

ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА У ЖИВОТНЫХ

Первичные половые клетки (ППК) у млекопитающих, производные клеток внутренней массы, выявляются в пограничном районе желточного мешка и аллантаиса вблизи задней части кишки. Затем ППК мигрируют в половые (гонадные) валики

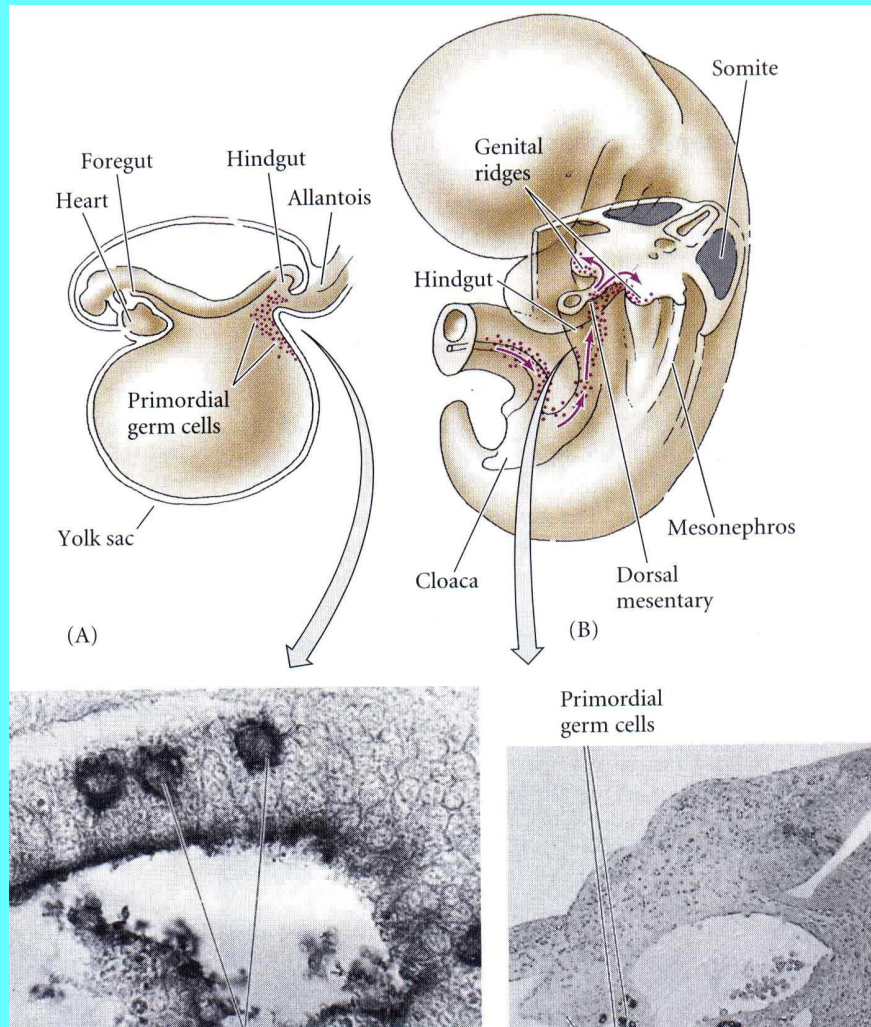


Figure 19.6

Pathway for the migration of mammalian primordial germ cells. (A) PGCs seen in the yolk sac near the junction of the hindgut and allantois. (B) The PGCs migrate through the gut and, dorsally, up the dorsal mesentery and into the genital ridges. (C) Four large PGCs in the hindgut of a mouse embryo (near the allantois and yolk sac) stain positively for high levels of alkaline phosphatase. (D) Such alkaline phosphatase-staining cells can be seen migrating up the dorsal mesentery and entering the genital ridges. (A and B from Langman 1981; C from Heath 1978; D from Mintz 1957; photographs courtesy of the authors.)

Маркёрными белками ППК млекопитающих являются фактор транскрипции Oct4 и щелочная фосфатаза

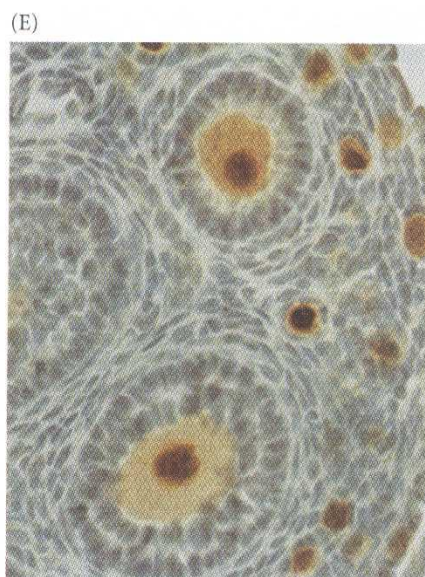
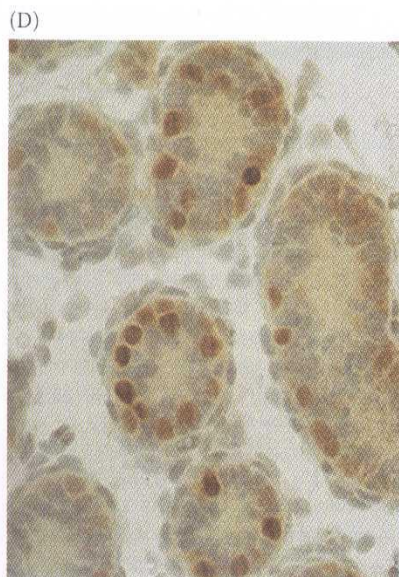


Figure 19.7

Expression of *Oct4* mRNA correlates with totipotency and ability to form germ cells. (A) *Oct4* transcription factor is stained green with a fluorescent antibody, while all cell nuclei are stained red with propidium iodide. The overlap (indicated by the yellow color) shows that *Oct4* is found only in the inner cell mass. (B, C) An *Oct4/lacZ* transgene driven by the *Oct4* promoter region shows its expression (dark color) (B) in the posterior epiblast of the 8.5-day mouse embryo and (C) in migrating PGCs in the 10.5-day embryo. (D, E) Labeled antibody (brown) staining shows *Oct4* protein in the nuclei of (D) oocytes in postnatal ovaries and (E) spermatogonia in postnatal testes. (A–C after Yeom et al. 1996; D, E from Pesce et al. 1998; photographs courtesy of H. R. Schöler.)

ППК дрозофилы обособляются в районе полярных гранул (на заднем конце зародыша) в ходе 9-го деления ядер

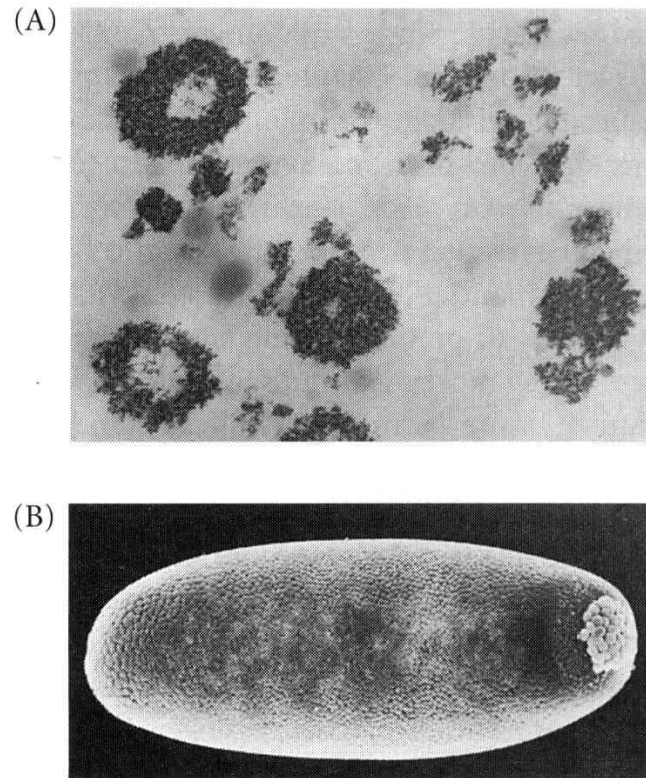


Figure 19.2

The pole plasm of *Drosophila*. (A) Electron micrograph of polar granules from particulate fraction of *Drosophila* pole cells. (B) Scanning electron micrograph of a *Drosophila* embryo just prior to completion of cleavage. The pole cells can be seen at the right of this picture. (Photographs courtesy of A. P. Mahowald.)

Миграция ППК дрозофилы из района полярной плазмы в районы латеральной мезодермы 10-12 парасегментов, где образуются гонады. Слева обработка антителами к Vasa (A-F), и к engrailed (D)- специфические маркеры ППК. Справа - схематически представлен путь миграции ППК в теле зародыша

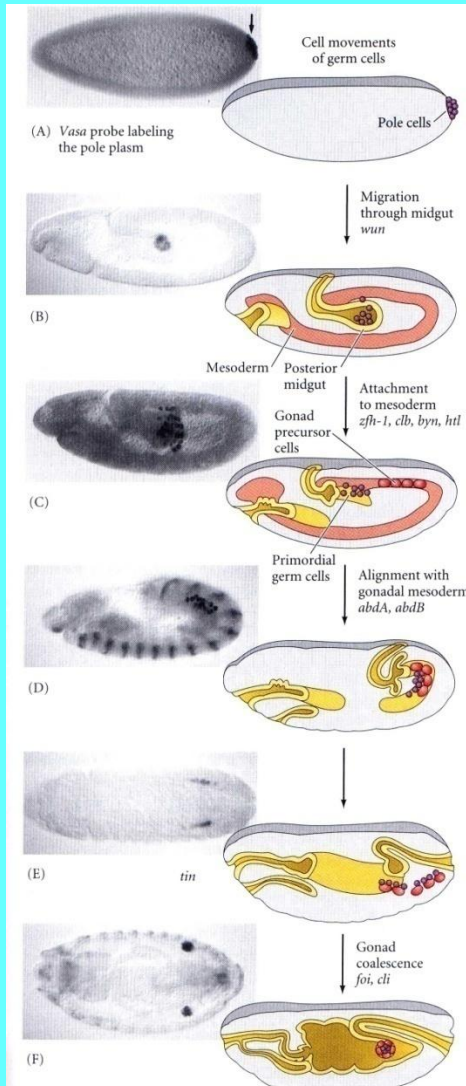


Figure 19.12

Migration of germ cells in *Drosophila* embryos. The left column shows the germ plasm as stained by antibodies against Vasa, a protein component of the germ plasm (D has been counterstained with antibodies to Engrailed protein to show the segmentation, and E and F are dorsal views.) The right column diagrams the movements of the germ cells. (A) The germ cells originate from the pole plasm at the posterior end of the egg. (B) Passive movements carry the PGCs into the posterior midgut. (C) The PGCs move through the endoderm and into the caudal visceral mesoderm by diapinesis. The *wunen* gene product expressed in the endoderm expels the PGCs, while the product of the *columbus* gene expressed in the caudal mesoderm attracts them. (D-F) The movements of the mesoderm bring the PGCs into the region of the tenth through twelfth segments, where the mesoderm coalesces around them to form the gonads. (Photographs from Warrior et al. 1994, courtesy of R. Warrior; diagrams after Howard 1998.)

Регуляция пола может
осуществляться у животных
различным образом благодаря
генетическим факторам или (и)
факторам внешней среды

Хромосомное определение пола.

У животных существуют половые хромосомы, так что пол определяется в зависимости от числа и состава половых хромосом. Самки животных могут определяться генотипами XX, WZ. Самцы - генотипами XY, ZZ или XO.

Примеры - XX- самки, XY- самцы - насекомые (мухи), рыбы, пресмыкающиеся, млекопитающие
XX-самки, XO-самцы (насекомые) водяной клоп *Protenor*, некоторые бабочки и круглые черви.

WZ- самки, ZZ-самцы - некоторые виды бабочек, водяной клоп *Lygaeus*, рыбы, земноводные, пресмыкающиеся, птицы

XX- гермафродиты, XO -самцы - нематоды (одновременно) XX, WZ -самки XY, ZZ -самцы - некоторые рыбы и некоторые пресмыкающиеся.

Диплоидные особи – самки, гаплоидные – самцы (перепончатокрылые насекомые)

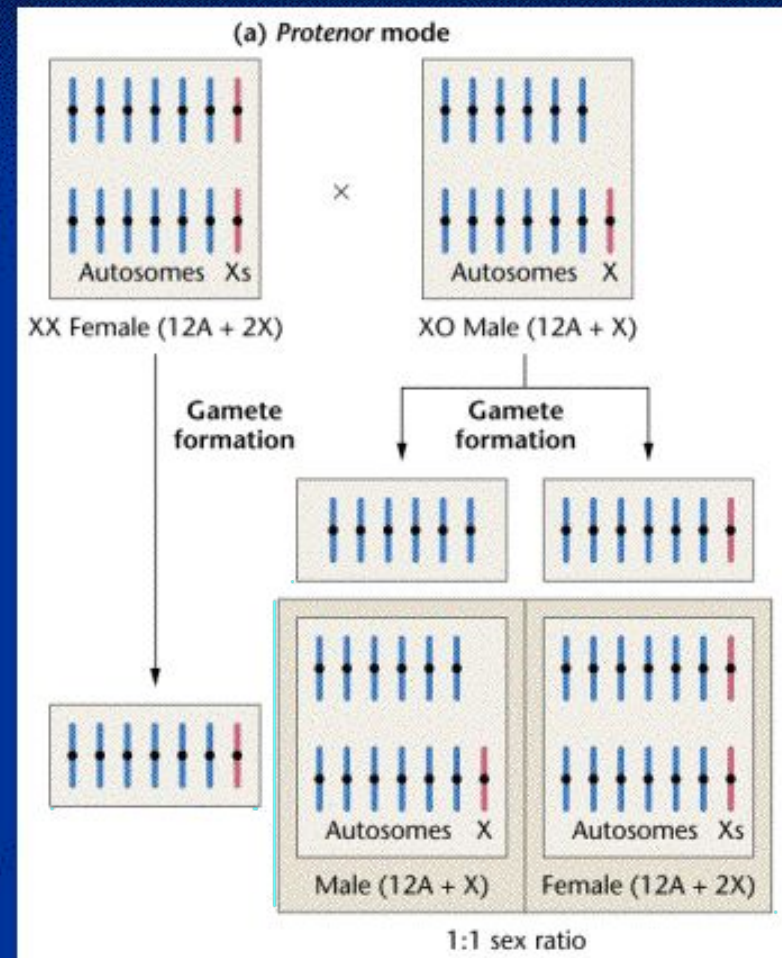


X and Y chromosomes were first linked to sex determination early in the 20th century



XX/XO sex determination

In 1906, Edmund B. Wilson demonstrated that females of the hemipteran insect *Protenor* contain 14 chromosomes, including 2 X chromosomes. Oogenesis produces gametes with 7 chromosomes. Males contain 13 chromosomes, including a single X. Spermatogenesis produces gametes with either 6 (without a X) or 7 (with a X) chromosomes.

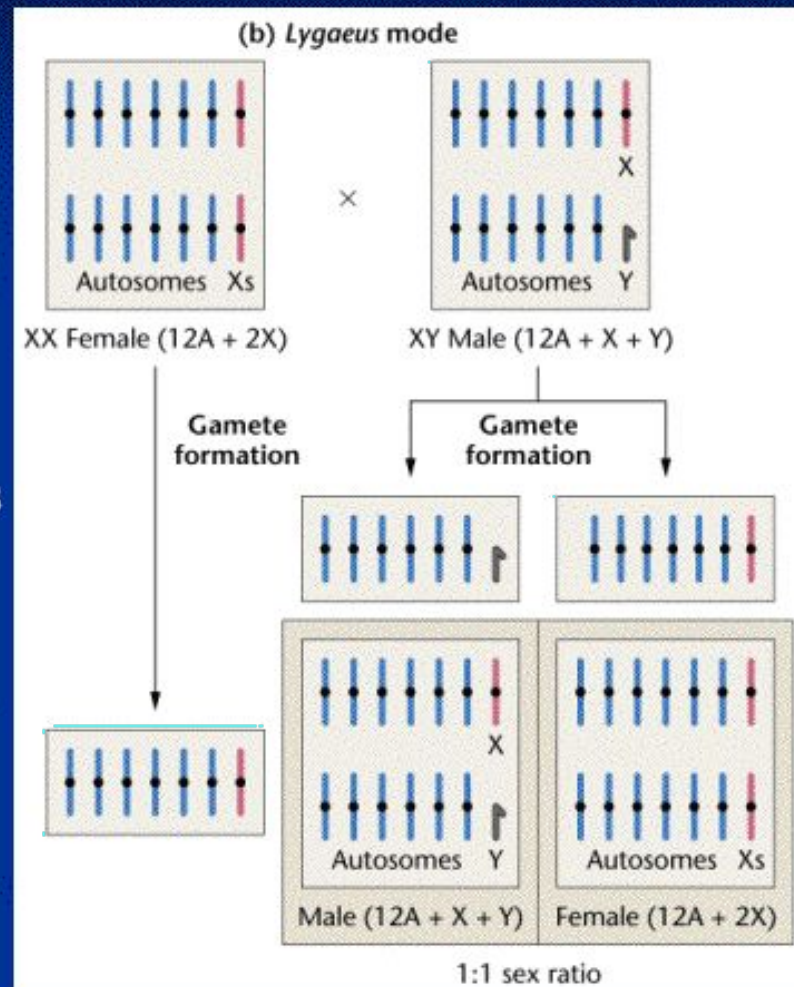


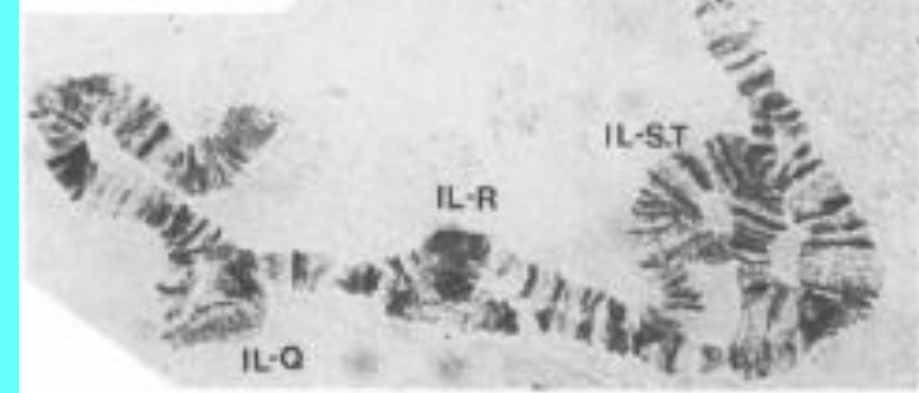
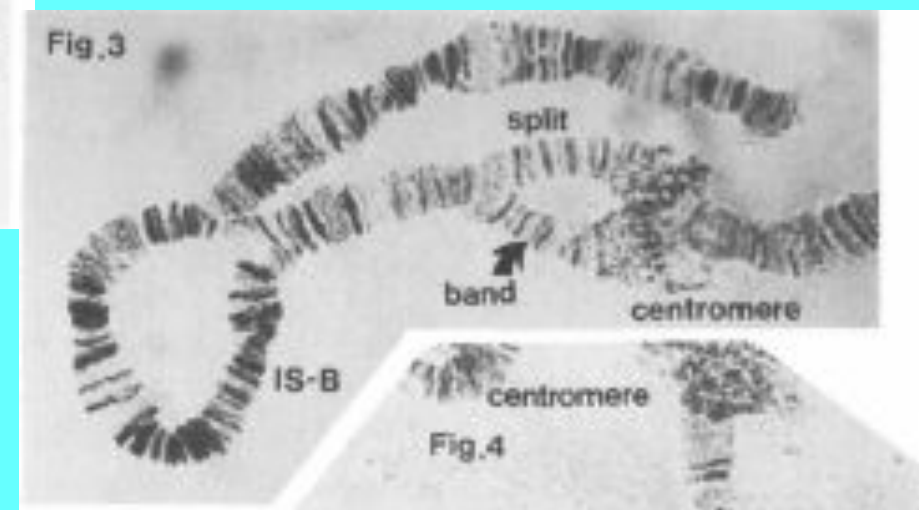
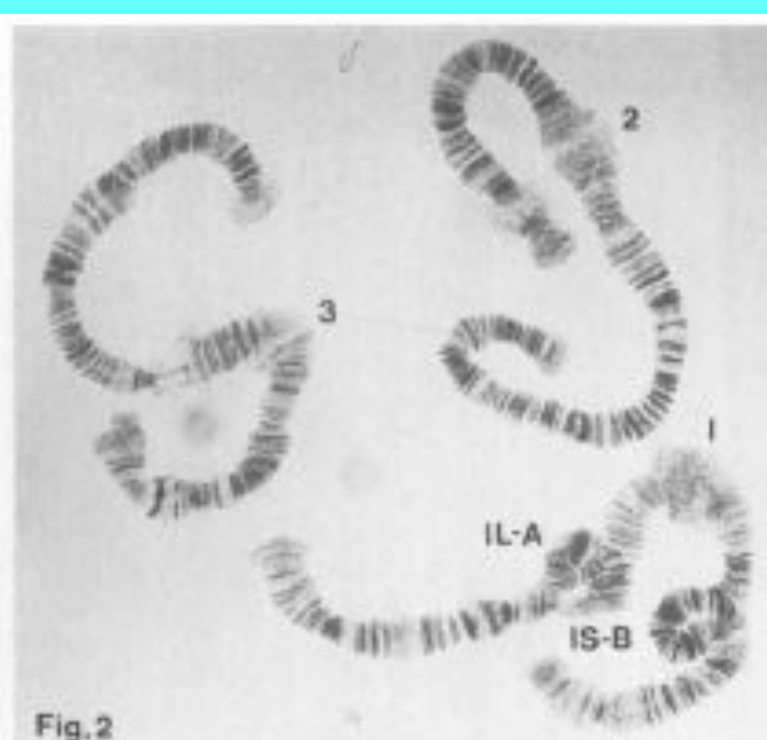
X and Y chromosomes were first linked to sex determination early in the 20th century



XX/XY sex determination

Wilson also experimented with *Lygaeus turicus*. The species has 12 autosomes. In addition, females have 2 X chromosomes, while the males have a single X and a smaller heterochromosome labeled the Y chromosome. Oogenesis produces (6A + X) gametes. Spermatogenesis produces (6A + X) and (6A + Y) gametes.





У рыб наряду с раздельнополыми видами есть и гермафродиты.

Гермафродиты могут быть : 1. Синхронные (одновременно существуют яичник и семенник) - *Servanus scriba*: поочередно мечут икру и её оплодотворяют. 2. Асинхронные (гонады генетически запрограммированы на смену типа в ходе онтогенеза): рыба - попугай;

Последние в свою очередь делятся на протогинные (сначала «самка») и протоандрические (сначала «самец») - *Sparus auratus* .

Кроме того, выбор пола молодой особи может определяться соотношением полов в существующей популяции рыб (пример - рыбка коралловых рифов)

Изменения структуры гонад гермафродитной рыбы *Sparus auratus*

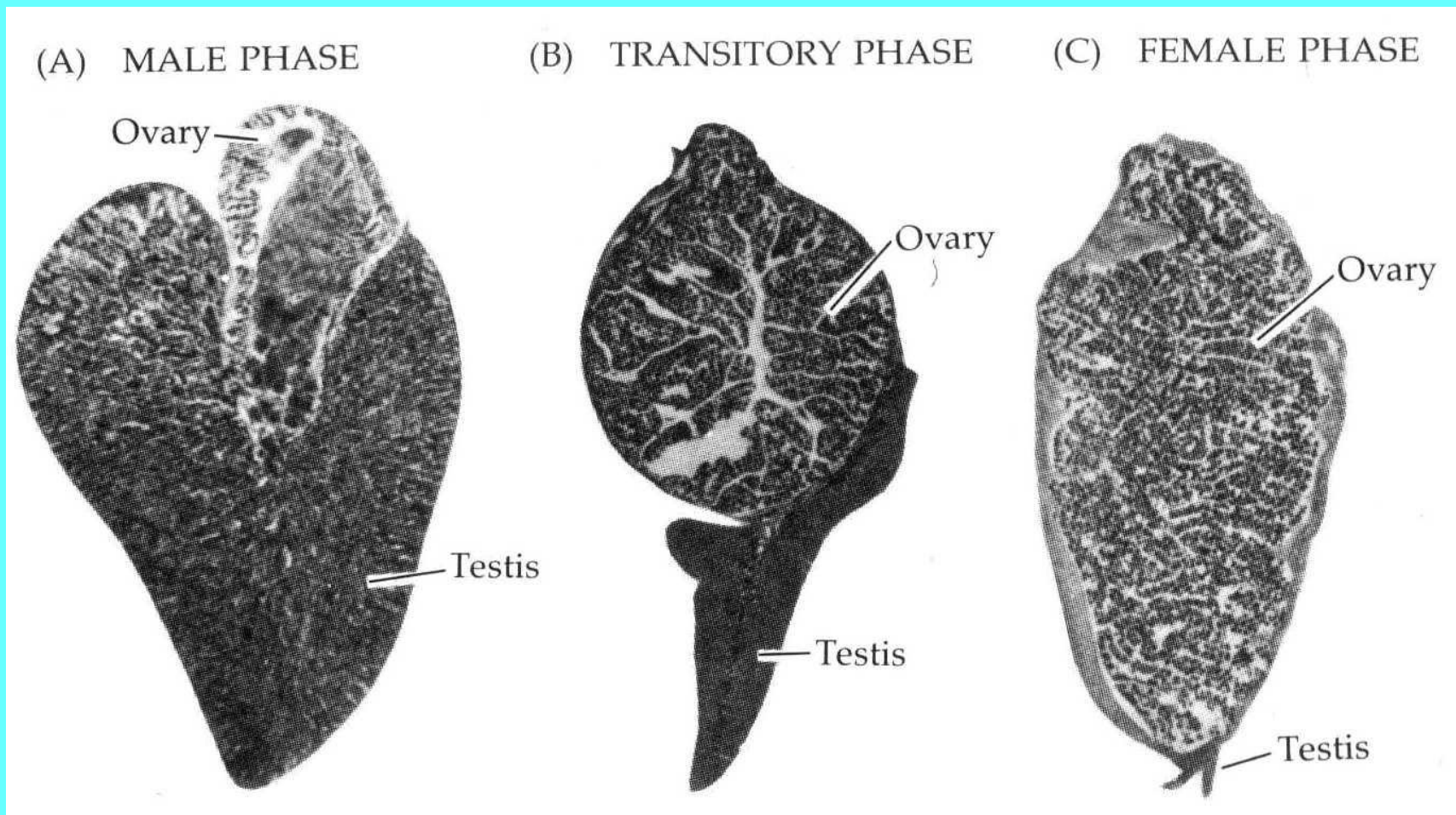


Figure 20.22

Gonadal changes in the hermaphroditic fish *Sparus auratus*, shown in section through the gonad of (A) the male phase, (B) the transitory phase, and (C) the final, female phase. (Courtesy of the family of T. Yamamoto.)

Наряду с **генетическим факторами** (наличие половых хромосом того или иного типа) на формирование пола у рыб, земноводных и пресмыкающихся оказывают влияние **факторы внешней среды**.

У гермафродитных рыб выведение из икры самцов или самок может зависеть от различных факторов, в числе которых: рН среды, наличие питательных веществ, температура и др.

У рептилий - температура инкубации яиц (черепахи, крокодилы, аллигаторы, некоторые ящерицы (гекконы)).

Корреляция между соотношением полов $F/(F+M)$ и температурой у рыбы *Menidia menidia* появляется и нарастает в более теплых водах ареала обитания. F-female (самка), M-male (самец)

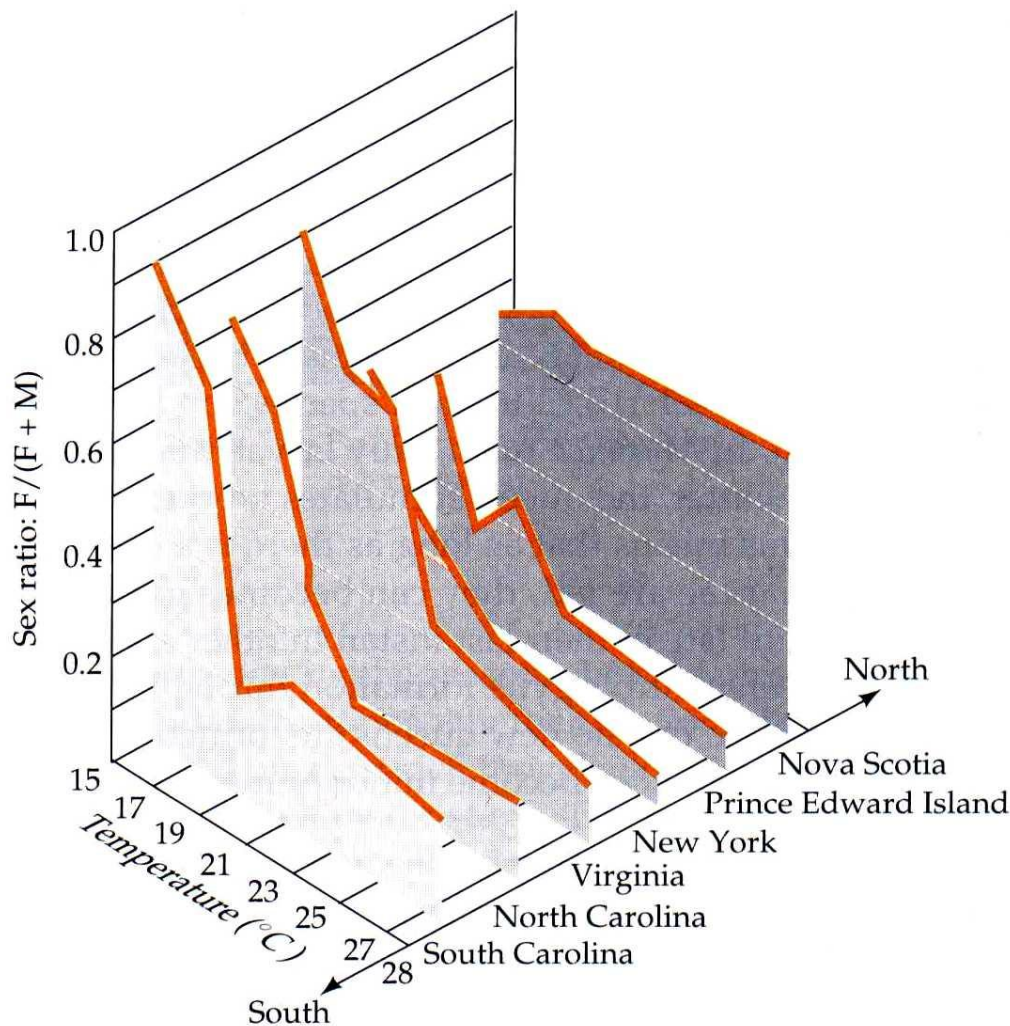


Figure 21.13

Relationship between temperature and sex ratio $F:(F+M)$ during the period of sex determination in *Menidia menidia*. In those fish collected from the northernmost portion of its range (Nova Scotia), temperature had little effect on sex determination. When embryos were collected from fish at more southerly locations (especially from Virginia through South Carolina), the environment had a large effect. (After Conover and Heins, 1987.)

Зависящее от температуры (инкубации яиц) определение пола у трех представителей класса пресмыкающихся: грифовая и красноухая черепахи и аллигатор.

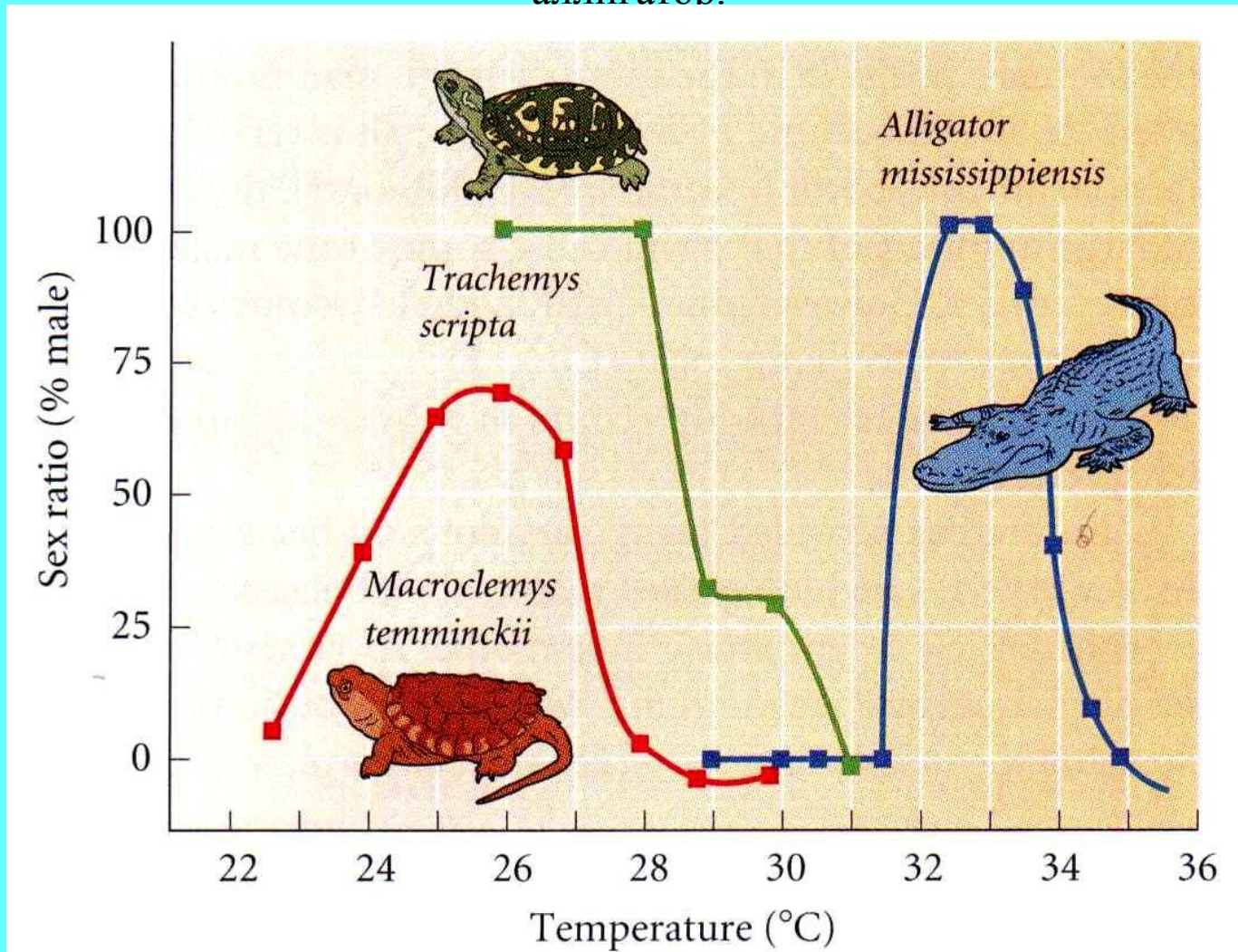


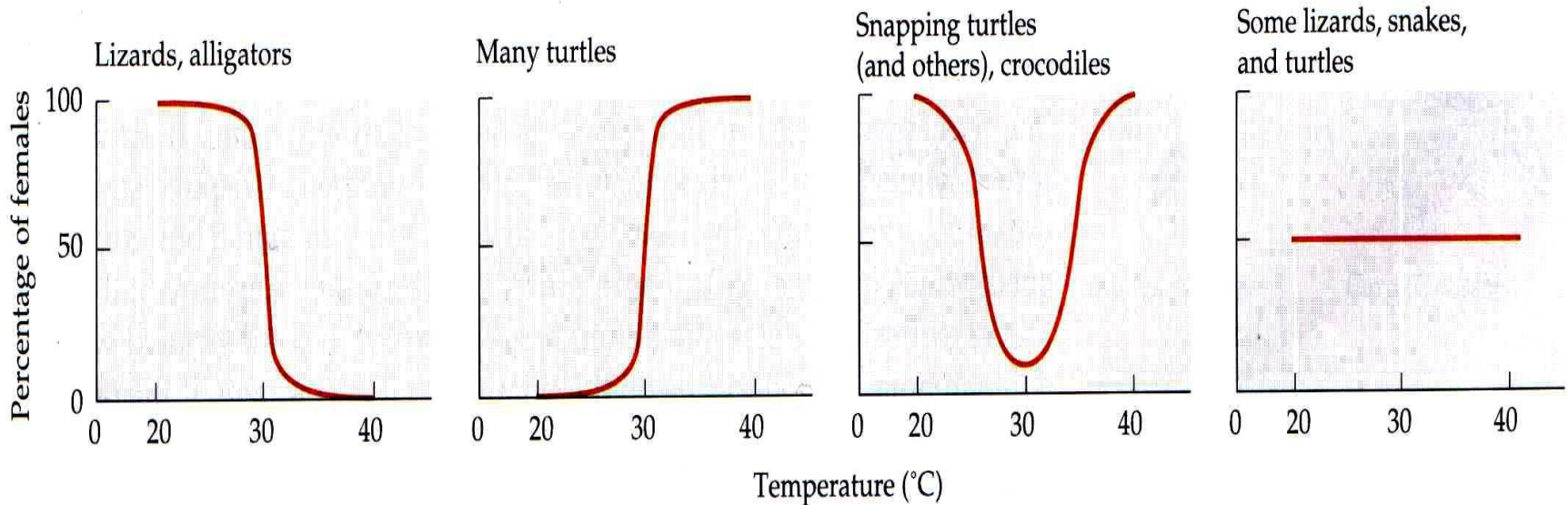
Figure 17.20

Temperature-dependent sex determination in three reptile species: the American alligator (*Alligator mississippiensis*), the red-eared slider turtle (*Trachemys scripta elegans*), and the alligator snapping turtle (*Macrolemys temminckii*). (After Crain and Guillette 1998.)

Температуро-зависимая детерминация пола у ящериц, черепах и крокодилов

Figure 21.12

Patterns of temperature-dependent sex determination. In the first three panels, different temperatures give a predominance of males or females. In the last panel, temperature does not play a role. (After Bull, 1980.)



Виды гормонов мужских и женских половых желез млекопитающих

Gonadal Steroids

- **Male sex hormones:**
 - testosterone, dihydrotestosterone, estradiol
- **Female sex hormones:**
 - progesterone, estrogen, estradiol

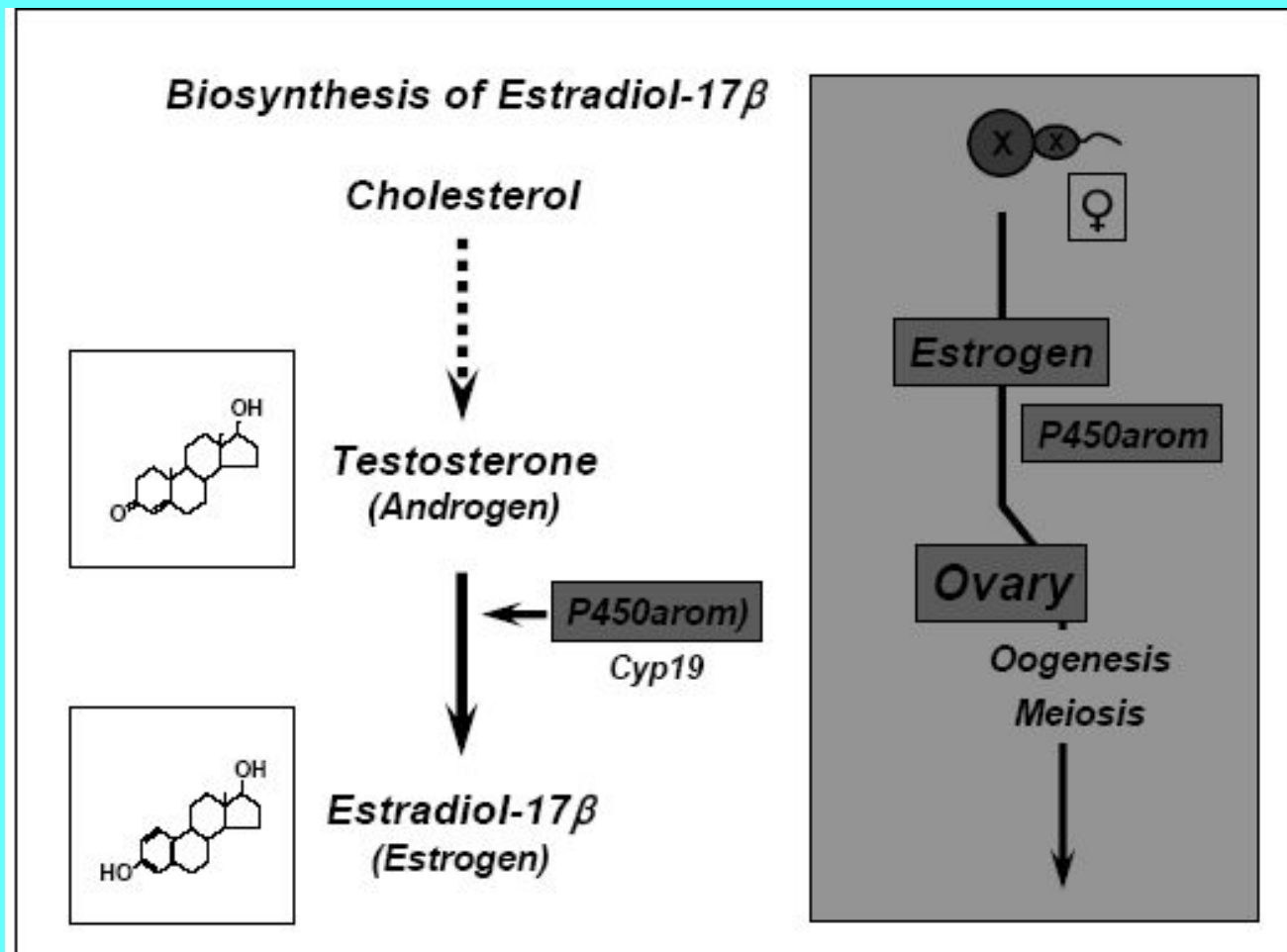
Факторы внешней среды, определяющие формирование пола у позвоночных (пресмыкающихся), могут действовать, через изменение баланса половых гормонов.

Мужские половые гормоны - андрогены (тестостерон и ряд других)

Женские половые гормоны - эстрогены .

Показано что фермент **P450 ароматаза**, катализирующий превращение тестостерона в эстроген, у пресмыкающихся способен менять свою активность в зависимости от температуры окружающей среды. Температура инкубации яиц в последнюю треть развития пресмыкающихся (черепах, крокодилов, аллигаторов) является определяющей для формирования пола выводящихся из яиц животных.

Синтез стероидных половых гормонов у позвоночных



У эхиуриды *Bonellia* (организма, обитающего на морском каменистом грунте) формирование пола происходит у личинки в зависимости от места её прикрепления к поддерживающей среде. При осаднении на скалистый грунт формируется самка (тело - 10 см, ротовой хоботок - proboscis - около метра), при осаднении на proboscis самки - формируется самец (1-3 мм длиной), который мигрирует по кишечнику и обитает в матке (или нефридии), оплодотворяя яйца)

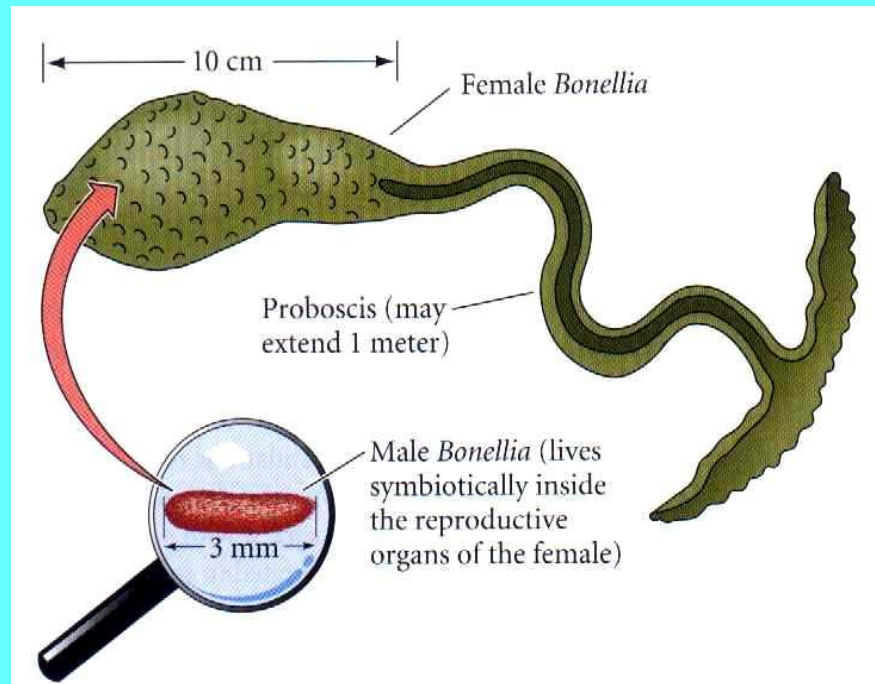


Figure 3.1

Sexual dimorphism in *Bonellia viridis*. The body of the mature female is about 10 cm in length, but the proboscis can extend up to a meter. The body of the symbiotic male is a minute 1–3 mm in length. While the body of the adult female is buried in the ocean sediments, her proboscis extends out of the sediments, where it can be used for feeding or attracting larvae.

У улитки- блюдечка *Crepidula fornicata*, новая особь, располагающаяся в колонии сверху - всегда самец. Затем мужская половая система дегенерирует и самец превращается в самку

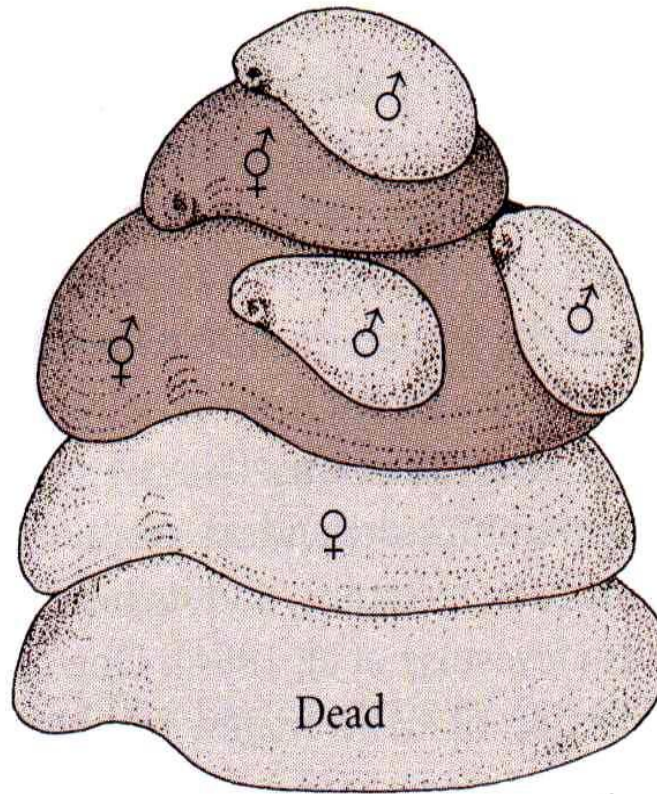


Figure 17.21

Cluster of *Crepidula* snails. Two individuals are changing from male to female. After these molluscs become female, they will be fertilized by the male above them. (After Coe 1936.)

Первичная и вторичная детерминация пола у млекопитающих

Первичная детерминация пола – это детерминация гонад. Семенники и яичники формируются из бипотенциальных гонад в зависимости от полового генотипа XY или XX. При наличии Y-хромосомы, в независимости от числа X-хромосом, пол гонады мужской

Вторичная детерминация пола - определяет фенотип особи вне гонад. Она затрагивает системы выводящих канальцев и протоков самцов и самок, формы их гениталий. Вторичные половые признаки контролируются гормонами, секретируемыми половыми железами.

Удаление гонад приводит к формированию женского фенотипа безотносительно к половому генотипу.

Дифференцировка бипотенциальных гонад и образование половых структур из Вольфова и Мюллерова протоков

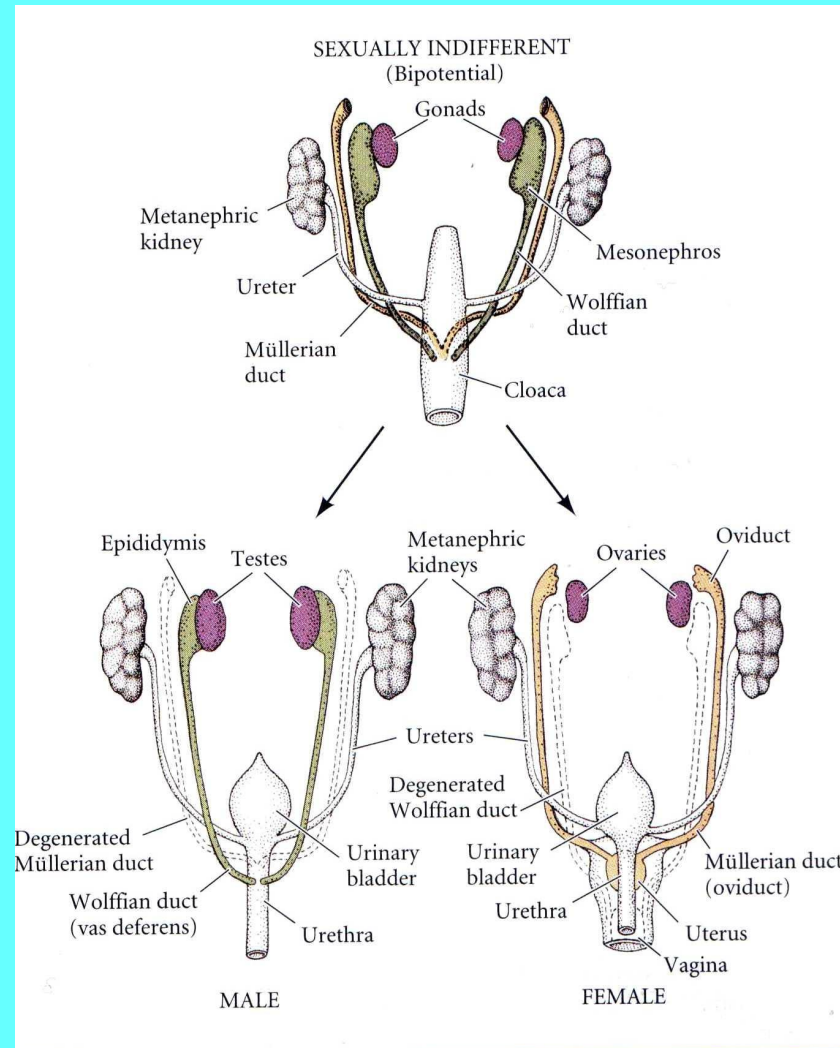
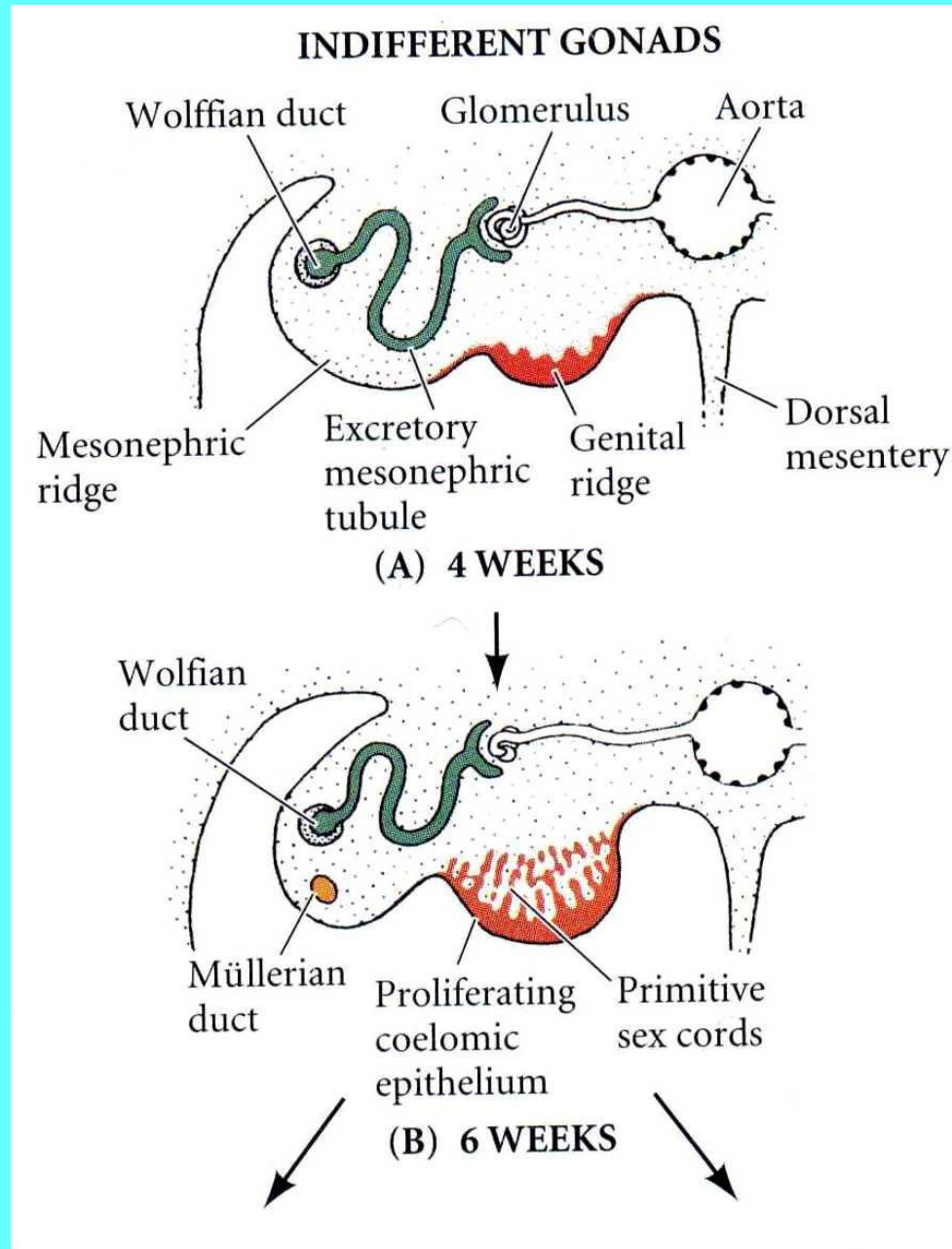


Figure 17.4

Summary of the development of the gonads and their ducts in mammals. Note that both the Wolffian and Müllerian ducts are present at the indifferent gonad stage.

Дифференцировка гонад человека (начало)



Дифференцировка гонад человека (продолжение)

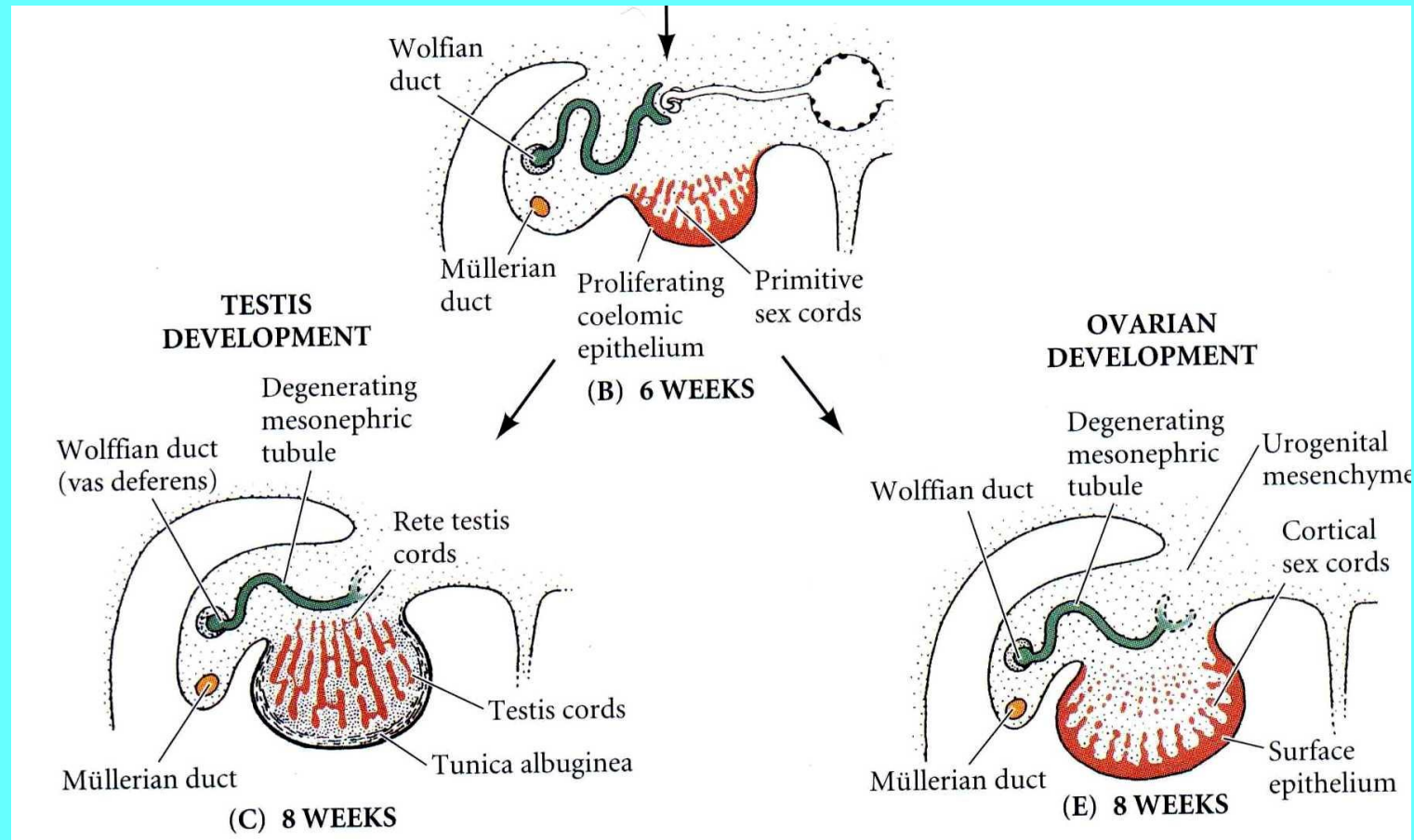
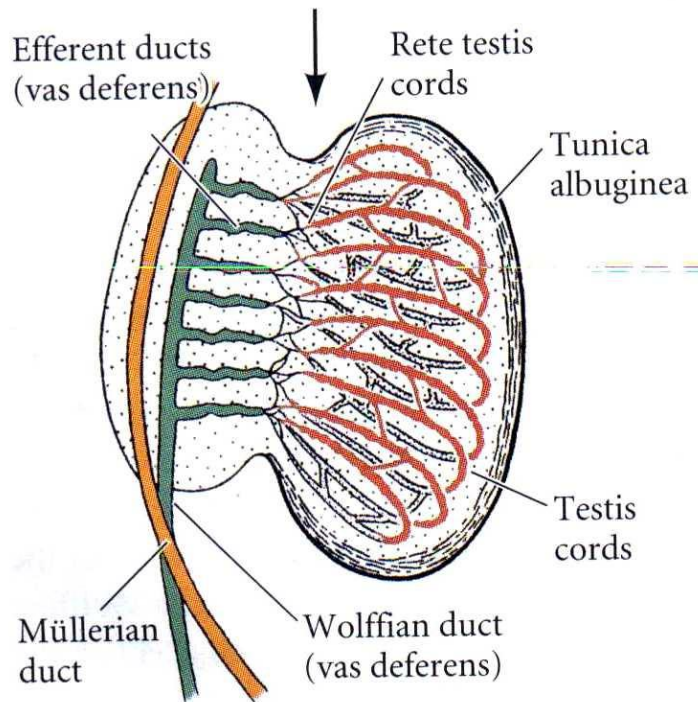


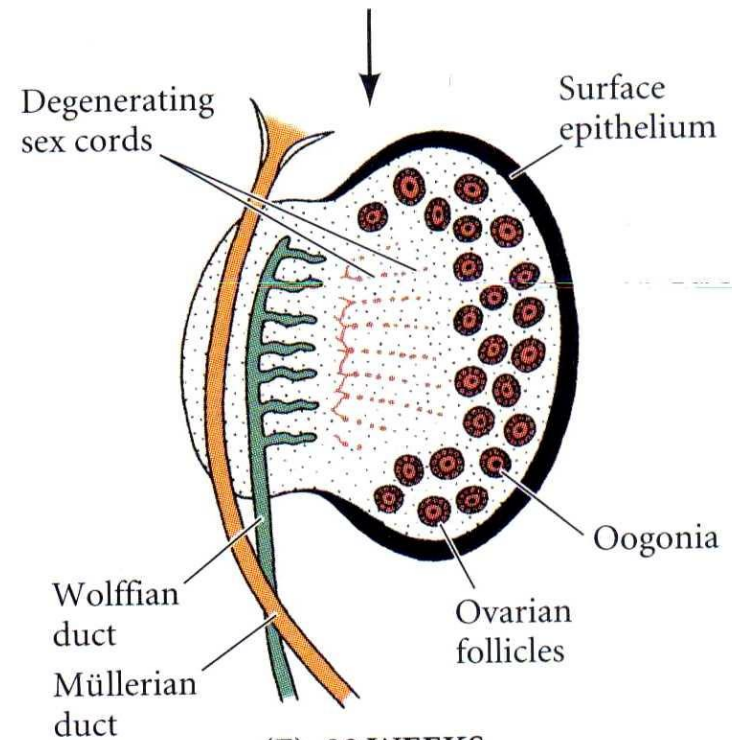
Figure 17.3

Differentiation of human gonads shown in transverse section. (A) Genital ridge of a 4-week embryo. (B) Genital ridge of a 6-week indifferent gonad showing primitive sex cords. (C) Testis development in the eighth week. The sex cords lose contact with the cortical epithelium and develop the rete testis. (D) By the sixteenth week of development, the testis cords are continuous with the rete testis and connect with the Wolffian duct. (E) Ovary development in an 8-week human embryo, as primitive sex cords degenerate. (F) The 20-week human ovary does not connect to the Wolffian duct, and the cortical sex cords surround the germ cells that have migrated into the genital ridge. (After Langman 1981.)

Дифференцировка гонад человека (окончание)



(D) 16 WEEKS



(F) 20 WEEKS

GONADS Gonadal type Sex cords	Testis Medullary (internal)	Ovary Cortical (external)
DUCTS Remaining duct for germ cells Duct differentiation	Wolffian Vas deferens, epididymis, seminal vesicle	Müllerian Oviduct, uterus, cervix, upper portion of vagina

При анализе Y-хромосомы выяснилось, что гипотетический фактор, отвечающий за формирование пола, существует в действительности- это ген SRY/Sry (sex region of Y-chromosome), локализован на коротком плече Y-хромосомы. Это транскрипционный фактор, он содержит HMG-домен и относится к семейству SOX-белков. На X-хромосоме гена SRY нет. Ген был найден также в редких случаях у лиц мужского пола с генотипом XX, которые содержали транслоцированный ген SRY. Для детерминации мужского фенотипа нужна также активность другого гена Sox-семейства - SOX9, локализованного на аутосоме. Мутация по нему вызывает превращение особей XY в самок или в гермафродитов. Гены SRY и SOX9 экспрессируются вместе в половых (гонадных) валиках самцов

The Y chromosome

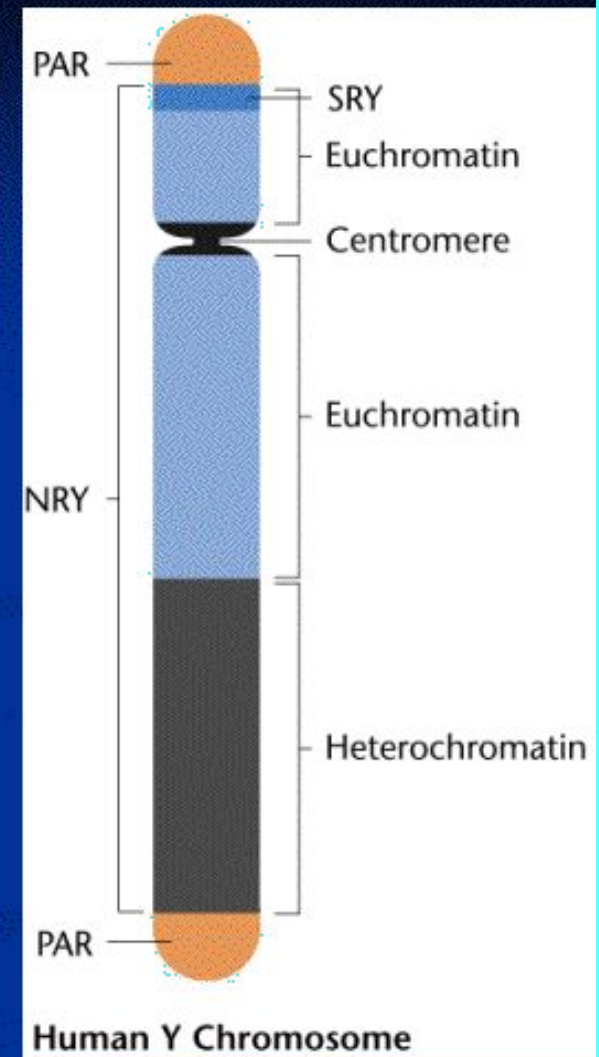
pseudoautosomal regions (PAR) - homologous with regions on X; synapsis and recombination occurs during meiosis.

nonrecombining region (NRY) - everything else.

euchromatin - region that contains functional genes

heterochromatin - region that lacks genes

sex-determining region Y (SRY) - gene that controls male sexual development; produces testis-determining factor (TDF), a product that triggers the formation of testes from undifferentiated embryonic gonadal tissue



Мышь с половым генотипом XX, трансгенная по гену SRY(справа), в норме локализованном на Y-хромосоме обладает фенотипом самца

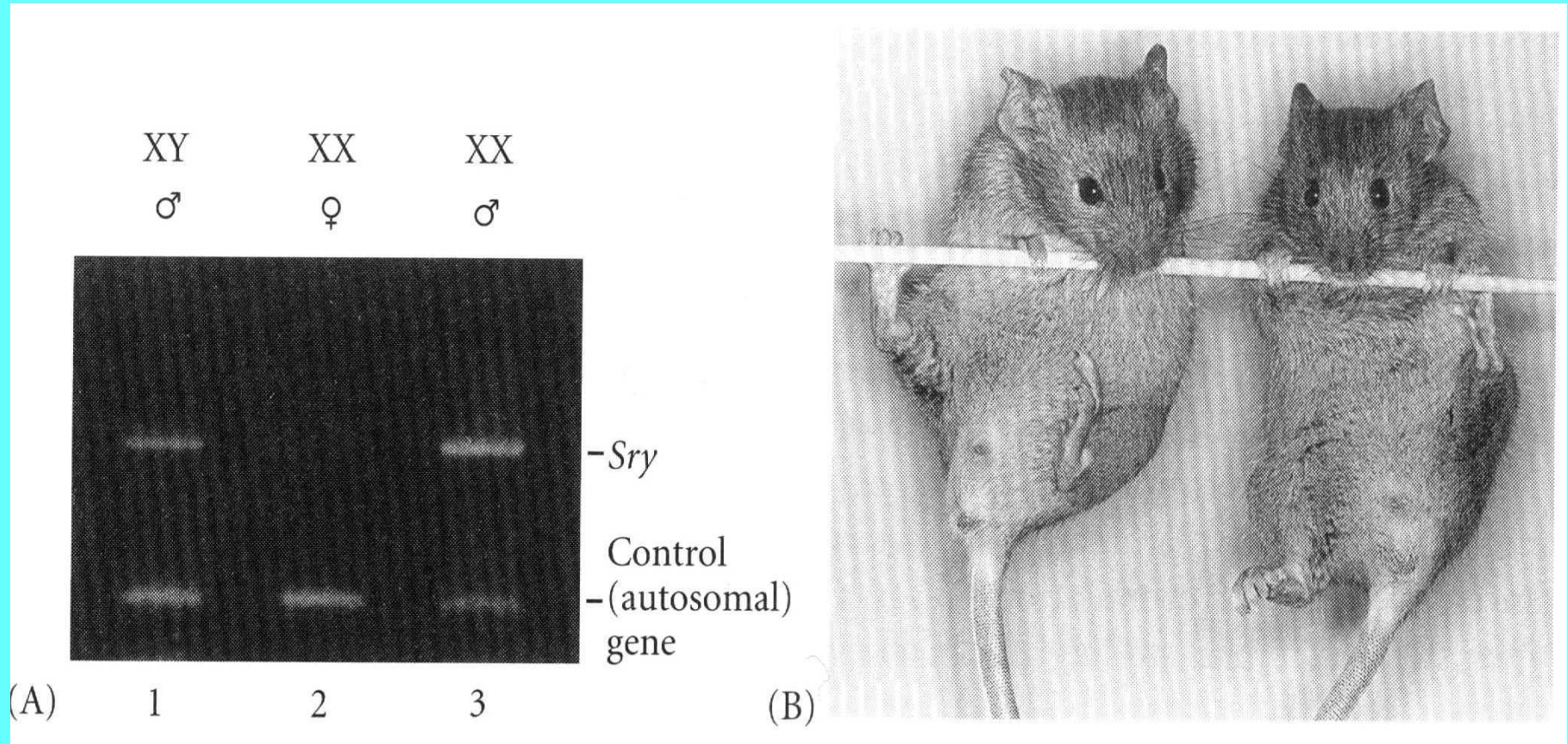


Figure 17.6

An XX mouse transgenic for *Sry* is male. (A) Polymerase chain reaction followed by electrophoresis shows the presence of the *Sry* gene in normal XY males and in a transgenic XX *Sry* mouse. The gene is absent in a female XX littermate. (B) The external genitalia of the transgenic mouse are male (right) and essentially the same as in an XY male (left). (From Koopman et al. 1991; photographs courtesy of the authors.)

Экспрессия гена *Sry* приводит к активации генов *SF1* и *Sox9* в тех же клетках. Взаимодействие генов *Sox9* и *SF1* (стероидогенного фактора) важно для активации гена антимюллерова гормона (*Amh*) в клетках Сертоли, вызывающего дегенерацию мюллерова протока. Эти же факторы транскрипции в клетках Лейдига стимулируют образование и секрецию тестостерона. Стероидогенный фактор SF1 может функционировать в клетках гонад обоих типов.

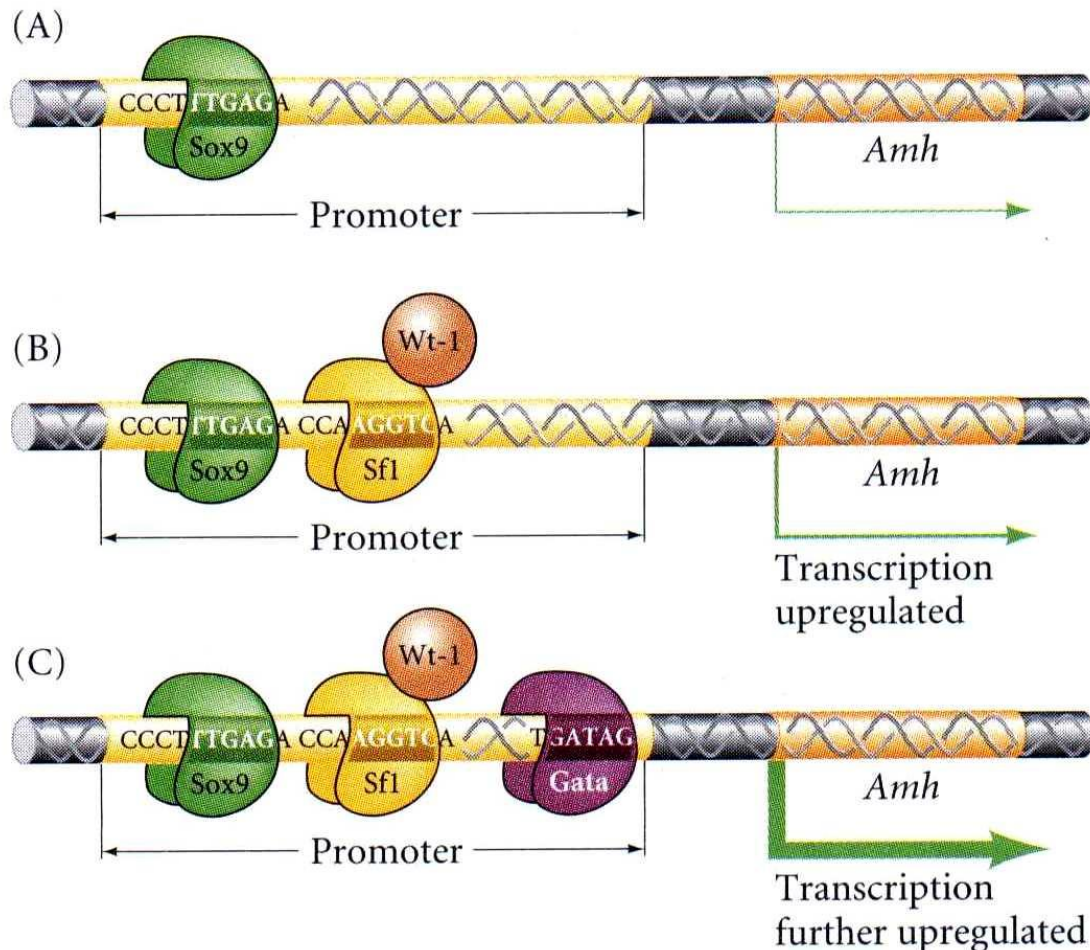


Figure 17.8

Synergism of Sox9 and Sf1 to activate the expression of the *Amh* gene. (A) The binding of Sox9 to the *Amh* promoter initiates transcription of the *Amh* gene in the Sertoli cells. (B) After Sox9 binds, the expression of AMH is upregulated by the binding of SF1 and Wt-1. AMH is believed to position SF1 on its DNA-binding site, and Wt-1 is joined to the Sf1 protein. (C) Gata (a transcription factor common to many cell types) upregulates *Amh* expression further. Neither Sf1 nor Gata can function if Sox9 is absent. (After Arango et al. 1999.)

Роль антимюллерова гормона в дегенерации мюллерова протока (плод крысы). Слева - открыты оба протока, справа - через 3 дня после действия АМН, открыт только вольфов проток

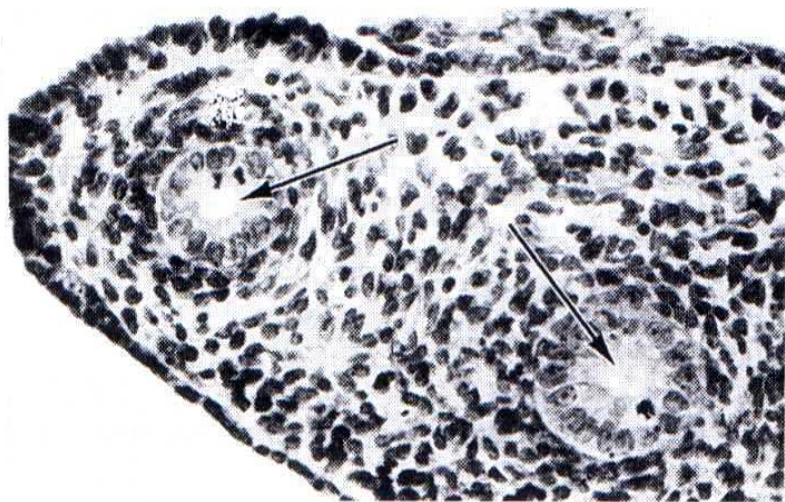
Figure 17.13

Assay for AMH activity in the anterior segment of a 14.5-day fetal rat reproductive tract.

(A) At the start of the experiment, both the Müllerian duct (arrow at left) and Wolffian duct (arrow at right) are open. (B) After 3 days in culture with AMH-secreting tissue, the Wolffian duct (arrow) is open, but the Müllerian duct has degenerated and closed.

(Photograph courtesy of N. Josso.)

(A)



(B)



Выявление гена *DAX1* на X-хромосоме, ответственного за формирование женского пола. Ген был идентифицирован на X-хромосоме (в виде двух копий) при анализе двух близнецов с женским фенотипом, но с генотипом XY

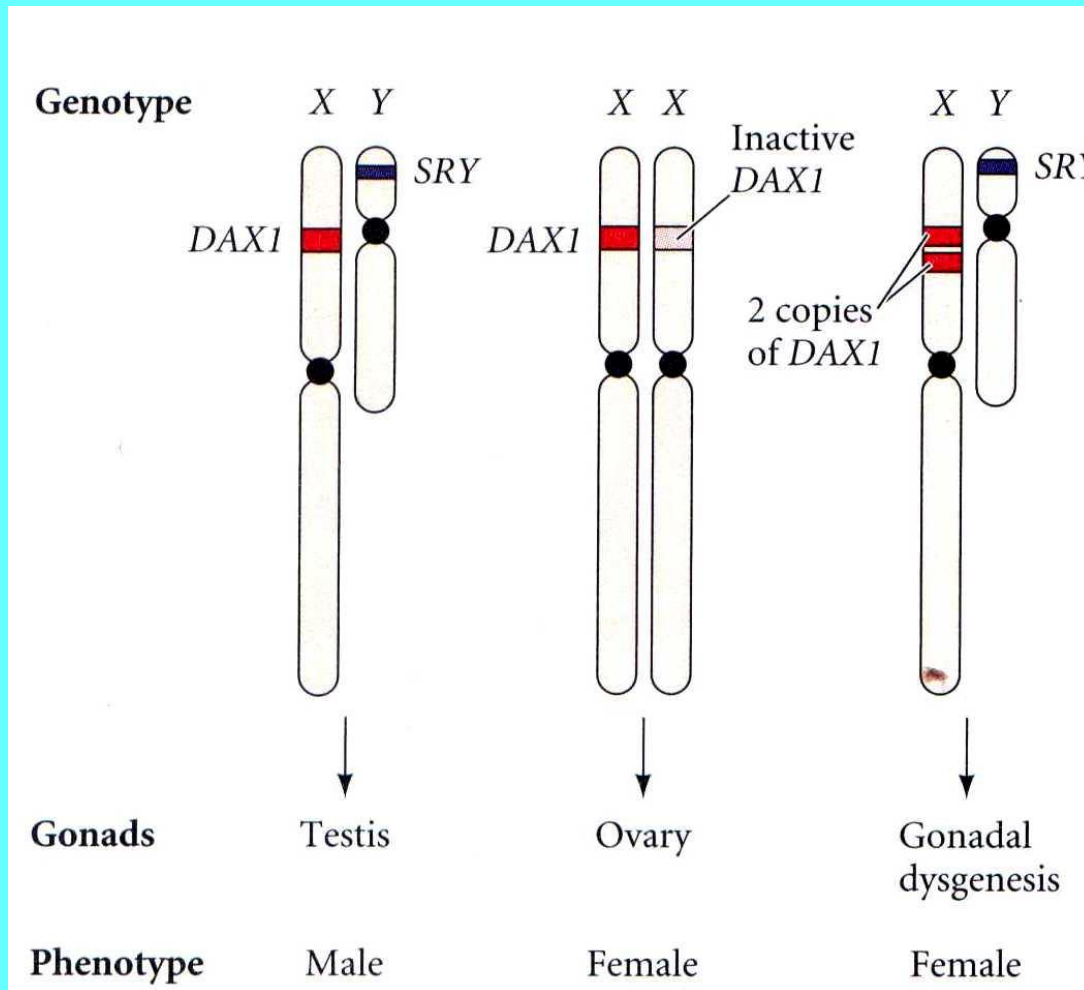


Figure 17.9

Phenotypic sex reversal in humans having two copies of the *DAX1* locus. *DAX1* (on the X chromosome) plus *SRY* (on the Y chromosome) produces testes. *DAX1* without *SRY* (since the other *DAX1* locus is on the inactive X chromosome) produces ovaries. Two active copies of *DAX1* (on the active X chromosome) plus *SRY* (on the Y chromosome) lead to a poorly formed gonad. Since the gonad makes neither AMH nor testosterone, the phenotype is female. (After Genetics Review Group 1995.)

Стероидогенный фактор SF1 в зачатках семенника активируется под контролем *SRY* и совместно с *SOX9* активирует экспрессию гена *Amh* в клетках Сертоли, а в клетках Лейдига - работу ферментов синтезирующих тестостерон. Белок DAX1 в зачатках яичника, напротив, угнетает экспрессию SF1, что приводит к активации WNT4, ранее угнетавшимся, и таким образом, к развитию яичников под контролем WNT4.

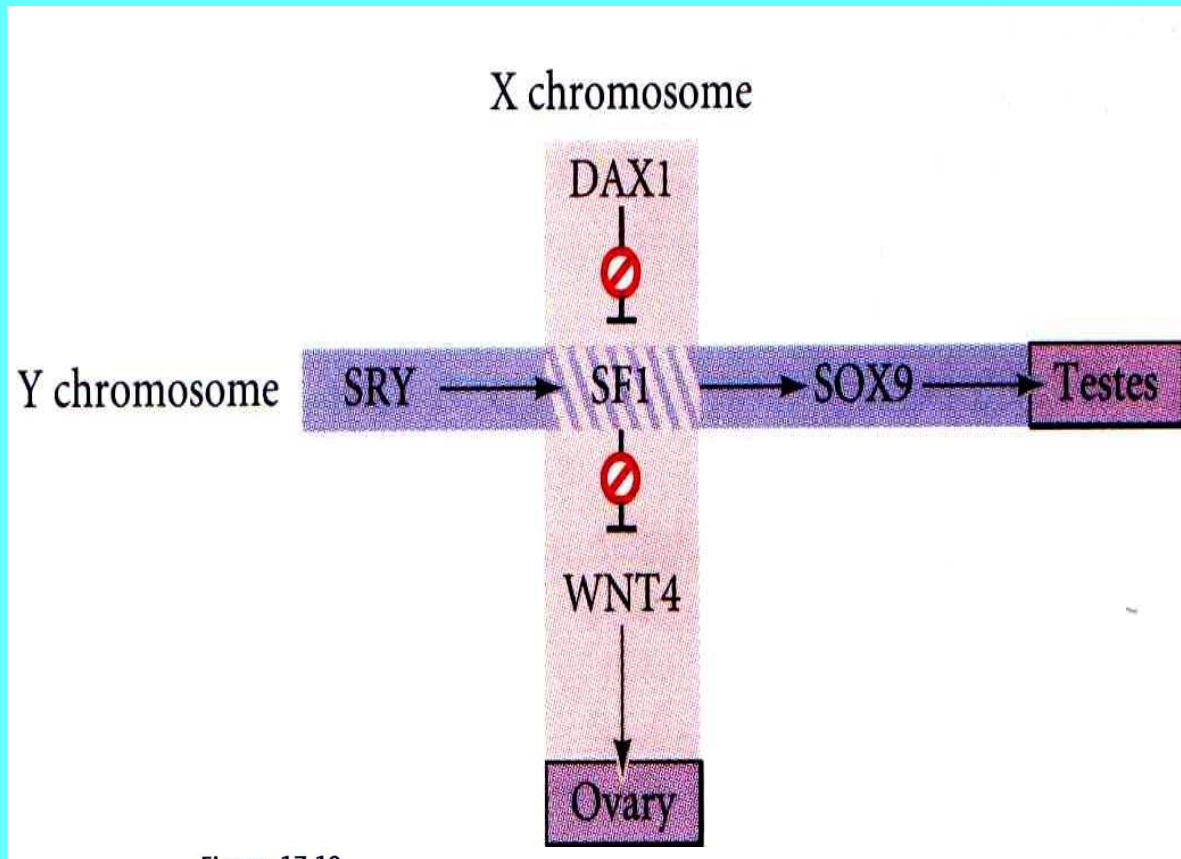


Figure 17.10

Possible mechanism for primary sex determination in mammals. While we do not know the specific interactions involved, this model attempts to organize the data into a coherent sequence. Other models are possible. In this model, *SRY* competes with the *DAX1* protein to activate or repress the *SF1* gene. If a single X and Y chromosome are present, the *SRY* will be favored, and the activation of *SF1* will occur. If two copies of *DAX1* are present on the X chromosome (or if there is no Y chromosome), the *SF1* gene will not be activated. The *SF1* protein is thought to activate the *SOX9* gene, which instructs the sex cords to develop into the Sertoli cells of the testes, and may also repress *WNT4*. *WNT4* would otherwise cause the differentiation of the gonad into an ovary. Most of the genes activated by *WNT4* and *SOX9* have not been identified, and the mechanisms by which *SRY* and *DAX1* function are not yet known.

Каскады регуляции, паракринными и транскрипционными факторами, ведущие к образованию альтернативных половых фенотипов млекопитающих

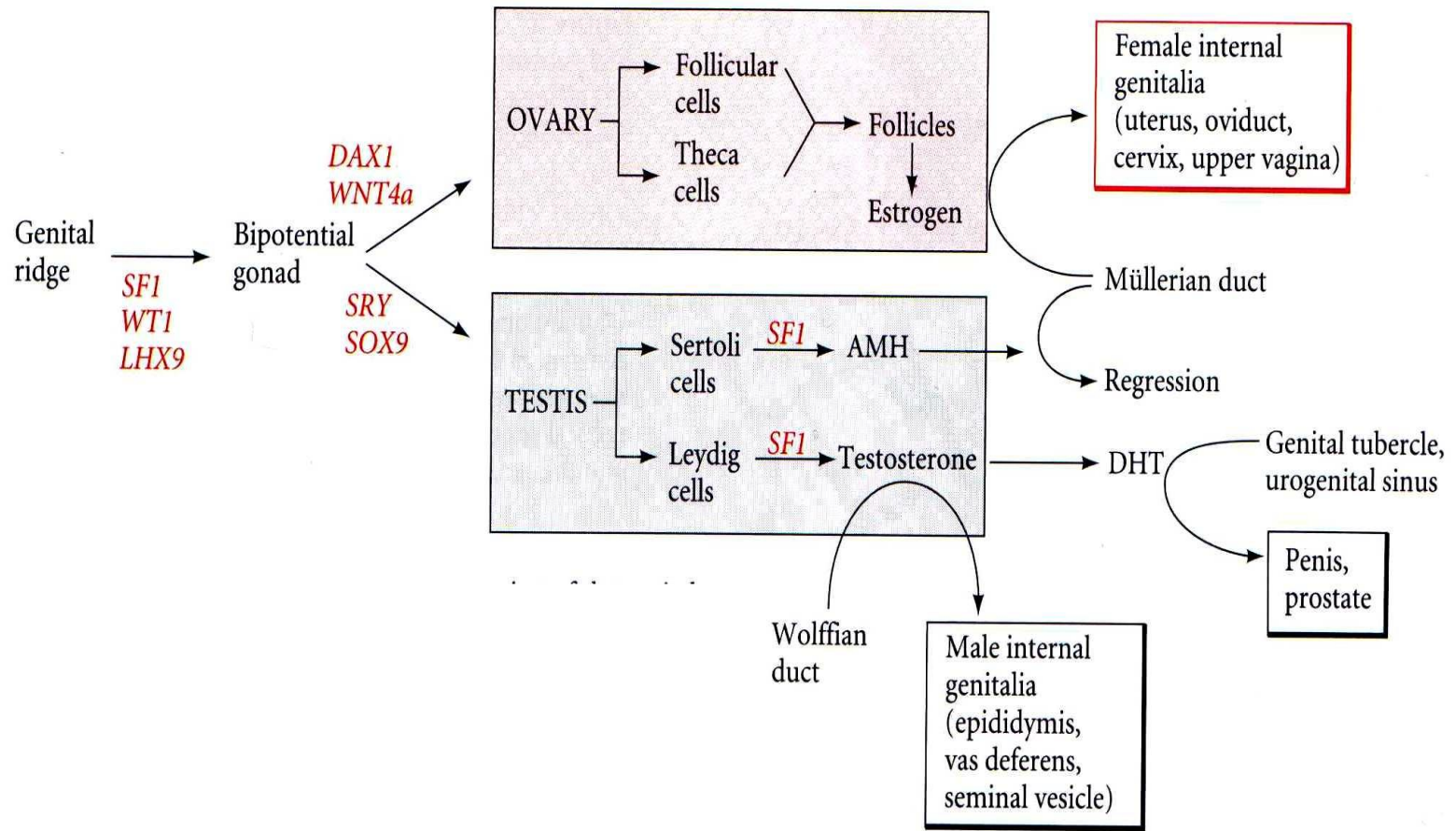


Figure 17.2

Postulated cascades leading to the formation of the sexual phenotypes in mammals. The conversion of the genital ridge into the bipotential gonad requires the *LHX9*, *SF1* and *WT1* genes, since mice lacking either of these genes lack gonads. The bipotential gonad appears to be moved into the female pathway (ovary development) by the *WNT4* and *DAX1* genes and into the male pathway (testis development) by the *SRY* gene (on the Y chromosome) in conjunction with autosomal genes such as *SOX9*. The ovary makes theca cells and granulosa cells, which together are capable of synthesizing estrogen. Under the influence of estrogen (first from the mother, then from the fetal gonads), the Müllerian duct differentiates into the female genitalia, and the offspring develops the secondary sex characteristics of a female. The testis makes two major hormones. The first, anti-Müllerian duct factor (AMH), causes the Müllerian duct to regress. The second, testosterone, causes the differentiation of the Wolffian duct into the male internal genitalia. In the urogenital region, testosterone is converted into dihydrotestosterone (DHT), and this hormone causes the morphogenesis of the penis and prostate gland. (After Marx 1995 and Birk et al. 2000.)

Тестостерон и 5 α -дигидротестостерон - андрогены. Тестостерон синтезируется в клетках Лейдига и отвечает за образование эпидидимиса, семенных пузырьков, *vas deferens* и, в меньшей степени, за образование мошонки и пениса. Дигидротестостерон образуется из тестостерона (фермент- 5 α –кетостероидредуктаза), синтезируется позднее в мочеполовом синусе и в семенных пузырьках, более активен в индукции образования уретры, простаты, мошонки и пениса. Небольшая община в Доминиканской республике имеет членов, несущих мутацию по ферменту кетостероидредуктазе, и, следовательно, не содержащих дигидротестостерона. Эти люди с генотипом ХУ до полового созревания имеют неразвитые внешние женские признаки, но при половом созревании большие количества тестостерона все же стимулируют образование мошонки и пениса и эти люди идентифицируются как юноши.

В клетках Лейдига, кроме тестостерона, синтезируется (и секретируется из клеток) инсулин-подобный гормон 3 - (Ins1-3). Он вносит вклад в формирование мошонки

Районы мужской половой системы, формирующиеся под контролем тестостерона и дигидротестостерона.

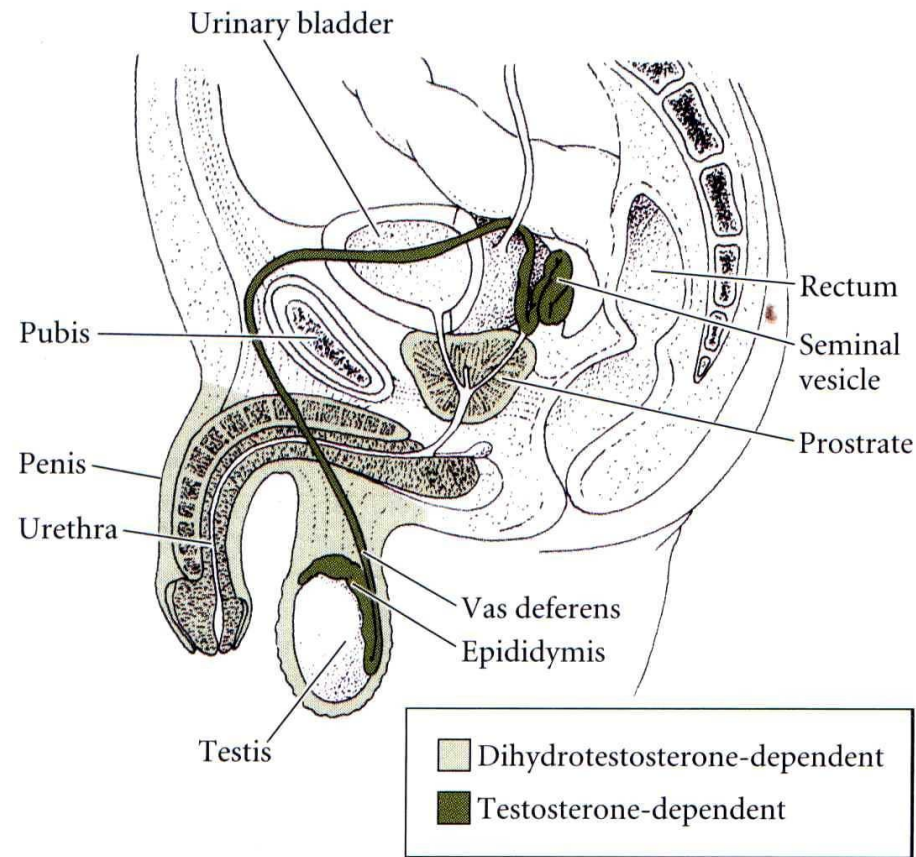


Figure 17.12

Testosterone- and dihydrotestosterone-dependent regions of the human male genital system. (After Imperato-McGinley et al. 1974.)

Мужские и женские стероидные гормоны. Эстрогены (включая диэтилстилбестрол) важны не только для формирования женских половых органов -матки, шейки матки, влагалища и клитора -из структур мюллерова протока, но также для развития молочных желез. Диэтилстилбестрол важен для нормального протекания беременности.

У самцов эстрогены продуцируются в ряде тканей (включая мозг) и важны для фертильности спермы. Если концентрация эстрогенов в крови выше у самок, то концентрация их в канальцах семенников - rete testis выше, чем в крови у самок. У самок также имеются андрогены

Gonadal Steroids

- **Male sex hormones:**

- testosterone, dihydrotestosterone, estradiol

- **Female sex hormones:**

- progesterone, estrogen, estradiol

Виды женских половых гормонов и их функции

Female Sex Hormone Functions

- Estrogens
 - required for maturation of female sex characteristics, genital and breast development
 - growth of endometrial lining
 - alteration of fat distribution, decrease lipid oxidation, increase TG synthesis
 - decrease bone resorption by antagonizing PTH

Female Sex Hormone Functions

- Progesterone
 - glandular development in breast
 - cyclic glandular development of endometrium
 - can compete with aldosterone
 - increases body temp
 - alters respiratory function

Female Sex Hormone Functions

- Androgens
 - principally testosterone and dihydrotestosterone
 - may be responsible for normal hair growth
 - possible roles in other metabolic processes

Хромосомная детерминация пола у *Drosophila*
Особи генотипа XX -самки и генотипа XY -самцы. В
случае генотипа XO -также образуются самцы, но
стерильные

У дрозофилы (и у многих других насекомых) нет
гормонального контроля формообразования пола. Пол
определяется соотношением числа X-хромосом к числу
наборов аутосом - X:A. В случае $X:A = 1$ -пол женский, в
случае $X:A = 0,5$ -пол мужской..

Балансовая гипотеза определения пола К. Бриджеса.

Гинандроморфы дрозофилы и мотылька, образовавшиеся в результате утраты в раннем развитии из ряда клеток одной их X-хромосом. В результате организм содержит частично женские, частично мужские структуры .

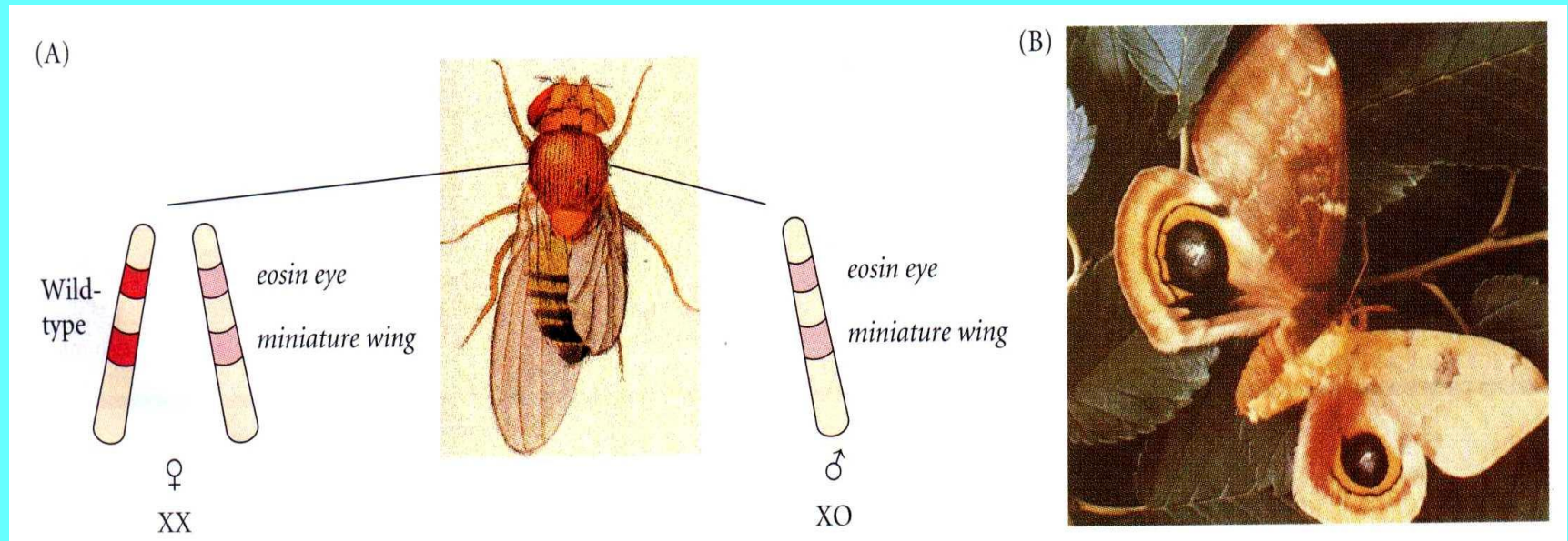


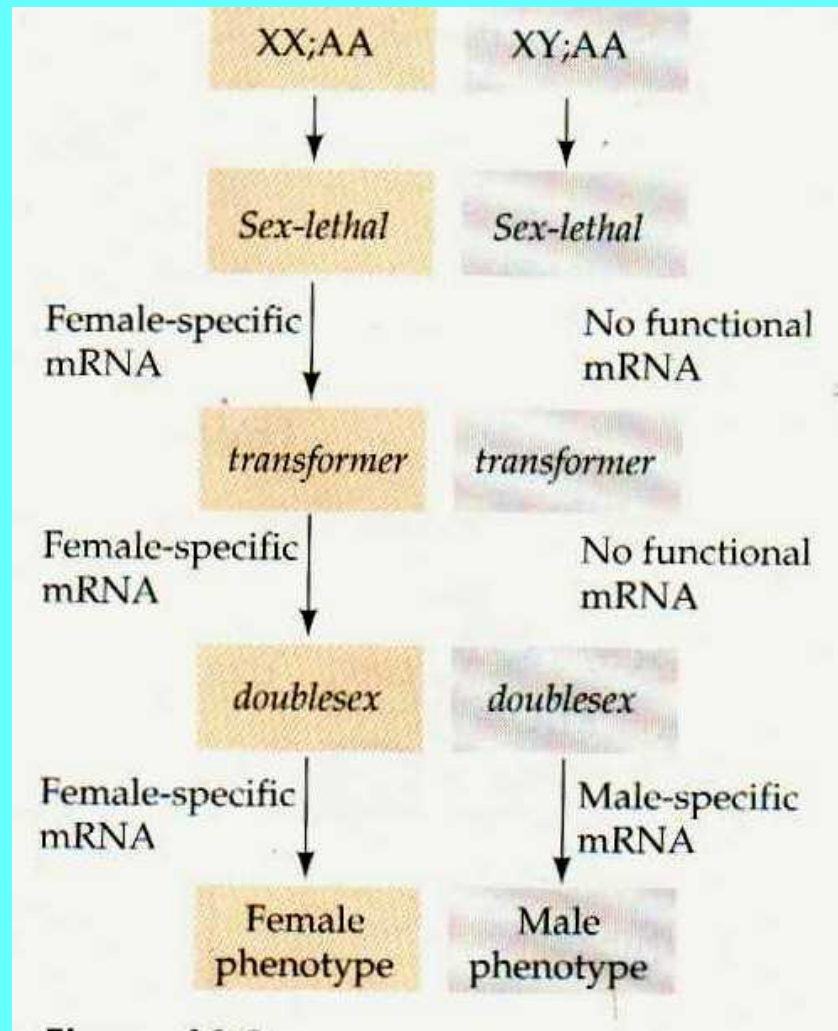
Figure 17.15

Gynandromorphs. (A) Gynandromorph of *D. melanogaster* in which the left side is female (XX) and the right side is male (XO). The male side has lost an X chromosome bearing the wild-type alleles of eye color and wing shape, thereby allowing the expression of the recessive alleles *eosin eye* and *miniature wing* on the remaining X chromosome. (B) Photograph of a gynandromorphic *Io* moth, divided bilaterally into a rose-brown female half and a smaller, yellow male half. (A from Morgan and Bridges 1919, drawn by Edith Wallace. B; photograph by T. R. Manley, courtesy of *The Journal of Heredity*.)

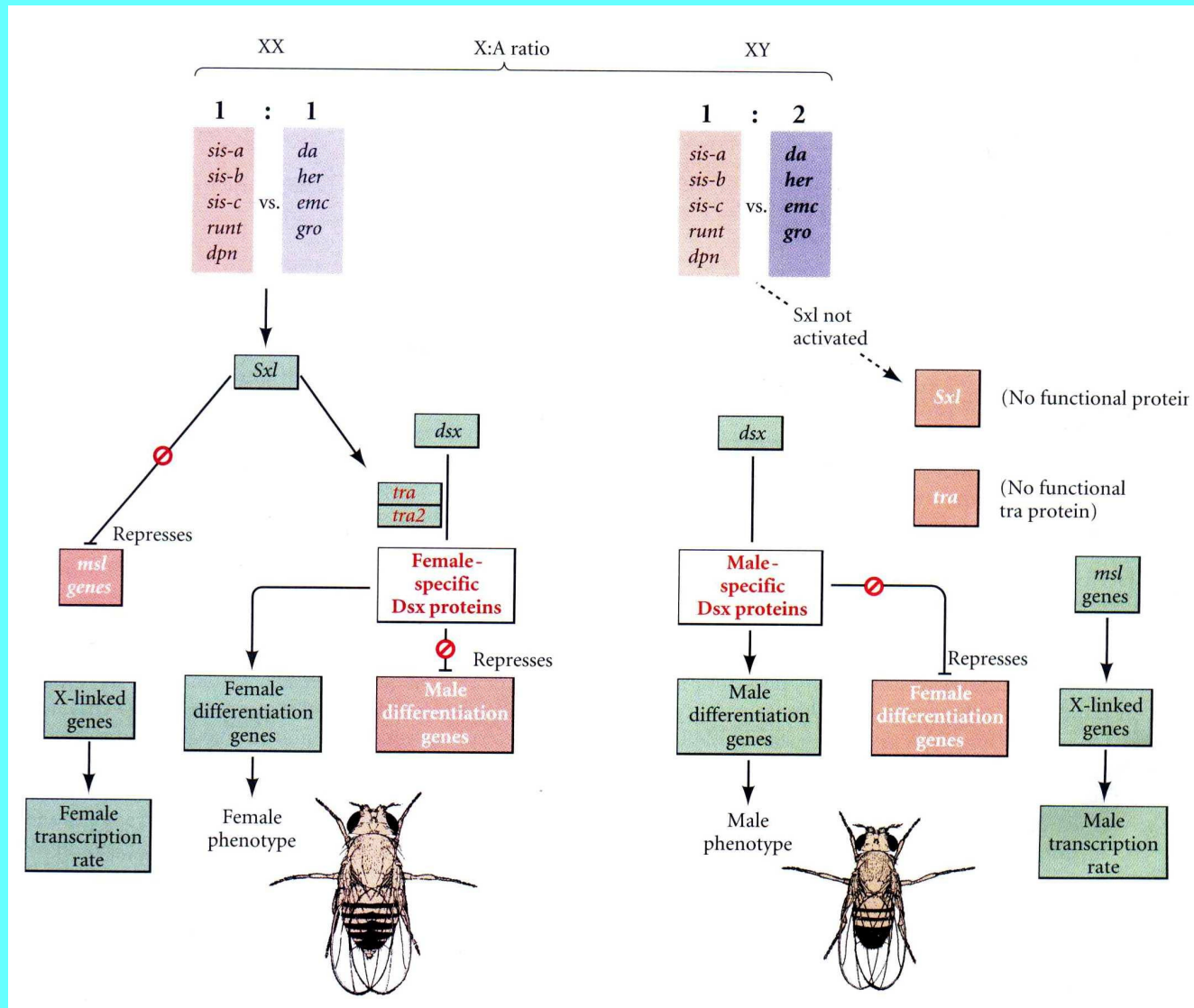
Гены нумераторы (**числителя**), локализованные на X-хромосоме, кодируют факторы транскрипции *sisterless-a*, *sisterless-b=scute* (*sis-a, sis-b*), *runt* (*runt*), активирующие транскрипцию гена *sxl* с проксимального промотора. Гены деноминаторы (**знаменателя**), локализованные на аутосомах, кодируют факторы транскрипции *deadpan* (*dpn*), *daughterless* (*da*), *extramacrohaeta* (*emc*) и др., которые репрессируют активацию гена *sex-lethal* (*sxl*) с проксимального промотора.

Активаторы (белки-нумераторы) и репрессоры (белки-деноминаторы) способны комплексовать и решающим событием в активации *sxl* является преодоление возможности репрессоров угнетать действие активаторов. В случае активации *sxl* с раннего (ближнего) промотора (при отношении $X:A=1$) (генотип -XX) альтернативный сплайсинг осуществляется с образованием функционально активного белкового продукта *sxl*, который, являясь фактором сплайсинга, взаимодействует с собственной пре-иРНК и закрепляет этот же вариант сплайсинга *sxl* для дальнейших целей. В случае отношения $X:A=0,5$ (генотип XY/X0) в транскрипционном комплексе преобладают репрессоры, *sxl* не транскрибируется с раннего (проксимального) промотора.

Схематическое представление генетической программы детерминации пола *Drosophila*, определяемое соотношением X:A. Детерминация пола по мужскому или женскому типу определяется по цепочке генов: *sex-lethal*, *transformer*, *doublesex*, последовательно регулирующих друг друга путём альтернативного сплайсинга. Формирующийся в конечном счёте фактор транскрипции *doublesex* существует в виде двух вариантов - dsx^F (самки) dsx^M (самца), что и определяет будущий пол.



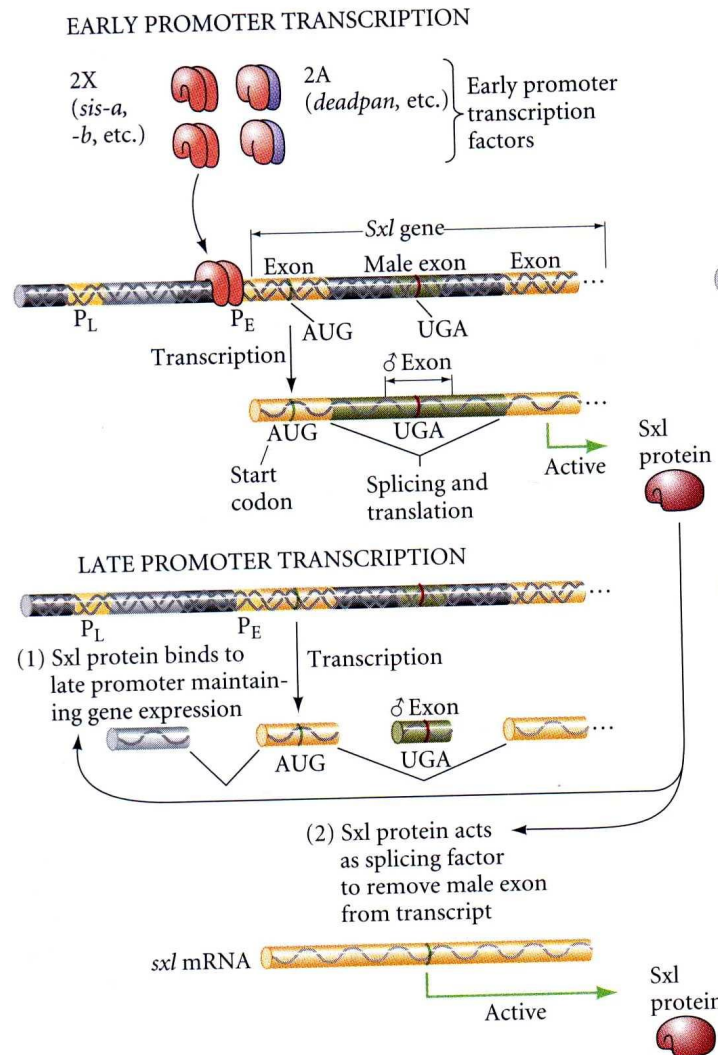
Каскады регуляций, контролирующих формирование половых структур самки и самца дрозофилы. Различная активация гена *sxl* (*sex-lethal*) будущих самок и самцов дрозофилы. Деятельность генов нумераторов и деноминаторов определяет альтернативную транскрипцию и сплайсинг *sxl*.



Различная активация гена *sxl* будущих самок и самцов дрозофилы.

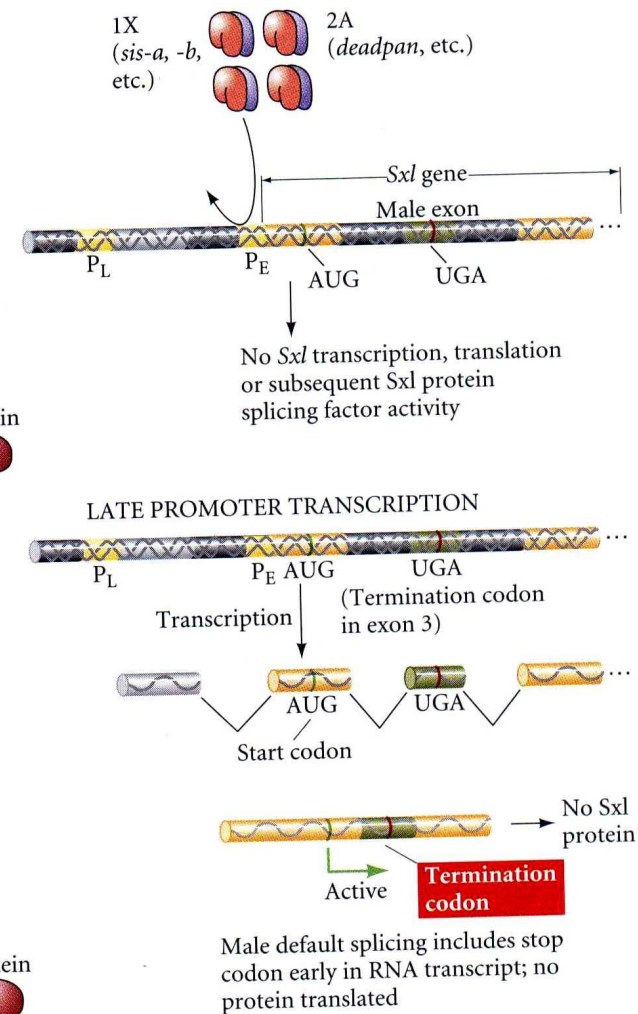
Деятельность генов нумераторов и деноминаторов определяет альтернативные транскрипцию и сплайсинг *sxl*

(A) Female 2X:2A



(B) Male 1X:2A

Heterodimer transcription factors do not initiate *Sxl* transcription



Альтернативный сплайсинг -основной путь реализации программы детерминации пола у дрозофилы (последовательность событий)

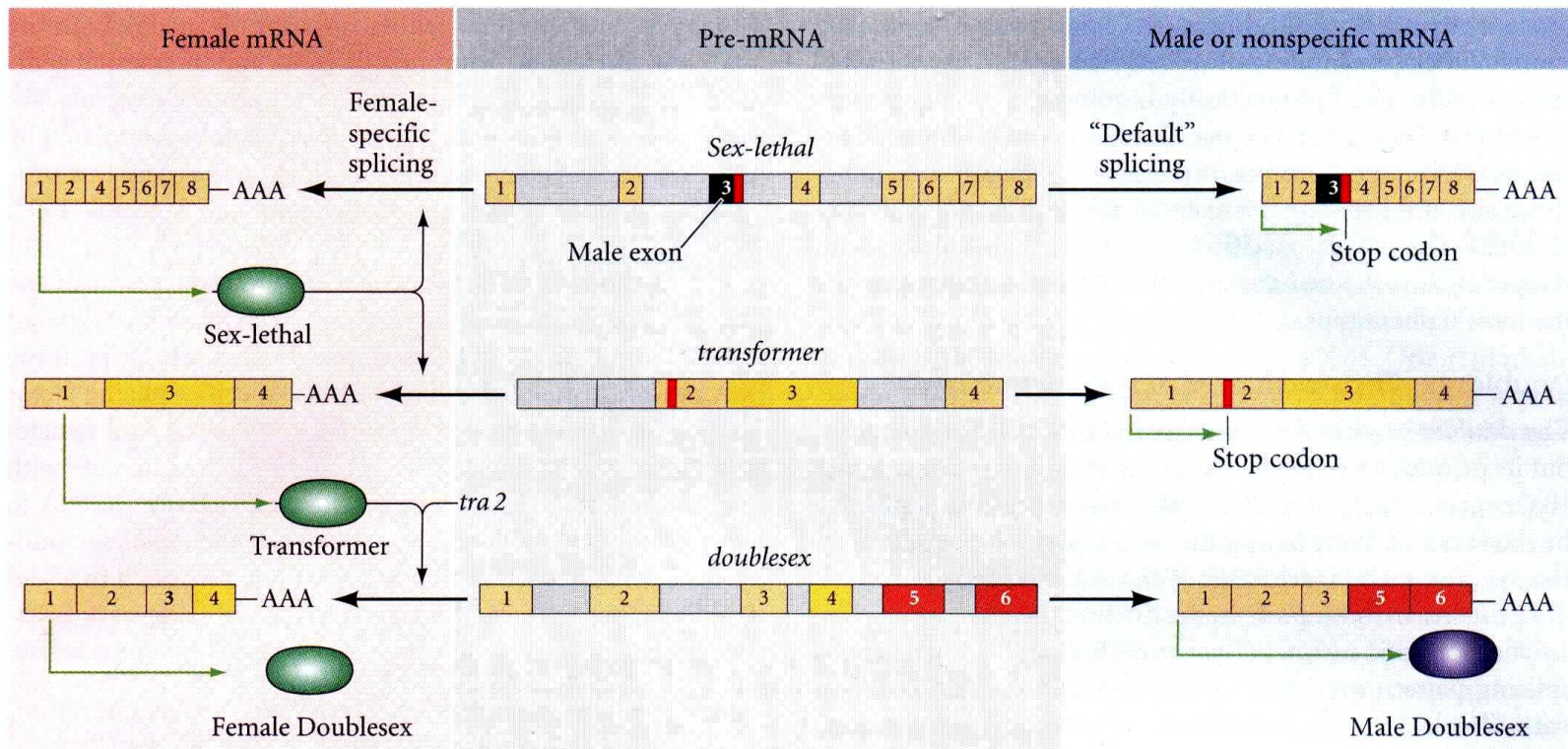


Figure 17.18

The pattern of sex-specific RNA splicing in three major *Drosophila* sex-determining genes. The pre-mRNAs are located in the center of the diagram and are identical in both male and female nuclei. In each case, the female-specific transcript is shown at the left, while the default transcript (whether male or nonspecific) is shown to the right. Exons are numbered, and the positions of the termination codons and poly(A) sites are marked. (After Baker 1989.)

По ходу развития, когда *sxl* начинает транскрибироваться с позднего (дистального) промотора, альтернативный сплайсинг *sxl* при генотипе XY/X0 идет с сохранением третьего экзона, в котором находится стоп-кодон. В результате чего белковый продукт *sxl* у самца - дефектен. Он не способен функционировать как фактор сплайсинга.

Напротив, белковый продукт *sxl* самки (XX)-функционально активный фактор сплайсинга не только для своей РНК, но и для пре-иРНК гена *transformer (tra)*, что предопределяет образование белка *tra* как следующего фактора сплайсинга, модифицирующего (совместно с другим белком- *tra2*) сплайсинг следующего в каскаде гена — *doublesex (dsx)*. В результате образуется фактор транскрипции -Dsx^F (фенотипа самки). В отсутствии активного *tra*-белка сплайсинг *dsx* проходит по другому варианту и образуется видоизмененный фактор транскрипции Dsx^M (фенотипа самца).

Формирование мужской и женской половых гонад у дрозофилы под контролем различных форм Dsx

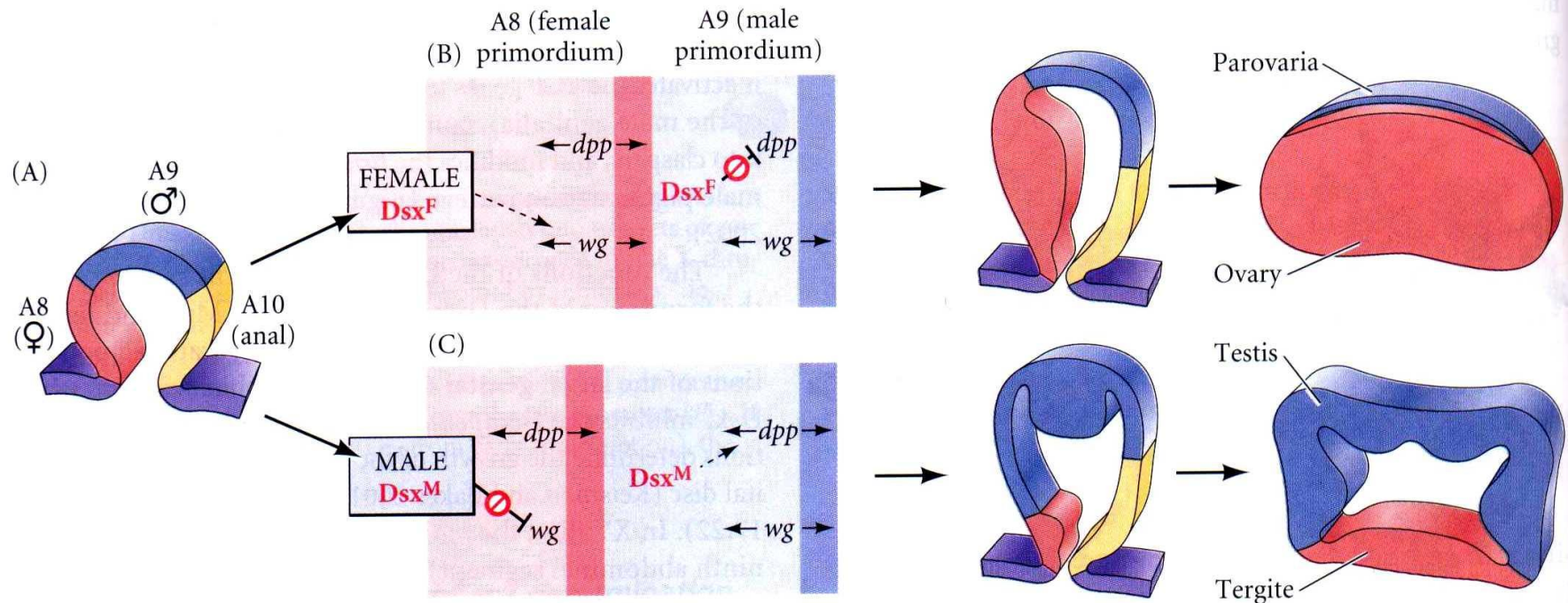


Figure 17.22

Action of Doublesex proteins to form the gonads of *Drosophila*. (A) The genital disc is derived from abdominal segments A8, A9, and A10. A8 forms the female portion of the disc, A9 forms the male portion of the disc, and A10 forms the anal structures (which will not be discussed here). (B) The female-specific Dsx protein inhibits *dpp* in the ninth ("male") abdominal segment, while enhancing *wingless* expression in the eighth ("female") abdominal seg-

ment. This causes the growth and development of the eighth abdominal segment into an ovary and the differentiation of the ninth abdominal segment into the parovarian accessory organs. (C) Conversely, the male-specific Doublesex protein inhibits *wingless* expression in the eighth abdominal segment, while enhancing *dpp* function in the ninth abdominal segment. This interaction allows the ninth segment to grow and develop into testes, while the eighth segment differentiates into a tergite. (After Keisman et al. 2001.)

Роли Dsx^M и Dsx^F в формировании пола у дрозофилы.
 Dsx - транскрипционный фактор, действующий как репрессор или как активатор, для каждого пола в альтернативной манере

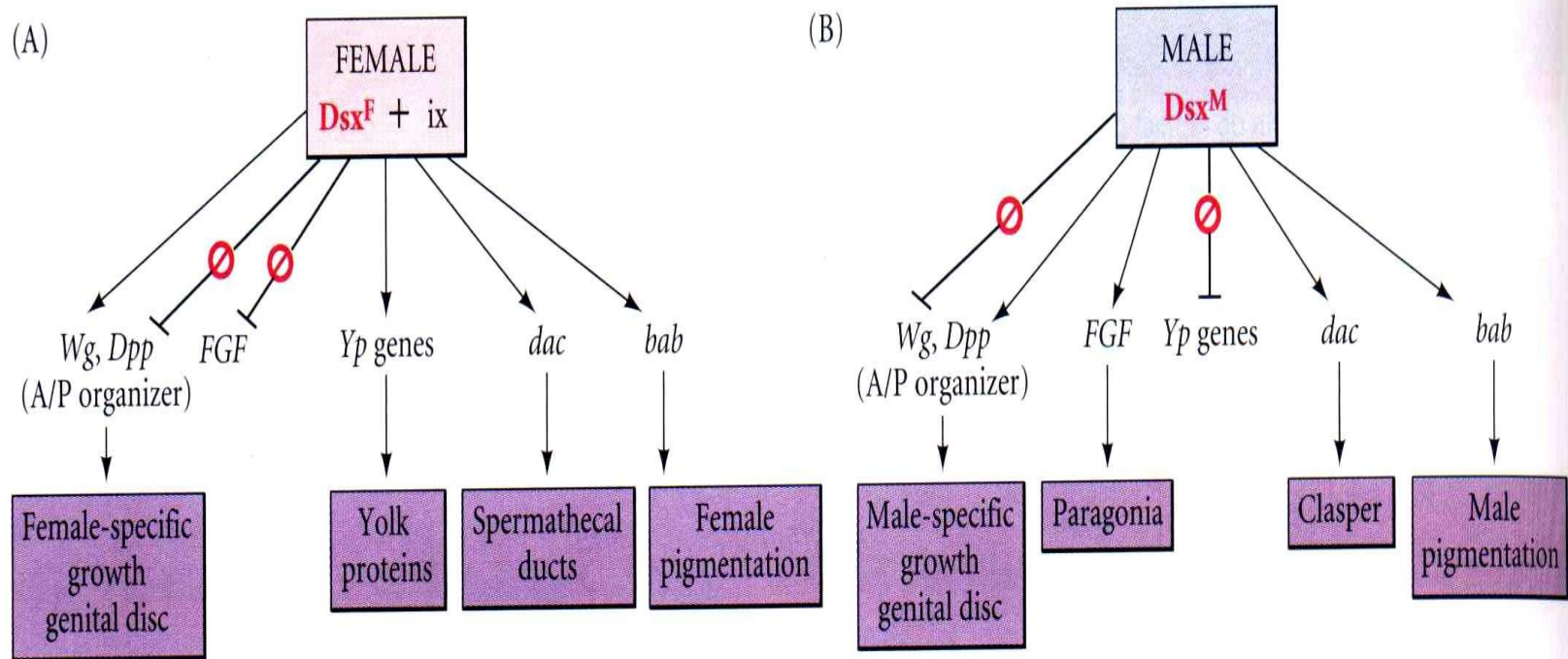


Figure 17.21

The roles of the Dsx^M and Dsx^F proteins in *Drosophila* sexual development. (A) Dsx^F functions with Intersex to promote female-specific expression of those genes that control the growth of the genital disc, the synthesis of yolk proteins, the formation of spermathecal ducts (which keep sperm stored after mating), and pigment patterning. (B) Conversely, Dsx^M acts as a transcription factor to promote

the male-specific growth of the genital disc, the formation of male genitalia, the conversion of cuticle into claspers, and the male-specific pigmentation pattern. In addition, Dsx^F represses certain genes involved in specifying male-specific traits (such as the paragonia), and Dsx^M represses certain genes involved synthesizing female-specific proteins such as yolk protein. (After Christiansen et al. 2002.)

Нематода *Caenorhabditis elegans* имеет два пола: XX -гермафродиты (более 99% популяции) и XO -самцы. У взрослой особи (гермафродита) число соматических клеток тела- 959 (у первой личинки -558). Число половых клеток больше (более 1500).

*Hermaphrodites are named after the son of Hermes (Mercury) and Aphrodite (Venus). Having inherited the beauty of both parents, he excited the love of the nymph of the Salmacis fountain. As he bathed in this fountain, she embraced him, praying to the gods that they might forever be united. She got her wish in the most literal of fashions.

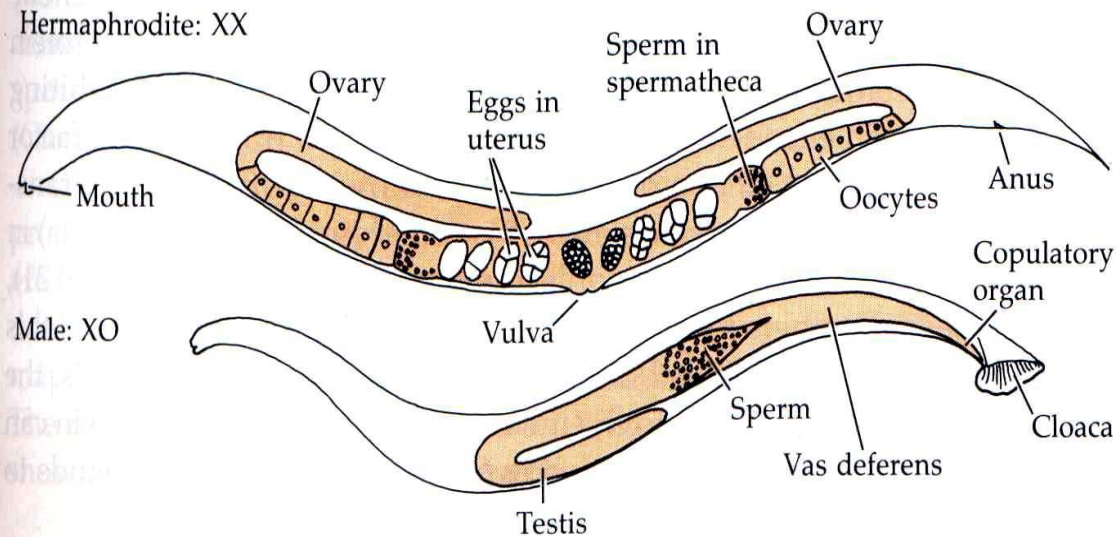


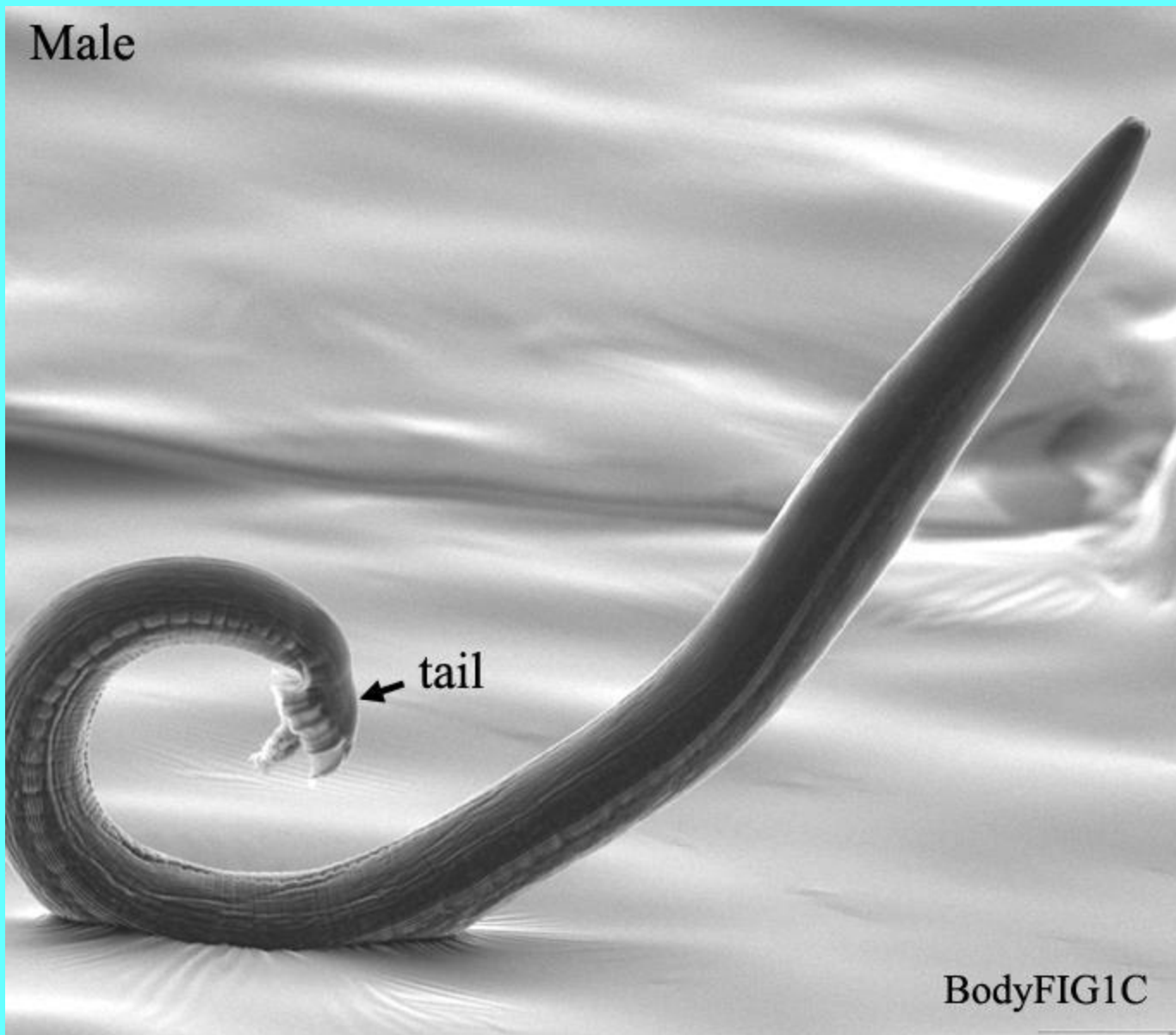
Figure 20.19

Schematic diagrams of the hermaphrodite and male *Caenorhabditis elegans*, emphasizing their reproductive systems. (From Hodgkin, 1985.)

Нематода *Caenorhabditis elegans*, гермафродитная особь

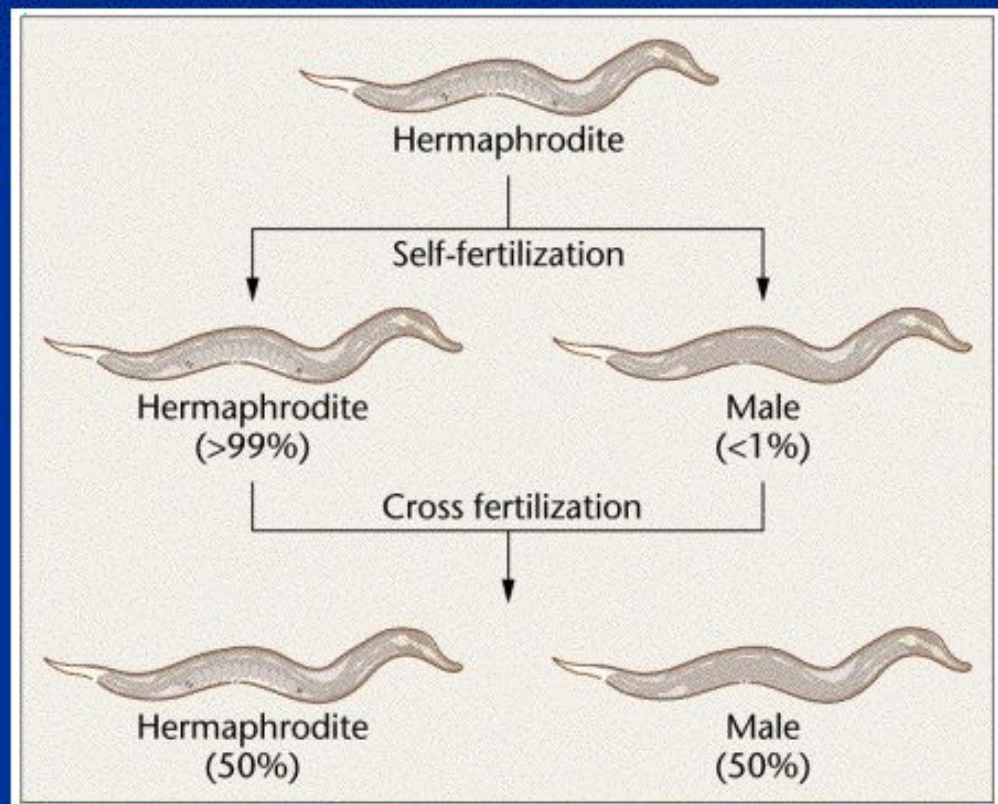


Нематода *Caenorhabditis elegans*, самец



В случае самооплодотворения 0,2% новых особей -самцы, остальные -гермафродиты, в случае спаривания особей XX и XO - половина новых особей - самцы.

Caenorhabditis elegans - roundworm; popular in genetic studies because it is known that the hermaphroditic adult has exactly 959 cells; genome has been sequenced



Детерминация пола у *C. Elegans* (также как и у *Drosophila* имеет значение отношение числа X-хромосом к числу наборов аутосом; **Sex-1** – один из представителей генов-нумераторов).

Определяющими моментами являются активация гена *tra-1* (не родственного гену *tra* дрозофилы). Соотношение X : A сканируется фактором транскрипции Sex-1, влияющим на активность гена *hol-1*: высокие дозы белка *hol-1* меняют характер регуляции в детерминации пола с активации (гермафродиты) на репрессию (самцы)

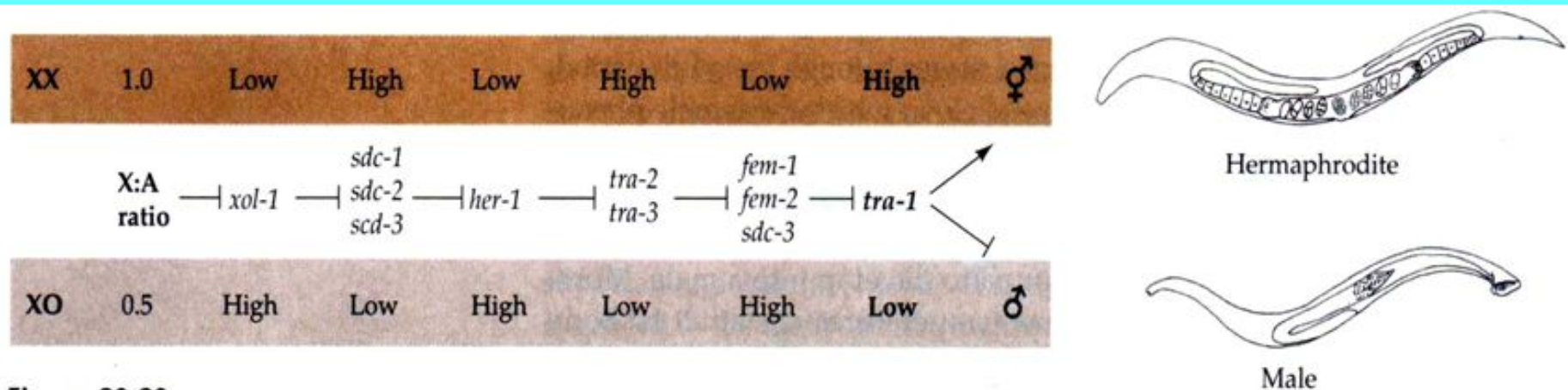
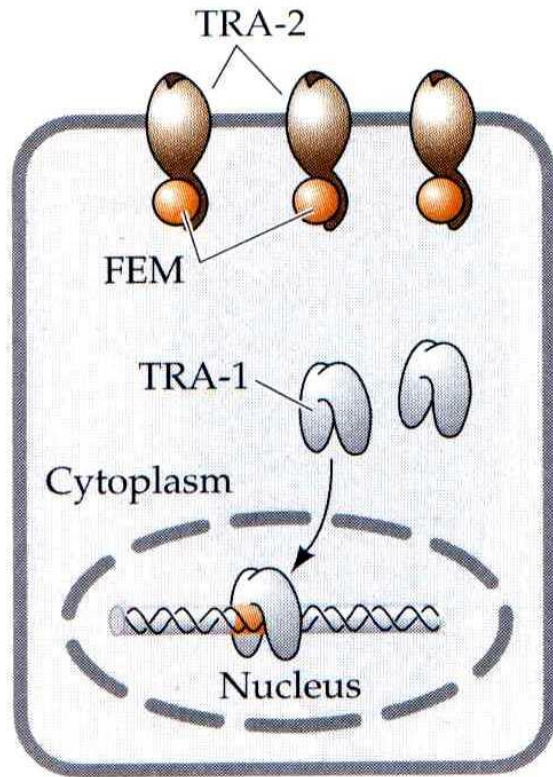


Figure 20.20

Схематическая модель соматического определения пола в *C.elegans*. *Sdc-1* ген, как постулируется, вовлекается в передачу отношения X/A. Это управляет X компенсациями дозировки хромосомы так же как подавлением ее *her-1* гена, если отношение 1. High/Low обозначение отражает функциональную активность гена. Активность *sdc* генов в конечном счете приводит к активности *tra-1* гена, активность которого вызывает гермафродитный фенотип. *sdc* гены могут быть ингибированы *xol* геном, который активен только в XO (самцы).

Сигнальная цепочка детерминации пола *C. elegans*. Перемещение в ядро транскрипционного фактора TRA-1 означает реализацию гермафродитного фенотипа. Фактор Her-1 особи X0, взаимодействуя с мембрано-связанным белком TRA-2, вызывает детерминацию пола по мужскому типу. При этом промежуточный участник – белок FEM, удерживает TRA-1 в цитоплазме (диссоциирует с последним при детерминации пола по XX-гермафродитному пути).

XX Hermaphrodites



XO Males

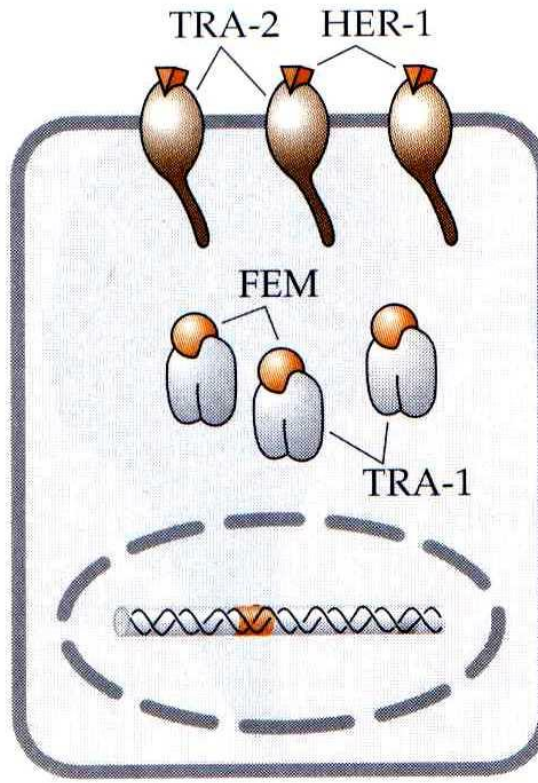


Figure 20.21

Hypothetical scheme for the actions of sex-determining genes in *C. elegans*. In XX individuals, the FEM proteins are sequestered near the cell membrane by the products of the *tra-2* genes. In the absence of the FEM proteins, TRA-1 protein enters the nucleus to transcribe genes needed for hermaphroditic development. In XO individuals, the HER-1 protein binds to the TRA-2 product, causing the TRA-2 product to release the FEM proteins. Once free in the cytoplasm, the FEM proteins can bind the TRA-1 product, preventing it from entering the nucleus. (After Kuwabara and Kimble, 1992.)

Детерминация первичных половых клеток у гермафродитов по мужскому или женскому пути осуществляется в два этапа: **1 этап** -переход от митоза к мейозу контролируется дистальной концевой клеткой гонады и сигналингом Notch/Delta. Ген *glp1* первичных половых клеток - гомолог гена *Notch* дрозофилы, ген *lag2* клетки дистального конца гонады - гомолог *Delta*, его белковый продукт входит в состав плазматической мембраны дистальной клетки

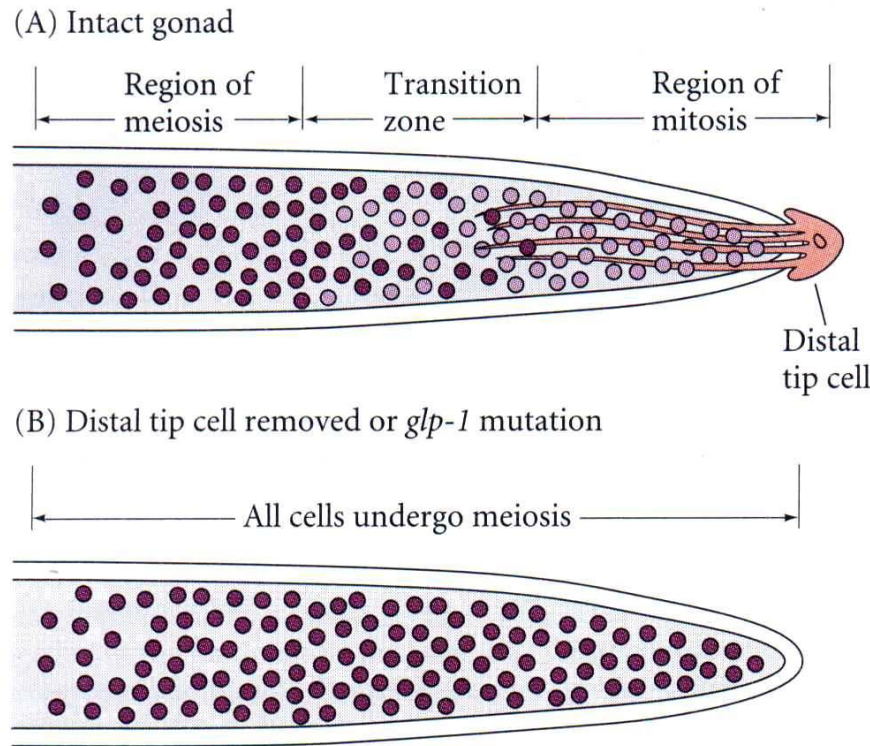


Figure 19.15

Regulation of the mitosis-or-meiosis decision by the distal tip cell of the *C. elegans* ovotestis. (A) Intact gonad early in development with regions of mitosis (light-colored cells) and meiosis. The plasma membranes of the distal tip cell's extensions contain the *C. elegans* homologue of Delta, while the PGCs contain the *C. elegans* homologue of Notch. (B) Gonad after laser ablation of the distal tip cell. All germ cells enter meiosis.

Детерминация первичных половых клеток по мужскому или женскому пути у гермафродитов осуществляется в два этапа: **2 этап** -выбор между сперматогенезом и оогенезом контролируется на уровне трансляции иРНК *fem3* белками Nanos и Pumilio (гомологами одноименных белков дрозофилы). Одновременное присутствие Pumilio и Nanos блокирует трансляцию иРНК *fem3* и, как следствие, осуществляется оогенез.

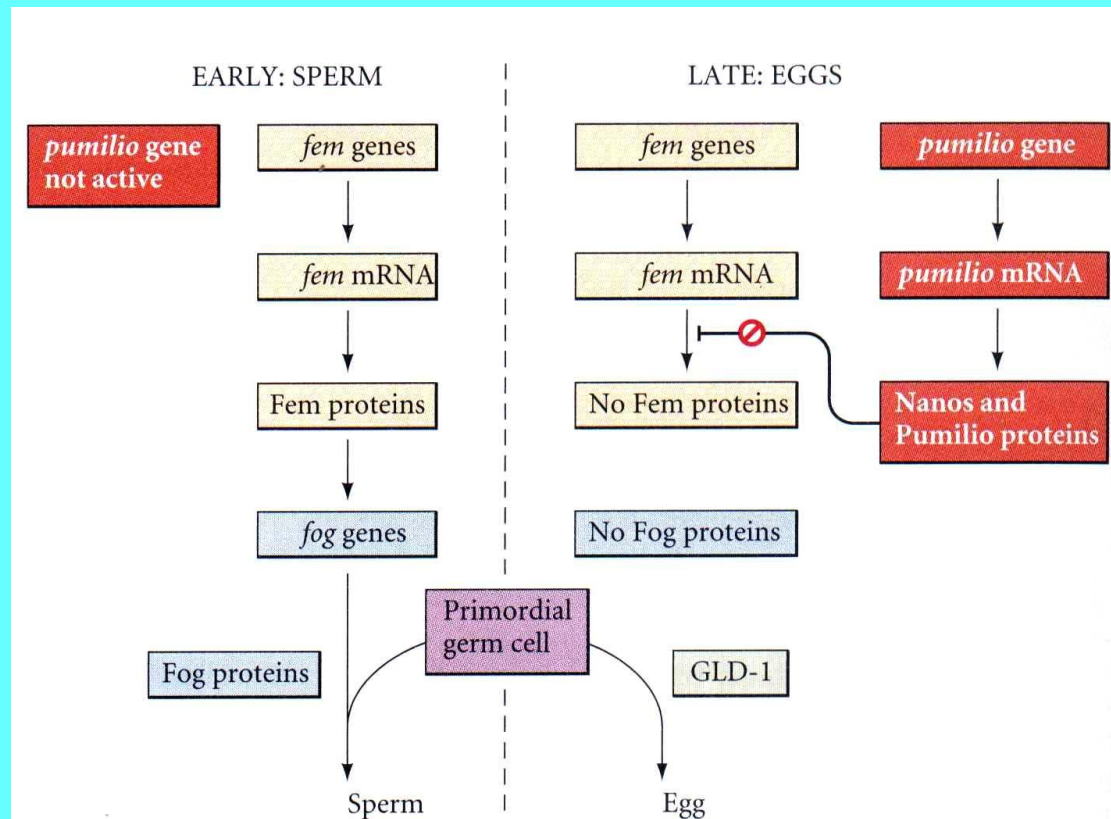


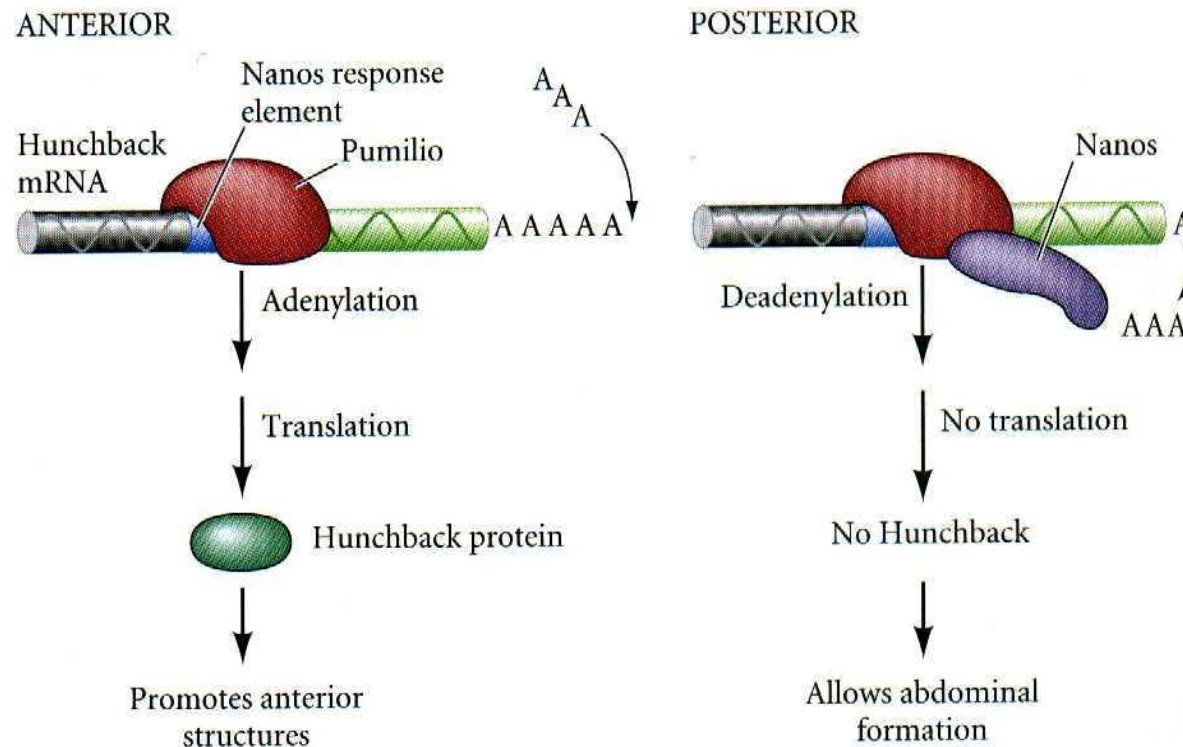
Figure 19.16

Model of sex determination switch in the germ line of *C. elegans* hermaphrodites. Sex determination in somatic tissues, showing a hierarchy of negative regulation. In the early larva, Pumilio is not synthesized, and the *fem* mRNA is able to be translated. The FEM proteins activate the *fog* genes, whose proteins cause the germ cells to undergo spermatogenesis. Later in development, *pumilio* is activated, and combines with Nanos to make a repressor of *fem* translation. Without FEM, the GLD-1 protein can function to make certain the germ cell undergoes oogenesis.

Образование градиента Hunchback в бластодерме дрозофилы . Контроль трансляции мРНК *hunchback* белками Nanos и Pumilio

Figure 9.16

Control of *hunchback* mRNA translation by Nanos. In the anterior of the embryo, Pumilio protein binds to the Nanos Response Element (NRE) in the 3' UTR of the *hunchback* message, and the message is polyadenylated normally. This polyadenylated message can be translated into Hunchback protein. In the posterior of the embryo, where Nanos protein is found, Nanos binds to Pumilio to cause the deadenylation of the *hunchback* message. This prevents the translation of the *hunchback* message. (After Wreden et al. 1997.)



Эволюционные связи между генами, ответственными за детерминацию пола у разных животных

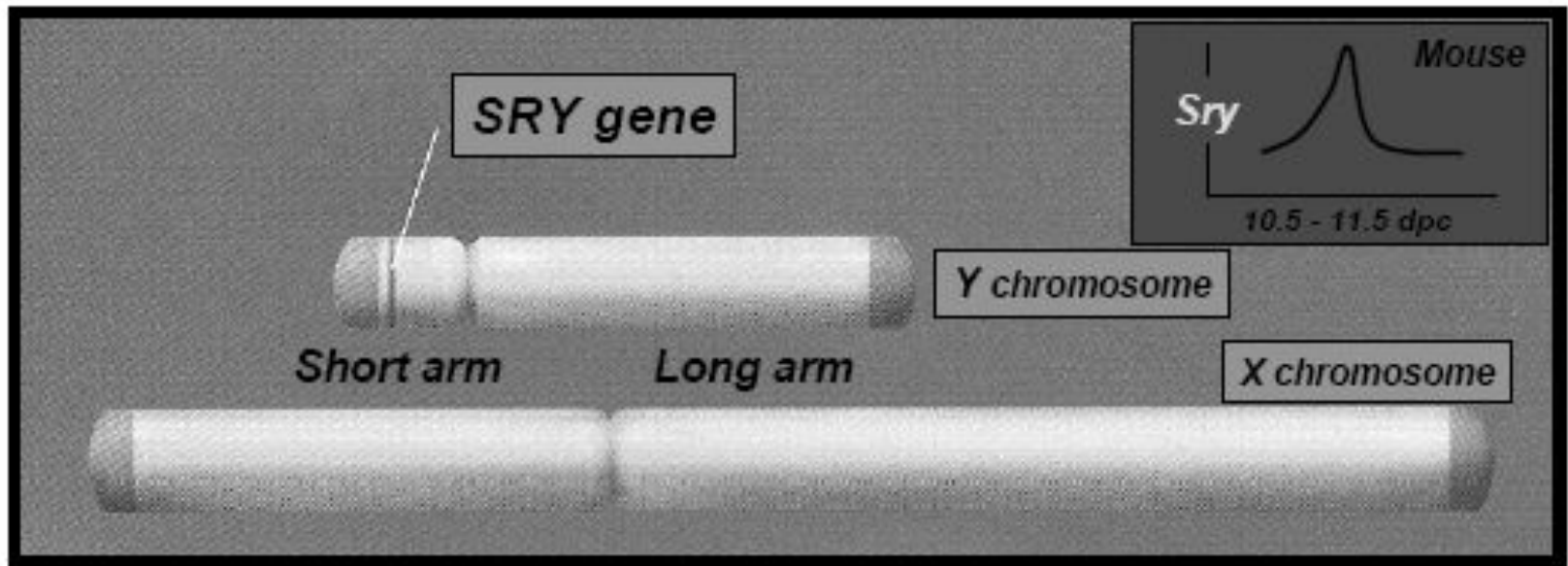
- В то время как *Sry* обнаруживается только у млекопитающих, *Sox9* имеется у всех позвоночных. Следовательно, *Sox9* является более древним геном и, видимо, играет более общую роль в детерминации пола, чем *Sry*. У млекопитающих *Sox9* активируется родственным геном *Sry*. Таким образом, *Sry* может действовать, прежде всего, как «включатель», активирующий ген *Sox9*, а уже белок *Sox9* инициирует эволюционно консервативный путь образования семенников (Pask, Graves 1999).

Сколько раз в эволюции возникали механизмы детерминации пола?

Sex-determining Genes in Vertebrates

1) Mammals:

SRY / Sry (Sex-determining region Y)
(Sinclair et al., 1990)



2) Non-mammalian vertebrates:

No SRY / Sry or equivalent gene

Matsuda et al. 2002 (Medaka sex-determining gene, DMY)

Nanda et al. 2002 (Medaka sex-determining gene, DMRT1bY)

Сколько раз в эволюции возникали механизмы детерминации пола?

Гипотеза:

Существуют две группы позвоночных (начиная с костистых рыб), у одной группы –функционально активен ортолог гена *Sox9*, у другой

гены ортологи *DMRT*

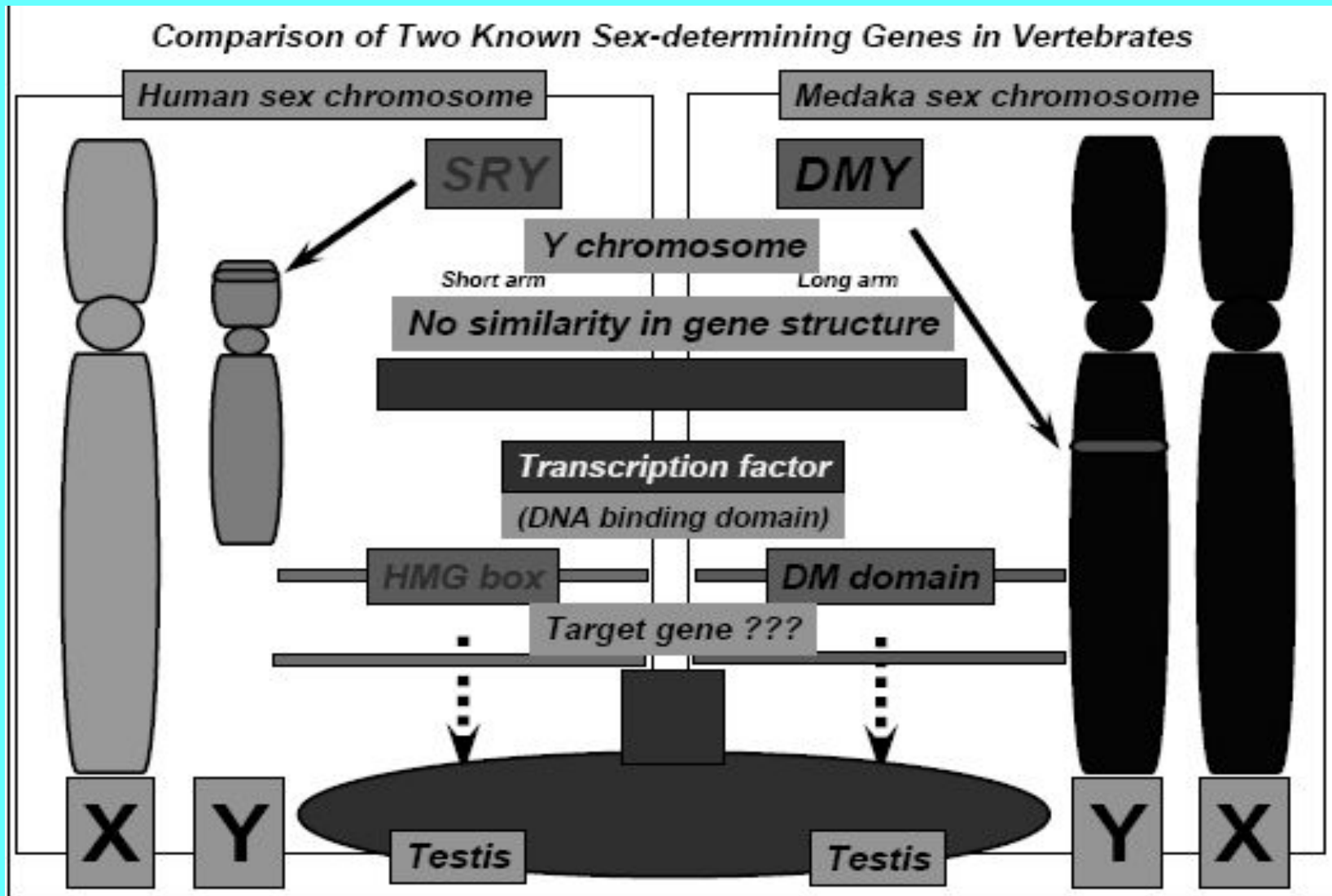
TABLE 1

Full description of gene abbreviations.

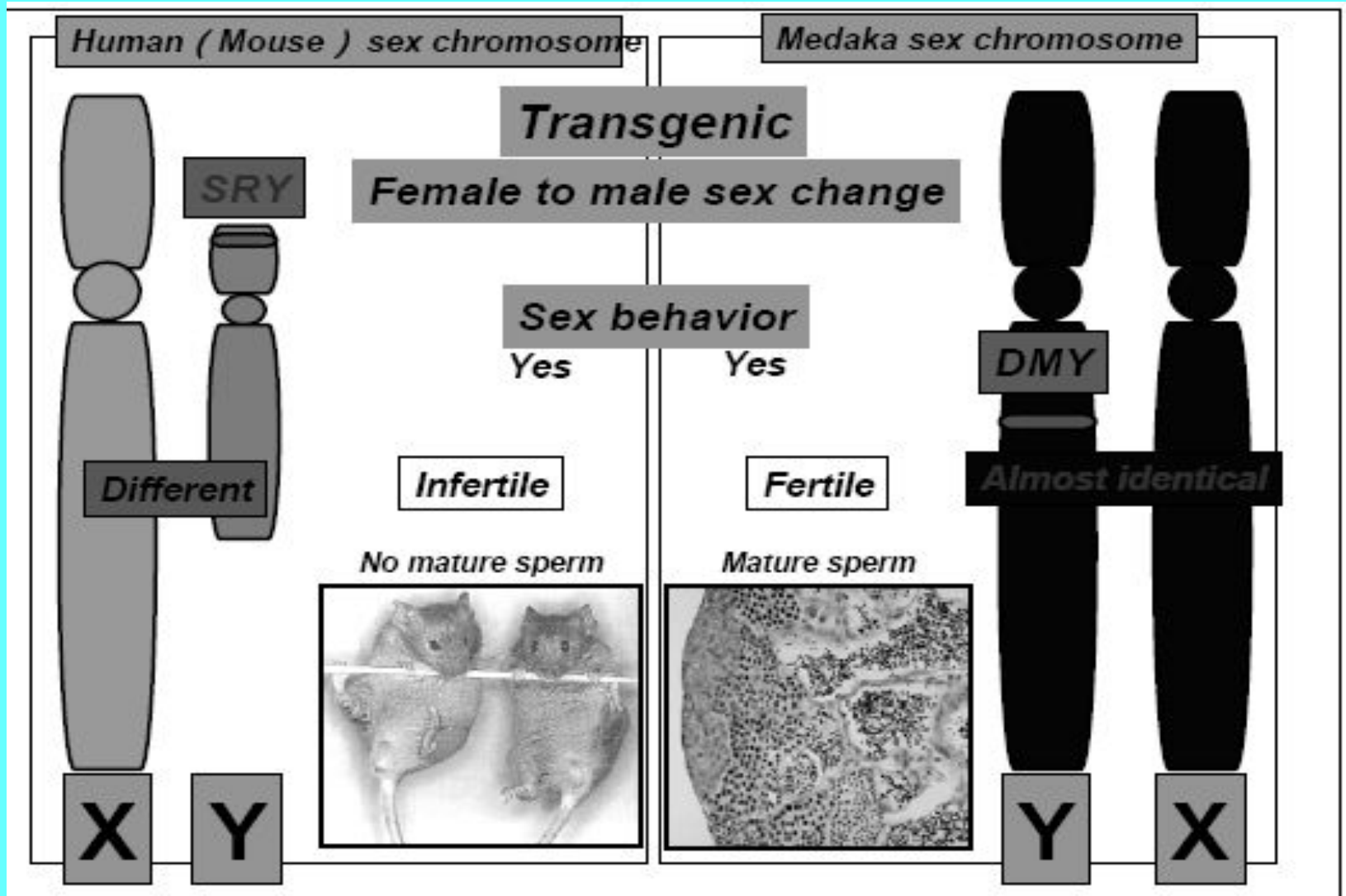
Gene	Full name
<i>SRY</i>	<u>S</u> ex determining <u>R</u> egion on the <u>Y</u> chromosome
<i>SOX3</i>	<u>S</u> RY-related HMG containing <u>bOX</u> -gene 3
<i>SOX9</i>	<u>S</u> RY-related HMG containing <u>bOX</u> -gene 9
<i>DMRT1,2</i>	<u>D</u> oublesex and <u>M</u> ab-3 <u>R</u> elated <u>T</u> ranscription factor 1 and 2
<i>DAX1</i>	<u>D</u> osage sensitive sex reversing <u>A</u> drenal Hypoplasia Congenita critical region on the <u>X</u>
<i>AMH (MIH)</i>	<u>A</u> nti <u>M</u> üllerian <u>H</u> ormone (<u>M</u> üllerian <u>I</u> nhibitory <u>H</u> ormone)
<i>SF-1</i>	<u>S</u> teroidogenic <u>F</u> actor-1
<i>WT-1</i>	<u>W</u> ilms' <u>T</u> umor suppressor-1

Miller. Sex determination and dinosaur extinction. Fertil Steril 2004.

Существуют две группы позвоночных (начиная с костистых рыб), у одной группы –функционально активен ген –*Sox9*, у другой - *DMRT*



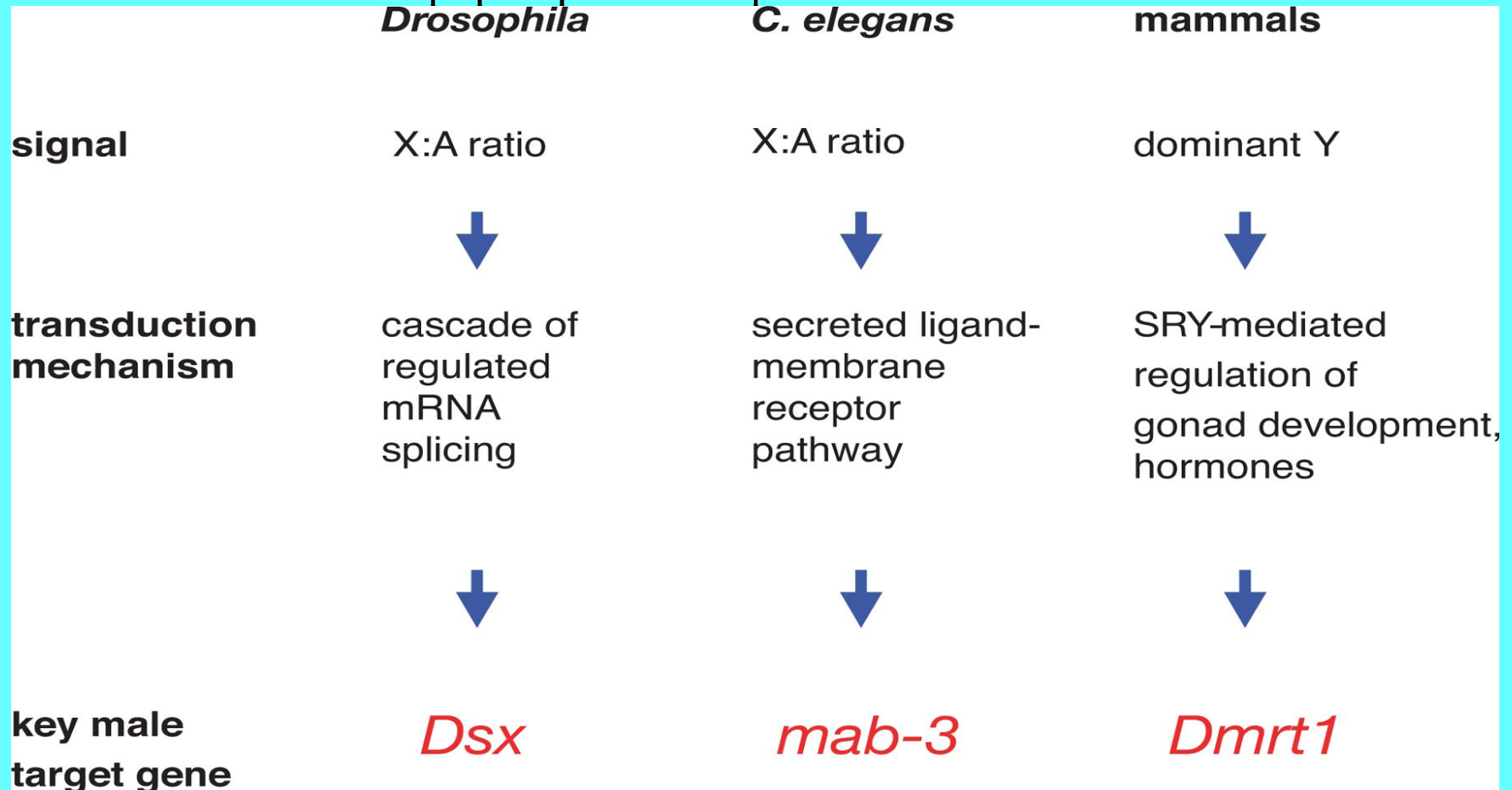
Существуют две группы позвоночных (начиная с костистых рыб), у одной группы –функционально активен ген –*Sox9*, у другой - *DMRT*



- На 9-й хромосоме человека (короткое плечо) было идентифицировано 3 гена Dmrt (1-3), родственные генам Dsx (дрозофилы) и Mab3 (C. elegans). Эти гены (особенно Dmrt1) важны для формирования семенников. Делеция участка 9-й хромосомы, содержащей гены Dmrt ведет к реверсии пола, как и делеция Sox9 (на 17-й хромосоме).

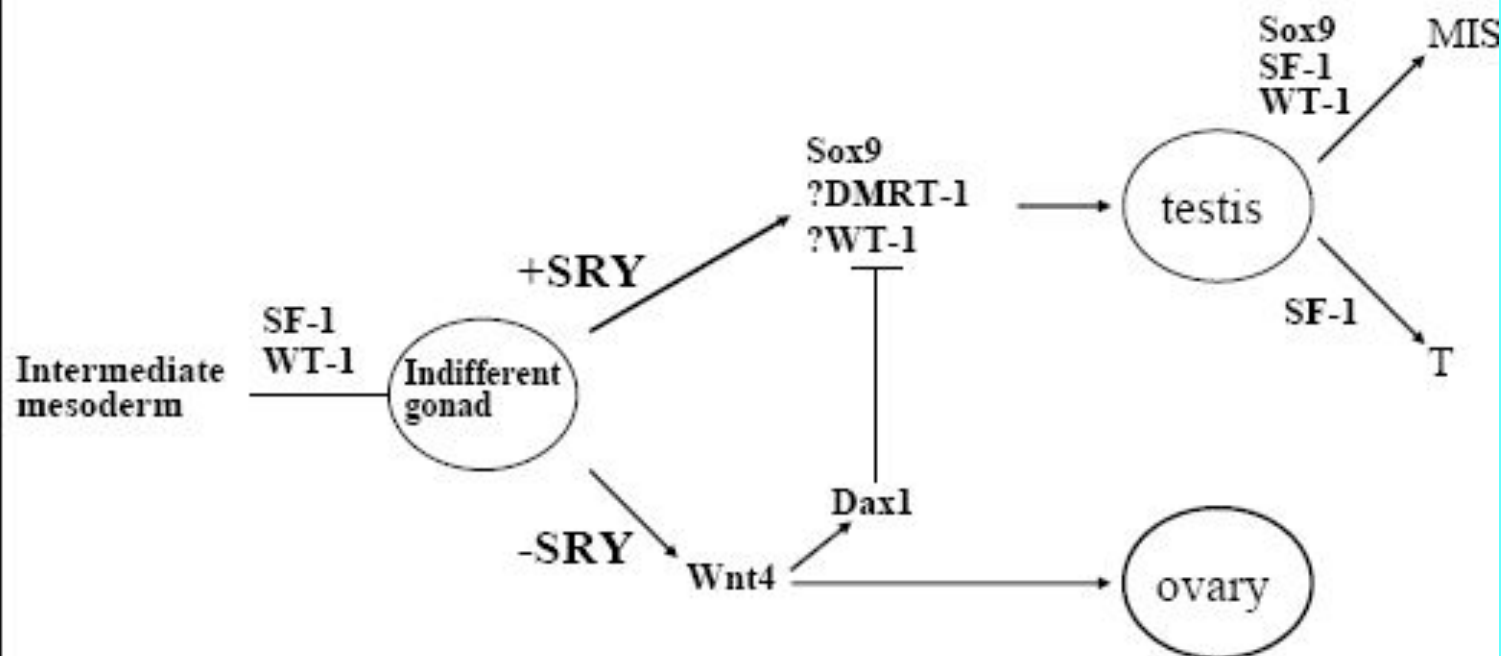
- Ортологи генов Sox 9 активно экспрессируются в клетках Сертоли у птиц и пресмыкающихся (аллигаторы, ящерицы).
- Экспрессирующийся ортолог гена Dmrt 1 был найден в семенниках птиц, пресмыкающихся (аллигаторы, черепахи) и некоторых рыб (Medaka, puffer fish), но не найден у других (zebrafish, telyapia).

Хотя млекопитающие, дрозофила и *C. elegans* имеют различные механизмы детерминации пола (основанные на различных способах передачи сигналов по цепочке), все они содержат гены семейства DM, экспрессия которых связана с формированием фенотипа самца. *Dsx* дрозофилы – необычный представитель семейства генов DM, поскольку его белковый продукт (в виде изоформы Dsx^F) также важен для формирования фенотипа самки.



Возможное участие гена DMRT в формировании семенников и сперматогенезе

Genetics of mammalian sex determination



Возможность существования консервативных факторов детерминации пола у разных животных

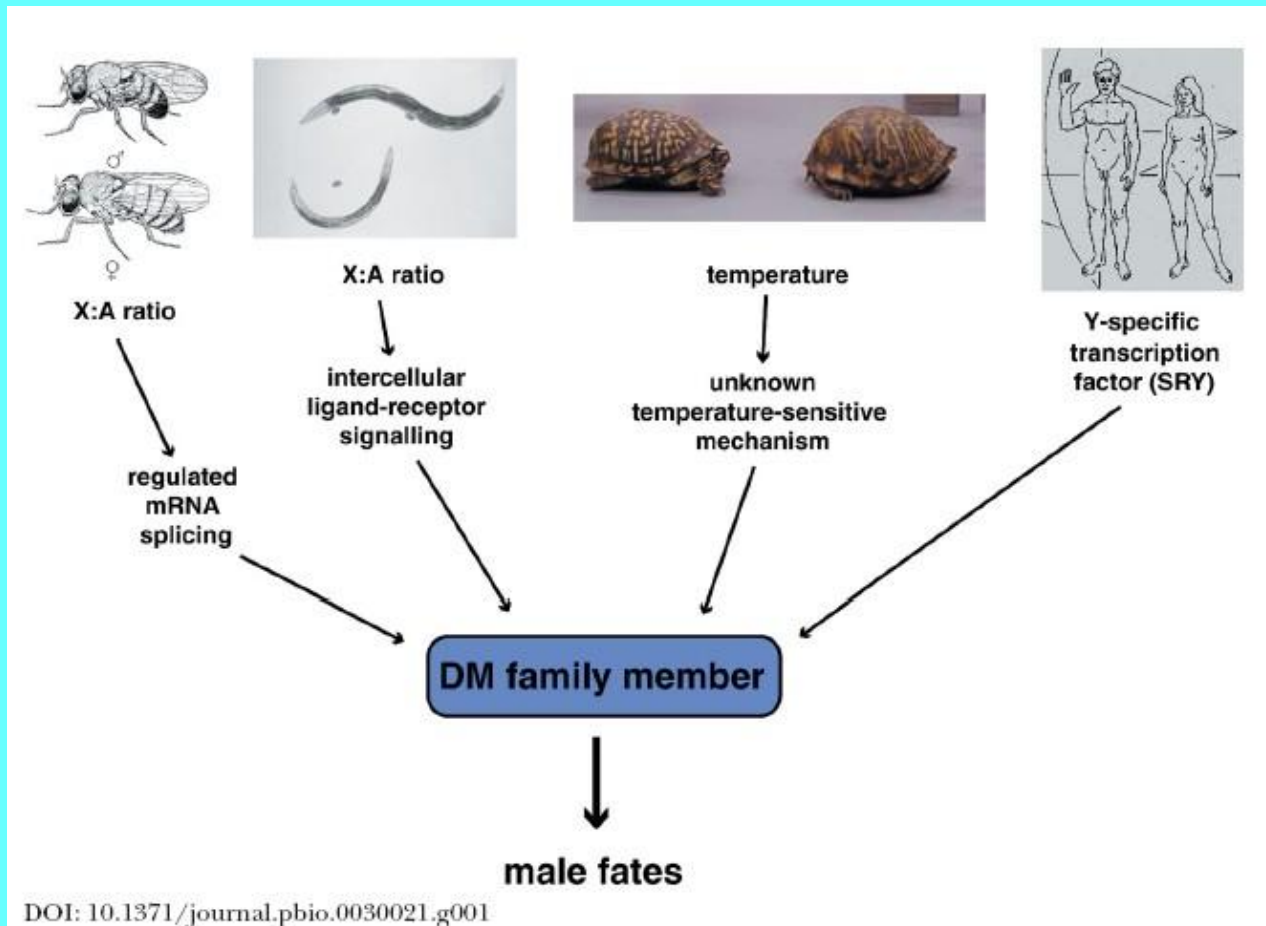


Figure 1. Diverse Genetic Factors Converge on a Conserved Regulator

The primary sex determination mechanisms are shown, from left to right, for *Drosophila*, *Caenorhabditis*, the box turtle *Terrapene carolina*, and humans. These proximate signals are then relayed by diverse signal transduction pathways that ultimately converge on a DM-family gene. The left image is from Muller [23]; the center-left image appears courtesy of Dr. Barbara Conradt, the center-right image appears courtesy of J.D. Willson, and the right image is from a plaque mounted on the NASA spacecraft Pioneer 11.

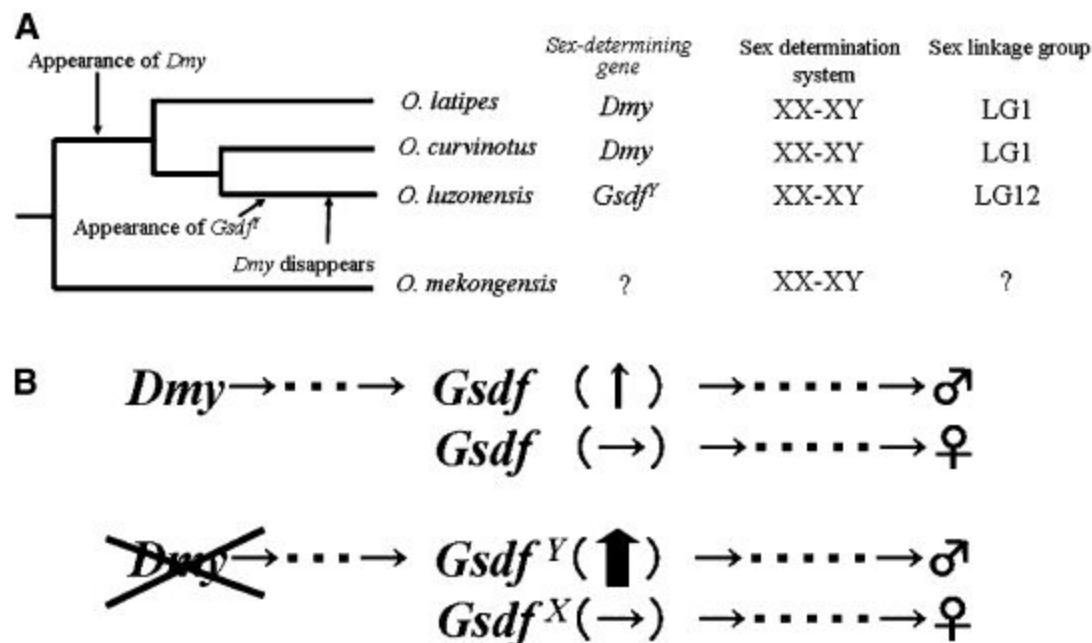


Figure 5 Changes in the sex-determining gene of *O. luzonensis*. (A) Evolutionary history up to the appearance of *Gsdf^Y*. *Dmy* appeared as a common ancestor of *O. latipes*, *O. curvinotus*, and *O. luzonensis*. *Gsdf^Y* appeared in, and *Dmy* disappeared from, the ancestor of *O. luzonensis*. (B) Change in the sex-determining cascade. (Top) Sex-determining cascade in an ancestor of *O. luzonensis*. (Bottom) Current sex-determining cascade in *O. luzonensis*. *Gsdf* was downstream of *Dmy*. A mutation then occurred in *Gsdf*, allowing its expression without *Dmy*. *Gsdf^Y* then became the new sex-determining gene.

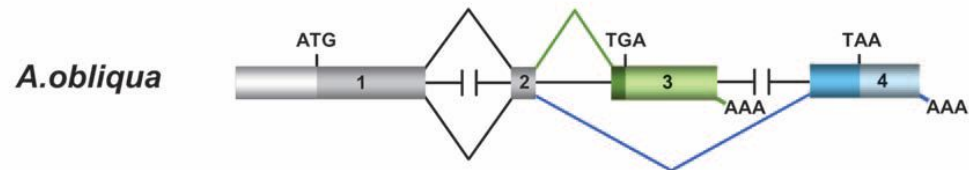
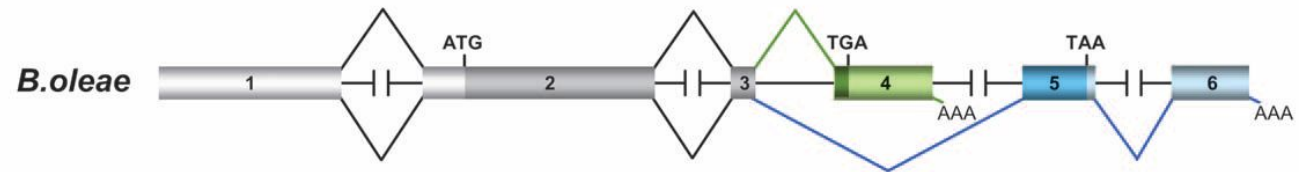
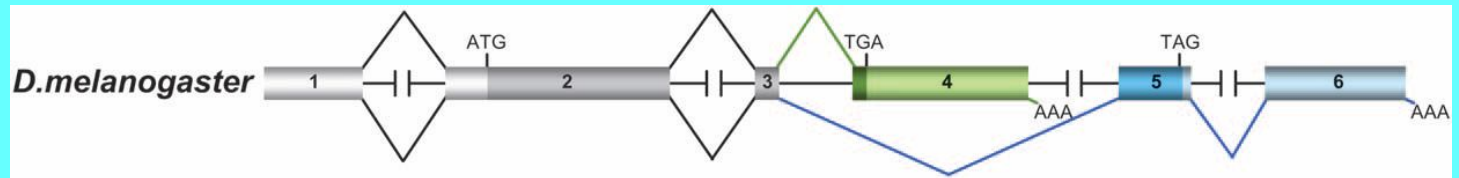
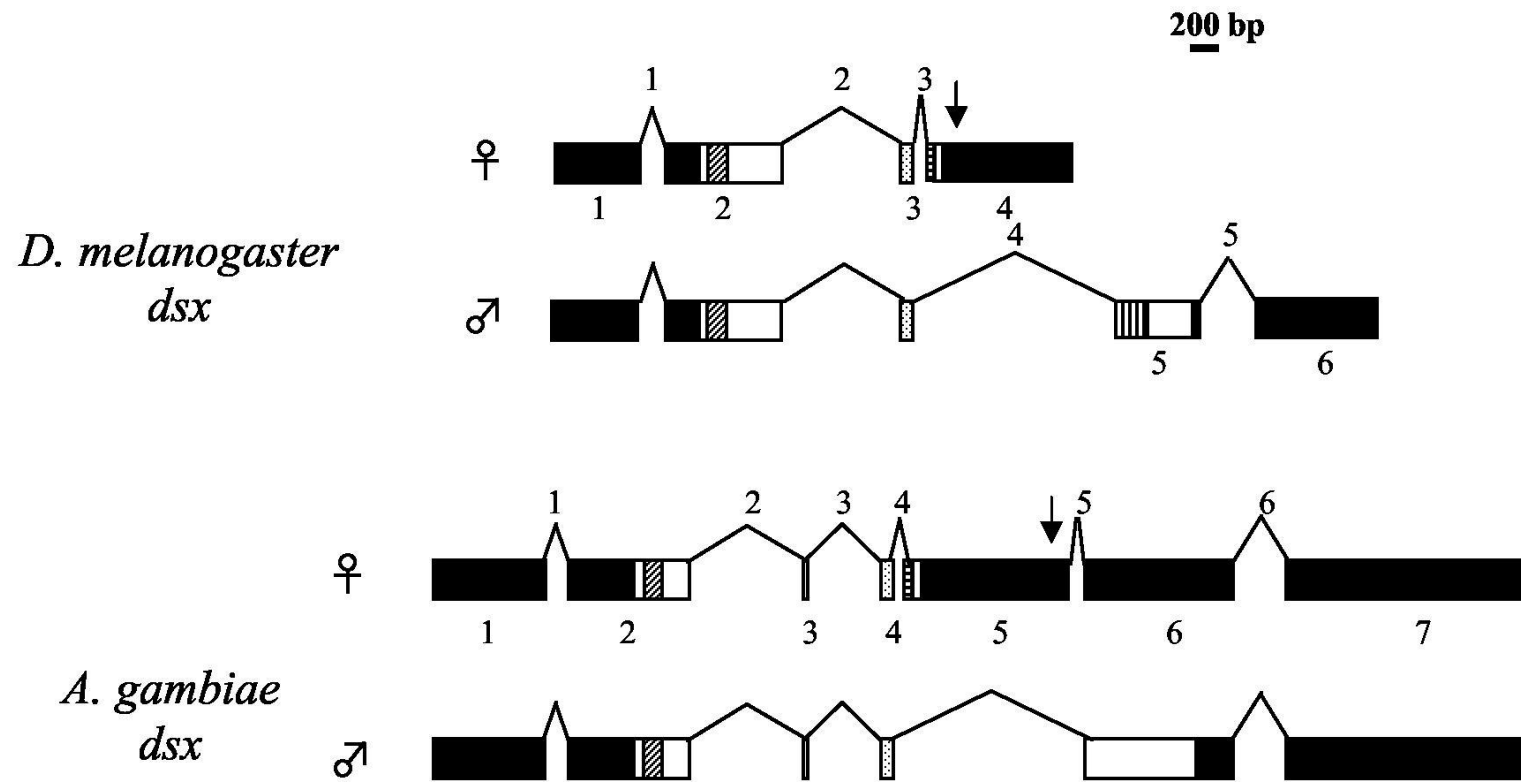


Fig. 3



A)

DBD/OD

D. melanogaster	MVSE--NWN--SDTMSDSMDIDSKNDVCGGASSSSSGSSISGPTTPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
B. tryoni	MVSED--SWN--SDTIADSDMRDSKADVCGGASSSSSGSSISGPTTPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
M. domestica	MVSED--SWN--SDTMSDTOMHDSKNDVCGGASSSSSGSSISGPTTPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
M. scalaris	MVS---DWQ--SDTMSDAQCEQ--KGDICGGASSSSSGSSASGPTTPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
B. mori	MVSMG--SWK--RRVPDOCEE-----RSEFGASSSGVPRTPPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
A. gambiae	MVSQD--RGA--EAMSDSGYDSRTDG--NGASSSCNNSLNPRTTPPNCARCRNHGLKI [*] TLKGHKRYCKYR [*] CTCEKCRLTAD
D. melanogaster	RQRVMALQTALRRRAQAQDEQRA [*] LHHHEVPPANPAATTLSSH [*] HHHVAAPARVHAHHVHAHHANGCH [*] HHSH [*] HGHVLHHQQAAA
B. tryoni	RQRVMALQTALRRRAQAQDEQRLQ [*] IHEVPPVVHCP [*] TALLNHHH-----LHHHHHLNQHNNHASAAA
M. domestica	RQRVMALQTALRRRAQAQDEARIL [*] HHHEVPPVVHFP [*] TALLNHHH-----HHHPLPHHITQQLHHHPHHPHPLVDASA
M. scalaris	RQ [*] EMALQTALRRRAQAQDESRLSAGEHPATIH [*] PAQYTL [*] MQINS-----QPYPVVHPHH [*] HHHH [*] HHHHVH [*] QH-
B. mori	RQRVMALQTALRRRAQAQDEAR [*] -----ARALELGIQPP-----
A. gambiae	RQRVMALQTALRRRAQAQDEQRA [*] LHEGEVPPPEPVANIH [*] IPKLSEL-----KDLKHH [*] MIH [*] NSQTR-
D. melanogaster	AAAAAP [*] SAPASHLGGSSSTAASSINGHAHAHHVHMAAAAAASVAQH [*] QOSHPHSHHHHHHQNHHQH [*] PHQOPATOTALRSPPH
B. tryoni	AAAAA-----AAHHH [*] IS-----TAIRSPPH
M. domestica	VAAAAAAG-----VGVGPPVPHHIA-----AAIPTIRSPPH
M. scalaris	-----HPRH [*] INH-----HHQH
B. mori	-----
A. gambiae	-----
D. melanogaster	SDH---GGSGVPATSSSGGAPSSSNAAAATSSNGSSGGGGGGGGGGSSGGGAGGGGSSG [*] TSVITSADH-----
B. tryoni	AEH---GGGN---VSSSG-----IAGGIGSAIT [*] VPGGVPPPH-----
M. domestica	SDH [*] SANGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSSAGGGSSNGGGGGVGPSSSSSMNH [*] CHASSSSAASSSTAPPHHTPPDHTHHHHHH
M. scalaris	LHH-----QVTAVTSSGGISKSPVERN-----
B. mori	-----SMELDRPVPPVVKAPRSP-----
A. gambiae	-----SFDGDSSTGSMASAPGTS-----
D. melanogaster	-----HM [*] TVPTPAQSLEGSCDSSSPSPSSTSGA [*] ILPIS-----VGVNRK-----HGANVPLGGQVFLDY [*] CKLLEKFRY
B. tryoni	-----HMTTVPTPAQSLEGSCDSSSPSPSSTSG-AVL [*] PIS-----VVGRRKPSLHPNGVNIPLAQOVFLER [*] CKLLEKFRY
M. domestica	HHPHPHLVSVPTPAQSLEGSCDSSSPSPSSTSG-VAV [*] PVL-----VFNRKPNPEQQONGADMSIOLILDY [*] CKLLEKFRY
M. scalaris	-----PHQITVPTPAQSLEGSCDSSSPSPSSTSGGAVAAP [*] GSSAIVPVKGVGAPNGSTSTGIGKESELDC [*] CHLLEKFRY
B. mori	-----MIPPSAPRSLGSASCDSPVGPSPGVSPYAPPPSV-----PPPTMPPLIPTPPQPPVPSETLVEN [*] CHLLEKFRY
A. gambiae	-----SVELTIHRRSPGVPHHVAEPQHLGATHSCVSP-----EPVNLPLPDELVKRAQNLLEKFRY
D. melanogaster	PWENMPLMYVILKDADANIEEASRRIEE 397 aa
B. tryoni	PWENMPLMYVILKDAGADIEEASRRIEE 289 aa
M. domestica	PWENMPLMYVILKDAGVOIDEASRRIEE 367 aa
M. scalaris	PWENMPLMYVILKSVD-DEEEASRLIEE 280 aa
B. mori	SWENMPLVIVINNYARSOLDEASREIYE 215 aa
A. gambiae	PWENMPLMYVILKSADGQVQRANQRIE 235 aa

OD2

OD2, female-specific part

B)	D.melanogaster	GGVVNEYSRQHNLNIYGGGELRNTTQ-----CG-----	427 aa
	B.tryoni	GGVVNEYSRQHNLNIYGGGELRNTTQ-----CG-----	319 aa
	M.domestica	GGVVNEYSRQHNLNIYGGGELRCATQ-----CG-----	397 aa
	M.scalar	GGVVNEYSRQHNLNIYGGGELRGQSRQ-----CG-----	310 aa
	B.mori	GKMVDEYARQHNLNIYGGGELRNTTQKMLEINNISGVLSSSMKLFCE	264 aa
	A.gambiae	GGVVNEYSRQHNLNIYGGGELRNTTQ-----CG-----	265 aa
C)	D.melanogaster	-----ARVEIN	
	B.tryoni	-----AKRIYN	
	M.domestica	-----ENLN	
	M.scalar	-----GLHITEPRLRAYR	
	B.mori	-----	
	A.gambiae	GKRTIKTYEALVKSSLDPHNSDRLTEDDEDENISVTRTHNSTIRSRSSSLSRSRSCSRQAETPRADDRALNLDTSKSPSTSS	
	D.melanogaster	RTVA-----QIYYNYTTPMALVNGAPMYLTYPSEQGRYG-----ARFENL	
	B.tryoni	QTISLHWMDRQLYNYHYSAAALVNTPTTYFPYP-IAIGGNGL-----LTSHFENL	
	M.domestica	QLTQ-----TYNYQRYAALP-----PVYWGYPGQFGRVWTE-----LPNPNRAI	
	M.scalar	NYIALMYGITLPCHPYIPESHLSYFGLTSNTSGPITDSPTNLSVSNNDSDHPVA-----IMNSTPSTMISTN	
	B.mori	-----GYMMHMQWRLOQY-----SLCYGAEELS-----ARK	
	A.gambiae	SSGTGCDRDDGDCITFDDSSGVVRATHASRSATRMSSRGRSRSQTKRYSQTVESTNAPSRSPGPDDEP SVYKSLAEAAQKM	
	D.melanogaster	PLTQICPPDPE-PLALSRSPS-----SPSGPSAVH-----NQKPSRPGSSNGTVHSAASPTMTVTMATTSSSTPTL	
	B.tryoni	TAS-MRPPDPE-QPTLSRTTP-----SPS-----KPSRPGS-----ILSETMSPP--	
	M.domestica	IPPHLAATPDGPGSLGRSP-----SPF-----KNCRPGSSSLGSE-----STTVTSLPTPG-	
	M.scalar	HTSSRGSPPPSLLPPTANRSH-----SPIFDLSAHRQSLQ-----LSQEDSRKEVEVNVHRFRHNDQEKLAFNRELSPDHK	
	B.mori	DVAALCCLRDTCWRPGRRVN-----CPSS-----	
	A.gambiae	ARSFIPAREPEDLHTTHESPEREDNPSQPYEAYLESVRRSKKSFPHNDAEGVTEAEDCYDKEKEHRIPYSLPKSTFDR	
	D.melanogaster	-----SRQRSRSHPTPTTPPPPPAHSSSNGAYHHGHHLVSESTAA	
	B.tryoni	-----AAATHLP-----SS-----ATAAAAT-----	
	M.domestica	-----VLAAAAA-----AAAAAAT-----	
	M.scalar	RLLDSQVTINHEHEGSRKRRLSRSPSIEEQQFLKRMYGFPVYDLSTHRPPLRSSQEECRKEKEELNVHRFRRYAQEK	
	B.mori	-----	
	A.gambiae	LDLLKKPNGLPFPMPYKYNELEANHFPPLPLLGLLEAVHRTLYTAHFPTHLLPSSLYPPVSSSESTTAPIFHTHFLGYQPQM	
	D.melanogaster	-----	549 aa
	B.tryoni	-----	398 aa
	M.domestica	-----	527 aa
	M.scalar	LAFNGQETQAAINHEHELEKMRRESRKRHHESRSPSIDEQSQKKICLSPPVIRSDSTDVERGSP-----	573 aa
	B.mori	-----	266 aa
	A.gambiae	QLPHVEFPFYRKEQQQQQLQQTALAEFKEQTSSSPSNHRLTPPKGTFFYASAVENSLTAHQAS IATIN	622 aa