

ОСОБЕННОСТИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У *DROSOPHILA MELANOGASTER*: РОЛЬ ОСНОВНОГО ТРАНСПОРТНОГО РЕЦЕПТОРА мРНК (Dm NXF1)

© А. А. Ацапкина, Е. В. Голубкова, В. В. Касаткина, Э. О. Аванесян,
Н. А. Иванкова, Л. А. Мамон

Кафедра генетики и селекции С.-Петербургского государственного университета;
электронный адрес: gelena@EG10217.spb.edu

Для сперматогенеза и у модельного объекта *Drosophila melanogaster*, и у млекопитающих, включая человека, характерна специфичность регуляции экспрессии генов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях, что проявляется в существовании семенниково-специфичных транспортных рецепторов мРНК — NXF (nuclear export factor). Используя антитела к С-терминальной части белка Dm NXF1 (SBR), показали, что на всех стадиях сперматогенеза данный белок представлен в существенном количестве. На всех стадиях сперматогенеза нами показана цитоплазматическая локализация белка Dm NXF1. Данный белок локализуется в ядре или в составе ядерной оболочки на стадии округлых сперматид. В период элонгации сперматид белок Dm NXF1 локализован полярно, располагаясь только вдоль одной стороны вытянутого ядра сперматиды, а на стадии индивидуализации сперматид — в виде крупных цитоплазматических гранул перемещается в хвост сперматозоида.

Ключевые слова: транспорт мРНК, сперматогенез, *Drosophila*, NXF.

Принятые сокращения: мРНК — матричная или информационная рибонуклеиновая кислота, РНП — рибонуклеопротеиновый комплекс, NXF (nuclear export factor) — фактор ядерного экспорта мРНК.

Процессы, протекающие в сперматогенезе, характеризуются эволюционной консервативностью и сходны у разных животных (Guraya, 1987; Fuller, 1993). Во время сперматогенеза мужские зародышевые клетки подвергаются дифференцировке и быстрой поляризации, что требует транспорта и определенной локализации белков, мРНК и органоидов. Известно, например, что в мужских зародышевых клетках мыши белок ТВ-RBP (Testis brain RNA-binding protein), или транслин, транспортирует определенные мРНК в составе рибонуклеопротеиновых комплексов (Han et al., 1995; Morales et al., 2002). В частности, это относится к мРНК генов X-хромосомы, которые экспрессируются исключительно в мужских постмейотических зародышевых клетках и характеризуются отсроченной трансляцией (Morales et al., 2002). Гаплоидные сперматиды связаны межклеточными мостиками и образуют синцитий, что обеспечивает одинаковые условия для клеток, содержащих разный набор хромосом. Можно сказать, что генетически гаплоидные сперматиды являются фенотипически диплоидными (Braun et al., 1989; Fuller, 1993; Morales et al., 1998). Другой классический пример — мРНК протаминов, которые синтезируются на стадии округлых сперматид, транспортируются и хранятся в цитоплазме в составе мРНК несколько суток до начала трансляции на стадии удлинённых сперматид (Balhorn et al., 1984; Kleene et al., 1984; Giorgini et al., 2001).

Одной из особенностей сперматогенеза является то, что существуют гены, которые не экспрессируются ни в

каких тканях, кроме семенников. К генам, специфичным для сперматогенеза, относятся сцепленные с Y-хромосомой факторы мужской фертильности, а также некоторые гены, локализованные в X-хромосоме и аутосомах (Wakimoto et al., 2004). Кроме того, для многих генов показано наличие семенниково-специфичных паралога (Mikhaýlova et al., 2008), а в некоторых случаях (HPRK3 и др.) семенниково-специфичные продукты формируются в результате альтернативного сплайсинга (Elliot, Grellscheid, 2006).

Ген *small bristles* (*sbr*) принадлежит к эволюционно консервативному семейству генов *nx*f (nuclear export factor) и поэтому получил у *Drosophila melanogaster* еще одно название — *Dm nx*f1 (Herold et al., 2000, 2001; Третьякова и др., 2001; Wilkie et al., 2001). Ортологи гена *Dm nx*f1 у нематоды (*Ce nx*f1), мыши (*Mm nx*f1) и человека (*Hs nx*f1) кодируют главные транспортные рецепторы мРНК и экспрессируются во всех тканях (Tan et al., 2000; Herold et al., 2001; Sasaki et al., 2005). Для млекопитающих известно, что гены-паралоги *nx*f1 проявляют тканеспецифичный характер экспрессии, что, как полагают, может быть связано со специализацией их функции в отношении особых мРНК (Herold et al., 2001; Jun et al., 2001; Yang et al., 2001; Sasaki et al., 2005). Существование паралогичных генов семейства *nx*f у млекопитающих, экспрессия которых специфична для семенников и мозга, с характерной цитоплазматической локализацией продуктов этих генов сформировало представление о том, что факторы NXF связаны с временно не транслируемыми

мРНК (Herold et al., 2000, 2001; Jun et al., 2001; Yang et al., 2001; Sasaki et al., 2005; Tan et al., 2005; Tretyakova et al., 2005; Lai et al., 2006; Takano et al., 2007; Katahira et al., 2008).

Материал и методика

Нозерн-блот-гибридизация. Электрофорез тотальной РНК проводили в 1.5—2%-ном формальдегид-агарозном геле (4—6 мкг РНК на дорожку). Фракционированную в геле РНК переносили на нейлоновую мембрану Hybond-N+ (Amersham, Англия) в условиях вакуума, используя блоттер VacuGene XL (Amersham, Англия) при 70 мбар. РНК дополнительно фиксировали, облучая УФ (UV cross-linking) при 312 нм в течение 1 мин. В качестве зонда использовали кДНК гена *sbr* (GenBank/EBI/Accession no. AJ318090.1. — AJ). Фрагмент кДНК, соответствующий последовательности со 137-й по 672-ю аминокислоты в белке SBR, был встроен в вектор pGEX5X-3 по сайтам рестрикции EcoRI и NotI и служил в качестве матрицы для получения меченых проб. Для мечения зондов использовали Random Primed DNA Labeling Kit (Amersham, Англия) и [α - 32 P]ATP. Гибридизацию проводили в гибридизационной печи (Rock 'N' Roll™, Boeckel) при 68 °C в течение 8—12 ч в растворе следующего состава: 2×—0.1× SSC, 0.1—1 % SDS. Для удаления метки, связанной неспецифически, после гибридизации мембрану промывали при жестких условиях: 0.1× SSC, 0.1 % SDS при 68 °C, 3 раза в течение 30 мин. Затем мембрану экспонировали, используя рентгеновскую пленку (Kodak BIO MAX, Англия) и усиливающий экран, при −70 °C в течение 24—48 ч.

В качестве стандартов молекулярных масс использовали РНК-маркеры G3191 (Sigma, США).

Иммуноцитологический анализ локализации белка Dm NXF1. Семенники выделяли из 3—5-суточных самцов *D. melanogaster* стандартной лабораторной линии дикого типа Oregon-R. Препарировали семенники в физиологическом растворе (testis buffer: 183 mM KCl, 47 mM NaCl и 10 mM Tris-HCl, pH 6.8), тщательно удаляя семенные пузырьки, придаточные железы, семяизвергательный канал и другие составляющие половой системы самца. Фиксировали ткань в 4%-ном параформальдегиде в течение 7 мин. Отмывали в растворе PBST (0.1 % Tween-20 в фосфатном буфере PBS (phosphate buffered saline (Ashburner, 1989))). В качестве блокирующего реагента использовали 3%-ный бычий сывороточный альбумин (БСА) в PBST. Инкубацию с первичными антителами (1 : 400 в PBST + БСА), полученными у мышей, проводили в течение ночи при 4 °C. Отмывки от первичных антител осуществляли в растворе PBST. Инкубацию со вторичными антителами (к иммуноглобулинам мыши) проводили в растворе PBST + БСА в течение 1 ч при 37 °C. В качестве вторичных антител использовали антитела производства фирмы Invitrogen (США), меченные флуорохромами Alexa Fluor 488 и Alexa Fluor 546. После отмывки от вторичных антител в PBST семенники инкубировали с DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) (1 мкг/мл в PBST) в течение 10 мин, отмывали 1 раз в PBS и заключали под покровное стекло в среду Vectashield (США). Анализ препаратов проводили на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 в ЦКП «Хромас» (Центр исследования ультраструктуры и молекулярного состава биологических объектов при биологическом факультете СПбГУ).

Результаты и обсуждение

Нами показано наличие специфичного для семенников транскрипта (рис. 1) и транскрипта, специфичного для нервной ткани (Иванкова и др., 2009). Несмотря на эволюционную консервативность генов *nxfl*, имеющих ортологи у различных организмов, включая человека, транскрипты генов *Mm nxfl* и *Hs nxfl*, специфичные для семенников у млекопитающих, не описаны. Возможно, у млекопитающих функцию, важную для сперматогенеза, взяли на себя гены-паралоги (*Mm nxfl2* и *Hs nxfl2*, *Mm nxfl3* и *Hs nxfl3*), проявляющие семенниково-специфичный характер экспрессии (Herold et al., 2000, 2001; Yang et al., 2001; Sasaki et al., 2005; Wang, Pan, 2007). Существование у *D. melanogaster* семенниково-специфичного продукта гена *Dm nxfl* может отражать начальный этап специализации транспортных рецепторов семейства NXF.

В ходе исследования участия белка Dm NXF1 (SBR) в сперматогенезе дрозофилы мы провели иммуноцитологический анализ локализации белка Dm NXF1 (SBR) на различных стадиях сперматогенеза. Для этого мы использовали антитела к фрагменту белка Dm NXF1, полученные нами. В первую очередь мы показали, что локализация белка изменяется в зависимости от стадии сперматогенеза. На ранних стадиях сперматогенеза в митотически делящихся клетках белок Dm NXF1 присутствует в виде отдельных гранул, локализованных в районе ядра. В значительном

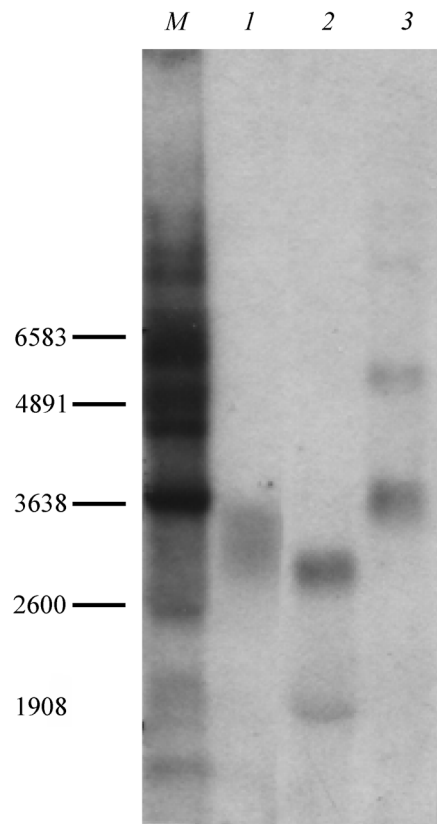


Рис. 1. Транскрипты гена *Dm nxfl (sbr)* *Drosophila melanogaster*, выявляемые в различных органах имаго и нервных ганглиях личинок методом Нозерн-блот-гибридизации с зондом AJ.

M — маркер молекулярной массы с указанием размера в нуклеотидах; 1 — РНК из яичников взрослых самок, 2 — РНК из семенников взрослых самцов, 3 — РНК из нервных ганглиев личинок третьего возраста.

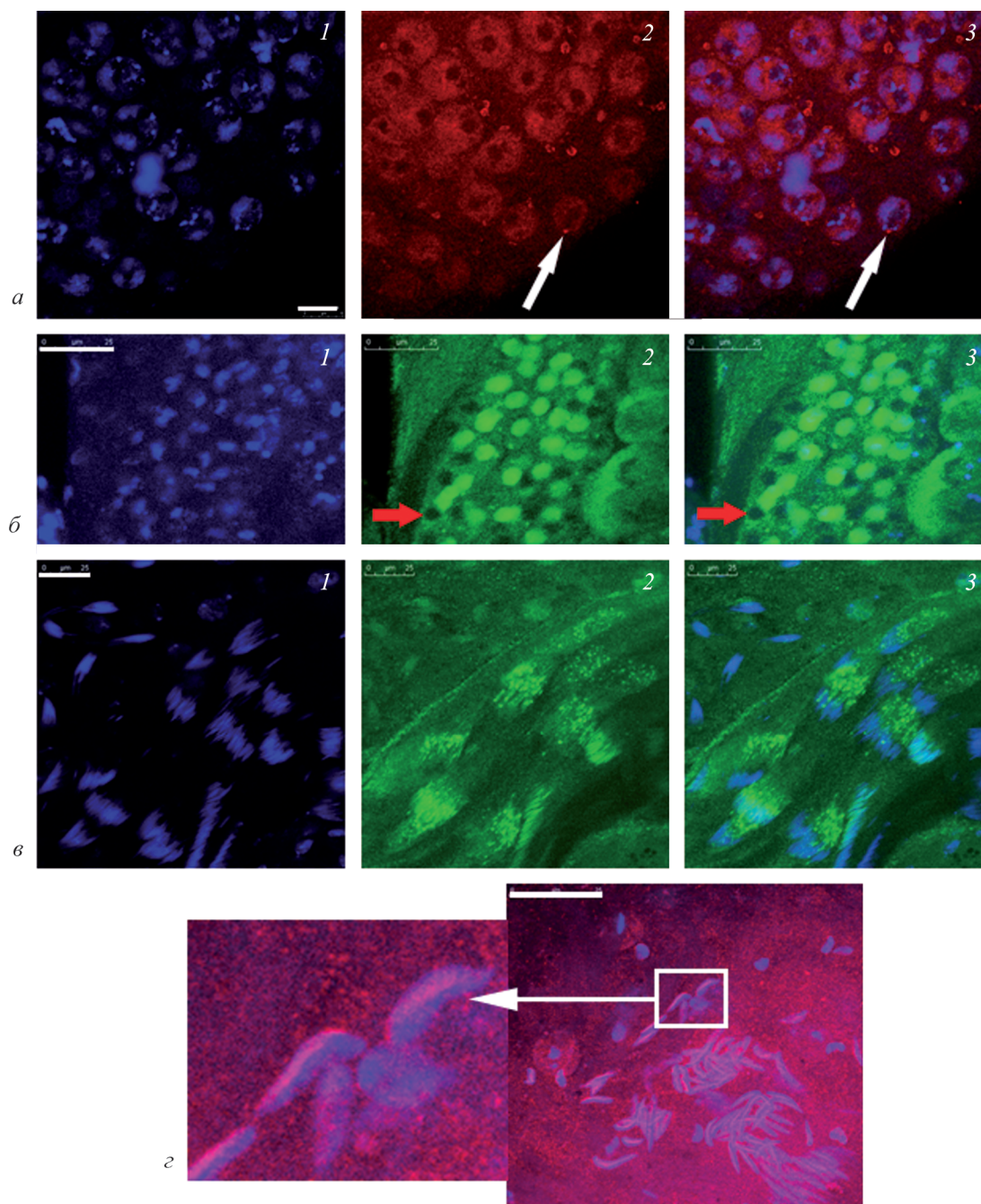


Рис. 2. Локализация белка Dm Nxf1(SBR) с использованием антител на различных стадиях сперматогенеза *Drosophila melanogaster*.

а — локализация белка на стадии первичных сперматоцитов (масштаб 10 мкм). Белок SBR детектируется как в ядре, так и в цитоплазме сперматоцита в виде гранул. Хромосомы деконденсированы и представлены тремя дискретными регионами в каждом ядре. Стрелкой отмечена гранула, локализованная на поверхности ядерной оболочки. *б* — сперматиды на стадии луковичи (масштаб 25 мкм). На стадии луковичи увеличивается концентрация белка в составе ядерной оболочки, неокрашенные структуры (стрелки) представляют собой Небенкерн. *в* — заключительная стадия элонгации сперматид, перед индивидуализацией (масштаб 25 мкм). Белок SBR покидает конденсированные ядра и в составе больших гранул перемещается в формирующиеся хвосты сперматозоидов. *г* — сперматиды на стадии каноз — первый этап элонгации (масштаб 25 мкм). На данной стадии белок SBR перемещается на одну сторону формирующейся головки спермия. На рисунке представлены участок семенника, содержащий сперматиды на стадии каноз, и увеличенное изображение нескольких удлиняющихся головок будущих спермиев (вынесено). Красный цвет — вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 546; синий — DAPI. *а*: 1 — окраска DAPI; 2 — вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 546; 3 — совмещение двух окрасок. *б*, *в*: 1 — окраска DAPI; 2 — вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 488; 3 — совмещение двух окрасок.

количестве белок Dm NXF1 можно видеть на стадии первичных сперматоцитов; он присутствует как в ядре, так и в цитоплазме в виде гранул (рис. 2, *а*). Первичные сперматоциты появляются в результате четырех последовательных делений митоза, которые приводят к формированию 16-клеточной цисты, все клетки которой разви-

ваются синхронно и связаны цитоплазматическими мостиками, образуя синцитий (Fuller, 1993). Синцитиальное развитие — характерная особенность формирования мужских половых клеток у разных животных (Burgos, Fawcett, 1955; Fawcett, 1961; King, Akai, 1971; Rasmussen, 1973). Поддержание межклеточных связей в пределах ци-

сты важно для синхронизации процессов, протекающих при дифференциации сперматозоидов (Fawcett, 1961), и обеспечения равных условий для гаплоидных половых клеток, содержащих разные половые хромосомы (Braun et al., 1989; Caldwell, Handel, 1991). Эти связи сохраняются до момента индивидуализации сперматид (Fuller, 1993).

Отличительной особенностью сперматогенеза многих животных является то, что транскрипция генов идет не только в интерфазных диплоидных, но и в мейотических и гаплоидных клетках (Kleene, 2001, 2003). При этом синтезируются различные мРНК, трансляция которых происходит не сразу после транскрипции. В течение нескольких суток транскрипты могут сохраняться в состоянии, недоступном для трансляции, которая происходит в период спермиогенеза (Kleene, 1996, 2003; Steger, 1999; Kotaja et al., 2006). Спермиогенез — это процесс превращения сперматид в зрелые сперматозоиды, характеризующийся формированием сложных морфологических структур, которые наделяют сперматозоид функциями одноклеточного организма, способного улавливать сигналы из окружающей среды и направленно перемещаться, конкурируя с другими сперматозоидами в активном поиске яйцеклетки. В период спермиогенеза активируется трансляция мРНК, ранее находившихся в составе комплексов РНП, блокировавших трансляцию (Kleene, 2001, 2003; Iguchi et al., 2006).

На стадии первичных сперматоцитов, готовых приступить к мейозу, белок Dm NXF1 в основном присутствует в ядре (рис. 2, а). В ядре имеется область, в которой белок Dm NXF1 отсутствует. По-видимому, эта область соответствует ядрышку. На этой стадии и в период, предшествующий формированию 16-клеточной цисты, состоящей из диплоидных первичных сперматоцитов, на поверхности ядер можно видеть 1–2 яркие гранулы (рис. 2, а, стрелка), содержащие фактор Dm NXF1. Синхронное поведение этих гранул и их расположение на поверхности ядра позволяет предположить, что они могут быть связаны с центросомой.

Центросома играет особую роль в сперматогенезе. Она определяет полярность стволовых клеток, обеспечивая контакт с нишей и асимметричное деление стволовых клеток (Yamashita et al., 2007). Сперматоциты дрозофилы содержат две пары ортогональных центриолей, которые в 10 раз больше по размеру, чем в других клетках (Gonzalez et al., 1998). В сперматогенезе центриоли необходимы не только для деления клеток, но и для образования жгутиков сперматозоида (Rieder et al., 2001; Basto et al., 2006). Жгутики, являясь производными центриолей, обычно дополнительно имеют две центральные микротрубочки, радиальные спицы и динеиновые плечи, обеспечивающие подвижность жгутика (Dawe et al., 2007). Нарушение формирования аксономы (жгутика) приводит к тому, что зрелые сперматозоиды лишены подвижности (Bisgrove, Yost, 2006). При оплодотворении центросома, попадающая в яйцеклетку вместе со спермием, участвует в формировании астральных микротрубочек, которые обеспечивают транспорт пронуклеусов друг к другу (Rieder et al., 2001).

Вместе со спермием в яйцеклетку попадают и РНК, которые способны повлиять на процессы, связанные со слиянием пронуклеусов и последующими эмбриональными митозами (Ostermeier et al., 2004). Скорее всего, посттранскрипционная судьба сперматогенных РНК зависит от того, в составе каких комплексов они проходят свой

биогенез. Возможно, для ядерного экспорта и последующего биогенеза РНК, синтезированных в сперматогенезе, нужны особые РНК-связывающие белки, в том числе и транспортные рецепторы. Нами показано, что тепловое воздействие на половые клетки самцов, находящихся на стадии куколки, приводит к появлению потомков с нарушенным числом и набором не только отцовских, но и материнских хромосом (Кьергаард, Мамон, 2007).

Полученные нами данные позволили предположить существование фактора или факторов, попадающих в яйцеклетку вместе со спермием и способных повлиять на процесс расхождения как отцовских, так и материнских хромосом после оплодотворения. Процесс формирования этих факторов приходится на период сперматогенеза и, по-видимому, осуществляется при участии продукта гена *Dm nxf1* (Кьергаард, Мамон, 2007). Связь различных мРНК с центросомами, обеспечивающими асимметрию в распределении цитоплазматических детерминант между дочерними клетками (Lambert, Nagy, 2002), делает привлекательной гипотезу о том, что фактор Dm NXF1 как РНК-связывающий белок может принимать участие в биогенезе центросомы и связанных с ней факторов (Мамон, 2008).

На стадии луковицы, соответствующей стадии округлых сперматид, белок Dm NXF1 также локализуется как в ядре, так и в цитоплазме (рис. 2, б). На этой стадии 64 гаплоидные клетки, образующие цисту, вступают в спермиогенез — процесс формирования зрелого сперматозоида (Fuller, 1993). В цитоплазме вблизи ядра, как правило, видна одна крупная гранула, включающая в себя белок Dm NXF1, а в митохондриальном образовании, называемом Небенкерн (рис. 2, б, стрелка), белок Dm NXF1 не выявляется.

На стадии элонгации сперматид происходит конденсация хроматина и изменяется форма ядра. Следует отметить, что на данной стадии белок Dm NXF1 локализуется на одной стороне ядра (рис. 2, в). Возможно, это связано с тем, что в ходе элонгации происходит перестройка ядерной мембраны, сопровождающаяся смещением ядерных поровых комплексов на одну сторону ядра (Fuller, 1993).

На финальной стадии сперматогенеза в ходе индивидуализации белок Dm NXF1 покидает ядро и в составе множества гранул перемещается к дистальному концу хвоста сперматозоида (рис. 2, в). Возможно, фактор Dm NXF1 в конце сперматогенеза подвергается протеасомной деградации, чему способствует наличие в составе данного белка домена UBA-like (ubiquitin-associated domain). Для устранения отработанных белков используются протеасомы. Семенниково-специфичную изоформу протеасомы — Prosa6T — у *D. melanogaster* обнаруживают в составе гранул, сопровождающих комплекс индивидуализации (Zhong, Belote, 2007). Данный комплекс, основной составляющей которого являются актиновые конусы, перемещается к дистальному концу хвоста сперматозоида, формируя новую мембрану и тем самым индивидуализируя каждую зрелую половую клетку (Noguchi et al., 2008). Расположение гранул, содержащих протеасому Prosa6T, по отношению к актиновым конусам динамично. Когда комплекс индивидуализации только начинает собираться вокруг удлиняющегося и конденсирующегося ядра, гранулы видны перед актиновыми конусами. Когда комплекс индивидуализации покидает ядро, актиновые конусы и гранулы пересекаются, а затем гранулы движутся позади актиновых конусов; мутанты по Prosa6T проявляют мужскую стерильность (Zhong, Belote, 2007).

Локализация и концентрация фактора Dm NXF1 в клетке меняются в зависимости от стадии сперматогенеза. Динамичное изменение локализации белка SBR, по-видимому, отражает его многофункциональность в процессе сперматогенеза. Цитоплазматическая локализация белка SBR на ранних стадиях сперматогенеза позволяет предположить, что данный белок не только контролирует экспорт мРНК из ядра, но имеет и цитоплазматические функции.

Приносим свою благодарность сотрудникам ЦКП «Хромас» (Центр исследования ультраструктуры и молекулярного состава биологических объектов при биологическом факультете СПбГУ) и его руководителю Е. Р. Гагинской, их помощь была необходима при проведении этой работы.

Авторы благодарны д-ру Eliza Izaurralde (EMBL, Германия) за предоставление кДНК гена *sbr*.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Ведущие научные школы» (НШ-2214.2003.4), Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-49519), ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы» Министерства образования совместно с американским фондом CRDF (ST-012).

Список литературы

- Иванкова Н. А., Третьякова И. В., Лезин Г. Т., Аванесян Э. О., Евгеньев М. Б., Мамон Л. А. 2009. Универсальный и специфичные транскрипты эволюционно консервативного гена *Mm nxfl* (*sbr* — *small bristles*) у *Drosophila melanogaster*. Вестн. СПбГУ. Сер. 3. Вып. 4 : 14—27.
- Кьергаард А. В., Мамон Л. А. 2007. Действие гипертермии на мейоциты самцов *Drosophila melanogaster* индуцирует появление потомков с нарушением набора не только отцовских, но и материнских половых хромосом. Генетика. 43 (10) : 1379—1387.
- Мамон Л. А. 2008. Центросома как «мозг» животной клетки. Цитология. 50 (1) : 5—17.
- Третьякова И. В., Лезин Г. Т., Маркова Е. Г., Евгеньев М. Б., Мамон Л. А. 2001. Продукт гена *sbr* у *Drosophila melanogaster* и его ортологи у дрожжей и человека. Генетика. 37 (6) : 725—736.
- Ashburner M. 1989. *Drosophila: a laboratory handbook*. New York: Cold Spring Harbor Lab. Press. 1331 p.
- Balhorn R., Weston S., Thowas C., Wyrobek A. J. 1984. DNA packaging in mouse spermatids. Synthesis of protamine variants and four transition proteins. Exp. Cell Res. 150 : 298—308.
- Basto R., Lau J., Vinogradova T., Gardiol A., Woods C. G., Khodjakov A., Raff J. W. 2006. Flies without centrioles. Cell. 125 : 1375—1386.
- Bisgrove B. W., Yost H. J. 2006. The roles of cilia in developmental disorders and disease. Development. 133 : 4131—4143.
- Braun R. E., Behringer R. R., Peschon J. J., Brinster R. L., Palmiter R. D. 1989. Genetically haploid spermatids are phenotypically diploid. Nature. 337 : 373—376.
- Burgos M. H., Fawcett D. W. 1955. Studies on the structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat (*Felis domestica*). J. Biophys. Biochem. Cytol. 1 : 287—300.
- Caldwell K. A., Handel M. A. 1991. Protamine transcript sharing among postmeiotic spermatids. RNAS. 88 : 2407—2411.
- Dawe H. R., Farr H., Gull K. 2007. Centriole/basal body morphogenesis and migration during ciliogenesis in animal cells. J. Cell Sci. 120 : 7—15.
- Elliot D. J., Grellscheid S. N. 2006. Alternative RNA splicing regulation in the testis. Reproduction. 132 : 811—819.
- Fawcett D. W. 1961. Cilia and Flagella. In: The cell. New York. Acad. Press Inc. w : 217.
- Fuller M. T. 1993. Spermatogenesis. In: The development of *Drosophila melanogaster*. New York: Cold Spring Harbor Lab. Press. 71—147.
- Giorgini F., Davies H. G., Braun R. E. 2001. MSY2 and MSY4 bind a conserved sequence in the 3' untranslated region of protamine 1 mRNA *in vitro* and *in vivo*. Mol. Cell. Biol. 21 : 7010—7019.
- Gonzalez C., Tavasani G., Mollinari C. 1998. Centrosomes and microtubule organization during *Drosophila* development. J. Cell Sci. 111 : 2697—2706.
- Guraya S. S. 1987. Biology of spermatogenesis and spermatozoa in mammals. Berlin: Springer-Verlag. 51—256.
- Han J. R., Yiu G. K., Hecht N. B. 1995. Testis/brain RNA-binding protein attaches translationally repressed and transported mRNAs to microtubules. PNAS. 92 : 9550—9554.
- Herold A., Klymenko T., Izaurralde E. 2001. NXF1/p15 heterodimers are essential for mRNA nuclear export in *Drosophila*. RNA. 7 : 1768—1780.
- Herold A., Suyama M., Rodrigues J., Braun I. C., Kutay U., Carmo-Fonseca M., Bork P., Izaurralde E. 2000. TAP (NXF1) belong to a multigene family of putative RNA export factors with a conserved modular architecture. Mol. Cell. Biol. 20 : 8996—9008.
- Iguchi N., Tobias J. W., Hecht N. B. 2006. Expression profiling reveals meiotic male germ cell mRNAs that are translationally up- and down-regulated. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 103 : 7712—7717.
- Jun L., Frints S., Duhamel H., Herold A., Abad-Rodriguez J., Dotti C., Izaurralde E., Marynen P., Froyen G. 2001. NXF5, a novel member of the nuclear RNA export factor family, is lost in a male patient with a syndromic form of mental retardation. Curr. Biol. 11 : 1381—1391.
- Katahira J., Miki T., Takano K., Maruhashi M., Uchikawa M., Tachibana T., Yoneda Y. 2008. Nuclear RNA export factor 7 is localized in processing bodies and neuronal RNA granules through interactions with shuttling hnRNPs. Nucl. Acids Res. 36 : 616—628.
- King C., Akai H. 1971. Spermatogenesis in *Bombyx mori*. II. The ultrastructure of synapsed bivalents. J. Morphol. 134 : 181—194.
- Kleene K. C. 1996. Patterns of translational regulation in the mammalian testis. Mol. Reprod. Develop. 43 : 268—281.
- Kleene K. C. 2001. A possible meiotic function of the peculiar patterns of gene expression in mammalian spermatogenic cells. Mech. Develop. 106 : 3—23.
- Kleene K. C. 2003. Patterns, mechanisms, and functions of translation regulation in mammalian spermatogenic cells. Cytogenet. Genome Res. 103 : 217—224.
- Kleene K. C., Distel R. J., Hecht N. B. 1984. Translational regulation and deadenylation of a protamine mRNA during spermiogenesis in the mouse. Develop. Biol. 105 : 71—79.
- Kotaja N., Lin H., Parvinen M., Sassone-Corsi P. 2006. Interplay of PIWIArgonaute protein MIWI and kinesin KIF17b in chromatoid bodies of male germ cells. J. Cell Sci. 119 : 2819—2825.
- Lai D., Sakkas D., Huang Y. 2006. The fragile X mental retardation protein interacts with a distinct mRNA nuclear export factor NXF2. RNA. 12 : 1446—1449.
- Lambert J. D., Nagy L. M. 2002. Asymmetric inheritance of centrosomally localized mRNAs during embryonic cleavages. Nature. 420 : 682—686.
- Mikhaylova L. M., Nguyen K., Nurminsky D. I. 2008. Analysis of the *Drosophila melanogaster* testes transcriptome reveals coordinate regulation of paralogous genes. Genetics. 179 : 305—315.
- Morales C. R., Lefrancois S., Chennathukuzhi V., El-Alfy M., Wu X., Yang J., Gerton G. L., Hecht N. B. 2002. A TB-RBP and Ter ATPase complex accompanies specific mRNAs from nuclei through the nuclear pores and into intercellular bridges in mouse male germ cells. Develop. Biol. 246 : 480—494.

- Morales C. R., Wu X. Q., Hecht N. B. 1998. The DNA/RNA-binding protein, TB-RBP, moves from the nucleus to the cytoplasm and through intercellular bridges in male germ cells. *Develop. Biol.* 201 : 113—123.
- Noguchi T., Lenartowska M., Rogat A. D., Frank D. J., Miller K. G. 2008. Proper cellular reorganization during *Drosophila* spermatid individualization depends on actin structures composed of two domains, bundles and meshworks, that are differentially regulated and have different functions. *Mol. Biol. Cell.* 19 : 2363—2372.
- Ostermeier G. C., Miller D., Huntriss J. D., Diamond M. P., Krawetz S. A. 2004. Reproductive biology: delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature*. 429 : 154.
- Rasmussen S. W. 1973. Ultrastructural studies of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* meigen. *Cell and Tissue Res.* 140 : 125—144.
- Rieder C. L., Faruki S., Khodjakov A. 2001. The centrosome in vertebrates: more than a microtubule-organizing center. *Trends Cell Biol.* 11 : 413—419.
- Sasaki M., Takeda E., Takano K., Yomogida K., Katahira J., Yoneda Y. 2005. Molecular cloning and functional characterization of mouse Nxf family gene products. *Genomics*. 85 : 641—653.
- Steger K. 1999. Transcriptional and translation regulated of gene expression in haploid spermatids. *Anat. Embryol.* 199 : 471—487.
- Takano K., Miki T., Katahira J., Yoneda Y. 2007. NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins. *Nucl. Acids Res.* 35 : 2513—2521.
- Tan W., Zolotukhin A. S., Bear J., Patenaude D. J., Felber B. K. 2000. The mRNA export in *Caenorhabditis elegans* is mediated by Ce-NXF-1, an ortholog of human TAP/NXF and *Saccharomyces cerevisiae* Mex67p. *RNA*. 6 : 1762—1772.
- Tan W., Zolotukhin A. S., Tretyakova I. V., Bear J., Lindtner S., Smulevitch S. V., Felber B. K. 2005. Identification and characterization of the mouse nuclear export factor (Nxf) family members. *Nucl. Acids. Res.* 33 : 3855—3865.
- Tretyakova I. V., Zolotukhin A. S., Tan W., Bear J., Propst F., Ruthel G., Felber B. K. 2005. NXF family protein participates in cytoplasmic mRNA trafficking. *J. Biol. Chem.* 280 : 31 981—31 990.
- Wakimoto B. T., Lindsley D. L., Herrera C. 2004. Toward a comprehensive genetic analysis of male fertility in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 167 : 207—216.
- Wang P. J., Pan J. 2007. The role of spermatogonially expressed germ cell-specific genes in mammalian meiosis. *Chromosome Res.* 15 : 623—632.
- Wilkie G. S., Zimyanin V., Kirby R., Korey C., Francis-Lang H., Van Vactor D., Davis I. 2001. Small bristles, the *Drosophila* ortholog of NXF-1, is essential for mRNA export throughout development. *RNA*. 7 : 1781—1792.
- Yamashita Y. M., Mahowald A. P., Perlin J. R., Fuller M. T. 2007. Asymmetric inheritance of mother versus daughter centrosome in stem cell division. *Science*. 315 : 518—521.
- Yang J., Bogerd H. P., Wang P. J., Page D. C., Cullen B. R. 2001. Two closely related human nuclear export factors utilize distinct export pathways. *Mol. Cell*. 8 : 397—406.
- Zhong L., Belote J. M. 2007. The testis-specific proteasome subunit Prosa6T of *D. melanogaster* is required for individualization and nuclear maturation during spermatogenesis. *Development*. 134 : 3517—3525.

Поступила 9 VI 2009

PECULIARITY OF THE SPERMATOGENESIS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*: THE ROLE OF THE BASIC TRANSPORT RECEPTOR OF THE mRNA (Dm NXF1)

A. A. Acapkina, E. V. Golubkova, V. V. Kasatkina, E. O. Avanesyan, N. A. Ivankova, L. A. Mamon

Department of Genetics, St. Petersburg State University;
e-mail: gелena@EG10217.spb.edu

Specificity of regulation of genes expression at the transcriptional and posttranscriptional levels is typical for spermatogenesis in *Drosophila* and mammals, including humans. It becomes apparent in the existence of testis specific NXF (nuclear export factor). We have shown that the Dm NXF1 (SBR) protein is present in considerable amounts at all stages of the spermatogenesis. Using the antibody for the C-terminal part of the Dm NXF1 protein we have shown the cytoplasmic localization of the Dm NXF1 protein at early stages of the spermatogenesis. This protein is localized in the nuclear envelope at the stage of rounded spermatid. During the period of elongation, the Dm NXF1 protein has a polar localization, and is located only along one side of the extended spermatid nucleus. At the stage of spermatid individualization, this protein in the form of large cytoplasmic granules moves to the tail of the spermatozoon.

Key words: mRNA transport, spermatogenesis, *Drosophila*, NXF.