

И.С. ГУБЕНКО

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ БЕЛКИ С LIM-ДОМЕНАМИ У *DROSOPHILA*: ОРГАНИЗАЦИЯ, ФУНКЦИИ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ



Различные программы развития, включая формирование цитоскелета, спецификацию клеточных зачатков, дифференцировку нервных и мышечных клеток, формирование лимба и глаза, а также развитие имгинальных дисков, контролируются генами LIM-гомеобоксами, кодирующими белки с LIM-доменами — факторы транскрипции. LIM-белки известны как адапторные молекулы и функциональные модификаторы разных белковых взаимодействий: LIM-домены способны взаимодействовать с многочисленными другими белками и осуществлять специфические контакты между членами сложных транскрипционных комплексов, способствуя, таким образом, активации конститутивных белков. Консервативная структура LIM-белков сохраняется в ходе эволюции у позвоночных и беспозвоночных. Хотя размеры генома *Drosophila* составляют в среднем около 5 % генома млекопитающих, большинство обнаруженных сейчас семейств генов и сигнальных путей поразительно сходны у мух и млекопитающих. К числу хорошо изученных дрозофилиных гомологов LIM-белков позвоночных относятся *Arrowhead*, *Apterous*, *Islet*, *dLim1* и *Lim3* факторы транскрипции, белки *DLMO* и *Prickle*. Известны также *Chip*, *RLIM* и *Ssdp* кофакторы, которые модифицируют функцию LIM-гомеодомена (LIM-HD) факторов транскрипции. *Drosophila* является уникальной модельной системой для анализа характера генетических взаимодействий *in vivo* и природы функциональных транскрипционных комплексов. Генетические и молекулярные подходы необходимы для дальнейшего изучения структурно-функциональной организации LIM-белков, поиска экстрагенных супрессоров мутаций в LIM-доменах и идентификации генов-мишеней, непосредственно взаимодействующих с LIM-белками и участвующих в спецификации клеточной идентичности.

© И.С. ГУБЕНКО, 2006

ВВЕДЕНИЕ

Осуществление сложных программ развития тесно связано с механизмами процессов активации или инактивации экспрессии тканеспецифических репрессоров и эффекторных генов. Секвенирование геномов человека и других организмов позволило получить обширные сведения о существовании многочисленных классов геномных последовательностей. Функциональная роль большинства из них до сих пор не выяснена: биологические процессы настолько сложны, что постоянно и быстро увеличивающийся объем сведений о структуре генома часто не приводит к реальному пониманию сущности процессов развития, спецификации и дифференцировки клеток.

Известно, что определенные программы развития контролируются членами семейства факторов транскрипции, белков гомеодоменов, к которому относится весьма представительный класс белков, содержащих LIM-повторы. Благодаря своим LIM-доменам LIM-гомеодомен белки (LIM-HD) активно участвуют в ключевых процессах развития, поскольку они обладают уникальным потенциалом регуляторных взаимодействий и, связываясь с другими клеточными белками, обеспечивают специфические особенности развития у позвоночных и беспозвоночных.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА LIM-ДОМЕНОВ

LIM-домены были открыты немногим более 10 лет назад и являются консервативными специализированными структурами, присутствующими в белках нескольких типов [1–3]. Белки с LIM-доменами играют важную роль в осуществлении фундаментальных биологических процессов, участвуя в формировании клеточных зачатков, цитоскелета, в развитии и дифференцировке клеток, тканей и органов в ходе нормального развития и в процессах, связанных с дефектами развития, в условиях патогенеза и онкогенеза.

Определение. Основным обязательным признаком LIM-белков является присутствие LIM-домена, богатой цистеином и гистидином аминокислотной последовательности, состоящей из двух zinc-fingers (дословный перевод — цинковые пальцы), повторов, расположенных тандемно [1–4]. Этот новый класс специализированных повторов обнаружен в разных

белках, в ассоциациях с другими функциональными доменами и в белках, состоящих только из одних LIM-доменов [1–5].

Название. Сокращение «LIM» происходит от начальных букв в названиях трех белков, которые открыты первыми, а именно — LIN-11 (обнаружен при асимметричных делениях клеток в ульвы у нематоды) [6]; Isl1 (связывается с энхансером гена инсулина у крысы) [7] и Mec3 (необходим для дифференцировки нейронов у нематоды) [8]. Эти три белка являются LIM-гомеодоменами (HD), факторами транскрипции и, кроме HD, содержат еще два N-терминальных, богатых цистеином и гистидином LIM-домена [1, 2, 9] (рис. 1).

Структура. Структурно-функциональный анализ организации LIM-повторов в цистеин-богатых CRP (cysteine rich protein), LIM-only (LMO) белках и изолированных LIM-повторов позволяет предположить [2, 10, 11], что два zinc-finger повтора каждого LIM-домена формируются как отдельные структурные единицы, LIM1 и LIM2, которые соединяются в определенной конфигурации и не обнаруживают взаимодействий друг с другом [1–3, 11] (рис. 1 и 2).

Многие фундаментальные свойства и функции LIM-белков определяются особенностями их первичной структуры. Так, гомеодомены LIM-типа имеют специфический состав аминокислотных последовательностей, которых нет в консенсусах последовательностей других белков. Аминокислотные остатки цистеина, гистидина и аспарагина каждого LIM-домена координированы ионами цинка [1–5], и домены LMO-белков обнаруживают структурное сходство с zinc-finger повторами типа GATA. Однако, несмотря на очевидное сходство с последовательностями GATA, способными связываться с ДНК, пока полностью отсутствуют доказательства непосредственного связывания с ДНК LIM-доменов [2, 3]. Зато совершенно очевидным свойством LIM-мотивов является их способность взаимодействовать с разными белками, включая белки — компоненты цитоскелета [12], белки bHLH [13], инсулиновый рецептор [14], белки POU и многие другие [1–3, 9]. К сожалению, пока неизвестно, какую роль играют все эти белки в процессах транскрипции и ее регуляции и, в

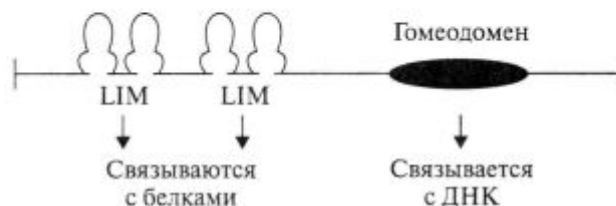


Рис. 1. Схематическая структура LIM-белков [9]. Обозначены два LIM-домена (слева) и гомеодомен (справа), способный связываться с ДНК

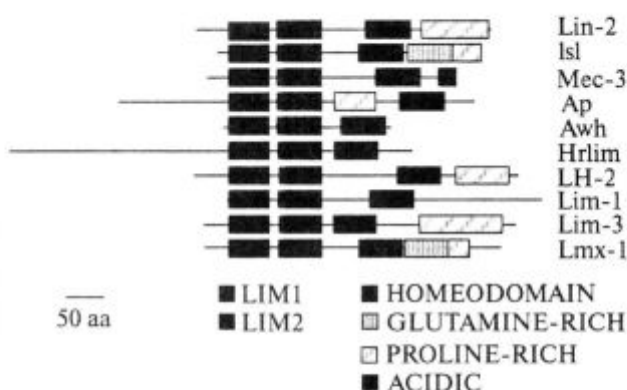


Рис. 2. Схема организации LIM-HD белков [1]. Указано расположение N-терминальных последовательностей LIM-повторов, LIM1 и LIM2 (слева) и областей, богатых глутамином и пролином, которые могут участвовать в регуляции транскрипции

целом, в осуществлении функций LIM-белков.

Классификация. Характерная консервативная структура LIM-домена встречается в определенных наборах белков всех изученных видов организмов — от асцидий до человека; такие белки обнаружены в ядре или цитоплазме клеток и могут перемещаться между компартментами.

Попытки классификации белков, содержащих LIM-повторы, отражены в нескольких обзорах [1–3], и хотя критерии различий между известными LIM-белками не являются достаточно жесткими, наиболее известны три группы белков с LIM-доменами [3] (рис. 3).

Группа 1 включает LIM-HD белки, ядерные LMO-белки и LIM-киназы. Белки, кодируемые генами и LIM-гомеобоксами (LIM-HD), являются ядерными факторами транскрипции, связываются с ДНК посредством своих консервативных гомеодоменов и считаются важнейшими регуляторами транскрипции [1, 9]. Некоторые принадлежащие к группе 1 бел-

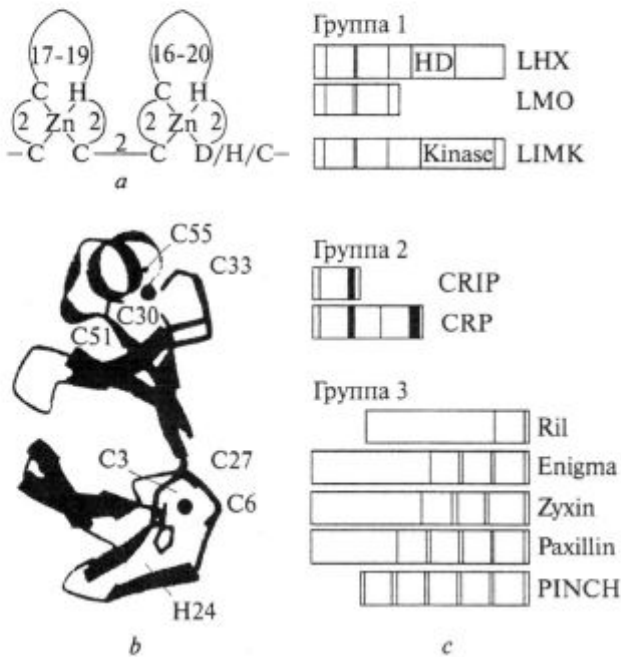


Рис. 3. Структура и классификация белков с LIM-доменами [2]: *a* — два zinc-finger белковых повтора LIM-домена; *b* — структура LIM-белка CRIP. Классификация LIM-белков (*c*): группа 1 — LIM-гомеодомены (LIM-HD), LMO-белки и киназы; группа 2 — белки, имеющие, кроме LIM-домена, дополнительный консервативный повтор; группа 3 — гетерогенная группа белков, часто связанных с цитоскелетом

ки, локализованные в ядре, не содержат гомеодоменов, состоят исключительно только из двух LIM-доменов и поэтому получили название LIM-only (LMO) белков [1–3]. LMO-белкам присущи важные функции в развитии и онкогенезе [15, 16], они известны как адапторные молекулы, связывающие белки разных типов, и считаются кофакторами транскрипции многих регуляторных комплексов [3, 17]. Гены, кодирующие белки LMO1 и LMO2 у человека, впервые обнаружены благодаря их локализации в точках разрывов при хромосомных транслокациях у больных с острыми формами Т-клеточной лейкемии: их экспрессия резко усиливается в тимусе и Т-клетках [15, 16]. Важная роль LMO2 в процессах эритропоэза у мышей обнаружена при делециях гена, вызывающих гибель эмбрионов [18]. Позже выяснилось, что LMO-белки необходимы также для нормального гематопоэза у взрослых животных [19, 20], причем LMO2 иг-

рает существенную роль в развитии эритроидных, лимфоидных и миелоидных зачатков.

Недавно идентифицированы новые члены семейства ядерных LMO — LMO3 и LMO4. LMO4, в отличие от слабой экспрессии трех других LMO, в норме обнаруживает высокий уровень экспрессии в разных тканях [3].

К группе 1 LIM-белков относятся также LIM-киназы, Lmk1 (KIZ) и Lmk2. LIM-киназы, которые не являются строго ядерными белками, активно участвуют в обменных процессах между ядром и цитоплазмой. Обе киназы имеют по два N-терминальных LIM-домена, связанных с C-терминальным доменом киназы [2, 3]. Lmk1 участвует в процессах полимеризации актина. LIM-киназы могут использоваться в *ras*-сигналикации, что свидетельствует об их множественных функциях в регуляции клеточных процессов [3].

Группа 2 включает изначально цитоплазматические цистеин-богатые белки семейства CRP, а именно — CRP1, CRP2, CRP3 и CRIP (cysteine rich interactor protein), которые имеют специфические LIM-домены (рис. 3), связанные коротким дополнительным консервативным повтором [2, 3]. CRIP содержит один LIM-домен, а другие члены группы — CRP 1–3 — по два характерных LIM-домена [2, 11]. Отсутствие функции кодирующего CRP3/MLP гена, связанное с делециями, вызывает нарушения архитектуры цитоскелета, сердечной и скелетных мышц [2, 21]. Все три гена, кодирующие CRP, связаны с формированием актиновых филаментов, миофибрилл и обнаруживают специфический характер экспрессии. Кроме цитоплазматической, известна также ядерная локализация CRP [12]. Эти белки, по видимому, могут взаимодействовать с bHLH фактором транскрипции MyoD [3].

У *Drosophila* CRP-ген, кодирующий MLP-белок, может быть прямой мишенью MEF2 (myocyte enhancer binding) фактора [3, 22] (табл. 1 и 2).

Группа 3 LIM-белков представлена двумя подгруппами, членами одной из которых являются Ril (содержит один LIM-домен), а также белки Enigma, Zyxin, Prickle (каждый содержит по три LIM-домена) и Paxillin (с четырьмя LIM-доменами в C-терминальном положении) [3]. Эти белки иногда имеют, кро-

Классификация генов, кодирующих LIM-гомеодоменов (LIM-HD) белки [9]

Объект	Группы LIM-гомеодоменов					
	Группа 1 — LIN-11	Группа 2 — Apterous	Группа 3 — Lim3	Группа 4 — Islet	Группа 5 — Lhx6/Lhx8	Группа 6 — Lmx
Нематода <i>CC. elegans</i>	<i>lin-11, mec3</i> Дифференцировка наборов специфических мото- и интернейронов	<i>tx3</i> Развитие нейронов, терморегуляция	<i>lim3</i> Формирование мото-нейронов	<i>islet</i> У нематоды и асцидий не изучен	<i>lim4</i> Развитие мото- и интернейронов мозга	<i>lim6</i> Регулирует развитие некоторых классов нейронов, эндотелия, мышц, выделительной системы и др.
Дрозофила <i>D. melanogaster</i>	<i>bk-87</i> Функции не изучены	<i>apterous</i> Развитие крыла, нервной системы, мышц, контроль D/V регуляции полярности, экспрессия PS1 и PS2 интегринов	<i>lim3</i> Развитие постмитотических нейронов, часто в комбинации с <i>islet</i> . Сайты <i>lim3, islet</i> сходны	<i>islet</i> Формирование отдельных типов нейронов, передача сигналов вместе с <i>lim3</i>	<i>Arrowhead</i> Необычная структура LIM-домена. Формирование наборов клеток-предшественников	—
Позвоночные	<i>Lhx1, Lhx5</i> (иначе <i>lim1, lim5</i>) Развитие нервной системы, терморегуляция	<i>Lhx2, Lhx9</i> (иначе <i>Lh2X, Lh2B</i>) Контроль развития мозга, глаза, а также гематопоза	<i>Lhx3, Lhx4</i> Регуляция пролиферации клеток зачатков секреторных желез и экспрессии в мотонейронах	<i>Islet1, Islet2</i> Контроль дифференцировки мото- и интернейронов и развития панкреаса	<i>Lhx6, Lhx8</i> (иначе <i>L3</i> или <i>Lhx7</i>) Специфический и общий контроль развития мозга у млекопитающих и человека	<i>Lmx1, a</i> и <i>b</i> Развитие интернейронов. Связывается с промотормом гена инсулина, с bHLH белками в различных процессах развития

ме LIM-доменов, дополнительные функциональные домены на N-конце [2, 4]. Большинство белков этой подгруппы тесно связаны с цитоскелетом.

Альтернативно сплайсируемые мРНК недавно идентифицированного [23] белка с тремя LIM-доменами, Prickle, участвуют в процессе спецификации тканевой полярности у *Drosophila*. Белки с увеличенным и варьирующим числом LIM-доменов, составляющие подгруппы SLIM1/Куо/ACT и PINCH, тоже входят в группу 3, содержат преимущественно по

четыре или пять LIM-доменов и обнаруживают цитоплазматическую и ядерную локализацию [3].

Более подробные сведения об идентифицированных сейчас белках всех трех групп приведены в сводках обзора [3].

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ LIM-ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

LIM-гомеодомены — факторы транскрипции. Гены LIM-гомеобоксы составляют многочисленное семейство локусов, кодирующих белки

Гены, кодирующие белки с LIM-доменами у *Drosophila melanogaster*

Ген	Белок	Число LIM-доменов	Функции	Источник информации
<i>apterous</i>	Apterous, LIM-HD	2	Плейотропная функция в развитии крыла, мышц, нейронов	Bourgouin et al., 1992 [59]; Cohen et al., 1992 [54]; 2002 [55]
<i>Arrowhead</i>	Arrowhead, LIM-HD	2	Формирование предшественников гистобластов	Curtis, Heilig, 1995; 1997 [36, 37]
<i>bk-87</i>	Bk-87, LIM-HD	2	Функции не изучены	Dawid et al., 1998; Bach, 2000 [2, 3]
<i>dlim1</i>	DLim1, LIM-HD	2	Развитие ног	Pueyo et al., 2000 [39]
<i>islet (tailup)</i>	Islet, LIM-HD	2	Развитие нейронов, передача сигнала, в комбинации с Lim3	Thor, Thomas, 1997 [45]
<i>lim3</i>	Lim3, LIM-HD	2	Функции в нервной системе, вместе с Islet	Thor et al., 1999 [50]
<i>Mlp</i>	CRP3/MLP	2	MLP является мишенью фактора MEF-2	Stronach et al., 1999 [22]; Bach, 2000 [3]
<i>Dlmo</i>	DLMO	2	Регуляторная мутация <i>Veadex</i> влияет на развитие, рост и дифференцировку клеток крыла	Zhu et al., 1995; Milan et al., 1998; Shores et al., 1998; Zeng et al., 1998 [83–86]
<i>prickle</i>	Prickle	3 LIM+ PET	Контроль тканевой полярности	Gubb et al., 1999 [23]

с LIM-доменами. Как и все гены-гомеобоксы, они содержат короткую специфическую консервативную последовательность ДНК (гомеобокс), расположенную в регуляторной области гена, способную связываться с ДНК, а также, кроме того, еще два LIM-домена в N-терминальной области [1, 2, 9]. Гомеодомены LIM-белков намного более сходны между собой, чем с гомеодоменами других белков, и существует предположение, что все белки LIM-HD имеют общего предка и обладают способностью связываться с ДНК посредством своих гомеодоменов [9]. Все известные LIM-HD факторы транскрипции активно участвуют в регуляции экспрессии тканеспецифических генов и, связываясь со специфическими промоторами или консенсусами сайтов связывания гомеодоменов, могут активировать или подавлять транскрипцию соответствующих генов *in vivo* и *in vitro*, контролировать характер экспрессии в ходе развития. Белки LIM-HD оказывают существенное влияние на судьбы клеток, в которых они активны, не только посредством регу-

ляции процессов транскрипции. Так, взаимодействия их с другими белками, осуществляемые при помощи LIM-доменов, могут обеспечивать и более прямые механизмы экспрессии генов. LIM-домены способны взаимодействовать с гомеодоменом внутри молекулы LIM-HD белка. Удаление LIM-доменов или мутации в них способны резко изменить характер связывания гомеодомена с ДНК, а также с регуляторными элементами других белков [1–3, 9]. Взаимодействия между LIM-доменами и другими факторами транскрипции высокоспецифичны. LIM-HD факторы транскрипции консервативны в эволюции и обнаружены в геномах позвоночных и беспозвоночных. Согласно сведениям, представленным в недавнем обзоре [9], число групп генов, кодирующих белки LIM-HD у разных видов, невелико (табл. 1).

Филогенетический анализ индивидуальных LIM-белков, а также использование ряда функциональных критериев позволили выделить шесть отдельных групп белков с характерны-

ми консервативными свойствами их гомеодоменов (табл. 1) [9]. В целом, каждая из этих групп обычно содержит по одному представителю у нематоды *C. elegans* и дрозофилы и по два представителя в каждой группе млекопитающих. Зebra-рыба представлена обычно тремя членами группы [9]. Закономерное присутствие двух кодирующих LIM-гомеодоменов в каждой группе млекопитающих позволяет предположить, что все типы LIM-HD уже идентифицированы [9]. Отсутствие групп, которые специфичны только для беспозвоночных или только для позвоночных, по-видимому, обозначает [9], что в ходе спецификации и видообразования в условиях жесткого естественного отбора сохранились представители каждой индивидуальной группы LIM-гомеодоменов у позвоночных и беспозвоночных [9].

Регуляция транскрипции при взаимодействиях. Кофакторы. Главная функция LIM-доменов — участие в белковых взаимодействиях. Содержащие LIM-домены белки специфически взаимодействуют друг с другом и многочисленными доменами разных белков. LIM-повторы широко используются при осуществлении контактов между членами функциональных белковых комплексов и способны влиять на активность конститутивных белков. LIM-домены всех LIM-HD факторов транскрипции так же, как и все LIM-only (LMO) белки, способны связываться с кофакторами, и эти взаимодействия комплексов отдельных кофакторов с факторами транскрипции являются решающими для регуляции экспрессии генов. В зависимости от характера связи с определенными кофакторами транскрипция может трансаktivироваться или, наоборот, репрессироваться.

Наиболее распространенные кофакторы, связывающиеся с LIM-белками, известны под общим названием LDB (LIM domain binding) белков, которые у позвоночных иначе называются NLI (nuclear LIM interactor) и CLIM (cofactor of LIM), а у дрозофилы — CHIP кофакторами [24, 25–28]. LDB/CHIP белки способны димеризоваться и, связываясь с двумя LIM-белками, формировать тетрамерные комплексы (рис. 4); эти комплексы являются функциональными *in vivo* [29–31]. Все LDB кофакторы высококонсервативны в эволюции и способ-

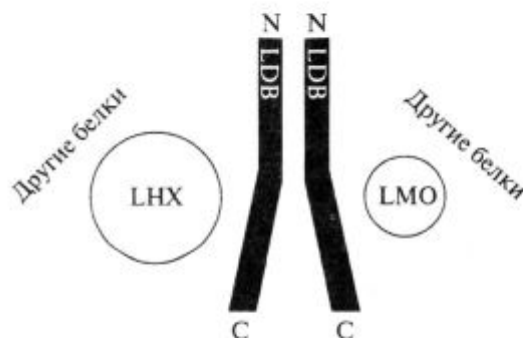


Рис. 4. Схема предполагаемых белковых взаимодействий, в которых участвуют LDB/NLI кофакторы [2]. Формирование димеров в N-терминальной области позволяет осуществлять взаимодействия между разными LIM-HD, LMO-белками и другими белками в функциональных комплексах

ны связываться с многочисленными белками. Следствием связывания и взаимодействия белков LIM-HD с кофакторами может быть привлечение в функциональные комплексы других белков или, напротив, удаление белков из комплекса. Тканеспецифические комбинации факторов транскрипции с кофакторами регулируют активность генов-мишеней, участвуя, таким образом, в сложных процессах развития и дифференцировки клеток (и на ранних стадиях эмбриогенеза, и при формировании нервной системы, и в ходе органогенеза!), обеспечивая перекрывающийся характер экспрессии генов и сохраняя возможность развития [3].

Число идентифицированных кофакторов быстро увеличивается: недавно обнаружен новый RLIM (Ring zinc-finger domain binding) кофактор, который является повсеместно распространенной лигазой и связывается со всеми известными LIM-белками [3, 32, 33]. Корепрессор RLIM ингибирует функции LIM-HD факторов транскрипции, используя Sin3A репрессорный транскрипционный комплекс гистоновой деацетилазы [32]. RLIM способен взаимодействовать с CLIM кофакторами и LIM-only белками и конкурировать с ними за связывание с LIM-доменами, что, возможно, приводит к обмену кофакторами, к изменению расположения кофакторов и влияет на процессы негативной регуляции транскрипции [33]. Характер взаимодействия RLIM и CLIM кофакторов является критическим для

усиления или репрессии биологической и транскрипционной активности генов — регуляторов развития [24, 26, 28, 32]. Эндогенный RLIM, очевидно, играет важную роль в регуляции транскрипции, участвуя в деградации CLIM кофакторов [33]. RLIM-подобные белки отсутствуют у нематоды, а у дрозофилы и позвоночных эти кофакторы, по-видимому, обеспечивают дополнительный уровень регуляторной сложности, необходимой для более тонкой и тщательной регуляции функций LIM-HD факторов транскрипции [9].

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ LIM-БЕЛКИ У ДРОЗОФИЛЫ

Многие принципиальные выводы о структуре и функциях белков с LIM-доменами получены в экспериментах на дрозофиле. Исторически *D. melanogaster* давно и успешно используется как исключительно важный объект для генетического и молекулярного анализа организации эволюционно консервативных генов эукариотов: разработаны эффективные методы получения разного типа мутаций; созданы системы трансформации генов и конструкции, обеспечивающие экспрессию транспозонов; широко используются системы активного поиска генов, участвующих в процессах клеточной сигнализации и контролирующих развитие [34, 35]. Эти очевидные преимущества дрозофилы особенно проявляются при установлении взаимосвязей генетических локусов на всех уровнях, начиная от простых гетерозиготных комбинаций до сложных взаимодействий генов в транскрипционных белковых комплексах, которые активно функционируют *in vivo* и компонентами которых часто оказываются LIM-HD факторы транскрипции и их кофакторы.

Известные гены, кодирующие белки с LIM-доменами *Drosophila*, перечислены в табл. 2, а ниже приведены сведения, характеризующие особенности организации и основных функций каждого из них.

Arrowhead (*Awh*): Развитие клеток-предшественников. Метаморфоз насекомых протекает в условиях усиленной пролиферации и дифференцировки клеток, и ген *Arrowhead* участвует в механизмах, контролирующих развитие имагинальных тканей, которые формируются из

очень небольшого числа клеток-предшественников, отдельных «гнезд» клеток, локализованных в специфических районах эмбриона. В ходе личиночных стадий наблюдается активное размножение этих клеток, а их дифференцировка начинается в самом конце последнего личиночного возраста и у куколки, в период метаморфоза.

Нарушение функции локуса *Awh* приводит к значительной редукции числа клеток-предшественников в имагинальных тканях [1, 36, 37].

Ген LIM-гомеобокс *Arrowhead* кодирует один из белков семейства LIM-гомеодоменов [35—37] размером 214 аминокислотных остатков. Клонированные последовательности локуса у *D. melanogaster* обнаруживают заметное сходство с другими LIM-гомеобоксами. Хотя предполагаемый продукт локуса отличается от других LIM-гомеодоменов белков нетипичным расположением цистеиновых остатков в LIM2 повторе, это существенно не влияет на общую структуру локуса [37].

В кодирующей области *Arrowhead* генетически и цитологически картированы локусы нескольких мутаций, расположенных в районе 63F4-9 политенной хромосомы 3L *D. melanogaster*. Все они являются доминантными мутациями с рецессивным летальным эффектом, и особенности мутантных фенотипов свидетельствуют о важной роли этого гена в развитии и дифференцировке имагинальных структур [36, 37]. Так, особи, гетерозиготные по двум любым аллелям локуса, как правило, гибнут и имеют фенотипы, характерные для мутантов с отсутствием функции локуса (*Awh*⁻); наиболее существенным дефектом фенотипа мух считается [36, 37] практически полное отсутствие брюшного эпителия и других эпителиальных тканей, а также нарушение формирования кутикулы и развития щетинок, макро- и микрохет. У муминизированных особей, «фараонов», погибающих на стадии куколки, в лучшем случае присутствует один ряд щетинок на тораксе, а брюшной эпителий, щетинки и кутикула вообще не развиваются. Тем не менее, если (очень редко!) и происходит частичное развитие эпителия брюшка, то у таких особей кутикула и щетинки выглядят совершенно нормальными. Поэтому можно предположить, что отсутствие функции гена

Arrowhead избирательно влияет на пролиферацию отдельных типов клеток, но не влияет на их дифференцировку: развитие глаз, крыльев, ног, гениталий у *Awh⁻* мутантов полностью напоминает характер развития этих структур у особей дикого типа. Однако число клеток — гистобластов брюшка у *Awh⁻* мутантных эмбрионов почти вдвое меньше, чем у нормальных особей, и, таким образом, локус *Arrowhead*, по-видимому, необходим для появления точного и правильного числа клеток у эмбриона в процессе пролиферации гистобластов [36, 37]. Еще одним характерным дефектом мутантов *Awh⁻*, связанным с нарушением пролиферации клеток, считается [36, 37] отсутствие правильного развития имагинальных колец, из которых формируются слюнные железы личинок: число клеток кольца сильно редуцировано, ядра обнаруживают низкий уровень полипептида, расположение клеток заметно нарушено.

Кроме *Awh⁻* аллелей с делециями и точковыми мутациями, нарушающими функцию локуса, известна [36] спонтанно возникшая неоморфная мутация *Awh¹*, которая вызывает специфическое отсутствие клеток-предшественников сетчатки глаза, а часто и полное исчезновение глаз у мух, гетерозиготных по *Awh¹*. В отличие от *Awh⁻* аллелей, гомозиготы и гетерозиготы по *Awh¹* жизнеспособны, фертильны и, кроме редукции размеров глаз, не имеют видимых дефектов развития. Жизнеспособными являются также комбинации *Awh¹* со всеми *Awh⁻* аллелями, у которых полностью отсутствует функция локуса. Трансгетерозиготные особи обнаруживают единственный фенотип, присущий аллелю *Awh¹*, и, следовательно, сохраняют нормальные функции гена *Awh⁺*. Установлено [36, 37], что *Awh¹* является мутацией с повышенной функцией гена *Awh* и влияет на очень ранние этапы развития клеток-предшественников сетчатки глаза, предотвращая, возможно, их пролиферацию и дифференцировку. *Awh¹*, очевидно, нарушает появление зачатков клеток сетчатки, и, таким образом, продукты локуса могут радикально влиять на процессы развития имагинальных тканей [1, 36, 37].

Характер фенотипических преобразований у мутанта *Awh¹* поразительно напоминает эффекты, наблюдаемые в условиях эктопичес-

кой экспрессии гена *Arrowhead*, вызывающей специфическую элиминацию клеток, в которых этот ген экспрессируется [37]. При эктопической экспрессии *Awh*, как и у неоморфного мутанта *Awh¹*, резко повышается уровень клеточной смертности. Очевидно, продукт гена стимулирует апоптоз в наружных имагинальных тканях глаза [37]. Пока неясно, является ли *Arrowhead* нормальным компонентом сигнального пути, связанного с процессом пролиферации, или супрессором, способным изменять нормальное развитие. *Awh* влияет на появление и развитие клеток определенных типов. Сам по себе *Arrowhead* нелетален, но летальность может наблюдаться в тех клетках, где его экспрессия нежелательна. Сложность взаимодействий между *Awh*, другими LIM-белками и их партнерами пока не изучена, так же как и возможность участия этих белков в формировании функциональных комплексов, где комбинаторная экспрессия обеспечивает эффективный контроль клеточной пролиферации.

***dlim 1 (dlim 1)*: Развитие ног.** Получивший название *dlim 1* дрозофильный гомолог *Lim 1* генов позвоночных, как и большинство локусов, кодирующих белки LIM-HD, активно экспрессируется в клетках развивающейся эмбриональной нервной системы [38]. Тем не менее у дрозофилы *dlim 1* больше известен как регулятор проксимально-дистального (P/D) развития ног [39], каждая из которых состоит из 10 сегментов. Инсерционная мутация локуса *dlim 1* локализована цитогенетически в районе 8В 3—4 X-хромосомы *D. melanogaster*. Локус *dlim 1* кодирует LIM-HD фактор транскрипции с двумя LIM-доменами, который является структурным гомологом белков позвоночных, членов семейства Lhx. Хорошо известным представителем этого семейства также считается дрозофилиный гомолог *Arterous* [9]. Как и другие принадлежащие к семейству Lhx белки, кодируемый геном *dlim 1* продукт обнаруживает эволюционный консерватизм и важные функции в развитии и дифференцировке клеток [9, 39]. Генетический анализ мутантов [39], полученных при эксцизиях последовательностей, позволил идентифицировать несколько групп аллелей гена *dlim 1*. У «сильных» аллелей, как правило, наблюдается отсутствие

дистальной части ног, коготков, их редукция и деформация, а также полное или частичное отсутствие щетинок, антенн, нарушения структуры ножных сегментов, глаз, щетинок. Экспрессивность и пенетрантность этих дефектов сильно варьируют у разных мутантов. Мутантные особи чаще всего погибают в куколке, на стадии «фараонов». «Слабые» аллели гена *dlim1* по фенотипу сходны с особями дикого типа, но имеют несколько меньшие размеры. У взрослых мух, даже если они преодолевают куколочную летальность, заметны нарушения локомоторных функций, что, по-видимому, свидетельствует об участии *dlim1* в процессах формирования нервно-мышечных структур [39]. В то же время мутантные аллели генов LIM-гомеобоксов семейства *Lhx*, *lim3* и *islet* (иначе *tailup*), имеющие непосредственное отношение к развитию нервной системы у дрозофилы, никак не связаны с формированием конечностей [9].

В области ног вместе с *dlim1* экспрессируется LIM-HD *apterous* [39], и известно, что мутанты *apterous* часто обнаруживают дефекты развития тарзальных сегментов. Комбинации белков *Lhx* при эктопической экспрессии *dLim1* в домене *Arterous* часто вызывают доминантно-негативный эффект и гибель клеток. Тем не менее при эктопической экспрессии конструкций, содержащих оба этих гена, можно наблюдать полное отсутствие взаимодействия между *dlim1* и *apterous*. Можно было предположить [39], что *dlim1* способен взаимодействовать с другими генами, влияющими на функцию *apterous* и участвующими в развитии ног. Из числа партнеров *apterous*, способных влиять на активность *dlim1*, был также исключен *Chip*, кодирующий известный кофактор и способный связываться с LIM-доменами *Arterous* [26, 28, 40] и других LIM-HD белков, к которым относится и *dLim1* [38]. В то же время анализ взаимодействий между *apterous*, *dlim1* и другими генами, контролирующими развитие ног, позволил обнаружить, что существует сложная система функциональных взаимодействий, определяющая развитие ног у дрозофилы [39]. Кроме *apterous* и *dlim1*, в ней участвуют гены *aristaless* и *Bar*, которые являются генами-гомеобоксами, кодируют белки семейства *Hox* и определяют ха-

рактер спецификации клеток, а также судьбу дистальных клеток ног. Как известно, *aristaless* кодирует белок-гомеодомен, контролирующий развитие кончиков ног, где он экспрессируется вместе с *dlim1* [41]. *Bar* кодирует два белка-гомеодомена, которые необходимы для развития дистальных тарзальных сегментов [42]. Считается [39], что экспрессия *dlim1* активируется посредством *aristaless*, чтобы подавлять функцию *Bar*, и, таким образом, развитие трех последних сегментов ног определяется и регулируется специфическими комбинациями уровней активности генов семейства *Lhx* (*dlim1* и *apterous*) и генов семейства *Hox* (*aristaless* и *Bar*): LIM-HD белки могут, таким образом, кооперироваться с *Hox* белками и регулировать экспрессию генов.

Важно выяснить, какая роль в этой сети взаимодействий принадлежит белкам LIM-HD и каким образом они могут участвовать в распространении позиционной информации, поступающей от «ранних» генов, ответственных за проксимально-дистальную дифференцировку, и каковы в целом механизмы взаимодействия генов, участвующих в процессах развития конечностей.

***islet* и *lim3*: Регуляция нейрогенеза.** Если не все, то подавляющее большинство генов, кодирующих белки LIM-HD, экспрессируются в клетках формирующейся нервной системы [2, 3, 9] и, как можно предположить, являются регуляторами развития и дифференцировки разных типов нейронов [43, 44].

Ген *islet* (*isl*) кодирует белок LIM-HD, который был идентифицирован одним из первых (вторая буква в сокращении LIM [7]). Позже были изолированы последовательности, кодирующие *Islet1* и *Islet2*, двух членов LIM семейства белков позвоночных, которые экспрессируются в ограниченных наборах мотонейронов и интернейронов, участвуют в процессах транскрипционного контроля их дифференцировки и обнаруживают специфические функции в развитии и формировании нервной и эндокринной систем [45].

Семейство *islet* генов дрозофилы в отличие от позвоночных, где для каждого вида известны по меньшей мере два гомолога, представлено единственным геном *islet* [2, 3, 45]. Предполагаемый *Islet* белок *D. melanogaster* содержит

два LIM-домена, С-терминальный гомеодомен и обнаруживает значительную гомологию с Islet1 и Islet2 белками позвоночных [45]. Наиболее высокий уровень гомологии последовательностей наблюдается в области гомеодоменов (95%-ная идентичность с Islet1 и Islet2) и более низкий — в LIM-доменах (85 %), а в целом общий уровень идентичности аминокислотных последовательностей составляет 57 % [45]. Islet дрозофилы обнаруживает намного более заметное сходство с Islet белками позвоночных, чем с другими LIM-HD белками. Так, в рамках гомеодоменов уровень идентичности белков Islet и Apterous у дрозофилы составляет 38 %, в то время как Apterous обнаруживает 92%-ную идентичность со своим гомологом LH2 позвоночных [45, 46].

Генетический анализ, а также результаты гибридизации *in situ* клонированных последовательностей *islet* с политенными хромосомами *D. melanogaster* позволили картировать locus *islet* в хромосоме 2L с точностью до района 37A, который детально изучен генетически [47, 48]. Одна из групп комплементации в этом районе представлена аллелем *isl^{17A}*, который в комбинациях с делециями, удаляющими locus *islet*, ведет себя как нуль-аллель или гипоморфная мутация локуса [45]. У нуль-мутантов *islet* изменяются некоторые особенности нейрального развития, нарушается идентичность нервных клеток, ориентация аксонов мотонейронов и интернейронов, что часто приводит к нарушению иннервации клеток мышц. Наблюдаемые у мутантов *islet* дефекты формирования и ориентации аксонов и передачи нервных сигналов позволяют предположить, что координация этих процессов происходит на уровне транскрипции, в постмитотических нейронах, на поздних стадиях формирования клеточных зачатков и зависит от типа клеток [45]. Тем не менее отсутствие функции *islet* не приводит к серьезным нарушениям процесса нейрогенеза у мутантов *Drosophila*. У мутантов *islet*, которые гомозиготны по двум делециям, полностью удаляющим locus, нейроны выживают, имеют аксоны, и, таким образом, можно предположить, что отсутствие функции *islet* у дрозофилы не влияет на жизнеспособность нейронов, в которых этот ген экспрессируется [45]. Подобно своим гомологам у позвоночных *islet*

экспрессируется в клетках, имеющих мезодермальное происхождение, в определенных наборах развивающихся мотонейронов, в клетках вентральной нервной хорды, способных синтезировать допамин и серотонин [45]. Наблюдаемые у мутантов с отсутствием функции *islet* дефекты, по-видимому, связаны с изменениями характера экспрессии гена, что существенно не влияет на фенотип и поведение клеток.

В отличие от *Drosophila*, у позвоночных известны серьезные драматические последствия нарушения экспрессии гена у мутантов и обнаружена ключевая роль Islet1 в развитии мотонейронов и интернейронов, а также эндокринных систем, общим свойством которых является секреция различных нейропептидов, ферментов и других молекул, участвующих в передаче нервных сигналов [9, 45, 49]. Islet2 детально не изучен, но предполагается, что он вместе с другими LIM-белками участвует в накоплении пула предшественников клеток мотонейронов. В противоположность нейронам *Drosophila*, которые выживают в ходе эмбриогенеза даже у мутантов, гомозиготных по полностью удаляющим locus *islet* делециям, у *islet* мутантов мыши вообще не обнаруживаются мотонейроны: клетки, из которых они должны дифференцироваться, гибнут при апоптозе (запрограммированная клеточная смертность), и можно предположить [45], что существует механизм, способствующий исчезновению целых клеточных популяций, когда отсутствуют специфические детерминанты, определяющие судьбу клеток при дифференцировке. Дефекты мотонейронов, очевидно, могут влиять на развитие определенных наборов интернейронов, которые тоже теряют способность дифференцироваться, если экспрессия Islet1 отсутствует. Существует предположение, что у животных с более высокоорганизованным (по сравнению с *C. elegans*) типом нервной системы, таких как дрозофила и позвоночные, LIM-HD белки могут влиять на конечную дифференцировку клеток и их идентичность каким-то общим глобальным способом [9, 45, 50]. Функции LIM-гомеодомена Islet часто определяются его уникальными комбинациями с другими факторами транскрипции. Комбинаторная экспрессия генов, кодирующих LIM-HD факторы транскрипции, очевидно, является меха-

низмом создания различных комбинаций разных генов, обеспечивающих контроль развития и функциональной организации нейронов. Предполагается [9], что существовал общий предок червей, мух и позвоночных, который играл ключевую роль в определении нейральной идентичности клеток и комбинаторные функции которого совершенствовались в ходе эволюции.

Ген *lim3*, как и *islet*, участвует в контрольных механизмах регуляторных программ развития и дифференцировки клеток нервной системы [9]. С изучением особенностей организации гена *lim3* дрозофилы непосредственно связано дальнейшее развитие представлений о существовании комбинаторной экспрессии и комбинаторного кода в нервных клетках [9, 45, 50, 51]. У дрозофилы *Lim3* содержит два LIM-домена, гомеодомен в С-терминальной области и обнаруживает высокий уровень гомологии с белками позвоночных *Lhx3* и *Lhx4*, которые являются представителями одного из субклассов белков LIM-HD [9, 50, 52]. Гомология последовательностей гена наиболее значительна в области гомеодомена (90%-ная идентичность) и несколько ниже — в области LIM-доменов (67 %), а остальные последовательности не имеют очевидной гомологии с *Lhx3* и *Lhx4* белками позвоночных, за исключением очень консервативного участка из 22 аминокислотных остатков, который получил название *Lim3*-специфического домена (LSD) [50], поскольку он обнаружен только у членов семейства *Lim3* и отсутствует в других белках LIM-HD [9, 50].

При использовании для гибридизации *in situ* клонированных последовательностей гена *lim3* этот локус в политеменных хромосомах *D. melanogaster* картирован с точностью до района 37В хромосомы 2L [50]. Эта область хорошо изучена на генетическом и молекулярном уровнях [48]. Молекулярный анализ нескольких аллелей, составляющих летальную группу комплементации *l(2)37Bd* и обнаруживающих делеции или другие мутации в области LIM-доменов, позволил установить, что *l(2)37Bd* соответствует локусу гена *lim3* [50].

Эмбриональная экспрессия *lim3* длительно обнаруживается в нервных клетках, в постмитотических нейронах и мотонейронах, а в мо-

тонеяронах часто перекрывается с экспрессией других генов, кодирующих LIM-HD факторы транскрипции, и, таким образом, существует комбинаторная экспрессия членов семейства белков LIM-HD [9, 50]. У дрозофилы *lim3* экспрессируется в тех же мотонейронах, где одновременно экспрессируется *islet*, как известно, тоже кодирующий белок LIM-HD. Очевидно, оба этих белка являются компонентами комбинаторного кода, регулирующего поведение и свойства нейронов [50]. В пользу предположения о существовании такого консервативного кода однозначно свидетельствуют результаты анализа экспрессии LIM-белков у мутантов и трансгенных особей. Так, характер экспрессии генов *lim3*, *islet* и *apterous* в вентральной нервной хорде *D. melanogaster* поразительно напоминает особенности их экспрессии в спинальной хорде позвоночных: и у дрозофилы, и у мыши эти гены экспрессируются в неперекрывающихся наборах интернейронов, и в то же время наблюдается комбинаторная экспрессия этих генов в отдельных специфических наборах мотонейронов [50]. Жизнеспособность нейронов, характер проекции аксонов и передача нервных импульсов, иннервация мышц, очевидно, определяются комбинаторными особенностями экспрессии белков LIM-HD в разных классах мотонейронов. Можно предположить, что *lim3* и *islet* дрозофилы и их гомологи *Lhx3* и *Lhx4*, *isl1* и *isl2* у позвоночных функционируют как отдельные части комбинаторного кода, чтобы контролировать специфичность селекции путей мотонейронов [45, 50]. Возможно, при участии содержащих LIM-домены белков происходит формирование одного или нескольких функциональных комплексов, сходных с теми, которые наблюдали у позвоночных между *Islet* и *Lhx3* и их кофакторами NLI/LDB *in vitro* [25, 26, 53]. Такие комплексы могут контролировать характер экспрессии и участвовать в регуляции активности генов-мишеней [50]. Очень вероятно, что комбинаторный код экспрессии LIM-HD белков существует в нервной системе, где наборы мотонейронов и интернейронов обнаруживают частично неперекрывающуюся экспрессию или комплементарные наборы LIM-HD белков, необходимых для определения характерных свойств индивидуальных нейронов.

***apterous (ap)*: Плейотропная функция в развитии; партнеры и кофакторы.** Известным локусом, кодирующим LIM-HD белки в имагинальных дисках крыла дрозофилы, где он необходим для дорзо-вентральной (D/V) компартиментализации, роста крыла, для формирования края и дорзальных структур крыла, является *apterous* [9, 30, 51, 55]. Ген *apterous* кодирует белок из 470 аминокислотных остатков, содержит гомеодомен, способный связываться с ДНК, две копии LIM-домена в N-терминальной области гена и домен активации транскрипции [54]. Гомологами *Apterous* у млекопитающих считаются [9, 56] *Lhx2* и *Lhx9*, которые обнаруживают заметную идентичность с последовательностями *Apterous* и сходные функции в нервной системе [57].

Селекторный ген *apterous* контролирует клеточные взаимодействия между компартаментами крыла [54, 55]. Белок *Apterous* играет важную роль в развитии крыла и гальтер, в формировании D/V оси крыла [55, 58], дифференцировке отдельных типов мышц и районов их прикрепления [59, 60], формировании нервной системы эмбриона [57], в продукции ювенильного гормона [61, 62], недостаток которого у мутантов *apterous* сопровождается недоразвитием яичников и часто приводит к снижению фертильности самок и жизнеспособности гомозиготных по *ap* особей: такие бескрылые мухи обнаруживают сильные дефекты координации движений и живут не более 1–2 сут после вылупления из куколок [59]. Необходим *apterous* для проксимально-дистального развития ног [39] и обнаруживает определенные функции при формировании нервной системы [50], а также участвует в определении характера экспрессии PS1 и PS2 интегринов [63], и это свидетельствует в пользу предположения об участии генов, кодирующих LIM-HD белки, в клеточной адгезии. Кроме известных функций *apterous* в развитии нервной системы [50, 57], обнаружена его дополнительная роль как непосредственного регулятора активности энхансера гена, кодирующего формирование нейропептида FMRF-NH₂, субъединицы гликопротеинового гормона [64], и предполагается, что таким образом может регулироваться большинство, если не все, гены-мишени *apterous*. Как регулятор активности гена *muscle segment homeobox (msh)* (прямой мишени *apterous*)

и доминантного аллеля гена *msh*, *Dorsal wing*, *apterous* необходим для создания дорзальной идентичности клеток, таких как сенсорные щетинки, а также для спецификации клеток, формирующих жилки крыла [65].

Самый характерный фенотип мутантов *apterous*, от которого и произошло название локуса — бескрылые мухи: в отсутствие функции *ap* крыло не развивается [54]. Экспрессия *ap*, как правило, ограничивается дорзальными клетками крыла, необходима для идентификации этих клеток, для формирования D/V границы, которая действует как организующий центр в процессе роста крыла, для формирования крыловой пластинки и края крыла. Процесс слияния дорзальной и вентральной поверхностей крыла и спецификацию клеток на ранних и поздних стадиях развития крыла также контролирует *apterous* [54, 66, 67]. Клетки, в которых экспрессируется *apterous*, дифференцируются в дорзальные структуры крыла, а клетки, в которых его экспрессия отсутствует — в вентральные, и, таким образом, активность *ap* определяет судьбу дорзальных клеток [66, 67].

Считается [63, 66–68], что в ходе развития крыла посредством индукции в дорзальных клетках экспрессии *Serrate*, одного из лигандов *Notch*, и гликозилтрансферазы *Fringe*, *Apterous* индуцирует на границе компартиментов активность процессов *Notch*-сигнализации. На ранних стадиях последнего личиночного возраста это приводит к активации *Notch*, *Wingless* и *Delta*, другого лиганда *Notch*, и создается механизм обратной связи для сохранения активности *Serrate* в дорзальных клетках [66, 67, 69]. Пока до конца неизвестно, какой вклад вносят *Serrate*, *Delta*, *Notch* и другие компоненты *Notch*-сигнального пути в установление D/V границы компартиментов крыла и насколько эти процессы зависят от *Apterous*. Как селекторный ген, *apterous* взаимодействует в ходе развития и органогенеза с многочисленными генами, принадлежащими к разным сигнальным системам [57], включая *N*, *Wg* и *Egfr* сигнализации [70]. *Apterous* непосредственно контролирует характер экспрессии *Serrate* и процессы временной и пространственной регуляции активности многих других генов-мишеней. Получены убедительные доказательства того, что

Serrate действительно является прямой мишенью *Apterous*, что динамическая экспрессия *Serrate* регулируется на уровне транскрипции и что специфические контролирующие элементы в регуляторной области гена *Serrate* способны взаимодействовать с определенными последовательностями *apterous* [70]. Обнаружены системы связывания *Apterous* с состоящим из 794 пар оснований цис-регуляторным элементом, который присутствует в 3'-регуляторной зоне гена *Serrate*, экспрессируется в дорзальном компартменте имагинальных дисков крыла личинок в начале третьего возраста [70] и известен как минимальный крыловой энхансер *Drosophila*. Описаны и другие регуляторные элементы локуса *Serrate*, контролирующие его экспрессию [30]. Эволюционно консервативные молекулы — представители разных сигнальных систем, очевидно, могут активироваться посредством экспрессии *apterous*, селекторного гена, и при участии многочисленных сигнальных молекул и энхансеров, чувствительных к *apterous* [70].

Функциональная роль LIM-доменов и гомеодомена белка *Apterous* детально изучена при использовании различных трансгенных конструкций, обеспечивающих экспрессию *in vivo*, а также систем восстановления фенотипа у мутантов [34]. Выяснилось [27, 58, 71], что как LIM-домены, так и гомеодомен важны и необходимы для функции *Apterous*. Больше того, присутствие только одних LIM-доменов действует доминантно-негативным способом, нарушая функции белка *Apterous* [71]. LIM-домены *apterous* можно заменить доменами других членов LIM-HD семейства, например, использовать последовательности гена *lim3* вместо *apterous* в химерных молекулах [71], чтобы в определенных условиях воссоздать нормальную структуру крыла у мутантов *ap*. Однако такие замещения не способны восстанавливать нормальное развитие клеток нервной системы, и это означает, что индивидуальные LIM-домены оказывают специфическое влияние на функции *Apterous* и действуют дифференциально в определенных тканях [71]. Оказалось также, что ортолог гена *apterous* у человека, *hLhx2*, способен индуцировать экспрессию генов-мишеней *apterous* у трансгенных мух, вызывая появление фенотипов крыла, характерных для экто-

пической экспрессии *apterous* [72]. Особенно важно отметить, что при использовании *hLhx2* последовательностей гена человека происходит восстановление фенотипа крыла у мутантов дрозофилы: белки дрозофилы и человека оказались взаимозаменяемыми. Это позволяет предположить [72] существование общего предка гомологов *apterous*, консервативные функции которого многократно использовались в ходе эволюции беспозвоночных и позвоночных.

Генетические взаимодействия, в которых участвует *apterous*, лежат в основе процессов дифференцировки и определяют судьбу клеток крыла. В ходе развития крыла у дрозофилы активность *Apterous* строго зависит от его кофактора *Chip* [26, 28], который относится к семейству LDB/NLI кофакторов, хорошо известному у позвоночных [25, 27, 29, 40]. Потребность в *Chip* для активности *Apterous* продемонстрирована в изяшных опытах, когда LIM-домен *apterous* был замещен доменом димеризации *Chip*, и новый белок обнаруживал такую же активность, как и белок *Apterous* у мух дикого типа [27, 31]. Подобно своему гомологу NLI позвоночных, *Chip* формирует димеры, способные связываться с двумя молекулами LIM-HD белка *Apterous* и, таким образом, *Chip* и *Apterous* физически взаимодействуют *in vivo*, чтобы формировать тетрамерные функциональные транскрипционные комплексы из двух молекул *Apterous*, соединенных посредством гомодимера *Chip* [27, 28, 31]. Структурно-функциональный анализ белков LDB позволил идентифицировать у них два независимых функциональных домена: 1) N-терминальный домен, способный к самодимеризации (dimerization domain), DD, состоящий из ~200 аминокислотных остатков и 2) C-терминальный — из 38 аминокислотных остатков — домен взаимодействия (LIM interaction domain), LID, необходимый для высокоспецифичного связывания и взаимодействия с белками LIM-HD [25, 29]. Между *Chip* и *apterous* существует и явная функциональная связь: мутанты *Chip* при взаимодействии с *apterous* обнаруживают нарушения края крыла, а клоны клеток мутантов *Chip* характеризуются появлением эктопического края и выростов крыла [31, 40, 55]. Что касается функциональных тетрамерных комплексов, то пока невы-

ясненным остается вопрос — как этот комплекс может контролировать функции генов, кодирующих LIM-HD белки, и принимают ли участие другие гены в том, чтобы этот комплекс был функциональным.

Активность комплекса Chip-Apterous существенно изменяется в присутствии ядерного белка DLMO, который является антагонистом активности Apterous и способен конкурировать с Apterous за связывание с Chip [27, 31, 73].

Недавно были идентифицированы члены семейства генов *ssdp* (single-stranded DNA binding protein), продукты которых взаимодействуют с белками-кофакторами Chip/LDB [74, 75]. *Ssdp* может модифицировать активность тетрамерных комплексов Chip-Apterous. N-терминальная область белков *Ssdp* заметно отличается от доменов Chip, необходимых для самодимеризации (DD) и связывания с LIM-доменами (LID): в *Ssdp* обнаружен новый консервативный домен LUFFS, используемый для взаимодействия с Chip [75]. У дрозофилы *Ssdp* экспрессируется в клетках нервной системы эмбриона, в имагинальных тканях и способен влиять на активность комплексов, содержащих кофактор Chip и LIM-HD белок Apterous. Предполагается [74], что белки Chip и *Ssdp* взаимодействуют *in vivo*. *Ssdp* является позитивным фактором, необходимым для нормального функционирования комплексов Chip-Apterous. Ген *ssdp* также участвует в регуляции активности комплексов Chip с DLMO. Отсутствие функции *ssdp* у мутантов дрозофилы приводит к появлению дефектов развития. Нуль-аллели *ssdp* являются клеточными летальными в клонах клеток развивающегося имагинального диска крыла, а у гиперморфного мутанта *ssdp* наблюдается появление эктопического края крыла, характерного для мутантов *apterous*, *Chip* и *Dlmo* [74, 75].

Chip и Apterous, кроме определенных взаимосвязей с *Ssdp*, обнаруживают структурное сходство с двумя белками у *Arabidopsis*, LEUNIG и LCCD, которые, как полагают [74, 75], совместно участвуют в регуляции транскрипции и других фундаментальных функций у растений [76].

***prickle (pk):* Регуляция полярности тканей.** Локус *prickle* известен как один из генов [23]

тканевой полярности (tissue polarity genes), которые регулируют процессы формирования цитоскелета и контролируют у дрозофилы ориентацию многочисленных поляризованных кутикулярных структур — щетинок, волосков, омматидиев [77, 78]. Мутации этих генов — компонентов *frizzled* сигнальной системы влияют на характер полярности эпидермальных клеток, не нарушая существенно общей формы имагинальных структур и распределения в них клеток разных типов [79–81].

У *D. melanogaster* ген *prickle* кодирует продукт с несколько необычными структурно-функциональными особенностями: он содержит три LIM-домена и новый высококонсервативный белковый повтор, обнаруженный, кроме дрозофилы, у человека, мыши и нематоды [23] и получивший название PET (три первые буквы в названиях родственных белков Prickle, Espinas и Testin). PET-домен расположен в 5'-положении по отношению к LIM-доменам и кодирует нейтральную последовательность аминокислот, свойства и значение которой пока не выяснены. PET не обнаруживает заметного родства с другими известными белковыми повторами [23]. Каждый из трех LIM-доменов белка Prickle является типичным zinc-finger повтором с несколько измененным расположением пролиновых остатков; размеры доменов слабо варьируют (57, 52 и 56 аминокислотных остатков у LIM1, LIM2 и LIM3 соответственно), и, по-видимому [23], сохранение всех трех доменов играет более важную роль, чем их индивидуальные консервативные свойства.

Точки разрывов при хромосомных перестройках у мутантов с нарушением функций локуса *prickle* картированы в рамках последовательности ~70 т.п.н., в районе 43A1-2 хромосомы 2R *D. melanogaster*. Мутанты локуса представлены тремя различающимися по фенотипу классами аллелей: *pk*, *pk-sple* и *sple* (*spiny legs*). Полное отсутствие локуса приводит к появлению слабого фенотипа тканевой полярности в крыле, нотуме, брюшке, глазах и ногах. Ни один из мутантов всех трех классов не обнаруживает дефектов эмбрионального фенотипа, и предполагается, что эмбриональная функция *pk* осуществляется за счет материнского продукта. Особи с делециями, удаляющими цели-

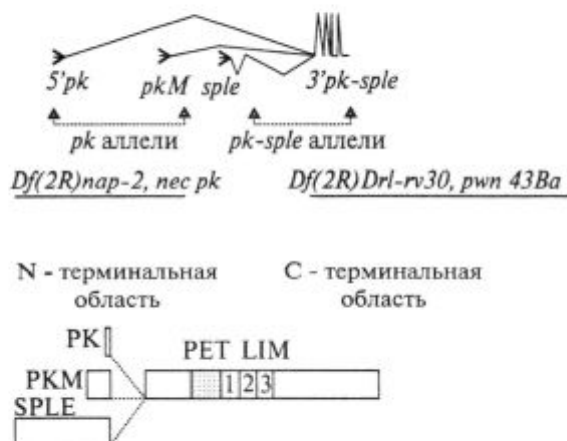


Рис. 5. Схема организации локуса *prickle* [23]. Изоформы белка Prickle, кодируемые транскриптами *pk*, *pkM* и *sple*. Обозначены консервативный PET-домен и три LIM-домена в С-терминальной области

ком весь локус *pk* и (теоретически!) полностью устраняющими возможность его функционирования, тем не менее, жизнеспособны и фертильны. Удивительно, что у таких мух проявление мутантного фенотипа намного слабее, чем у аллелей *pk* и *pk-sple*, когда появляются «сильные» мутантные фенотипы в реципрокных частях тела [23]. При эктопической экспрессии трансгенных конструкций [*pk*⁺] и [*sple*⁺] мухи полностью жизнеспособны и не обнаруживают специфического имагинального и эмбрионального фенотипов. Это позволяет предположить [23], что функция локуса *pk* избыточна в ходе эмбрионального развития. Локус *prickle* кодирует три транскрипта, *pk*, *pkM* и *sple*, которые различаются своими 5'-экзонами и кодируют соответственно белки 93, 100 и 129 кДа. Экзоны со 2-го по 7-й являются общими для этих трех транскриптов (рис. 5). Существование нескольких альтернативно сплайсируемых мРНК локуса *prickle* хорошо объясняет появление трех типов мутантов и характер их функциональных взаимосвязей [23]. Так, мутанты *sple* обнаруживают делеции всего локуса, а фенотип *pk* связан с нарушениями в проксимальной области локуса и делециями, удаляющими 5'-область *pk* транскрипта. Функцию *pkM* обнаружить не удалось: очевидно, экспрессия *pkM* является эмбриональной и избыточной. Транскрипты *pk* и *sple* обнаруживают сходное распределение в крыловых, ножных и глазных имагинальных дисках, но в

процессе морфогенеза транскрипты *pk* и *sple* имеют качественно разную активность, зависящую от дозы кодируемых ими продуктов у мутантов и при эктопической экспрессии у трансгенных мух. Баланс между изоформами белка Prickle, содержащего три LIM-домена и специфический PET-домен, является [23] существенным для модификации характера полярности тканей, причем оказалось, что важную роль играют и абсолютные, и относительные уровни активности Pk и Sple продуктов. Известно, что соотношения между содержащими LIM-домены факторами транскрипции и их кофакторами, а также, возможно, их генами-мишенями (см. Apterous, Chip, DLMO) в различных функциональных комплексах являются критическими для их функции в развитии [40]. Гомолог LMO-белков у мыши, Testin, кодирует альтернативные 5'-транскрипты [82]. Возможно, такие особенности присущи и белкам семейства Prickle. Отсутствие *pk* и *sple* транскриптов, как известно, может нарушать полярность сигнализации клеток всей поверхности тела и вызывает появление фенотипов, характерных для мутантов-генов тканевой полярности, аллелей генов *dishevelled* (*dsh*) и *frizzled* (*fz*). Семейство гомологов *fz* участвует в рецепции сигналов Wingless белка [80], а компонент Frizzled сигнализации, белок Dishevelled, генетически взаимодействует с Wingless и Notch сигнальными путями [80, 81]. В связи с этим можно предположить [23] тесную связь Prickle с активностью Frizzled сигнальной системы.

Что касается роли PET-домена, то не исключено, что и он может использоваться во взаимодействиях с пока неидентифицированными белками для формирования функциональных сигнальных комплексов, связанных с установлением полярности клеток различных тканей. Потенциальными партнерами Prickle могут быть продукты генов тканевой полярности и актиновые компоненты цитоскелета [3, 23]. Очевидно, изоформы Prickle являются компонентами белковых комплексов при реконструкции цитоскелета, как и другие известные белки, имеющие несколько LIM-доменов [3].

Dlmo: Аллели *Beadex* и *held up-a*; регуляторные элементы локуса; связь с онкогенезом. Ген, получивший у дрозофилы название [83, 84]

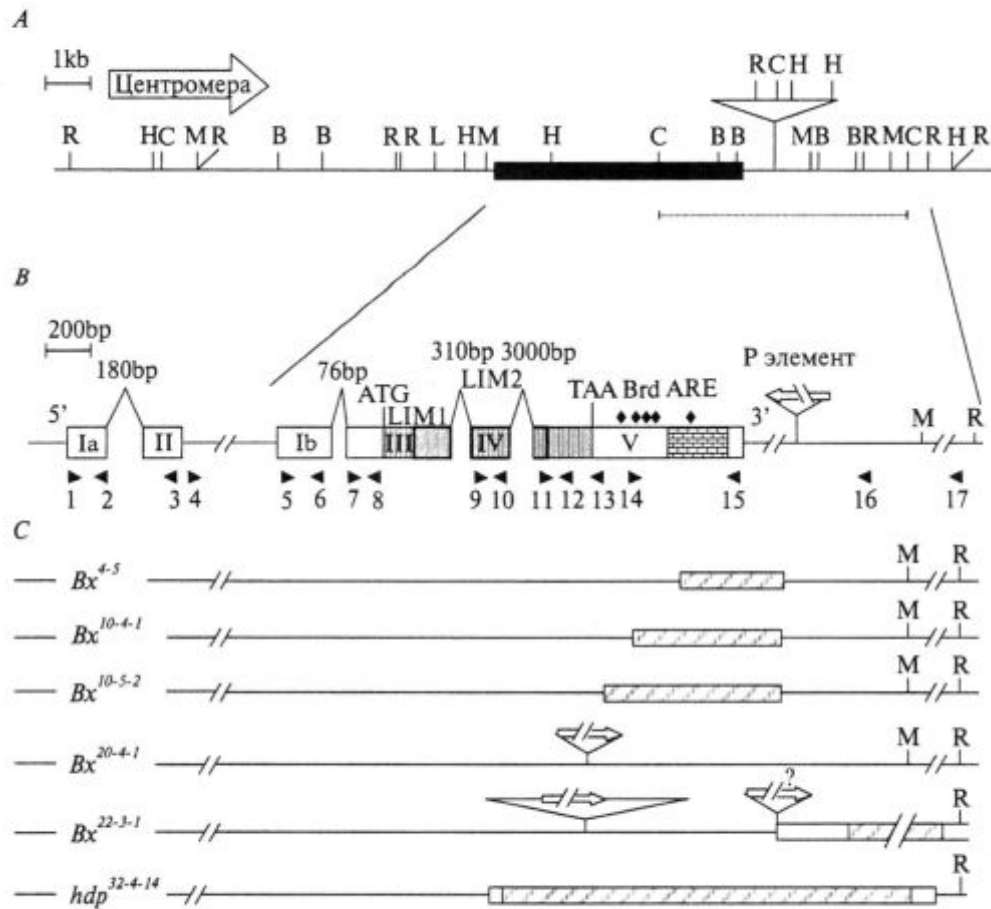


Рис. 6. Схема организации гена *Dlmo* [84]: карта района 17С X-хромосомы *D. melanogaster*, где расположен ген *Dlmo* (A); B — регуляторная область *Dlmo*, где находятся регуляторные элементы ARE и Brd, C — характеристика инсерционных мутантов *Beadex* и *help up-a*. Положение инсерций показано только у аллелей *Bx*²⁰⁻⁴⁻¹ *Bx*²²⁻³⁻¹

Dlmo (иногда пишут *dLMO* [85] или *dlmo* [86]), кодирует один из белков LIM-only (LMO) семейства, который содержит в отличие от *Apertous* и других белков LIM-HD только два LIM-повтора и не имеет гомеодомена или других определенных мотивов [2, 3, 10]. Последовательности локуса *Dlmo* у *D. melanogaster* были изолированы [83] на основе их виртуального сходства с LMO-белками человека, которые считаются протоонкогенами и тесно связаны с появлением острых форм Т-клеточной лейкемии [15, 16, 19, 87]. *Dlmo* является единственным LMO-геном, идентифицированным у дрозофилы [83—85, 87]. Тем не менее семейство генов, кодирующих LMO1, LMO2, LMO3 и LMO4 [3] у позвоночных, более многочисленно: у млекопитающих и человека эти гены активны в процессе гематопоеза и, подобно LIM-HD факторам транскрипции, играют

важную роль в регуляции экспрессии, поскольку они локализованы в ядре и тесно связаны с другими регуляторами транскрипции [1—3, 9].

У *D. melanogaster* локус *Dlmo* картирован генетически, цитологически и при гибридизации *in situ* с политенными хромосомами в районе 17С X-хромосомы [87—89]. Давно известно, что в 17С находится локус классической доминантной мутации, связанной с появлением вырезок крыла, *Beadex* (*Bx*: 1-59.4), открытой еще Бриджесом (1923) и детально описанной Морганом и Стертевантом (1925) [48]. Несколько дистальнее, на расстоянии 0.0045 единиц генетической карты от *Beadex*, локализован локус рецессивной мутации *held up-a* (*hdp-a*: 1-59.4) с характерными нарушениями положения крыльев и структуры жилок крыла [87, 89].

Лившиц и Грин [88, 89] использовали доминантную мутацию *Beadex* как маркер для идентификации и генетического изучения особенностей влияния цис-регуляторных элементов гиперморфных сверхпродуктивных мутаций у дрозофилы. Анализ фенотипов мутантов с делециями или дупликациями района 17С, где картированы *Beadex* и *held up-a*, позволил сформулировать гипотезу [88], согласно которой *Bx* и *hdp-a* являются двумя взаимодействующими между собой частями единой генетической единицы, а характер генетических взаимодействий и фенотипических особенностей мутантов зависит от количественных соотношений их генных продуктов. Мутации локуса *Bx* приводят к увеличению активности *hdp-a*, а мутации *hdp-a* супрессируют в цис-положении фенотип *Beadex* с вырезками крыла. Можно было предположить, что *held up-a* кодирует структурный ген, активируемый регуляторными мутациями *Beadex* [88]. Нормальной функцией *Beadex*⁺ тогда является репрессия локуса *held up-a*⁺, кодирующего белок DLMO. Изучение характера экспрессии DLMO показало, что этот белок экспрессируется в клетках многих тканей, включая и имагинальные диски крыла [85]. Сверхэкспрессия гена *Dlmo* у трансгенных особей вызывает различные дефекты развития, такие как появление эктопических выростов крыла, формирование дополнительного края крыла, связанного с нарушением характера экспрессии DLMO на А/Р границе. Нарушение регуляции активности *Dlmo* вдоль D/V границы приводит к появлению мутантного фенотипа с вырезками края крыла, характерного для мутантов *Beadex* [85]. Ген *Dlmo* обнаруживает материнскую экспрессию и на высоком уровне экспрессируется в эмбриогенезе, но его экспрессия редуцируется в ходе личиночного развития и увеличивается у взрослых мух [83].

Молекулярный анализ кодируемой локусом *Dlmo* мРНК у мутантных аллелей, которые картированы в регуляторной части локуса, позволил выяснить, что гиперморфная природа мутаций *Beadex* является результатом сверхэкспрессии *Dlmo*, возникающей из-за отсутствия негативного контроля в его 3'-регуляторной области [84, 85]. Нетранслируемая регуляторная область гена *Dlmo*, 3'UTR (3' untranslated

region), содержит негативные регуляторные элементы, а именно — ARE (AT-rich elements) и Brd-подобные боксы (рис. 6), которые часто встречаются в 3'UTR многих мРНК, кодирующих протоонкогены, факторы транскрипции, цитокины [3]. Считается, что эти регуляторные элементы являются общими детерминантами, обеспечивающими стабильность мРНК в клетках эукариотов. Делеции или другие дефекты 3'UTR способствуют нарушению функций предполагаемых негативных регуляторных повторов, что приводит к сверхэкспрессии транскриптов гена *Dlmo* [85]. Механизм влияния ARE и их участия в процессах деградации цис- и трансрегуляторных элементов пока не изучен [84], однако известно, что гены, кодирующие белки LMO1 и LMO2 млекопитающих, тоже содержат многочисленные ARE в своей регуляторной области. Можно поэтому предположить, что ARE в 3'UTR используются в негативной посттранскрипционной регуляции активности гена *Dlmo*. Кроме ARE, в 3'UTR гена *Dlmo* присутствуют несколько гептануклеотидных последовательностей повтора, близкородственного повтору AGCTTTA, который обнаружен в 3'UTR гена *Beared* (Brd-боксы) и многих других генов, используемых в Notch сигнализации [90]. Наблюдается высокий уровень консерватизма 3'-нетранслируемой области у всех членов семейства LMO, что позволяет предположить ее важную функцию в контроле транскрипции и трансляции [83, 84, 90].

Гиперморфные мутации *Beadex* связаны с гиперэкспрессией гена *Dlmo*: у аллелей *Beadex* наблюдается повышенный в 2—4 раза уровень транскрипции по сравнению с аллелями дикого типа.

Гиперморфная природа мутаций *Beadex*, очевидно, является результатом отсутствия негативного контроля транскрипции в 3'UTR гена, кодирующего белок DLMO. Предполагается [84, 85], что *Beadex* функционирует как негативный регуляторный элемент расположенного рядом с ним локуса *held up-a*. Фенотип *Bx* связан с повышенной активностью локуса *held up-a*, легко воспроизводится при простом увеличении числа копий гена *held up-a* дикого типа и именно *held up-a* кодирует белок DLMO. Делеции, частично или полностью

удаляющие *held up-a*, приводят к отсутствию функциональных продуктов локуса *Dlmo* и являются доминантными супрессорами фенотипа *Beadex*. Активность гена *Dlmo*, в целом, зависит от характера нарушений локуса и особенностей генетических и функциональных взаимодействий между его аллелями *Beadex* и *held up-a*.

DLMO входит в состав транскрипционных комплексов, содержащих *Apterous* и *Chip*-кофактор, который, подобно *NLI*, способен связываться с различными LIM-белками и в качестве димера участвовать в формировании гетеродимерных комплексов между содержащими LIM-домены факторами транскрипции (обзоры [1–3, 9]). Нормальной функцией локуса *Dlmo* в функциональных комплексах является регуляция уровня активности его антагониста — гена *apterous* [26–30]. В то же время активность *Dlmo* зависит от *Apterous* и его кофактора *Chip*: *Apterous* конкурирует с DLMO за связывание с *Chip*. Фенотипы крыла мутантных аллелей *Dlmo*, *Chip* и *apterous* обнаруживают заметное сходство, и это позволяет предположить, что характер генетических взаимодействий между этими тремя генами очень чувствителен к уровню относительного баланса продуктов этих генов. Именно относительные количества DLMO, *Apterous* и *Chip* белков определяют тонкие различия в активности формирующихся *in vivo* транскрипционных комплексов, функционирующих в процессе морфогенеза крыла [27, 28, 73]. Обнаруженный недавно кофактор *Ssdr* тоже генетически взаимодействует с DLMO и *Chip* и, возможно, является компонентом комплексов, формирующихся при активации транскрипции генов-мишени [74, 75].

LIM-only (LMO) белкам, как и LIM-белкам с гомеодоменами, принадлежит важная роль в процессах развития, пролиферации и дифференцировки клеток [1, 2, 9]. Тем не менее, к LMO-белкам привлечено особое внимание: у млекопитающих и человека они считаются протоонкогенами и обнаруживают непосредственную связь с процессами канцерогенеза [18, 83, 91, 92]. Два из трех описанных первыми LMO-генов человека, *Lmo1* и *Lmo2*, идентифицированы при хромосомных транслокациях у больных с острыми формами Т-клеточной

лимфобластической лейкемии (T-cell acute lymphoblastic leukaemia, TALL). *Lmo1* локализован в точке разрыва при транслокации t(11;15)(p15q11), а *Lmo2* клонирован как последовательность из сайта разрыва при транслокации t(11;14)(p13q11) [83]. В результате этих транслокаций белок LMO2 появляется в специфических Т-клетках, имеющих перестройку и, как следствие, aberrантную экспрессию LMO, сопровождающуюся нарушением дифференцировки Т-клеток, что в конечном счете приводит к лейкемии [15, 93]. В норме *Lmo1* и *Lmo2* экспрессируются на очень низком уровне [83], а сверхэкспрессия этих генов при хромосомных aberrациях является онкогенной и вызывает неоплазию.

Сверхэкспрессия генов *Lmo1* и *Lmo2* наблюдается и при перестройках хромосом в клетках тимуса трансгенных мышей [94, 95], причем частота появления у них опухолей пропорциональна количеству экспрессируемых продуктов трансгена. Мыши с делециями гена, кодирующего LMO2, погибают в ходе эмбриогенеза в результате нарушения у них процессов эритропоэза и отсутствия способности клеток дифференцироваться в зрелые эритроциты [18]. LMO2 также необходим для нормального гематопоэза и дифференцировки эритроцитов у взрослых животных [15, 16]. У нуль-аллелей *Lmo2* мыши полностью теряет способность развития эритроидных, миелоидных и лимфоидных зачатков, что свидетельствует о ключевых функциях *Lmo2* в процессах гематопоэза [19].

Возможные механизмы регуляции онкогенной активности, связанной с повышенной экспрессией LMO-белков, очевидно, очень консервативны у позвоночных и беспозвоночных [84–86] и непосредственно контролируют процессы транскрипции. Отсутствие этих функций при неконтролируемой экспрессии LMO приводит к нарушению клеточной пролиферации и дифференцировки, к сохранению недифференцированного состояния клеток [17]. Значительный консерватизм обнаруживает структура регуляторной области гена *Lmo*. Негативные AT богатые элементы, характерные для 3'UTR аллелей *Beadex* (рис. 6), поразительно сходны с регуляторными элементами генома млекопитающих и являются общими для короткожи-

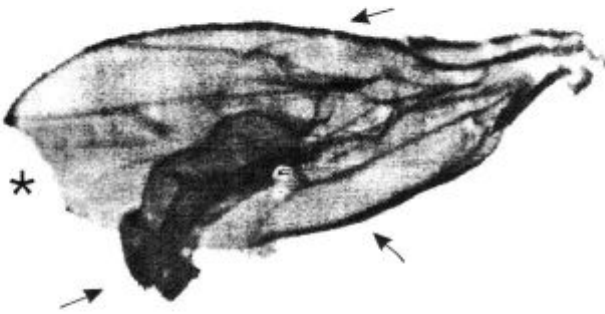


Рис. 7. Нарушение роста крыла, пролиферации и дифференцировки клеток в условиях сверхэкспрессии гена *Dlmo* у трансгенных мух. Обозначены эктопические выросты крыла, передний и задний край крыла (стрелки) и вырезки крыла (звездочка) [85]

вущих мРНК гена *Dlmo* дрозофилы и *Lmo2* человека [84]. Можно предположить, что перекрывающаяся экспрессия LMO-белков обеспечивает контроль и сохраняет возможность развития. Как и другие кофакторы, LMO способны связываться и генетически взаимодействовать с разными факторами транскрипции, даже с теми, у которых LIM-домены отсутствуют [96]. LMO могут быть общими связывающими молекулами в олигомерных функциональных белковых комплексах. Так, у млекопитающих GATA, bHLH белки и E47, TALL и LMO2 могут совместно ко-экспрессироваться в эритроидных клетках [1–3, 13, 97] в составе функциональных эритроидных комплексов. Мутации с отсутствием функции каждого из этих генов в отдельности оказывают сходное влияние, вызывая часто нарушение процесса гематопоза и летальность [96].

Усиленная экспрессия CLIM2 в клетках проэритробластов способствует сохранению недифференцированного состояния этих клеток, предотвращая их дифференцировку в эритроциты. Больше того, считается [98], что аномально высокий уровень LMO1 или LMO2 у пациентов с Т-клеточной лейкемией способствует удалению LMO4 из его комплексов с кофакторами CLIM и что это перемещение влияет на дифференцировку Т-клеток еще до появления Т-клеточных опухолей.

Предполагается [99], что при формировании сложных функциональных комплексов LMO2 выступает как основной ген-регулятор («master gene»), снижая или усиливая в определенных условиях функциональную активность

комплекса. Не исключено, что LMO2 может взаимодействовать с TALL белком, активируя специфический набор генов-мишеней, транскрипция которых отсутствует в Т-клетках в норме, но активируется при хромосомных транслокациях. Таким может быть механизм, при помощи которого LMO белки участвуют в возникновении рака лимфоидной системы: отсутствие правильно законченной дифференцировки при сверхэкспрессии LMO, очевидно, приводит к потере контроля процессов клеточной пролиферации [18, 19]. LMO белки способны влиять на интенсивность и специфичность транскрипции [84–86] и таким способом могут быть связаны с контролем транскрипции онкогенов.

Идентификация гена *Dlmo*, дрозофилиного гомолога *Lmo* генов позвоночных и человека, открывает уникальные возможности для анализа роли LMO в рамках целого организма.

Наблюдаемая у мутантных аллелей локуса *Beadex* сверхэкспрессия *Dlmo* (рис. 7), вызывающая доминантные аномалии развития крыла, может служить моделью процессов модификации онкогенной активности при нарушениях экспрессии генов и генетических взаимодействиях *in vivo*.

В заключение следует отметить, что главной задачей настоящего обзора является анализ экспериментальных фактов и вытекающих из них представлений, полученных в работах на дрозофиле: они сыграли, а также продолжают играть важную роль в выяснении особенностей организации и функций белков с LIM-доменами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимодействия между определенными белками в ходе развития осуществляются при участии LIM-повторов, компонентов комбинаторной регуляции клеточных процессов, осуществляемых LIM-белками.

Следствием взаимодействия LIM-белков с многочисленными партнерами и кофакторами является формирование функциональных транскрипционных комплексов. Ядерная локализация большинства LIM-белков, их взаимодействия с известными белками — регуляторами транскрипции, кофакторами, LMO-белками свидетельствуют о важной роли LIM-доменов в

регуляции процессов транскрипции: эти повторы влияют на функции LIM-гомеодомен (LIM-HD) белков, на продолжительность и специфичность процессов транскрипции и активность белков, с которыми они взаимодействуют.

Содержащие LIM-повторы гены *Drosophila* известны как структурные и функциональные гомологи генов, кодирующих LIM-белки, важная роль которых высококонсервативна в эволюции позвоночных и беспозвоночных.

Уникальной особенностью LIM-доменов считается их способность участвовать в генетических взаимодействиях с факторами транскрипции, их кофакторами, с генами — компонентами разных сигнальных систем.

Мультибелковые комплексы, включающие LIM-белки, очевидно, являются основой формирования независимых регуляторных путей. Экспрессия различных LIM-HD белков — факторов транскрипции индуцирует и регулирует активность Notch сигнализации. LIM-HD белок Arterous вместе с его антагонистом — белком DLMO — активируют часть пути сигнальной трансдукции при дифференцировке клеток крыла у *D. melanogaster*. Содержащий три LIM-домена белок Prickle связан у дрозофилы с сигнальной системой, регулирующей характер тканевой полярности клеток крыла.

LIM-белки контролируют экспрессию ключевых факторов транскрипции, а также активность основных сигнальных систем и справедливо считаются «регуляторами регуляторов» [3] клеточных процессов. Исследования на дрозофиле вносят существенный вклад в развитие таких представлений.

Автор выражает благодарность проф. С.С. Малюте за доброжелательные дискуссии и поддержку, а также Р.П. Субботе и И.И. Силан за постоянную помощь в работе.

SUMMARY. Diverse sets of developmental programs including cytoskeleton organization, cell lineage specification, muscle and neuron differentiation, limb and eye formation, imaginal disk development are controlled by LIM-homeobox genes encoding LIM-homeodomain (LIM-HD) transcription factors. LIM-domains are known as adaptors and functional modifiers of the protein-protein interactions and of the specific contacts between the members of functional complexes mediating activation of some constitutive proteins. Primary structure of LIM-HD proteins is

remarkably evolutionary conserved in vertebrates and invertebrates. Though the genome size of *Drosophila* is about 5 % of the mammal genome the majority of its gene families and signaling pathways are similar to those of the mammals. There are some well known LIM-domain-containing proteins in *Drosophila*: Arrowhead, Apterous, Islet, dLim and Lim3 transcription factors; DLMO and Prickle proteins, as well as Chip, RLIM, Ssdp cofactors that modulate the LIM-HD function. *Drosophila* is a unique model system to analyze genetic interactions and transcription complexes in vivo. Genetic and molecular approaches including isolation of extragenic suppressors of mutations in LIM-HD proteins may be used for identification of target genes which interact directly with LIM-HD proteins and that are necessary for specification of cell identity.

РЕЗЮМЕ. Різноманітні програми розвитку, такі як формування цитоскелета, специфікація клітинних зачатків, диференціювання нервових і м'язових клітин, формування лімба і ока, а також розвиток імагінальних дисків, контролюються генами LIM-гомеобоксами, які кодують білки з LIM-доменами — фактори транскрипції. LIM-білки відомі як адапторні молекули і функціональні модифікатори різних білкових взаємодій: LIM-домени здатні взаємодіяти з численними іншими білками та здійснювати специфічні контакти між членами складних транскрипційних комплексів, сприяючи, таким чином, активації конститутивних білків. Консервативна структура LIM-білків зберігається в ході еволюції у хребетних і безхребетних. Хоча розміри геному *Drosophila* становлять у середньому приблизно 5 % геному ссавців, більшість виявлених на сьогодні родин генів і сигнальних шляхів вражає подібні у мух і ссавців. До числа добре вивчених дрозофільних гомологів LIM-білків хребетних належать Arrowhead, Apterous, Islet, dLim1 і Lim3 фактори транскрипції, білки DLMO і Prickle. Відомі також Chip, RLIM і Ssdp кофактори, які модифікують функції LIM-гомеодомен (LIM-HD) факторів транскрипції. *Drosophila* є унікальною модельною системою для аналізу характеру генетичних взаємодій in vivo і природи функціональних транскрипційних комплексів. Генетичні і молекулярні підходи необхідні для подальшого вивчення структурно-функціональної організації LIM-білків, пошуку екстрагенних супресорів мутацій в LIM-доменах та ідентифікації генів-мішеней, які безпосередньо взаємодіють з LIM-білками і беруть участь у специфікації клітинної ідентичності.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Curtiss J., Heilig J.S. DeLIMiting development // Bio Essays. — 1998. — 20. — P. 58—69.
2. Dawid I.B., Breen J.J., Toyama R. LIM domains: Multiple roles as adaptors and functional modifiers in

- protein interactions // Trends Genet. — 1998. — 14. — P. 156–162.
3. *Bach I.* The LIM domain: regulation by association // Mech. Develop. — 2000. — 91. — P. 5–17.
 4. *Michelsen J.W., Schmeichel K.-L., Beckerle M.C., Winge D.R.* The LIM motif defines a specific zinc-binding protein domain // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1993. — 90. — P. 4404–4408.
 5. *Archer V.E.V., Breton J., Sanchez-Garcia I., Osada H., Foster A., Thomson A.J., Rabbits T.H.* Cystein-rich LIM domains of LIM-homeodomain and LIM-only proteins contain zinc but not iron // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1994. — 91. — P. 316–320.
 6. *Freyd G., Kim S.K., Horvitz H.R.* Novel cystein-rich motif and homeodomain in the product of *Caenorhabditis elegans* cell lineage gene *lin-11* // Nature. — 1990. — 344. — P. 876–879.
 7. *Karlsson O., Thor S., Norberg T., Ohlsson H., Edlung T.* Insulin gene enhancer binding protein *isl-1* is a member of a novel class of proteins containing both a homeo- and Cys-His domain // Nature. — 1990. — 344. — P. 879–882.
 8. *Way J.C., Chalfie M.* *mec-3*, a homeobox-containing gene that specifies differentiation of the touch receptor neurons in *C. elegans* // Cell. — 1988. — 54. — P. 5–16.
 9. *Hobert O., Westphal H.* Functions of LIM-homeobox genes // Trends Genet. — 2000. — 16. — P. 75–83.
 10. *Sanchez-Garcia I., Rabbits T.H.* The LIM-domain: a new structural motif found in zinc-finger-like proteins // Trends Genet. — 1994. — 10. — P. 315–320.
 11. *Perez-Alvarado G.C., Kosa J.L., Louis H.A., Beckerle M.C., Winge D.R., Summers M.F.* Structure of the cysteine-rich intestinal protein, CRIP // J. Mol. Biol. — 1996. — 257. — P. 153–174.
 12. *Arber S., Caroni P.* Specificity of single LIM motifs in targeting and LIM/LIM interactions in situ // Genes Develop. — 1996. — 10. — P. 289–300.
 13. *Wadman J.A., Osada H., Grutz G.G., Agulnick A.D., Westphal H., Forster A., Rabbits T.H.* The LIM-only protein *Lmo2* is a binding molecule assembling an erythroid DNA-binding complex which includes the *Tal1*, *E47*, *GAGA-1* and *Lab1/NLI* proteins // EMBO J. — 1997. — 16. — P. 3145–3157.
 14. *Wu R.Y., Gill G.N.* LIM domain recognition of tyrosine containing tight turn // J. Biol. Chem. — 1994. — 269. — P. 25085–25090.
 15. *Rabbits T.H.* Chromosomal translocations in human cancer // Nature. — 1994. — 372. — P. 143–149.
 16. *Rabbits T.H.* LMO T-cell translocation oncogenes typify genes activated by chromosomal translocations that alter transcription and developmental processes // Genes Develop. — 1998. — 12. — P. 2651–2657.
 17. *Visvader J.F., Mao X., Fujiwara Y., Hahm K., Orkin S.H.* The LIM domain binding protein *Ldb-1* and its partner *LMO2* act as negative regulators of erythroid differentiation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — 94. — P. 13707–13712.
 18. *Warren A.J., Colledge W.H., Carlton M.B., Evans M.J., Smith A.J., Rabbits T.H.* The oncogenic cystein-rich LIM domain protein *rbtn2* is essential for erythroid development // Cell. — 1994. — 78. — P. 45–57.
 19. *Yamada Y., Warren A.W., Dobson C., Foster A., Pannell R., Rabbitt T.H.* The T-cell leukemia LIM protein *LMO2* is necessary for adult mouse hematopoiesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1998. — 95. — P. 3890–3895.
 20. *Sugihara T.M., Bach I., Kioussi C., Rosenfeld M.G., Andersen B.* Mouse *DEAF-1* recruits a novel LIM domain factor, *LMO-4* and *CLIM* co-regulators // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1998. — 95. — P. 15418–15423.
 21. *Arber S., Hunter J.J., Ross J., Hongo M., Sansig G., Borg J., Perriard J.S., Chien K.R., Caroni P.* MLP deficient mice exhibit a disruption of cardiac cytoarchitectural organization dilated cardiomyopathy and heart failure // Cell. — 1997. — 88. — P. 393–403.
 22. *Stronach B.E., Renfranz P.J., Lilly B., Beckerle M.C.* Muscle LIM proteins are associated with muscle sarcomeres and require *dMEF2* for their expression during *Drosophila* myogenesis // Mol. Biol. Cell. — 1999. — 10. — P. 2329–2342.
 23. *Gubb D., Green C., Huen D., Coulson D., Johnson G., Tree D., Roote J.* The balance between isoforms of the Pricle LIM domain protein is critical for planar polarity in *Drosophila* imaginal disks // Genes Develop. — 1999. — 13. — P. 2315–2327.
 24. *Agulnick A.D., Taira M., Breen J.J., Tanaka T., Dawid I.B.* Interactions of the LIM domain binding factor *Ldb1* with LIM homeodomain proteins // Nature. — 1996. — 384. — P. 270–272.
 25. *Jurata L.W., Gill G.N.* Functional analysis of the nuclear LIM domain interactor *NLI* // Mol. Cell. Biol. — 1997. — 17. — P. 5688–5698.
 26. *Moreillo P., Rosen C., Baylies M.K., Dorsett D.* Chip, a widely expressed chromosomal protein required for segmentation and activity of a remote wing margin enhancer in *Drosophila* // Genes Develop. — 1997. — 11. — P. 2729–2740.
 27. *Milan M., Cohen S.M.* Regulation of LIM homeodomain activity in vivo: A tetramer of *dLDB* and *Apterous* confers activity and capacity for regulation by *dLMO* // Mol. Cell. — 1999. — 4. — P. 267–273.
 28. *Meyel D.J. van, O'Keefe D.D., Thor S., Jurata L.W., Gill G.N., Thomas J.B.* Chip is an essential cofactor for *apterous* in the regulation of axon guidance in *Drosophila* // Development. — 2000. — 127. — P. 1823–1831.
 29. *Jurata L.W., Pffaf S.L., Gill G.M.* The nuclear LIM domain interactor *NLI* mediates homo- and heterodi-

- merization of LIM domain transcription factors // *J. Biol. Chem.* — 1998. — **273**. — P. 3152–3157.
30. *Weihe U., Milan M., Cohen S.M.* Regulation of Apterous activity in *Drosophila* wing development // *Development*. — 2002. — **128**. — P. 4615–4622.
 31. *Meyel D.J. van, O'Keefe D.D., Jurata L.W., Thor S., Gill G.N., Thomas J.B.* Chip and Apterous physically interact to form a functional complex during *Drosophila* development // *Mol. Cell.* — 1999. — **4**. — P. 259–265.
 32. *Bach I., Rodriguez-Esteban C., Carriere C., Bhushan A., Kronen A., Glass C. K., Andersen B., Izpisua-Belmonte J.C., Rosenfeld M.G.* R-LIM inhibits functional activity of LIM homeodomain transcription factors via recruitment of the histone deacetylase complex // *Nat. Genet.* — 1999. — **22**. — P. 394–399.
 33. *Ostendorff H., Pelrano R., Peters M.A., Schluter A., Bossenz M., Scheffner M., Bach I.* Ubiquitination-dependent cofactor exchange on LIM homeodomain transcription factors // *Nature*. — 2002. — **416**. — P. 99–103.
 34. *Matthews K.A., Kaufman T., Gelbart W.M.* Research resources for *Drosophila*: The expanding universe // *Nat. Revs Genet.* — 2005. — **6**. — P. 179–193.
 35. *Bier E.* *Drosophila*, the golden bug emerges as a tool for human genetics // *Nat. Revs Genet.* — 2005. — **6**. — P. 9–23.
 36. *Curtiss J., Heilig J.S.* Establishment of *Drosophila* imaginal precursor cells is controlled by *Arrowhead* gene // *Development*. — 1995. — **121**. — P. 3819–3828.
 37. *Curtiss J., Heilig J.S.* *Arrowhead* encodes a LIM homeodomain protein that distinguishes subsets of *Drosophila* imaginal cells // *Develop. Biol.* — 1997. — **190**. — P. 129–141.
 38. *Lilly B., O'Keefe D.D., Thomas J.B., Botas J.* The LIM homeodomain protein dLim1 defines a subclass neurons within the embryonic ventral nerve cord of *Drosophila* // *Mech. Develop.* — 1999. — **88**. — P. 195–205.
 39. *Pueyo J.I., Galindo M.I., Bishop S.A., Couso J.P.* Proximal-distal leg development in *Drosophila* requires the *apterous* gene and the *Lim1* homologue *dlim1* // *Development*. — 2000. — **127**. — P. 5391–5402.
 40. *Fernandez-Funez P., Lu C.H., Rincon-Limas D.E., Garcia-Bellido A., Botas J.* The relative expression amounts of *apterous* and its co-factor *dLdb/Chip* are critical for dorso-ventral compartmentalization in the *Drosophila* wing // *EMBO J.* — 1998. — **17**. — P. 6846–6853.
 41. *Campbell G., Tomlinson A.* The roles of the homeobox genes *aristaless* and *Distal-less* in the patterning the legs and wing of *Drosophila* // *Development*. — 1998. — **125**. — P. 4483–4493.
 42. *Kojima T., Sato M., Saigo K.* Formation and specification of distal leg segments in *Drosophila* by dual Bar homeobox genes, BarH1 and BarH2 // *Development*. — 2000. — **127**. — P. 769–778.
 43. *Tsuchida T., Ensini M., Morton S.B., Baldassare M., Edlund T., Jessell T.M., Pfaff S.L.* Topographic organization of embryonic motor neurons defined by expression of LIM homeobox genes // *Cell*. — 1994. — **79**. — P. 957–970.
 44. *Thaler J.P., Lee S.K., Jurata L.W., Gill G.N., Pfaff S.L.* LIM factor Lhx3 contributes to the specification of motor neuron and interneuron identity through cell-type specific protein-protein interactions // *Cell*. — 2002. — **110**. — P. 237–249.
 45. *Thor S., Thomas J.B.* The *Drosophila islet* gene governs axon pathfinding and neurotransmitter identity // *Neuron*. — 1997. — **18**. — P. 397–409.
 46. *Xu Y., Baldassare M., Fisher P., Rathbun G., Oltz E.M., Yancopoulos G.D., Jessell T.M., Alt F.W.* LH2: a LIM-homeodomain gene expressed in developing lymphocytes and neural cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1993. — **90**. — P. 227–231.
 47. *Wright T.R.F.* The genetics of embryogenesis in *Drosophila* // *Adv. Genet.* — 1970. — **15**. — P. 262–395.
 48. *Lindsley D.L., Zimm G.G.* The genome of *Drosophila melanogaster*. — New York; San Diego : Acad. Press, 1992.
 49. *Pfaff S., Mendelsohn M., Stewart C., Edlung T., Jessell T.* Requirement of LIM homeobox gene *Isl1* in motor neuron generation reveals a motor neuron-dependent step in interneuron differentiation // *Cell*. — 1996. — **84**. — P. 309–320.
 50. *Thor S., Andersson S.G.E., Tomlinson A., Thomas J.B.* A LIM-homeodomain combinatorial code for motor-neuron pathway selection // *Nature*. — 1999. — **397**. — P. 76–80.
 51. *Lundgren S.E., Callahan C.A., Thor S., Thomas J.B.* Control of neuronal pathway selection by the *Drosophila* LIM homeodomain gene *apterous* // *Development*. — 1995. — **121**. — P. 1769–1773.
 52. *Sharma K.L., Sheng H.Z., Lettieri K., Li H., Karavanov A., Potter S., Westphal H., Pfaff S.L.* LIM homeodomain factors Lhx3 and Lhx4 assign subtype identities for motor neurons // *Cell*. — 1998. — **95**. — P. 817–828.
 53. *Gill G.N.* Decoding of LIM development code // *Trans Amer. Clin. Climatol. Assoc.* — 2003. — **114**. — P. 179–189.
 54. *Cohen B., McGuttin M.E., Pfluge C., Segal D., Cohen S.M.* *apterous*: a gene required for imaginal disc development in *Drosophila* encodes a member of LIM family of developmental regulatory proteins // *Genes Develop.* — 1992. — **6**. — P. 715–729.
 55. *Milan M., Cohen S.* Temporal regulation of Apterous activity during development of *Drosophila* wing // *Development*. — 2000. — **127**. — P. 3069–3078.
 56. *Rodriguez-Esteban C., Schwabe J.W., Pena J.D., Rincon-Limas D.E., Magalton J., Botas J., Izpisua-Belmonte J.S.* Lhx2, a vertebrate homologue of *apterous*, regu-

- lates vertebrate limb outgrowth // *Development*. — 1998. — **125**. — P. 3925–3934.
57. *Curtiss J., Halder G., Mlodzik M.* Selector and signaling molecules cooperate in organ patterning // *Nat. Cell Biol.* — 2002. — **4**. — P. E48–E51.
 58. *O'Keefe T., Thomas J.B.* Drosophila wing development in the absence of dorsal identity // *Development*. — 2001. — **128**. — P. 703–710.
 59. *Bourgouin C., Lundgren S.E., Thomas J.B.* *apterous* is a Drosophila LIM domain gene required for the development of a subset of embryonic muscles // *Neuron*. — 1992. — **9**. — P. 549–561.
 60. *Ghazi A., Anant S., Vijay Raghavan K.* Apterous mediates development of direct flight muscles autonomously and indirect flight muscles through epidermal cues // *Development*. — 2000. — **127**. — P. 5309–5318.
 61. *Altartaz M., Appelbaum S.W., Richard D.S., Gilbert L.I., Segal D.* Regulation of juvenile hormone synthesis in wild-type and *apterous* mutant Drosophila // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 1991. — **81**. — P. 205–216.
 62. *Ringo J., Werczberger R., Altartaz M., Segal D.* Female sexual receptivity and juvenile hormone synthesis are defective in mutants of the *apterous* gene in Drosophila melanogaster // *Behav. Genet.* — 1991. — **21**. — P. 453–469.
 63. *Blair S.S., Brower D.L., Thomas J.B., Zavortink M.* The role of *apterous* in the control of the dorsoventral compartmentalization and PS integrin gene expression in the developing wing of Drosophila // *Development*. — 1994. — **120**. — P. 1805–1815.
 64. *Benveniste R.J. et al.* Cell type specific regulation of the Drosophila FMRF-NH2 neuropeptide gene by Apterous, a LIM homeodomain transcription factor // *Development*. — 1998. — **125**. — P. 4757–4765.
 65. *Milan M., Weihe U., Tiong S., Bender W., Cohen S.M.* *msh* specifies dorsal cell fate in the Drosophila wing // *Development*. — 2001. — **128**. — P. 3263–3268.
 66. *Diaz-Benjumea F.J., Cohen S.M.* Serrate signals through Notch to establish a Wingless-dependent organizer at the dorsal/ventral compartment boundary of the Drosophila wing // *Development*. — 1995. — **121**. — P. 4215–4225.
 67. *Kim J., Irvine K.D., Carrol S.B.* Cell recognition signal induction, and symmetrical gene activation at the dorsal-ventral boundary of the developing Drosophila wing // *Cell*. — 1995. — **82**. — P. 795–802.
 68. *Milan M., Cohen S.M.* A re-evaluation of the contribution of Apterous and Notch to the dorsoventral lineage restriction boundary in the Drosophila wing // *Development*. — 2003. — **130**. — P. 553–562.
 69. *De Celis J.F., Bray S.* The Abruptex domain of Notch regulates negative interactions between Notch, its ligands and Fringe // *Development*. — 2000. — **127**. — P. 1291–1302.
 70. *Yan S.-J., Gu Y., Li W.X., Fleming R.J.* Multiple signaling pathways and a selector protein sequentially regulate Drosophila wing development // *Development*. — 2004. — **131**. — P. 285–298.
 71. *O'Keefe D.D., Thor S., Thomas J.B.* Function and specificity of LIM domains in Drosophila nervous system and wing development // *Development*. — 1998. — **125**. — P. 3915–3923.
 72. *Rincon-Limas D.E., Lu C.H., Canal I., Calleja M., Rodriguez-Esteban C., Izpisua-Belmonte J.C., Botas J.* Conservation of the expression and function of *apterous* orthologs in Drosophila and mammals // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1999. — **96**. — P. 2165–2170.
 73. *Rincon-Limas D.E., Lu C.H., Canal I., Botas J.* The level DLDB/CHIP controls the activity of the LIM homeodomain protein *apterous*: evidence for functional tetramer complex in vivo // *EMBO J.* — 2000. — **19**. — P. 2602–2614.
 74. *Chen L., Segal D., Hukriede N., Podtelejnikov A., Bayarsaihan D., Kennison J. A., Ogryzko V., Dawid I., Westphal H.* Ssdp proteins interact with the LIM-domain-binding protein Ldb-1 to regulate development // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 2002. — **99**. — P. 14320–14325.
 75. *Meyel D.J. van, Thomas J.B., Agulnick A.D.* Ssdp proteins bind to LIM-interacting co-factors and regulate the activity of LIM-homeodomain protein complexes in vivo // *Development*. — 2003. — **130**. — P. 1915–1925.
 76. *Franks R.G., Wang C., Levin J.Z., Liu Z.* SEUSS, a member of a novel family of plant regulatory proteins represses floral homeotic gene expression with LEUNIG // *Development*. — 2002. — **129**. — P. 253–263.
 77. *Gubb D., Garcia-Bellido A.* A genetic analysis of the determination of cuticular polarity during development in *Drosophila melanogaster* // *J. Embryol. Exp. Morphol.* — 1982. — **68**. — P. 37–57.
 78. *Adler P.N.* The genetic control of tissue polarity in Drosophila // *BioEssays*. — 1992. — **14**. — P. 735–741.
 79. *Krasnow R.E., Adler P.* A single Frizzled protein has a dual function in tissue polarity // *Development*. — 1994. — **120**. — P. 1883–1893.
 80. *Shulman J.M., Perrimon N., Axelrod J.D.* Frizzled signaling and the developmental control of cell polarity // *Trends Genet.* — 1998. — **14**. — P. 452–458.
 81. *Adler P.N., Taylor J., Charlton J.* The domineering non autonomy of frizzled and VanGogh clones in the Drosophila wing is a consequence of disruption in local signaling // *Mechan. Develop.* — 2000. — **96**. — P. 197–207.
 82. *Divecha N., Charleston B.* Cloning and characterization of two new cDNA encoding murine triple LIM domains // *Gene*. — 1995. — **156**. — P. 283–286.
 83. *Zhu T.H., Bodem J., Keppel E., Paro R., Royer-Pokora B.* A single ancestral gene of human LIM domain on-

- cogene family LMO in *Drosophila*: characterization of the *Dlmo* gene // *Oncogene*. — 1995. — **11**. — P. 1283—1290.
84. Shores M., Orgad S., Shmueli O., Werczberger R., Gelbaum D., Abiri Sh., Segal D. Overexpression *Beadex* mutations and loss of function held up-mutations in *Drosophila* affect the 3' regulatory and coding components, respectively, of the *Dlmo* gene // *Genetics*. — 1998. — **150**. — P. 283—299.
85. Zeng C., Justice N. J., Abdelilah S., Chan Y.M., Jan L.Y., Jan Y.N. The *Drosophila* LIM-only gene *dLMO*, is mutated in *Beadex* alleles and might represent an evolutionarily conserved function in appendage development // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1998. — **95**. — P. 10637—10642.
86. Milan M., Diaz-Benjumea F.J., Cohen S.M. *Beadex* encodes an LMO protein that regulates Apterous LIM homeodomain activity in *Drosophila* wing development // *Genes Develop.* — 1998. — **12**. — P. 2912—2920.
87. Mattox W.W., Davidson N. Isolation and characterization of *Beadex* locus of *Drosophila melanogaster*: a putative cis-acting negative regulatory element for the *held up* gene // *Mol. Cell Biol.* — 1984. — **4**. — P. 1343—1353.
88. Lifschytz E., Green M.M. Genetic identification of dominant overproducing mutations: the *Beadex* gene // *Mol. Gen. Genet.* — 1979. — **171**. — P. 153—159.
89. Green M.M. The *Beadex* locus in *Drosophila melanogaster*: on the nature of the mutants *Bx'* and *Bx¹* // *Genetics*. — 1953. — **38**. — P. 91—105.
90. Lai E.C., Posakony J.W. The *Bearded* box, a novel 3' UTR sequence motif mediates negative post transcriptional regulation of *Bearded* and Enhancer of *Split* gene expression // *Development*. — 1997. — **124**. — P. 4847—4856.
91. Boehm T., Baer R., Lavenir I., Foster A. et al. The mechanism of chromosomal translocation t(11; 14) involving T-cell receptor C delta locus on human chromosome 14q11 and transcribed region of chromosome 11p15 // *EMBO J.* — 1988. — **7**. — P. 385—394.
92. Boehm T., Foroni L., Kaneko Y., Perutz M.F., Rabbits T.H. The rhombotin family of cysteine-rich LIM domain oncogenes: Distinct members are involved in T-cell translocations to human chromosomes 11p15 and 11p13 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1991. — **88**. — P. 4367—4371.
93. Royer-Pokora B., Loos U., Ludwig W.D. TTG-2, a new gene encoding a cysteine-rich protein with the LIM motif is overexpressed in acute T-cell leukaemia with the t(11;14) (p13;q11) // *Oncogene*. — 1991. — **6**. — P. 1887—1893.
94. Larson R.C., Fisch P., Larson T.A., Lavenir I., Langford et al. T-cell tumors disparate phenotype in mice transgenic for RBTN-2 // *Oncogene*. — 1994. — **9**. — P. 3675—3681.
95. Larson R.C., Lavenir I., Larson T.A., Baer R., Warren A.J., Wadman I., Nottage K., Rabbitt T.H. Protein dimerization between LMO2 (RBTN2) and Tal1 alters thymocyte development and potentiates T cell tumorigenesis in transgenic mice // *EMBO J.* — 1996. — **15**. — P. 1021—1027.
96. Osada H., Grutz G., Alexon H., Forster A., Rabbits T.H. Association of erythroid transcription factors: complexes involving the LIM protein RBTN2 and the zinc-finger protein GATA-1 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1995. — **92**. — P. 9585—9589.
97. Wadman I.S., Osada H., Grutz G.G., Agulnick A.D. et al. The LIM-only protein LMO-2 is a bridging molecule assembling an erythroid DNA-binding complex which includes the Tal1, E47, GATA, and Ldb1/NLI proteins // *EMBO J.* — 1997. — **16**. — P. 3145—3157.
98. Grutz G., Foster A., Rabbits T.H. Identification of the LMO4 gene encoding partner of the LIM-binding protein LDB1/NLI: a candidate for displacement by LMO proteins in T-cell acute leukaemia // *Oncogene*. — 1998. — **17**. — P. 2799—2803.
99. Valge-Archer W., Foster A., Rabbitt T.H. The LMO-1 and LDB-2 proteins interact in human T-cell acute leukaemia with the chromosomal translocation t(11;14) (p15; q11) // *Oncogene*. — 1998. — **17**. — P. 3199—3202.

Поступила 30.11.05