

Статья посвящена 120-летию
со дня рождения выдающегося российского генетика,
академика Бориса Львовича Астаурова

РНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК NXF1 НЕОБХОДИМ ДЛЯ РАЗВИТИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2025 г. Е. В. Голубкова^{а, *}, А. О. Якимова^б, К. В. Ахромов^{а, с}, Е. В. Рябова^с,
Д. М. Грудкова^а, Л. В. Барабанова^а, С. В. Саранцева^с, Л. А. Мамон^а

^а Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9,
Санкт-Петербург, 199034 Россия

^б МРНЦ им. А. Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, ул. Королева, д. 4,
Обнинск, 249036 Россия

^с Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт»,
мкр. Орлова роща, д. 1, Гатчина, 188306 Россия

* e-mail: e.golubkova@spbu.ru

Поступила в редакцию 29.01.2025 г.

После доработки 03.03.2025 г.

Принято к публикации 10.03.2025 г.

У *Drosophila melanogaster*, как и у всех Opisthokonta, за ядерный экспорт мРНК из ядра в цитоплазму отвечает эволюционно консервативный белок NXF1 (Nuclear eXport Factor 1). Традиционно считается, что после выхода из ядерной поры белок NXF1 покидает мРНК-комплекс и возвращается в ядро. Нами впервые показано присутствие белка NXF1 у дрозофилы в цитоплазме различных клеток, включая нервные. Цитоплазматическая локализация белка NXF1 указывает на то, что функция ядерного экспорта — не единственная функция этого белка. Ген *Nxf1* у дрозофилы имеет исторически сложившееся название *sbr* (*small bristles*). Для ряда мутаций в гене *sbr* характерны доминантные фенотипические эффекты. В частности, мутантная аллель *sbr^{l2}* приводит к нарушениям формирования мозга дрозофилы. Характерные морфологические дефекты в нейропилях зрительной доли позволяют предположить, что белок NXF1 (SBR) участвует в организации пространственной архитектуры мозга мухи, включая формирование границ нейропилей. Эволюционная консервативность гена *Nxf1* открывает перспективы в изучении роли продуктов этого гена в формировании нервной системы с использованием дрозофилы как модельного объекта.

Ключевые слова: нейрогенез, *Drosophila*, оптические доли, нейромышечные контакты, *nxf1* (*nuclear export factor*), *sbr* (*small bristles*)

DOI: 10.31857/S0475145025010034, EDN: KVDWDH

ВВЕДЕНИЕ

Ген *sbr* (*small bristles*) *Drosophila melanogaster* является ортологом генов *Nxf1* (Nuclear eXport Factor) у разных организмов, включая человека (Третьякова и др., 2001; Herold et al., 2001; Wilkie et al., 2001). Наиболее известная функция генов *Nxf1* — экспорт различных мРНК из ядра в цитоплазму (Herold et al., 2001). Белок NXF1 локализуется в ядре и ядерной оболочке в соответствии с этой функцией (Bachi et al. 2000). Ранее мы показали, что белок SBR (DmNXF1) у *D. melanogaster* находится не только в ядре,

но и в цитоплазме различных клеток (Ацапкина и др., 2010; Голубкова и др., 2015; Yakimova et al., 2016). Эти результаты предполагают, что белок SBR имеет специфические цитоплазматические функции помимо его участия в ядерном экспорте мРНК. В мозге личинки дрозофилы SBR образует гранулы в телах нейронов и нейритах (Yakimova et al., 2016). Отдельные гранулы содержат и белок SBR и белок dFMR1 (*drosophila* Fragile Mental Retardation 1). Белок FMR1 является известным компонентом РНП-гранул, участвующим в метаболизме РНК в цитоплазме, в том числе и в отростках нерв-

ных клеток (Drozd et al., 2018). Отдельные гранулы содержат либо только белок FMR1, либо только SBR. Полученные данные предполагают, белок SBR в цитоплазме связывает специфические долгоживущие РНК-мишени и, возможно, участвует в контроле своевременной трансляции таких РНК (Mamon et al., 2017). Следует отметить, что регулируемая трансляция долгоживущих мРНК является чрезвычайно важным процессом в ходе нейрогенеза (Holt, Schuman, 2013; Sasaki, 2020).

Нейрогенез у дрозофилы является высокоорганизованным процессом, который требует строгой регуляции индивидуализации компартментов и установления точных связей между нейронами. Становление межклеточных коммуникаций, вовлекающих нейроны и клетки глии, является одним из важнейших факторов, определяющих направление роста аксонов, формирование коннектома и способствующих выживанию нейронов (Chotard, Salecker, 2007; Spindler et al., 2009; Tomasi et al., 2008). Локализованные РНК в комплексе с РНК-связывающими белками создают систему быстрого и долгосрочного производства сигнальных или рецепторных молекул вблизи клеточных мембран глиальных клеток, нейронов и их нейритов, что не только способствует формированию корректных нейронных сетей и формированию правильной микроархитектуры мозга, но и позволяет устанавливать границы между отделами в мозге.

Зрительные доли мозга мухи являются моделью компартиментализации, играющей решающую роль в развитии нервной системы в целом. Каждая из зрительных долей разделена на четыре компартмента (нейропила): ламину, медуллу, лобулу и лобулярную пластинку (Trujillo-Cenóz, Melamed, 1966; Meinertzhagen, Hanson, 1993; Néric, Desplan, 2016). Каждый нейропиле представляет собой пространство, заполненное отростками нейронов, формирующих коннектом, и окруженное телами нейронов и глиальных клеток. Упорядоченность коннектома нейропилей особенно четко прослеживается на примере ламины и медуллы — компартментов, в которые приходят отростки фоторецепторных нейронов. Сложные глаза дрозофилы состоят из отдельных единиц, называемых омматидиями. Каждый омматидий содержит восемь фоторецепторных нейронов (R1–R8), которые проецируются в зрительную долю мозга, следуя правилу нейронной суперпозиции (Trujillo-Cenóz, Melamed, 1966; Néric, Desplan, 2016). Это правило га-

рантирует, что аксоны фоторецепторных клеток передают информацию из одной и той же точки в пространстве, проецируемую на одну и ту же структуру ламины, называемую картриджем. Аксоны фоторецепторных нейронов R1–R6 образуют структуру ламины, подразделяя нейропиле на синаптические картриджи (Meinertzhagen, Sorra, 2001; Paulk et al., 2013). Аксоны фоторецепторных нейронов R7–R8 пересекают ламину и заканчиваются в медулле, вместе с аксонами нейронов ламины и собственных нейронов медуллы, формируя 10 упорядоченных слоев в структуре медуллы. Кроме того, медулла содержит повторяющиеся столбчатые единицы, напоминающие картриджи ламины, ориентированные перпендикулярно десяти слоям (Fischbach, Dittrich 1989; Fischbach, Hiesinger, 2008; Gontang et al., 2011) (рис. 1). Примечательно, что известны мутации, одним из проявлений которых является нарушение структуры нейропилей зрительных долей в мозге дрозофилы, связанные с нарушением нацеливания аксонов и некорректным формированием связей между нейронами различных функциональных групп (Tayler et al., 2004).

Мутации гена *sbr* характеризуются широким спектром плейотропных эффектов, среди них некоторые проявляются доминантно: нерасхождение хромосом в митозе и мейозе, мужская стерильность, нарушения морфологии мозга, формирования моторных нейронов в эмбриогенезе, а также нарушение долговременной памяти у мух (Dybas et al., 1983; Geer et al., 1983; Korey et al., 2001; Никитина и др., 2003а, 2003б; Golubkova et al., 2009; Голубкова и др., 2015). Некоторые из перечисленных дефектов не удается объяснить просто нарушением известной функции *sbr* — ядерного экспорта мРНК. Примером таких дефектов могут служить изменения двигательной активности мух, а также морфологические дефекты в зрительных долях и эллипсоидном теле мозга дрозофилы, которые являются доминантными проявлениями мутантной аллели *sbr*¹² (Якимова и др., 2018). Это позволяет предположить, что белок SBR участвует в организации пространственной архитектуры мозга мухи, особенно в формировании границ нейропилей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Линии дрозофилы

В качестве контроля использовали стандартную лабораторную линию *Oregon-R*. Жизнен-

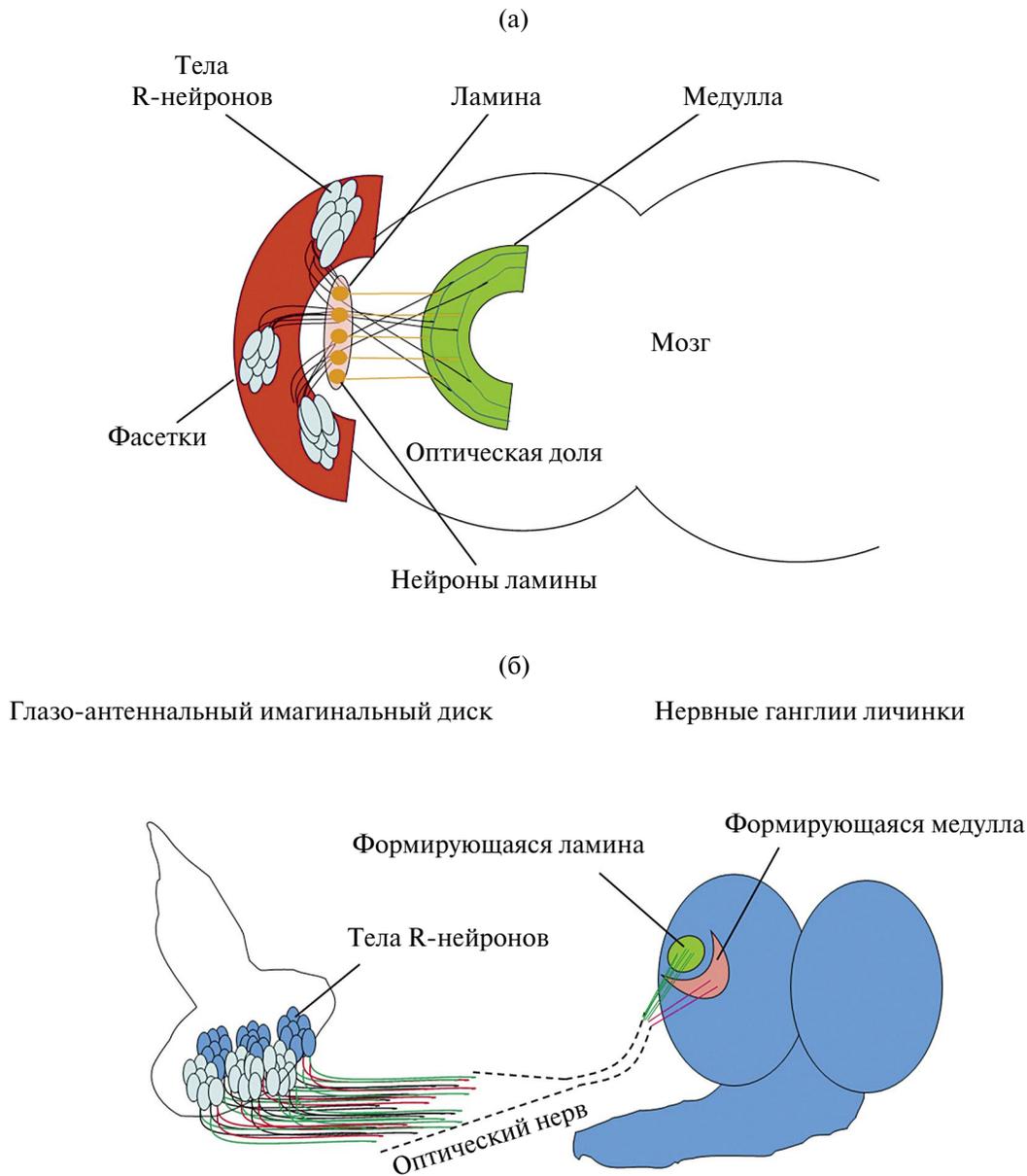


Рис. 1. Схема структуры оптической доли мозга дрозофилы. а) стадия имаго; б) личиночная стадия.

но важный ген *D. melanogaster sbr* расположен на X-хромосоме, тогда как ортологичные гены *Nxf1* позвоночных находятся на аутосомах. Поскольку гомозиготное или гемизиготное носительство аллели *sbr¹²* является летальным, жизнеспособные самцы-носители *sbr¹²* были получены путем скрещивания самок *sbr¹²/FM6* с самцами, несущими *sbr⁺* как часть дупликации *Dp(1;Y)y⁺v⁺* на Y-хромосоме. Самцы *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* отличаются от самцов дикого типа не только наличием мутантной аллели *sbr¹²* — они также имеют две копии гена *sbr*. У самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺*

дополнительная аллель *sbr⁺* находится на Y-хромосоме. Уровень транскрипции генов, сцепленных с X-хромосомой, регулируется механизмом дозовой компенсации (Kuroda et al., 2016). Поэтому для изучения фенотипов *sbr¹²* необходимы дополнительные контрольные варианты. Самцы с делецией гена *sbr* на X-хромосоме и аллелью *sbr⁺* на Y-хромосоме предоставляют возможность изучить влияние одной копии аллели *sbr⁺* при ее необычной локализации. Еще одним дополнительным контролем являются самцы *sbr⁺/Dp(1;Y)y⁺v⁺*, которые имеют двойную дозу *sbr⁺*

(одну на X-хромосоме и другую — на Y-хромосоме). Этот контроль позволяет сравнивать особей генотипа $sbr^{12}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$ с имеющими генотип $sbr^{+}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$ в отношении дозы гена sbr . Дополнительные контроли помогают дифференцировать фенотипический эффект аллели sbr^{12} от эффектов двойной дозы гена sbr и необычной хромосомной локализации аллели sbr^{+} .

*Анализ структуры головного мозга
и нейромышечных контактов
у тестируемых самцов*

Для сравнительного анализа структуры мозга с учетом размеров и морфологии отдельных нервных центров применяли методику иммуногистохимического окрашивания целых ганглиев (Ashburner, 1989) с использованием флуоресцентного красителя DAPI для визуализации ядер клеток и меченых флуорохромами антител к белкам SBR (DmNXF1) (АЛМА-БИОН, Россия), и HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США), а также методику приготовления парафиновых срезов толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином-эозином. В каждом варианте анализировали мозг не менее 20 самцов.

Для анализа структуры нейромышечных контактов использовали методику, описанную Смит и Тэйлор (Smith, Taylor, 2011).

Фиксацию препарированных личиночных и имагинальных тканей проводили в 4%-ном формальдегиде в PBS в течение 15 мин при комнатной температуре. Образцы промывали 3 раза по 15 мин в PBST (PBS с добавлением 0.1% Tween-20). Пермеабилзация проводилась в PBS с 0.3% Tween-20 в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем осуществляли инкубацию образцов в течение 2 ч в блокирующем растворе (10% сыворотки плода теленка (FCS) в PBST) при 4°C, чтобы избежать неспецифического связывания антител. Антитела к HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США), которые специфически связываются с фосфолипидами в нейрональной мембране у *Drosophila* (Jan, Jan, 1982), использовали для идентификации нейропилей, фоторецепторных нейронов и их отростков в глазном имагинальном диске и личиночном мозге, а также для окраски нейромышечных контактов (1 : 250 в блокирующем растворе, в течение ночи при +4°C). На заключительной стадии препарированный материал промывали 4 раза по 15 мин в PBST и 2 раза по 15 мин в PBS. Ядра окрашивали DAPI (1 мкг/мл в PBS)

в течение 15 мин при комнатной температуре, после чего нервные ганглии промывали 3 раза по 10 мин в PBS и помещали в среду Vectashield Mounting Medium (Vector Laboratories, США).

Для приготовления парафиновых срезов фиксированные головы мух (4% формальдегид в PBS в течение ночи при +4°C) подвергали обезвоживанию и парафинированию по стандартной методике (Кисели, 1962). Серийные срезы голов толщиной 5 мкм получали с помощью микротомы и переносили на предметные стекла, покрытые поли-L-лизинном. Затем срезы депарафинировали, гидратировали и окрашивали гематоксилином-эозином по стандартной методике (Кисели, 1962). После этого срезы обезвоживали, инкубировали в ксилоле (2 раза по 3 мин) и заключали в канадский бальзам.

Анализ препаратов проводили с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica TCS SP5 (Leica Microsystems GmbH, Германия) в Центре коллективного пользования “Хромас” СПбГУ и лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica DM14000 на базе лаборатории радиационной биохимии Медицинского радиологического научного центра им. А. Ф. Цыба — филиала ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский радиологический центр” Минздрава России (НМИЦ им. А. Ф. Цыба) в Обнинске. Для визуализации отростков фоторецепторов в мозге имаго регистрировали автофлуоресценцию с использованием возбуждающего лазера 488 нм и блокирующего фильтра 530–580 нм. При данных параметрах сканирования автофлуоресценция белка родопсина в отростках фоторецепторов отчетливо видна, несмотря на наличие фоновой автофлуоресценции других тканей *D. melanogaster*. Полученные изображения обрабатывались с использованием систем компьютерного анализа изображений: LAS AF Lite V1.7.0 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и ImageJ, а также Adobe Photoshop V7.0 (Adobe Systems Incorporated, США) для компоновки составных изображений и нанесения пояснительных меток (стрелок, контуров) для упрощения восприятия результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура оптической доли мозга дрозофил, несущих мутацию в гене sbr (DmNxf1)

Медулла представляет собой высокоупорядоченную структуру, состоящую из множества си-

наптических слоев. Проекция фоторецепторов R7–R8 заканчивается в разных слоях медуллы и образуют строго упорядоченные синаптические связи с проекциями нейронов ламины и медуллы. Колонки медуллы ориентированы перпендикулярно десяти синаптическим слоям медуллы (Fischbach, Dittrich, 1989).

У взрослых самцов линии дикого типа *Oregon-R* медулла имеет четкие гладкие границы (рис. 2а). Структура медуллы у самцов генотипа *sbr⁺/Dp(1;Y)y⁺v⁺* и самцов с делецией гена *sbr* (*Df(1)v-L4 ras² m^D/Dp(1;Y)y⁺v⁺*) не отличается от линии *Oregon-R* (Mamon et al., 2021). У самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* медулла утратила свою целостность (рис. 2б). Невозможно определить границу между медуллой и лобулой, структура лобулы также нарушена. Характер структурной дезорганизации медуллы предполагает, что дезорганизация может быть вызвана дефектами на этапе поиска пути аксонами фоторецепторов R7–R8 к своим мишеням. Если это так, то аксоны нейронов R7–R8, не достигнув своих целей, не формируют правильный коннект. Причиной подобных нарушений могут быть нарушения ремоделирования аксонального цитоскелета и/или работы сигнальных комплексов, отвечающих за нацеливание и рост аксонов (Stephan et al., 2011). Для сопоставления наших данных с проявлениями уже известных мутаций дрозофилы мы проанализировали расположение фоторецепторных терминалей R7 и R8 в медулле взрослых самцов (рис. 3). Для идентификации аксонов фоторецепторных нейронов использовали детекцию автофлуоресценции родопсина при помощи конфокальной микроскопии. Родопсины — это белки, синтезируемые в зрелых фоторецепторах, которые обеспечивают их функциональную активность. Обнаружение автофлуоресценции родопсина позволяет идентифицировать расположение фоторецепторных нейритов, но не позволяет различать различные типы фоторецепторов (R1–R8). С другой стороны, можно дифференцировать фоторецепторные нейроны R1–R6, R7 и R8 друг от друга по расположению их терминалей в мозге. Анализ флуоресценции родопсина показал, что терминали R7 и R8 образуют упорядоченную структуру в дистальной части медуллы у самцов дикого типа, самцов генотипов *sbr⁺/Dp(1;Y)y⁺v⁺* и *Df(1)v-L4 ras² m^D/Dp(1;Y)y⁺v⁺*. У самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* терминали R7 и R8 располагаются хаотично и не образуют упорядоченных рядов, некоторые аксоны достигают лобулы, что абсолютно нехарактерно для строения оптических долей мух

дикого типа (рис. 3). Мы обнаружили большую изменчивость в проявлении мутантного фенотипа между особями, что не позволило нам сузить круг возможных причин формирования мутантного фенотипа. Нейроны R7 и R8 являются пионерными нейронами при формировании медулярных синаптических слоев. Аксоны этих фоторецепторов сначала прорастают в медуллу, а затем служат навигационным ориентиром для аксонов других нейронов, которые участвуют в формировании отдельных столбцов (Aritz, Salecker, 2014). Таким образом, нарушение границы между ламинной и медуллой, а также внутренней архитектуры этих нейропилей у самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* предполагает, что у них процесс формирования коннектома при участии аксонов фоторецепторных нейронов является дефектным (рис. 3). Необходимо отметить, что сама структура ткани мозга самцов *sbr¹²* имеет плотность, отличающуюся от таковой у самцов других генотипов (рис 2, 3), причем этот признак характеризуется неполной пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью, что связано с гетерозиготностью по данной аллели.

Мы проанализировали формирование аксонов фоторецепторов на личиночной стадии развития (Mamon et al., 2021). Только у самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* наблюдали дефектное объединение в пучки аксонов фоторецепторных нейронов в глазо-антеннальном имагинальном диске, это свидетельствует о том, что аллель *sbr¹²* влияет на индивидуализацию пучков аксонов. Картина локализации терминалей R7–R8 в развивающейся медулле личиночного мозга (рис. 1б) была также аномальной. Эти данные свидетельствуют о том, что аллель *sbr¹²* влияет на множественные процессы, включая рост и ветвление аксонов, установление новых межклеточных взаимодействий и формирование строго упорядоченной зоны R-терминалей. Кроме того, анализ структуры медуллы в развивающихся зрительных долях выявил, что только у самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺* имеются признаки нейродегенерации в этой области мозга (Mamon et al., 2021). Самцы других генотипов не показали признаков нейродегенерации или дефектов в структуре нейропиля. Мы полагаем, что аномалии структуры мозга, наблюдаемые у самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)y⁺v⁺*, вызваны нарушением нейроспецифичной функции белка SBR.

Локализация матричных РНК в определенных субклеточных участках является консервативным механизмом для контроля синтеза

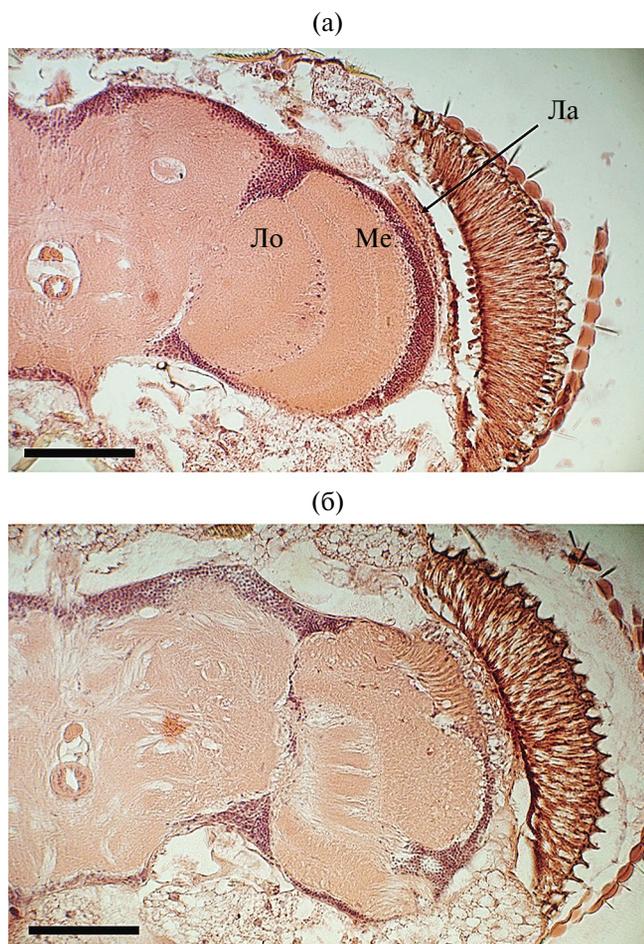


Рис. 2. Зрительные доли мозга самцов *D. melanogaster* различных генотипов. а) мозг самца линии *Oregon-R*; б) мозг самца, несущего аллель *sbr¹²* в гетерозиготе. Окраска парафиновых срезов — гематоксилин-эозином. Ло — лобула, Ме — медулла, Ла — ламина. Масштаб: 100 мкм.

цитоплазматических белков в отдельных клеточных компартментах. Например, в работе, посвященной полногеномному скринингу РНК, локализованных в дендритах, было выявлено 47 локализованных РНК, необходимых для нейрогенеза, 18 из которых требуются для динамических процессов роста, ветвления и/или ремоделирования дендритов (Misra et al., 2016).

Участвуя в ядерном экспорте мРНК, белок SBR (NXF1) не имеет специфичности к различным мРНК-мишеням. Взаимодействия между NXF1 и мРНК не происходят напрямую, так как требуются специальные молекулы-адаптеры (Herold et al., 2001). Аллель *sbr¹²* несет 30-нуклеотидную делецию в экзоне 9 (Ginanova et al., 2016). Делеция 30 п.н. не сдвигает рамку считывания в кодирующей части гена *sbr*. В белке SBR¹² от-

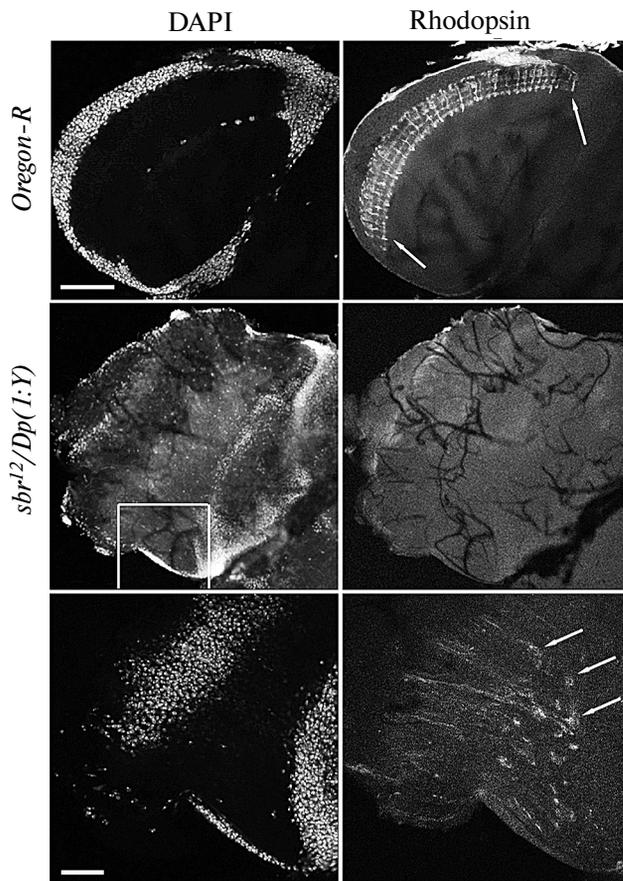


Рис. 3. Терминалы аксонов фоторецепторов R7–R8 в зрительной доле головного нервного ганглия дрозофилы у взрослых самцов разных генотипов. Стрелки указывают на терминалы аксонов R7–R8 в дистальной части медуллы. Ядра клеток окрашивали DAPI, а родопсин визуализировали путем обнаружения его автофлуоресценции. Внизу — увеличенное изображение фрагмента медуллы (выделено на верхнем изображении). В медулле зрительной доли у взрослых самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)*у+v+ стрелки указывают на некоторые хаотично разбросанные терминалы аксонов фоторецепторов. Аксоны не образовывали своеобразных параллельных рядов в дистальной части медуллы и прорастали вглубь медуллы и в лобулу. Масштабная линейка: сверху — 50 мкм; увеличенное изображение — 25 мкм.

сутствуют 10 аминокислот (TIFITNATHE). В результате структура домена NTF2L изменяется. Домен NTF2L отвечает за взаимодействие с белком NXT1 (p15), который является постоянным партнером NXF1 (Bachi et al., 2000; Fribourg et al., 2001). Более того, домен NTF2L (а также домен UBA) опосредует взаимодействие NXF1 с нуклеопоринами (белками ядерных поровых комплексов) и последующий транспорт РНП из ядра в цитоплазму (Fribourg et al., 2001; Braun et al., 2002). Структура домена NTF2L важна для взаимодействия NXF1 с различными мРНК.

Дефекты в специфических мозговых центрах самцов *sbr¹²* нельзя просто объяснить снижением общего экспорта мРНК. Аллель *sbr¹²* оказывает доминантный негативный эффект на фоне нормального аллеля *sbr⁺*. Мы не можем исключить возможность селективного воздействия аллеля *sbr¹²* на ядерный транспорт некоторых мРНК-мишеней. Присутствие измененного белка SBR¹² может влиять на экспорт специфических мРНК, которые могут включать локализованные мРНК, важные для нейрогенеза. SBR находится в рибонуклеопротеиновых комплексах в отростках нервных клеток, но не все нейрональные гранулы РНП маркируются белком SBR. Это наблюдение предполагает, что SBR может сопровождать специфические локализованные РНК в цитоплазме (Yakimova et al., 2016). Направленный рост нейритов позволяет им достигать своих целей, а древовидная структура отростков и установление и поддержание связей между нейронами зависят от динамических изменений в цитоскелете что, в свою очередь, определяется регулируемой трансляцией (Cammarata et al., 2016). Неслучайное распределение SBR в цитоплазме различных клеток, включая клетки нервной системы (Yakimova et al., 2016), предпо-

лагает, что среди мишеней SBR могут быть локализованные мРНК, связанные с цитоскелетом (Mamon et al., 2017). В глазных имажинальных дисках самцов *sbr¹²/Dp(1;Y)⁺v⁺* аксоны фоторецепторов из разных омматидиев не образуют строго упорядоченных пучков. Это наблюдение предполагает нарушение связей между этими аксонами, между терминалями и мишенями. SBR часто локализуется вблизи клеточной мембраны (рис. 4). Присутствие SBR в составе РНП-гранул согласуется с тем, что это сложные макромолекулярные комплексы. Они включают и белки сигнальных систем, такие как киназы и фосфатазы (Zhang, Herman, 2020), что необходимо для регуляции локализованной трансляции мРНК. Следует отметить, что человеческий ортолог SBR — TAP/HsNXF1 — был впервые описан как фактор клеточной адгезии (TAP — Tip Associated Protein, где tip — Tyrosine kinase Interacting Protein) (Yoon et al., 1997). Только позже NXF1 (TAP) был идентифицирован как белок, участвующий в ядерном экспорте различных мРНК (Herold et al., 2000).

Молекулы клеточной адгезии играют важную роль в нацеливании аксонов, и нарушения

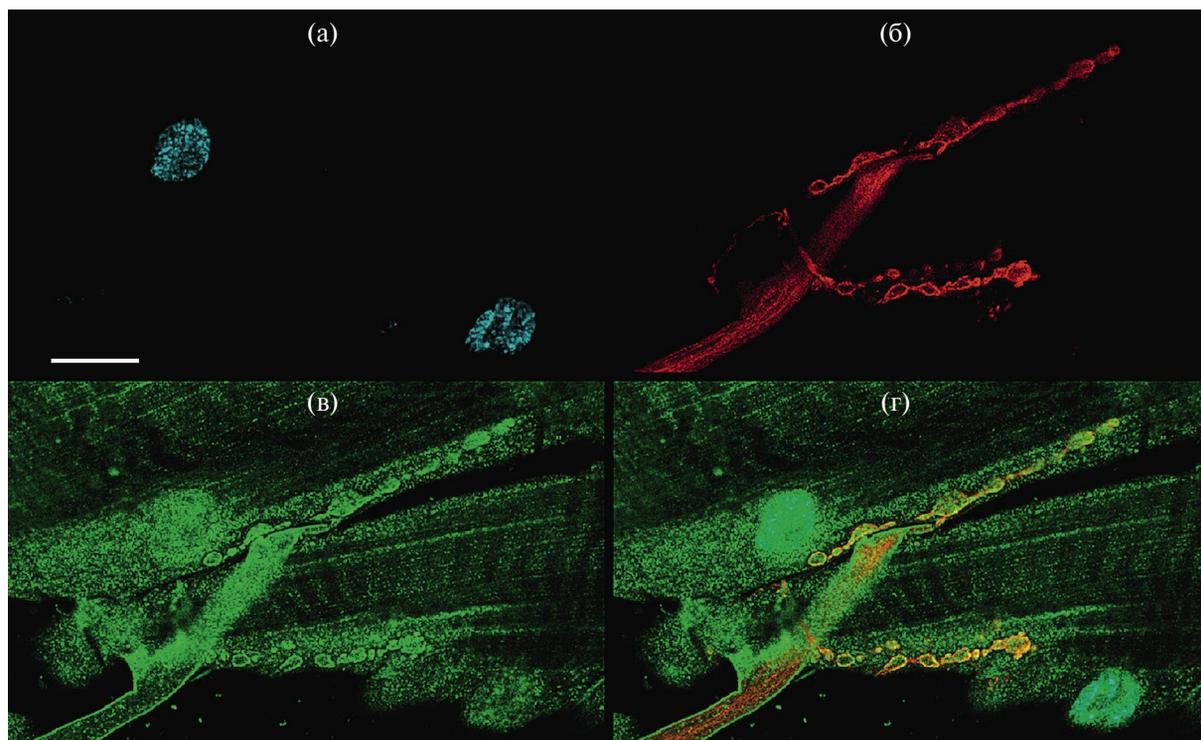


Рис. 4. Локализация белка SBR в нейромышечных контактах личинки дрозофилы. а) Окраска DAPI выявляет ядра клеток; б) антитела к HRP маркируют нервы и бутоны нервно-мышечных контактов (красным); в) антитела к белку SBR отражают колокализацию белка с маркером мембран нервных клеток и специфический рисунок распределения белка SBR в мышечных волокнах (зеленым); г) совмещенное изображение. Масштабная линейка — 20 мкм.

их функций приводят к дефектам морфогенеза (Kurusu et al., 2012; Missaire, Hindges, 2015). Кроме того, установление правильных контактов между нейронами и их мишенями является необходимым требованием для выживания нейронов (Yamaguchi, Miura, 2015). Этот процесс может объяснить нейродегенерацию, наблюдаемую в медулле зрительных долей мозга у личинок самцов $sbr^{12}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$. Структурные дефекты и очаги нейродегенерации в медулле взрослых самцов $sbr^{12}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$ также могут быть последствиями устранения нейронов, которые образовали aberrантные синаптические связи. Поскольку R-нейроны берут на себя роль пионерных нейронов в формировании медуллы, элиминация их аксонов может быть причиной аномалий развития этого нейропиля. Таким образом, дефекты межклеточной коммуникации могут приводить к нарушению процесса поиска пути отростков нейронов к своим мишеням, индивидуализации пучков аксонов фоторецепторов и нейродегенерации (Edwards, Meinertzhagen, 2010), что в конечном счете будет обуславливать нарушение структуры и функции сформированного мозга.

Локализация белка SBR (*DmNXF1*) в нейромышечных контактах

Самцы $sbr^{12}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$ характеризуются аномалиями в половом поведении и более низкой активностью в тесте на отрицательный геотаксис (Якимова и др., 2018). Причина нарушения двигательной активности может быть также связана со специфическими функциями белка SBR. Мы обнаружили, что белок SBR маркирует

нервно-мышечные контакты у личинок (рис. 4) и взрослых мух. Локализация белка SBR в районе клеточных мембран может отражать необходимость присутствия белка SBR в зоне межклеточных контактов. Кроме того, мы обратили внимание на специфическое распределение белка SBR в мышечных волокнах. Выявляемая нами структура мышечных волокон характерна и для распределения в них цитоскелетных белков, например актина. Структура нейромышечных контактов у мух, несущих аллель sbr^{12} , отличается от мух других генотипов по числу сателлитных бутонов (рис. 5), причем у мутантов их больше, чем у мух дикого типа.

Одна из причин переизбытка сателлитных бутонов — мутация в генах, которые участвуют в эндоцитозе (Menon et al., 2013). Рециркуляция эндосом, в свою очередь, зависит от полимеризации актина (Rodal et al., 2008). Вместе с нашими данными это позволяет предположить, что одной из мишеней белка SBR может быть мРНК актина. А мутантный белок SBR нарушает транспорт и трансляцию этой мРНК в формирующихся нейромышечных контактах.

Еще одной особенностью самцов sbr^{12} является стерильность, обусловленная отсутствием подвижных сперматозоидов (Голубкова и др., 2015). Неподвижность сперматозоидов является аллельспецифическим фенотипом и других аллелей: sbr^{12} , sbr^{17} и sbr^{18} (FlyBase 2024). Стерильность самцов мух с мутантными аллелями sbr сопровождается аномалиями аксоном (т.е. дефектами в структуре цитоскелета). Мутация sbr^{mgl} вызывает нарушения в нацеливании аксонов эмбриональных моторных нейронов (Korey et al., 2001). Фенотип мутантов sbr^{mgl} объясняют нарушением сборки актина в зоне конуса роста аксона. Влияние мутаций по гену sbr на расхождение хромосом в мейозе (Никитина и др., 2003a) и форму веретена первого деления мейоза у самок (Golubkova et al., 2009) позволили предположить значение этого гена для динамических изменений цитоскелета. Аллели sbr^1 и sbr^2 вызывают дефекты в морфологии щетинок (FlyBase 2024). Щетинки являются сенсорным органом *D. melanogaster*, чье развитие является классическим примером реализации позиционной информации во время клеточной дифференцировки. В этом случае после асимметричного деления две дочерние клетки имеют неравное распределение цитоплазматических детерминант (включая комплексы РНП) и различаются по ориентации аппарата веретена деления (Knoblich, 1997;

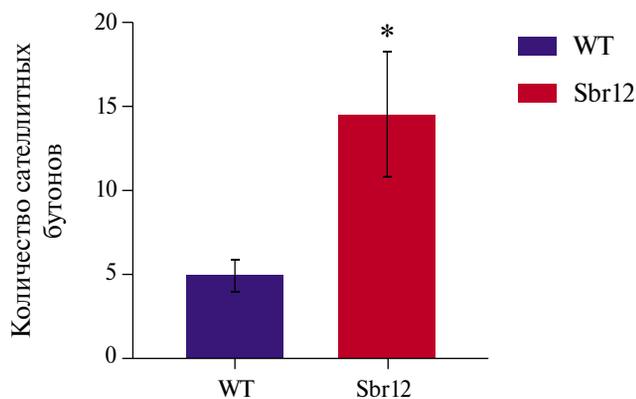


Рис. 5. Оценка количества сателлитных бутонов нервно-мышечных соединений у личинок третьего возраста дикого типа (wt) и генотипа $sbr^{12}/Dp(1;Y)y^{+v^{+}}$. Отмечено статистически достоверное отличие, критерий Манна–Уитни ($P < 0.0001$).

Roegiers, Jan, 2004; Egger et al., 2008; Furman, Bukharina, 2008). Связь с сигнальными молекулами обеспечивает регуляцию трансляции мРНК в районе динамических изменений цитоскелета, его роста или разборки. Миграция клеток, ориентация митотического веретена, рост отростков нервных клеток — все эти процессы зависят от определенных мРНК, находящихся в составе макромолекулярных комплексов, связанных с цитоскелетом. В судьбе этих мРНК важную роль играют РНК-связывающие белки в том числе и белки семейства NXF.

NXF1 является компонентом различных макромолекулярных комплексов и взаимодействует с белками и РНК (Viphakone et al., 2012). Специфика этих взаимодействий определяется структурой доменов NXF1 (он содержит домен LRR (лейцин-богатый повтор), который контролирует белок-белковые взаимодействия, домен NTF2L (подобный фактору ядерного транспорта 2), который поддерживает взаимодействие с партнерским белком NXT1, и RBD — РНК-связывающий домен) а также конформационными особенностями всей молекулы (Katahira et al., 2015; Valkov et al., 2012). Дефекты в одной части молекулы NXF1 могут влиять на функции некоторых комплексов, не оказывая существенного влияния на функции других комплексов. Склонность NXF1 к мультимеризации придает широкий спектр изменчивости гетерозиготным особям. Комплексы РНП могут содержать различные соотношения нормальных и мутантных белковых субъединиц, и эта изменчивость может влиять на структурные и функциональные особенности комплекса и объяснять вариации в доминантных негативных эффектах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дефекты поиска пути аксонов фоторецепторов, индивидуализации пучков аксонов и нейродегенерация влияют на формирование границ и микроархитектуры различных нейропилей мозга у самцов, несущих аллель *sbr*¹². Неслучайная цитоплазматическая локализация РНК-связывающего белка SBR предполагает, что он играет роль в процессах, позволяющих аксонам достигать и идентифицировать свои цели. На морфогенетические события и на установление границ отделов головного мозга влияет цитоскелет и мембраносвязанные РНП-комплексы, в состав которых может входить белок SBR. Дезорганизация границ нейропилей также усугубляется процессом нейродегенерации, на-

блюдаемым уже на личиночной стадии развития. Таким образом, белок SBR (DmNXF1) необходим для формирования внутренней структуры и установления границ отдельных нервных центров в мозге дрозофилы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Приносим благодарность сотрудникам ЦКП “Хромас” (Центр исследования ультраструктуры и молекулярного состава биологических объектов при биологическом факультете СПбГУ) и Ресурсного центра развития молекулярных и клеточных технологий Научного парка СПбГУ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта СПбГУ “Изучение генетических основ внутривидовой изменчивости, надорганизменных взаимодействий и таксономического разнообразия с использованием биоресурсных коллекций” (шифр проекта 124032000041-1).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены. Люди в данном исследовании не участвовали в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

Голубкова Е. В. — дизайн эксперимента, работа с рисунками и написание текста статьи.

Якимова А. О. — взятие материала, окраска препаратов, фотографирование и анализ препаратов, статистический анализ полученных данных, работа с рисунками, написание текста статьи.

Ахромов К. В. — постановка скрещиваний, взятие материала, окраска препаратов, фотографирование и анализ препаратов, статистический анализ полученных данных, работа с рисунками, обсуждение результатов.

Рябова Е. В. — окраска и анализ препаратов, статистический анализ полученных данных.

Грудкова Д. М. — постановка скрещиваний, взятие материала, окраска препаратов, фотографирование и анализ препаратов, статистический анализ полученных данных.

Барабанова Л. В. — обсуждение результатов, написание текста статьи.

Саранцева С. В. — обсуждение результатов, редактирование текста статьи.

Мамон Л. А. — дизайн эксперимента, обсуждение результатов и текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ацапкина А.А., Голубкова Е.В., Касаткина В.В. и др. Особенности сперматогенеза у *Drosophila melanogaster*: роль основного транспортного рецептора мРНК (DmNXF1) // Цитология. 2010. Т.52. № 7. С. 574–579.
2. Голубкова Е.В., Ацапкина А.А., Мамон Л.А. Роль гена *sbr* (*small bristles*)/*Dm nxf1* (nuclear export factor 1) в синцитиальные периоды развития у *Drosophila melanogaster* // Цитология. 2015. Т. 57. № 4. С. 294–304.
3. Кисели Д. Практическая микротехника и гистохимия. Изд-во Академии наук Венгрии. Будапешт. 1962. 400 с.
4. Никитина Е.А., Комарова А.В., Голубкова Е.В., Третьякова И.В., Мамон Л.А. Полудоминантное влияние мутации *l(1)ts403* (*sbr¹⁰*) на нерасхождение половых хромосом в мейозе у самок *Drosophila melanogaster* при тепловом воздействии. // Генетика. 2003а. Т. 39. № 3. С. 269–275.
5. Никитина Е.А., Токмачева Е.В., Савватеева-Попова Е.В. Тепловой шок в период развития центральных структур мозга дрозофилы: формирование памяти у мутанта *l(1)ts403* *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2003б. Т. 39. № 1. С. 33–40.
6. Третьякова И.В., Лезин Г.Т., Маркова Е.Г. и др. Продукт гена *sbr* у *Drosophila melanogaster* и его ортологи у дрожжей и человека // Генетика. 2001. Т.37. С.725–736.
7. Якимова А.О., Голубкова Е.В., Саранцева С.В. и др. Дефекты структуры эллипсоидного тела и медуллы в нервных ганглиях и нарушения локомоции у мутантов по гену *sbr* (*small bristles*) *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2018. Т. 54. № 6. С. 603–612. <https://doi.org/10.7868/S0016675818060036>
8. Aritz H., Salecker I. A Challenge of Numbers and Diversity: Neurogenesis in the *Drosophila* Optic Lobe // J. Neurogenetics. 2014. V. 28. № (3-4). P. 233–249. <https://doi.org/10.3109/01677063.2014.922558>
9. Ashburner M. *Drosophila*: a laboratory handbook and manual. Two volumes. N. Y.: Cold Spring Harbor Lab., 1989. 1331 p.
10. Bachi A., Braun I.C., Rodrigues J.P. et al. The C-terminal domain of TAP interacts with the nuclear pore complex and promotes export of specific CTE-bearing RNA substrates // RNA. 2000. V. 6. P. 136–158.
11. Braun I.C., Herold A., Rode M. et al. Nuclear export of mRNA by TAP/NXF1 requires two nucleoporin-binding sites but not p15 // Mol. Cell Biol. 2002. V. 22. P. 5405–5418. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.15.5405-5418.2002>
12. Cammarata G.M., Bearce E., Lowery L.A. Cytoskeletal social networking in the growth cone: +TIPs mediate microtubule-actin cross-linking to drive axon outgrowth and guidance // Cytoskeleton. 2016. V. 73. P. 461–476. <https://doi.org/10.1002/cm.21272>
13. Chotard C., Salecker I. Glial cell development and function in the *Drosophila* visual system // Neuron Glia Biol. 2007. V. 3. P. 17–25. <https://doi.org/10.1017/S1740925X07000592>
14. Drozd M., Bardon B., Capovilla M. Modeling Fragile X Syndrome in *Drosophila* // Front. Mol. Neurosci. 2018. V. 11. P. 124. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00124>
15. Dybas L.K., Harden K.K., Machnicki J.L. et al. Male fertility in *Drosophila melanogaster*: lesions of spermatogenesis associated with male sterile mutations of the vermilion region // J. Exp. Zool. 1983. V. 226. P. 293–302.
16. Edwards T.N., Meinertzhagen I.A. The functional organization of glia in the adult brain of *Drosophila* and other insects // Prog. Neurobiol. 2010. V. 90. P. 471–497. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.01.001>
17. Egger B., Chell J.M., Brand A.H. Insights into neural stem cell biology from flies // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2008. V. 363. P. 39–56. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.2011>
18. Fischbach K.F., Dittrich A.P.M. The optic lobe of *Drosophila melanogaster*. I. A Golgi analysis of wild type structure // Cell Tissue Res. 1989. V. 258. P. 441–475.
19. Fischbach K.F., Hiesinger P.R. Optic lobe development // Adv. Exp. Med. Biol. 2008. V. 628. P. 115–136. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78261-4_8
20. FlyBase. 2024. <http://flybase.org/reports/FBgn0003321.htm>
21. Fribourg S., Braun I.C., Izaurralde E. et al. 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. 2001. V. 8. P. 645–656. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00348-3](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00348-3)
22. Furman D.P., Bukharina T.A. How *Drosophila melanogaster* Forms its Mechanoreceptors // Curr. Genomics. 2008. V. 9. № 5. P. 312–23. <https://doi.org/10.2174/138920208785133271>

23. Geer B.W., Lischwe T.D., Murphy K.G. Male fertility in *Drosophila melanogaster*: genetics of the vermilion region // J. Exp. Zool. 1983. V. 225. P. 107–118.
24. Ginanova V., Golubkova E., Kliver S. et al. Testis-specific products of the *Drosophila melanogaster* *sbr* gene, encoding nuclear export factor 1, are necessary for male fertility // Gene. 2016. V. 577. P. 153–160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2015.11.030>
25. Golubkova E.V., Markova E.G., Markov A.V. et al. *Dm nxf1/sbr* gene affects the formation of meiotic spindle in female *Drosophila melanogaster* // Chromosome Research. 2009. V. 17. № 7. P. 833–845. <https://doi.org/10.1007/s10577-009-9046-x>
26. Gontang A.C., Hwal J.J., Mast J.D. et al. The cytoskeletal regulator Genghis khan is required for columnar target specificity in the *Drosophila* visual system // Development. 2011. V. 138. P. 4899–4909. <https://doi.org/10.1242/dev.069930>
27. Herold A., Suyama M., Rodrigues J.P. et al. TAP (NXF1) belongs to a multigene family of putative RNA export factors with a conserved modular architecture // Mol. Cell Biol. 2000. V. 20. P. 8996–9008. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.23.8996-9008.2000>
28. Herold A., Klymenko T., Izaurralde E. NXF1/p15 heterodimers are essential for mRNA nuclear export in *Drosophila* // RNA. 2001. V. 7. P. 1768–1780.
29. Holt C.E., Schuman E.M. The central dogma decentralized: new perspectives on RNA function and local translation in neurons // Neuron. 2013. V. 80. № 3. P. 648–57. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.036>
30. Jan L.Y., Jan Y.N. Antibodies to horseradish peroxidase as specific neuronal markers in *Drosophila* and in grasshopper embryos // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1982. V. 79. № 8. P. 2700–2704. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.8.2700>
31. Katahira J., Dimitrova L., Imai Y. et al. NTF2-like domain of Tap plays a critical role in cargo mRNA recognition and export // Nucleic Acids Res. 2015. V. 43. P. 1894–1904. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv039>
32. Knoblich J.A. Mechanisms of asymmetric cell division during animal development // Curr. Opin. Cell Biol. 1997. V. 9. P. 833–841. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(97\)80085-3](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(97)80085-3)
33. Korey C.A., Wilkie G.S., Davis I. et al. *small bristles* is required for the morphogenesis of multiple tissues during *Drosophila* development // Genetics. 2001. V. 159. P. 1659–1670. <https://doi.org/10.1093/genetics/159.4.1659>
34. Kuroda M.I., Hilfiker A., Lucchesi J.C. Dosage compensation in *Drosophila* — a model for the coordinate regulation of transcription // Genetics. 2016. V. 204. P. 435–450. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185108>
35. Kurusu M., Katsuki T., Zinn K. et al. Developmental changes in expression, subcellular distribution, and function of *Drosophila* N-cadherin, guided by a cell-intrinsic program during neuronal differentiation. Dev. Biol. 2012, 366, 204–217.
36. Mamon L.A., Ginanova V.R., Kliver S.F. et al. RNA-binding proteins of the NXF (nuclear export factor) family and their connection with the cytoskeleton // Cytoskeleton. 2017. V. 74. № 4. P. 161–169. <https://doi.org/10.1002/cm.21362>
37. Mamon L., Yakimova A., Kopytova D. et al. The RNA-Binding Protein SBR (Dm NXF1) Is Required for the Constitution of Medulla Boundaries in *Drosophila melanogaster* Optic Lobes // Cells. 2021. V. 10. P. 1144. <https://doi.org/10.3390/cells10051144>
38. Meinertzhagen I.A., Hanson T.E. The development of the optic lobe. In: The Development of *Drosophila melanogaster*. Bate M., Martinez Arias A., Eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York. NY. USA. 1993. pp. 1363–1491.
39. Meinertzhagen I.A., Sorra K.E. Synaptic organization in the fly's optic lamina: Few cells, many synapses and divergent microcircuits // Prog. Brain Res. 2001. V. 131. P. 53–69. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(01\)31007-5](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(01)31007-5)
40. Menon K.P., Carrillo R.A., Zinn K. Development and plasticity of the *Drosophila* larval neuromuscular junction // Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol. 2013. V. 2. № 5. P. 647–70. <https://doi.org/10.1002/wdev.108>
41. Misra M., Edmund H., Ennis D. et al. A Genome-Wide Screen for Dendritically Localized RNAs Identifies Genes Required for Dendrite Morphogenesis // G3 (Bethesda). 2016. V. 6. № 8. P. 2397–405. <https://doi.org/10.1534/g3.116.030353>
42. Missaire M., Hindges R. The role of cell adhesion molecules in visual circuit formation: From neurite outgrowth to maps and synaptic specificity // Dev. Neurobiol. 2015. V. 75. № 6. P. 569–583. <https://doi.org/10.1002/dneu.22267>
43. Nériec N., Desplan C. From the Eye to the Brain: Development of the *Drosophila* Visual System // Curr. Top. Dev. Biol. 2016. V. 116. P. 247–271. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.11.032>
44. Roegiers F., Jan Y.N. Asymmetric cell division // Curr. Opin. Cell Biol. 2004. V. 16. P. 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.02.010>
45. Paulk A., Millard S.S., van Swinderen B. Vision in *Drosophila*: seeing the world through a model's eyes // Annu. Rev. Entomol. 2013. V. 58. P. 313–332. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153715>
46. Rodal A.A., Motola-Barnes R.N., Littleton J.T. Nervous wreck and Cdc42 cooperate to regulate endocytic actin assembly during synaptic growth // J Neurosci. 2008. V. 28. № 33. P. 8316–8325. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2304-08.2008>
47. Sasaki Y. Local translation in growth cones and pre-synapses, two axonal compartments for local neuronal functions // Biomolecules. 2020. V. 10. № 5. P. 668. <https://doi.org/10.3390/biom10050668>

48. *Smith R., Taylor J.P.* Dissection and imaging of active zones in the *Drosophila* neuromuscular junction // *J. Vis. Exp.* 2011. V. 50. P. 2676. <https://doi.org/10.3791/2676>
49. *Spindler S.R., Ortiz I., Fung S. et al.* *Drosophila* cortex and neuropile glia influence secondary axon tract growth, pathfinding. And fasciculation in the developing larval brain // *Dev. Biol.* 2009. V. 334. P. 355–368. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.07.035>
50. *Stephan R., Gohl C., Fleige A. et al.* Membrane-targeted WAVE mediates photoreceptor axon targeting in the absence of the WAVE complex in *Drosophila* // *Mol. Biol. Cell.* 2011. V. 22. № 21. P. 4079–4092. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-02-0121>
51. *Taylor T.D., Robichaux M.B., Garrity P.A.* Compartmentalization of visual centers in the *Drosophila* brain requires Slit and Robo proteins // *Development.* 2004. V. 131. № 23. P. 5935–5945. <https://doi.org/10.1242/dev.01465>
52. *Tomasi T., Hakeda-Suzuki S., Ohler S. et al.* The transmembrane protein Golden goal regulates R8 photoreceptor axon-axon and axon-target interactions // *Neuron.* 2008. V. 57. № 5. P. 691–704. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.012>
53. *Trujillo-Cenóz O., Melamed J.* Compound eye of dipterans: Anatomical basis for integration — An electron microscope study // *J. Ultrastruct. Res.* 1966. V. 16. P. 395–398.
54. *Valkov E., Dean J.C., Jani, D. et al.* Structural basis for the assembly and disassembly of mRNA nuclear export complexes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. V. 181. P. 578–592. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2012.02.017>
55. *Viphakone N., Hautbergue G.M., Walsh M. et al.* TREX exposes the RNA-binding domain of Nxf1 to enable mRNA export // *Nat. Commun.* 2012. V. 3. P. 1006. <https://doi.org/10.1038/ncomms2005>
56. *Wilkie G.S., Zimyanin V., Kirby R. et al.* *small bristles*, the *Drosophila* ortholog of NXF-1, is essential for mRNA export throughout development // *RNA.* 2001. V. 7. P. 1781–1792.
57. *Yakimova A.O., Pugacheva O.M., Golubkova E.V. et al.* Cytoplasmic localization of SBR (Dm NXF1) protein and its zonal distribution in the ganglia of *Drosophila melanogaster* larvae // *Inver. Neuro.* 2016. V. 16. № 3. P. 9. <https://doi.org/10.1007/s10158-016-0192-5>
58. *Yamaguchi Y., Miura M.* Programmed cell death in neurodevelopment // *Dev. Cell.* 2015. V. 32. P. 478–490. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.01.019>
59. *Yoon D.W., Lee H., Seol W. et al.* Tap: A novel protein that interacts with tip of herpesvirus saimiri and induces lymphocyte aggregation // *Immunity.* 1997. V. 6. P. 571–582. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80345-3](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80345-3)
60. *Zhang B., Herman P.K.* It is all about the process(ing): P-body granules and the regulation of signal transduction // *Curr. Genet.* 2020. V. 66. P. 73–77. <https://doi.org/10.1007/s00294-019-01016-3>

RNA-Binding Protein NXF1 is Essential for the Development of the Nervous System of *Drosophila melanogaster*

E. V. Golubkova^{1,*}, A. O. Yakimova², K. V. Akhromov^{1,3}, E. V. Ryabova³, D. M. Grudkova¹, L. V. Barabanova¹, S. V. Sarantseva³, L. A. Mamon¹

¹ St. Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia

² National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Korolyova st. 4, Obninsk, 249036 Russia

³ Petersburg Nuclear Physics Institute Named by B.P. Konstantinov of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Orlova roshcha 1, Gatchina, 188300 Russia

* e-mail: e.golubkova@spbu.ru

In *Drosophila melanogaster*, as in all Opisthokonta, the evolutionary conserved protein NXF1 (Nuclear eXport Factor 1) is responsible for nuclear export of mRNA from the nucleus to the cytoplasm. Traditionally, it is thought that after leaving the nuclear pore, the NXF1 leaves the mRNP complex and returns to the nucleus. We have shown for the first time that in *Drosophila* the NXF1 protein presents in the cytoplasm of various cells, including nerve cells. The cytoplasmic localisation of the NXF1 indicates that nuclear export function is not the only function of this protein. The *Nxf1* gene in *Drosophila* has the historically established name *sbr* (*small bristles*). A number of mutations in the *sbr* are characterised by dominant phenotypic effects. In particular, the *sbr*¹² mutant allele leads to abnormalities in *Drosophila* brain formation. Characteristic morphological defects in the neuropils of the optic lobe suggest that the NXF1 (SBR) is involved in the regulation of the spatial architecture of the fly brain, including the formation of neuropil boundaries. The evolutionary conservatism of Nxf1 opens up the possibility of studying the role of the NXF1 protein in the development of the nervous system using *Drosophila* as a model.

Keywords: neurogenesis, *Drosophila*, optic lobes, neuromuscular contacts, *nxf1* (nuclear export factor), *sbr* (small bristles)