

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА МЕХАНОРЕЦЕПТОРОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2022 г. Д. П. Фурман^{a, b, *}, Т. А. Бухарина^{a, b, **}

^aФедеральное государственное бюджетное научное учреждение “Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН” (ИЦиГ СО РАН),
просп. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090 Россия

^bНовосибирский государственный университет, ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: furman@bionet.nsc.ru

**e-mail: bukharina@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 14.03.2022 г.

После доработки 11.04.2022 г.

Принята к публикации 17.04.2022 г.

Механорецепторы дрозофилы (щетинки), представленные макро- и микрохетами, расположены на теле насекомого упорядоченным образом и являются результатом детерминированной конверсии эктодермальных клеток имагинальных дисков в прогениторные нейральные клетки с последующей дифференцировкой производных этих клеток в компоненты механорецептора, состоящего из двух поверхностных кутикулярных структур – щетинки с цоколем и двух подлежащих нейральных компонентов – нейрона и клетки глии. Морфогенез механорецепторов проходит три сменяющих друг друга стадии: 1) сегрегация от массы эктодермальных клеток доменов, потенциально компетентных к нейральному пути развития – пронейральных кластеров (ПК); 2) обособление в пронейральном кластере родительской клетки механорецептора (РКМ) и 3) три асимметричных деления, которым подвергается РКМ и ее клетки-потомки со специализацией дочерних клеток последнего поколения в компоненты дефинитивного сенсорного органа. Формирование щетиночного рисунка упорядочено в пространстве и времени. Пространственная детерминация обусловлена позиционированием родительских клеток, а временная связана с двумя событиями синхронизации – завершением выделения РКМ для всех механорецепторов к 1–10-му часу после формирования пупария и ограничением по времени их вступления в первый асимметричный митоз. Проведенная нами реконструкция и анализ молекулярно-генетической системы, обеспечивающей перечисленные события морфогенеза отдельного механорецептора (и щетиночного узора в целом), выявила ее иерархическую организацию. Элементы системы группируются в три модуля, соответствующие стадиям морфогенеза сенсорного органа – генные сети “*Neurogenesis: prepattern*”, “*Neurogenesis: determination*” и “*Neurogenesis: asymmetric division*”. Функционирование системы последовательно ограничивает число клеток, компетентных к нейральному развитию, сначала до десятков на уровне кластеров, а затем до единственной родительской клетки в пределах кластера. Главным атрибутом и связующим звеном сетей является комплекс пронейральных генов *achaete–scute* (AS-C), функционирование которого на этапе выделения РКМ контролируется центральным регуляторным контуром (ЦРК). Анализ функционирования ЦРК выявил две фазы его активности, различающиеся временами действия и композицией элементов. Кардинальное отличие второй фазы состоит в изменении содержания белка Phyl, отвечающего за деградацию пронейральных белков ASC. В обзоре кратко охарактеризованы основные этапы морфогенеза механорецепторов, состав и взаимосвязи поддерживающих их генные сети, а также рассмотрены меж- и внутриклеточные механизмы сегрегации РКМ.

Ключевые слова: дрозофилы, механорецепторы, комплекс генов *achaete–scute*, генные сети, центральный регуляторный контур

DOI: 10.31857/S0475145022040036

ВВЕДЕНИЕ

Механорецепторы дрозофилы представлены макро- и микрохетами (щетинками), и их расположение на теле насекомого фиксировано: так, тринадцать пар макрохет торакса образуют т.н. щетиночный рисунок, в котором каждая из них

занимает строго определенную позицию и имеет приспособленное название, тогда как микрохеты числом более 200 организованы в ряды, выровненные параллельно осям тела, но ни их количество, ни положение в рядах строго не фиксировано. Закономерности формирования механорецепторов

обоих типов сходны, хотя временные характеристики их морфогенеза несколько различаются. Каждый сенсорный орган состоит из группы специализированных элементов: двух кутикулярных, воспринимающих внешний раздражитель – собственно щетинки и цоколя вокруг ее основания, видимых на поверхности тела мухи, и двух подлежащих нейральных составляющих – клетки нейрона и клетки глии (Hartenstein, Posakony, 1989; Simpson, 1990; Cubas et al., 1991; Huang et al., 1991; Usui, Kimura, 1993; Simpson et al., 1999; Calleja et al., 2002; Renaud, Simpson, 2002; Lai, Orgogozo, 2004; Hartenstein, 2005; Usui-Ishihara, Simpson, 2005; Corson et al., 2017).

В общих чертах развитие отдельной щетинки и становление щетиночного рисунка в целом можно представить следующим образом (Hartenstein, 2005; Furman, Bukharina, 2008a, 2008b, 2012, 2015; Bukharina, Furman, 2015).

Прежде всего в эктодерме крыловых имагинальных дисков, состоящих из 50–60 тыс. клеток, закладывается прообраз (предструктура) щетиночного рисунка в виде пронейральных кластеров из 20–40 клеток, потенциально способных к дифференцировке в нейральном направлении (Stern, 1954; Simpson, 1996; Calleja et al., 2002; Reeves, Posakony, 2005; Pi, Chien, 2007; Usui et al., 2008).

Далее в пределах кластеров определяется клетка, призванная дать начало сенсорному органу – родительская клетка механорецептора (РКМ). Обычно она локализуется в центре кластера, хотя это правило может нарушаться (Cubas et al., 1991). Выделение РКМ контролируется посредством вне- и внутриклеточных механизмов. Именно от позиций родительских клеток в эктодерме имагинальных дисков зависит расположение механорецепторов на теле имаго, так что их сегрегация является определяющей стадией развития механорецептора (Ghysen, Dambly-Chaudiere, 1989; Nègre et al., 2003; Corson et al., 2017). Процесс детерминации родительских клеток подвержен временному контролю: несмотря на то, что РКМ для макрохет различной локализации появляются не одновременно, и их совокупное позиционирование занимает до 40 ч, к 1–10-му часу после формирования пупария будущий щетиночный рисунок полностью укомплектован всеми составляющими компонентами (Cubas et al., 1991; Huang et al., 1991; Usui, Kimura, 1993).

Цепь морфогенетических событий завершается тремя асимметричными делениями РКМ и дочерних клеток с последующей специализацией потомков последнего деления в упомянутые выше составляющие дефинитивного сенсорного органа (Roegiers et al., 2001; Roegiers, Jan, 2004; Pi, Chien, 2007; Schweisguth, 2015).

Формирование отдельного механорецептора и щетиночного рисунка в целом обеспечивается молекулярно-генетической системой, которая может быть представлена в виде трех генных сетей, соответствующих основным этапам морфогенеза элементов периферической нервной системы дрозофилы: формированию пронейральных кластеров, выделению РКМ и ее делению.

В обзоре дается характеристика генных сетей, поддерживающих последовательные этапы формирования внешних сенсорных органов дрозофилы, и рассматриваются механизмы выделения РКМ.

ГЕННЫЕ СЕТИ МОРФОГЕНЕЗА МЕХАНОРЕЦЕПТОРОВ

На основе анализа и систематизации экспериментальных данных, экстрагированных из литературных источников, и с использованием технологии GeneNet (Ananko et. al., 2000) нами была выполнена реконструкция молекулярно-генетической системы формирования щетиночного рисунка. Ее элементы группируются в три модуля – генные сети, соответствующие стадиям морфогенеза механорецепторов: “Neurogenesis: prepatter”, “Neurogenesis: determination” и “Neurogenesis: asymmetric division” (Furman, Bukharina, 2009; Бухарина, Фурман, 2009; Фурман, Бухарина, 2016). Сети функционируют на стадиях третьего личиночного и раннего куколочного возраста дрозофилы, на которые приходится становление пространственной организации стереотипного щетиночного рисунка (рис. 1).

Генная сеть “Neurogenesis: prepatter” сформирована 89 объектами, в число которых входит 36 генов и 46 белков, объединенных 118 связями.

Действие сети обеспечивает первый этап морфогенеза механорецепторов, предопределяя топографию пронейральных кластеров – зон инициации локальной экспрессии генов *achaete* и *scute* (комплекса *AS-C*), определяющей компетентность составляющих их клеток к нейральному пути развития (рис. 1).

Сеть имеет несколько уровней управления и функционирует в режиме каскадной регуляции основного звена системы морфогенеза механорецепторов – комплекса *AS-C*, фокусирующего на себе действие большинства компонентов сети. Контроль его экспрессии осуществляется путем 18 прямых и 6 опосредованных регуляторных воздействий. Результат функционирования сети состоит в активации генов комплекса в клетках будущих кластеров, которая происходит при связывании с определенными элементами его регуляторной зоны ряда транскрипционных факторов: белков EGFR-сигнального пути, Pnr, Ush, Bar, Ara, Coup,

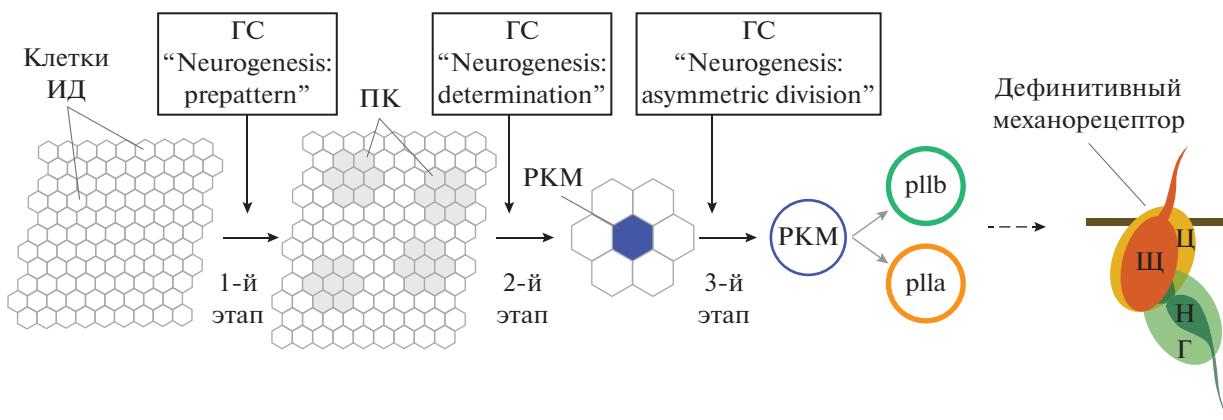


Рис. 1. Этапы морфогенеза механорецептора и поддерживающие их генные сети: 1-й этап – выделение пронейральных кластеров (Генная сеть “Neurogenesis: prepattern”), 2-й этап – обособление РКМ (Генная сеть “Neurogenesis: determination”), 3-й этап – асимметричное деление РКМ (Генная сеть “Neurogenesis: asymmetric division”). ИД – имагинальный диск; ПК – пронейральный кластер; РПа и РПб – дочерние клетки РКМ. Компоненты дефинитивного механорецептора и их позиции относительно поверхности тела (темная линия): н – нейрон, г – глиальная клетка, ц – цоколь щетинки, щ – щетинка.

Mirr и др. (подробнее см. Фурман, Бухарина, 2016; Furman, Bukharina, 2018).

Генная сеть “Neurogenesis: determination” обеспечивает важнейший второй этап развития макрохет – выделение РКМ – и является самой насыщенной по числу компонентов, что, по-видимому, отражает ее ведущее значение в общей системе морфогенеза макрохет (рис. 1). В нее входит 192 элемента, в том числе 72 гена, 95 белков и белковых комплексов, объединенных 251 связью.

Интегральный эффект сети сосредоточен на генах *achaete* и *scute* комплекса *AS-C*, экспрессия которых контролируется центральным регуляторным контуром (ЦРК), обеспечивающим определенное соотношение содержания белков ASC в клетках пронейрального кластера и РКМ (Furman, Bukharina, 2009; Bukharina et al., 2012).

Генная сеть “Neurogenesis: asymmetric division” поддерживает заключительный – третий этап морфогенеза макрохет (рис. 1). На этом этапе происходит три последовательных асимметричных митотических деления РКМ и ее дочерних клеток с последующей специализацией клеток-потомков последнего митоза в отдельные структурные компоненты механорецептора.

Сеть насчитывает 163 объекта, в том числе 55 генов, 83 белка и белковых комплекса, объединенных 158 связями (Бухарина, Фурман, 2009).

Основная роль в этой генной сети принадлежит белкам *Neur* и *Numb* – участникам *Notch* сигнального пути. Их неравновесное распределение в каждом раунде деления предопределяет дальнейшее направление дифференцировки дочерних клеток: только клетки, ставшие обладателями *Neur* и *Numb*, станут источниками сигнала, получат спо-

собность к нейральной специализации и в ходе формирования дефинитивного механорецептора дадут нейрон и клетку глии, тогда как клетки, лишенные их, будучи реципиентами сигнала, специализируются в щетинку и цоколь (Bardin et al., 2004; Fichelson et al., 2005; Furman, Bukharina, 2011; Giebel, Wodarz, 2012; Couturier et al., 2013; Schweiguth, 2015; Johnson et al., 2016).

Совокупность названных генных сетей образует иерархически организованную молекулярно-генетическую систему, обеспечивающую морфогенез отдельного механорецептора и щетиночного узора в целом (рис. 2). Связующим звеном сетей является комплекс пронейральных генов *AS-C* и белков ASC. Особую роль активность комплекса приобретает на этапе обособления родительских клеток механорецепторов.

Сети функционально связаны между собой (рис. 2). Переключение между сетями “Neurogenesis: prepattern” и “Neurogenesis: determination” происходит, когда в силу случайных причин в одной из клеток кластера возникает некоторое превышение содержания пронейральных белков, достаточное для запуска транскрипции *Delta* и механизма латерального ингибирования (Heitzler et al., 1996; zur Lage, Jarman, 1999).

Связь между сетями “Neurogenesis: determination” и “Neurogenesis: asymmetric division” реализуется с участием пронейральных белков ASC и их генов-мишеней *Delta* (*Dl*), *neur* и *lethal(2) giant larvae* (*lgl*). Активация экспрессии *Dl* запускает *Notch*-сигнальный путь и задает направление передачи сигнала. Функция белка *Neuralised* состоит в усилении способности клетки-индуктора к передаче сигнала.

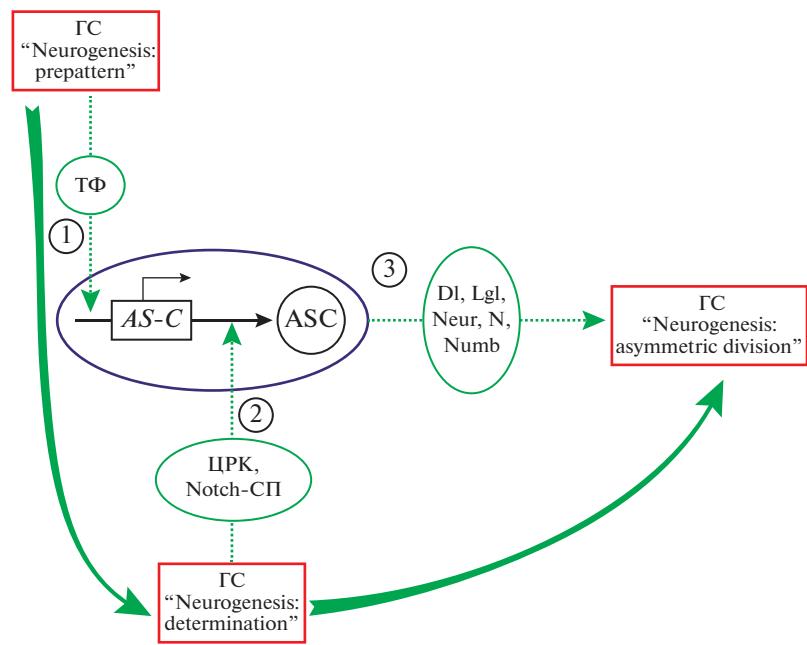


Рис. 2. Комплекс генов *AS-C* и белки *ASC* – центральное звено генных сетей, регламентирующих реализацию трех этапов формирования механорецепторов дрозофилы (цифры 1–3). ТФ – транскрипционные факторы. Пунктирными стрелками обозначены взаимодействия геновых сетей с генами *AS-C* (прямоугольник) и белками *ASC* (круг). Сплошные стрелки указывают на иерархические взаимоотношения между сетями.

Белок *Lgl* определяет распределение белковых детерминант *Numb* и *Neur* в готовых к делению клетках при каждом раунде митозов. При наличии обоих этих детерминант клетки становятся источниками *Notch*-сигнала и в дальнейшем дифференцируются в нейральные компоненты механорецептора. При их отсутствии дочерние клетки становятся реципиентами сигнала и в дальнейшем дают кутикулярные структуры механорецептора (Bardin et al., 2004; Fichelson et al., 2005; Furman, Bukharina, 2011; Giebel, Wodarz, 2012; Couturier et al., 2013; Schweisguth, 2015; Johnson et al., 2016; Miller, Posakony, 2018).

Следует заметить, что сеть “*Neurogenesis: determination*” является самой насыщенной по числу входящих в нее генов и содержит 72 гена против 36 в сети “*Neurogenesis: prepatterning*” и 55 в сети “*Neurogenesis: asymmetric division*”, что, по-видимому, отражает ее ведущее значение в общей системе морфогенеза макрохет (рис. 2).

Совокупность названных геновых сетей образует иерархически организованную молекулярно-генетическую систему, обеспечивающую морфогенез как отдельного механорецептора, так и щетиночного узора в целом. Роль интегрирующего элемента для всех сетей выполняет комплекс пронейральных генов *achaete-scute* (*AS-C*). Критически важное значение уровень пронейральных белков, контролируемых этими генами, приобретает на этапе выделения родительской клетки ме-

ханорецептора. В этот период их активность контролируется центральным регуляторным контуром.

СЕГРЕГАЦИЯ РКМ – ЦЕНТРАЛЬНОЕ СОБЫТИЕ МОРФОГЕНЕЗА МЕХАНОРЕЦЕПТОРОВ

Существенной характеристикой морфогенеза механорецептора является последовательное сокращение числа клеток, компетентных к нейральному развитию. Этот процесс обеспечивается сочетанным действием как внутри-, так и межклеточных регуляторных механизмов.

На внутриклеточном уровне нейральная судьба клеток определяется количественным содержанием пронейральных белков *Achaete* (AC) и *Scute* (SC) – транскрипционных факторов, кодируемых одноименным комплексом пронейральных генов (*AS-C*), экспрессия которого контролируется центральным регуляторным контуром (Bukharina et al., 2012, 2016).

Изначально все клетки сформировавшегося пронейрального кластера эквипотентны относительно возможности стать РКМ. Окончательное переключение на развитие в нейральном направлении происходит при условии достижения в одной из клеток некоторого порогового уровня белков *ASC*, значительно превосходящего их содержание в клетках окружения. Клетки кластера, в которых необходимый уровень пронейральных белков не был

достигнут, теряют свою предрасположенность к развитию по нейральному пути и разделяют судьбу эпидермальных клеток имагинального диска (Gómez-Skarmeta et al., 2003; García-Bellido, de Celis, 2009).

Именно параметр содержания белков ASC составляет кардинальное отличие родительской клетки, которое достигается как определенным режимом функционирования ЦРК, так и благодаря межклеточному эффекту латерального ингибирования, когда прогениторная клетка в процессе становления своего статуса конститутивно блокирует возможность нейральной дифференцировки соседних клеток.

Латеральное ингибирование обеспечивает Notch-сигнальный путь, опосредуемый трансмембранными белками – рецептором Notch и его лигандом Delta. Роль источника сигнала отводится клетке-носителю Delta, а роль реципиента исполняет клетка-носитель Notch (Simpson, 1990; Kunisch et al., 1994; Pi, Chien, 2007; Barad et al., 2011; Troost, 2015; Corson et al., 2017; Couturier et al., 2019; Bocci et al., 2020).

Первоначально лиганд и receptor экспрессируются всеми клетками кластера, и вариации в экспрессии лигандов и рецепторов в соседних клетках незначительны, так что распространение сигнала не поляризовано и равновозможно для всех клеток до тех пор, пока в одной из них в результате случайных флюктуаций содержание лиганда не достигнет значений, достаточных для включения механизма латерального ингибирования. Одной из причин флюктуаций может являться, например, более ранний синтез лиганда, вызванный, в свою очередь, повышенным уровнем пронейральных белков, также возникшим в силу стохастичности внутриклеточных процессов.

Межклеточная передача сигнала приводит к активации в клетке-реципиенте генов комплекса *Enhancer of split (E(spl)-C)*, кодирующего одноименный транскрипционный фактор – репрессор активности генов *AS-C*, что влечет подавление их экспрессии, падение содержания одноименных белков и постепенное прекращение функционирования ЦРК.

Поскольку пронейральные белки активируют наработку Delta, в результате реципиентная клетка лишается способности индуцировать сигнал. В то же время в клетке-источнике сигнала, где ЦРК сохраняет активность, содержание белков ASC нарастает, и одновременно увеличивается содержание Delta. За счет такой положительной обратной связи достигается эффективное отклонение от начального содержания лиганда (Kunisch et al., 1994; Heitzler et al., 1996; Culi, Modolell, 1998; Usui et al., 2008; Couturier et al., 2019).

Так как направление передачи сигнала и его интенсивность определяются и количественным соотношением лиганд/активированный receptor на мембранах соседних клеток кластера в процессе транс-взаимодействия, постоянная наработка Delta в одной из клеток шаг за шагом превращает ее в единственный источник поляризованной передачи сигнала.

Приобретению клеткой главенствующего статуса единственного индуктора сигнала может способствовать и т. н. цис-ингибирование активности receptor, происходящее при колокализации Delta и Notch на ее мембране. При этом лиганд и receptor, экспрессируемые в одной и той же клетке, связываются друг с другом и инактивируют передачу сигналов Notch (Yasugi, Sato, 2022). Сочетание эффектов цис- и транс-взаимодействий лигандов с receptorами создает предпосылки для односторонней передачи сигнала клеткой-индуктором реципиентным клеткам окружения (Becam et al., 2010; Fiúza et al., 2010; del Álamo et al., 2011; Formosa-Jordan, Ibañes, 2014; Henrique, Schweiguth, 2019; Bocci et al., 2020).

В поляризации передачи сигнала участвует также белок Neuralised, осуществляющий убиквитинирование комплекса лиганда DI с внеклеточным доменом Notch с последующей эвакуацией комплекса с мембраны клетки-индуктора путем эндоцитоза и освобождением места на мембране для новых молекул DI. В прогениторной РКМ (индукторе сигнала) содержание Neur нарастает благодаря активации транскрипции одноименного гена пронейральными белками, что интенсифицирует обновление пула лиганда на поверхности клетки-индуктора и способствует тем самым поляризации передачи сигнала (Lai et al., 2001; Le Borgne et al., 2005; Weinmaster, Fischer, 2011; Miller, Posakony, 2018).

Дополнительный стимул наработки белков ASC в прогениторной клетке создает антагонист Notch-пути – EGFR сигнальный путь, с участием лиганда Spitz запускающий авторегуляторную петлю экспрессии пронейральных генов, что в свою очередь интенсифицирует наработку Delta и тем самым усиливает генерацию сигнала подавления способности соседних клеток к превращению в РКМ (Culi et al., 2001).

В результате создается ситуация, когда единственная клетка – индуктор сигнала – оказывается в окружении клеток, способных лишь к его восприятию. При этом в клетке стабилизируется состояние автономной экспрессии *AS-C*, при котором достигается критически необходимое содержание пронейральных белков, позволяющее ей стать родоначальницей mechanoreceptor, тогда как в остальных клетках кластера содержание

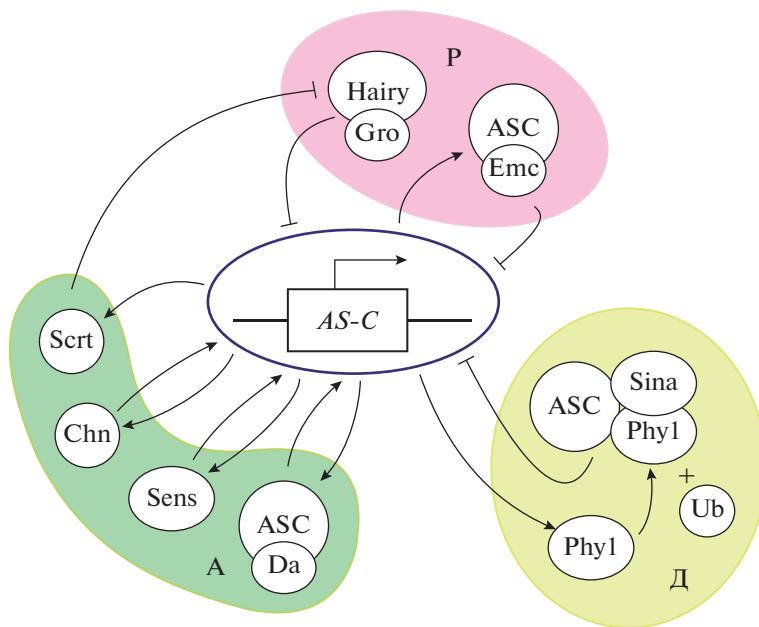


Рис. 3. Схема регуляторных взаимодействий в ЦРК генной сети “Neurogenesis: determination”, регламентирующих функциональное состояние пронейральных генов и белков. А – блок активации транскрипции *AS-C* (гетеродимеры Da/ASC, Sens, Chn, Scrt); Р – блок репрессии транскрипции *AS-C* (гетеродимеры Emc/ASC и Hairy/Gro); Д – блок деградации пронейральных белков (комплекс Phy1/Sina/ASC и Ub). Заостренные стрелки обозначают активирующее, а стрелки с тупыми концами – репрессорное воздействие на экспрессию генов *AS-C*.

пронейральных белков падает, и они утрачивают возможность нейрального пути дифференцировки, возвращаясь к эпидермальному статусу (Cubas et al., 1991; Martinez, Modolell, 1991; Usui, Kimura, 1992; Chang et al., 2008).

Таким образом, внутри- и межклеточные регуляторные механизмы обеспечивают оптимизацию функционирования *AS-C* как основного компонента, детерминирующего формирование механорецептора, определяя “точечную” позиционную специфичность экспрессии подконтрольных ЦРК пронейральных генов *AS-C* и тем самым топографию щетинокочного рисунка.

СОСТАВ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО КОНТУРА

Судьбоносное событие, критически важное для морфогенеза механорецептора, состоит в выделении из пронейрального кластера родительской клетки, которое обеспечивается корректным функционированием генов *AS-C* под управлением центрального регуляторного контура, осуществляющего внутриклеточный контроль активности комплекса.

Кроме *AS-C*, в состав ЦРК входят гены *hairy*, *senseless* (*sens*), *charlatan* (*chn*), *scratch* (*scrt*), *phyllopod* (*phy1*). Гены объединены в функциональную систему прямыми и обратными связями посред-

ством белков и белковых комплексов, активирующих или репрессирующих транскрипцию генов-мишеней.

Набор белков ЦРК представлен транскрипционными факторами (ASC, Hairy, Sens, Chn, Scrt), кофакторами (Daughterless – Da, Extramacrochaetae – Emc, Groucho – Gro), участниками системы протеасомной деградации белков – убиквитином (Ubiquitin – Ub) и E3 убиквитин лигазой Seven-in-absentia (Sina) и белком-адаптором для Sina – Phyllopod (Phyl) (Furman, Bukharina, 2009; Bukharina et al., 2012, 2016). Список генов и белков, составляющих ЦРК, приведен в табл. 1.

Все гены, входящие в ЦРК, служат для ASC целевыми объектами прямого действия. Единственное исключение составляет *hairy*, активность которого они репрессируют непрямым образом, инициируя экспрессию транскрипционного фактора Scrt, в свою очередь репрессирующего активность *hairy* (рис. 3).

На экспрессию собственных генов белки ASC действуют и как активаторы и как репрессоры транскрипции в зависимости от кофактора, с которым они образуют гетеродимерные регуляторно активные комплексы – Da или Emc соответственно (рис. 3).

Контур обеспечивает достижение и поддержание порогового уровня белков ASC в единственной клетке пронейрального кластера, что и определяет ее статус родительской клетки меха-

Таблица 1. Список генов и белков, входящих в ЦРК

Название гена	Источник данных	Название белка	Функция белка	Источник данных
<i>achaete (ac)</i>	FlyBase ID FBgn0000022	Achaete (Ac)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – P10083
<i>scute (sc)</i>	FlyBase ID FBgn0004170	Scute (Sc)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – P10084
<i>hairy (h)</i>	FlyBase ID FBgn0001168	Hairy (H)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – P14003
<i>senseless (sens)</i>	FlyBase ID FBgn0002573	Senseless (Sens)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – Q9N658
<i>charlatan (chn)</i>	FlyBase ID FBgn0015371	Charlatan (Chn)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – Q7YU81
<i>scratch (scrt)</i>	FlyBase ID FBgn0004880	Scratch (Scrt)	Транскрипционный фактор	UniProtKB – Q7KMM2 UniProtKB – Q24140
<i>daughterless (da)</i>	FlyBase ID FBgn0267821	Daughterless (Da)	Коактиватор транскрипции <i>AS-C</i> в комплексе с ASC	UniProtKB – P11420
<i>extramacrochaetae (emc)</i>	FlyBase ID	Extramacrochaetae (Emc)	Корепрессор транскрипции <i>AS-C</i> в комплексе с ASC	UniProtKB – P18491
<i>groucho (gro)</i>	FlyBase ID FBgn0001139	Groucho (Gro)	Корепрессор транскрипции <i>AS-C</i> в комплексе с Hairy	UniProtKB – P16371
<i>ubiquitin (ub)</i>	FlyBase ID FBgn0029856	Ubiquitin (Ub)	Участник убиквитин-протеасомного пути деградации белков	UniProtKB – R9PY16
<i>seven-in-absentia (sina)</i>	FlyBase ID FBgn0003410	Seven-in-absentia (Sina)	E3 убиквитин лигаза, участник системы протеасомной деградации белков	UniProtKB – P21461
<i>phyllodop (phyl)</i>	FlyBase ID FBgn0013725	Phyllodop (Phyl)	Адапторный компонент E3 убиквитин-лигазного комплекса	UniProtKB – Q27934

норецептора. По-видимому, функционирование контура начинается еще на стадии формирования пронейральных кластеров, за 35–40 ч до образования pupariума, когда в клетках имагинального диска впервые отмечается экспрессия генов *AS-C*, и продолжается до первого митоза родительской клетки (Cubas et al., 1991; Skeath, Carroll, 1991).

Экспрессия генов *AS-C* и содержание белков ASC регулируется тремя блоками ЦРК разной функциональной направленности: блоком активации транскрипции *AS-C*; блоком репрессии транскрипции *AS-C* и блоком, отвечающим за деградацию белков ASC (рис. 3).

В процессе сегрегации родительской клетки механорецептора условно можно выделить две

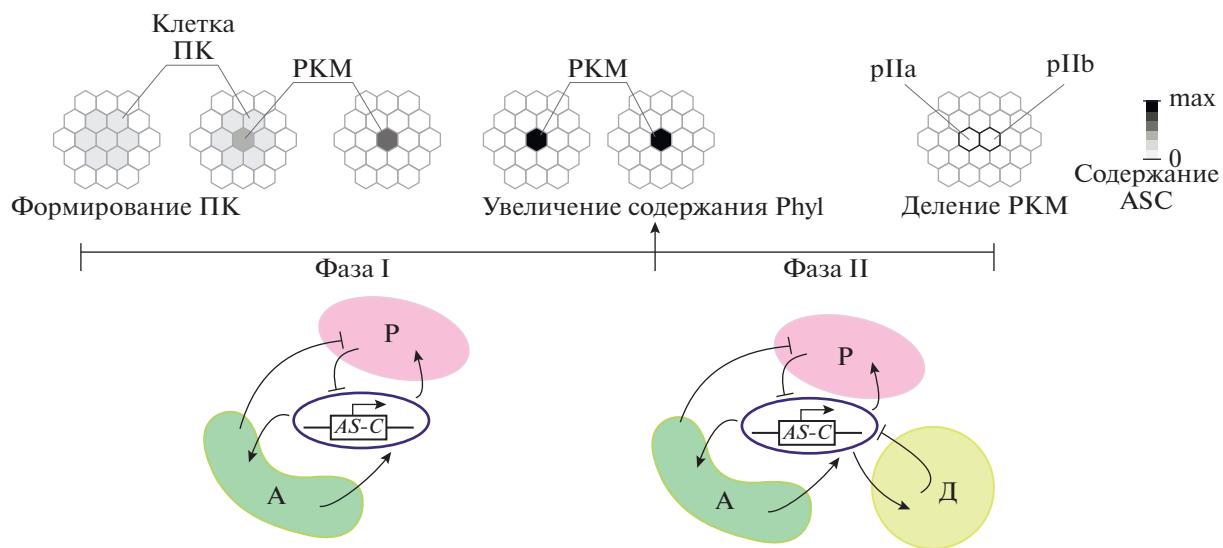


Рис. 4. Две фазы функционирования ЦРК в родительской клетке механорецептора. А – блок активации, Р – блок репрессии, Д – блок деградации. Градиентом серого обозначены относительные уровни пронейральных белков в РКМ и клетках окружания.

фазы. Продолжительность первой соответствует периоду установления ее нейрального статуса, связанного с достижением максимального содержания пронейральных белков, и варьирует для механорецепторов разного типа и различной локализации, составляя не менее 10-ти часов (Cubas et al., 1991; Huang et al., 1991; Pi et al., 2004; Chang et al., 2008).

В составе ЦРК в этот период функционируют только блоки активации и репрессии, причем эффект блока активации превалирует, обеспечивая увеличение содержания белков ASC до максимального значения и удержание его на этом уровне. Эффект достигается как за счет прямой активации транскрипции *AS-C* белками *Sens*, *Chn* и гетеродимерами *ASC/Da*, так и за счет репрессии транскрипции *hairy*, обусловленной действием *Scrt* (рис. 4, фаза I) (Furman, Bukharina, 2009; Bukharina et al., 2012, 2016).

Показана корреляция достигнутых пиковых значений уровня пронейральных белков с задержкой клеточного цикла РКМ на стадии G2 (Usui, Kimura, 1992; Kimura et al., 1997; Nègre et al., 2003; Chang et al., 2008). Для перехода клетки к первому дифференцирующему делению требуется снижение их содержания, которое происходит в течение второй фазы функционирования ЦРК. Продолжительность этой фазы значительно короче, в частности при формировании микрохет она занимает 2–4 ч (Chang et al., 2008). По ее окончании белки ASC перестают детектироваться, и клетка переходит к митозу (Pi et al., 2004; Chang et al., 2008).

В это время доминирующее влияние переходит к блоку деградации пронейральных белков (рис. 4, фаза II). Деградация белков ASC феноменологически сопряжена с адапторным белком *Phyl*, экспрессию которого запускают пронейральные белки (Pi et al., 2001, 2004; Chang et al., 2008; Miller et al., 2014). Показано, что экспрессия *phyl* в клетках пронейральных кластеров существенно выше, чем в эпидермальных клетках окружения (Reeves, Posakony, 2005), а в РКМ превышает соответствующие характеристики для клеток кластера, уже утративших к моменту обособления РКМ свою нейральную потенцию (Buffin, Gho, 2010).

Белок *Phyl* востребован во время двух стадий морфогенеза внешних сенсорных органов – сначала при детерминации родительской клетки, а затем в спецификации клеточной судьбы ее потомков от первого клеточного деления, будучи одной из мишенией для *Notch* сигнального пути. В то же время наличие этого белка предопределяет возможность перехода прогениторных клеток к первому митозу. Мутации одноименного гена проявляются нарушением формирования полноценного щетинокочного рисунка (Pi et al., 2001, 2004, 2007; Chang et al., 2008).

Phyl входит в состав убиквитинизирующего комплекса *Phyl/Sina*. Функция комплекса состоит в реализации необходимого этапа метаболизма белков в клетке – опознавании белков, в том числе и ASC, предназначенных для деградации и утилизации в протеасомах (Pi et al., 2001; Li et al., 2002; Chang et al., 2008; Shilo, 2009). Целенаправлен-

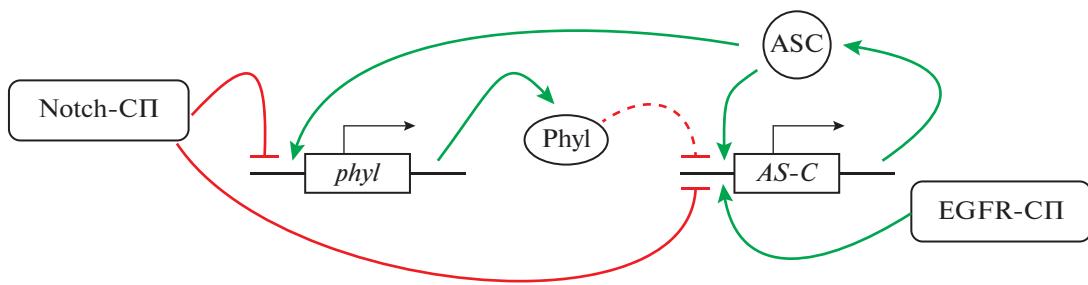


Рис. 5. Механизмы регуляции экспрессии *phyl* в РКМ механорецептора. Заостренные стрелки (\uparrow) указывают на активирующее, а стрелки с тупыми концами (\rightarrow) – на репрессирующее прямое (сплошная линия) и непрямое (пунктирная линия) воздействие на целевой ген.

ная деградация белков через убиквитин/протеасомный путь является важным и широко используемым механизмом контроля динамики клеточных регуляторов, в данном случае – транскрипционных факторов, каковыми являются пронейральные белки.

Снижение содержания белков ASC влечет ослабление влияния активаторного блока ЦРК и одновременное усиление влияния репрессорного блока на экспрессию собственных генов (рис. 3 и рис. 4, фаза II). В итоге происходит остановка их транскрипции, что служит дополнительным фактором истощения пула одноименных белков. Образующаяся петля отрицательной обратной связи, инициированная белками ASC, задает продолжительность предмитотической стадии G2 клеточного цикла и самую возможность перехода родительской клетки к делению, т.е., запуская собственную деградацию, эти белки контролируют время вступления родительских клеток в митоз (Chang et al., 2008).

Таким образом, пронейральные белки играют двоякую роль в судьбе РКМ, сначала удерживая ее на стадии G2 до окончательного определения нейрального статуса, а затем разрешая переход к делению через активацию процесса собственной деградации, действующую по механизму образующейся петли отрицательной обратной связи ASC-Phyl.

Остановка клеточного цикла имеет существенное значение для развития механорецепторов. Показано, что сокращение стадии G2 приводит к нарушению детерминации РКМ и отклонениям от стандартного числа, размера и расположения механорецепторов (Usui, Kimura, 1992; Kimura et al., 1997; Nègre et al., 2003; Ayeni et al., 2016; Meserve, Duronio, 2017). Задержка обеспечивает необходимые условия для накопления достаточного уровня пронейральных белков, поскольку на время митоза процессы синтеза прекращаются (Kimura et al., 1997).

Кроме того, пролонгация этой стадии, с одной стороны предотвращает несанкционированное деление родительских клеток, которое могло бы привести к отклонению от развития регламентированного числа механорецепторов, и, с другой стороны, создает предпосылки для синхронизации делений РКМ. Возможно, для инициации митозов необходим некий генерализованный регуляторный сигнал, каковым может оказаться экодизон, определенный уровень которого необходим для формирования органов периферической нервной системы дрозофилы (Sliter, 1989; Henrich et al., 1993).

Синхронизация клеточных делений особенно важна для формирования многоэлементных регулярных структур и наблюдается, в частности, в популяции родительских клеток микрохет нотума и многочисленных сенсилл края крыла дрозофилы (Hartenstein, Posakony, 1989; Huang et al., 1991; Nègre et al., 2003; Ayeni et al., 2016).

Таким образом, две фазы функционирования ЦРК различаются одним компонентом – белком Phyl. Впервые Phyl обнаруживается в родительской клетке значительно позднее белков ASC, для которых ген *phyl* является транскрипционной мишенью (Pi et al., 2004; Chang et al., 2008).

Биологический смысл такой отсроченной экспрессии Phyl при детерминации родительской клетки состоит, видимо, в необходимости накопления пронейральных белков до уровня, необходимого для безальтернативного перехода клетки в нейральный статус.

Экспрессия *phyl* в РКМ находится под действием разнонаправленных механизмов контроля – негативной регуляции его активности через Notch сигнальный путь (Pi et al., 2001; Chang et al., 2003) и позитивной регуляции через пронейральные белки и EGFR сигнальный путь (Pi et al., 2004; Huang et al., 2004; Pi, Chien, 2007; Chang et al., 2008; Miller et al., 2014) (рис. 5).

Пока в течение первой фазы функционирования ЦРК происходит необходимая для определе-

ния нейральной судьбы клетки наработка пронейральных белков по механизму автоактивации генов *AS-C* и с участием Notch- и EGFR сигнальных путей, *phyl*, видимо, в большей степени испытывает репрессивное влияние, так что его экспрессия выражена слабо, и содержание соответствующего белка в клетке незначительно.

С достижением порогового уровня пронейральных белков происходит перераспределение факторов воздействия на экспрессию *phyl* – негативное влияние Notch путем ослабевает, тогда как активирующее влияние *ASC* начинает преобладать. В результате интенсифицируется наработка *Phyl*, что через какое-то время приводит к снижению содержания пронейральных белков за счет создавшейся петли отрицательной обратной связи и, как следствие, переходу РКМ к первому асимметричному делению.

Следует заметить, что отложенное появление белка или интенсивное его накопление в количествах, значимых для изменения состояния клетки, является достаточно распространенным явлением. Аналогичные эффекты описаны для многих белков дрозофилы и позвоночных. Хрестоматийный пример такого рода дают некоторые белки теплового шока дрозофилы, для которых характерно низкое базальное содержание в клетке в стандартных условиях и быстрое его возрастание в ответ на индуцирующий сигнал – повышение температуры, уровень экдизона и др., а также многие белки, связанные с онтогенетическими процессами и/или участвующие в сигнальных путях. Такой режим может быть важен как для синхронизации клеточных популяций в ходе онто- и морфогенеза, так и для быстрой координированной активации генов в короткое время и/или при быстрой дифференцировке (Lagha et al., 2013; Saunders et al., 2013; Gaertner, Zeitlinger 2014; Watts et al., 2019; Abuhashem et al., 2022).

Отсроченная экспрессия функционально активного белка может обеспечиваться различными механизмами на всех этапах его наработки – от инициации транскрипции соответствующего гена до пост-трансляционных модификаций. Инициация транскрипции рассматривается как самый распространенный регулятор временной и пространственной активности генов и, соответственно, временных характеристик динамики появления или накопления соответствующих белков (Lagha et al., 2013; Saunders et al., 2013; Gaertner, Zeitlinger 2014; Watts et al., 2019; Abuhashem et al., 2022). Возможно, что и наблюдаемое отложенное появление *Phyl* связано с эффектом задержки транскрипции соответствующего гена.

Предлагаемые сценарии только феноменологически описывают закономерности выделения РКМ как основного этапа формирования ме-

ханорецептора и роли участвующих генов и белков под управлением ЦРК. К сожалению, их конкретизация в настоящее время не представляется возможной, поскольку отсутствуют полные экспериментальные данные о динамических параметрах, характеризующих этот процесс в целом, как и детали транскрипционной активности генов и координированного синтеза и деградации целевых белков.

Существенно, что, как показывают результаты математического и компьютерного моделирования функционирования ЦРК в родительской клетке механорецептора при допущении биологически оправданных параметрах модели, контур функционирует без осцилляций и обеспечивает нарастание уровня белков *ASC* до порогового значения с выходом на плато и последующим снижением до фоновых значений, что свидетельствует о канализованности процесса детерминации РКМ и ее подготовки к асимметричному делению (Golubutnikov et al., 2018; Bukharina et al., 2020). Таким образом, функционирование ЦРК регламентирует экспрессию пронейральных генов, обеспечивая определенное число и позиционирование механорецепторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленными многолетними исследованиями установлено, что пронейральным генам *achaete* и *scute* комплекса *AS-C* принадлежит главенствующая роль в реализации программы морфогенеза механорецепторов дрозофилы на всех этапах его становления – от выделения пронейральных кластеров из массы эпидермальных клеток имагинального диска до асимметричного деления прогениторных клеток.

Их функция состоит в двухэтапном определении судьбы клеток имагинального диска, сначала наделяя клетки пронейрального кластера потенциалом к развитию в нейральном направлении с возможностью изменения траектории развития, а затем детерминируя статус родительской клетки механорецептора с базальтернативным переключением в направлении нейральной дифференцировки путем ограничения собственной активности пределами родительской клетки и ингибирования собственной экспрессии в окружающих клетках кластера.

При этом в клетках пронейрального кластера содержание белков *ASC* находится на базальном уровне, тогда как в родительской клетке оно сначала наращивается до максимальных значений, что останавливает клеточный цикл на стадии G2, а затем снижается, что позволяет клетке перейти к митозу.

Детерминацию РКМ как основной этап морфогенеза механорецепторов поддерживает генетическая сеть “Neurogenesis: determination”, а модуляцию экспрессии генов *AS-C* в рамках этой сети контролирует центральный регуляторный контур.

Функционирование ЦРК обеспечивает достижение и последующее поддержание в течение определенного времени уровня пронейральных белков, которым детерминируется нейральный статус РКМ. Система сбалансированных регуляторных взаимодействий компонентов контура задает единственно правильный режим его функционирования и как результат — однозначную детерминацию родительской клетки механорецептора и направления специализации ее потомков. Существенно, что динамический процесс изменения содержания белков *ASC*, определяющий этот статус, не является осциллирующим, а последовательно проходит три фазы: 1) накопление *ASC*, 2) выход содержания *ASC* на плато, 3) снижение содержания *ASC* до остаточных значений, что подтверждается как экспериментальными данными, так и результатами математического и компьютерного моделирования (Pi et al., 2004; Chang et al., 2008; Bukharina et al., 2012, 2016, 2020; Golubyatnikov et al., 2018).

Регуляторные контуры с положительными и отрицательными обратными связями осуществляют настройку функционирования генетических сетей, что позволяет находящимся под их управлением сетям достигать и поддерживать определенный функциональный статус и/или оперативно менять режим функционирования в условиях новых ситуаций, возникающих под влиянием внешних и внутренних факторов, оптимизируя реализацию генетических программ. Характерным свойством регуляторных контуров является авторегуляция, позволяющая эффективно контролировать экспрессию входящих в них генов, что особенно важно в случае транскрипционных факторов, причастных к таким процессам, как детерминация и поддержание клеточной судьбы и дифференцировка (Crews, Pearson, 2009).

Рассмотренный ЦРК, принимающий на себя функцию тонкой настройки экспрессии генов комплекса *achaete-scute*, кодирующих транскрипционные факторы, может служить одним из примеров механизма реализации общей стратегии направленного и необратимого определения клеточной судьбы в процессе морфогенеза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта № FWNR-2022-0020 “Системная биология и биоинформатика: реконструкция, анализ и моделирование структурно-функциональной организации и эволю-

ции генетических сетей человека, животных, растений и микроорганизмов”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При выполнении данного исследования люди и животные в качестве объектов не использовались.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

Авторы внесли одинаковый вклад в подготовку статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бухарина Т.А., Фурман Д.П. Генетический контроль развития механорецепторов у *Drosophila melanogaster* — описание в базе данных “NEUROGENESIS” // Информ. Вест. ВОГиС. 2009. Т. 13. № 1. С. 186–193.
- Фурман Д.П., Бухарина Т.А. Анализ генетической сети “NEUROGENESIS: PREPATTERN”, контролирующей первый этап формирования щетиночного узора у *Drosophila melanogaster* // Вавил. журн. ген. сел. 2016. Т. 20. № 6. С. 832–839.
<https://doi.org/10.18699/VJ16.199>
- Abuhashem A., Garg V., Hadjantonakis A.K. RNA polymerase II pausing in development: orchestrating transcription // Open Biol. 2022. V. 12. № 1. P. 210–220.
<https://doi.org/10.1098/rsob.210220>
- Ananko E.A., Kolpakov F.A., Kolchanov N.A. GeneNet database: a technology for a formalized description of gene networks // Proc. of the Second International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. BGRS’2000. Novosibirsk, Russia. 2000. P. 174–177.
- Ayeni J.O., Audibert A., Fichelson P. et al. G2 phase arrest prevents bristle progenitor self-renewal and synchronizes cell division with cell fate differentiation // Development. 2016. V. 143. № 7. P. 1160–1169.
<https://doi.org/10.1242/dev.134270>
- Barad O., Hornstein E., Barkai N. Robust selection of sensory organ precursors by the Notch-Delta pathway // Curr. Opin. Cell Biol. 2011. V. 23. № 6. P. 663–667.
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2011.09.005>
- Bardin A.J., Le Borgne R., Schweisguth F. Asymmetric localization and function of cell-fate determinants: a fly’s view // Curr. Opin. Neurobiol. 2004. V. 1. № 1. P. 6–14.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2003.12.002>
- Becam I., Fiúza U.M., Arias A.M., Milán M. A role of receptor Notch in ligand cis-inhibition in *Drosophila* // Curr. Biol. 2010. V. 20. № 6. P. 554–560.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.01.058>
- Bocci F., Onuchic J.N., Jolly M.K. Understanding the principles of pattern formation driven by notch signaling by

- integrating experiments and theoretical models // *Front Physiol.* 2020. V. 11. P. 929.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00929>
- Buffin E., Gho M.* Laser microdissection of sensory organ precursor cells of *Drosophila* microchaetes // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 2. e9285.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009285>
- Bukharina T.A., Golubyatnikov V.P., Golubyatnikov I.V., Furman D.P.* Model investigation of central regulatory contour of gene net of *D. melanogaster* macrochaete morphogenesis // *Rus. J. Dev. Biol.* 2012. V. 43. № 1. P. 49–53.
<https://doi.org/10.1134/S106236041201002X>
- Bukharina T.A., Furman D.P.* The mechanisms determining bristle pattern in *Drosophila melanogaster* // *Russ. J. Dev. Biol.* 2015. V. 4. № 3. P. 99–110.
<https://doi.org/10.1134/S1062360415030029>
- Bukharina T.A., Golubyatnikov V.P., Furman D.P.* Gene network controlling the morphogenesis of *D. melanogaster* macrochaetes: an expanded model of the central regulatory circuit // *Rus. J. Dev. Biol.* 2016. V. 47. № 5. P. 288–293.
<https://doi.org/10.1134/S1062360416050040>
- Bukharina T.A., Akinshin A.A., Golubyatnikov V.P., Furman D.P.* Mathematical and numerical models of the central regulatory circuit of the morphogenesis system of *Drosophila* // *J. Appl. Ind. Math.* 2020. V. 14. № 2. P. 249–255.
<https://doi.org/10.1134/S1990478920020040>
- 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. № 1–2. P. 1–12.
[https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(02\)00628-5](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(02)00628-5)
- Chang C.W. Pi H., Chien C.T., Hsu C.P.* Network modeling of *Drosophila* external sensory organ precursor formation: the role of recently studied genes // *J. Genet. Mol. Biol.* 2003. V. 14. № 4. P. 243–251.
- Chang P.J., Hsiao Y.L., Tien A.C. et al.* Negative-feedback regulation of proneural proteins controls the timing of neural precursor division // *Development.* 2008. V. 135. № 18. P. 3021–3030.
<https://doi.org/10.1242/dev.021923>
- Corson F., Couturier L., Rouault H. et al.* Self-organized Notch dynamics generate stereotyped sensory organ patterns in *Drosophila* // *Science.* 2017. V. 356. № 6337. P. 501.
<https://doi.org/10.1126/science.aai7407>
- Couturier L., Mazouni K., Schweisguth F.* Inhibition of Notch recycling by Numb: relevance and mechanism(s) // *Cell Cycle.* 2013. V. 12. № 11. P. 1647–8.
<https://doi.org/10.4161/cc.24983>
- Couturier L., Mazouni K., Corson F., Schweisguth F.* Regulation of Notch output dynamics via specific E(spl)-HLH factors during bristle patterning in *Drosophila* // *Nat. Commun.* 2019. V. 10(1). P. 3486.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-11477-2>
- Crews S.T., Pearson J.C.* Transcriptional autoregulation in development // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. № 6. R241–246.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.01.015>
- 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. V. 5. № 6. P. 996–1008.
<https://doi.org/10.1101/gad.5.6.996>
- 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. № 13. P. 2036–2047.
<https://doi.org/10.1101/gad.12.13.2036>
- Culi J., Martín-Blanco E., Modolell J.* The EGF receptor and N signalling pathways act antagonistically in *Drosophila* mesothorax bristle patterning // *Development.* 2001. V. 128. № 2. P. 299–308.
- del Álamo D., Rouault H., Schweisguth F.* Mechanism and significance of cis-inhibition in Notch signalling // *Curr. Biol.* 2011 V. 21. № 1. R40–R47.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.10.034>
- Fichelson P., Audibert A., Simon F., Gho M.* Cell cycle and cell-fate determination in *Drosophila* neural cell lineages // *Trends Genet.* 2005. V. 21. № 7. P. 413–420.
<https://doi.org/10.1016/j.tig.2005.05.010>
- Fluza U.-M., Klein T., Arias A.M., Hayward P.* Mechanisms of ligand-mediated inhibition in Notch signaling activity in *Drosophila* // *Dev. Dyn.* 2010. V. 239. № 3. P. 798–805.
<https://doi.org/10.1002/dvdy.22207>
- Formosa-Jordan P., Ibañes M.* Competition in Notch signalling with cis enriches cell fate decisions // *PLoS ONE.* 2014. V. 9. № 4. e95744.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095744>
- Furman D.P., Bukharina T.A.* Genetic control of macrochaetae development in *Drosophila melanogaster* // *Russ. J. Dev. Biol.* 2008a. V. 39. № 4. P. 195–206.
<https://doi.org/10.1134/S1062360408040012>
- Furman D.P., Bukharina T.A.* How *Drosophila melanogaster* forms its mechanoreceptors // *Curr. Genomics.* 2008b. V. 9. № 5. P. 312–323.
<https://doi.org/10.2174/138920208785133271>
- Furman D.P., Bukharina T.A.* The gene network determining development of *Drosophila melanogaster* mechanoreceptors // *Comp. Biol. Chem.* 2009. V. 33. P. 231–234.
<https://doi.org/10.1016/j.combiolchem.2009.04.001>
- Furman D.P., Bukharina T.A.* *Drosophila* mechanoreceptors as a model for studying asymmetric cell division // *Int. J. Dev. Biol.* 2011. V. 55. № 2. P. 133–141.
<https://doi.org/10.1387/ijdb.103129df>
- Furman D.P., Bukharina T.A.* Morphogenesis of *Drosophila melanogaster* macrochaetes: cell fate determination for bristle organ // *J. Stem Cells.* 2012. V. 7. № 1. P. 19–41.
- Furman D.P., Bukharina T.A.* The development of bristle pattern in *Drosophila melanogaster*: prepattern and achaete–scute genes // *Vavilov J. Genetics and Breeding.* 2018. V. 22. № 8. P. 1046–1054.
<https://doi.org/10.18699/VJ18.449>
- Gaertner B., Zeitlinger J.* RNA polymerase II pausing during development // *Development.* 2014. V. 141. № 6.

- P. 1179–1183.
<https://doi.org/10.1242/dev.088492>
- 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. № 3. P. 631–639.
<https://doi.org/10.1534/genetics.109.104083>
- Ghysen A., Dambly-Chaudiere C.* Genesis of the *Drosophila* peripheral nervous system // *Trends Genet.* 1989. V. 5. P. 251–255.
- Giebel B., Wodarz A.* Notch signaling: numb makes the difference // *Curr. Biol.* 2012. V. 22. № 4. R133–R135.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.01.006>
- Golubyatnikov V.P., Kazantsev M.V., Kirillova N.E. et al.* Mathematical and numerical models of two asymmetric gene networks // *Siberian Electron. Math. Rep.* 2018. V. 15. P. 1271–1283.
<https://doi.org/10.17377/semi.2018.15.103>
- Gomez-Skarmeta J.L., Campuzano S., Modolell J.* Half a century of neural prepatternning: the story of a few bristles and many genes // *Nat. Rev. Neurosci.* 2003. V. 4. № 3. P. 587–598.
<https://doi.org/10.1038/nrn1142>
- Hartenstein V., Posakony J.W.* Development of adult sensilla on the wing and notum of *Drosophila melanogaster* // *Development*. 1989. V. 107. № 2. P. 389–405.
- Hartenstein V.* Development of insect sensilla // In: *Comprehensive Molecular Insect Science* / Ed. Gilbert L.I. Amsterdam; Boston: Elsevier, 2005. V. 1. P. 379–419.
<https://doi.org/10.1016/b0-44-451924-6/00012-0>
- Heitzler P., Bourouis M., Ruel L. et al.* Genes of the enhancer of split and achaete-scute complexes are required for a regulatory loop between Notch and Delta during lateral signalling in *Drosophila* // *Development*. 1996. V. 122. № 1. P. 161–171.
- Henrich V.C., Livingston L., Gilbert L.I.* Developmental requirements for the ecdysoneless (ecd) locus in *Drosophila melanogaster* // *Dev. Genet.* 1993. V. 14. № 5. P. 369–377.
<https://doi.org/10.1002/dvg.10201405068293578>
- Henrique D., Schweisguth F.* Mechanisms of Notch signalling: a simple logic deployed in time and space // *Development* 2019. V. 146. № 3. dev172148.
<https://doi.org/10.1242/dev.172148>
- Huang F., Dambly-Chaudiere C., Ghysen A.* The emergence of sense organs in the wing disc of *Drosophila* // *Development*. 1991. V. 111. P. 1087–1095.
- Johnson S.A., Zitserman D., Roegiers F.* Numb regulates the balance between Notch recycling and late-endosome targeting in *Drosophila* neural progenitor cells // *Mol. Biol. Cell.* 2016. V. 27. № 18. P. 2857–2866.
<https://doi.org/10.1091/mbc.E15-11-0751>
- Kimura K., Usui-Ishihara A., Usui K.* G2 arrest of cell cycle ensures a determination process of sensory mother cell formation in *Drosophila* // *Dev. Genes Evol.* 1997. V. 207. № 3. P. 199–202.
<https://doi.org/10.1007/s004270050108>
- Kunisch M., Haenlin M., Campos-Ortega J.A.* Lateral inhibition mediated by the *Drosophila* neurogenic gene Delta is enhanced by proneural proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. № 21. 10139–10143.
<https://doi.org/10.1073/pnas.91.21.10139>
- Lagha M., Bothma J.P., Esposito E. et al.* Paused Pol II coordinates tissue morphogenesis in the *Drosophila* embryo // *Cell*. 2013. V. 15. № 5. P. 976–987.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.045>
- Lai E.C., Debladre G.A., Kintner C., Rubin G.M.* *Drosophila* Neuralized is a ubiquitin ligase that promotes the internalization and degradation of Delta // *Devel. Cell.* 2001. V. 1. № 6. P. 783–794.
- Lai E.C., Orgogozo V.A.* Hidden program in *Drosophila* peripheral neurogenesis revealed: fundamental principles underlying sensory organ diversity // *Dev. Biol.* 2004. V. 269. № 1. P. 1–17.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.01.032>
- Le Borgne R., Bardin A., Schweisguth F.* The roles of receptor and ligand endocytosis in regulating Notch signaling // *Development*. 2005. V. 132. P. 1751–1762.
- Li S., Xu C., Carthew R.W.* Phyllopod acts as an adaptor protein to link the sina ubiquitin ligase to the substrate protein tramtrack // *Mol. Cell Biol.* 2002. V. 22. № 19. P. 6854–6865.
<https://doi.org/10.1128/MCB.22.19.6854-6865.2002>
- Martinez C., Modolell J.* Cross-regulatory interactions between the proneural achaete and scute genes of *Drosophila* // *Science*. 1991. V. 251. № 5000. P. 1485–1487.
<https://doi.org/10.1126/science.1900954>
- Meserve J.H., Duronio R.J.* A population of G2-arrested cells are selected as sensory organ precursors for the interommatidial bristles of the *Drosophila* eye // *Dev. Biol.* 2017. V. 430. № 2. P. 374–384.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.06.023>
- Miller S.W., Rebeiz M., Atanasov J.E., Posakony J.W.* Neural precursor-specific expression of multiple *Drosophila* genes is driven by dual enhancer modules with overlapping function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. № 48. P. 17194–17199.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1415308111>
- Miller S.W., Posakony J.W.* Lateral inhibition: Two modes of non-autonomous negative autoregulation by *Neuralized* // *PLoS Genet.* 2018. V. 14. № 7. P. e1007528.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007528>
- Nègre N., Ghysen A., Martinez A.-M.* Mitotic G2-arrest is required for neural cell fate determination in *Drosophila* // *Mech. Dev.* 2003. V. 120. № 2. P. 253–265.
[https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(02\)00419-7](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(02)00419-7)
- Pi H., Wu H.J., Chien C.T.* A dual function of phyllopod in *Drosophila* external sensory organ development: cell fate specification of sensory organ precursor and its progeny // *Development*. 2001. V. 28. № 14. P. 2699–2710.
- Pi H., Huang S.K., Tang C.Y., Sun Y.H., Chien C.T.* Phyllopod is a target gene of proneural proteins in *Drosophila* external sensory organ development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 22. P. 8378–8383.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0306010101>

- Pi H., Chien C.T.* Getting the edge: neural precursor selection // *J. Biomed. Sci.* 2007. V. 14. № 4. P. 467–473.
<https://doi.org/10.1007/s11373-007-9156-4>
- Reeves N., Posakony J.W.* Genetic programs activated by proneural proteins in the developing *Drosophila* PNS // *Dev. Cell.* 2005. V. 8. № 3. P. 413–425.
- Renaud O., Simpson P.* Movement of bristle precursors contributes to the spacing pattern in *Drosophila* // *Mech. Dev.* 2002. V. 119. № 2. P. 201–211.
[https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(02\)00381-7](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(02)00381-7)
- Roegiers F., Younger-Shepherd S., Jan L.Y., Jan Y.N.* Two types of asymmetric divisions in the *Drosophila* sensory organ precursor cell lineage // *Nat. Cell Biol.* 2001. V. 3. № 1. P. 58–67.
<https://doi.org/10.1038/35050568>
- Roegiers F., Jan Y.N.* Asymmetric cell division // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2004. V. 16. № 2. P. 195–205.
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.02.010>
- Saunders A., Core L.J., Sutcliffe C. et al.* Extensive polymerase pausing during *Drosophila* axis patterning enables high-level and pliable transcription // *Genes Dev.* 2013 V. 27. № 10. P. 1146–1158.
<https://doi.org/10.1101/gad.215459.113>
- Shilo B.Z.* Phyllopod at the intersection of developmental signalling pathways // *EMBO J.* 2009. V. 28. № 4. P. 311–312.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2008.291>
- Simpson P.* Lateral inhibition and the development of the sensory bristles of the adult peripheral nervous system of *Drosophila* // *Development.* 1990. V. 109. № 3. P. 509–519.
- Simpson P.* A prepatter for sensory organs. *Drosophila* development // *Curr. Biol.* 1996. № 6. P. 948–950.
- Simpson P., Woehl R., Usui K.* Development and evolution of bristle patterns in Diptera // *Development.* 1999. V. 126. № 7. P. 1349–1364.
- 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. № 6. P. 984–985.
<https://doi.org/10.1101/gad.5.6.984>
- Sliter T.J.* Imaginal disc-autonomous expression of a defect in sensory bristle patterning caused by the lethal(3)ecdysonless1 (1(3)ecd1) mutation of *Drosophila melanogaster* // *Development.* 1989. V. 106. № 2. P. 347–354.
- Stern C.* Two or three bristles // *Am. Sci.* 1954. V. 42. P. 213–247.
- Schweiguth F.* Asymmetric cell division in the *Drosophila* bristle lineage: from the polarization of sensory organ precursor cells to Notch-mediated binary fate decision // *Dev. Biol.* 2015. V. 4. № 3. P. 299–309.
<https://doi.org/10.1002/wdev.175>
- Troost T., Schneider M., Klein T.* A re-examination of the selection of the sensory organ precursor of the bristle sensilla of *Drosophila melanogaster* // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 1. P. e1004911.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004911>
- Usui K., Kimura K.I.* Sensory mother cells are singled out from among mitotically quiescent clusters of cells in the wing disc of *Drosophila* // *Development.* 1992. V. 116. № 3. P. 601–610.
- Usui K., Kimura K.I.* Sequential emergence of the evenly spaced microchaetes on the notum of *Drosophila* // *Roux's Arch. Dev. Biol.* 1993. V. 203. № 3. P. 151–158.
<https://doi.org/10.1007/BF00365054>
- Usui K., Goldstone C., Gibert J.M. et al.* Redundant mechanisms mediate bristle patterning on the *Drosophila* thorax // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. № 23. V. 105(51). P. 20112–20117.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0804282105>
- Usui-Ishihara A., Simpson P.* Differences in sensory projections between macro- and microchaetes in Drosophilid flies // *Dev. Biol.* 2005 V. 277. № 1. P. 170–183.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.09.017>
- Watts J.A., Burdick J., Daigneault J. et al.* Cis elements that mediate RNA polymerase II pausing regulate human gene expression // *Am. J. Hum. Genet.* 2019. V. 105. № 4. P. 677–688.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.08.003>
- Weinmaster G., Fischer J.A.* Notch ligand ubiquitylation: what is it good for? // *Dev. Cell.* 2011. V. 21. № 1. P. 134–144.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.06.006>
- Yasugi T., Sato M.* Mathematical modeling of Notch dynamics in *Drosophila* neural development // *Fly (Austin).* 2022. V. 16. № 1. P. 24–36.
<https://doi.org/10.1080/19336934.2021.1953363>
- zur Lage P., Jarman A.P.* Antagonism of EGFR and Notch signalling in the reiterative recruitment of *Drosophila* adult chordotonal sense organ precursors // *Development.* 1999. V. 126. № 14. P. 3149–3157.
<https://doi.org/10.1242/dev.126.14.3149>

Genetic Regulation of Morphogenesis of *Drosophila melanogaster* Mechanoreceptors

D. P. Furman^{1, 2, *} and T. A. Bukharina^{1, 2, **}

¹*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
pr. Akad. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

²*Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

*e-mail: furman@bionet.nsc.ru

**e-mail: bukharina@bionet.nsc.ru

The drosophila mechanoreceptors represented by macro- and microchaetae (bristles), residing on the head and body of imago according to a strictly ordered pattern, are the result of determined conversion of the ectodermal cells of imaginal discs into progenitor neural cells with subsequent differentiation of derivatives of

these cells into components of a mechanoreceptor. The definite mechanoreceptor consists of two superficial cuticular structures – bristle with socket and two underlying neural components – a neuron and a glial cell. The sensor organ forms in three stages: (1) segregation from the mass of ectodermal cells of domains potentially competent for the neural pathway of development – proneural clusters (PCs); (2) separation of a single sensory organ precursor (SOP) cell in every proneural cluster; and (3) its asymmetric division with further specialization of the daughter cells into the components of definitive mechanoreceptor. Bristle pattern formation is ordered in space and time. Spatial determination is due to the positioning of parental cells, while temporal determination is associated with two events of synchronization – the completion of SOP isolation for all mechanoreceptors by 1–10 hours after puparium formation and time limit for their entry into the first asymmetric mitosis. Our reconstruction and analysis of the molecular genetic system, which provides the listed events of morphogenesis of both individual mechanoreceptor and the overall bristle pattern, revealed its hierarchical organization. The elements of the system are grouped into three modules that correspond to the stages of sensory organ morphogenesis – the gene networks named “Neurogenesis: prepattern”, “Neurogenesis: determination”, and “Neurogenesis: asymmetric division”. This system limits the number of neurally predetermined cells, first to dozens at the level of clusters and then to a single parent cell within a cluster. The main attribute and connecting link of the networks is the *achaete-scute* (*AS-C*) proneural gene complex and the central regulatory circuit (CRC) controls its functioning at the stage of SOP isolation. In addition to *AS-C*, the CRC contains *hairy*, *senseless* (*sens*), *charlatan* (*chn*), *scratch* (*scrt*), and *phyllodop* (*phyl*) genes. These genes are linked by positive and negative feedbacks mediated via the proteins and protein complexes, which activate or repress transcription of their target genes. CRC functioning ensures a significant excess of the content of proneural proteins in a single cell of the cluster, which determines its status as a SOP cell. Analysis of the CRC operation has shown that its activity comprises two phases differing in the time when they act and the composition of their elements. A specific feature of the second phase is the presence of Phyl protein, involved in degradation of proneural AS-C proteins. In this review we briefly characterize the main stages of mechanoreceptor morphogenesis, the composition and relationships of the gene networks that support them, and consider the inter- and intracellular mechanisms of SOP segregation.

Keywords: drosophila, mechanoreceptors, *achaete-scute* gene complex, gene networks, central regulatory circuit