

引文格式: 孙蓉, 杨敏, 罗俊鹏, 等. 黑腹果蝇 *fat2* 新突变体的鉴定[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(6): 992–998.
DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202206033

黑腹果蝇 *fat2* 新突变体的鉴定*

孙蓉^{1,2}, 杨敏¹, 罗俊鹏³, 向阳¹, 田应雪¹,
梁丹³, 魏微¹, 张庆海^{1,2,4**}

(1. 贵州医科大学基础医学院生物学系, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州医科大学基础医学科学研究中心,
贵州贵阳 550025; 3. 贵州医科大学生物与工程学院, 贵州贵阳 550025;
4. 贵州医科大学医学昆虫重点实验室, 贵州贵阳 550025)

摘要:【目的】研究突变品系 *MI3266* 的生殖能力和生殖系统形态学变化, 鉴定突变品系 *MI3266* 影响的基因。【方法】通过遗传杂交检测突变品系 *MI3266* 是否可育以及 *MI3266* 雌蝇和雄蝇的育性; 解剖 *MI3266* 成虫生殖系统, 经 DAPI 染料染色观察生殖系统形态学变化; 利用反向 PCR 方法鉴定突变品系 *MI3266* 影响的基因。【结果】突变品系 *MI3266* 不可育, 其雌蝇也不可育; 突变品系 *MI3266* 雌蝇卵巢形态异常, 14 阶段卵室变圆, 背侧肢异常短小; 突变品系 *MI3266* 影响的基因是 *fat2*。【结论】本研究鉴定了 1 个 *fat2* 新突变体, 突变体雌蝇不可育, 为研究 *fat2* 基因功能提供了新的突变体。

关键词: 黑腹果蝇; 卵巢; 平面细胞极性; *fat2* 基因; *Minos* 转座子

中图分类号: Q969.462.2 文献标志码: A 文章编号: 1004–390X (2022) 06–0992–07

Identification of a Novel Mutant of *fat2* in *Drosophila melanogaster*

SUN Rong^{1,2}, YANG Min¹, LUO Junpeng³, XIANG Yang¹, TIAN Yingxue¹,
LIANG Dan³, WEI Wei¹, ZHANG Qinghai^{1,2,4}

(1. Department of Biology, College of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
2. Research Center for Basic Sciences of Medical, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
3. College of Biology and Engineering, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
4. Key Laboratory of Medical Insects, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

Abstract: [Purpose] To test the fertility of mutant *MI3266*, observing the morphologic variation of mutant *MI3266* in reproductive system and identifying the gene inserted by *MI3266*. [Methods] Genetic crosses were used to examine the sterility of *MI3266*, including male and female of *MI3266*. Furthermore, the reproductive system of adult flies was dissected and stained with DAPI to observe the morphologic variation of reproductive system. Finally, the gene related to *MI3266* was identified by inverse PCR. [Results] Mutant *MI3266* was sterile, as was its female. The ovary of mutant was abnormal. Its egg chamber in stage 14 was spherical, and its dorsal appendages were dramatically short.

收稿日期: 2022-06-14 修回日期: 2022-09-17 网络首发日期: 2022-11-15

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31601898, 31960128); 贵州省科学技术基金 (黔科合基础 [2017]1158, 黔科合基础 [2020]1Y082); 贵州省大学生创新创业训练计划项目 (S202010660040, S202010660050, S202010660051)。

作者简介: 孙蓉 (1996—), 女, 贵州安顺人, 硕士, 助理实验师, 主要从事果蝇遗传学研究。

E-mail: 2052331409@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 张庆海 (1981—), 男, 黑龙江肇东人, 博士, 副教授, 主要从事果蝇遗传学研究。E-mail: 93841703@qq.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20221114.1108.002.html>



The gene inserted by *MI3266* was *fat2*. [Conclusion] A new *fat2* mutant was identified and its female flies were sterile, providing a new mutant for studying the function of *fat2*.

Keywords: *Drosophila melanogaster*; ovary; planar cell polarity; *fat2*; *Minos* transposon

黑腹果蝇卵巢因其结构简单使其成为研究生殖细胞发育的优良模型^[1]。卵巢的基本单位是卵巢管^[1],雌性果蝇含有1对卵巢,每1个卵巢由16~20个卵巢管组成^[2-3],每1个卵巢管里含有处于不同发育阶段的卵子。当干细胞不对称分裂时,果蝇卵子发生开始,一个细胞继续作为干细胞,另一个细胞成为胞囊干细胞。每个胞囊干细胞经历4次有丝分裂,产生16个细胞簇,由中胚层来源的滤泡上皮包围,形成卵室^[4]。在4次有丝分裂期间,不完全胞质分裂导致16个生殖细胞通过一系列细胞质桥或环管相互连接,细胞质可以通过细胞质桥或环管流动。在16个细胞中,1个发育成卵母细胞,其他15个充当护卫细胞^[5]。通过14个阶段的生长和发育,产生成熟的卵子。当与卵子发生有关的某个基因缺失或过表达就可能影响其生殖器发育,进而影响果蝇的生殖能力。

平面细胞极性(planar cell polarity, PCP)是许多上皮细胞的重要特征^[6-7],其建立需要核心PCP基因和2种钙粘蛋白(Fat和Dachsous)。Fat和Dachsous起初被确定为肿瘤抑制因子^[8-9],后来研究发现它们在PCP调节中起重要作用^[10-11]。果蝇卵巢卵室是研究组织伸长的理想模型^[12],在卵子发生的初始阶段,伸长的卵泡(即卵室)围绕它们的前后轴(anterior-posterior, A-P)旋转。当卵泡细胞围绕其圆周轴迁移时,它们会形成1个极化的细胞外基质^[13]。一般认为,纤维化的细胞外基质和肌动蛋白丝的周向排列可提供一种分子紧身衣,它在生长过程中机械地限制卵室的周向扩张,从而促进卵室A-P轴的优先伸长。Fat2是一种与脂肪相关的钙粘蛋白。果蝇Fat2含有1个大的细胞外区域,其中包含34个钙粘蛋白结构域、1个层粘连蛋白A-G结构域和膜近端区域中的5个EGF基序^[14-15]。

转座子诱变技术可以获得基因突变体。*Minos*转座子最初分离鉴定自*Drosophila hydei*,属于Tc1/mariner家族^[16]。课题组前期获得1个*Minos*转座子^[17]随机插入的突变品系,对其生殖能

力进行研究时发现:此纯合突变不可育,进一步研究发现突变的纯合雌蝇也不可育,而纯合雄蝇可育;解剖突变体纯合雌蝇卵巢发现处在14阶段的卵室呈球形,背侧肢异常短小。通过反向PCR法对*Minos*转座子插入位点进行鉴定发现:转座子插在*kug (kugel)*外显子内,*kug*也称为*fat2*。本研究中的突变体表型与*fat2*突变表型^[18]一致。本研究对新的*fat2*突变体进行鉴定,以期为研究*fat2*基因功能提供新的研究材料。

1 材料与方法

1.1 果蝇品系

野生型果蝇品系 *w¹¹¹⁸* 和 *y w*; *MI3266 FRT^{3LR}/TM6b, Tb* (实验室自建)。

1.2 试验方法

1.2.1 果蝇育性检测

挑选突变品系纯合雄性果蝇和纯合雌性处女果蝇各10只进行杂交,在培养管上记录日期并编号,以野生型果蝇 *w¹¹¹⁸* 为对照组,杂交第3~10天在体视显微镜下持续观察是否产卵、有无幼虫、蛹及成虫等情况,拍照并作好记录。

挑选突变品系纯合雌性果蝇10只,与3只野生型 *w¹¹¹⁸* 雄果蝇杂交,检测雌蝇是否可育。挑选突变品系纯合雄性果蝇10只,与10只 *w¹¹¹⁸* 野生型处女果蝇杂交,检测雄蝇是否可育。拍照并记录。

1.2.2 果蝇卵巢解剖及DAPI染色观察

取待解剖的雌性果蝇用CO₂在麻醉板上熏晕,用解剖镊夹取果蝇放至装有PBS溶液的解剖皿中,于体视显微镜下从果蝇腹部第2节处用解剖镊将外层表皮撕开,找到2个卵巢并分离其周围组织,用镊子将卵巢放在装有PBS溶液的EP管内。用1 mL移液枪吸走EP管中的PBS缓冲溶液,加入4%多聚甲醛1 mL固定组织,于摇床上摇20 min;用1 mL移液枪吸走4%多聚甲醛,向EP管内加0.1% PBST溶液1 mL和DAPI 1 μL,于摇床上摇20 min;在体视显微镜下将卵巢周围的组织剥离干净,用镊子将卵巢放于载玻

片中央,用指甲油封片,保存于 4 ℃ 冰箱。于正置荧光显微镜观察果蝇卵巢的形态。

1.2.3 果蝇基因组 DNA 提取

用装有研磨珠的 1.5 mL EP 管收集 5 只果蝇,放入-20 ℃ 中冷冻约 1 h,加入 DNA 裂解液 200 μL 于组织破碎仪破碎 3 min,将果蝇充分研磨成匀浆;70 ℃ 金属浴孵育 30 min,14 800 r/min 离心 10 min;取上清液 150 μL 到新的 EP 管,加入异丙醇 150 μL 和 3 mol/L 醋酸钠 (pH 5.2) 15 μL,混匀,静置 10 min,14 800 r/min 离心 10 min,看到絮状沉淀后,弃上清液;在 EP 管中加入 70% 乙醇 1 mL,14 800 r/min 离心 5 min,重复 2 次;弃乙醇溶液,空离心 1 min,用移液枪吸掉剩余乙醇,静置至 EP 管中乙醇完全蒸发后,加入超纯无菌水 25 μL 溶解沉淀,完成果蝇基因组 DNA 的提取。

1.2.4 果蝇基因组 DNA 酶切

取果蝇基因组 DNA 8.5 μL,限制性内切酶 *Sau3AI* 0.5 μL,10×Buffer 1.0 μL,反应体系为 10.0 μL。37 ℃ 于水浴锅中酶切 2 h。

1.2.5 果蝇基因组 DNA 酶切产物沉淀

向酶切产物中加入 3 mol/L 醋酸钠 1 μL 和无水乙醇 1 mL,混匀,-20 ℃ 放置 30 min;于 4 ℃ 14 800 r/min 离心 10 min,弃上清液;加入冰冷的 70% 乙醇 500 μL,4 ℃ 14 800 r/min 离心 5 min,弃上清液,晾干;加入 ddH₂O 25 μL。

1.2.6 果蝇基因组 DNA 酶切沉淀产物连接及连接产物沉淀

取果蝇基因组 DNA 酶切沉淀产物 8.8 μL,T4 DNA Ligase 0.2 μL,10×Buffer 1.0 μL,反应体系为 10.0 μL,于 4 ℃ 冰箱中连接过夜。连接沉淀步骤同 1.2.5 节。

1.2.7 反向 PCR

反向 PCR 是根据中间的 1 段已知序列设计引物,分别向外扩增两端的未知序列。本研究利用 *Minos* 转座子的反向 PCR 引物 (F: CAAAAGCA-ACTAATGTAACGG; R: TTGCTCTTCTTGAGATTAAAGGTA) 对所插入位点的两侧 DNA 进行反向 PCR 扩增,从而找到 *Minos* 转座子插入位置。

反向 PCR 扩增体系 15.0 μL,包括连接沉淀产物 6.5 μL,上游引物 0.5 μL,下游引物 0.5 μL,10×Ex *Taq* Buffer 1.5 μL,dNTP Mixture 1.2 μL,TaKaRa Ex *Taq* 0.1 μL,ddH₂O 4.7 μL。反向

PCR 扩增程序为:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 30 s,50 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环;于 72 ℃ 后延伸 5 min,4 ℃ 终止反应。反向 PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,经检测后的反向 PCR 扩增产物送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序,将测序结果于 Flybase (<http://www.flybase.org/>) 上进行 BLAST 比对,找到 *Minos* 转座子插入位置,并判断其插入方向和影响的基因。

2 结果与分析

2.1 *MI3266* 生殖能力鉴定

如图 1 所示:野生型果蝇 *w¹¹¹⁸* 3 d 时已有 2 龄幼虫出现,5 d 时已有 3 龄幼虫。与野生型 *w¹¹¹⁸* 3 和 5 d (图 1a、e) 相比,*MI3266* 的雌性纯合处女果蝇与雄性纯合果蝇杂交后第 3 天没有卵产生,且第 5 天也未见卵及幼虫 (图 1b、f),而培养管内有菌滋生,说明 *MI3266* 突变品系是纯合不育的;雄性纯合 *MI3266* 与野生型 *w¹¹¹⁸* 处女果蝇杂交后,第 3 天有卵产生,且第 5 天能观察到食物变稀且有大量卵孵化为幼虫 (图 1c、g),说明 *MI3266* 突变品系的纯合雄蝇是可育的;雌性纯合 *MI3266* 与野生型 *w¹¹¹⁸* 雄性果蝇杂交后,第 3 天没有卵产生,且第 5 天未见任何卵及幼虫 (图 1d、h),培养管内有菌滋生,说明 *MI3266* 突变品系的纯合雌蝇是不可育的。

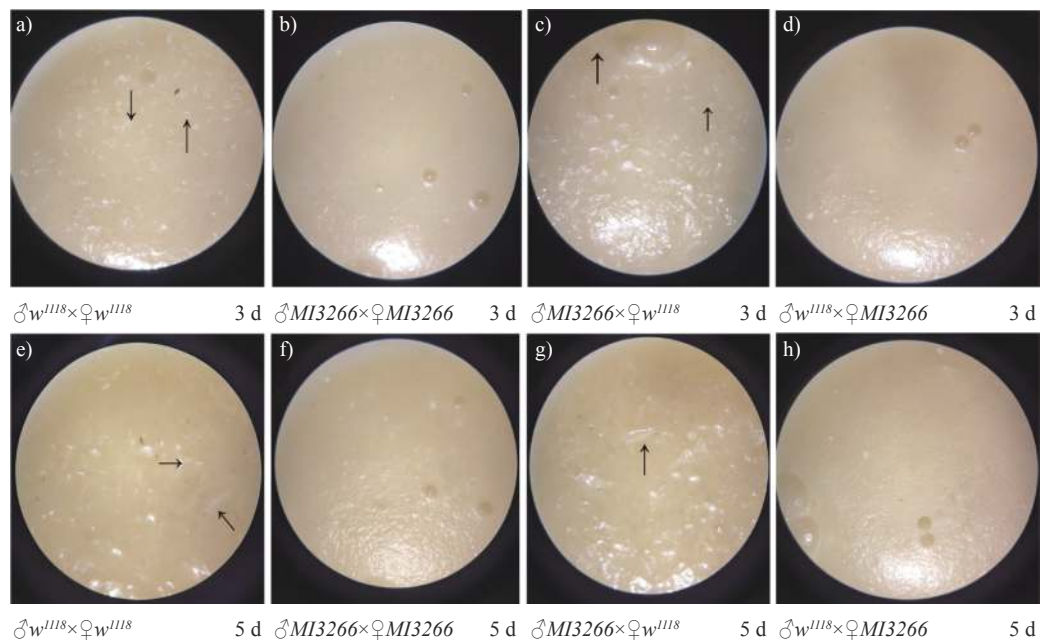
如图 2 所示:杂交第 7 天,野生型组以及纯合突变品系雄蝇与野生型处女果蝇 *w¹¹¹⁸* 杂交组大部分均处于蛹期;而纯合突变品系雄蝇与纯合突变品系处女果蝇杂交组以及野生型雄蝇 *w¹¹¹⁸* 与纯合突变品系处女果蝇杂交组均未出现 3 龄幼虫和蛹,管内食物出现严重的裂开现象且有菌滋生,说明这 2 个杂交处理无法产生后代。结合图 1 和图 2 可知:*MI3266* 突变品系的纯合雌蝇不可育,其生殖系统可能存在可见的缺陷。

2.2 *MI3266* 卵巢表型检测

野生型组 *w¹¹¹⁸* 的果蝇卵巢结构正常,卵巢管由一串处在不同发育阶段的卵室构成,处于 14 阶段的卵室呈椭球形,背侧肢细长 (图 3a、c);突变品系组 *MI3266* 的卵巢结构形态异常,处于 14 阶段的卵室呈球形,背侧肢明显变短 (图 3b、d)。

2.3 *MI3266* 插入基因鉴定

由图 4 可知:与 DNA 2000 Marker 相比,突

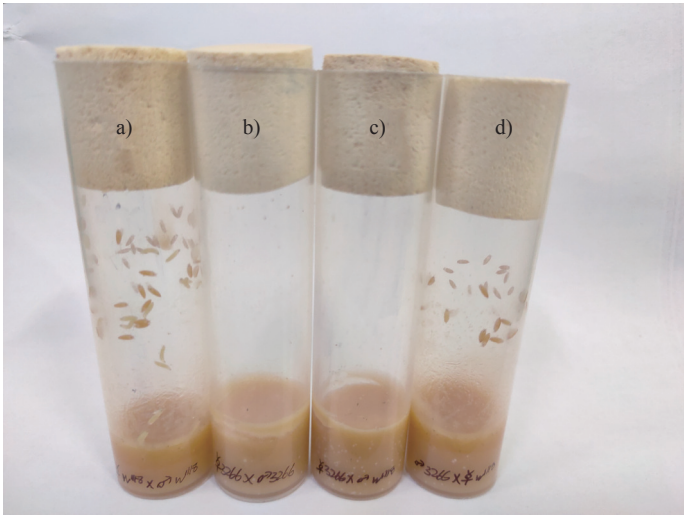


注: a) 和 e) 分别为野生型果蝇 3 和 5 d 培养基 (对照组); b) 和 f) 分别为纯合突变品系雌果蝇与纯合突变品系雄果蝇杂交 3 和 5 d 培养基; c) 和 g) 分别为纯合突变品系雄果蝇与 w^{1118} 野生型雌果蝇杂交 3 和 5 d 培养基; d) 和 h) 分别为突变品系纯合雌果蝇与 w^{1118} 野生型雄果蝇杂交 3 和 5 d 培养基。

Note: a) and e) are the culture medium of wild-type flies for 3 days and 5 days (control group), respectively; b) and f) are the culture medium of homozygous mutant virgin female and homozygous mutant male for 3 days and 5 days, respectively; c) and g) are the culture medium of homozygous mutant male crossed with wild-type virgins 3 days and 5 days, respectively; d) and h) are the culture medium of homozygous mutant female flies crossed with wild-type male flies for 3 days and 5 days, respectively.

图 1 杂交第 3 和 5 天各培养基内卵孵化情况

Fig. 1 The hatching of eggs in culture medium of the 3rd and the 5th day



注: a) 野生型对照; b) 纯合突变品系雄蝇与突变品系处女果蝇杂交; c) 纯合突变品系处女果蝇与野生型雄蝇杂交; d) 纯合突变品系雄蝇与野生型处女果蝇杂交。

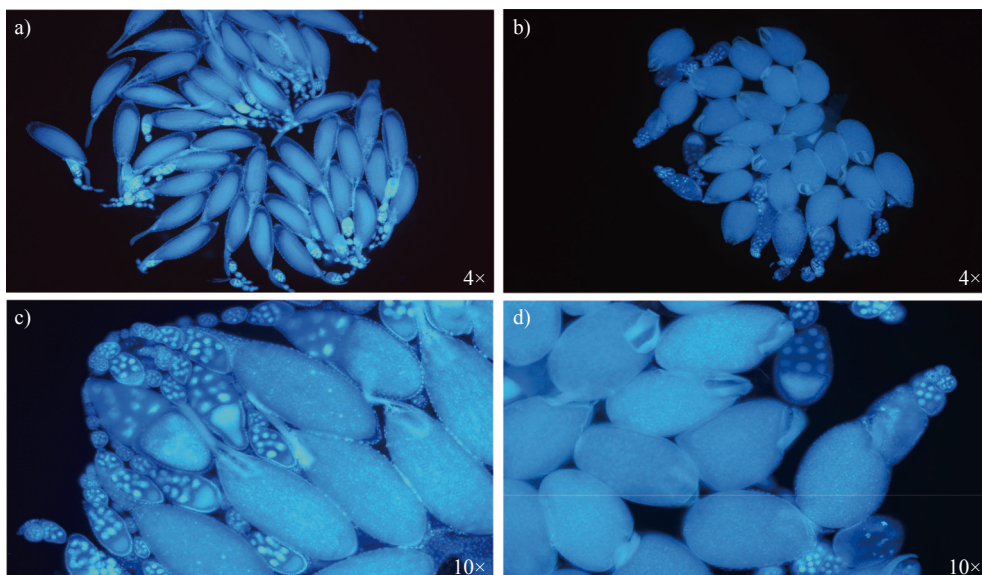
Note: a) the wild-type control; b) the cross between the homozygous mutant males and the mutant strain virgins; c) the homozygous mutant virgins crossed with the wild-type males; d) the homo-mutant males and wild-type virgins.

图 2 杂交第 7 天各培养管内果蝇生长情况

Fig. 2 The growth of each vial on the 7th day of hybridization

变品系扩增条带大小约为 700 bp, 水和 w^{1118} 泳道无条带, 说明扩增到 *MI3266* 插入基因组的特定条带。

反向 PCR 扩增产物测序结果为: CCGGGT-GGGAGGATGCATTGGTATGTGTTATCTTTAG-TAGTATTGATAATATAGTGTGTTAAACAT-

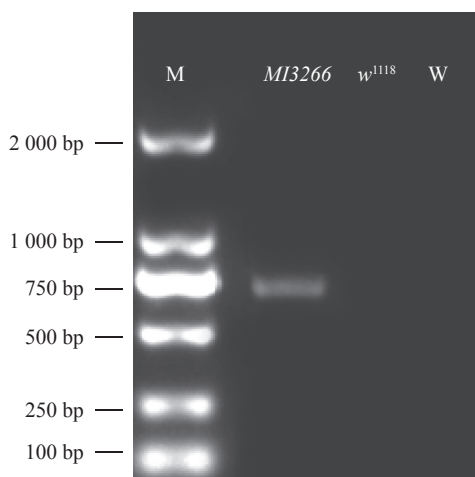


注: a) 和 c) 野生型对照组 w^{1118} ; b) 和 d) 突变品系 MI3266。

Note: a) and c) wild-type control group w^{1118} ; b) and d) the MI3266 strain.

图 3 果蝇卵巢 DAPI 染色

Fig. 3 DAPI staining results of *Drosophila* ovary



注: M. DNA 2000 Marker; W. 水。

Note: M. DNA 2000 Marker; W. water.

图 4 电泳检测结果

Fig. 4 Electrophoresis results

TGCGCACTGCAAAAAACATGCTGTTCG-
AATTAATAGTGGTTGGGGCTCGTATATC-
CGTCTTGGATGTGAACGACAATTGCCCT-
TGTTTGTCAATATGCCCTATTATGCCACA-
GTCTCTATTGACGATCCAACCCCTTGTGT-
CATGTCGGCGACCCTACGCCCCCAACTGA-
GAGAACTCAAAGGTTACCCCAAGTTGGG-
GCACTACTCCCGAAAACCGCTTCTGACCTGG-
GAAGCTTCCGTTACATTAGTGCTTTTG。

BLAST 结果显示: MI3266 中的 *Minos* 转座子插入到果蝇三号染色体左臂 20015792 和 20015793 之间, 突变基因为 *fat2*, 基因编号为 CG7749。结合反向 PCR 引物、BLAST 匹配序列方向与果蝇基因组序列的方向, 判断转座子的插入方向为 5'在右、3'在左, 转座子位于匹配片段左侧, 方向向左, 与 *fat2* 基因编码方向相反, 但插入 *fat2* 中部外显子区域, 直接造成 *fat2* 突变。

3 讨论

组织器官表皮细胞的重要特征是具有极性, 控制平面细胞极性 (PCP) 的分子途径首先报道自果蝇的研究。在果蝇翅和眼中形成 PCP 需要保守核心 PCP 基因和调节基因参与^[10-11]。果蝇卵巢卵室表皮是研究 PCP 的良好模型。早期发现的突变体 *kug* 其卵室呈球形, 明显与野生型细长的椭圆形卵室不同, 肌动蛋白纤维束方向与卵室形状有关^[19]。野生型果蝇卵室表皮细胞里肌动蛋白纤维束方向垂直于果蝇卵室前后轴, 而突变体 *kug* 卵室表皮细胞里肌动蛋白纤维束方向紊乱, 故认为垂直于卵室前后轴分布的肌动蛋白束提供分子束缚力, 限制卵室垂直方向的生长, 使卵室呈细长的椭圆形。突变体 *kug* 分离于几十年以前, 但直到 2009 年才鉴定出其影响的基因为钙粘着蛋白 *Fat2*^[18]。目前, *kug* 的突变体有很多种, 最早报道

的 *kugel*⁰⁰³ 突变体在第 75 位赖氨酸发生终止, 从而产生突变^[18-19]。本研究将实验室自建突变体 *MI3266* 进行序列比对, *Minos* 转座子插入到果蝇三号染色体左臂 20015792 和 20015793 之间。结合 *fat2* 结构域可知: 突变体在第 19 个钙粘蛋白结构域发生突变, 表型与 *fat2* 表型相同, 经鉴定影响的基因是 *fat2*, 表明 *MI3266* 是 *fat2* 的新突变体。从果蝇到哺乳动物, Fat 蛋白家族都是保守的, 果蝇有 Fat 和 Fat-like (Fat2) 2 个成员, 脊椎动物有 Fat-J、Fat1、Fat2 和 Fat3 等 4 个成员^[20]。果蝇 Fat2 与脊椎动物 Fat1、Fat2 和 Fat3 序列相似度更近。

肌动蛋白纤维束与培养的表皮细胞或者成纤维细胞基底部的应力纤维相似。应力纤维形成受整联蛋白影响。整联蛋白是跨膜的异二聚体, 它把胞内肌动蛋白骨架和细胞外基质连接在一起。滤泡细胞里肌动蛋白纤维末端与整联蛋白相连, 整联蛋白异二聚体成员 *mys* 和 *mew* 突变体卵室变圆, 发现 *mys* 和 *mew* 影响肌动蛋白纤维束的极性^[21]。受体酪氨酸磷酸酶 Lar 与细胞外基质和肌动蛋白细胞骨架有关, 它也影响肌动蛋白纤维束的极性^[21]。Fat2 胞内区域与卵室延长无关, 与 Fat2 在细胞内的分布密切相关^[22]。在卵室发育 1~8 时期, 卵室会绕前后轴发生旋转, 曾认为卵室旋转是卵室延长的先决条件。但是, 去除胞内区的 Fat2 在体外条件下其卵室可以延长至正常卵室长度, 却不发生旋转, 暗示卵室旋转不是卵室延长的先决条件^[22]。研究发现: 缺失胞内区 Fat2 的卵室也可以旋转, 只是速度减慢, 因此, 卵室旋转仍与卵室延长相关^[23]。此外, Dystrophin-Dystroglycan 复合体也与卵室延长有关^[24], 但 PCP 仍有很多问题没有解释清楚。根据反向 PCR 扩增 *MI3266* 插入基因组序列和 *fat2* 对应的编码蛋白的核酸序列比对结果可知: *MI3266* 插入在 Fat2 第 19 个钙粘蛋白结构域, 该结构域之后还有 10 余个钙粘蛋白结构域、跨膜结构域和胞内区, 因此, *Minos* 转座子是插入到 *fat2* 胞外区。*Minos* 转座子长 7 267 bp, 且 *MI3266* 插在 *fat2* 外显子内, 如此大的转座子片段里很容易出现终止密码子。当蛋白翻译时, 插入片段后面的编码序列无法翻译, 导致 Fat2 的胞内区、跨膜区以及部分胞外区缺失, 而失去跨膜区的 Fat2 是没有功能的^[22], 故推测 *fat2* 突变体的功能应完全缺失。

4 结论

本研究鉴定到 1 个不育果蝇突变体, 其雌蝇不育, 且雌蝇卵巢晚期卵室呈球形, 背侧肢短小。该突变影响的基因是 *fat2*, 其功能可能完全缺失。

[参考文献]

- [1] MCLAUGHLIN J M, BRATU D P. *Drosophila melanogaster* oogenesis: an overview[M]//BRATU D P, MCNEIL G P. *Drosophila oogenesis: methods and protocols*. Methods in Molecular Biology, vol. 1328. New York: Springer, 2015.
- [2] MCCALL K. Eggs over easy: cell death in the *Drosophila* ovary[J]. Developmental Biology, 2004, 274(1): 3. DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.07.017.
- [3] HSU H J, BAHADER M, LAI C M. Molecular control of the female germline stem cell niche size in *Drosophila*[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2019, 76(21): 4309. DOI: 10.1007/s00018-019-03223-0.
- [4] CAVALIERE V, TADDEI C, GARGIULO G. Apoptosis of nurse cells at the late stages of oogenesis of *Drosophila melanogaster*[J]. Development Genes and Evolution, 1998, 208(2): 106. DOI: 10.1007/s004270050160.
- [5] FULLER M T, SPRADLING A C. Male and female *Drosophila* germline stem cells: two versions of immortality[J]. Science, 2007, 316(5823): 402. DOI: 10.1126/science.1140861.
- [6] SEIFERT J R, MLODZIK M. Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility[J]. Nature Reviews Genetics, 2007, 8(2): 126. DOI: 10.1038/nrg2042.
- [7] MATIS M, AXELROD J D. Regulation of PCP by the Fat signaling pathway[J]. Genes & Development, 2013, 27(20): 2207. DOI: 10.1101/gad.228098.113.
- [8] MAHONEY P A, WEBER U, ONOFRECHUK P, et al. The *fat* tumor suppressor gene in *Drosophila* encodes a novel member of the cadherin gene superfamily[J]. Cell, 1991, 67(5): 853. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90359-7.
- [9] CLARK H F, BRENTUP D, SCHNEITZ K, et al. *Dachsous* encodes a member of the cadherin superfamily that controls imaginal disc morphogenesis in *Drosophila*[J]. Genes & Development, 1995, 9(12): 1530. DOI: 10.1101/gad.9.12.1530.
- [10] STALEY B K, IRVINE K D. Hippo signaling in *Drosophila*: recent advances and insights[J]. Developmental Dynamics, 2012, 241(1): 3. DOI: 10.1002/dvdy.22723.
- [11] REDDY B V, IRVINE K D. The Fat and Warts signaling pathways: new insights into their regulation, mechanism and conservation[J]. Development, 2008, 135(17): 2827. DOI: 10.1242/dev.020974.
- [12] CETERA M, HORNE-BADOVINAC S. Round and round gets you somewhere: collective cell migration and planar polarity in elongating *Drosophila* egg chambers[J].

- Current Opinion in Genetics & Development, 2015, 32: 10. DOI: [10.1016/j.gde.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.gde.2015.01.003).
- [13] HAIGO S L, BILDER D. Global tissue revolutions in a morphogenetic movement controlling elongation[J]. Science, 2011, 331(6020): 1071. DOI: [10.1126/science.1199424](https://doi.org/10.1126/science.1199424).
- [14] SQUARR A J, BRINKMANN K, CHEN B, et al. Fat2 acts through the WAVE regulatory complex to drive collective cell migration during tissue rotation[J]. Journal of Cell Biology, 2016, 212(5): 591. DOI: [10.1083/jcb.201508081](https://doi.org/10.1083/jcb.201508081).
- [15] NAKAYAMA M, NAKAJIMA D, YOSHIMURA R, et al. MEGF1/fat2 proteins containing extraordinarily large extracellular domains are localized to thin parallel fibers of cerebellar granule cells[J]. Molecular and Cellular Neurosciences, 2002, 20(4): 563. DOI: [10.1006/mcne.2002.1146](https://doi.org/10.1006/mcne.2002.1146).
- [16] METAXAKIS A, OEHLER S, KLINAKIS A, et al. Minos as a genetic and genomic tool in *Drosophila melanogaster*[J]. Genetics, 2005, 171(2): 571. DOI: [10.1534/genetics.105.041848](https://doi.org/10.1534/genetics.105.041848).
- [17] VENKEN K L S, SCHULZE K L, HAELE N A, et al. MiMIC: a highly versatile transposon insertion resource for engineering *Drosophila melanogaster* genes[J]. Nature Methods, 2011, 8(9): 737. DOI: [10.1038/nmeth.1662](https://doi.org/10.1038/nmeth.1662).
- [18] VIKTORINOVÁ I, KÖNIG T, SCHLICHTING K, et al. The cadherin Fat2 is required for planar cell polarity in the *Drosophila* ovary[J]. Development, 2009, 136(24): 4123. DOI: [10.1242/dev.039099](https://doi.org/10.1242/dev.039099).
- [19] GUTZEIT H O, EBERHARDT W, GRATWOHL E. Laminin and basement membrane-associated microfilaments in wild-type and mutant *Drosophila* ovarian follicles[J]. Journal of Cell Science, 1991, 100(4): 781. DOI: [10.1242/jcs.100.4.781](https://doi.org/10.1242/jcs.100.4.781).
- [20] TANOUE T, TAKEICHI M. New insights into Fat cadherins[J]. Journal of Cell Science, 2005, 118(11): 2347. DOI: [10.1242/jcs.02398](https://doi.org/10.1242/jcs.02398).
- [21] BATEMAN J, REDDY R S, SAITO H, et al. The receptor tyrosine phosphatase Dlar and integrins organize actin filaments in the *Drosophila* follicular epithelium[J]. Current Biology, 2001, 11(17): 1317. DOI: [10.1016/s0960-9822\(01\)00420-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00420-1).
- [22] AURICH F, DAHMANN C. A mutation in *fat2* uncouples tissue elongation from global tissue rotation[J]. Cell Reports, 2016, 14(11): 2503. DOI: [10.1016/j.celrep.2016.02.044](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.044).
- [23] CHEN D Y, CREST J, BILDER D. A cell migration tracking tool supports coupling of tissue rotation to elongation[J]. Cell Reports, 2017, 21(3): 559. DOI: [10.1016/j.celrep.2017.09.083](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.09.083).
- [24] CAMPOS C F, DENNIS C, ALÉGOT H, et al. Oriented basement membrane fibrils provide a memory for F-actin planar polarization via the Dystrophin-Dystroglycan complex during tissue elongation[J]. Development, 2020, 147(7): dev186957. DOI: [10.1242/dev.186957](https://doi.org/10.1242/dev.186957).

责任编辑: 何承刚