

## РОЛЬ ГЕНА *sbr/Dm nxf1* В СИНЦИТИАЛЬНЫЕ ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© Е. В. Голубкова,<sup>1</sup> А. А. Ацапкина, Л. А. Мамон

Кафедра генетики и селекции С.-Петербургского государственного университета;

<sup>1</sup>электронный адрес: elena\_golubkova@mail.ru

Синцитиальное развитие является характерной особенностью раннего эмбриогенеза и сперматогенеза у *Drosophila melanogaster*. Все элементы синцития связаны между собой единой цитоскелетной сетью, что создает для них равные условия и обеспечивает синхронность развития. Цитоскелет необходим для образования и функционирования веретен деления, элементы цитоскелета служат основным структурным компонентом ресничек и жгутиков, от цитоскелета зависят внутри- и межклеточный транспорт и морфообразовательные процессы как в пределах отдельной клетки, так и на уровне организма в целом. Ген *sbr* (small bristles) у дрозофилы *D. melanogaster* принадлежит к эволюционно консервативному семейству *nxf* (nuclear export factor). Ген *Dm nxf1* (*sbr*), как и его ортологи у других организмов, контролирует экспорт всех поли(А)-содержащих РНК из ядра в цитоплазму, поэтому соответствующие белки обычно локализуются в ядре или в составе ядерной оболочки. Мы показали, что белок SBR локализуется не только в ядре, но и в цитоплазме, выявляя характерные цитоплазматические структуры. Показанные нами нарушения цитоскелета у мутантов по гену *sbr* (*Dm nxf1*) у *D. melanogaster* и цитоплазматическая локализация белка SBR наряду с его присутствием в ядре или в районе ядерной оболочки позволяют связывать специализированные функции этого белка с динамикой цитоскелета.

Ключевые слова: *small bristles*, nuclear export factor 1, *Drosophila melanogaster*, эмбриогенез, сперматогенез, синцитий, цитоскелет.

Принятые сокращения: мРНК — матричная или информационная рибонуклеиновая кислота, РНП — рибонуклеопротеиновый комплекс, NXF (nuclear export factor) — фактор ядерного экспорта мРНК, *sbr* — *small bristles*, *Dm* — *Drosophila melanogaster*.

Ген *Dm nxf1* (nuclear export factor), у дрозофилы *Drosophila melanogaster* исходно названный *sbr* (small bristles), принадлежит к эволюционно консервативному семейству *nxf* (nuclear export factor). Как и его ортологи у других организмов, *Dm nxf1* отвечает за транспорт различных поли(А)-содержащих РНК из ядра в цитоплазму (Herold et al., 2001). Белок NXF1 относят к транспортным рецепторам мРНК, поскольку он состоит из доменов, обеспечивающих связь с РНК, и доменов, вовлеченных во взаимодействие с нуклеопоринами — белками ядерных поровых комплексов (рис. 1) (Herold et al., 2000; Fribourg et al., 2001). Экспорт мРНК из ядра осуществляется с участием белка NXF1, который, как правило, взаимодействует с мРНК через адапторные белки (Stutz et al., 2000; Rodrigues et al., 2001; Huang et al., 2004; Hautbergue et al., 2008). Адапторные белки в основном имеют родство к N-терминальной половине белка NXF1 (Stutz et al., 2000; Lai et al., 2006). Выполнению транспортных функций NXF1 способствует его взаимодействие с белком p15, имеющим еще одно название — NXT1 (NTF2-related export protein 1) (Katahira et al., 2002; Wiegand et al., 2002). Область взаимодействия с p15 приходится на NTF2-подобный домен (nuclear transport factor 2). Домен NTF2 имеет прокариотическое происхождение, и, учитывая его функции у прокариот и особенности структуры, можно полагать, что он отвечает за значительное разнообра-

зие enzymатических функций и белок-белковых взаимодействий, среди которых эволюционно древним является взаимодействие с различными протеинкиназами (Mans et al., 2004). Ядерно-цитоплазматический транспорт успешен только при наличии в белке NXF1 обоих доменов — NTF2-подобного и UBA-подобного (ubiquitin-associated-like — домен убиквитинирования), хотя может осуществляться и в том случае, когда в белке содержится один из этих доменов, но в удвоенном числе, если отсутствует второй (Braun et al., 2002).

В цитоплазме трансляция мРНК сопровождается ее освобождением из комплекса мРНП, а NXF1 перемещается обратно в ядро (Bear et al., 1999; Katahira et al., 1999). Долгоживущие мРНК сохраняются в составе комплексов, взаимодействуя с белками, делающими мРНК временно недоступными для трансляции, а также контролирующими их транспорт и доставку в определенный клеточный компартмент, обеспечивающими закрепление комплекса мРНП в нужном месте и разрешение трансляции после получения соответствующего сигнала (Besse, Ephrussi, 2008). Существование долгоживущих мРНК, способных к регулируемой трансляции, особенно актуально в периоды временного запрета на транскрипцию. У дрозофилы к таким периодам развития относятся ранний эмбриогенез, оогенез и спермиогенез — как финальная стадия сперматогенеза, начинающаяся со стадии округлых сперматид и

заканчивающаяся формированием зрелого подвижного сперматозоида. Эти периоды развития объединяет и еще одна особенность — существование синцития. В сперматогенезе *D. melanogaster* в результате трех последовательных синхронных митотических и двух мейотических делений образуются цисты, состоящие из 64 клеток, претерпевших неполный цитокинез. В раннем эмбриогенезе в общей цитоплазме происходят деления ядер, не обособленных друг от друга клеточной мембраной. В обоих случаях синцитий развивается как единое целое, проявляя удивительную синхронизацию процессов, протекающих в каждом элементе синцития.

Мы обратили внимание на то, что нарушение синхронности является основной аномалией в названные периоды синцитиального развития у мутантов по гену *sbr* (*Dm nxf1*) (Golubkova et al., 2006). Для того чтобы понять роль гена *sbr* (*Dm nxf1*) в синцитиальном развитии, в настоящей работе мы анализировали распределение белка Dm NXF1 в ранних эмбрионах и в цистах семенников *D. melanogaster*, а также характер нарушений у мутантов по исследуемому гену.

### Материал и методика

Использовали три линии *D. melanogaster*: стандартную лабораторную линию дикого типа *Oregon R*; линию *sbr<sup>12</sup>*, несущую мутацию в гене *Dm nxf1* (*l(1)24/45A (sbr<sup>12</sup>)/FM6, y<sup>31d</sup> sc<sup>8</sup> dm B*), и линию, несущую нулевой аллель гена *Dm nxf1* — делецию *Df(1)<sup>vL4</sup> (Df(1)<sup>vL4</sup>, ras m<sup>D</sup>/FM6l.y<sup>31d</sup> sc<sup>8</sup> dm B/Dp(1; Y) v<sup>+</sup> y<sup>+</sup>)*.

Жизнеспособных самцов с мутацией *sbr<sup>12</sup>* получали путем скрещивания самок *l(1)24/45A (sbr<sup>12</sup>)/FM6, y<sup>31d</sup> sc<sup>8</sup> dm B* с самцами *Df(1)<sup>vL4</sup>, ras m<sup>D</sup> / Dp(1; Y) v<sup>+</sup> y<sup>+</sup>*. Самцы с мутацией *sbr<sup>12</sup>*, полученные в потомстве, отличаются от остальных тем, что имеют округлые глаза.

Иммуноцитологический анализ локализации белка DmNXF1 проводили в тканях семенников, яичников и в эмбрионах до стадии синцитиальной бластомеры.

Семенники выделяли из 3—5-суточных самцов и личинок 3-го возраста *D. melanogaster*. Препарировали семенники в физиологическом растворе (testis buffer: 183 мМ KCl, 47 мМ NaCl и 10 мМ Tris-HCl, pH 6.8). Фиксировали ткань в 4%-ном параформальдегиде в течение 7 мин, отмывали в растворе PBST (0.1 % Tween-20 в фосфатном буфере PBS; Ashburner, 1989). В качестве блокирующего реагента использовали 3%-ный бычий сывороточный альбумин (BCA) в PBST. Инкубацию с первыми антителами (разведение 1 : 400 в PBST, содержащем BCA), полученными нами у мышей или кролика, проводили в течение ночи при 4 °С. Отмывку от первых антител осуществляли в растворе PBST. Инкубацию со вторыми антителами (к иммуноглобулинам мыши или кролика) проводили в растворе PBST, содержащем BCA, в течение 1 ч при 37 °С. Вторые антитела, меченные флуорохромами Alexa Fluor 488 или Alexa Fluor 546, были от фирмы Invitrogen (США). После отмывки от вторых антител в PBST семенники инкубировали с красителем DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) (1 мкг/мл в PBST) в течение 10 мин, отмывали 1 раз в PBS и заключали под покровное стекло в среду Vectashield (США). Препараты анализировали с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SP5 в ЦКП «Хромас» (Центр исследования ультраструктуры и молекулярного состава биологиче-

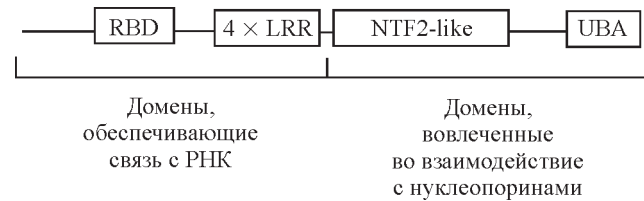


Рис. 1. Доменная структура белка NXF1.

RBD — РНК-связывающий домен (RNA-binding domain), LRR (leucine-rich repeats) — домен лейциновых повторов, NTF2-like (nuclear transport factor 2-like) — домен, подобный домену в факторе ядерного транспорта 2, UBA-like (ubiquitin-associated like) — домен, подобный взаимодействующему с убиквитином.

ских объектов при биологическом факультете С.-Петербургского государственного университета).

Яичники выделяли из 3—5-суточных самок в раствор PBS и 20 мкл его помещали на покровное стекло и добавляли 10 мкл смеси 15 % акриламид/бис-акриламида, 1 % персульфата аммония и 1 % сульфата натрия. Содержимое капли накрывали другим покровным стеклом и оставляли на 1 ч для полимеризации. Далее снимали верхнее стекло и акриламидные «таблетки», прикрепленные к покровному стеклу, помещали в чашки Петри (диаметром 35 мм). Дважды по 10 мин инкубировали в PBS, затем в течение 1 ч инкубировали в PBS, содержащем 1 % Triton X-100 и 1 мМ EDTA. В качестве блокирующего реагента использовали 3%-ный BCA в PBST; блокировали в течение 2 ч. Далее инкубировали с раствором антител к фрагменту белка DmNXF1 в PBST с 3 % BCA (разведение антител 1 : 100) во влажной камере 1 ч при комнатной температуре и ночь при 4 °С. Затем удаляли раствор антител и дважды по 1 ч инкубировали в PBST. В качестве вторых использовали антитела, меченные флуорохромом Alexa Fluor 488, разводили их в блокирующем буфере и инкубировали препараты в течение 3 ч при комнатной температуре. Отмывали препарат от вторых антител в PBST 1 ч. Препараты инкубировали с DAPI (1 мкг/мл в PBST) в течение 30 мин, отмывали 1 раз в PBS и заключали под покровное стекло в среду Vectashield (США).

Для получения эмбрионов самок помещали с самцами в стеклянные контейнеры с двумя капроновыми рукавами емкостью 1.5 л. На пластинки с агаром собирали кладки в течение 15 мин, затем яйца инкубировали необходимое время. Перед окраской удаляли хорион гипохлоритом натрия (можно использовать обычный хозяйственный отбеливатель «Белизна», разведенный в 2—4 раза). Затем дехорионизированные эмбрионы несколько раз промывали PBS и фиксировали 20—30 мин в смеси 4%-ного параформальдегида и гептана в соотношении 1 : 1 с перемешиванием. Затем удаляли водную фазу, содержащую фиксатор, добавляли равный объем метанола и резко встряхивали для удаления вителлина. Эмбрионы без вителлиновой оболочки опускаются на дно пробирки. Эмбрионы промывали метанолом 3 раза, их можно использовать сразу или хранить в метаноле при –20 °С. Перед дальнейшими манипуляциями совершали промывку по спиртам (70, 50 и 30%-ному метанолу) для регидратации и затем промывали водой. Далее эмбрионы обрабатывали 5%-ным BCA в PBST, инкубировали с антителами и готовили препараты, как описано выше.

Электронная микроскопия. Семенники выделяли из 3—5-суточных самцов *D. melanogaster*. Препарировали семенники в физиологическом растворе (testis buffer, см. выше), тщательно удаляя семенные пузырьки,

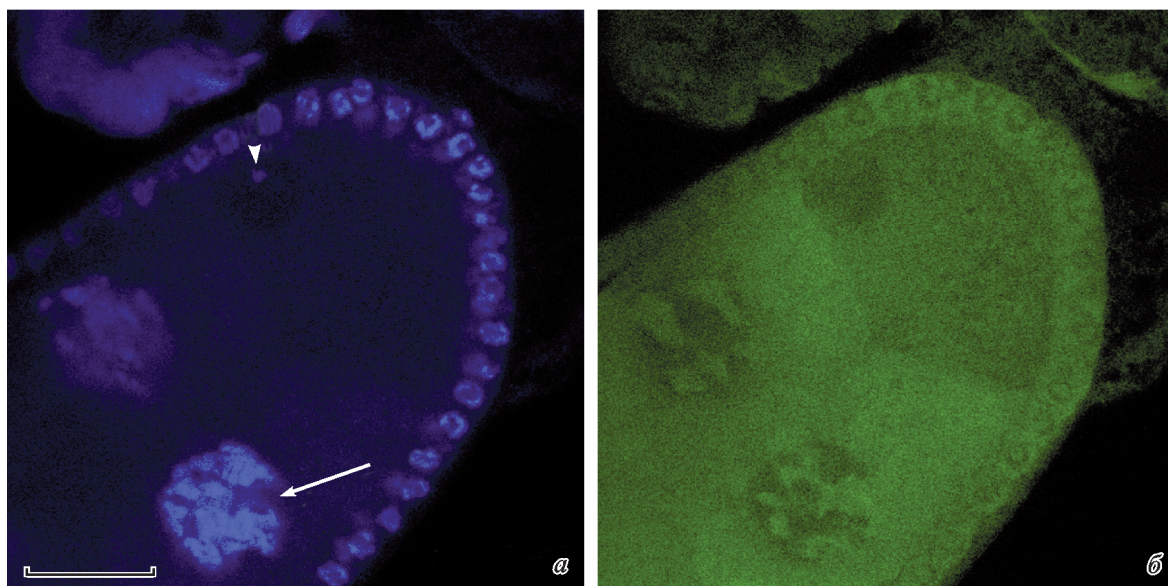


Рис. 2. Яйцевая камера из яичника *Drosophila melanogaster*.

*а* — окраска ДНК (синий цвет DAPI), длинная стрелка указывает на ядра питающих клеток, головка стрелки — на ядро ооцита; *б* — зеленая окраска анти-SBR, вторые антитела мечены Alexa Fluor 488, ядра питающих клеток обогащены белком SBR, который занимает пространство, свободное от хромосом. Видна кариосома, занимающая часть ядра ооцита, свободную от SBR; белок SBR присутствует как в районе ядерной оболочки, так и в цитоплазме ооцита и питающих клеток. Масштабный отрезок — 20 мкм.

придаточные железы, семяизвергательный канал и другие составляющие половой системы самца. Фиксировали ткань в 2%-ном глутаровом альдегиде на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.2) и постфиксировали в 1%-ном OsO<sub>4</sub> на том же буфере в течение 16 ч при 4–6 °С. Материал промывали 0.1 М фосфатным буфером (pH 7.2) и обезвоживали в серии спиртов возрастающих концентраций и ацетоне. Затем ткань заключали в смесь эпоксидных смол Эпон-Аралдит (Sigma-Aldrich, США). Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica UC7 и контрастировали последовательно уранил-ацетатом и цитратом свинца. Анализ препаратов проводили на просвечивающем электроном микроскопе 40–120 кВ JEM-1400, оснащенный камерой Olympus-SIS Veleta, в Ресурсном центре развития молекулярных и клеточных технологий С.-Петербургского государственного университета.

## Результаты

Особенности локализации белка SBR (Dm NXF1) в яйцевых камерах, оплодотворенном яйце и синцитиальном эмбрионе *D. melanogaster*. Поскольку известной функцией SBR (Dm NXF1) является экспорт большинства мРНК из ядра в цитоплазму, ожидаемая локализация этого белка — ядро и ядерная оболочка. Распределение белка SBR в яйцевой камере соответствует названной функции и отражает функциональное состояние хромосом в ядрах питающих клеток и ооците (рис. 2). В транскрипционно-неактивном ооците белок SBR находится только в цитоплазме, а герминальный пузырек белка SBR не содержит (рис. 2, б). Транскрипционно-активные ядра питающих клеток, напротив, обогащены белком SBR, который концентрируется в ядре, занимая участки, свободные от хроматина (рис. 2, б). Присутствует белок SBR и в цитоплазме питающих клеток. Белок SBR может запасаться и сохраняться в ооците, для того чтобы затем использоваться в синцити-

альном эмбрионе. В период развития яйцевых камер белок SBR распределяется в цитоплазме ооцита относительно равномерно.

В оплодотворенном яйце белок SBR также распределен равномерно, а в период первых делений дробления находится в цитоплазме, маркируя области веретена деления (рис. 3, а, б). На более поздних стадиях (циклы 10–12), после миграции ядер к периферии яйца, можно видеть относительную структурную обособленность цитоплазматических доменов, принадлежащих отдельным ядрам (рис. 3, в). Вместе с тем синхронность, проявляющаяся в том, что все ядра синцития одновременно находятся на одной и той же стадии ядерного цикла (рис. 4, а), позволяет предполагать существование связи между ними.

В синцитиальных эмбрионах *D. melanogaster* белок SBR локализуется исключительно в цитоплазме, поскольку его функция в качестве ядерно-цитоплазматического транспортера мРНК не является востребованной из-за отсутствия транскрипции. Мы не видим концентрирования этого белка на полюсах яйца или раннего эмбриона. В период деления ядер эмбриона более высокая концентрация белка SBR видна в районе веретена деления (рис. 3).

Мы обратили внимание на то, что в синцитиальных эмбрионах *D. melanogaster* белок SBR (Dm NXF1) позволяет выявлять кольцеобразные структуры диаметром около 1 мкм, расположенные по периферии цитоплазматических доменов, принадлежащих отдельным ядрам (рис. 5).

Особенности локализации белка SBR (Dm NXF1) в цистах семенников *D. melanogaster*. В процессе сперматогенеза у *D. melanogaster* вплоть до образования цисты, состоящей из 64 клеток, кольцевые каналы, возникшие вследствие неполного цитокинеза, сохраняют связь между клетками (Carmena et al., 1998). Белок SBR в цистах в основном выявляется в ядрах сперматоцитов (рис. 6) или сперматид. Присутствует он и в цитоплазме, причем в отдельных цистах в семенниках



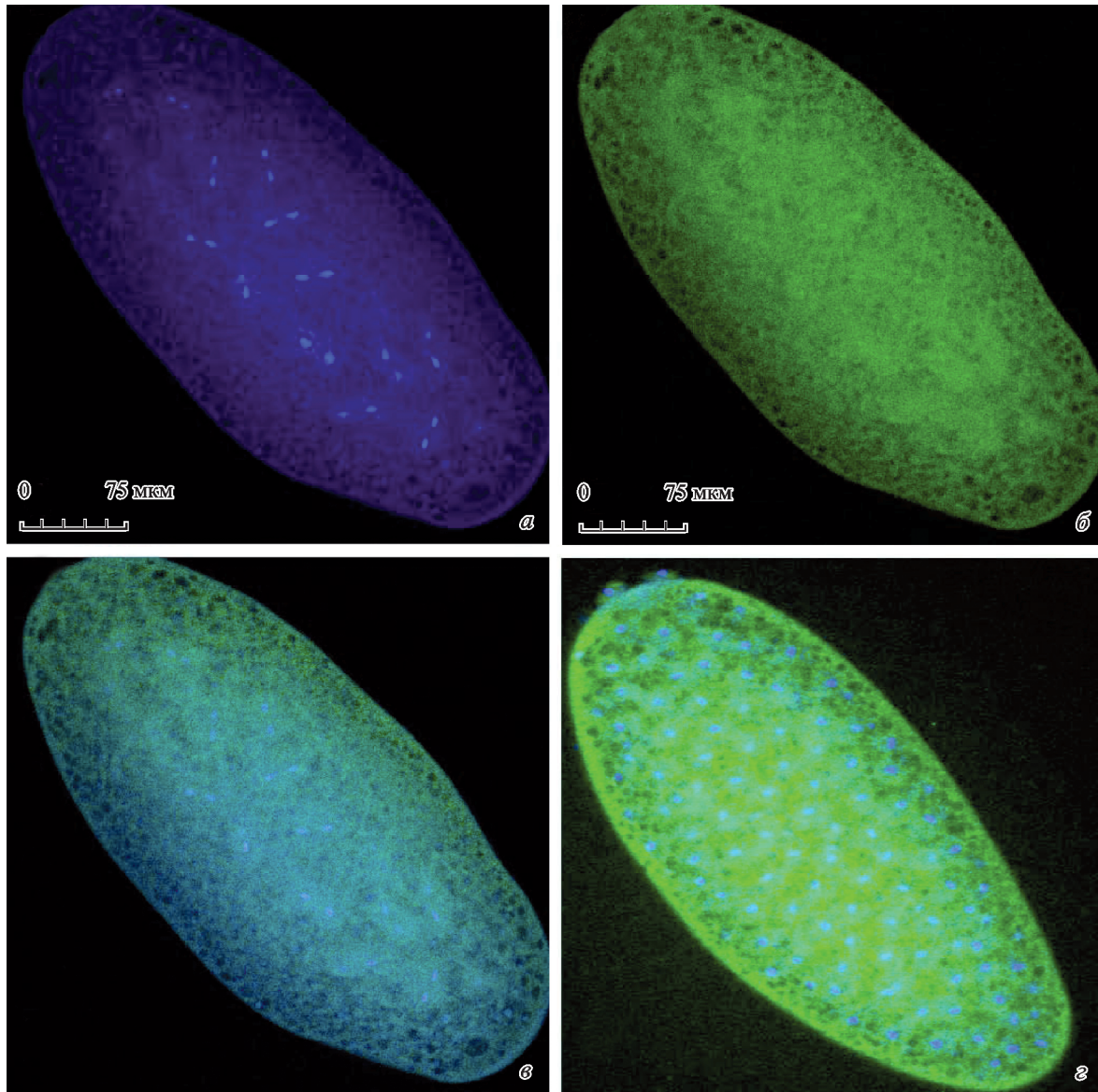


Рис. 3. Эмбрион *Drosophila melanogaster* на ранней стадии развития.

*a* — окраска ДНК (синий цвет DAPI); ядра эмбриона делятся синхронно (стадия анафазы митоза). *б* — белок SBR (окраска анти-SBR, вторичные антитела мечены Alexa Fluor 488), присутствует в цитоплазме и маркирует область веретена деления. *в* — совмещение изображений. *г* — эмбрион на стадии перемещения ядер в область кортикального слоя яйца, совмещение окрасок ДНК (синяя) и белка SBR (зеленая); распределение белка SBR в синцитиальном эмбрионе позволяет увидеть обособленность ядерных территорий. Масштабный отрезок — 75 мкм.

*D. melanogaster* у особей дикого типа можно видеть структуры в виде колец, которые по размеру и расположению похожи на кольцевые каналы (рис. 6, в). Поскольку эти кольцевые структуры видны не в любой цисте, мы полагаем, что SBR не является структурным белком кольцевых каналов, скорее всего, он присутствует в их составе в определенные периоды синцитиального развития — до момента трансляции соответствующих временно нетранслируемых мРНК. Белки, входящие в состав комплекса мРНК, обычно покидают комплекс, освобождая мРНК для трансляции.

Если белок SBR важен для синцитиального развития в сперматогенезе, его нарушение у мутантов, вызывающих мужскую стерильность, может приводить к аномалиям синцития. Следует отметить, что развитие клеток синцития происходит удивительно синхронно и в норме все

клетки цисты морфологически выглядят приблизительно одинаково (рис. 7, а). Электронно-микроскопический анализ показывает, что у мутанта *sbr<sup>12</sup>* с мужской стерильностью нарушения цитокинеза на стадии удлинения сперматид наиболее характерны (рис. 7, б, в), часто встречаются цисты, состоящие из клеток с различной морфологией (рис. 7, в), тогда как в норме клетки одной цисты практически идентичны друг другу по набору и форме субклеточных структур (рис. 7, а). То, что клетки синцития у мутанта *sbr<sup>12</sup>* выглядят неодинаково, можно рассматривать как проявление асинхронности. Асинхронность как нарушение временных параметров протекания тех или иных процессов может приводить к тому, что преобразования субклеточных структур в каждом отдельном элементе синцития происходят не в соответствии с общим сценарием, а по собственным правилам.



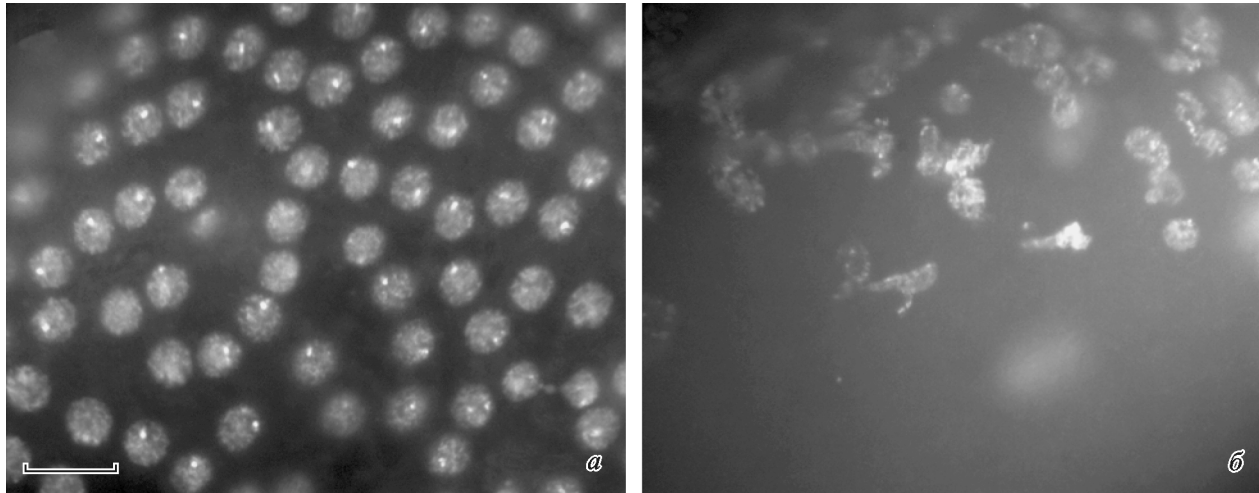


Рис. 4. Участки эмбриона *Drosophila melanogaster* на стадии синхронных ядерных делений.

*a* — все ядра эмбриона в потомстве самок дикого типа находятся на стадии интерфазы. *б* — ядра эмбриона в потомстве самок *sbr/0* различаются по размеру и форме; распределение ядер нарушено, есть «мертвые зоны», в которых ядра отсутствуют. ДНК окрашена DAPI. Масштабный отрезок — 10 мкм.

### Обсуждение

Материнский эффект гена *sbr* и его роль в синцитиальном развитии эмбрионов *D. melanogaster*. Большинство белков и РНК, накапливающихся в процессе оогенеза в ооците, синтезируется в питающих клетках и транспортируется в ооцит по микротрубочкам на ранних этапах созревания яйцевой камеры (Pokrywka, Stephenson, 1995) или с потоком цитоплазмы на поздних этапах (Palacios, St. Johnston, 2002).

Присутствие белка SBR в цитоплазме ооцита и в ранних (синцитиальных) эмбрионах, когда нет потребности в ядерно-цитоплазматическом экспорте мРНК из-за отсутствия транскрипции, свидетельствует в пользу высказанного нами предположения о том, что функции гена *Dm nxf1 (sbr)* не ограничиваются ядерно-цитоплазматическим экспортом мРНК (Golubkova et al., 2009).

Деления ядер в раннем эмбрионе *D. melanogaster* происходят очень быстро (каждые 8—21 мин) (Kellogg et al., 1988) и удивительно синхронно (Ji et al., 2004) (рис. 5, *a*). При этом ядерный цикл редуцирован до двух

фаз — S (стадии репликации ДНК) и М (митоза). Синхронность подразумевает существование системы, координирующей переход от одной стадии ядерного цикла к другой и соответственно динамические изменения цитоскелета.

Важно отметить, что мутации гена *sbr* проявляют материнский эффект. Потомки мутантных самок независимо от генотипа отца имеют различные нарушения раннего эмбрионального развития (Golubkova et al., 2006). Среди нарушений выявляются: асинхронность деления ядер, их разный размер, что свидетельствует о разном содержании ДНК и хромосомной нестабильности при их делении; зоны без ядер, обнаруживающие скопления дезорганизованных хромосом (рис. 4, *б*). Последний тип нарушений может возникнуть в результате потери структурной обособленности цитоплазматических доменов, принадлежащих отдельному ядру в эмбриональном синцитии.

Отсутствие клеточной стенки не отменяет относительной обособленности цитоплазматических доменов, принадлежащих каждому ядру синцитиального эмбриона (Karr, Alberts, 1986; Kellogg et al., 1988; Schejter et al.,

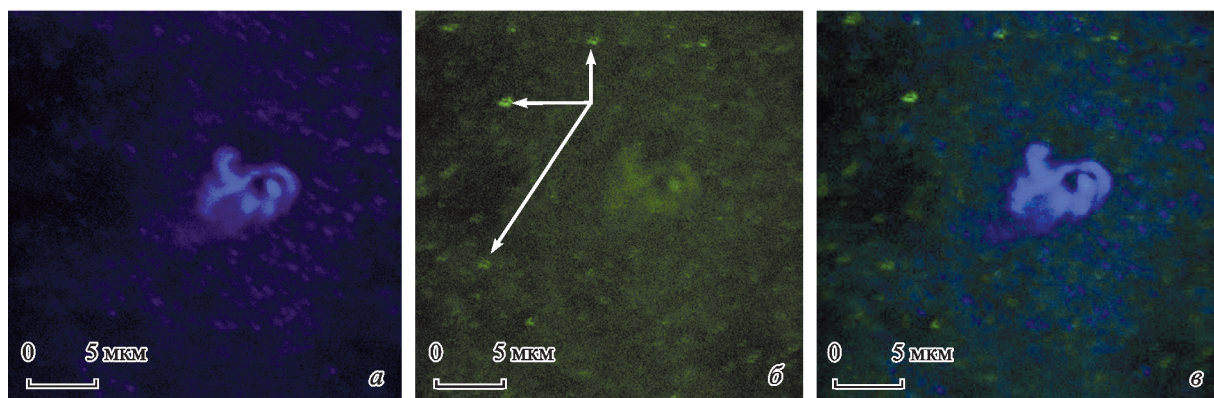


Рис. 5. Отдельное ядро синцитиального эмбриона на стадии прометафазы.

*a* — окраска ДНК (синий цвет DAPI); *б* — окраска анти-SBR (зеленый цвет — вторые антитела мечены Alexa Fluor 488), стрелками указаны кольцеобразные структуры по периферии ядерной территории; *в* — совмещение изображений. Масштабный отрезок — 5 мкм.

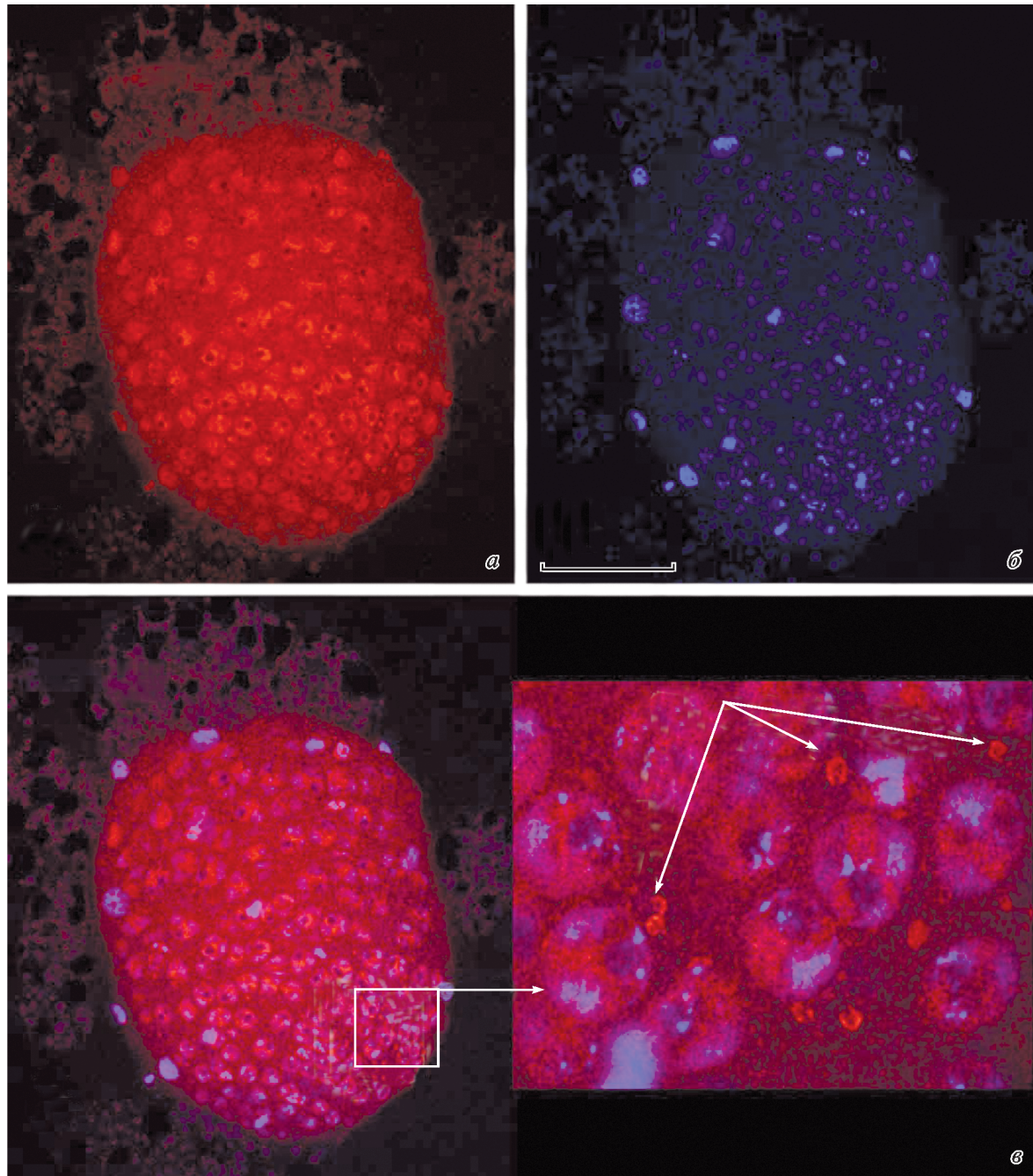


Рис. 6. Зачаток семенника у самцов *Drosophila melanogaster* на стадии предкуколки.

*a* — белок SBR (красный цвет, вторые антитела мечены Alexa Fluor 546) присутствует преимущественно в ядрах; *б* — окраска ДНК (синий цвет DAPI); *в* — совмещенное изображение и его увеличенный фрагмент, выделенный рамкой. На увеличенном фрагменте в цитоплазме сперматоцитов I порядка видны кольцеобразные структуры, показанные стрелками. Масштабный отрезок — 75 мкм.

1993; Stevenson et al., 2002; Frescas et al., 2006; Telley et al., 2012). Именно относительной, поскольку все ядра синцития ведут себя согласованно, находясь одновременно на одной и той же стадии ядерного цикла (рис. 4, *a*). Несомненно, такую удивительную синхронизацию обеспечивает единая система цитоскелета, сохраняющая и поддерживающая связь между отдельными элементами синцития (Schejter, Weischaus, 1993; Foe et al., 2000). Обособленность цитоплазматических доменов каждого ядра создается благодаря структуре, образованной цитоскелетными белками, прежде всего актином и тубулином. Цитоскелетные структуры динамичны и, что особенно

важно, способны расти (воспроизводиться) и распределяться между дочерними ядрами (размножаться). Для роста цитоскелета достаточно непрерывно поставлять базовые молекулы, способные к полимеризации. Базовые молекулы могут синтезироваться в зонах роста цитоскелета благодаря присутствию там соответствующих мРНК.

РНК-связывающие белки в преобразованных цитоскелета. При анализе транскриптома *Xenopus laevis* идентифицирован особый класс РНК, связанных с аппаратом деления (Blower et al., 2007; Sharp et al., 2011). Эти мРНК соответствуют генам, контролирующим



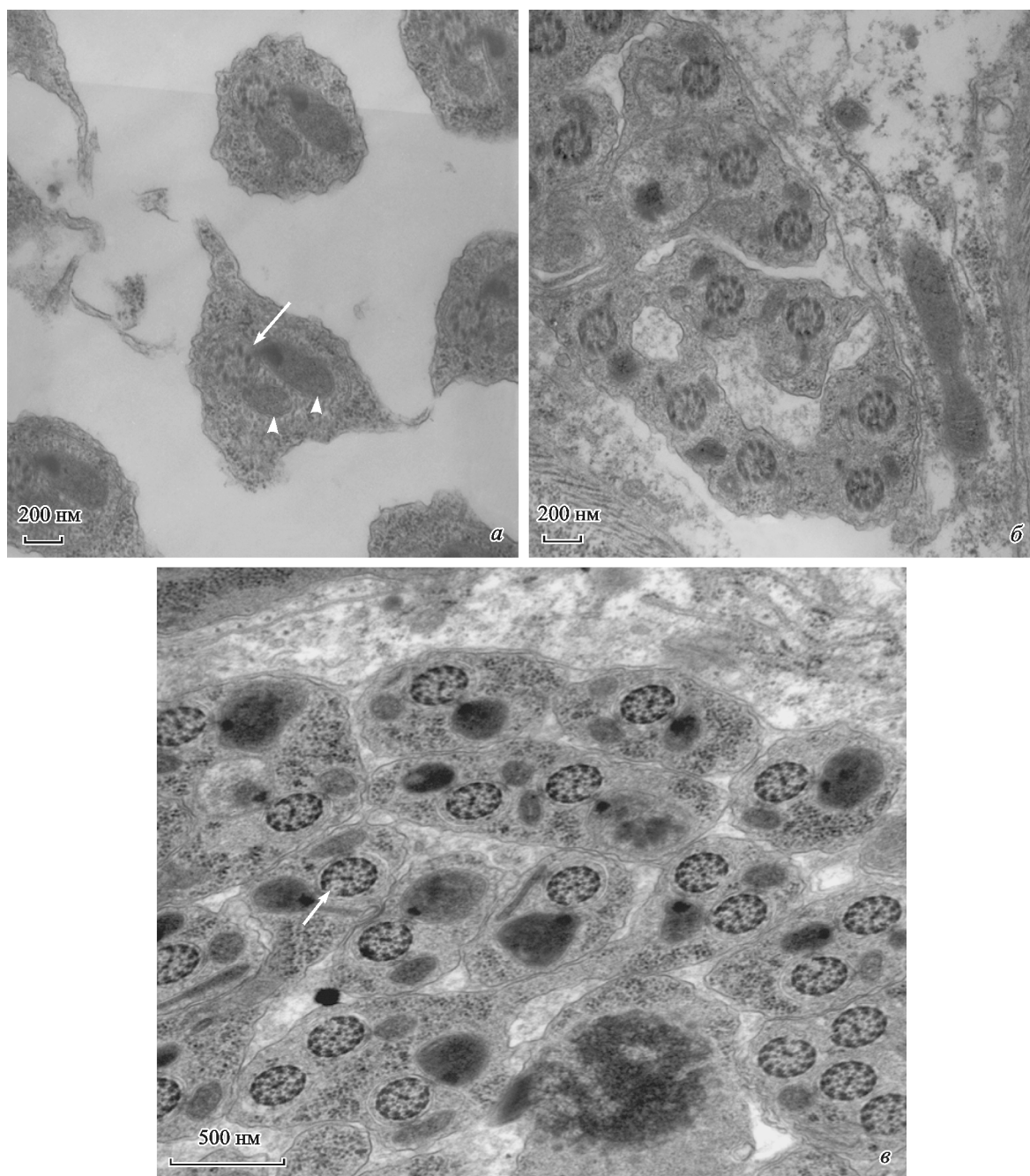


Рис. 7. Поперечный срез цисты из 64 клеток на стадии удлинения сперматид у *Drosophila melanogaster*. Электронная микроскопия.

*a* — контроль (самцы линии *Oregon R*); в каждой сперматиде есть аксонема (указана *стрелкой*) и связанные с ней митохондриальные производные (указаны *головками стрелок*). *б, в* — сперматиды самцов *sbr12/Dp(1;Y)y+v+*. Малое и большое производные митохондрий варьируют по размеру, форме и структуре (отдельные сперматиды лишены митохондриальных производных); сперматиды часто не разделены на отдельные клетки; встречаются аномалии структуры аксонемы (*в, стрелка*). Масштабный отрезок — 200 (*а, б*) и 500 (*в*) нм.

клеточные деления, образование веретена и преобразования хроматина. Важно отметить, что для построения веретена деления нужен комплекс РНП, содержащий белок Rae1 (Blower et al., 2005), который присутствует и в составе комплексов РНП, содержащих белок TAP (Hs NXF1) человека (Blevins et al., 2003). Белок TAP является ортологом белка Dm NXF1 (SBR) *D. melanogaster*.

Анализ распределения различных мРНК в эмбрионах *D. melanogaster* с использованием метода флуоресцентной гибридизации *in situ* показал, что более 70 % исследованных генов кодируют мРНК, имеющие опреде-

ленную субклеточную локализацию (Lécuyer et al., 2007). Такие мРНК, названные локализованными, позволяют осуществлять регулируемый синтез соответствующего белка непосредственно в тех местах, где он нужен (Bashirullah et al., 1998; Gaspar, 2011; Medioni et al., 2012). Например, у позвоночных рост актиновых фибрилл часто связывают с необходимостью трансляции мРНК *actin* в районе растущего актинового конуса в отростках нервных клеток (Zhang et al., 1999) или лидирующей кромки эмбриональных фибробластов цыпленка (Sundell, Singer, 1991; Condeelis, Singer, 2005). Локализованная трансля-

ция известна и для мРНК, кодирующих белки комплекса Arp2/3 (actine related protein), участвующего в полимеризации актина (Mingle et al., 2005).

Все элементы цитоскелета динамично изменяются в зависимости от стадии ядерного цикла. Перед делением ядер микротрубочки веретена растут в сторону хромосом, а астральные — в сторону актиновой фибриллярной оболочки, ограничивающей цитоплазматические домены, принадлежащие отдельным ядрам. После деления ядер синцития наступает период роста фибриллярной оболочки цитоплазматического домена и тубулинового цитоскелета. Важным моментом является установление связи, которую обеспечивают микротрубочки, между компонентами ядра и фибриллярной оболочкой, а в районе фибриллярной оболочки — между соседними цитоплазматическими доменами. Это позволяет всем элементам в синцитии установить контакт благодаря образованию единой цитоскелетной сети. Такому взаимодействию могут способствовать структуры, захватывающие и стабилизирующие астральные микротрубочки, растущие в направлении фибриллярной оболочки в смежных цитоплазматических доменах. Благодаря контакту плюс-концов астральных микротрубочек в районе фибриллярной оболочки, разделяющей соседние цитоплазматические домены, обеспечивается непрерывность цитоскелета по всему эмбриону, необходимая для передачи команды всем элементам в синцитии одновременно перейти от метафазы к анафазе. Особое значение при этом имеет функциональное взаимодействие микротрубочек и актиновых фибрилл (Goode et al., 2000; Straight, Field, 2000; Rodriguez et al., 2003; Grill, Hyman, 2005; Riparbelli et al., 2007).

Предположение о существовании потенциальных сайтов, обеспечивающих такое взаимодействие, высказывалось неоднократно (Goode et al., 2000; Mimori-Kiyosue, Tsukita, 2003; Minestrini et al., 2003; Tamura, Draviam, 2012). Согласованной регуляции всех элементов синцития способствует то, что связываемые цитоскелетом centrosомы, кинетохоры и поверхностные цитоплазматические актиновые фибриллы являются местом расположения сигнальных молекул, которые регулируют синхронный переход от одной стадии ядерного цикла к другой (Carmena et al., 1998; Giansanti et al., 2001; Minestrini et al., 2003).

Об участии белка SBR (Dm NXF1) в формировании цитоскелета свидетельствуют полученные нами результаты анализа первого деления мейоза в ооцитах самок *D. melanogaster*, несущих разные сочетания аллелей гена *sbr* (Golubkova et al., 2009). Эти данные согласуются с тем, что мутации гена *sbr* приводят к хромосомной нестабильности (Никитина и др., 2003). Следует обратить внимание на то, что белок SBR (Dm NXF1) отличается от ортологичных белков NXF1 тем, что помимо расположения в ядре или в ядерной оболочке он присутствует и в цитоплазме (Ацапкина и др., 2010).

У млекопитающих цитоплазматическая локализация характерна для белков-паралогов семейства NXF, которые находятся в клетке в виде гранул. Показано, что белки MmNXF2 и MmNXF7 мыши взаимодействуют с белком MAP1B (microtubule-associated protein) (Tan et al., 2005; Tretyakova et al., 2005). Этот белок стабилизирует микротрубочки (Vandecandelaere et al., 1996; Tortosa et al., 2013) и в нервных клетках мыши непосредственно взаимодействует с белками, маркирующими их плюс-концы, — EB1 (end binding) и EB3 (Tortosa et al., 2013). MmNXF2 взаимодействует с KIF17 (kinesin superfamily

protein) — цитоплазматическим моторным белком из семейства кинезинов (Takano et al., 2007). Белки KIF участвуют в транспорте органелл и белковых комплексов по сети микротрубочек в клетке (Miki et al., 2001). Нельзя забывать и о том, что у человека белок Hs NXF1 изначально был идентифицирован как фактор клеточной адгезии и получил название TAP (tip associated protein, где tip — tyrosine kinase interacting protein) (Yoon et al., 1997). Это может свидетельствовать о присутствии белка TAP в составе комплексов, содержащих сигнальные молекулы на периферии клетки.

Цитоскелет — это динамичное образование, он собирается и разбирается, обладая способностью к самосборке (Job et al., 2003). Микротрубочки обладают внутренней полярностью, имея плюс- и минус-концы. Более динамичным, или растущим, является плюс-конец. Важнейшими белками, участвующими в процессе роста микротрубочек, являются белки MAP (microtubule associated protein) и динактин-динеиновый белковый комплекс (Hayashi et al., 2005; Akhmanova, Steinmetz, 2008). Комплекс белков, вовлеченный в обеспечение роста микротрубочек на плюс-конце, получил название +TIPs (plus end tracking proteins) (Schuyler, Pellman, 2001; Howard, Hyman, 2003). Этот комплекс белков обеспечивает не только рост трубочек, но и их взаимодействие с различными субклеточными структурами (Maurer et al., 2012).

В состав комплекса входит эволюционно консервативный белок EB1, играющий важную роль в формировании веретена деления в ранних эмбрионах дрозофилы (Rogers et al., 2002). Белок EB1 способен взаимодействовать со многими белками (Akhmanova, Steinmetz, 2008; Maurer et al., 2012). Исследование молекулярной структуры белков млекопитающих, взаимодействующих с белком EB1, показало, что общим для этих белков является присутствие последовательности из четырех аминокислот s-ip, в которой s — serine, i — isoleucine, p — proline, а на месте дефиса — любая аминокислота (Honappa et al., 2009). Эта последовательность получила название MtLS — microtubule tip localization signal. Следует отметить, что две последовательности MtLS присутствуют в белке SBR (Dm NXF1) (Golubkova et al., 2012), но их нет в белке Hs NXF1 или Mm NXF1. Партнеры белка SBR в цитоплазме остаются неизвестными. Неслучайная локализация белка SBR в цитоплазме подразумевает его особую роль в клетке, а наличие в этом белке 2 последовательностей MtLS приводит к необходимости ответа на вопрос о том, является ли белок SBR партнером фактора EB1 у дрозофилы.

Мы предполагаем, что кольцеобразные структуры в синцитиальных эмбрионах *D. melanogaster*, которые видны благодаря присутствию в них белка SBR, могут быть цитоскелетными образованиями, взаимодействующими с плюс-концами астральных микротрубочек, подходящими к ним из соседних цитоплазматических доменов. Кольцеобразные структуры, по нашему предположению, являются сайтами, захватывающими и стабилизирующими плюс-концы микротрубочек. Существование таких сайтов позволяет вступать в контакт микротрубочкам, подходящим с разных сторон к актиновым фибриллам, разделяющим смежные цитоплазматические домены, и формировать непрерывную цитоскелетную сеть, контролирующую синхронное вступление ядер в митоз и выход из него.

Синхронизация процессов синцитиального развития в сперматогенезе *D. melano-*



*gaster*. Кольцевой канал — это как след на клетке, остающийся после цитокинеза (Carmena et al., 1998). Из белков, участвующих в неполном цитокинезе с образованием цисты генеративных клеток у самцов дрозофилы, присутствуют актин, анилин, септин (peanut), различные протеинкиназы и факторы, взаимодействующие с микротрубочками (Giansanti et al., 2001). У самцов в стенку кольцевого канала актин не входит (Hime et al., 1996). В период индивидуализации сперматид синцитий обеспечивает синхронные преобразования актиновых фибрилл при движении актиновых конусов, что приводит к разрушению синцития (Fabrizio et al., 1998; Noguchi, Miller, 2003).

Одно из основных особенностей синцитиального развития — это синхронизация процессов, протекающих в каждом элементе синцития. Все ядра синцития прежде всего синхронно приступают к делению, получая сигнал, передаваемый по элементам цитоскелета. Для того чтобы такое было возможно, цитоскелет должен обладать непрерывностью по всему синцитию, сохраняя связь с ядром каждого элемента синцития. Если связь между отдельными элементами синцития прерывается, элемент, утративший связь, теряет способность развиваться в унисон с остальными. Такие нарушения в сперматогенезе у *D. melanogaster* могут привести к аномалиям процесса индивидуализации сперматид, а в эмбриогенезе — к эмбриональной смертности. Формирование представлений о необходимости присутствия РНК при преобразованиях цитоскелета, в особенности в периоды транскрипционной репрессии, привлекает внимание к РНК-связывающим белкам, сохраняющим эту связь в цитоплазме. Присутствие белка Dm NXF1 не только в ядре или ядерной оболочке, но и в цитоплазме в составе гранул или структур может функционально связывать белок Dm NXF1 с элементами цитоскелета. Это согласуется с известными для мутантов по гену *sbr* нарушениями веретена мейоза, появлением потомков с нарушенным набором хромосом, характерными аномалиями эмбриональных митозов и сперматогенеза, т. е. нарушениями, вызванными главным образом изменениями структур цитоскелета.

**Заключение.** Присутствие белка SBR (Dm NXF1) в ядрах питающих клеток в яйцевых камерах у *D. melanogaster* и его отсутствие в транскрипционно-неактивном герминальном пузырьке согласуются с известной функцией этого белка — его участием в ядерно-цитоплазматическом экспорте различных мРНК. Накопление мРНК *sbr* в оогенезе можно было бы объяснить отсроченной потребностью в белке SBR, возникающей с началом транскрипции зиготических генов. Полученные нами результаты свидетельствуют о существовании специализированных функций гена *Dm nxf1 (sbr)* у *D. melanogaster*. Среди этих функций — участие в формировании и динамических изменениях цитоскелета, играющих определяющую роль в периоды синцитиального развития. В пользу такого предположения свидетельствуют следующие факты: 1) материнский эффект мутаций этого гена, проявляющийся в нарушении синхронности ядерных делений в синцитиальных эмбрионах, и характерное распределение белка SBR в цитоплазме в этот период эмбрионального развития; 2) характерные нарушения спермиогенеза у мутанта *sbr<sup>12</sup>* с доминантной мужской стерильностью, связанной с отсутствием подвижных сперматозоидов, и существование цитоплазматических структур, обогащенных белком SBR, в цистах семенников.

Авторы приносят благодарность сотрудникам ЦКП «Хромас» (Центр исследования ультраструктуры и молекулярного состава биологических объектов при биологическом факультете С.-Петербургского государственного университета) и Ресурсного центра развития молекулярных и клеточных технологий С.-Петербургского государственного университета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 09-04-00697 и 12-04-00934), программы Роснаука (НШ-6455.2010.4, НШ-5345.2012.4 и НШ-5115.2014.4) и федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (8045).

### Список литературы

- Ацапкина А. А., Голубкова Е. В., Касаткина В. В., Аванесян Э. О., Иванкова Н. А., Мамон Л. А. 2010. Особенности сперматогенеза у *Drosophila melanogaster*: роль основного транспортного рецептора мРНК (DmNXF1). Цитология. 52 (7) : 574—579. (Atsapkina A. A., Golubkova E. V., Kasatkina V. V., Avanesyan E. O., Ivankova E. A., Mamon L. A. 2010. Peculiarities of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*: role of main transport receptor of mRNA (Dm NXF1). Cell Tissue Biol. (Tsitologiya). 4 (5) : 429—435.)
- Никитина Е. А., Комарова А. В., Голубкова Е. В., Третьякова И. В., Мамон Л. А. 2003. Полудоминантное влияние мутации *l(1)ts403 (sbr<sup>10</sup>)* на нерасхождение половых хромосом в мейозе у самок *Drosophila melanogaster* при тепловом воздействии. Генетика. 39 (3) : 341—348. (Nikitina E. A., Komarova A. V., Golubkova E. V., Tretyakova I. V., Mamon L. A. 2003. Semidominant effects of *l(1)ts403 (sbr<sup>10</sup>)* mutation on sex chromosomes disjunction in meiosis in *Drosophila melanogaster* females exposed to heat. Russ. J. Genet. 39 (3) : 269—275.)
- Аkhmanova А., Steinmetz М. О. 2008. Tracking the ends: a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9 : 309—322.
- Ashburner M. 1989. *Drosophila*: a laboratory handbook and manual. Two volumes. New York: Cold Spring Harbor Lab. 1331 p.
- Bashirullah A., Cooperstock R. L., Lipshitz H. D. 1998. RNA localization in development. Annu. Rev. Biochem. 67 : 335—394.
- Bear J., Tan W., Zolotukhin A. S., Taberero C., Hudson E. A., Felber B. K. 1999. Identification of novel import and export signals of human TAP, the protein that binds to the constitutive transport element to the type D retrovirus mRNAs. Mol. Cell. Biol. 19 : 6306—6317.
- Besse F., Ephrussi A. 2008. Translational control of localized mRNAs: restricting protein synthesis in space and time. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9 : 971—980.
- Blevins M. B., Smith A. M., Phillips E. M., Powers M. A. 2003. Complex formation among the RNA export proteins Nup98, Rae1/Gle2, and TAP. J. Biol. Chem. 278 : 20 979—20 988.
- Blower M. D., Feric E., Weis K., Heald R. 2007. Genome-wide analysis demonstrates conserved localization of messenger RNAs to mitotic microtubules. J. Cell Biol. 179 : 1365—1373.
- Blower M. D., Nachury M., Heald R., Weis K. 2005. A rae1-containing ribonucleoprotein complex is required for mitotic spindle assembly. Cell. 121 : 223—234.
- Braun I. C., Herold A., Rode M., Izaurralde E. 2002. Nuclear export of mRNA by TAP/NXF1 requires two nucleoporin-binding sites but not p15. Mol. Cell. Biol. 22 : 5405—5418.
- Carmena M., Riparbelli M. G., Ministrini G., Tavares A. M., Adams R., Callaini G., Glover D.M. 1998. *Drosophila* polo kinase is required for cytokinesis. J. Cell Biol. 143 : 659—671.
- Condeelis J., Singer R. H. 2005. How and why does  $\beta$ -actin mRNA target? Biol. Cell. 97 : 97—110.

- Fabrizio J. J., Hime G., Lemmon S. K., Bazinet C. 1998. Genetic dissection of sperm individualization in *Drosophila melanogaster*. *Development*. 125 : 1833—1843.
- Foe V. E., Field C. M., Odell G. M. 2000. Microtubules and mitotic cycle phase modulate spatiotemporal distributions of F-actin and myosin II in *Drosophila* syncytial blastoderm embryos. *Development*. 127 : 1767—1787.
- Frescas D., Mavrikis M., Lorenz H., DeLotto R., Lippincott-Schwartz J. 2006. The secretory membrane system in the *Drosophila* syncytial blastoderm embryo exists as functionally compartmentalized units around individual nuclei. *J. Cell Biol.* 173 : 219—230.
- Fribourg S., Braun I. C., Izaurralde E., Conti E. 2001. Structural basis for the recognition of a nucleoporin FG repeat by the NTF2-like domain of the TAP/p15 mRNA nuclear export factor. *Mol. Cell*. 8 : 645—656.
- Fuller M. T. 1998. Genetic control of cell proliferation and differentiation in *Drosophila* spermatogenesis. *Semin. Cell Develop. Biol.* 9 : 433—444.
- Gaspar I. 2011. Microtubule-based motor-mediated mRNA localization in *Drosophila* oocytes and embryos. *Biochem. Soc. Trans.* 39 : 1197—1201.
- Giansanti M. G., Bonnacorsi S., Bucciarelli E., Gatti M. 2001. *Drosophila* male meiosis as a model system for the study of cytokinesis in animal cells. *Cell Struct. Function*. 26 : 609—617.
- Golubkova E., Mamon L., Nikulina A., Merezko M., Ginanova V., Evgen'ev M. 2012. The evolutionarily conserved family of nuclear export factor (NXF) in *Drosophila melanogaster*. In: *Drosophila melanogaster: life cycle, genetics and development*. Universitat Ulm Germany: Nova Sci. Publ. 63—82.
- Golubkova E. V., Markova E. G., Markov A. V., Avanesyan E. O., Nokkala S., Mamon L. A. 2009. *Dm nxf1/sbr* gene affects the formation of meiotic spindle in female *Drosophila melanogaster*. *Chromosome Res.* 17 : 833—845.
- Golubkova E. V., Nokkala S., Mamon L. A. 2006. The nuclear export factor gene *small bristles* is involved in the control of early embryonic mitoses in *Drosophila melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 89 : 31—39.
- Goode B. L., Drubin D. G., Barnes G. 2000. Functional cooperation between the microtubule and actin cytoskeletons. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 63—71.
- Grill S. W., Hyman A. A. 2005. Spindle positioning by cortical pulling forces. *Develop. Cell*. 8 : 461—465.
- Hautbergue G. M., Hung M.-L., Golovanov A. P., Lian L.-Y., Wilson S. A. 2008. Mutually exclusive interaction drive handover of mRNA from export adaptor to TAP. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 105 : 5154—5159.
- Hayashi I., Wilde A., Mal T. K., Ikura M. 2005. Structural basis for the activation of microtubule assembly by the EB1 and p150<sup>Glued</sup> complex. *Mol. Cell*. 19 : 449—460.
- Herold A., Klymenko T., Izaurralde E. 2001. NXF1/p15 heterodimers are essential for mRNA nuclear export in *Drosophila*. *RNA*. 7 : 1768—1780.
- Herold A., Suyama M., Rodrigues J. P., Braun I. C., Kutay U., Carmo-Fonseca M., Bork P., Izaurralde E. 2000. TAP (NXF1) belongs to a multigene family of putative RNA export factors with a conserved modular architecture. *Mol. Cell Biol.* 20 : 8996—9008.
- Hime G. R., Brill J. A., Fuller M. T. 1996. Assembly of ring canals in the male germ line from structural components of contractile ring. *J. Cell Sci.* 109 : 2779—2788.
- Honnappa S., Gouveia S. M., Weisbrich A., Damberger F. F., Bhavesh N. S., Jawhari H., Grigoriev I., van Rijssel F. J. A., Buey R. M., Lawera A., Jelesarov I., Winkler F. K., Wüthrich K., Akhmanova A., Steinmetz M. O. 2009. An EB1-binding motif acts as a microtubule tip localization signal. *Cell*. 138 : 366—376.
- Howard J., Hyman A. A. 2003. Dynamics and mechanics of the microtubule plus end. *Nature*. 422 : 753—758.
- Huang Y., Yario T. A., Steitz J. A. 2004. A molecular link between SR protein dephosphorylation and mRNA export. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 9666—9670.
- Ji J.-Y., Squirrell J. M., Schubiger G. 2004. Both Cyclin B levels and DNA-replication checkpoint control the early embryonic mitoses in *Drosophila*. *Development*. 131 : 401—411.
- Job D., Valiron O., Oakley B. 2003. Microtubule nucleation. *Curr. Opin.* 15 : 111—117.
- Karr T. L., Alberts B. M. 1986. Organization of the cytoskeleton in early *Drosophila* embryos. *J. Cell Biol.* 102 : 1494—1509.
- Katahira J., Straßer K., Podtelejnikov A., Mann M., Jung J. U., Hurt E. 1999. The Mex67p-mediated nuclear mRNA export pathway is conserved from yeast to human. *EMBO J.* 18 : 2593—2609.
- Katahira J., Straesser K., Saiwaki T., Yoneda Y., Hurt E. 2002. Complex formation between Tap and p15 affects binding to FG-repeat nucleoporins and nucleocytoplasmic shuttling. *J. Biol. Chem.* 277 : 9242—9246.
- Kellogg D. R., Mitchison T. J., Alberts B. M. 1988. Behaviour of microtubules and actin filaments in living *Drosophila* embryos. *Development*. 103 : 675—686.
- Lai D., Sakkas D., Huang Y. 2006. The fragile X mental retardation protein interacts with a distinct mRNA nuclear export factor NXF2. *RNA*. 12 : 1446—1449.
- Lécuyer E., Yoshida H., Parthasarathy N., Alm C., Babak T., Cerovina T., Hughes T. R., Tomancak P., Krause H. M. 2007. Global analysis of mRNA localization reveals a prominent role in organizing cellular architecture and function. *Cell*. 131 : 174—187.
- Mans B. J., Anantharaman V., Aravind L., Koonin E. V. 2004. Comparative genomics, evolution and origins of the nuclear envelope and pore complex. *Cell Cycle*. 3 : 1612—1637.
- Maurer S. P., Fourniol F. J., Bohner G., Moores C. A., Surrey T. 2012. EBs recognize a nucleotide-dependent structural cap at growing microtubule ends. *Cell*. 149 : 371—382.
- Medioni C., Mowry K., Besse F. 2012. Principles and roles of mRNA localization in animal development. *Development*. 139 : 3263—3276.
- Miki H., Setou M., Kaneshiro K., Hirokawa N. 2001. All kinesin superfamily protein, *KIF*, genes in mouse and human. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 98 : 7004—7011.
- Mimori-Kiyosue Y., Tsukita S. 2003. «Search-and-capture» of microtubules through plus-end-binding proteins (+TIPs). *J. Biochem.* 134 : 321—326.
- Minestrini G., Harley A. S., Glover D. M. 2003. Localization of Pavarotti-KLP in living *Drosophila* embryos suggests roles in reorganizing in cortical cytoskeleton during mitotic cycle. *Mol. Biol. Cell*. 14 : 4028—4038.
- Mingle L. A., Okuhama N. N., Shi J., Singer R. H., Condeelis J., Liu G. 2005. Localization of all seven messenger RNAs for the actin-polymerization nucleator Arp2/3 complex in the protrusions of fibroblasts. *J. Cell Sci.* 118 : 2425—2433.
- Noguchi T., Miller K. G. 2003. A role for actin dynamics in individualization during spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Development*. 130 : 1805—1816.
- Palacios I. M., St. Johnston D. 2002. Kinesin light chain-independent function of the kinesin heavy chain in cytoplasmic streaming and posterior localisation in the *Drosophila* oocyte. *Development*. 129 : 5473—5485.
- Pokrywka N. J., Stephenson E. C. 1995. Microtubules are a general component of mRNA localization systems in *Drosophila* oocytes. *Development Biol.* 167 : 363—370.
- Riparbelli M. G., Callaini G., Schejter E. 2007. Microtubule-dependent organization of subcortical microfilaments in the early *Drosophila* embryo. *Development Dynamics*. 236 : 662—670.
- Rodrigues J. P., Rode M., Gatfield D., Blencowe B. J., Carmo-Fonseca M. 2001. REF proteins mediate the export of spliced and unspliced mRNAs from the nucleus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 98 : 1030—1035.
- Rodriguez O. C., Schaefer A. W., Mandato C. A., Forscher P., Bement W. M., Waterman-Storer C. M. 2003. Conserved microtubule-actin interactions in cell movement and morphogenesis. *Nat. Cell Biol.* 5 : 599—609.
- Rogers S. L., Rogers G. C., Sharp D. J., Vale R. D. 2002. *Drosophila* EB1 is important for proper assembly, dynamic, and positioning of the mitotic spindle. *J. Cell Biol.* 158 : 873—884.
- Schejter E. D., Weischaus E. 1993. Functional elements of the cytoskeleton in the early *Drosophila* embryo. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9 : 67—99.



- Schuyler S. C., Pellman D. 2001. Microtubule «plus-end-tracking proteins»: the end is just the beginning. *Cell*. 105 : 421—424.
- Sharp J. A., Plant J. J., Ohsumi T. K., Borowsky M., Blower M. D. 2011. Functional analysis of the microtubule-interacting transcriptome. *Mol. Biol. Cell*. 22 : 4312—4323.
- Stevenson V., Hudson A., Cooley L., Theurkauf W. E. 2002. Arp2/3-dependent pseudocleavage furrow assembly in syncytial *Drosophila* embryos. *Curr. Biol*. 12 : 705—711.
- Straight A. F., Field C. M. 2000. Microtubules, membranes and cytokinesis. *Curr. Biol*. 10 : R760—R770.
- Stutz F., Bachi A., Doerks T., Braun I. C., Seraphin B., Wilm M., Bork P., Izaurralde E. 2000. REF, an evolutionary conserved family of hnRNP-like proteins, interacts with TAP/Mex67p and participates in mRNA nuclear export. *RNA*. 6 : 638—650.
- Sundell C. L., Singer R. H. 1991. Requirement of microfilaments in sorting of actin messenger RNA. *Science*. 253 : 1275—1277.
- Takano K., Miki T., Katahira J., Yoneda Y. 2007. NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins. *Nucleic Acids Res*. 35 : 2513—2521.
- Tamura N., Draviam V. M. 2012. Microtubule plus-ends within a mitotic cell are «moving platforms» with anchoring, signalling and force-coupling roles. *Open Biol*. 2 : 120132. doi: 10.1098/rsob.120132.
- Tan W., Zolotukhin A. S., Tretyakova I., Bear J., Lindtner S., Smulevitch S. V., Felber B. K. 2005. Identification and characterization of the mouse nuclear export factor (Nxf) family members. *Nucleic Acids Res*. 33 : 3855—3865.
- Telley I. A., Gáspár I., Ephrussi A., Surrey T. 2012. Aster migration determines the length scale of nuclear separation in the *Drosophila* syncytial embryo. *J. Cell Biol*. 197 : 887—895.
- Tortosa E., Galjart N., Avila J., Sayas C.L. 2013. MAP1B regulates microtubule dynamics by sequestering EB1/3 in the cytosol of developing neuronal cells. *EMBO J*. 32 : 1293—1306.
- Tretyakova I., Zolotukhin A. S., Tan W., Bear J., Propst F., Ruthel G., Felber B. K. 2005. Nuclear export factor family protein participates in cytoplasmic mRNA trafficking. *J. Biol. Chem*. 280 : 31 981—31 990.
- Vandecandelaere A., Pedrotti B., Utton M. A., Calvert R. A., Bayley P. M. 1996. Differences in the regulation of microtubule dynamics by microtubule-associated proteins MAP1B and MAP2. *Cell Motil. Cytoskeleton*. 35 : 134—146.
- Wiegand H. L., Coburn G. A., Zeng Y., Kang Y., Bogerd H. P., Cullen B. R. 2002. Formation of Tap/NXT1 heterodimers activates Tap-dependent nuclear mRNA export by enhancing recruitment to nuclear pore complexes. *Mol. Cell. Biol*. 22 : 245—256.
- Yoon D. W., Lee H., Seol W., DeMaria M., Rosenzweig M., Jung J. U. 1997. Tap: a novel protein that interacts with tip of herpesvirus saimiri and induces lymphocyte aggregation. *Immunity*. 6 : 571—582.
- Zhang H. L., Singer R. H., Bassell G. J. 1999. Neurotrophin regulation of  $\beta$ -actin mRNA and protein localization within growth cones. *J. Cell Biol*. 147 : 59—70.

Поступила 22 V 2014

#### THE ROLE OF *sbr/Dm nxf1* GENE DURING SYNCYTIAL PERIODS OF DEVELOPMENT IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

E. V. Golubkova,<sup>1</sup> A. A. Atsapkina, L. A. Mamon

St. Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology;  
<sup>1</sup>e-mail: elena\_golubkova@mail.ru

The syncytial development is a feature of early embryogenesis and spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. All elements of syncytium are interconnected by single cytoskeletal network that enables equal conditions and provides synchronic development. The cytoskeleton is essential for the formation and functioning of the mitotic spindle, cytoskeletal elements are the main structural component of cilia and flagella. Intra- and intercellular transport, morphogenesis processes depend from cytoskeleton on both within a single cell, and at the level of the whole organism. The *sbr* (small bristles) gene of *D. melanogaster* belongs to the *NXF* (nuclear export factor) evolutionarily conservative proteins family. Gene *Dm nxf1* (*sbr*), as well as its orthologs in other organisms, controls the export of poly(A)-containing RNA from the nucleus to the cytoplasm, and the corresponding proteins are usually localized in the nucleus or in the nuclear envelope. For SBR protein we have shown the localization not only in the nucleus, but in the cytoplasm marking of characteristic cytoplasmic structures. A breach of the cytoskeleton in the *sbr* (*Dm nxf1*) mutant in *D. melanogaster* shown by us and cytoplasmic localization of the protein SBR allow us to link the specific functions of this protein with the dynamics of the cytoskeleton.

**Key words:** *small bristles*, nuclear export factor 1, *Drosophila melanogaster*, embryogenesis, spermatogenesis, syncytium, cytoskeleton.