

A DROSOPHILA MELANOGASTER HARMADIK KROMOSZÓMÁJA
EGY SZAKASZÁNAK GENETIKAI ÉS CITOLÓGIAI
VIZSGÁLATA

Doktori értekezés

Irta

Gyurkovics Henrik

MTA - SZBK

Genetikai Intézet

S z e g e d

1 9 8 0.

Köszönettel tartozom Professzor Alföldi Lajosnak,
az MTA Szegedi Biológiai Központ és a Genetikai Intézet
igazgatójának a munkafeltételek biztosításáért és az
erkölcsi támogatásért.

Köszönetet mondok munkatársaimnak, Gausz Jánosnak,
Bencze Gábornak, David Ish-Horowicz-nak, Jeanette Holden-
nek és Robert Voelker-nek, akik bevezettek a témába és
akikkel e téma keretében együttműködtünk.

Hálával tartozom Orosz Lászlónak elméleti ismereteim
megalapozásáért.

Köszönetet mondok továbbá Dusha Bélának az illusztrá-
ciók gondos elkészítéséért - Mezei Imréné és Molnár
Zoltánné asszisztenseknek lelkiismeretes munkájukért,
Rácz Zsuzsannának a szöveg pontos gépeléséért.



TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
BEVEZETÉS	1.
IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3.
1. Az óriáskromoszóma és a citológiai térkép	3.
2. Mesterségesen aktiválható puffok	6.
3. A gének számának meghatározása telítési kísérlettel	9.
CÉLKITÜZÉS	13.
ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	14.
Deficiencia izolálás	14.
EMS-tal indukált mutációk izolálása	15.
A mutációk deléciós térképezése	16.
Komplementációs analízis	17.
A letális fázis meghatározása	17.
Nyálmirigy kromoszóma preparátumok készítése	18.
Dajkasejt kromoszóma preparátum készítése	19.
Malát-enzim gélelektroforézise	20.
EREDMÉNYEK	21.
a/ A régió citológiai jellemzése	21.
b/ Az fs/2/B dajkasejt-kromoszómák általános citológiai jellemzése	22.
c/ Deficienciák előállítása	24.
d/ A 87A és 87C hő-sokk puffok keletkezési helyének citológiai meghatározása	25.
e/ Malát-enzim deléciós térképezése	26.
f/ Pont mutációk izolálása	27.

	Oldal
g/ Deléciós térképezés, komplementációs csoportok meghatározása és jellemzése	28.
AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	36.
a/ A régió citológiai adatainak értékelése	36.
b/ Sávok és komplementációs egységek viszonya a vizsgált régióban	38.
c/ A "gének" helyzete a sávmintázathoz viszonyítva	40.
d/ Elképzelések a kromoszóma szerveződésére	41.
IRODALOMJEGYZÉK	48.

BEVEZETÉS

A törzsfejlődés során az egyszerűbb szervezetektől a bonyolultabbak felé haladva a sejtek DNS tartalma és bizonyos mértékig a gének száma is nő. A strukturgének számát azonban a legtöbb esetben csak becsülni lehet. Bár a becslések pontatlanok, annyi bizonyos, hogy a baktériumokkal és vírusokkal ellentétben a magasabbrendű /eukarióta/ szervezetekben sokkal több DNS található, mint amennyi a strukturgének kódolásához szükséges. Ez a tény önmagában is arra utal, hogy az eukarióta genom a prokariótákétól eltérő elvek alapján szerveződik. A genom szerveződés megismerésének egyik lehetséges módja, hogy egy rövid kromoszóma-szakaszon belül meghatározzuk a gének számát és citológiai helyzetét, és az így kapott citogenetikai térképet összevetjük a DNS elsődleges szerkezetéről nyert biokémiai adatokkal. A kellő mélységű citogenetikai analízis jelenleg egyetlen megfelelő objektuma a Drosophila melanogaster. Fentieket figyelembevéve egy olyan kromoszóma-szakaszt választottunk citológiai és genetikai vizsgálataink tárgyául, amely a Drosophila melanogaster 3. kromoszómájának jobb karján található, és mesterséges hatással /rövid idejű hőkezelés/ indukálható fehérjét kódoló géneket tartalmaz. A hő-indukálható

gének működésével egyidejűleg a genom nagy része inaktív
válódik és ez a körülmény rendkívül megkönnyíti a bioké-
miai vizsgálatokat is.



IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. Az óriáskromoszóma és a citológiai térkép

Bizonyos szervezetek különböző szövettípusaiban ún. óriáskromoszómák figyelhetők meg. Ezek olyankor képződnek, ha a DNS ismételt replikációját nem követi a sejtek osztódása. Óriáskromoszómák keletkezésének másik feltétele, hogy az utód kromotidák homológ szakaszaikkal egymáshoz tapadva együttmaradjanak. A kromotidaszám növekedése az egyedfejlődés alatt fokozatosan megy végbe, és szövettípustól függően különböző szintet érhet el. Így pl. a Drosophila melanogaster lárvális nyálmirigyében kb. ezerszeresre nő a DNS tartalom a diploid sejtekhez képest. Ilyen körülmények között az interfázisos kromoszómák jól megfigyelhetők. Politén kromoszómák az élőlények széles körében találhatók, pl. Ciliatákban /Ammermann, 1971/, sőt növények csirafüggesztő sejtjeiben is /Nagl, 1962/. Dipteráknál általános jelenségnek mondható bizonyos sejtek kromoszómainak politenizációja. Figyelemre-méltó, hogy az ismert esetekben ezeknek az óriáskromoszómáknak a megjelenése rendkívül hasonló: jellegzetes mintázatot mutatnak. Ezt a mintázatot erősen festődő sávok /bandek/ és gyengén festődő sávközök /interbandek/ váltakozása alkotja. A sávok erősebb festődése nagyobb DNS tartalmukat tükrözi. Ez átlagosan huszszor magasabb, mint az interbandeké.

A bandek szélessége és egymáshoz viszonyított távolsága jellemző az egyes kromoszóma szakaszokra, lehetővé téve azok citológiai azonosítását. Természetesen ez a minta-zat fajspecifikus is.

A politenizáció általában nem terjed ki az egész genomra. Drosophila melanogaster-ben pl. nem politenizálódik a kromoszóma karok centromérához közeleső része /központi heterokromatin/ a csucsi részek, valamint az Y kromoszóma. Mivel ez a faj két metacentrikus /második és harmadik/ és két akrocentrikus /X és 4./ kromoszómát tartalmaz, óriáskromoszóma preparátumain 5 nagy és 1 kis /4. kromoszóma/ kar figyelhető meg.

Bridges /1938; 1942/ megszerkesztette a Drosophila melanogaster nyálmirigy-óriáskromoszómáinak térképét. Minden kromoszóma kart - a kis 4. kivételével - 20 nagyobb egységre osztott fel /1-20-ig az X kromoszóma, 21-40-ig a második kromoszóma bal karja, 41-60-ig a második kromoszóma jobb karja, 61-80-ig a harmadik kromoszóma bal karja, 81-100-ig a harmadik jobb karja/. A 4. kromoszóma további két egységet foglal magában 101-102-ig. A nagyobb egységeken belül 6 nagybetűvel jelölt szakaszt különített el/A-F-ig/. Ezek mindegyike egy-egy széles banddel kezdődik. Végül arab számmal jelölt minden egyes elkülöníthető sávot. Így pl. 87C1 egyetlen bandet jelöl a térképen. A teljes kromoszóma térkép 5072 sávot tartalmaz. Ez a szám némileg magasabb lehet a reális értéknél. Beermann /1974/ kiemelte, hogy bizonyos bandek "kettőssége" műtermék lehet, mivel a nyálmirigyek előkezelése sóoldatban /rovar-Ringer/

elősegíti a széles sávok kettősként való megjelenését, míg közvetlenül fixáló szerben boncolva ugyanezek a bandek egyesnek látszanak. Beermann /1972/, Berendes /1970/, Sorsa /1969/ és Zsimuljev /1974/ végzett elektromikroszkópos vizsgálatokat, amelyek során Bridges legtöbb "dupla" bandjét nem lehetett elkülöníteni. Ezek a vizsgálatok azt mutatják, hogy kb. 20%-kal kevesebb sáv azonosítható a nyálmirigy-kromoszómákon, így az egész genom politenizált része /eukromatin/ hozzávetőleg 4.000 sávból áll, figyelembevéve, hogy általában az elektromikroszkópos képek sem mutatnak több finom sávot, mint amennyit Bridges térképe ábrázol.

Az óriáskromoszómákon a sávmintázaton kívül még egy feltűnő morfológiai sajátosság figyelhető meg. Helyenként gyengén festődő duzzanatok láthatók - az ún. puffok. A puff-mintázat az egyedfejlődés során állandóan változik: egyes puffok fokozatosan eltűnnek /regresszálódnak/, míg a kromoszóma más helyein újak képződnek. Vannak olyan puffok is, amelyek az egyedfejlődés hosszabb szakaszán keresztül változatlanok, jó tájékozódási pontokul szolgálva a citológiai analízis számára. A puffmintázat időbeli változása, valamint az a megfigyelés, hogy különböző szövetekben ez a mintázat eltérő /lásd összefoglalva: Ashburner, 1972/, felvetette azt a lehetőséget, hogy az egyes puffok gének aktivitását tükrözik /Beermann, 1952/. Alátámasztotta ezt a feltételezést, hogy a Chironomusban a nyálmirigy protein megjelenése egybeesik egy nagy puff

feltűnésével /Beermann, 1961; Grossbach, 1969/. Pelling /1959/ kimutatta, hogy a puffokban intenzív RNS szintézis folyik. Későbbi vizsgálatok /Daneholt, 1975/ egyértelműen alátámasztották ezeket az eredményeket, ezért a puffokat a kromoszóma transzkripcionálisan legaktívabb helyeinek tekinthetjük. Így a puffok vizsgálata közelebb vihet az eukarióta gén-expresszió megértéséhez.

2. Mesterségesen aktiválható puffok

Ebből a szempontból különösen jelentős azoknak a puffoknak a tanulmányozása, amelyek mesterségesen indukálhatók. Így pl. késői harmadik stádiumos lárvákba 10^{-4} μ g ekdizont injektálva a 74EF, 75B, 23E és 2B régiókban 15'-en belül puffképződés figyelhető meg, míg két puff /25AC és 68C/ regresszál /Ashburner, 1972/. Ezek a puffok a normális egyedfejlődés során is megjelennek a 3. lárvastádium végén, tükrözve, hogy ebben az időben a lárvális gyűrűmirigyből nagy mennyiségű ekdizon szabadul fel /Bollenbacher és mtsai, 1976/.

A puffoknak egy másik csoportját rövid ideig tartó /20-30'/ 37°C-os hőkezeléssel lehet indukálni /Ritossa, 1962/. Ashburner szerint /1970/ a magas hőre való helyezésről számított 5'-en belül kilenc helyen lehet puffképződést megfigyelni: 33B, 63BC, 64F, 67B, 70A, 87A, 87C, 93D, 95D. A puff-indukció optimuma 30'-es 37.5°C-os kezelés, bár már 29°C-on észlelhető gyenge puffképződés

az említett helyeken. Az indukciót proteinszintézis-gátlók /puromicin és cycloheximid/ nem befolyásolják - viszont a puffok regresszióját igen. Ezzel szemben az RNS-szintézis gátlása /aktinomicin D/ megakadályozza az indukciót is /Leenders és Beckers, 1972/.

A puffok megjelenésével egyidőben 7-8 új protein és számos RNS-féleség szintézise is megindul /Tissiéres és mtsai, 1974/. Ezzel párhuzamosan az addig szintetizálódó mRNS típusok és proteinek szintézise megszűnik - kivéve a hiszton és mitokondriális mRNS-eket. Ennek megfelelően a poliszóma-profil is teljesen megváltozik /Lengyel és Pardue, 1975; Rubin és Hogness, 1975/. Ezek az események kivétel nélkül minden szövettípusban - beleértve a sejttenyészeteket is - bekövetkeznek.

Mindezek a változások rendkívül megkönnyítik a biokémiai vizsgálatokat mind az RNS, mind a fehérjék tekintetében. Így lehetővé vált hő-sokkolt sejtekből származó poliadenilált mRNS-eket centrifugálással egy 20S és egy 12S-es frakcióra különíteni, majd a 20S-es frakciót gél elektroforézissel további négy frakcióra bontani /A1, A2, A3, A4/. Az egyes rádióaktívan jelölt frakciókat nyálmirigy óriáskromoszómákhoz hibridizálták in situ, amelynek az eredményeként az A1 frakció a 63BC puffra, A2 a 87A és 87C puffra, A3 a 95D-re, A4 elsősorban 87C-re és kismértékben 87A-ra hibridizált. Ezzel sikerült azonosítani ezen mRNS-féleségek valószínű származási helyét /Spradling és mtsai, 1977; McKensie és mtsai, 1975/.

Hasonlóan egyszerű a hő-sokk proteinek elkülönítése és

azonosítása. ³⁵S-methioninnal jelölve a hőkezelés után SDS-acrilamid gél elektroforézissel a következő mólsúlyu proteinek különítették el: 82.000 d/hsp82/, 70.000 d/hsp70/, 68.000 d/hsp68/, 36.000 d/hsp36/, 27.000 d/hsp27/, 26.000 d/hsp26/, 23.000 d/hsp23/ és 22.000 d/hsp22/ /Tissiéres és mtsai, 1974/.

Ugyanezeket a proteineket sejtmentes in vitro transzlációs rendszerben is sikerült megkapni tisztított hő-sokk mRNS felhasználásával /McKenzie és Meselson, 1977; Moran és mtsai, 1979/.

Rádioaktív hő-sokk RNS segítségével izoláltak hő-sokk géneket tartalmazó klónozott szekvenciákat Drosophila génbankból /Lis és mtsai, 1978; Livak és mtsai, 1978; Shedl és mtsai, 1978/. Craig és munkatársai /1979/ reverz-transzkriptázzal készítettek klónokat, így jelenleg a 63BC, 67B, 95D és 87A-87C puffokkal komplementer klónok ismertek. A klónok felhasználásával igazolták, hogy a hsp82-t kódoló szekvenciák a 63BC puff területén találhatók, a hsp68-at a 95D, hsp70-et 87A és 87C, hsp23-at és hsp26-ot a 67B régió kódolja /Holmgren és mtsai, 1979; Craig és mtsai, 1979; Livak és mtsai, 1978; Shedl és mtsai, 1978/. Azt mondhatjuk tehát, hogy a puff-kódoló DNS-mRNS-protein kapcsolat a hő-sokk lókuszok nagy részében ismert.

A puffok és hő-sokk proteinek kapcsolatát vizsgálták Ish-Horowicz és munkatársai /1977; 1979/ a 87A és 87C puffok esetében, különböző deficienciák felhasználásával. Olyan homozigóta deléciókat vizsgáltak, amelyek kiejtik a 87A /Df/3R/E229/ vagy 87C /Df/3R/kar^{3J}/, illetve mindkét puffot /Df/3R/kar^{IW}, Df/3R/D3/. Azt találták, hogy 37°C-os hőkezelés után a 70.000 mólsúlyu protein hiány-

zik, ha a deficiencia kiejti mindkét puffot. Ezzel szemben minden hő-sokk protein jelen van, ha akár 87A, akár a 87C puff hiányzik. Ebből azt a következtetést vonták le, hogy a két puff ugyanazon proteint /hsp70/ kódoló szekvenciákat tartalmaz. Mirault és munkatársai /1979/ vizsgálataiból kiderül, hogy mind a 87A, mind 87C régióban több mint egy strukturgén kópia található, továbbá a kópia szám kisebb-nagyobb mértékben változhat a különböző törzsekben.

Kis és munkatársai /1978/ egy olyan - 87C-ből származó - klónt izoláltak, amely sokszorosán repetitív szekvenciákat tartalmaz. Ezek a szekvenciák azonban - bár átíródnak poli A végű RNS-sé - nem kódolnak egyetlen hő-sokk fehérjét sem.

3. A gének számának meghatározása telítési kísérlettel

Egy adott kromoszóma szakaszon található strukturgének számát úgy határozhatjuk meg, hogy mutagén-kezelés után olyan nagy számú mutánst izolálunk, hogy közöttük nagy valószínűséggel minden gén képviselve legyen. Ezután komplementációs analízis segítségével különíthetők el az azonos gént érintő /egy komplementációs csoportba tartozó/ mutációk. Ezt az eljárást nevezzük telítési kísérletnek.

Ilyen kísérletet többen végeztek a Drosophila genom különböző részein. Az egyik legalaposabb Judd és munkatársai /1972/ vizsgálata, akik az X-kromoszóma "zeste-white" régiójában egy 15 bandes szakaszra /a 3A2 és 3C2 sávok között/ 116 letális és szemiletális mutációt izoláltak és ezeket komplementációs analízissel 13 csoportba osztották. Tekin-

tetbe véve, hogy a zeste és a white lókuszokban csak látható mutációk indukálhatók, a komplementációs csoportok száma pontosan megegyezett a bandek számával.

Egy kisebb kísérlet során Rayle /1972/ az X-kromoszóma csucsához közel egy 12 bandet magában foglaló szakaszon belül 12 komplementációs csoportot talált.

Hochmann /1971/ a teljes 4. kromoszómát kísérlete meg mutációkkal telíteni. 37 letális és 7 morfológiai jelleget befolyásoló komplementációs csoportot azonosított. Itt azonban némi bizonytalanság van a band-szám tekintetében /a legvalószínűbb becslés 45-50/. Hasonlóan bizonytalan a band-szám Lyfschytz és Falk /1969/ kísérletében az X-kromoszóma proximális végén, ahol 35 letális komplementációs csoportot sikerült azonosítaniuk. Schalet /1972/ ugyanezen a szakaszon viszont nagyjából azonosnak találta a bandek és komplementációs csoportok számát.

Ezek a vizsgálatok alátámasztják Beermannak /1967/ azt a feltételezését, hogy a kromoméra /azaz az óriáskromoszómán a band/ transzkripciós és replikációs egység lenne. Ezt a feltételezést Judd és munkatársai /1972/ fejtették ki részletesen saját eredményeik alapján és mint "egy sáv - egy gén" hipotézis ismert. Az a sejtés azonban, hogy egy band egyetlen strukturgént tartalmaz, már jóval korábban is felmerült /Painter, 1934; Bridges, 1935/.

Az elmélet mellett szóló további érveket szolgáltatnak azok a vizsgálatok, amelyek különböző kromoszóma-rendellességeket /deficienciák, transzlokációk, duplikációk, inverziók/ felhasználva bizonyítják, hogy egy-egy sáv csakis



egy genetikai egységet tartalmaz. Ez a technika azon alapszik, hogy ha egy kromoszóma törés egy génen belül történik, mutáns fenotípus fejeződik ki. Ezért csupán az azonos fenotípust eredményező törések citológiai helyét kell pontosan meghatározni. Ily módon Demerec /1941/ kimutatta, hogy a 3C7 bandet érintő töréspontok Notch fenotípust okoznak. Lefevre /1971/ a 15C1-hez csak a rudimentary, Roberts /1974/ 1A8 bandhez csak a yellow fenotípust tudta kapcsolni.

Számos, ezeknek az eredményeknek ellentmondó adat is ismert, Lefevre /1974/ 15 letális és 4 látható mutáns komplementációs csoportot azonosított az 1B régióban, ahol Bridges 14 bandet mutatott ki. Young és Judd /1978/ a 3B régióban 6 bandre 9 komplementációs csoportot talált.

Lefevre /1974/ a 3C7 és 3B4 között egyetlen komplementációs csoportot sem talált. Beljajeva és munkatársai /1979/ az X kromoszóma 2B1-2 - 2C1-2-ig terjedő szakaszán 13 bandre 6 komplementációs csoportot azonosított.

Ismereteseek olyan kromoszóma szakaszok is, amelyek teljes hiánya sem okoz semmiféle eltérést a vad tipushoz képest. Így pl. Kiger /1977/ kimutatta, hogy a 3C12 - 3D4-ig terjedő szakasz ilyen. Korge /1977/ az egyik nyálprotein strukturgénjét térképezte erre a területre. Bizonyos enzimekről is ismert, hogy hiányuk nem vezet semmiféle abnormalitáshoz. Ilyen pl. a glucose-6-phosphate dehidrogenáz /Hughes és Lucchesi, 1977/.

Mindez felhívja a figyelmet a telítési kísérletek korlátaira. Bizonyosra vehető, hogy pl. viselkedés-mutánsok

a szokásos kísérleti körülmények között észrevétlenek maradnak.

Éppen ezen az alapon Zsimuljev /1975/ a kromoszóma-szerveződésnek egy olyan modelljét alkotta meg, amely elveti az "egy gén - egy band" koncepciót. Kimutatta, hogy a puffokon kívül az interbandek is mutatnak transzkripcionális aktivitást /Zsimuljev és Beljajeva, 1974/. Ezért feltételezte, hogy a kromoszómáknak egy adott időpontban aktív részei dekonzenzációzott állapotban vannak /interband, puff/, míg az inaktív szakaszok kondenzáltak /band/. Az aktivitás változásával a kondenzált szakaszok fellazulnak, illetve fordítva - a dekonzenzááltak tömörülnek. Így a sávmintázat csak egy adott szövet funkcionális állapotát tükrözné és nincs kapcsolatban a génszámmal.

Ezt támasztja alá néhány olyan megfigyelés, amely szerint a sávmintázat különböző szövetekből származó óriáskromoszómákon eltérő lehet.

Legújabbán Ribbert mutatott ki meglepően nagy eltérést a *Callyphora erythrocephala* ováriumának ún. dajkasejtjeiben található óriáskromoszómák sávmintázata és az egyéb - testi - sejtekből /trichogen sejtek, foot-pad sejtek/ származó óriáskromoszómák sávmintázata között /1979/.

CÉLKITÜZÉS

Munkánk során a következő kérdésekre kíséreltünk meg választ adni :

1. Hány egymástól független genetikai egység azonosítható és ezek hogyan helyezkednek el a vizsgált kromoszóma-szakaszon belül?
2. Mi a pontos helye a hővel indukálható lókuszoknak a vizsgált szakaszban?
3. Milyen mértékben tekinthető állandónak az óriáskromoszómák sávmintázata a különböző szövetekben?
4. Vannak-e a régióban olyan DNS szakaszok, amelyek hiánya nem befolyásolja a normális egyedfejlődést?
5. Alkalmazhatók-e a vizsgált szakaszra a citológiai és genetikai egységek száma közötti, más szakaszokra leírt összefüggések?

Távolabbi célunk az, hogy olyan genetikai rendszert dolgozzunk ki, amely a 70.000 mólsúlyu hő-sokk proteint kódoló szekvenciák többszörös előfordulásából adódó nehézségek ellenére is lehetővé teszi a hővel indukálható gének közvetlen vizsgálatát ebben a régióban.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A tenyészetek fenntartásához standard *Drosophila* táptalajt használtunk, amelynek főbb alkotórészei kukoricaliszt, szárított élesztő, cukor és agar. A felhasznált törzsek és genetikai markerek rövid leírását az 1. táblázat tartalmazza. További adatok Lindsley és Grell /1968/ munkájában találhatók. Számos deficiens törzs más laboratóriumokból származik, ezek adatait a felhasználásnak megfelelően különböző táblázatok tartalmazzák.

Deficiencia izolálás

A deficienciákat kettő kivételével Röntgen-sugárzással indukáltuk /4.000 rad, 1.000 rad/perc, 10 cm távolság, 0,5 mm Al-szűrő/ 400 vad típusu /Ore-R-369/ himet sugároztunk be, homozigóta cu kar nőstényekkel kereszteztük őket. Három nap elteltével a hímeket eltávolítottuk, a nőstényeket új táptalajra helyeztük. Az F_1 nemzedékben karmoisin és curled fenotípusu, feltehetően deficiens hím utódokat kerestünk, majd ezeket cu kar e^S /TM3 sb e^S szűzekkel kereszteztük, hogy törzseket tudjunk beállítani. A törzsek-ből nyálmirigy-kromoszóma preparátumokat készítettünk a deficienciák azonosítása érdekében /1. ábra/.

EMS-tal indukált mutációk izolálása

Lewis és Bacher /1968/ módszerének felhasználásával izoláltunk recesszív látható, nő-steril és letális mutációkat több független kísérletben. A mutánsok elkülönítésének elvi alapja az, hogy a recesszív mutációk megnyilvánulnak, ha egy deficienciával szemben /részleges/ hemizigóta állapotba kerülnek. A különböző kísérletek elvi menete azonos volt, ezért csak egy kísérlet sémáját ábrázoljuk /2. ábra/ és írjuk le részletesen.

24-28 órás mwh e homozigóta hímeket fél napi éheztetés után 24 órán keresztül 0.025 M ethyl-methán-sulfonátot tartalmazó 1%-os cukoroldattal etettünk, majd a legyeket C D/TM3 szűz nőstényekkel kereszteztük. Az utód nemzedékből kiválogattuk az mwh e/CxD hímeket és pár-tenyészetekben Df /3R/ kar^{3J}/CxD szűz nőstényekkel kereszteztük. Az utódokat átvizsgáltuk az mwh e /Df /3R/ kar^{3J} kategória jelenlétére. Ha ez a kategória hiányzott, vagy bármilyen morfológiai rendellenességet mutatott, feltételeztük, hogy a mutagenizált kromoszóma a deficienciával szemben mutációt hordoz. Mivel a mutációt tartalmazó mwh e/CxD hímek a fenotípus szintjén nem különböztethetők meg a Df /3R/ kar^{3J}/CxD kategóriától, minden mutáns-jelölt törzsből 10-10 CxD fenotípusu himet válogattunk ki és ismét Df /3R/ kar^{3J}/TM-3 szűzekkel kereszteztünk, és így

e/TM-3 balanszirozott törzseket állítottunk elő. A továbbiakban is így tartottuk fenn a törzseket.

Hogy kizárjuk annak a lehetőségét, hogy a régió területén kívül elhelyezkedő mutációt izoláljunk, a mutáns jelölteket minden esetben legalább egy, a régiót átfedő, függetlenül izolált deficienciával teszteltük. Ha ezzel szemben is mutánsként viselkedett, elfogadtuk új allélként.

Második kísérletünkben egy jóval nagyobb deficienciát használtunk: a Df /3R/ D-3 jelűt. A harmadik és negyedik, jóval kisebb méretű kísérletben a Df /3R/E229 és a Df /3R/T-10 deficienciákat alkalmaztuk, mint tesztelő kromoszómát.

Mindhárom esetben Ore-R-369 vad törzset mutagenizáltunk. Ötödik kísérletünkben a mutagenizált kromoszóma is hordozt a Df /3R/ kar^{3J} deficienciát, míg a tesztelő deficiencia a Df /3R/ T-41 volt. Két utóbbi esetben nő-steril mutánsokat is kerestünk.

Az x^{02} jelű törzs egy kisméretű deficiencia izolálási kísérletből származó, Röntgen-indukálta pont-mutáns, míg a t^{07} és t^{19} jelűeket D.Ish-Horowicz bocsátotta rendelkezésünkre.

A mutációk deléciós térképezése

A nagyszámu mutáció durva csoportosítását néhány kiválasztott deficiencia segítségével végeztük el. Ezek a következők: Df /3R/ T-10, Df /3R/ E-229, Df /3R/ kar^{IW}, Df /3R/ kar^{3Q}, Df /3R/ ry⁶¹⁵ és Df /3R/ kar^{3J} /5. táblázat/.

A következő lépésben a törzseket további deficienciákkal kereszteztük /lásd: 2. és 5. táblázatok/, hogy így a 21, citológiaiilag meghatározott töréspontok által határolt szakasz valamelyikére térképezzük azokat.

Komplementációs analízis

Az azonos kromoszóma-szakaszra térképezett független mutációkat egymással kereszteztük, hogy megállapítsuk az adott szakaszban a független komplementációs csoportok számát. Mindegyik keresztezést 3 példányban állítottuk be, fiolánként egy himet és három nőtényt számítva. A 25°C-on tartott keresztezésekben általában 100-300 utódot vizsgáltunk meg a transz-heterozigóták jelenléte, csökkent száma, vagy esetleges morfológiai abnormalitás tekintetében. Amennyiben részleges komplementációt kaptunk, a transzheterozigóta nőtények fertilitását is ellenőriztük. Azokat a mutációkat, amelyek ezekben a keresztezésekben nem adtak utódokat, vagy azok valamilyen abnormalitást mutattak, alélíkusaknak tekintettük.

A letális fázis meghatározása

Minden komplementációs csoportból kiválasztottunk néhány allélt, ezekből hímeket gyűjtöttünk, majd az első kísérletben Df /3R/ kar^{3J}, a többiben Df /3R/ T-41 deficienciákat hordozó szüz nőtényekkel kereszteztük őket. Három nap elteltével a legyeket táptalajt nem tartalmazó üvegekbe ráz-



tuk, és kissé élesztőzött, valamint ecetsavval megcseppentett 2%-os agar lemezeken két órás időtartamig petét gyűjtöttünk. A lemezeket 25°C hőmérsékletű termosztátba helyeztük és 28 óra elteltével a kikelő lárvákat gyűjtöttük. A lárvák gyűjtését a peterakástól számított 48 óráig folytattuk. A ki nem kelt peték számát az összes gyűjtött pete százalékában kifejezve, meghatároztuk a peteletalítás mértékét.

A későbbi életkorokban bekövetkező pusztulás meghatározása érdekében a gyűjtött peték másik részét kikelésük előtt százasával táptalajt tartalmazó fiolákba helyeztük. Egy-egy törzsnél legalább 300 petét gyűjtöttünk, és a kikelő felnőtt állatokat megszámloltuk. Ezután a fiolákból a táptalajt ki mosva megszámloltuk az elpusztult lárvákat, vagy bábokat, és meghatároztuk a lárvák korát.

Nyálmirigy kromoszóma preparátumok készítése

A preparátumok készítésénél Lefevre /1971/ módszerét használtuk, jelentéktelen módosítással. A 18°C -on nevelt, jól táplált, késői harmadik stádiumos lárvákat 45%-os ecetsavban boncoltuk és kivettük a nyálmirigyeket. Ezeket egy csepp 2% orceint tartalmazó tejsavas ecetsavban /egy rész tejsav: egy rész 60%-os ecetsav/ festettük 5-15'-ig. Ezután a tejsav-ecetsav eleggyel felhigitva a festéket a nyálmirigyeket egy tiszta szilikonizált tárgylemezre helyeztük egy csepp tejsavas ecetsavba. Fedőlemezzel lefedtük, majd a hüvelykujj egyetlen erőteljes nyomásával szétnyomtuk, vi-

gyázva, hogy az oldalirányu elmozdulást lehetőleg elkerüljük. A kész preparátumokat körömlakkal lezártuk és fázis-kontraszt mikroszkóppal vizsgáltuk.

Az ily módon készült preparátumok felhasználásával három különböző vizsgálatot végeztünk. Azonosítottuk az Ore-R-369 vad típus kromoszómáján az általunk vizsgált régióban felismerhető sávmintázatot és összehasonlítottuk Bridges /1941/ módosított térképével. Meghatároztuk az általunk használt deficienciák töréspontjait, továbbá megvizsgáltunk bizonyos deficienciákat a 87A és 87C hő-sokk puffok jelenlétére vonatkozólag 37°C-os hőkezelés után. Az első és második esetben a kérdéses törzsből származó hímeket Ore-R-369 /vad típusu/ nőstényekkel, a harmadik esetben In /eR/ Na/ Sb nőstényekkel kereszteztük. Az utolsónak említett törzs olyan inverziót tartalmaz, amelynek egyik töréspontja közel van a régióhoz és így a két homológ kromoszóma párosodását gátolva lehetővé teszi a deficienciát hordozó kromoszóma külön vizsgálatát /a másik homológ ugyanakkor belső kontrollként szolgál/. A hő-sokk puffokat 37°C-os 20-40'-es ultratermosztátban történő hőkezeléssel indukáltuk.

Dajkasejt kromoszóma preparátum készítése

Az fs /2/ B cn bw/SM5, Cy törzsből meglehetősen alacsony számban kikelő fs /2/ B homozigóta nőstényeket, amelyeket előzőleg 18°C-on neveltünk, 3-5 napos korukban 45%-os ecetsavban boncoltuk. Az ováriumok kiemelése után a korionizált petéket és - amennyire lehetséges volt - a tracheákat eltá-

volitottuk. A továbbiakban az ováriumokat teljesen az előző fejezetben leírtakkal megegyező módon kezeltük, azzal a különbséggel, hogy igyekeztünk a festett szöveteket a fedőlemez alatt minél jobban szétteríteni szétnyomás előtt.

Malát-enzim gélelektroforézise

Az elektroforetikus elválasztást 12%-os keményítő gélben végeztük. Az elektroforézis puffer komponensei a következők voltak: 0.2 Tris, 0.06 M citromsav, 0.002 M Na EDTA. A gél puffer komponensei: 0.017 M Tris, 0.005 M citromsav, 0.001 M Na EDTA. A pufferek pH értéke: 8.0. Az enzimet a következő oldat segítségével mutattuk ki : 50.0 ml 0.1 M Tris-HCl pH 8.5; 40.0 mg almasav, 2.0 ml NADP /1 gr 100 ml vízben oldva/, 2.0 ml NBT /1 gr 100 ml vízben/, 1.0 ml PMS /0.6 gr 100 ml vízben/. Az enzim egy kéken festődő sáv formájában észlelhető.

Az Ore-R-369 törzsben előforduló gyakori variánst Men⁴, a gyorsabban vándorló ritka változatot Men⁶, a null-allélt Men⁰ elnevezéssel jelöltük.

EREDMÉNYEK

a/ A régió citológiai jellemzése

Bridges módosított nyálmirigy kromoszómatérképén /1941/ az általunk vizsgált szakaszban / Df/3R/T-10 proximális és Df/3R/D3 disztális töréspontja között / 47-49 sávot jelöl. Saját vizsgálatainkban az Ore-R-369 vadttípus kromoszómáján tulnyomórészt azonosítani tudtuk a térképen jelzett bandeket.

Lényeges eltérést csak a kettős bandek esetében találunk. Ezek egy része minden preparátumunkon egyesnek mutatkozott. Hogy a nevezéktani bonyodalmakat elkerüljük, megtartottuk Bridges számozását ilyen esetekben is, csupán a számok közé helyezett vesszővel jelezzük, hogy kettős elnevezésű, valójában azonban egyes bandekről van szó: 86F1,2; 86F6,7; 87A1,2; 87A4,5; 87C2,3; 87D1,2; és 87D3,4;. A következő bandek kettős voltát azonban a mi vizsgálataink is megerősítik: 86F8-9, 87B1-2, 87D4-5, 87B8-9. Megemlítendő még, hogy néhány esetben 87A9 is kettősnek tűnt, noha Bridges ezt egyesnek jelölte. Nagyon ritkán, vagy egyáltalán nem láthatók a következő sávok: 86F3, 86F11, 87A3, 87A8, 87B3, 87B14, 87C4, 87C6. Ezek közül a 87C4 megjelenése erősen függ a genotípustól. Az sem zárható ki, hogy némelyikük valóban nem létezik. Csak elektromikroszkópos vizsgálatok lehetnek döntőek ebben a kérdésben.

További genotípustól függően változó sajátosság a 87C5 sáv szélessége és 87C1 és 87C2,3 egymástól való távolsága. Egy törzsnél /ecd-1/ a 87C1 és 87C2,3 között egy harmadik, mindkettőnél vékonyabb sáv észlelhető.

Bizonyos sávok azonosítását néhány kisméretű, fejlődési stádium specifikus puff nehezítette. Ilyenek találhatók a 87B5 és B8 sávok, valamint a 87B11 és 87C1 között. Ezért a 87B12 és 87B14 sávok meghatározása különösen körülményes.

Érdemes felhívni a figyelmet arra, hogy a régió területén azonosítható sávok között egyaránt találunk rendkívül szélesek és igen vékonyakat is.

b/ Az fs/2/B dajkasejt-kromoszómák általános citológiai jellemzése

King /1961/ adatainak megfelelően az fs/2/B homozigóták follikulusainak dajkasejtjei közül a legnagyobb méretűekben párosodott óriáskromoszómákat /egydenként 6-10 sejtben/ találtunk. Ezek a kromoszómák citológiai analízis számára alkalmasnak bizonyultak. /Meg kell jegyeznünk, hogy King állításával ellentétben - aki szerint az X kromoszóma ezekben a sejtekben felismerhető szerkezet nélküli kromatin-rögöt formál - mi az X-et a többi kromoszómához teljesen hasonló megjelenésűnek találtuk./

Néhány körülmény azonban megnehezíti a citológiai vizsgálatot. Így pl. az óriáskromoszómát tartalmazó sejteknek az egyéb sejtekéhez viszonyított alacsony száma miatt nagy mennyiségű, a képet zavaró sejttörmelék marad a pre-

parátumon. Hasonlóképpen zavaró az is, hogy a kikeléstől számított harmadik napon a kromoszómák még nem elég nagyok, az 5.-6. napon viszont már az autolízis nyomait mutatják. A kromatidák párosodása sem tökéletes. Egyes kromatida kötegek hosszabb-rövidebb szakaszon aszinaptikusak maradnak, függetlenül attól, hogy melyik homológ kromoszómához tartoznak. Így gyakran jellegzetesen hálózatos képet mutatnak a kromoszómák. /Különösen a kromoszóma karok proximális részén gyakori az aszinapszis./

A dajkasejt kromoszómák jellegzetessége még az, hogy nincsenek a centromér-régiónál összeköttetésben egymással.

Az egyes karokon a tájékozódást erősen nehezíti, hogy a nyálmirigy kromoszómákon tájékozódási pontokul szolgáló befűződések és hosszú élettartamu puffok itt nem figyelhetők meg. Hasonlóképp hiányoznak az ún. "gyenge pontok" is /ahol a nyálmirigy kromoszómák gyakran eltörnek/.

Mindezek ellenére nem ütközik különösebb nehézségbe sem az egyes kromoszóma karok azonosítása a karok végeinek sávmintázata segítségével, sem az egyes szakaszok felismerése a nyálmirigy kromoszómák Bridges által szerkesztett térképe alapján. Ez értelemszerűen magába foglalja azt is, hogy a bandek többsége nagyjából hasonló megjelenésű kell legyen a két sejtféleségből származó kromoszómán. Valóban, a legvékonyabbak kivételével - amelyek mindkét szövetben nehezen felismerhetők - az egyes sávokat általában azonosítani tudtuk. Különbséget elsősorban a sávok egymáshoz viszonyított távolságában találtunk.

Igy pl. a 86F-87C régióban a dajkasejtekben a 87B4-5 és 87B8-9 kettős bandek, valamint a 87C5 és 87C7 bandek sokkal közelebb helyezkednek el egymáshoz, mint az a nyálmirigy kromoszómákon megfigyelhető. A 87C1 és 87C2,3 között viszont nagyobb a távolság az előbbi kromoszóma-típusban. Kisebb mértékű eltérést a bandek relativ vastagságában is megfigyeltünk, ez azonban nem érte el azt a szintet, hogy zavarja az azonosítást.

Mint már említettük, lényegesen nagyobb a különbség a puffmintázat tekintetében a két óriáskromoszóma-típus között. Általában elmondhatjuk, hogy a dajkasejt-kromoszómákon alig találtunk nagyobb méretű puffokat. Ez természetesen a sávmintázatot is befolyásolja némileg. Legszembeötlőbb a különbség ott, ahol a nyálmirigy kromoszómákon ún. "szürke" bandeket magukba foglaló puffok találhatók, pl. 85F és 88C területén. Ilyenkor a puffok helyén egyetlen, széles sáv látható a dajkasejt-kromoszómán /4. ábra/.

c/ Deficienciák előállítása

Röntgen-sugárzás segítségével indukáltunk deficienciákat azzal a céllal, hogy az új, független töréspontok segítségével a mutációkat gyorsan térképezhessük. Hozzávetőleg 64.000 F₁ utódot vizsgáltunk át, amelyek között 37cu vagy kar fenotípusu, feltételesen deficiens legyet találtunk. Az ezekből előállított törzsek másodszori tesztelése után 21 karmoisin mutáns valóban de-



ficiensnek bizonyult. Ezek citológiai adatait a 2. táblázat tartalmazza. A curled mutánsok egy része pontmutációként viselkedett, más részét a törzsek sterilitása miatt elvesztettük. Ennek valószínű oka az, hogy a cu gén közvetlen közelében egy Minute lókuszt találhatók, amelynek mutációja, vagy kiejtése domináns sterilitást eredményez.

Két további deficienciát az EMS-tal végzett kísérletben mint letálist izoláltunk, amelyekről a komplementációs tesztben való viselkedésük alapján feltételeztük, hogy a kromoszómának nagyobb darabját kiejtik. A citológiai vizsgálat ezt megerősítette. Töréspontjaikat ugyan csak a 5. táblázat tartalmazza.

Az általunk előállítottakon kívül más laboratóriumokból származó különböző kromoszóma-aberrációkat is felhasználtunk. Ezek citológiai kiterjedését is meghatároztuk. Adataik az 5. táblázatban találhatók.

d/ A 87A és 87C hősokk puffok keletkezési helyének citológiai meghatározása

Korábbi vizsgálatok /Ish-Horowicz és mtsai, 1977/ bebizonyították, hogy a 87A hősokk puff /és ezzel együtt a 70.000 d proteint kódoló szekvenciák egy része/ a 87A7-87B2 szakaszban található, mivel a Df/3R/kar^{IW} és Df/3R/E-229 egyaránt kiejtik ezt a puffot. A Df/3R/D1 deficiencia proximális töréspontja nagyon közel helyezkedik el a Df/3R/kar^{IW} proximális végéhez /87A6-7/, a puff azonban még szabályosan képződik, ezért a puff keletkezési helye a

két töréspont között kell, hogy legyen. Pontos citológiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy a Df/3R/D1, a 87A7 bandnek legalább egy részét érintetlenül hagyja /amelyet a Df/3R/kar^{IW} teljesen eltávolít/ - így a 87A puff erre a bandre lokalizálható.

Ish-Horowicz és munkatársai említett munkájukban azt is kimutatták, hogy a Df/3R/kar^{3J}-ből - amelynek töréspontjai 87B15-C1 és 87C9-D1 - hiányzik a 87C puff. Sikerült bebizonyítanunk, hogy Df/3R/kar^{Sz-8} deficiencia proximális töréspontja, amely nem érinti a puffot, a 87C1 és 87C2,3 sávok között van, így a puff a 87C1 sáv területére kell, hogy képződjön /7. és 9. ábra/.

e/ Malát-enzim deléciós térképezése

Előzetes vizsgálatok /Voelker, nem közölt/ valószínűsítették, hogy a malát-dehidrogenáz enzim strukturgénje /Men/ az általunk vizsgált régióban található. Pontosabb lokalizációt tett lehetővé az a körülmény, hogy egy a vadtipusu /Men4/ enzimnél nagyobb elektroforetikus mobilitásu, ritka allélt /Men6/ sikerült szelektálni. Első lépésként a gyors változatot tartalmazó törzset különböző, a régió kisebb-nagyobb szakaszát átfedő deficienciákkal kereszteztük. Azok a transz-heterozigóta legyek, amelyekben a deficiencia nem érinti a strukturgént, a lassu és a gyors változatot egyaránt tartalmazzák. Azokban, amelyek a strukturgént kiejtő deficienciát hordoznak, csak a gyors változat mutatható ki.

Amint a 6. táblázat adatai mutatják, a Men lókuszt a $\underline{Df/3R/kar}^{3J}$ deficiencia által fedett szakaszon belül, a 87B15 és 87D1,2 között található.

Igy második lépésben csak olyan deficienciákat vizsgáltunk az ismertetett módszerrel, amelyeknek legalább egy töréspontja ezen a szakaszon belülre esik /7. táblázat/. A táblázatból kitűnik, hogy azok a deficienciák, amelyek proximális irányból megközelítik a 87D1,2 band proximális részét, vagy azon túlhaladnak, kiejtik a Men strukturgént $/pl. \underline{Df/3R/kar}^{3Q}, \underline{Df/3R/kar}^{Sz-16}, \underline{Df/3R/kar}^{Sz-31}/$. A 87D1,2 distális felének eltávolítása azonban nem érinti a gént $/\underline{Df/3R/ry}^{75}, \underline{Df/3R/ry}^{27}/$. Így az enzim strukturgénje csak a 87D1,2 distális felében, vagy 87C9 és 87D1,2 közötti interbandban helyezkedhet el /5. ábra/.

f/ Pont mutációk izolálása

Öt független kísérletben izoláltunk mutánsokat a 87F1,2-től a 87D3,4-ig terjedő szakaszban EMS felhasználásával. A különböző kísérletekben kapott mutációk számát és az egyes csoportok mutáció-gyakoriságát a 9. táblázat tartalmazza. Az első kísérletben a mutációkat e mwh, a második, harmadik és negyedik kísérletben Ore-R-369, az ötödikben mwh $\underline{Df/3R/kar}^{3J}$ kromoszómára indukáltuk. A 3. és 5. kísérlet egy részében nő-steril mutációkat is kerestünk.

Az x^{02} jelű mutáció egy kisméretű, Röntgen sugár alkalmazásával végzett kísérletből származik, hasonlóan a t^{07} és t^{19} mutánsokhoz, amelyeket azonban D.Ish-Horowicz bo-

csátott rendelkezésünkre. Három EMS-tal indukált mutáns /lc49, lml07 és lml14/ T.W.Gelbart-tól, az l/3/507 pedig Shearn-tól származik.

g/ Deléciós térképezés, komplementációs csoportok meghatározása és jellemzése

A mutációk citológiai helyének meghatározása érdekében a mutáns törzseket több lépésben átfedő deléciókkal térképeztük. Első lépésként minden mutánst kereszteztünk a következő deficienciákkal: Df/3R/T-10, Df/3R/kar^{IW}, Df/3R/kar^{3Q}, Df/3R/ry⁶¹⁵ és Df/3R/kar^{3J}.

A második lépésben az ily módon csoportokra osztott mutációkat további deficienciákkal keresztezve 21 kisebb szakaszra térképeztük /kivéve azokat a lehetséges mutánsokat, amelyek a 87F1,2 sávtól balra esnek, mivel a Df/3R/T-10-zel végzett ellenőrző keresztezés során ezeket kizártuk a további vizsgálatból /6., 7. és 8. ábra/.

Az ugyanabba a szakaszba eső mutánsokat egymással keresztezve meghatároztuk a komplementációs csoportok számát.

A régiók számozása a centroméra felőli oldalról disztális irányba haladva nő, jelezve az egymáshoz viszonyított sorrendjüket. A régiókba eső komplementációs csoportok genetikai térképezését -egy kivételtől eltekintve - nem végeztük el, így a csoportok számozása egy régión belül tetszőleges.

Az egyes csoportokból kiválasztott alléleknek meghatároztuk a letális fázisát. Ezek az adatok alátámasztják a

komplementációs kísérlet eredményeit, amennyiben a legtöbb esetben különböző komplementációs csoportok letális fázisa is eltérő.

1. alrégió: 86F1,2-től 86F4-6,7-ig /kb. 2.5 band/

Két, 4 és 6 allélt tartalmazó komplementációs csoportot azonosítottunk a régióban.

A ck1-es csoport korai lárvális letalitást mutat, míg a ck2-es allélek a 2. és 3. stádium között pusztulnak el, rendszerint a táptalajt elhagyva a fiola falán.

2. alrégió: 86F4-6,7-től 86F6,7-8-ig /kb. 2 band/

Két komplementációs csoportot találtunk /ck3 és ck4/, 6 és 1 alléllal. Két allélt vizsgáltunk a ck3 csoportból / e^{027} és e^{277} / amelyek késői bábletalitást mutattak, utóbbi allél ritkán abnormális morfológiájú, közvetlenül a kikelés után elpusztuló legyeket is produkált. A ck4 csoport egyetlen ismert allélje / e^{243} / részlegesen peteletális.

3. alrégió: 86F6,7-8-től 87A1,2-ig /kb. 4.5 band/

Három komplementációs csoportot térképeztünk erre a régióra. Mindegyik két allélt foglal magában. A ck5 és ck6-os csoportok egy-egy Röntgen-indukált allélt is tartalmaznak. Ez a két csoport 1.-2. stádiumos lárvá letalitást mutatnak. Ez utóbbi csoport letális lárváira jellemző, hogy nincs levegő a tracheáikban.

4. alrégió: 87A1,2-től 87A5-7-ig /kb. 3.5 band/

Két komplementációs csoport térképeződik ide 12, illetve 10 alléllal /ck8 és ck9/.

A két csoport jól elkülöníthető egymástól a letális fázisok alapján, mivel ck8 mint álbáb pusztul el, míg ck9 peteletálisnak látszik.

5. alrégió: 87A6-7-től 87A6-8-ig /kb. 1 band/

Nem találtunk egyetlen mutációt sem, amely ide térképeződött volna. Ez az a régió, ahonnan a 87A hő-sokk puff származik.

6. alrégió: 87A6-8-től 87A9-ig /kb. 1.5 band/

Csak egy csoportot /ck10/ azonosítottunk a régióon belül, amelyet 5 független mutáns képvisel. Ennek a komplementációs csoportnak minden tagja koria báb letális.

7. alrégió: 87A9-től 87B1-2-ig /kb. 2.5 band/

Két komplementációs csoport /ck11 és ck12/ - amelyek egy és két tagból állnak - található a kromoszómának ezen a részén. Ezek a mutációk azonban a 87A9 és 87A10 környékén, vagy a 87B1 proximális szélénél kell, hogy elhelyezkedjenek, mivel azok a legyek, amelyekből a 87B1 bandnek legalább a fele a disztális oldalon teljesen hiányzik, életképesek és morfológiailag a vadtypushoz hasonlóak. Ezt a Df/3R/H-1 / Df/3R/E-229 transzheterozigóta legyek előállításával bizonyítottuk. Df/3R/H-1 kiejti a 87B1 disztális felét, míg Df/3R/E-229-ben ugyanaz a band teljesen hiányzik.

A ckl1 egyetlen, Röntgen-indukált allélje $/x^{02}/$ késői harmadik stádiumos lárva-letális. A homozigóták több napig élnek, mint látszólag érett 3. stádiumos lárvák. Imaginális diszkuszaik jóval kisebbek a normálisnál.

A ckl2-es allélek szintén késői lárva-letálisak. A lárvák nagy mennyiségű $Ca_3^{PO_4}_2$ kristályt halmoznak fel az elülső pár Malpighi-edényük disztális részében.

8. alrégió: 87B1-2-től 87B2-3-ig /kb. 1 band/

Egy letális komplementációs csoport /8 alléllal/ tartozik ehhez a régióhoz. Mivel azok a deléciók, amelyek behatárolják ezt a szakaszt, csak a 87B2 bandben fedik át egymást, ezek a mutációk erre a bandre /vagy a csatlakozó interbandre/ kell, hogy térképeződjenek.

Kis számu transzheterozigóta túlélő is megjelenik néhány, csoporton belüli komplementációs keresztezésben, ha az egyik partner a következő három allél valamelyike : e^{017} , e^{152} és e^{248} . Ezeknek a túlélő legyeknek a szárnya "hullámos". Ugyanezt a fenotípust az utolsóként említett két allél akkor is mutatja, ha bármely 3 kromoszómával heterozigóta, enyhe szemidominanciát jelezve.

A ckl3 csoport polifázikus letális.

9. alrégió: 87B2-4-től 87B4-ig /kb. 1.5 band/

Két komplementációs csoport /ckl4 és ckl5/ - mindegyik két alléllal - térképeződik erre a szakaszra. A letalitási mintázat hasonló a két csoportban: első-második stádiumos lárvaként pusztulnak el.

10. alrégió: 87B4-től 87B5-6-ig /kb. 1.5 band/

Egyetlen komplementációs csoport mutatható ki ebben a régióban: ck16. A vizsgált allélek peteletálisaknak bizonyultak.

11. alrégió: 87B5-6-től 87B8-9-ig /kb. 3.5 band/

Három csoportot találtunk ide térképezhetőnek: ck17 14 allélt tartalmaz és több fázisu lárvális letalitást mutat, ck18 4 alléllal és korai báb-letalitással, amely a bábok autolizisével párosul, valamint ck19, amely 6 allélt foglal magában; egyikük $/e^{211}/$ 2-3. stádiumos lárvá-letális, egy másik $/e^{168}/$ pedig késői báb-letális, amely bábokban a szabályosan megformálódott legyek rendkívül sötét testszínűek.

12. alrégió: 87B8-9-től 87B11-13-ig /kb. 3.5 band/

Erre a szakaszra is három komplementációs csoport térképeződik: ck20 és ck21, - mindegyik két alléllal - és ck22, amely 6 mutánst tartalmaz. A három csoportnak mind az öt vizsgált allélje korai lárvális letalitást mutatott.

13. alrégió: 87B11-13-től 87B15-ig /kb. 3 band/

A három komplementációs csoport ebben a régióban /ck23, ck24 és ck25/ négy, hat, illetve kilenc allélt foglal magában. A tanulmányozott allélek a ck23 csoportból $/e^{115}$ és $e^{158}/$ mindhárom lárváállapoton keresztülhuzódó letalitást mutatnak ck24 korai báb /erős

autolizissal a bábokban/, míg ck25 több-fázisu lárva-le-tálisnak bizonyult.

Ezen a szakaszon belül az egyes komplementációs csoportok egymáshoz viszonyított helyzetét is meghatároztuk genetikai térképezéssel. Ilyen alapon ck24 helyezkedik el legközelebb a centromerhoz, ck25 a középső, míg ck23 disztális helyzetű.

14. alrégió: 87B15-C1-től 87C1-C2,3-ig /1 band/

A 87C1 band a 87C hő-sokk puff keletkezési helye. Többszöri kísérlet ellenére sem találtunk idetérképeződő mutációt.

15. alrégió: 87C1-C2,3-től 87C2,3-C4-ig /1 band/

Két recesszív, egymással allélikus nő-steril mutáció térképeződik erre a szakaszra. Gelbart /személyes közlés/ kimutatta, hogy azok a legyek, amelyekből a 87C2,3 band teljesen hiányzik, a sterilítástól eltekintve teljesen megfelelnek a vad típusnak.

Külön ke kell térnünk ennek a két mutációnak különböző deficienciákkal való komplementációjára, mivel a várhatótól rendkívül eltérő eredményeket kaptunk / 8. táblázat/.

Mind Df/3R/T-65, mind Df/3R/kar^{3L} olyan deficiencia, amely érinti a 87C2,3 bandet, de citológiai adataink szerint egymást nem fedik át. Ennek megfelelően komplementálják is egymást, vagyis transzheterozigóta állapotban életképesek és fertilisek. Mindkettő steril azonban olyan deficienciákkal szemben, amelyek teljesen kiejtik a 87C2,3 bandet.



FS-1 steril Df/3R/T-65-tel, de fertilis Df/3R/kar^{3L}-lel. Az FS-4 allél ezzel szemben steril mindkét deficienciával szemben, noha nincs semmi citológiai nyoma annak, hogy ez az allél maga is deficiens lenne. Tovább bonyolítja a képet, hogy a Df/3R/T-65 Df/3R/kar^{3L} transzheterozigóta is gyakorlatilag steril /több mint 90%-os sterilitás/ ha hordozza Dp/2,3/ry^{tw704} transzlokációt is a második kromoszómáján. /Ennek a transzlokációnak az egyik töréspontja a 87C2,3 sáv disztális felében van./

Ezen az alapon feltételezhető, hogy ez a régió két, fertilitásért felelős lókuszt foglal magában - amelyek azonban egyetlen, bár bonyolult szerkezetű komplementációs csoportot alkotnak /5. ábra, és 8. táblázat/.

16. alrégió: 87C2,3-C4-től 87C5-6-ig /2 band/

15 allél térképeződik ide, amelyek egyetlen komplementációs csoportot alkotnak /ck27/ . A csoport pete-lárvaletális. A homozigóta embriók Malpighi-edényei szintelenek.

17. - 20. alrégiók: 87C5-6-től 87C9-D1,2-ig /mindegyik 1 band/

Az ebben a szakaszban található komplementációs csoportok mindegyik egy-egy sávra térképeződik. Ezek közül az egyik /87C8/ csak a karmoisin /kar/ recesszív, szemszint befolyásoló mutációk komplementációs csoportját tartalmazza, ezért ennek a sávnak a teljes hiánya nem érinti sem az életképességet, sem a fertilitást /Df/3R/kar^{Sz-12} / Df/3R/kar^{Sz} transzheterozigóták minden

tekintetben megfelelnek a vad típusnak a kar szemszintől eltekintve./

ck28 korai báb-, ck29 lárva-, ck30 késői lárva-letális. Utóbbi csoport tagjaiban redukált méretű imágókorongok találhatók.

21. alrégió: 87C9-D1,2-től 87D3,4-ig /kb. 1.5 band/

Csak a malát-enzim strukturgénje térképeződik erre a szakaszra. Mivel a Df/3R/D1 / Df/3R/ry⁷⁵ transzheterozigóta nem mutat eltérést a vad tipushoz képest, a kromoszómának ez a szakasza a 87D1,2 disztális felétől kb. a 87D3,4 közepéig nem tartalmazhat az általunk alkalmazott módszerekkel kimutatható géneket.

AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

a/ A régió citológiai adatainak értékelése

Az általunk vizsgált kromoszóma-szakaszon belül lényeges eltérést a sávmintázat tekintetében nem találtunk a Bridges által szerkesztett óriáskromoszóma térképhez viszonyítva /Bridges, 1935; 1938; 1941/, eltekintve attól, hogy néhány kettősnek jelzett sáv a valóságban minden bizonnyal egyes. Hasonló eredményre vezetett néhány, az X-kromoszóma különböző szakaszain végzett analízis /Ananiev és Barsky, 1978; Beljajeva és mtsai, 1980/. Fenti eltérés valószínű magyarázata, hogy Bridges idézett munkái olyan preparátumok alapján készültek, amelyeket a fixálás előtt fiziológiás sóoldatban kezelt. Ismeretes ugyanis, hogy különböző kationok hatására különösen a vastag sávokat alkotó kromatin részben dekondenzálódik /Beermann, 1974/.

Néhány nagyon vékony sáv igen ritkán figyelhető meg preparátumainkon. Ezért ezeknek a sávoknak a léte bizonytalan. Elektromikroszkópos preparátumokon végzett mérések szerint a legvékonyabb bandek elvben a fénymikroszkópos észlelési határ alatt vannak. Bridges ezen bandek tulnyomó részét azonban nem csak jelezte a kromoszóma térképen, de a rajzon az egymástól való távolságuk és relatív szélességük is megfelel a valóságnak /Beermann, 1972/. Ennek az a magyarázata, hogy ezek a bandek mint halvány,

szürke sávok láthatókká válnak, ha a mikroszkópot kissé életlenre állítjuk /természetesen ilyenkor pl. pontos töréspont-adatokat megállapítani majdnem lehetetlen/. Ezért ezen halvány sávokat mégis létezőknek tekinthetjük. Mindezeket figyelembevéve a régióban található bandek száma hozzávetőleg 41-42. /Ezt az eredményt kiterjesztve az egész genomra, kb. 4.000 sáv található a Drosophila melanogaster kromoszómáin./

Érdemes továbbá megjegyezni, hogy kisebb eltérések különböző D.melanogaster törzsek azonos sejttipusaiban található óriáskromoszómák sávmintázatában lehetségesek. Megfigyeléseink szerint különösen 86F7-8, 87C1, 87C4, 87C5 sávok szélessége változik törzsenként, míg 87C1 és 87C2,3 sávok egymástól való távolsága változhat.

Röviden szólnunk kell az általunk felhasznált kromoszóma-rendellenességek töréspont-meghatározásának pontosságáról. Sokszor csak egy kisebb-nagyobb közt tudtunk kijelölni, amelyen belül a töréspont elhelyezkedhet, különösen a legvékonyabb bandek környezetében. Jó néhány esetben viszont meglehetősen pontosan meg lehet adni a töréspontokat. Ez - szerencsés kivételektől eltekintve - akkor lehetséges, ha a töréspont egy széles sávon belülre esik. Kisebb tévedések lehetőségét azonban aligha lehet kizárni. Éppen ezért, ahol lehetett, genetikai adatokkal igyekeztünk kiegészíteni a citológiai megfigyeléseket.

b/ Sávok és komplementációs egységek viszonya a vizsgált régióban

Elöljáróban meg kell jegyeznünk, hogy ebben a fejezetben a "gén" megjelölés helyett a "komplementációs csoport" kifejezést fogjuk használni, mert egy komplementációs csoport nem feltétlenül felel meg egy génnek, az általunk alkalmazott módszerekkel azonban - egy kivételtől eltekintve /malát enzim/ - csak az előbbit tudjuk biztonsággal meghatározni. Ugy véljük, hogy így elejét vehetjük bizonyos értelmezésbeli zavarnak.

További fontos kérdés, hogy mennyire tekinthető a régió mutációkkal telítettnek. Megvizsgálva az egyes komplementációs csoportokba eső EMS-tal indukált mutáns allélek számának eloszlását, azt találjuk, hogy ez a legjobban a Poisson eloszlásnak felel meg $/x=26.01, p=0.01-0.05/$. Ezen az alapon számolva az eddig felde-
ritetlen komplementációs csoportok száma 0.13. Tekintettel arra, hogy a Poisson-eloszlás csak viszonylag durván közelíti meg a valóságosat, a reális érték 1.-2 körül lehet. Összehasonlítva más ilyen típusu munkákkal /pl. Woodruff és Ashburner, 1979/, ez mindeképpen jó telítésnek mondható, különösen, ha figyelembe vesszük, hogy sikerült Röntgen-sugárral egy új komplementációs csoportot képviselő mutációt indukálnunk /ck11/.

A régió határait jelentő 86F1,2 és 87D3,4 között hozzávetőleg 41-42 sáv található. Ezen a szakaszon belül 175 le-

tális és szemiletális mutációt izoláltunk, amelyek 29 komplementációs csoportba oszthatók. 13 karmoisin látható mutáció, amely egy komplementációs csoportot alkot a 87C8 sáv környékén, egy 2 allélt magábanfoglaló nő-steril komplementációs csoport 87C2,3-ban található. Deléciós térképezéssel a két hő-sokkal indukálható puff keletkezési helyeként 87A7, illetve 87C1 bandeket jelöltük meg. Mint láttuk, erre a két helyre egyetlen komplementációs csoport sem lokalizálható. Ennek oka egyértelműen abban keresendő, hogy mindkét helyen több példányban is ugyanannak a strukturgénnek a kópiái foglalnak helyet /70.000 mólsúlyu hsp-t kódoló génnek, Ish-Horowicz és mtsai, 1979; Tissieres és mtsai, 1974/, továbbá ezen kópiák mindegyike aktív /McKenzie és mtsai, 1975/. A 87D1,2 proximális része, vagy a hozzá csatlakozó sávköz tartalmazza a malát enzim strukturgénjét. A 87B szakaszban található a dipeptidáz-c /Robert Voelker, személyes közlés/, valamint a lizin egyik izoakceptor-tRNS-e /Hayashi, 1980/, amelyek pontos helyzete ismeretlen. Két utóbbi enzim teljes hiánya /un. null variáns/ semmiféle eltérést nem okoz a vad tipushoz képest, a tRNS génekről pedig ismert, hogy több kópiában vannak jelen a genomban.

Ugyanakkor átfedő deficienciák segítségével bizonyítottuk, hogy a 87D1,2 disztális, 87D3,4 proximális része és a köztük lévő sávköz, valamint a 87B1 disztális része semmilyen kimutatható funkciót nem hordoz. Továbbá 87C2,3 sem tartalmaz a nő-sterilitáson kívül semmit. Hasonló vi-

selkedésű szakaszokat azonosítottak Young és Judd /1978/ a "zeste-white" régióban az X-kromoszómán.

Ha a régió kisebb szakaszait tekintjük a komplementációs csoportok száma és a sávok száma közötti viszony szempontjából, az egyes szakaszok között eltérések tapasztalhatók. Így a 86F8 és 87A1,2 között, ahol 4-5 band található, csak három komplementációs csoportot, 87A1,2 és 87A6 között /3-4 band/ két csoportot, 87C4-87C5-ig /2 band/ egy csoportot tudtunk azonosítani. Másrészt pl. 87C6-87C9-ig minden egyes sávra 1 csoport térképeződik, sőt a 87B régióban /B2-B15/, ha tekintetbe vesszük a 2, helyileg pontosan nem azonosítható gént /dipeptidáz-c és Lis⁵ tRNS/, 14 bandre 15 genetikai egység esik.

Áttekintve az eddigieket, megállapíthatjuk, hogy a komplementációs csoportok száma egy-egy szakaszon belül némileg alatta maradhat a sávok számának, kissé meghaladhatja, vagy megegyezhet azzal. Általában azonban a két érték közel van egymáshoz. Lényegében hasonló eredményre vezetett az utóbbi időben minden olyan munka, amely a genom valamely szakaszának mutánsokkal való minél alaposabb telítését célozta /Young és Judd, 1978; Woodruff és Ashburner, 1979; Beljajeva és mtsai, 1980/.

c/ A "gének" helyzete a sávmintázathoz viszonyítva

Amikor arról beszéltünk, hogy egy komplementációs csoport valamely sávhoz lokalizálható, nem tettünk különbséget a sáv és a hozzá csatlakozó sávközök között, mivel



mint említettük, a fénymikroszkópos felbontás ezt legtöbbször nem teszi lehetővé. Bizonyos szempontból azonban fontos kérdés, hogy az egyes komplementációs csoportok a sávokban, vagy a sávközökben találhatók-e. Ugyanis akár kizárólag a bandekben, akár kizárólag az interbandekben foglalnak helyet, ez összeegyeztethető az 1 "gén"-1 sáv hipotézissel. Ellentmond viszont az elméletnek, ha mindkét helyen lehetnek "gének".

Kimutattuk, hogy egy fertilitásért felelős szekvencia a 87C2,3 sáv szélén, de a sávon belül foglal helyet /lásd 5. ábra/. Welshon és Keppy /1975/ a Notch, Lefevre /1973/ a Scute és Echinus mutációkról bizonyította, hogy nagy valószínűséggel egy sávon belül helyezkednek el. Ezzel szemben Zsimuljev /1974/ kimutatta, hogy RNS szintézis gyakorlatilag minden sávközben, valamint a puffokban folyik, de sávokban sohasem.

d/ Elképzelések a kromoszóma szerveződésére

Az ellentmondás feloldható, ha tekintetbe vesszük, hogy az általunk használt kromoszóma térkép csakis a nyálmirigy sejtek óriáskromoszómái alapján készült. Elvileg elképzelhető, hogy más szövetek kromoszómái eltérő sávmintázatot mutatnak. Ez a feltételezés lehetővé tesz egy olyan értelmezést, amely szerint azok a komplementációs csoportok, amelyeket egy sávon belülre térképeztek, nem aktívak a nyálmirigyben - míg az aktívak az interbandben helyezkednek el /legalábbis a fejlődésnek abban a stádiumában,

amelyben a kromoszómák alkalmasak a citológiai vizsgálatra/. Valóban nehéz elképzelni, hogy pl. egy olyan gén, amelynek a terméke a nőstények szaporodóképességéhez szükséges, aktiv lenne a nyálmirigyben.

A politén kromoszómák szerkezetére vonatkozó spekulációk tulnyomó része azonban a sávmintázatot minden szövetre nézve /legalábbis kimondatlanul/ állandónak tekinti /a puffok képződésétől eltekintve/.

Zsimuljev saját vizsgálatai alapján konstruált un. "dinamikus" modellje éppen ellenkező nézetet képvisel /1975/. Eszerint egy adott sejt kromoszómainak sávmintázata csak a sejt adott időpontbeli funkcionális állapotát tükrözi, mivel a gének aktivitásától függően korlátlan átmenet lehetséges a band és interband /- vagy puff/ között. Más szóval a gének a sávmintázattól többé - kevésbé függetlenül helyezkednének el a kromoszómán.

Utóbbi elmélettel szemben is felsorakoztathatunk néhány komoly ellenérvet.

d.1./ A sávmintázat állandóbb, mint az elmélet alapján várnánk.

Ha a gének egyaránt lehetnek sávokban és sávközökben, különböző szövetek sávmintázata a szövetspecifikus génaktivitás következtében erősen különböző kell, hogy legyen.

Ilyen különbségeket valóban kimutattak pl. Chironomus tentans különböző szöveteinek kromoszómain, ahol a sávok kb. 30%-a nem volt azonosítható egymással /Beermann, 1962; Berendes, 1966/. Ezek az eltérések azonban szinte kizárólag a vékony bandekre vonatkoznak. A Rhynchosciara angelae

Malpighi-edény kromoszómáin néhány esetben több bandet figyeltek meg ott, ahol a nyálmirigy kromoszómákon csak egy található /Pavan, 1965/. Mindezeknél jelentősebb az az eltérés, amelyet Ribbert talált /1979/ a Calliphora erythrocephala un. dajkasejtek és az egyéb testi sejtek kromoszómáinak sávmintázatában. Ez olyan mértékű, hogy még a kromoszóma karokat sem lehet azonosítani a mintázat alapján.

Saját vizsgálataink az fs/2/B mutáns dajkasejtjeinek óriáskromoszómáin egészen ellenkező eredményre vezettek. Az egyes kromoszóma szakaszok általános képe eltérő lehet a nyálmirigy kromoszómákhoz képest, ez azonban főleg a puffmintázat teljesen eltérő voltának, jellegzetes befűződések hiányának, továbbá az egyes sávok egymástól való eltérő távolságának tulajdonítható. Így pl. a nyálmirigy kromoszómákon a 85F és a 87C régióban egy-egy un. "szürke" bandet magábanfoglaló puff látható, míg ugyanott erős bandek találhatók a dajkasejt kromoszómán. Másik példaként említhető, hogy a 87C5 és 87C7 bandek lényegesen közelebb helyezkednek el egymáshoz utóbbi sejttípusban /érdemes megemlíteni, hogy e két sáv közé - 87C6-ra, amely egy igen vékony band - egy korai báb-letális komplementációs csoport térképeződik, amelyről könnyen elképzelhető, hogy inaktív az ováriumban/. Kis mértékű eltérés az egyes bandek relatív szélességében ugyancsak lehetséges. Mindez azonban nem azt jelenti, hogy alapos elemzés után ne lehetne lényegében minden egyes sávot azonosítani a két különböző kromoszóma típuson /természetesen a legvékonyabb

sávokat, amelyek megléte amugyis kérdéses, nem vehetjük figyelembe/. Ez egyuttal azt is jelenti, hogy erős bandek nem tűnnek el, nem válnak vékonyakká /eltekintve a puffoló helyektől/, nem oszlanak több finom sávra; interband helyén nem jelenik meg erős band.

További figyelemreméltó tény, hogy ha bizonyos hatásokra megszűnik a transzkripcionális aktivitás a kromoszómán, - pl. aktinomicin-D, vagy hosszú idejű hő-sokk /egy-másfél óra/ kezelés hatására - a puffok regresszálnak és a vékony sávok megerősödnek, az interbandek azonban nem tűnnek el, továbbá az egyes sávok viszonylagos távolsága sem változik lényegesen - vagyis úgy tűnik, hogy az interband egy adott típusu szövet adott fejlődési állapotában aktivitástól függetlenül bizonyos mértékig rögzített struktúra.

Mindezekből következik, hogy a D.melanogaster óriás-kromoszómaiban a sávmintázatot alkotó bandek nagy többségének olyan - az egyes sávok tulnyomó részét alkotó - magja kell, hogy legyen, amely szövettípustól függetlenül állandó.

d.2./ A komplementációs csoportok elterjedése a kromoszómán nem független a sávmintázattól.

Ha Zsimuljev elmélete teljes egészében helytálló lenne, az annyit jelentene, hogy egy adott bandnél mondjuk tizszer több DNS-t tartalmazó bandre átlag tizszer annyi komplementációs csoport térképeződne. Mivel az egyes bandek DNS tartalma közötti különbség szélső esetekben legalább ekkora - kb. 3.000-től több mint 100.000 bázispárig változhat -, a komplementációs csoportoknak ilyen halmozódását az álta-

lunk végzett kísérletnek mindenképpen ki kellett volna mutatnia. Eredményeink azonban, összhangban más vizsgálatokkal, éppen az ellenkezőjét látszanak alátámasztani. Egyetlen bandet sem találtunk, amelyre egynél több komplementációs csoport esne. Ugyanakkor kimutattuk, hogy a régióban vannak olyan szakaszok, amelyek semmilyen kimutatható funkciót nem tartalmaznak. Természetesen nem zárható ki, hogy ezeken a helyeken nem létfontosságú enzimeket kódoló szekvenciák /un.

"kriptikus" gének/ található, vagy esetleg repetitív formában tartalmazzak géneket. Feltűnő azonban, hogy ezek az "üres" szakaszok elsősorban a legvastagabb sávok belsejében található és így felvetődik annak a lehetősége, hogy ez a jelenség általános /ti., hogy a bandek belsejében nincsenek esszenciális egyedi szekvenciák/, csupán a kimutatás lehetőségei korlátozottak a vékonyabb bandek környezetében lévő töréspontok meghatározásának nehézségei miatt. Ez különösen akkor látszik valószínűnek, ha figyelembe vesszük, hogy a genon más szakaszain is kimutattak hasonló jelenséget /Young és Judd, 1978; Beermann, 1972; Welshons, 1975/.

Mindezek alapján úgy tűnik, hogy legfeljebb kivételesen fordulhat elő, hogy egy sávra egynél több komplementációs csoport esik, tekintet nélkül az illető band szélességére.

Mint már utaltunk rá, ez nem szükségszerűen jelenti azt, hogy minden esetben egy strukturgén kell, hogy helyet foglaljon egy sávban /vagy sávközben/, csupán azt, hogy egyetlen funkcionális egységet alkossanak az egyes gének /pl. egy heteropolimer enzim alegységeit kódolják/.

Ilyen viszonyra utalhatnak azok az esetek, amikor a komplementációs mintázat rendkívül bonyolult. Jó példa lehet erre a $ck26^{fs}$, amely - jóllehet egy komplementációs egységként viselkedik - két, deficienciák által elkülöníthető részre tagolódik.

Fentieket figyelembevéve úgy véljük, hogy a kromoszóma strukturájának teljes dinamizmusát feltételező elméletet nem fogadhatjuk el. Vitathatatlan érdeme viszont, hogy felhívja a figyelmet arra, hogy a kromoszóma szerkezetét nem tekinthetjük teljesen merevnek, mivel az egyes gének aktivitásában bekövetkező változásoknak tükröződniük kell a kromoszóma szerkezetében a puffok megjelenésén és eltűnésén túlmenően is, hiszen a hagyományos értelemben vett puffok /amelyek csak a kromoszóma legaktívabb helyeit jelölik/ csak a gének kisebbségével lehetnek kapcsolatban. Ez a szerkezeti változás az előzőekben felsorolt citológiai megfigyelések alapján valószínűleg a bandek interbanddel határos részén bekövetkező, korlátozott kiterjedésű dekonzenzáció aktivációkor, kondenzáció inaktivációkor.

Ez annyit jelent, hogy a strukturgének tulnyomó része a band-interband határon kell, hogy elhelyezkedjen. Valóban, ahol ez egyáltalán lehetséges /a legszélesebb bandek esetében/, a komplementációs csoportok, illetve mutációk az egyes sávok egyik, vagy mindkét szélére térképezhetők /lásd a 4. és 5. ábrát/. Lehetséges azonban, hogy egyes bandek teljes DNS tartalma átíródhat.

Az elmondottak alapján úgy gondoljuk, hogy a tényeknek a kromoszóma szerveződésnek olyan modellje felel meg leginkább, amely a statikus és szélsőségesen dinamikus felfogás szintézise. Egy ilyen modell szempontjait a következőkben vázolhatjuk fel :

1./ A band-interband viszonylag stabil szerkezeti egység;

2./ A band-interbandre - esetleges ritka kivételektől eltekintve - továbbra is mint működési egységre kell tekintenünk. Így az elvben azonosítható komplementációs csoportok száma hozzávetőleg 4.000 - 5.000 lehet a Drosophila melanogasterben;

3./ Az egyes, független egységként átíródó gének valószínűleg a band-interband határon helyezkednek el. Számuk egynél több is lehet 1-1 band környezetében;

4./ A gének aktív állapotukban az interbandhez, inaktív állapotukban a bandhez csatlakozhatnak. Az átlagosnál nagyobb mértékű transzkripcionális aktivitást - a fokozott dekonzenzáció következtében - mint puffot észleljük;

5./ A kromoszómának ilyen szerveződése nem feltétlenül esszenciális az egyes gének kifejeződése szempontjából, azonban minden bizonnyal előnyös, tekintettel arra, hogy meglehetősen konzervatívnak mutatkozik.

IRODALOMJEGYZÉK

- Alikhanian, S.I.: A study of the lethal mutations in the left and of the sex chromosome in Drosophila melanogaster. Zool. Zhur. 16 /1937/.
- Ammermann, D.: Morphology and development of the macronuclei of the ciliates Stylonychia mytilus and Euplotes aediculatus. Chromosoma /Berl./ 33, 209-238 /1971/.
- Ananiev, E.V., Barsky, V.E.: Localization of RNA synthesis sites in the 1B-3C region of the Drosophila melanogaster X-chromosome. Chromosoma /Berl./, 65, 359-371. /1978/.
- Ashburner, M.: Function and structure of polytene chromosomes during insect development. Advan. Insect Physiol. 7, 1-95 /1970/a/.
- Ashburner, M.: Patterns of puffing activity in the salivary gland chromosomes of Drosophila. V. Responses to environmental treatments. Chromosoma /Berl./ 31, 356-376 /1970/b/.
- Beermann, W.: Chromomenenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in Entwicklung und Organdifferenzierung von Chironomus tentans. Chromosoma /Berl./ 5, 139-198 /1952/.
- Beermann, W.: Riesenchromosomen. Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung, Bd. IVd. Wien: Springer 1962.

Beermann, W.: Gene action at the level of the chromosome.

In: Brink, R.A. /Ed./: Heritage from Mendel, pp.

179-201. Univ. Wisconsin Press 1967.

Beermann, W.: Ein Balbianiring als Locus einer Speicheld-

rusenmutation. Chromosoma /Berl./ 12, 1-25 /1961/.

Belyaeva, E.S., Aizenzon, M.G., Semeshin, V.F., Kiss, I.,

Koczka, K., Baritcheva, E.M., Gorelova, T.D.,

Zhimulev, I.F.: Cytogenetic analysis of the

2B3-4 - 2B11 region of the X-chromosome of

Drosophila melanogaster. I. Cytology of the region

and mutant complementation groups. Chromosoma

/Berl./ megjelenés alatt /1980/.

Berendes, H.D.: Induction and control of puffing. Ann.

Embryol. Morph. Suppl. 1, 153-164. /1969/.

Berendes, H.D. : Differential replication of male and

female X-chromosomes in Drosophila. Chromosome

20, 32-43 /1966/.

Berendes, H.D.: Polytene chromosome structure at the

submicroscopic level: I. A map of region X, 1-4E

of Drosophila melanogaster. Chromosoma /Berl./

29, 118-130 /1970/.

Bollenbacher, W.E., Goodman, W., Vedeckis, W.V. and

Gilbert, L.I.: The in vitro synthesis and secretion

of α -ecdysone by the ring glands of the fly,

Sarcophaga bullata. Steroids, 309-324 /1976/.

Bridges, C.B.: Salivary chromosome maps. J. Heredity,

26, 60-64 /1935/.

Bridges, C.B.: A revised map of the salivary gland X-chromosome of Drosophila melanogaster. J. Heredity 29, 11-13 /1938/.

Bridges, P.N.: A revised map of the right limb of the second chromosome of Drosophila melanogaster. J. Heredity 30, 475-476 /1939/.

Bridges, P.N.: A revision of the salivary gland 3R-chromosome map of Drosophila melanogaster. J. Heredity, 32, 209-300 /1941/a/.

Bridges, P.N.: A revised map of the left limb of the third chromosome of Drosophila melanogaster. J. Heredity, 32, 64-65. /1941/b/.

Bridges, P.N.: A new map of the salivary gland 2L-chromosome of Drosophila melanogaster. J. Heredity, 33, 403-408. /1942/.

Britten, R.J., Davidson, E.H.: Gene regulation for higher cells: A theory. Science 165, 349-357. /1969/.

Crick, F.H.: General model for the Chromosomes of Higher Organisms. Nature /Lond./ 234, 25-27 /1971/.

Daneholc, B.: Transcription in polytene chromosomes. Cell 4, 1-9 /1975/.

Demerec, M.: The nature of changes in the white-Notch region of the X-chromosome of Drosophila melanogaster. Proc. 7th Int. Genet. Congr. 1939. J. Genet. Suppl. 1941, 99-105.

Grossbach, U.: Chromosomen-Aktivität und biochemische Zelldifferenzierung in den Speicheldrüsen von *Camptochironomus*. Chromosoma /Berl./ 28, 136-187 /1969/.



- Hochmann, B.: Analysis of chromosome 4 in Drosophila melanogaster. II. Ethyl-methanesulphonate induced lethals. Genetics 67, 235-252 /1971/.
- Holden, J.J. and Ashburner, M.: Patterns of puffing activity in the salivary gland chromosomes of Drosophila. IX. The salivary and prothoracic gland chromosomes of a dominant temperature sensitive lethal of Drosophila melanogaster. Chromosoma, 68, 205 /1978/.
- Hayashi, S., Gillam, I.C., Delaney, A.D., Dunn, R., Tener, G.M., Grigliatti, T.A. and Suzuki, D.T.: Hybridization of tRNAs of Drosophila melanogaster to polytene chromosomes. Chromosoma /Berl./ 76, 65-84 /1980/.
- Ish-Horowicz, D., Holden, J.J. and Gehring, W.J. : Deletions of two heat-activated loci in Drosophila melanogaster and their effects on heat-induced protein synthesis. Cell, 12, 643-652. /1977/.
- Ish-Horowicz, D., Pinchin, S.M., Gausz, J., Gyurkovics, H., Bencze, G., Goldschmidt-Clermont, M. and Holden, J.J.: Deletion mapping of two D.melanogaster loci that code for the 70,000 dalton heat-induced protein. Cell, 17, 565-571 /1979/.
- Judd, B.H., Shen, M.W., Kaufman, Z.C.: The anatomy and function of a segment of the chromosome of Drosophila melanogaster. Genetics, 71, 139-156 /1972/.
- McKenzie, S.L., Henikoff, S. and Meselson, M.: Localization of RNA from heat-induced polysomes at puff sites in Drosophila melanogaster. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72, 1117-1121. /1975/.

- Kiger, J.A.: The consequences of nullosomy for a chromosomal region affecting cyclic AMP phosphodiesterase activity in Drosophila. Genetics, 85, 623-628. /1977/.
- King, R.C., Koch, E.A. and Cassens, G.A.: The effect of temperature upon the ovarian tumors of the fes mutant of Drosophila melanogaster. Growth, 25, 45-65 /1961/.
- Korge, G.: Direct correlation between a chromosome puff and the synthesis of a larval saliva protein in Drosophila melanogaster. Chromosoma /Berl./ 62, 155-174. /1977/.
- Leenders, H.J., Beckers, P.I.A.: The effect of changes in the respiratory metabolism upon genom activity. A correlation between induced gene activity and an increase in activity of a respiratory enzyme. J. Cell Biol. 55, 257-265. /1972/.
- Lengyel, J.A. and Pardue, M.L.: Analysis of hnRNA made during heat shock in Drosophila melanogaster cultured cells. J. Cell Biol. 67, 240a /1975/.
- Lefevre, G.: Salivary chromosome bands and the frequency of crossing over in Drosophila melanogaster. Genetics 67, 497-513 /1971/.
- Lefevre, G.: The relationship between genes and polytene chromosome bands. Ann. Rev. Genet. , 51-62 /1974/.
- Lefevre, G., Johnson, T.K.: Evidence for a sex-linked haplo-inviabile locus in the cut-singed region of Drosophila melanogaster. Genetics, 74, 633-645 /1973/.

- Lifschytz, E., Falk, R.: Fine structure analysis of a chromosome segment in Drosophila melanogaster. Analysis of ethyl methanesulphonate-induced lethals. Mutation Res. 8, 147-155 /1969/.
- Lindsley, D.L., Grell, E.H.: Genetic variations of Drosophila melanogaster. Carnegie Institution of Washington, Publication No. 627 /1968/.
- Lis, J., Prestidge, L. and Hognes, D.S.: A novel arrangement of tandemly repeated genes at a major heat shock site in Drosophila melanogaster. Cell 14, 901-919 /1978/.
- Nagl, W.: 4096-ploidie und Riesenchromosomen im Suspensor von Phaseolus collineus. Naturwissenschaften 49, 261-262, /1962/.
- Painter, T.S.: Salivary chromosomes and the attack on the gene. J. Heredity 25, 465-476 /1934/.
- Pelling, C.: Chromosomal synthesis of ribonucleic acid as shown by the incorporation of uridine labeled with tritium. Nature /Lond./ 184, 655-656 /1959/.
- Rayle, R.E.: Genetic analysis of a short X-chromosomal region in Drosophila melanogaster. Genetics 71, 50 /1972/.
- Ribbert, D.: Chromosomes and puffing in experimentally induced polytene chromosomes of Callifora erythrocephala. Chromosoma /Berl./ 74, 269-298 /1979/.
- Ritossa, F.: A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in Drosophila. Experientia /Basel/ 18, 571-573 /1962/.
- Roberts, P.A.: A cytogenetic analysis of X-ray induced "visible" mutations at the yellow locus of Drosophila melanogaster. Mutat. Res. 22, 139-144 /1974/.

Rubin, G.M. and Hogness, D.S.: Effect of heat shock on the synthesis of low molecular weight RNAs in Drosophila: accumulation of a novel form of 5S RNA. Cell 6, 207-213 /1975/.

Shalet, A.: Lethal, semi-lethal and male steril mutants in the proximal region of the X chromosome in Drosophila melanogaster. Dros. Inf. Serv. 49, 64-66. /1972/.

Sorsa, M.: Ultra-structure of the polytene chromosome in Drosophila melanogaster with special reference to electron microscopic mapping of chromosome 3R. Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A, IV. 151, 1-18 /1969/.

Spradling, A., Pardue, M.L. and Penman, S.: Messenger RNA in heat-shocked Drosophila cells. J. Mol. Biol. 109, 559-587 /1977/.

Tissieres, A., Mitchell, H.K. and Tracy, U.M.: Protein synthesis in salivary glands of D.melanogaster. Relation to chromosome puff.s J. Mol. Biol. 84, 389-398 /1974/.

Welsons. W.J. and Keppy, D.O.: Intragenic deletions and salivary band relationships in Drosophila. Genetics 80, 143-155 /1975/.

Woodruff, R.C. and Ashburner, M.: The genetics of a small autosomal region of Drosophila melanogaster containing the structural gene for alcohol dehydrogenase. Genetics, 92, 117-149 /1979/.

Young, M.W., Judd, B.H.: Nonessential sequences, genes and the polytene chromosome bands of Drosophila melanogaster. Genetics 88, 723-742 /1978/.

Zhimulev, I.F. and Belyaeva, E.S.: Proposals to the problem of structural and functional organization of polytene chromosomes. Theor. Appl. Genet. 45, 335-340 /1975/.

Zhimulev, I.F.: ^3H -uridine labeling patterns in Drosophila melanogaster salivary chromosomes. Genetica /USSR/ 10, nr. 9, 71-79 /1974/.

1. Táblázat

Az általunk használt mutációk rövid leírása

Mutáns	Fenotípus	Térképhelyzet
3. krom.:		
cu - curled	felfelé görbülő szárny	50,0
e - ebony	ében színű test	70,7
kar - karmoisin	világos vörös szemszín	51,7
Sb - Stubble	tömpe szőr /domináns/	58,2
Ser - Serrate	kicsipett hegyű szárny /domináns/	92,5
2. krom.:		
fs/2/B-female sterile	nő-steril	5,0
cn - cinnabare	cinóber szem	57,5
Cy - Curly	felfelé pöndörödő szárny	6,1
TM3	többszörös inverziót	
CxD	hordozó balanszer	
SM5	kromoszómák	



2. Táblázat

Új deficienciák a karmoisin lókuszra

T ö r z s

T ö r é s p o n t o k

	proximális		distális
Df/3R/kar ^{Sz-23}	87C3-4	;	87C9-D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-72⁺}	87E1-3	;	87F13-14
Df/3R/kar ^{Sz-8}	87C1-3	;	87D14-15
Df/3R/kar ^{Sz-27}	87C7-8	;	87E12-13
Df/3R/kar ^{Sz-37}	87C5-6	;	87D14-E1
Df/3R/kar ^{Sz-40}	87B2-3	;	87D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-11}	87C7-8	;	87E5-6
Df/3R/kar ^{Sz-33}	87C1-2,3	;	87E4-5
Df/3R/kar ^{Sz-21}	87C6-7	;	87C8-9
Df/3R/kar ^{Sz-30}	87B2-4	;	87D1,2-3
Df/3R/kar ^{Sz-15}	87B1-2	;	87E1-2
Df/3R/kar ^{Sz-31}	86C6-7	;	87C9-D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-23}	86E6-7	;	87C9-D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-28}	87C7-8	;	87E9-10
Df/3R/kar ^{Sz-13}	87E6-7	;	87C9-D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-5}	86E20-F ₁	;	87F3-4
Df/3R/kar ^{Sz-16}	87C1-2,3	;	87C9-D1,2
Df/3R/kar ^{Sz-12}	87B1-3	;	87C8-9

⁺ = a törzs valószínűleg karmoisin pontmutációt hordoz és ettől független dificienciát;

3. Táblázat

A 86F1,2-től 87D3,1-ig terjedő régió sávjainak egymáshoz viszonyított relatív vastagsága

Vastagság tetszőleges egységben	S á v o k
1	86F3 ; 86F5 ; 86F10 ; 86F11; 87A3 ; 87A8 87A10 ; 87B3 ; 87B6 ; 87B7 ; 87B10; 87B12 ; 87B14 ; 87C4 ;
2	86F4 ; 87C6 ; 87C8 ;
3	87A7 ; 87C8 ;
4	87B6 ; 87B7 ; 87B13 ;
5	87A6 ; 87B15 ; 87C9 ;
6	86F8 ; 86F9 ; 87B8 ; 87B9 ; 87B11;
7	86F6,7; 87A9 ; 87C1 ; 87C5 ;
8	87B4 ; 87B5 ; 87C7 ;
9	86F1,2; 87A1,2; 87A4,5; 87B1 ; 87B2 ;
10	87C2,3; 87D1,2; 87D3,4;

4. Táblázat

A különböző kísérletekben izolált mutánsok száma és a mutációs gyakoriság egy komplementációs csoportra számítva

Kísér- let	Tesztelő def.	Tesztelt kromo- szóma	Tesztelt kompl. csop.	Allélek száma	% mutáns per kompl.cs.
1	Df/3R/kar ^{3J}	5726	5	27	$9,4 \times 10^{-4}$
2	Df/3R/kar ^{D3}	8303	30	96	$2,8 \times 10^{-4}$
3	Df/3R/T-10	876	28	30	$1,1 \times 10^{-3}$
4	Df/3R/E-229	512	8	5	$1,2 \times 10^{-3}$
5	Df/3R/T-41	5724	25	34	$2,3 \times 10^{-4}$
Összesen		21141	31	180	$3,3 \times 10^{-4}$

A teljes 3. kísérlet és az 5. kísérletből 1520 kromoszóma esetében nő-sterilitásra is teszteltünk.

5. Táblázat

A 86F1,2 – 87D3,4 régió felosztására használt deficienciák
töréspontjai

Deficiencia	Töréspontok		Törzs eredete
	proximális	distalis	
Df/3R/T-45	86E	87B5-6	Ish-Horowicz
Df/3R/D ³	86E16-18	87D3,4	Ritossa
Df/3R/T-10	86F1,2*	87C5-7	Ish-Horowicz
Df/3R/E-O79	86F1,2	87B9	Gausz
Df/3R/T-63	86F1,2*	87A4,5-7	Ish-Horowicz
Df/3R/T-47	86F1,2*	87A9	Ish-Horowicz
Df/3R/T-61	86F1,2*	87A9	Ish-Horowicz
Df/3R/T-O7	86F1,2*	86F4-7	Ish-Horowicz
Df/3R/T-55	86F1,2*	87A4,5-7	Ish-Horowicz
Df/3R/T-41	86F1,2	87C1-C2,3	Ish-Horowicz
Df/3R/E-229	86F6-7	87B1,2	Gausz
Df/3R/H-5	87A1,2	87D5-D7	Henikoff
Df/3R/kar ^{1W}	87A6-7	87D13-14	Ish-Horowicz
Df/3R/D ¹	87A7	87D3,4	Ritossa
Df/3R/kar ^{Sz-15}	87B1-B2	87E1-2	Gausz
Df/3R/kar ^{Sz-12}	87B1-2	87C8-C9	Gausz
Df/3R/H-1	87B1	87D12-E1	Henikoff
Df/3R/E-307	87B2-4	87D1,2	Gausz
Df/3R/kar ^{3Q}	87B2-4	87D1,2	Ish-Horowicz
Df/3R/H-10	87B4	87D7-8	Henikoff
Df/3R/H-11	87B5-6	87F1-2	Henikoff
Df/3R/ry ⁶¹⁵	87B11-13	87E8-11	Gelbart
Df/3R/kar ^{3J}	87B15-C1	87C9-D1,2	Ish-Horowicz
Df/3R/ry ⁷⁵	87D1,2	87D14-E1	Gelbart

A *-gal jelölt deficienciák hordozzák a TE28 transzpozíciós elemet, amelyet az izolálásukra használtunk fel.

6. Táblázat

A malát-enzim durva citogenetikai lokalizálása deficienciákkal

Törzs	Töréspontok		Fenotípus heterozigótaként	
	proximális	distalis	Men ⁴ -el	Men ⁶ -al
Df/3R/kar ^{1G27+}	87B3-5	; 87D6-12	4	6
Df/3R/ry ⁶¹⁵	87B11-13;	87E8-11	4	6
Df/3R/ry ⁸⁵⁺	87B15-C1;	87F15-88A1	4	6
Df/3R/kar ³¹	87C2,3	; 87D3,4	4	6
Df/3R/ry ⁸¹⁺	87C1-2,3;	87D14-E2	4	6
Df/3R/ry ⁶¹⁹⁺	87D7-9	; 87E12-F1	4	4-6
Df/3R/126c ⁺	87E1-2	; 87F11-12	4	4-6
Df/3R/red ³¹⁺	87F12-14;	88C1-3	4	4-6

⁺ jelzéssel ellátott törzsek töréspontjait Hall és Kankel /1976/határozta meg.

7. Táblázat

A malát-enzim finom lokalizációja a 87C-D régióban
deficienciákkal

Törzs	Deficiencia töréspontok	Fenotípus heterozigótaként	
		Men ⁴	Men ⁶
Df/3R/ry ⁶¹⁴	87D2-4 ; 87D11-14	4	4-6
Df/3R/ry ²⁷	87D1,2 ; 87F1-2	4	4-6
Df/3R/ry ⁷⁵	87D1,2 ; 87D14-E1	4	4-6
Df/3R/ry ¹³⁰¹	87D2-D6 ; 87D12-14	4	4-6
Df/3R/ry ¹⁴⁰²	87D2-4 ; 87D14-E2	4	4-6
Df/3R/kar ^{3J}	87B15-C1; 87C9-D1,2	4	4-6
Df/3R/kar ^{3Q}	87B2-4 ; 87D1,2	4	6
Df/3R/T-10	86F1,2 ; 87C5-7	4	4-6
Df/3R/kar ^{Sz-29}	87C2,3-4; 87C9-D1,2	4	4-6
Df/3R/kar ^{Sz-27}	87C7-8 ; 87E12-13	4	6
Df/3R/kar ^{Sz-37}	87C6-7 ; 87D14	4	6
Df/3R/kar ^{Sz-11}	87C8-9 ; 87E4-5	4	6
Df/3R/kar ^{Sz-21}	87C7 ; 87C8-9	4	6
Df/3R/kar ^{Sz-31}	87C7-8 ; 87C9	4	6
Df/3R/karD ¹	87A7 ; 87D3,4	4	6
Df/3R/karD ²	87A7 ; 87D3,4	4	6
Df/3R/karD ³	86E16-18; 87D3,4	4	6

8. Táblázat

fes mutánsok komplementációja

	fes ¹	fes ⁴	kar ^{Sz-8}	kar ^{Sz-29}	kar ³¹	T-65	kar ³¹ ; ry ^{+W70h}
fes ¹	-						
fes ⁴	st	-					
Df/3R/kar ^{Sz-8}	st	st	-				
Df/3R/kar ^{Sz-29}	f	f	-	-			
Df/3R/kar ³¹	f	st	-	-	-		
Df/3R/T-65	st	st	st	f	f!	-	
Df/3R/kar ³¹ ; Dp/2,3/ry ^{+W70h}	kb.50% st	st	st	f	st	kb.90% st!	-

f = fertilis; st = steril; - = nem végezhető el.

9. táblázat :

A ca-cd és kar allélek az első és második, az e jelűek a második, az nf jelűek és a fes allélek a harmadik, az a jelűek a negyedik, hs allélek az ötödik kísérletből származnak.

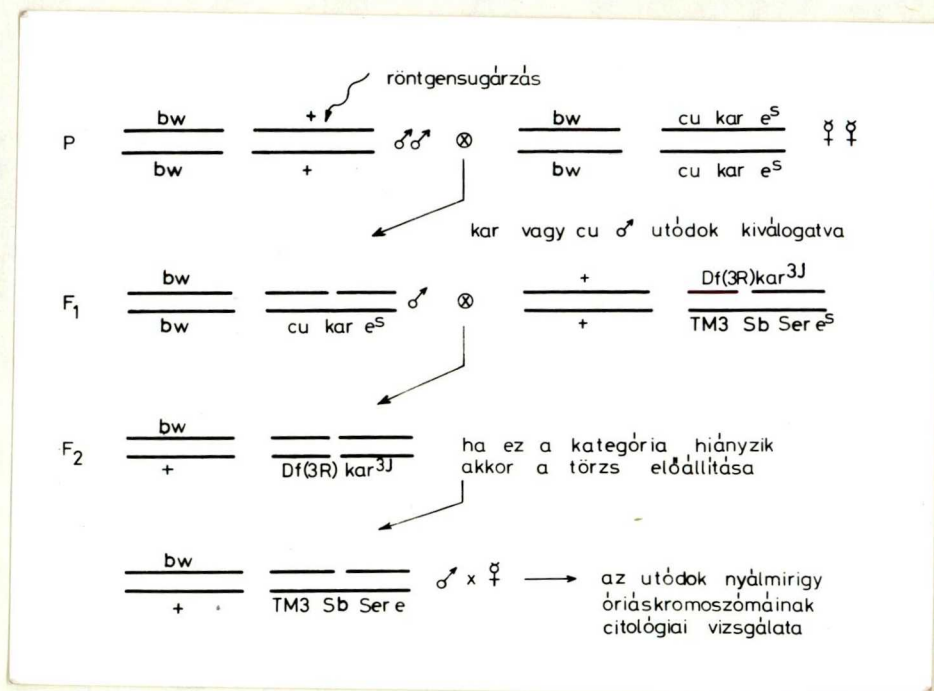
A "+" jelű törzsek szemiletálisak, a t és x jelűek Röntgen-indukált allélek, 1/3/c4g, 1/3/ml07, 1/3/ml14 mutánsokat Gelbart, míg 1/3/507 mutánst Shearn bocsátotta rendelkezésünkre.

9. Táblázat

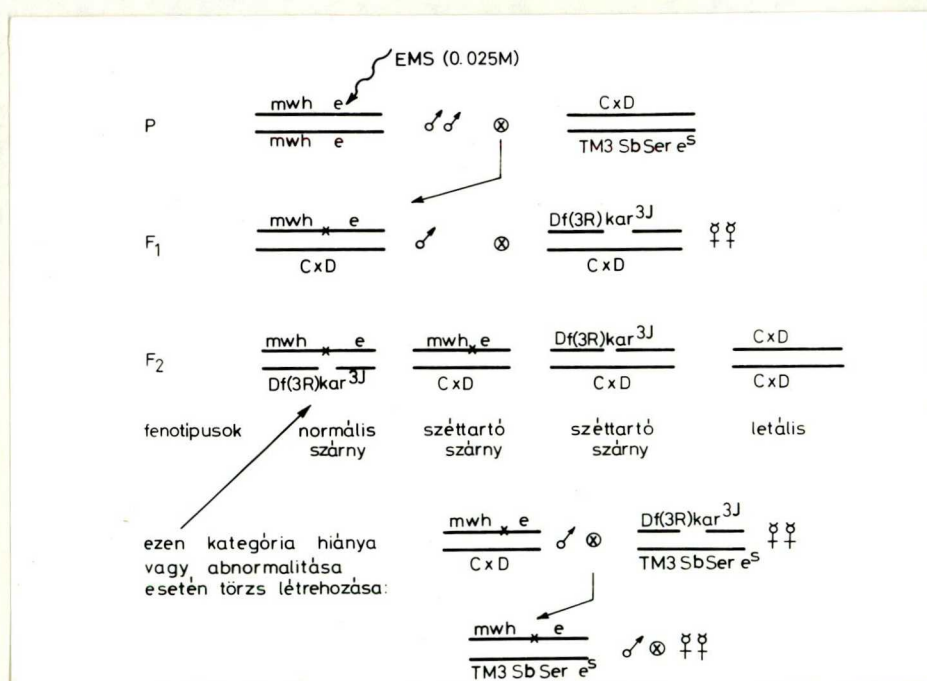
Alrégiók és az EMS-tal indukált mutánsok komplementációs csoportjai

Alrégió	Komplementációs csoportok	A l l é l e k	Mutációs gyakoriság
1	ck 1	e ¹⁹⁹ , e ²⁶⁴ , nf ²⁰ , hs ⁹	3 x 10 ⁻⁴
	ck 2	e ⁰⁰² , e ¹⁴⁴ , e ²⁰² , e ²⁵³ , nf ³⁸	3,4 x 10 ⁻⁴
2	ck 3	e ⁰²⁷ , e ⁰²⁹ , e ⁰⁵¹ , e ²⁷⁷ , e ²⁹⁷ , hs ¹⁸	4,0 x 10 ⁻⁴
	ck 4	e ²⁴³	6,7 x 10 ⁻⁵
3	ck 5	e ⁰⁸⁸ , t ¹⁹	6,4 x 10 ⁻⁵
	ck 6	e ¹⁴⁵ , t ⁰⁷	6,4 x 10 ⁻⁵
	ck 7	nf ¹² , nf ¹⁶	1,3 x 10 ⁻⁴
4	ck 8	e ²¹⁰ , e ²¹² , e ²⁹⁶ , a ¹ , a ² , a ³ , a ⁶ , nf ¹⁵ , hs ⁷ , hs ¹⁵ , hs ¹⁷ , hs ³²	7,8 x 10 ⁻⁴
	ck 9	e ⁰⁴² , e ⁴⁷ , e ⁸² , e ¹¹⁰⁺ , e ²⁵⁹ , e ²⁶⁰ , a ⁴ , nf ⁹ , nf ¹¹ , hs ²⁰	5,2 x 10 ⁻⁴
5	-	-	-
6	ck 10	e ¹³² , e ¹⁶⁰ , e ¹⁷⁰ , e ²⁰⁰ , e ²⁰⁹ , hs ⁵⁵	4,0 x 10 ⁻⁴
7	ck 11	x ⁰²	-
	ck 12	e ⁷⁷ , e ¹⁷⁷ , e ²⁹⁴ , nf ¹⁰ , hs ⁵ , hs ²⁸ , hs ⁴¹	4,5 x 10 ⁻⁴
8	ck 13x	e ¹⁷⁺ , e ⁷² , e ¹⁵² , e ²³³ , e ²⁴⁸ , e ²⁷⁰ , nf ³¹ , hs ⁵⁶	5,3 x 10 ⁻⁴
9	ck 14	e ¹³⁹ , hs ²	1,3 x 10 ⁻⁴
	ck 15	e ⁶¹ , e ²⁹⁸ , nf ¹⁸ , nf ²⁸ , hs ¹¹ , hs ¹² , hs ²⁹ , hs ³⁸	5,3 x 10 ⁻⁴
10	ck 16	e ²² , e ³⁰⁰ , nf ² , nf ⁷ , nf ²¹ , nf ²⁴ , hs ¹⁰ , hs ³⁰	5,3 x 10 ⁻⁴

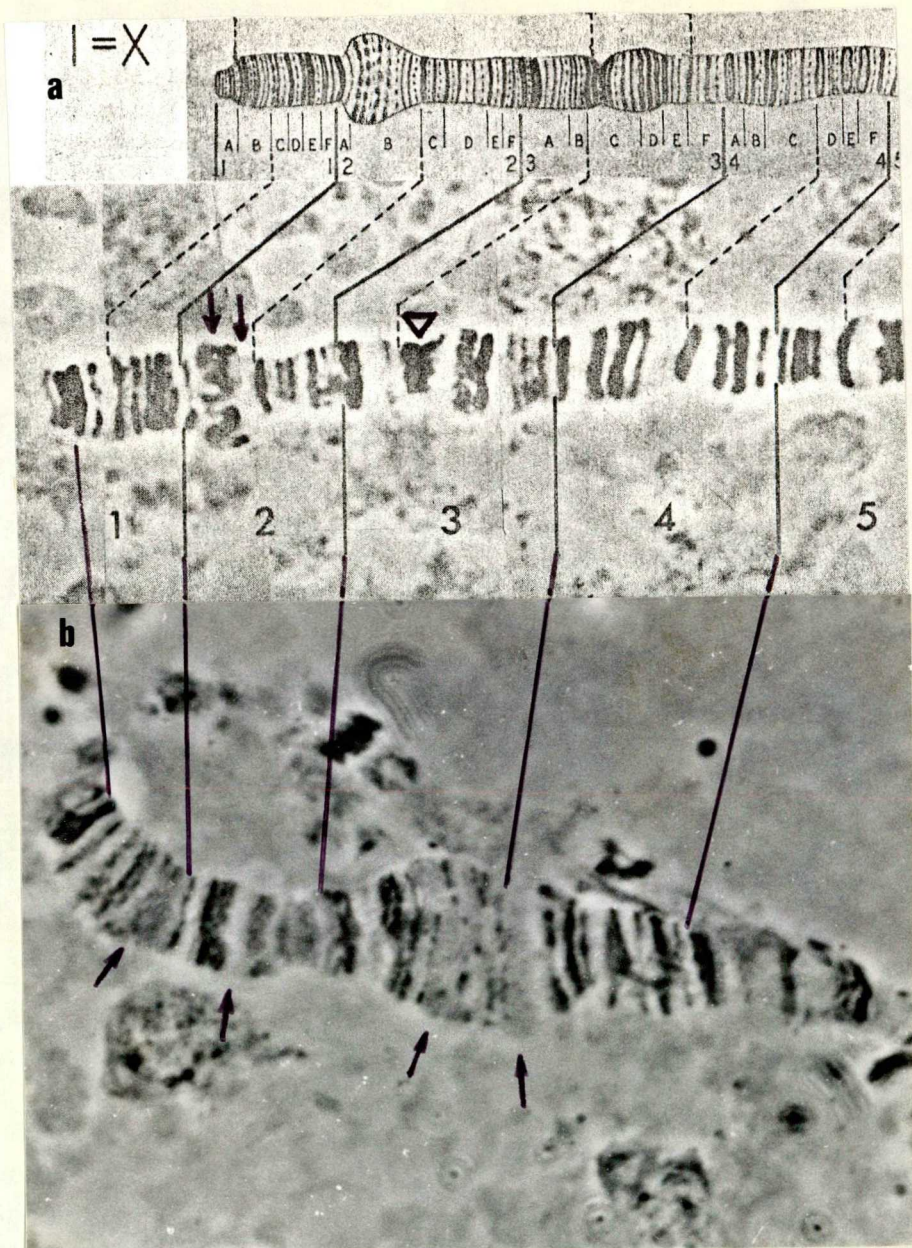
Alrégió	Komplementációs csoportok	A l l é l e k	Mutációs gyakoriság
11	ck 17 x	e ⁸ , e ²⁶ , e ⁷⁴ , e ¹⁸⁰ , e ²²⁸ , e ²⁴⁹ , e ²⁸⁰ , e ²⁸¹ , nf ⁸ , nf ¹⁴ , nf ¹⁷ , nf ²⁵ , hs ⁶ , hs ³¹	9,3 x 10 ⁻⁴
	ck 18	e ²²⁷ , e ²⁹⁰ , e ³¹² , hs ⁴⁴	2,6 x 10 ⁻⁴
	ck 19 x	e ⁷⁸ , e ²¹¹ , e ¹⁶⁸ , e ²⁴¹⁺ , hs ¹⁶ , hs ⁴⁶	4,0 x 10 ⁻⁴
12	ck 20	e ⁹ , e ²¹⁴	1,3 x 10 ⁻⁴
	ck 21	e ³¹⁰ , hs ⁴⁸	1,3 x 10 ⁻⁴
	ck 22	e ¹⁸⁶ , e ²⁹³ , nf ⁴ , nf ¹⁹ , nf ³⁰ , nf ³⁷	4,0 x 10 ⁻⁴
13	ck 23	e ⁶⁷ , e ¹¹⁵ , e ¹⁵⁸ , e ¹⁶²	2,6 x 10 ⁻⁴
	ck 24	e ³³ , e ¹⁰⁰ , e ¹⁴⁹ , nf ²³ , hs ⁴⁵ , hs	4,0 x 10 ⁻⁴
	ck 25	e ¹¹ , e ⁹⁹ , e ²⁰⁸ , e ²¹⁹ , e ³¹⁸ , hs ¹³ , hs ²⁵ , hs ³⁷ , hs ⁵²	6,0 x 10 ⁻⁴
14	-	-	-
15	ck 26 fes	fes ¹ , fes ⁴	2,3 x 10 ⁻³
16	ck 27	ca ¹ , ca ² , ca ³ , ca ⁴ , ca ⁵ , ca ⁶ , ca ⁷ , ca ⁸ , ca ⁹ , ca ¹⁰ ca ¹¹ , ca ¹² , ca ¹³ , 1/3/ml07, nf ¹ , nf ⁵	1,0 x 10 ⁻³
17	ck 28	cb ¹ , cb ² , cb ³ , cb ⁴ , cb ⁵ , cb ⁶ , nf ³⁵	4,0 x 10 ⁻⁴
18	ck 29	cc ¹ , cc ² , cc ³ , cc ⁴ , cc ⁵ , 1/3/c4g	3,5 x 10 ⁻⁴
19	ck 30 kar	kar ^{Sz-1} , kar ^{Sz-2} , kar ^{Sz-3} , kar ^{Sz-4} , kar ^{Sz-5} kar ^{Sz-6} , kar ^{Sz-7} , kar ^{Sz-8} , kar ^{Sz-9} , kar ^{Sz-10} kar ^{Sz-11} , kar ^{Sz-12} , kar ^{Sz-13}	9,3 x 10 ⁻⁴
20	ck 31	cd ¹ , cd ² , cd ³ , cd ⁴ , cd ⁵ , cd ⁶ , cd ⁷ , cd ⁸ , cd ⁹ , cd ¹⁰ , cd ¹¹ , cd ¹² , cd ¹³ , cd ¹⁴ , cd ¹⁵ 1/3/ml14, 1/3/507	1,1 x 10 ⁻³
21	-	-	-



1. ábra Deficiencia izolálás sémája

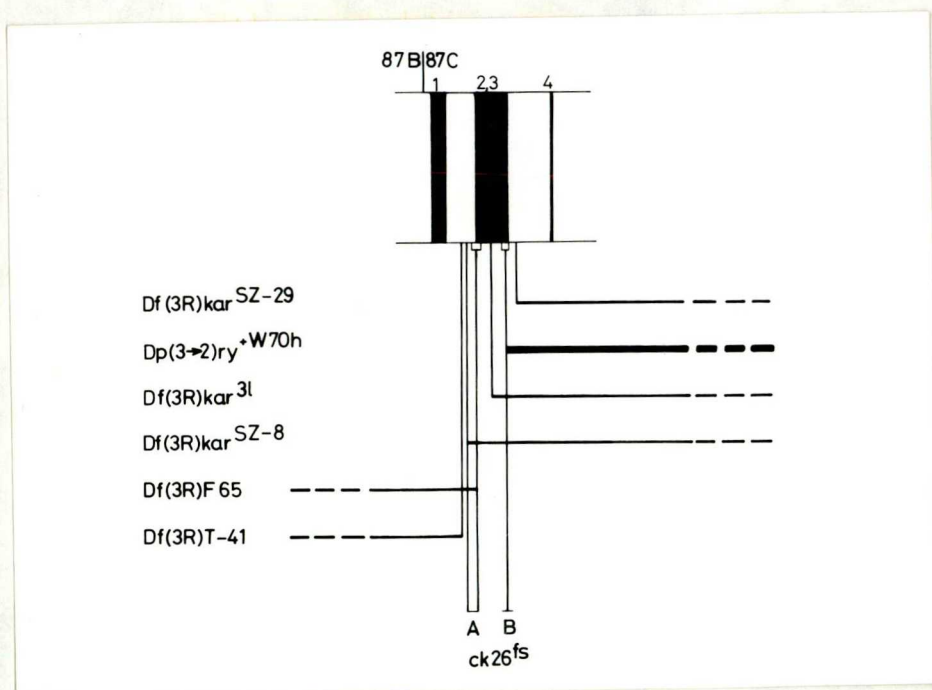


2. ábra EMS-indukált mutációk izolálásának sémája

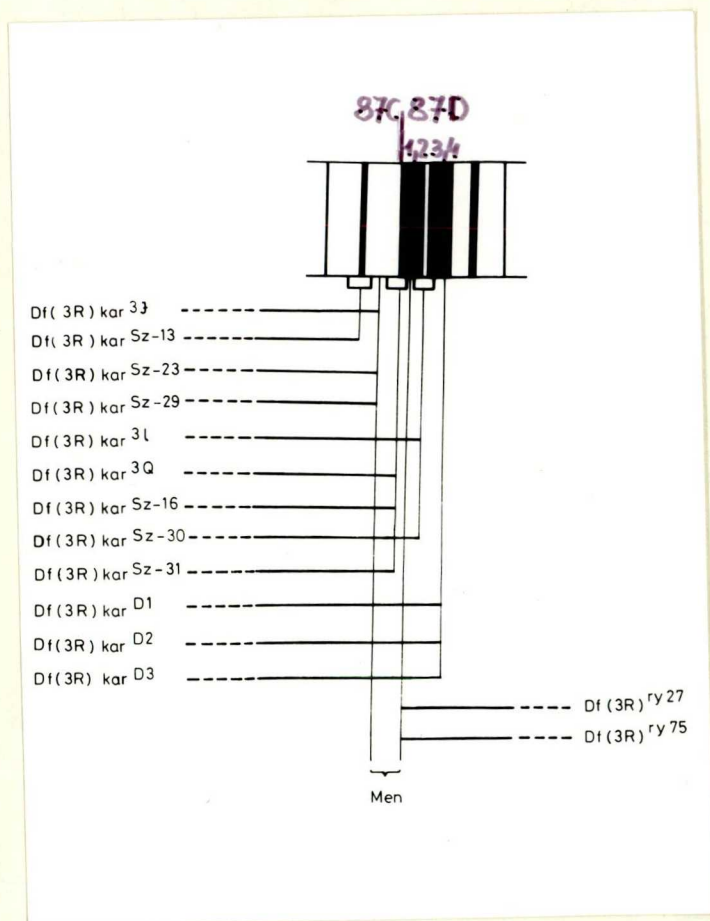


3. ábra fs/2/B dajkasejtjéből származó X kromoszóma /b/ összehasonlítva a nyálmirigy óriáskromoszómával /a/.

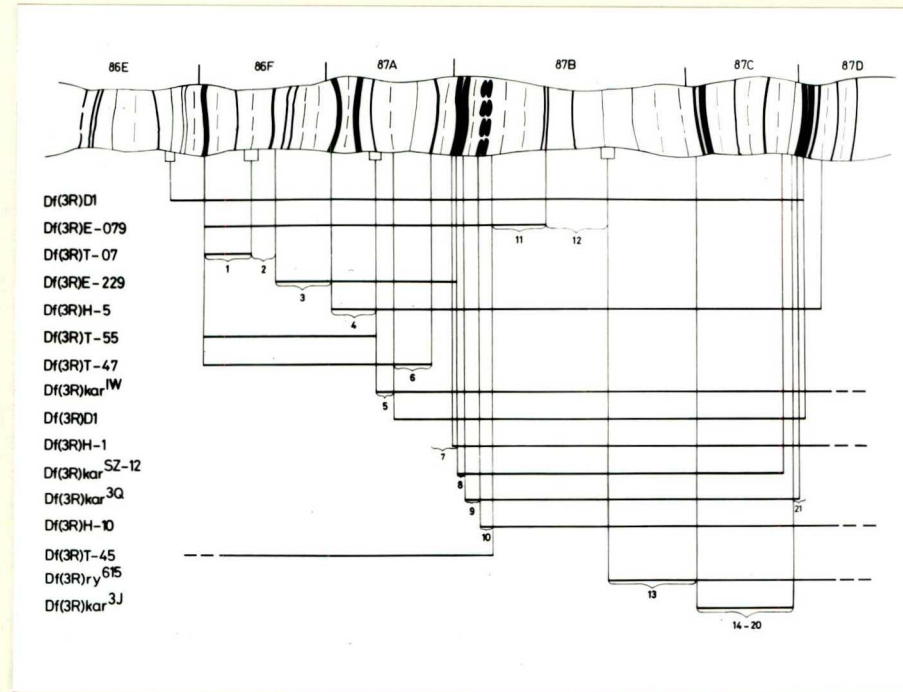
Az üres háromszög befűződést jelöl, míg a nyilak a puffoló helyekre mutatnak.



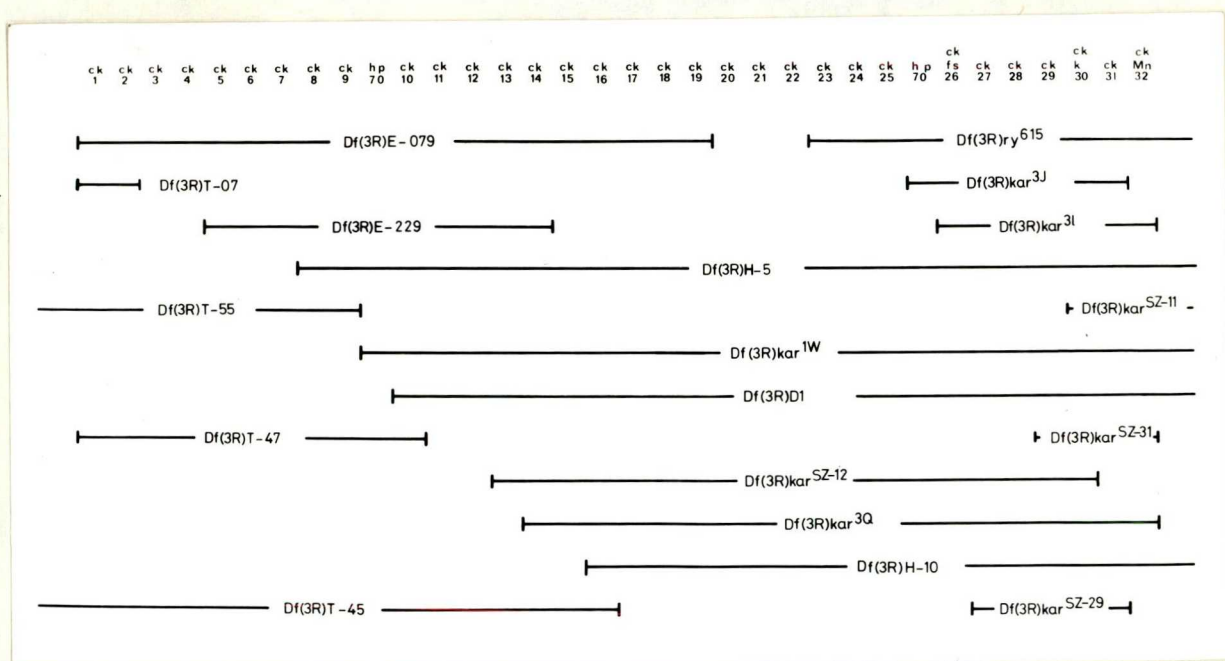
4. ábra A ck26^{fs} komplementációs csoport citológiai helyzete



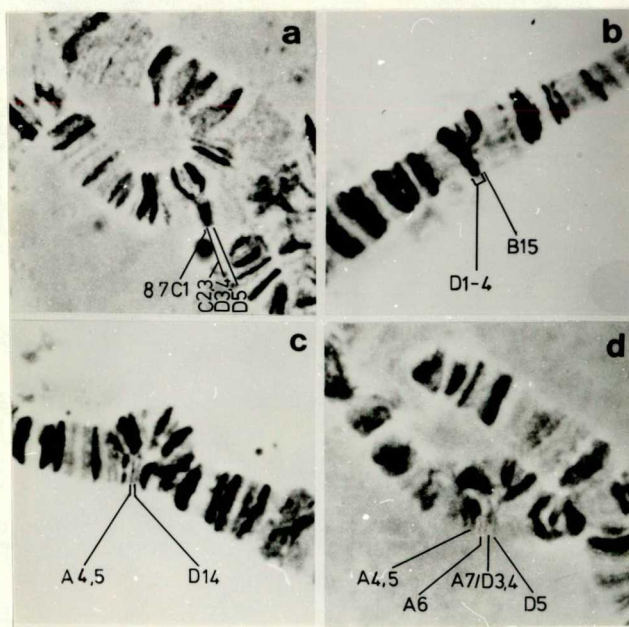
5. ábra A malát-enzim strukturgénjének citológiai helye.



6. ábra Az egyes alrégiók elhelyezkedése az óriáskromoszómán



8. ábra A komplementációs csoportoknak a deficienciák töréspontjai által meghatározott helyzete



9. ábra A Df/3R/kar^{D1}(d), Df/3R/kar^{IW}(c), Df/3R/kar^{3J}(b), Df/3R/kar^{3L}(a) deficienciák képe.

