

# Ảnh hưởng của việc biểu hiện vượt mức *Drosophila* ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase lên quá trình phát triển mắt ruồi giấm *Drosophila melanogaster*

Cao Thị Thuỳ Trang, Đặng Thị Phương Thảo

**Tóm tắt**—Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) của người thuộc nhóm enzyme thủy phân liên kết giữa các phân tử ubiquitin, hoạt động trong hệ thống ubiquitin - proteasome. UCH-L1 hiện diện nhiều trong tế bào thần kinh và có liên quan đến các bệnh thoái hóa thần kinh như Parkinson và Alzheimer. Bất thường trong biểu hiện của UCH-L1 cũng được tìm thấy trong nhiều loại ung thư. Những ghi nhận trên cho thấy UCH-L1 góp phần duy trì hoạt động bình thường của tế bào, mô và cơ quan. Tuy nhiên, chức năng của UCH-L1 vẫn chưa được hiểu rõ. Đặc biệt, hiện chưa có công bố nào về vai trò của protein này trong quá trình phát triển. Nhằm tìm hiểu chức năng của UCH-L1 trong cơ thể sống, chúng tôi sử dụng mô hình ruồi giấm *Drosophila melanogaster* để nghiên cứu ảnh hưởng của dUCH (protein tương đồng của UCH-L1 trên ruồi) lên quá trình phát triển của cá thể. Cụ thể trong nghiên cứu này là sự phát triển mắt ruồi giấm. Kết quả cho thấy tăng biểu hiện dUCH chuyên biệt tại mô mắt gây ra sai hỏng trong định hướng của mắt con và sự biệt hóa của các tế bào sắc tố. Các kết quả này là bằng chứng cho tiềm năng của dUCH như một nhân tố tham gia vào điều hòa quá trình phát triển mắt ruồi.

**Từ khóa**—biệt hoá, *Drosophila melanogaster*, tế bào sắc tố, UCH-L1, võng mạc

## 1 GIỚI THIỆU

UCH-L1 được xếp vào phân lớp các protease thủy phân liên kết ở đầu C của phân tử ubiquitin (ubiquitin C-terminal hydrolase – UCH), giải phóng ubiquitin đơn phân [1]. Bên cạnh hoạt

tính thủy phân, UCH-L1 còn được cho là có hoạt tính nối ubiquitin *in vitro* với cơ chất là  $\alpha$ -synuclein khi ở trạng thái lưỡng phân [2] và chức năng ổn định lượng ubiquitin đơn phân nội bào bằng cách liên kết với các phân tử này [3].

UCH-L1 biểu hiện rất dồi dào trong các tế bào thuộc hệ thần kinh, chiếm đến 1–2% tổng lượng protein tan hiện diện trong não [4], đã được chứng minh là cần thiết cho việc duy trì cấu trúc và chức năng bình thường của synap [5, 6]. Bên cạnh đó, nhiều bằng chứng cho thấy UCH-L1 có liên quan đến các bệnh thoái hóa thần kinh [7]. Các đột biến I93M và E7A gây giảm mạnh hoạt tính của UCH-L1 lần lượt gây bệnh Parkinson [8] và hội chứng thoái hoá thần kinh từ nhỏ [9]. UCH-L1 cũng hiện diện trong nhiều khối u như ung thư tụy, ung thư biểu mô tuyến, ... Đến nay, nhiều bằng chứng thực nghiệm đã chỉ ra hai tiềm năng dường như đối lập của UCH-L1: gene gây ung thư và nhân tố ức chế khối u [10]. Từ đó có thể thấy, UCH-L1 cần thiết cho việc duy trì hoạt động bình thường của cơ thể và các bất thường trên protein này có thể gây ra nhiều loại rối loạn và bệnh lý. Tuy nhiên, cơ chế hoạt động của UCH-L1 vẫn còn nhiều bí ẩn. Việc tiếp tục tiến hành các nghiên cứu nhằm tăng cường hiểu biết về UCH-L1 cũng như mối liên hệ giữa protein này với các loại bệnh là cần thiết. Mặt khác, các nghiên cứu trước đây đã cho thấy nhiều khả năng dUCH, protein tương đồng của UCH-L1 trên ruồi, có liên quan đến quá trình phát triển của mắt ruồi. Việc tăng hay giảm biểu hiện của dUCH định hướng tại mô mắt đều gây kiểu hình mắt nhám ở ruồi trưởng thành [11, 12].

Ngày nhận bản thảo: 15-11-2017; Ngày chấp nhận đăng: 10-02-2018; Ngày đăng: 15-10-2018.

Tác giả Cao Thị Thuỳ Trang, Đặng Thị Phương Thảo\* - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM (e-mail: dtpthao@hcmus.edu.vn).

Ruồi giấm là một động vật mô hình được sử dụng từ lâu để phục vụ công cuộc nghiên cứu và có nhiều đóng góp cho sự phát triển của sinh học [13]. Mắt ruồi mang những đặc điểm phù hợp cho việc nghiên cứu chức năng gene, đặc biệt là các nghiên cứu liên quan đến biệt hoá và hình thành cơ quan chức năng trong cơ thể. Mắt ruồi trưởng thành có nguồn gốc từ đĩa tiền phân sinh mắt trong giai đoạn ấu trùng. Về mặt cấu trúc, mắt được tạo thành từ vài trăm mắt con được sắp xếp trong một mạng lưới sáu cạnh hình tổ ong theo một trật tự nhất định [14]. Tất cả mắt con được định hướng đồng đều và có dạng đối xứng qua gương ở nửa mặt lưng và nửa mặt bụng. Về cấu tạo, mỗi mắt con gồm tám tế bào thụ quang được đánh số từ R1 đến R8, đóng vai trò cốt lõi trong con đường biến đổi tín hiệu ánh sáng. Bốn tế bào nón sắp xếp cân đối và gần như nằm toàn bộ bên trên các tế bào thụ quang. Hai tế bào sắc tố sơ cấp có hình bán nguyệt bao quanh các tế bào nón. Ngoài ra là sáu tế bào sắc tố thứ cấp kéo dài tạo thành sáu cạnh cùng ba tế bào sắc tố cấp ba và ba lông gai được chia sẻ giữa các mắt con liền kề (hình 2 A). Mỗi mắt con cũng sở hữu một hệ thống khúc xạ ánh sáng gồm thấu kính màng sừng và nón thủy tinh, được tiết ra bởi tế bào nón cùng các tế bào sắc tố sơ cấp và thứ cấp. Các tế bào sắc tố sản xuất các hạt sắc tố giúp ngăn sự tán xạ ánh sáng giữa các mắt con và bảo vệ tế bào thụ quang khỏi tổn thương gây ra bởi ánh sáng. Ngoài ra, chúng cũng sản xuất các thành phần cần thiết cho con đường dẫn truyền tín hiệu ánh sáng ở mắt ruồi [14-16].

Trong nghiên cứu này, nhằm tìm hiểu sâu hơn về vai trò của dUCH trong quá trình phát triển mắt ruồi, chúng tôi đã khảo sát tác động của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên các loại tế bào trên võng mạc nhộng 42 giờ. Kết quả cho thấy biểu hiện vượt mức dUCH làm gia tăng các bất thường trong trật tự và định hướng của mắt con trên võng mạc cũng như sự biệt hóa của các tế bào sắc tố.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Các dòng ruồi được sử dụng

Các dòng ruồi được nuôi giữ trên môi trường cơ bản chứa 0,9 % agar, 5 % đường, 5 % nấm men và 3 % sữa bột. Dòng ruồi mang trình tự GMR-GAL4 giúp định hướng biểu hiện chuyên biệt tại mô mắt

ruồi giấm [17]. Dòng ruồi mang UAS-dUCH trên nhiễm sắc thể số 3 giúp tạo dòng biểu hiện vượt mức dUCH [12]. Dòng ruồi mang UAS-lacZ (mã số 107532, Trung tâm Kyoto, Nhật) được sử dụng để tạo dòng đối chứng.

### Lai tạo các dòng ruồi thí nghiệm

Để thu được các dòng ruồi cần thiết cho thí nghiệm, chúng tôi sử dụng hệ thống GAL4/UAS. Nguyên tắc như sau: GAL4 có khả năng bám vào trình tự UAS (Upstream Activating Sequences) và kích thích phiên mã trình tự mục tiêu nằm sau UAS. Promoter GMR cho phép GAL4 biểu hiện chuyên biệt ở các tế bào mắt ruồi trong giai đoạn phát triển. Tổ hợp GMR-GAL4 và UAS-trình tự mục tiêu được đặt trong hai dòng ruồi riêng biệt. Phép lai giữa hai dòng ruồi trên tạo ra con lai F1 vừa biểu hiện GAL4 định hướng mắt, vừa mang tổ hợp UAS-trình tự mục tiêu. GAL4 sau đó sẽ bám vào UAS giúp phiên mã trình tự mục tiêu trong mô tương ứng.

Như vậy, trong nghiên cứu này, dòng ruồi biểu hiện vượt mức dUCH có kiểu gen GMR-GAL4/+; +; UAS-dUCH/+ (ký hiệu GMR>dUCH) là con lai thế hệ F1 của phép lai giữa dòng GMR-GAL4; +; + và +; +; UAS-dUCH. Dòng đối chứng có kiểu gen GMR-GAL4/+; +; UAS-lacZ/+ (ký hiệu GMR>lacZ) là con lai thế hệ F1 của phép lai giữa dòng GMR-GAL4; +; + và +; +; UAS-lacZ.

### Nhuộm miễn dịch huỳnh quang

Để chuẩn bị cho kỹ thuật nhuộm miễn dịch huỳnh quang, nhộng đực 42 giờ được thu nhận, tách lấy não và võng mạc, giữ trong phosphate-buffered saline (PBS) lạnh. Mô được cố định trong dung dịch PBS chứa 4,6 % paraformaldehyde trong 35 phút, sau đó rửa 3 lần, mỗi lần 20 phút với PBS chứa 0,3 % triton X-100. Khóa mẫu với PBS chứa 0,15 % triton X-100 và 10 % huyết thanh dê trong 30 phút, bổ sung kháng thể sơ cấp và ủ 18-20 giờ ở 4 °C (kháng thể chuột kháng Cut và kháng thể chuột kháng Discs-large (Dlg) của DSHB (Developmental Studies Hybridoma Bank) với tỷ lệ 1:500; kháng thể chuột kháng Choptin của DSHB với tỷ lệ 1:100). Sau đó, mẫu được rửa 5 lần, mỗi lần 20 phút với PBS chứa 0,3 % triton X-100 và ủ với kháng thể thứ cấp gắn chất phát huỳnh quang Alexa 488 hoặc 594 (tỷ lệ

1:400, Invitrogen) trong PBS chứa 0,15 % Triton X-100 và 10 % huyết thanh dê, 18-20 giờ ở 4 °C. Rửa mẫu 5 lần, mỗi lần 20 phút trong PBS chứa 0,3 % triton X-100, rửa lại với PBS và tách lấy võng mạc, cố định trên lam kính trong dung dịch bảo quản Vectashield Mounting Medium (Vector Laboratories). Kết quả được ghi nhận bằng kính hiển vi huỳnh quang Eclipse Ni-U (Nikon).

Đối với việc phân tích kết quả hình ảnh nhuộm miễn dịch huỳnh quang với kháng thể kháng Cut, năm võng mạc được chọn từ mỗi dòng ruồi thí nghiệm. Sau đó, bốn vùng đơn vị có diện tích  $5625\pi \mu\text{m}^2$  được xác định bằng phần mềm Adobe Photoshop CS6 trên mỗi võng mạc. Việc đếm tế bào trên vùng đơn vị được thực hiện bằng phần mềm ImageJ, trong đó số lượng cụm tế bào nón và số lượng tế bào nón trong mỗi cụm được ghi nhận. Các cụm được xem là bất thường có số tế bào khác bốn. Mức độ bất thường về số lượng tế bào trong cụm tế bào nón được phản ánh qua thông số “tỷ lệ cụm bất thường” của vùng đơn vị và xử lý thống kê bằng kiểm định Mann-Whitney của chương trình GraphPad Prism 6 (GraphPad Software). Cách tính tỷ lệ cụm bất thường như sau:

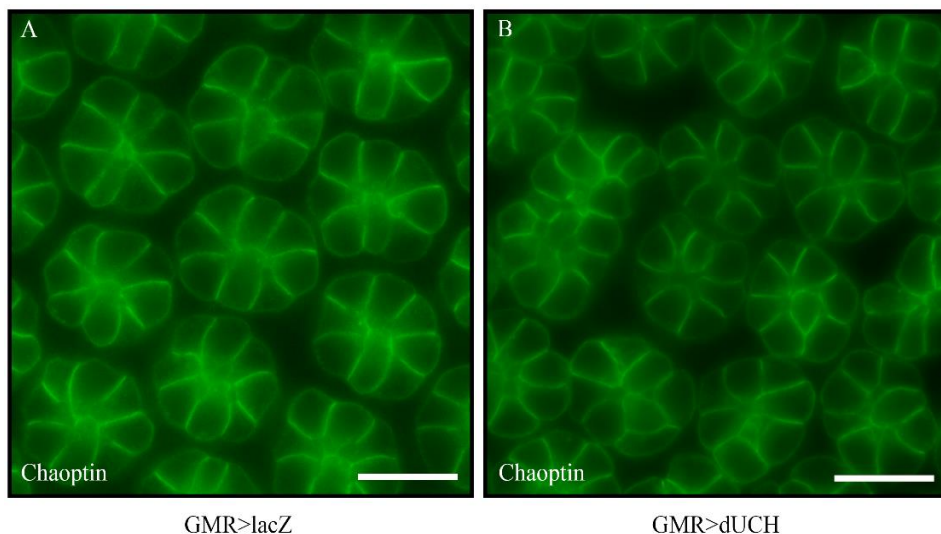
$$\text{Tỷ lệ cụm bất thường} = \frac{\text{Số lượng cụm bất thường}}{\text{Tổng số cụm}}$$

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### Ảnh hưởng của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên tế bào thụ quang trong mắt ruồi ở giai đoạn nhộng 42 giờ

Trong quá trình phát triển của mắt ruồi, các tế bào được bổ sung và biệt hóa theo trình tự cố định: các tế bào thụ quang, tế bào nón, tế bào sắc tố sơ cấp, các tế bào sắc tố thứ cấp và cấp ba. Trong đó, tín hiệu từ các tế bào biệt hóa trước đóng vai trò quan trọng trong việc bổ sung vào mắt con và biệt hóa của các tế bào chưa biệt hóa xung quanh [18, 19].

Để tìm hiểu vai trò của dUCH trong quá trình phát triển của mắt ruồi, tác động của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên các tế bào thụ quang được khảo sát. Chúng tôi nhuộm miễn dịch huỳnh quang võng mạc nhộng 42 giờ của dòng ruồi biểu hiện vượt mức dUCH - GMR>dUCH - với kháng thể kháng protein Chaoptin biểu hiện chuyên biệt trên màng tế bào thụ quang. Dòng ruồi GMR>lacZ được sử dụng làm đối chứng nhằm so sánh sự biến động trong cấu trúc mắt ruồi. Chúng tôi ghi nhận được các rối loạn trong phân bố cụm tế bào thụ quang trên nhiều vùng của võng mạc ruồi biểu hiện vượt mức dUCH (Hình 1 B). Tuy nhiên, số lượng tế bào thụ quang không thay đổi (Hình 1 A, B)

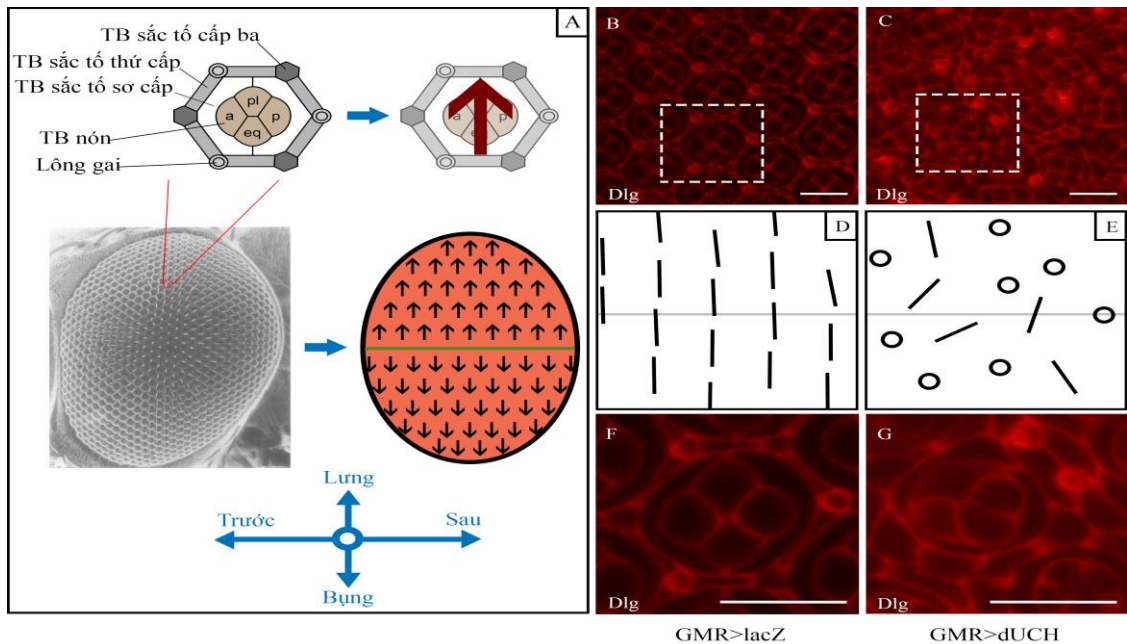


**Hình 1.** Kết quả nhuộm miễn dịch huỳnh quang võng mạc nhộng 42 giờ với kháng thể kháng Chaoptin của dòng đối chứng (A) và dòng biểu hiện vượt mức dUCH (B). Thước trên hình biểu thị 10 $\mu\text{m}$ .

**Biểu hiện vượt mức dUCH làm gia tăng các bất thường trong trật tự và định hướng của mắt con, hình thái và cách sắp xếp của tế bào sắc tố trên võng mạc ở giai đoạn nhộng 42 giờ**

Tiếp theo, chúng tôi khảo sát các tác động của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên cấu trúc đặc trưng ở mặt đỉnh võng mạc. Võng mạc nhộng 42

giờ từ các dòng ruồi thí nghiệm được nhuộm với kháng thể kháng protein Discs-large (Dlg) hiện diện trên màng tế bào. Qua đó, chúng tôi phân tích trật tự và định hướng của mắt con cũng như ghi nhận những bất thường trên tế bào nón và các loại tế bào sắc tố.



**Hình 2.** Biểu hiện vượt mức dUCH gây ra các bất thường trên mặt đỉnh võng mạc nhộng 42 giờ.

(A) Hình ảnh mắt ruồi trưởng thành [14]; sơ đồ minh họa định hướng của mắt con với đoạn thẳng màu xanh lá tượng trưng cho xích đạo; cấu trúc mắt con nhìn từ mặt cắt đỉnh ở giai đoạn nhộng với a - tế bào nón trước, p - tế bào nón sau, pl - tế bào nón cực, eq - tế bào nón xích đạo, mũi tên lớn màu đỏ chỉ chiều cực - xích đạo.

(B-C) Kết quả nhuộm miễn dịch huỳnh quang võng mạc nhộng 42 giờ với kháng thể kháng Dlg của dòng đối chứng (B) và dòng biểu hiện vượt mức dUCH (C).

(D-E) Sơ đồ phân tích định hướng các mắt con trong hình B (D) và hình C (E). Các đoạn ngắn màu đen biểu diễn định hướng mặt đỉnh của mắt con, các đường tròn đen biểu diễn mắt con không thể định hướng. Đường màu xám nhạt biểu diễn hướng trước-sau của võng mạc.

(F-G) Hình ảnh phóng to của phần được đóng khung ở Hình B (F) và hình C (G).

Thước trên tất cả các hình biểu thị 10  $\mu$ m.

Ở giai đoạn nhộng 42 giờ sau khi hình thành kén, các mắt con đã bổ sung đầy đủ các loại tế bào, chỉ còn một vài tế bào thừa trong mạng lưới sáu cạnh cần được loại bỏ. Đối với dòng ruồi đối chứng biểu hiện lac Z định hướng mô mắt, ngoài một số bất thường nhỏ ít gặp, các mắt con trên võng mạc đều có trật tự và định hướng đồng đều, các loại tế bào có hình dạng và vị trí đặc trưng (Hình 2 B, D, F). Trong khi đó, việc biểu hiện vượt mức dUCH đã làm gia tăng các sai hỏng trên

mặt đỉnh võng mạc của dòng ruồi này so với dòng đối chứng. Cụ thể, trên nhiều vùng ghi nhận, các mắt con của dòng biểu hiện vượt mức dUCH không được xếp thẳng hàng, định hướng không đồng đều và không phù hợp với định hướng của võng mạc (Hình 2 C, E). Chúng tôi cũng quan sát được các cụm tế bào nón có kích thước chênh lệch nhau và đôi khi biến dạng. Thêm vào đó, hình thái của các loại tế bào sắc tố cũng có nhiều thay đổi. Tế bào sắc tố sơ cấp méo mó và/hoặc sai số lượng.

Hình dạng của các tế bào sắc tố thứ cấp và cấp ba (gọi chung là các tế bào sắc tố liên mắt con) bị biến đổi. Ngoài các thay đổi về hình thái, phân bố của các tế bào này cũng trở nên lộn xộn. Nhiều vùng trên võng mạc có các mắt con kế cận được ngăn cách bởi nhiều hơn một hàng tế bào sắc tố liên mắt con. Như hệ quả, mắt con trên các vùng bất thường của võng mạc biểu hiện vượt mức dUCH không duy trì được hình dạng lục giác mà trở nên tròn hơn. Các lông gai trên võng mạc phân bố lộn xộn, có thể do bị ảnh hưởng từ sự bất thường của các tế bào sắc tố. Hơn nữa, tình trạng dính mắt con do mất tế bào sắc tố thứ cấp cũng gia tăng (Hình 2 C, G).

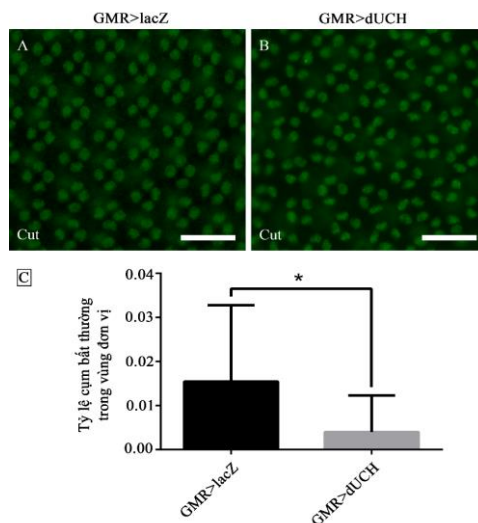
Như vậy, việc biểu hiện vượt mức dUCH đã ảnh hưởng đến định hướng của mắt con ở mặt đỉnh võng mạc nhộng 42 giờ và sự biệt hóa của các tế bào tế bào sắc tố.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy biểu hiện vượt mức dUCH cảm ứng sự chết theo chương trình đi kèm hiện tượng tăng phân bào trên đĩa tiền phân sinh mắt của ấu trùng bậc ba [12]. Trong quá trình biệt hoá mắt ruồi, các tế bào sắc tố thứ cấp và cấp ba là những tế bào võng mạc cuối cùng được xác định. Cơ chế apoptosis được sử dụng để loại

bỏ các tế bào thừa và hoàn chỉnh mạng lưới sáu cạnh của mắt ruồi [18, 19]. Apoptosis quá mức có thể sẽ gây các rối loạn bất thường, ảnh hưởng đến số lượng, sự sắp xếp các tế bào trong quá trình kiến tạo mắt ruồi.

### Ảnh hưởng của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên tế bào nón của mắt ruồi ở giai đoạn nhộng 42 giờ

Sau khi có được nhận định tổng quát về ảnh hưởng của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên cấu trúc mặt đỉnh võng mạc, chúng tôi tiến hành tìm hiểu sâu hơn các tác động trên tế bào nón. Đây là tế bào cung cấp tín hiệu cần thiết cho sự biệt hóa của các tế bào sắc tố sơ cấp. Võng mạc nhộng 42 giờ từ các dòng ruồi thí nghiệm được nhuộm miễn dịch huỳnh quang với kháng thể kháng protein Cut, một nhân tố điều hòa phiên mã đặc trưng cho tế bào nón. Kết quả thực nghiệm cho thấy có sự gia tăng các cụm tế bào bất thường trong võng mạc ruồi biểu hiện vượt mức dUCH thể hiện ở cách sắp xếp các cụm tế bào (Hình 3 A, B). Sự khác biệt về số lượng các cụm tế bào nón bất thường ở ruồi biểu hiện vượt mức dUCH có ý nghĩa thống kê (Hình 3C)



**Hình 3.** Ảnh hưởng của việc biểu hiện vượt mức dUCH lên tế bào nón của mắt ruồi ở giai đoạn nhộng 42 giờ.

(A-B) Kết quả nhuộm miễn dịch huỳnh quang võng mạc nhộng 42 giờ với kháng thể kháng Cut của dòng đối chứng (A) và dòng biểu hiện vượt mức dUCH (B).

(C) Đồ thị biểu diễn tỷ lệ cụm bất thường trên võng mạc nhộng 42 giờ của dòng đối chứng và biểu hiện vượt mức dUCH (xử lý thống kê bằng kiểm định Mann-Whitney, n=20, p=0,0188).

Thước trên hình biểu thị 20  $\mu$ m.

Như vậy, biểu hiện vượt mức dUCH làm gia tăng các bất thường về hình thái, nhưng không ảnh hưởng đến lượng tế bào nón trong mắt con của võng mạc nặng 42 giờ.

#### 4 KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng thành công mô hình ruồi giấm biểu hiện vượt mức dUCH định hướng mô mắt để khảo sát ảnh hưởng của dUCH lên quá trình phát triển mắt ruồi. Việc biểu hiện vượt mức dUCH đã làm tăng bất thường trong trật tự và định hướng ở mặt đỉnh của mắt con, cũng như bất thường trên các loại tế bào khác nhau của võng mạc nặng 42 giờ. Các kết quả thu nhận được cho thấy tiềm năng tham gia vào điều hòa quá trình phát triển của dUCH. Kết quả nghiên cứu đóng góp vào hiểu biết về vai trò của dUCH trong cơ thể sống và góp phần định hướng các nghiên cứu về UCH-L1 trong tương lai.

**Lời cảm ơn:** Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM đã hỗ trợ cho việc thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. P. Bishop, D. Rocca, J. M. Henley, Ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1): structure, distribution and roles in brain function and dysfunction, *Biochem J.*, 473, 16, 2453–2462, 2016.
- [2]. Y. Liu, L. Fallon, H. A. Lashuel, Z. Liu, P.T. Lansbury, Jr., The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect alpha-synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility, *Cell*, 111, 2, 209–218, 2002.
- [3]. H. Osaka, Y.L. Wang, K. Takada, S. Takizawa, R. Setsuie, H. Li, Y. Sato, K. Nishikawa, Y.J. Sun, M. Sakurai, T. Harada, Y. Hara, I. Kimura, S. Chiba, K. Namikawa, H. Kiyama, M. Noda, S. Aoki, K. Wada, Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron, *Hum. Mol. Genet.*, 12, 16, 1945–1958, 2003.
- [4]. J.F. Doran, P. Jackson, P.A. Kynoch, R. J. Thompson, Isolation of PGP 9.5, a new human neurone-specific protein detected by high-resolution two-dimensional electrophoresis, *J. Neurochem.* 40, 6, 1542–1547, 1983.
- [5]. A.E. Cartier, S.N. Djakovic, A. Salehi, S.M. Wilson, E. Masliah, G.N. Patrick, Regulation of synaptic structure by ubiquitin C-terminal hydrolase L1, *J. Neurosci.*, 29, 24, 7857–7868, 2009.
- [6]. B. Gong, Z. Cao, P. Zheng, O.V. Vitolo, S. Liu, A. Staniszewski, D. Moolman, H. Zhang, M. Shelanski, O. Arancio, Ubiquitin hydrolase Uch-L1 rescues beta-amyloid-induced decreases in synaptic function and contextual memory, *Cell*, 126, 4, 775–788, 2006.
- [7]. R. Setsuie, K. Wada, The functions of UCH-L1 and its relation to neurodegenerative diseases, *Neurochem Int*, 51, 2–4, 105–111, 2007.
- [8]. E. Leroy, R. Boyer, G. Auburger, B. Leube, G. Ulm, E. Mezey, G. Harta, M. J. Brownstein, S. Jonnalagada, T. Chernova, A. Dehejia, C. Lavedan, T. Gasser, P. J. Steinbach, K. D. Wilkinson, M. H. Polymeropoulos, The ubiquitin pathway in Parkinson's disease, *Nature*, 395, 6701, 451–452, 1998.
- [9]. K. Bilguvar, N.K. Tyagi, C. Ozkara, B. Tuysuz, M. Bakircioglu, M. Choi, S. Delil, A.O. Caglayan, J.F. Baranoski, O. Erturk, C. Yalcinkaya, M. Karacorlu, A. Dincer, M. H. Johnson, S. Mane, S. S. Chandra, A. Louvi, T. J. Boggon, R. P. Lifton, A. L. Horwich, M. Gunel, Recessive loss of function of the neuronal ubiquitin hydrolase UCHL1 leads to early-onset progressive neurodegeneration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 9, 3489–3494, 2013.
- [10]. J.H. Kennedy, L.S. Chin, L. Li, Ubiquitin C-Terminal Hydrolase L1 in Tumorigenesis, *Biochem Res Int*, 2012.
- [11]. D.N. Anh Suong, T.H. Hiep, N.T. Thanh, D.T. Thuong Thao, Knock-down gene ubiquitin carboxy-terminal hydrolase (uch) resulted in reducing tyrosine hydroxylase in dopaminergic cells and inducing apoptosis in *Drosophila melanogaster*, *Tạp chí Sinh học*, 37, 1se, 2015.
- [12]. D.T. Thao, P.N. An, M. Yamaguchi, T.L. Thuoc, Overexpression of ubiquitin carboxyl terminal hydrolase impairs multiple pathways during eye development in *Drosophila melanogaster*, *Cell Tissue Res*, 348, 3, 453–463, 2012.
- [13]. A.M. Arias, *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century, *Methods Mol. Biol.*, 420, 1–25, 2008.
- [14]. D. F. Ready, T. E. Hanson, S. Benzer, Development of the *Drosophila* retina, a neurocrystalline lattice, *Dev. Biol.*, 53, 2, 217–240, 1976.
- [15]. M. Charlton-Perkins, T. A. Cook, Chapter Five - Building a Fly Eye: Terminal Differentiation Events of the Retina, Corneal Lens, and Pigmented Epithelia. In: L. C. Ross and A. R. Thomas, *Current Topics in Developmental Biology*, Academic Press, 2010.
- [16]. R. L. Cagan, D. F. Ready, The emergence of order in the *Drosophila* pupal retina, *Dev Biol*, 136, 2, 346–362, 1989.
- [17]. Y. Takahashi, F. Hirose, A. Matsukage, M. Yamaguchi, Identification of three conserved regions in the DREF transcription factors from *Drosophila melanogaster* and *Drosophila virilis*, *Nucleic Acids Res.*, 27, 2, 510–516, 1999.
- [18]. J. Curtiss, Cell Morphogenesis: Tracing the Paths of Induction During *Drosophila* Ommatidial Development. In: A. Singh and M. Kango-Singh, *Molecular Genetics of Axial Patterning, Growth and Disease in the Drosophila Eye*, Springer-Verlag New York, 2013.
- [19]. S. Bao, Two themes on the assembly of the *Drosophila* eye. In: L.C. Ross, A.R. Thomas, *Current Topics in Developmental Biology*, Academic Press, 2010.

# Effect of *Drosophila* ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase overexpression on the *Drosophila melanogaster* eye development

Cao Thi Thuy Trang, Dang Thi Phuong Thao\*

University of Science, VNUHCM

\*Corresponding author: dtpthao@hcmus.edu.vn

Received: 15-11-2017, Accepted: 10-02-2018, Published: 15-10-2018.

**Abstract**—Human ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) is a member of deubiquitinating enzyme group and a component of ubiquitin-proteasome system. Being one of the neuron-specific proteins, abnormalities of UCH-L1 was observed in several neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease. On the other hand, UCH-L1 was also found to be present in various kinds of cancers with inconsistent acting reported in different studies. Together these records indicated the involvement of UCH-L1 in maintaining normal activities of cells, tissues and organs. However, *in vivo* significance of the protein

remains unclear. In addition, among the attempts made to approach the biological function of UCH-L1, there has been no previous report addressing its part in development. In order to explore the function of UCH-L1, we utilized *Drosophila melanogaster* as model to investigate effects of dUCH (a *Drosophila* homologue of human UCH-L1) on the development. Particularly in *Drosophila* eye development, in this study. Our experimental results revealed that specific overexpression of dUCH in eye tissue induced the disruption in ommatidia orientation and defects in differentiation of pigment cells. These results are evidence that support the role of dUCH as a development mediating factor.

**Index Terms**—differentiation, *Drosophila melanogaster*, pigment cell, UCH-L1, retina.