the *pannier* isoforms and the cofactor U-shaped during neural development in *Drosophila*. *Mech. Development.* 2010;127:442-457. DOI 10.1016/j.mod.2010.08.002.
- Fromental-Romain C., Vanolst L., Delaporte C., Romain P. *pannier* encodes two structurally related isoforms that are differentially expressed during *Drosophila* development and display distinct functions during thorax patterning. *Mech. Development.* 2008;125:43-57.
- Furman D.P., Bukharina T.A. Genetic control of macrochaetae development in *Drosophila melanogaster*. *Rus. J. Dev. Biol.* 2008;39(4):195-206.
- Gómez-Skarmeta J.L., Campuzano S., Modolell J. Half a century of neural pre patterning: the story of a few bristles and many genes. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003;4:587-598.
- Gómez-Skarmeta J.L., Diez del Corral R., de la Calle-Mustienes E., Ferrés-Marcó D., Modolell J. *araucan* and *caupolican*, two members of the novel iroquois complex, encode homeoproteins that control proneural and vein-forming genes. *Cell.* 1996;85:95-105.
- Gómez-Skarmeta J.L., Rodríguez I., Martínez C., Culi J., Ferrés-Marcó D., Beamonte D., Modolell J. Cis-regulation of *achaete* and *scute*: shared enhancer-like elements drive their coexpression in proneural clusters of the imaginal discs. *Genes Dev.* 1995;9:2598-2608.
- Haenlin M., Cubadda Y., Blondeau F., Heitzler P., Lutz Y., Simpson P., Romain P. 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;11:3096-3108.
- Hainaut M., Sagnier T., Berenger H., Pradel J., Graba Y., Miotto B. The MYST-containing protein Chameau is required for proper sensory organ specification during *Drosophila* thorax morphogenesis. *PLoS One.* 2012;7(3):e32882. DOI 10.1371/journal.pone.0032882.
- Hannon R., Evans T., Felsenfeld G., Gould H. Structure and promoter activity of the gene for the erythroid transcription factor GATA-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991;88:3004-3008.
- Heitzler P., Vanolst L., Biryukova I., Romain P. Enhancer-promoter communication mediated by Chip during *Pannier*-driven proneural patterning is regulated by Osa. *Genes Dev.* 2003;17:591-596.
- Heslip T.R., Theisen H., Walker H., Marsh J.L. SHAGGY and DISHEVELLED exert opposite effects on *wingless* and *decapentaplegic* expression and on positional identity in imaginal discs. *Development.* 1997;124:1069-1078.
- Ikmi A., Netter S., Coen D. Pre patterning the *Drosophila* notum: the three genes of the *iroquois* complex play intrinsically distinct roles. *Dev. Biol.* 2008;317:634-648.
- Joshi M., Buchanan K.T., Shroff S., Orenic T.V. Delta and Hairy establish a periodic prepattern that positions sensory bristles in *Drosophila* legs. *Dev. Biol.* 2006;293:64-76.
- Kolchanov N.A., Ananko E.A., Kolpakov F.A., Podkolodnaya O.A., Ignatieva E.V., Goryachkovskaya T.N., Stepanenko I.L. *Gene Networks. Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology (Moscow).* 2000;34(4):533-544 (in Russian).
- Komiyama Y., Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.* 2008;4(2):68-75.
- Lai E.C., Orgogozo V. A hidden program in *Drosophila* peripheral neurogenesis revealed: fundamental principles underlying sensory organ diversity. *Dev. Biol.* 2004;269(1):1-17.
- Layalle S., Volovitch M., Mugat B., Bonneaud N., Parmentier M.L., Prochiantz A., Joliot A., Maschat F. Engrailed homeoprotein acts as a signaling molecule in the developing fly. *Development.* 2011;138:2315-2323. DOI 10.1242/dev.057059.
- Leyns L., Gómez-Skarmeta J.L., Dambly-Chaudière C. *iroquois*: a pre-pattern gene that controls the formation of bristles on the thorax of *Drosophila*. *Mech. Development.* 1996;59(1):63-72.
- Martin F.A., Pérez-Garijo A., Moreno E., Morata G. The *brinker* gradient controls wing growth in *Drosophila*. *Development.* 2004;131(20):4921-4930.
- Matthews J.M., Visvader J.E. LIM-domain-binding protein 1: a multifunctional cofactor that interacts with diverse proteins. *EMBO Rep.* 2003;4:1132-1137.
- Nakagawa T., Ikehara T., Doiguchi M., Imamura Y., Higashi M., Yoneda M., Ito T. Enhancer of Acetyltransferase Chameau (EACHM) is a novel transcriptional co-activator. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142305. DOI 10.1371/journal.pone.0142305.

- Penton A., Hoffmann F.M. Decapentaplegic restricts the domain of wingless during *Drosophila* limb patterning. *Nature*. 1996;382:162-165.
- Ramain P., Heitzler P., Haenlin M., Simpson P. *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;119:1277-1291.
- Ramain P., Khechumian R., Khechumian K., Arbogast N., Ackermann C., Heitzler P. Interactions between Chip and the Achaete/Scute-Daughterless heterodimers are required for *pannier*-driven proneural patterning. *Mol. Cell*. 2000;6:781-790.
- Reeves N., Posakony J.W. Genetic programs activated by proneural proteins in the developing *Drosophila* PNS. *Dev. Cell*. 2005;8:413-425.
- Romani S., Campuzano S., Macagno E.R., Modolell J. Expression of *achaete* and *scute* genes in *Drosophila* imaginal discs and their function in sensory organ development. *Genes Dev*. 1989;3: 997-1007.
- Ruiz-Gómez M., Modolell J. Deletion analysis of the *achaete-scute* locus of *Drosophila melanogaster*. *Genes Dev*. 1987;1:1238-1246.
- Sato M., Kojima T., Michiue T., Saigo K. *Bar* homeobox genes are latitudinal prepattern genes in the developing *Drosophila* notum whose expression is regulated by the concerted functions of *decapentaplegic* and *wingless*. *Development*. 1999;26(7):1457-1466.
- Sato M., Saigo K. Involvement of *pannier* and *u-shaped* in regulation of Decapentaplegic-dependent *wingless* expression in developing *Drosophila* notum. *Mech. Development*. 2000;93(1-2):127-138.
- Serebrovsky A.S., Dubinin N.P. The artificial production of mutations and the gene problem. *Uspekhi eksperimentalnoy biologii = Adventures of Experimental Biology*. 1929;4:235-247 (in Russian).
- Serrano N., O'Farrell P.H. Limb morphogenesis: connections between patterning and growth. *Curr. Biol*. 1997;7(3):R186-195.
- Shilo B.Z. Signaling by the *Drosophila* epidermal growth factor receptor pathway during development. *Exp. Cell Res*. 2003;284:140-149.
- Skeath J.B., Carroll S.B. Regulation of *achaete-scute* gene expression and sensory organ pattern formation in the *Drosophila* wing. *Genes Dev*. 1991;5:984-995.
- Stern C. Two or three bristles. *Am. Sci*. 1954;42:213-247.
- 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;5:919-931.
- Vanolst L., Fromental-Ramain C., Ramain P. Toutatis, a TIP5-related protein, positively regulates Pannier function during *Drosophila* neural development. *Development*. 2005;132:4327-4338.
- 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;139:325-334. DOI 10.1242/dev.074260.
- Zecca M., Basler K., Struhl G. Sequential organizing activities of *engrailed*, *hedgehog* and *decapentaplegic* in the *Drosophila* wing. *Development*. 1995;121:2265-2278.