

B 3187

**AZ ANYAI HATÁS FEJLŐDÉSBIOLÓGIAI BONCOLÁSA *DROSOPHILA*
MELANOGASTERBEN: DOMINÁNS NŐSTÉNYSTERIL MUTÁCIÓK IZOLÁLÁSA
ÉS JELLEMZÉSE**



Doktori értekezés

Készítette: Erdélyi Miklós

Magyar Tudományos Akadémia

Szegedi Biológiai Központ

Genetikai Intézet

Szeged, 1993

Munkámat szeretettel ajánlom Karcagi Ildikónak.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönetemet fejezem ki Szabad Jánosnak, aki immáron kilencedik éve, pályám kezdete óta egyengeti utamat.

Pappné Mosonyi Andrea, Hoffmann Gyula, Szidonya János, Máthé Endre, Jósvay Katalin, Gausz János, Gyurkovics Henrik, Sipos László, Kiss István, Török Tibor, Tick Gabriella, köszönöm nektek, hogy mindig segítségemre voltatok.

Tisztelettel köszönöm a Magyar Hitelbank „Magyar Tudományért” alapítványának, hogy számomra dolgozatom elkészítéséhez egyéves ösztöndíjat adományozott.

TARALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS 6

- 1.2. Célkitűzés. 7
- 1.3. Miért muslicán végeztük kísérleteinket? 7
- 1.4. Miért domináns nőstényszeril mutációkat izoláltunk? 8
- 1.5. Muslica recesszív nőstényszeril mutánsgyűjtemények. 10

2. ANYAGOK, MÓDSZEREK 12

- 2.1.1.A domináns nőstényszeril mutációk izolálása. 12
- 2.1.2.A mutagenesis hatékonysága. 14
- 2.2. A mutáns fenotípusok vizsgálata. 15
 - 2.2.1.A petealakat befolyásoló mutáns nőstények petéi. 15
 - 2.2.2.A „Korai” embrióletális utódokat eredményező mutáns nőstények petéi... 15
 - 2.2.3.A „késői” embrióletális utódokat eredményező mutáns nőstények petéi... 16
- 2.3. Térképezés 16
 - 2.3.1.Mitotikus rekombináció nőstény ősvarsejtekben. 16
 - 2.3.2.Nem teljes penetranciájú domináns nőstényszeril mutációk térképezése. 18
 - 2.3.3.Mitotikus rekombináció hím ősvarsejt kezdeményekben. 18
 - 2.3.4.A testi sejtek funkcióját befolyásoló domináns nőstényszeril mutációk térképezése. 19
- 2.4. A domináns nőstényszeril allélok fenotípusos reverziója. 19
 - 2.4.1.Fenotípusos reverzió röntgensugárzás és EMS hatására. 19
 - 2.4.2.Fenotípusos reverzió transzpozon inszercióval. 20
 - 2.4.3.A transzpozon inszerció reverziója. 21
- 2.5. Komplementáció. 22
- 2.6. Ivarsejt- és petefészekkimérák. 22
 - 2.6.1.Ivarsejtkimérák. 23
 - 2.6.2.Petefészekkimérák. 25
- 2.8. Citológiai preparátumok készítése. 26

3. EREDMÉNYEK 27

- 3.1.1.A domináns nőstényszeril mutációk izolálása. 27
- 3.1.2.A mutagenesis hatékonysága. 27

- 3.2. A domináns nősténysteril mutációk fenotípusai. **31**
 - 3.2.1. Petealak mutánsok. **32**
 - 3.2.2. A „korai” embrióletalitást okozó mutációk. **33**
 - 3.2.3. A „késői” embrióletalitást okozó mutációk. **36**
- 3.3. Térképezés. **39**
 - 3.3.1. Térképezés nőstény ivarsetekben indukált mitotikus rekombinációval. **39**
 - 3.3.2. Mozaikos follikuláris sejtek. **44**
 - 3.3.3. Nem teljes penetranciájú domináns nősténysteril mutációk térképezése. **46**
 - 3.3.4. Térképezés hím ivarsejtvonalban indukált mitotikus rekombinációval. **48**
 - 3.3.5. A testisejt függő domináns nősténysteril mutációk térképezése. **49**
- 3.4.1. A domináns nősténysteril mutációk fenotípusos reverziója EMS-sel és röntgensugárzással. **50**
- 3.4.2. Az *Fs(3)Laborc^{17c}* mutáció transzpozon indukált reverziója. **51**
- 3.5. Komplementációs analízis. **52**
- 3.6. A domináns nősténysteril mutációk fókuszának meghatározása kimérák segítségével. **57**
- 3.7. A *torso* gén a *tailless* génen keresztül fejt ki a hatását. **62**
- 3.8. A *Ketel* gén részletes genetikai boncolása. **64**
 - 3.8.1. A *Ketel/Fs* mutáns allélok citogenetikai térképezése. **65**
 - 3.8.2. A *Ketel^R* allélok fenotípusa. **66**
 - 3.8.3. A *Ketel^{1Dhl}*, egy domináns, hidegérzékeny, letális allél jellemzése. **67**
 - 3.8.4. A *Ketel^{3Re28}*, egy domináns, hőmérséklet-érzékeny *Fs* allél jellemzése. **70**
 - 3.8.5. A *Ketel* revertáns allélok komplementációja. **72**
 - 3.8.6. A *Ketel^{3Re30}*, egy recesszív, hidegérzékeny, letális allél jellemzése. **73**

4. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA **77**

- 4.1. A domináns nősténysteril mutációk izolálása. **77**
- 4.2. A domináns nősténysteril mutációk fenotípusa. **77**
 - 4.2.1. Petealak mutánsok. **77**
 - 4.2.2. „Korai” embrióletalitást okozó mutációk. **79**
 - 4.2.3. „Késői” embrióletalitást okozó mutációk. **80**
- 4.3. Térképezés. **82**
- 4.4. Fenotípusos reverzió. **83**
- 4.5. Komplementáció. **85**
- 4.6. A domináns nősténysteril mutációk fókuszának meghatározása. **85**
- 4.8. A *Ketel* gén részletes genetikai boncolása. **86**

FÜGGELÉK 93

A muslica peteképződése és a korai embriogenezis genetikai boncolása.
nőstényszeril mutációkkal. **93**

Az embrió testkoordinátáinak kialakulása. **101**

A hasi-háti aszimmetria kialakulása. **102**

Az embrió elülső és hátulsó testtájainak kialakulása. **108**

Az elülső jel kialakulása. **110**

A hátulsó jel kialakulása. **111**

A terminális géncsoport működése. **113**

KÖZLEMÉNYEK ÉS HIVATKOZÁSOK 115

RÖVIDÍTÉSEK 118

IRODALOMJEGYZÉK 119

1. BEVEZETÉS

A magasabbrendű élőlények többsége ivarosán szaporodik. Az utódok a női és a hím ivarsejtek összeolvadásából keletkező egyetlen sejtből, a zigótából fejlődnek ki. Az ivarsejteknek, hogy örökítő funkciójukat betöltsék, megfelelő szerkezetűeknek kell lenniök és tartalmazniuk kell mindazokat az összetevőket, (építőelemeket, tápanyagot, genetikai információt) melyek az utód fejlődésének megindulásához szükségesek. Az örökséghez a hím és a női ivarsejtek nem egyformán járulnak hozzá. A spermiumok a haploid genomon kívül rendszerint csak a centroszómát örökítik az utódokra. A zigóta sejt szerkezete lényegében a petesejttől ered, így az egyedfejlődés megindulása jórészt a petesejtek felkészítésén múlik. Az utódok életének indulására az anyák nagyobb hatással vannak mint az apák. Ezt a jelenséget szokás **anyai hatásnak** nevezni.

Miben áll a petesejt felkészítése? Milyen szerkezeti, tápanyag és információs molekulákat kell a nőténynek a petesejten keresztül a zigótának átadni, hogy belőle új egyed keletkezhesen? A feltett kérdéseket a „genetikai boncolás” módszerével is megválaszolhatjuk: mutációkkal azonosíthatjuk azokat a géneket, melyek az ivarsejtek felkészítéséért felelősek. A mutáns fenotípusból következtetünk a vad típusú gének funkciójára. A petesejtek felkészítésében résztvevő, anyai hatású génekben bekövetkező mutációk funkcióképtelen női ivarsejteket, végeredményben steril nőtényeket eredményeznek. A szaporodás elemeit genetikai módszerekkel, a nőtények sterilitását okozó ún. nőténysteril mutációkkal azonosíthatjuk.

A szakirodalom a steril mutációkat két nevezéktani csoportba osztja. Steril mutációkról beszélünk, ha a fenotípus a petesejtképződés folyamán nyilvánul meg, aminek következtében a vad típusútól eltérő szerkezetű petesejtek keletkeznek, vagy

egyáltalán nem képződnek ivarsejtek. Anyai hatású letális mutációknak hívjuk azokat a mutációkat, amelyek a petesejtek szerkezetében látható változásokat nem okoznak, de a petesejtből képződő zigótában az embriogenezis el sem indul, vagy kóros formában játszódik le.

1.2. Célkitűzés

A dolgozatom alapját képező munka célja a muslica, *Drosophila melanogaster* szaporodásának genetikai boncolása domináns nősténysteril (*Fs*) mutációkkal. Dolgozatom egy domináns nősténysteril mutációkból álló mutánsgyűjtemény leírása. Bemutatom a mutációk izolálásához, a fenotípus leírásához, a térképezéséhez, a fókusz meghatározásához, a mutánsok komplementációjához alkalmazott módszereket, és a gyűjtött eredményeket. Bemutatom egy *Fs* mutációkkal azonosított gén részletes genetikai jellemzését.

1.3. Miért muslicán végeztük kísérleteinket?

A muslica a genetikai kutatások közismerten hálás kísérleti alanya. Valódi soksejtes élőlény létére genomja az élesztő genomjával összemérhető méretű és mindössze négy kromoszómára tagolódik. Politén szöveteiből óriáskromoszóma preparátumokat készíthetünk, amely nagyfelbontású citológiai térképezést tesz lehetővé. Generációs ideje mindössze tíz nap. A muslica szapora, olcsó és barátságos. A századelő óta összegyűlt genetikai és fejlődésbiológiai ismeretek megbízható háttérrel adnak az új eredmények értelmezéséhez. Kicsi genomja, könnyű genetikai kezelése nagyléptékű genetikai kísérleteket tesz lehetővé, pl.

reménnyel lehet telíteni a genomot egy bizonyos mutánsféleséggel, így genetikai boncolással egy adott életfolyamatnak akár összes genetikai eleme azonosítható.

A muslica az anyai hatás vizsgálatára is kitűnő kísérleti alany. A nőstények nagyszámú, naponta testtömegüknek megfelelő mennyiségű petét raknak. A petefészek működése és a benne fejlődő petekezdemények szerkezete jól ismert. Az anyai testen kívül fejlődő embriók megfigyelése egyszerű. A vad típusú embriogenezis részletező fejlődésbiológiai leírása rendelkezésre áll. A muslica pete fejlődésének és korai embriogenezisének leírását a függelékben találja a kedves olvasó.

1.4. Miért domináns nősténysteril mutációkat izoláltunk?

A muslica peteképzésben ill. a korai egyedfejlődés anyai hatású irányításában résztvevő gének túlnyomó többsége a testi és az ivarsejtekben egyaránt kifejeződik. Ezen gének kétféle fejlődésbiológiai szerepét kétféle, steril és letális fenotípusú alléljai mutatják meg. Általában egy gén teljes biológiai szerepkörét több allélból álló allélsor izolálása és jellemzése adja meg. A domináns, funkciónyeréses allélok előnye a recesszív, funkcióvesztésesekkel szemben az, hogy segítségükkel a gén jellemzéséhez szükséges allélsor a fenotípusos reverzió módszerével könnyebben előállítható (2.4. fejezet).

Egy domináns nősténysteril (*Fs*) mutáció nemcsak egyetlen gén szaporodásban betöltött szerepét tisztázhatja. Az *Fs* mutációkat az ivarsejtképzés szelektív marker mutációjaként is használhatjuk. Az *Fs*-technika segítségével, röntgensugárzás indukált mitotikus rekombinációval letális mutációkra (*m*) homozigóta ivarsejteket állíthatunk elő úgy, hogy a nőstények testének nagyrésze

heterozigóta a letális és az *Fs* mutációkra. Ha egy ilyen genetikai mozaik nőténytől utód származik az csak a letális mutációra homozigóta, és egyben *Fs* mentes ivarsejt kezdeménytől eredhet. Ez azt jelenti, hogy a kérdéses letális mutációnak nincsen hatása a peteképződés folyamatára. Ha a vizsgált mutáció homozigóta formában a petekezdemény fejlődését megakadályozza az *Fs/m* heterozigóta nőténynek besugárzás után sem lesz utódja. (17. oldal 4. ábra, Wieschaus 1980, Perrimon és Gans 1983, Perrimon 1984). Az *Fs* technikát ezidáig megfelelő mutációk hiányában csak az első kromoszómán, és a második kromoszóma jobb karján lokalizált gének esetében alkalmazhatták.

Domináns nőténysteril mutánsokat célzottan, a várható előnyök ellenére sem izoláltak. A különböző célú mutánsizolálási kísérletekben felbukkanó *Fs* allélok az 1. táblázatban foglaltam össze.

1. táblázat. A korábban is ismert *Fs* lókuszok felsorolása.

A GÉN NEVE AZ *Fs* MUTÁCIÓRÓL TUDÓSÍTÓ DOLGOZAT

Fs(2)D	Yarger és King (1971)
dorsal	Nüsslein-Volhard (1979)
Dicephalic	Lohs-Schardin (1982)
ovo	Komitopoulou és mtsai (1983)
Toll	Anderson és Nüsslein-Volhard (1985)
easter	Anderson és Nüsslein-Volhard (1986)
Bicaudal ^C	Mohler és Wieschaus (1986)
Bicaudal ^P	Wharton és Struhl (1989)

A táblázatban felsorolt allélokon kívül Taska és Suzuki (1972) hőmérsékletérzékeny letlális mutációk izolálása közben tizenegy *Fs* mutációt azonosított, amelyeket sem akkor, sem később nem jellemeztek. Jürgens és mtsai. (1984) és Nüsslein-Volhard és mtsai (1984) recesszív, embrióletális mutációkat izoláltak. Kísérleteik három, harmadik kromoszómás *Fs* allélt és harmincegy, nem teljes penetranciájú, második kromoszómás, domináns nősténysteril mutációt is eredményezett, amelyeket szintén nem jellemeztek.

1.5. *Musica* recesszív nősténysteril mutánsgyűjtemények

A szórványosan felbukkanó steril mutációkról tudósító közlemények korát Aimee Hayes Bakken recesszív nősténysteril mutációk (*fs*) izolálásáról szóló dolgozata zárta le (Bakken 1973). Ezután több *fs* mutánsgyűjteményt publikáltak: Rice 1973, Gans és mtsai 1975, Mohler 1977, Schüpbach és Wieschaus 1989, 1991. A mutánsgyűjteményekben összesen mintegy háromszáz steril allél szerepel. Az extenzív mutagenézis kísérletek alapján a recesszív nősténysteril fenotípusúvá mutáltatható gének számát a *musica* összes génjeinek tíz százalékára becsülik (Mahowald és mtsai 1984). Ez azonban nem jelenti azt, hogy a *musica* minden tizedik génje kizárólag a pete képzését irányítaná. Az *fs* fenotípusúvá mutáltatható gének túlnyomó többsége a testi sejtekben is expresszálódik, amorf, alléljaik letálisak, a részleges funkcióvesztéssel járó, hipomorf alléljaik, vagy a funkciónyeréses alléljaik steril fenotípusúak (Garcia-Bellido és Robbins 1983, Perrimon és mtsai 1989). A testi és az ivarsejtekben egyaránt expresszálódó gének esetében a steril fenotípust speciális, ezért ritkábban bekövetkező mutációs esemény okozza. Az *fs* mutánsgyűjteményekben a hipomorf letális allélokkal

azonosított géneket legtöbbször kevés vagy csak egyetlen allél képviseli (Perrimon és mtsai 1986b, Schüpbach és Wieschaus 1989). Az ivarsejtspecifikus gének, amelyek amorf alléljai nősténysteril fenotípust okoznak rendszerint több alléllal képviseltetik magukat az *fs* mutánsgyűjteményekben. Az ún. valódi steril mutációk számát a *muslica* gének egy százalékára becsülik.

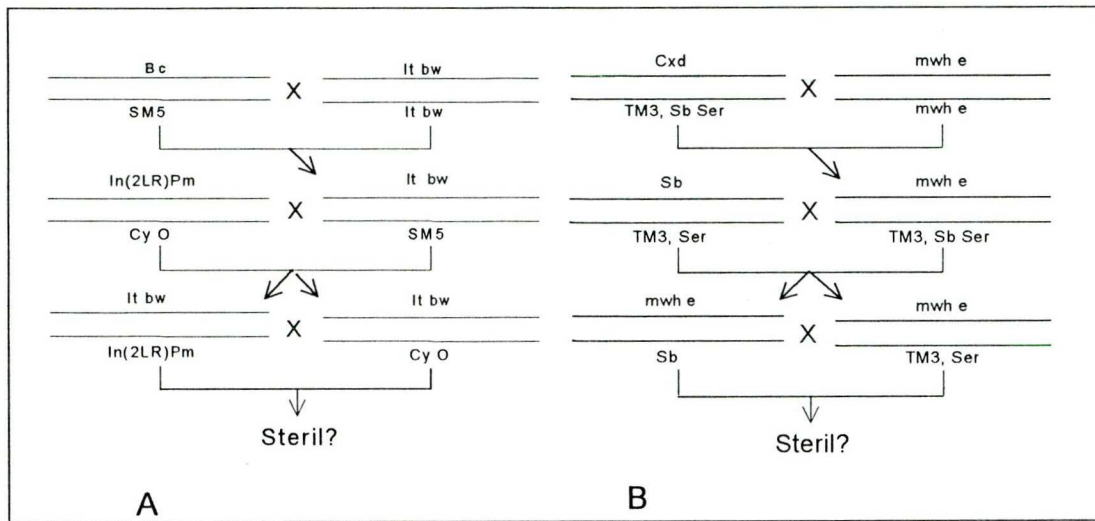
A nősténysteril mutációk segítségével nem egy általános fejlődésbiológiai kérdés boncolása vált lehetővé. A *muslica* steril mutációkkal azonosított génjeinek vizsgálata vezetett el oda, hogy a korábban elméleti úton megjósolt morfogenetikai gradiensek meglétét mára kísérletesen bizonyították, molekuláris módszerekkel láthatóvá tették (Driever és Nüsslein-Volhard 1988a). A mutánsgyűjteményekben leírt nagyszámú allél vizsgálata nyomán részletes, és világos kép alakult ki az anyai hatás jelentőségéről. A peteképződés és a korai embriogenezis genetikai boncolása több kísérleti rendszert kínál a sejt-kommunikáció egyedfejlődést irányító szerepének vizsgálatához (ld. a függelék is).

2. ANYAGOK, MÓDSZEREK

2.1.1. A Domináns nősténysteril mutációk izolálása

A domináns nősténysteril (*Fs*) allélokot EMS-sel (etil-metán-szulfonáttal) indukáltuk a következő letális mutációktól mentes ún. izogén második és harmadik kromoszómákon: *Oregon-R* és *Canton-S* vad típusú valamint a *It bw*, *a red e* és az *mwh e* recesszív marker mutációkkal jelölt kromoszómákon. A dolgozatban szereplő genetikai szimbólumok jelentését a függelék tartalmazza. Az izogén törzsekből egy-két napos hímeket gyűjtöttünk. A hímek nyolc órán át olyan oldattal táplálkozhattak, amely 1% glükózt és mutagénként 25mM EMS-t tartalmazott (Lewis és Bacher 1968). A mutagenizált hímeket *SM5* ill. *TM3*, *Sb Ser* balanszer kromoszómát hordozó nőstényekkel pároztattuk. A mutagenizált hímeket három nap múlva eltávolítottuk, hogy csak az érett spermiumoktól származzanak utódok, vagyis egy mutációs eseményt csak egy utód reprezentáljon. A kikelő *SM5* ill. *TM3*, *Sb Ser* heterozigóta hímek mindegyike egy-egy mutagenizált második, illetve harmadik kromoszómát hordoz. A hímeket egyenként kereszteztük a második kromoszómás kísérletekben *CyO/In(2LR)Pm*, a harmadik kromoszómákban *TM3*, *Ser/Sb* nőstényekkel.

Mivel az *SM5/CyO*, az *SM5/In(2LR)Pm*, a *TM3*, *Sb Ser/TM3*, *Ser* és a *TM3*, *Sb Ser/Sb* kombinációk életképtelenek, a következő generációban csak a mutagenizált kromoszómákra heterozigóta nőstények és hímek fejlődnek ki (1. ábra).



1. ábra. A: a második, B: a harmadik kromoszómás *Fs* mutációk izolálásához használt keresztezési sémák.

Az utódokat friss táptalajra helyeztük, azaz *inter se* kereszteztük, és figyeltük lesznek-e utódaik. A steril nőstényeket tartalmazó fiolákból *CyO* ill. *TM3, Ser* hímeket gyűjtöttünk, és *Cy Roi/Bc, Gla* ill. *TM3, Sb Ser/CxD*, két-két balanszerkromoszómát hordozó nőstényekkel kereszteztük őket. Miután az *Fs* fenotípust megerősítettük, törzseket alapítottunk a *T(1,2)OR64*, a *T(1,2)BLD*, és a *T(1,3)OR60* hím letális és steril transzlokációk segítségével (2 és 3. ábra).

Szülők	<i>T(1,2)BLD/T(1,2)OR64</i>	<i>Fs/T(1,2)BLD</i>
Utódok	Nőstények	Hímek
<i>Fs/T(1,2)BLD</i>	ÉLETKÉPTELEN	FERTILIS
<i>Fs/T(1,2)OR64</i>	ÉLETKÉPTELEN	ÉLETKÉPTELEN
<i>T(1,2)BLD/T(1,2)OR64</i>	FERTILIS	ÉLETKÉPTELEN
<i>T(1,2)BLD/T(1,2)BLD</i>	ÉLETKÉPTELEN	ÉLETKÉPTELEN

2. ábra A második kromoszómás *Fs* mutációk fenntartása (Yarger és King 1971).

Szülők	T(1,3)OR64/TM3, Sb Ser	Fs/TM3, Sb Ser
Utódok	Nőstények	Hímek
Fs/TM3, Sb Ser	STERIL	FERTILIS
Fs/T(1,3)OR64	STERIL	STERIL
T(1,3)OR64/TM3, Sb Ser	FERTILIS	STERIL
TM3, Sb Ser/TM3, Sb Ser	ÉLETKÉPTELEN	ÉLETKÉPTELEN

3. ábra. A harmadik kromoszómás *Fs* mutációk önfenntartó rendszere.

2.1.2. A mutagenézis hatékonysága

Az EMS kezelés a mutagenizált kromoszómákon recesszív letális mutációkat is indukálhat. A mutagenézis hatékonyságát az indukált *Fs* és recesszív letális mutációk gyakoriságával jellemeztük. A letális mutációk indukációjának gyakoriságát a következő módon határoztuk meg. A mutagenizált hímek *Oregon-R/Bc*, *Gla* és *mwh e/CxD* genotípusú hím utódait egyenként *Bc*, *Gla/Cy*, *Roi* ill. *CXD/TM3, Sb Ser* ún. kettősbalanszeres nőstényekkel kereszteztük. A következő generációt *inter se* kereszteztük, és figyeltük lesznek-e a mutagenizált kromoszómákra homozigóta utódok. A homozigóta utódok hiánya újonnan indukált recesszív letális mutációt jelez. Meghatároztuk a recesszív letális mutációkat hordozó és nem hordozó EMS-kezelt kromoszómák arányát.

2.2. A mutáns fenotípusok vizsgálata

A mutáns fenotípusokat a következő módon határoztuk meg: *Fs/+* heterozigóta nőstényeket vadtipusú hímekkel pároztattuk, majd petéket gyűjtöttünk tőlük. A petéket a táptalaj felületéről lemostuk, és finom acélhálóból készült kosárcákba gyűjtöttük. Ezután a kosárcákat a különféle mosó, fixáló és festő oldatokba merítettük. A mutáns fenotípus jellemzéséhez háromféle eljárással készítettünk preparátumot. A módszereket Wieschaus és Nüsslein-Volhard (1986) írta le részletesen.

2.2.1. A petealakot befolyásoló mutáns nőstények petéit detergens oldattal (10%-os SDS nátrium dodecil-szulfát oldattal) mostuk, majd egy órán át 60°C-os hőmérsékletű ecetsav:glicerin 1:1 arányú keverékében fixáltuk. A petéket tárgylemezre cseppentett Hoyer-féle médiumba helyeztük, lefedtük és egy napig 60°C-os hőmérsékleten tartottuk. A preparátumokat sötétlátóterű mikroszkóppal vizsgáltuk.

2.2.2. A „korai” embrióletális utódokat eredményező mutáns nőstények petéi, melyekben nem képződik lárvális kutikula, Handke-Kociok és Liebrich (1986) módszerével vizsgálhatók. A petéket Ringer oldattal mostuk, majd a kóriot, a pete külső burkoló rétegét NaOCl (hypo) oldattal eltávolítottuk. A dekorionizált petéket két percre heptánba merítettük, hogy a vitellin membránt a festékmolekulák számára átjárhatóvá tegyük. A petéket friss metanol:ecetsav 3:1 arányú keverékében fixáltuk fél óráig szobahőmérsékleten, majd 7,4 pH-jú 0,18 M-os Na foszfátpufferrel mostuk,

végül 10^{-5} g/ml DAPI (diamino-fenil-indol) oldattal festettük. A DAPI egy DNS-hezkötődő fluoreszcens festék. A DAPI-val festett petéket puffercseppben fedtük le, és fluoreszcens mikroszkópban vizsgáltuk.

2.2.3. A „késői” embrióletális utódokat eredményező mutáns nőstények petéiben lárvális kutikula képződik. A kutikulapreparátumokat a következő módon készítettük. A petéket Ringer oldattal mostuk, NaOCl oldattal eltávolítottuk a kóriot, és újra Ringer oldattal mostuk. A petéket Hoyer-féle médium:tejsav 1:1 arányú keverékében tárgylemezen lefedtük, majd egy napig 60°C -on derítettük. Az üvegszerűen átlátszóvá vált embriók kutikuláját fáziskontraszt mikroszkópban, vagy sötétlátóterű elrendezésben vizsgáltuk (Wieschaus és Nüsslein-Volhard 1986).

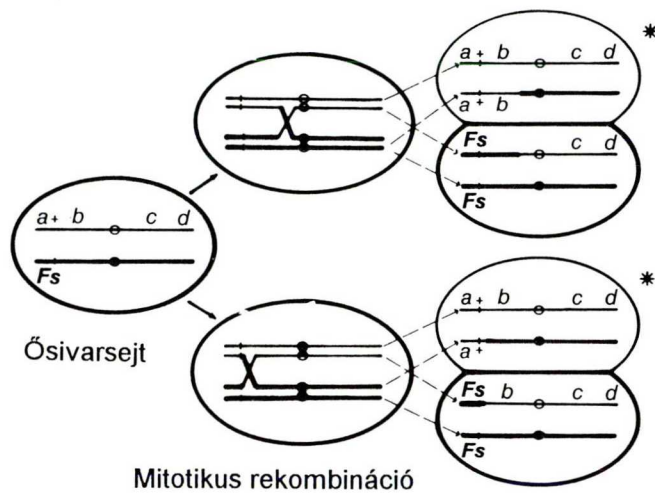
2.3. Térképezés

A domináns nősténysteril mutációt hordozó nőstényeknek nincsenek utódaik. A *Drosophila melanogaster* hímek ivarsejtjeiben nem játszódik le meiotikus rekombináció, amiért az *Fs* mutációk hagyományosan nem térképezhetők. Az *Fs* mutációink többségét röntgensugárzással indukált mitotikus rekombinációval térképeztük. Négy módszert alkalmaztunk:

2.3.1. Mitotikus rekombináció nőstény ősvarsejtékben

Fs(2)/al nub lt stw sca sp, Fs(2)/al dp b pr c px sp és *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* transzheterozigóta nőstényeket sugaraztunk be 1500 R (1000 R/perc , 150 kV $0,5\text{ mm Al}$ szűrő) dózisú röntgensugárzással. A sugárzás következtében a nőstények

ősivarsejtjeiben mitotikus rekombináció játszódhat le (Wieschaus és Szabad 1979). Az F_s mutációtól proximálisan lejátszódó mitotikus rekombináció az F_s allél és a markermutációk rekombinációját eredményezi. A rekombináció F_s allél mentes, F_s^+ leánysejtet eredményezhet, miközben ugyanez a sejt az F_s mutációtól disztálisan elhelyezkedő markermutációkra homozigótává válik (4. ábra).



4. ábra. Az F_s allél és a centromeron közötti mitotikus rekombináció F_s mentes^{*} leánysejtet eredményezhet.

Az F_s alléltól „megszabadult” ivarsejt ép petekezdeménnyé, majd utóddá fejlődhet. Az utódok genotípusát a megfelelő térképező kromoszómával történő tesztelő keresztezéssel határoztuk meg.

Az F_s mentes klón-indukció gyakoriságát meghatározandó, a sugárkezelt nőstényeket tízes csoportokban 24 napon keresztül petéztettük. Figyeltük, hogy hányadik napon származott tőlük az első életképes pete. A 24. nap elteltével megszámoltuk az életben maradt nőstényeket. A túlélő nőstények arányával jellemeztük F_s mutációt hordozó nőstények életképességét.

A rekombináció adatait a következő logika szerint értékeltük: az F_s^+ homozigóta ősivarsejtek kötelezően homozigóták az F_s mutációtól disztálisan lévő



marker mutációkra. Vagyis, a tesztelő keresztezésben csak az *Fs* mutációtól proximálisan elhelyezkedő marker mutációk vad alléljai jelenhetnek meg. Nagyszámú utód fenotípusának vizsgálatával meghatározhatjuk, hogy melyik az *Fs* mutációhoz legközelebb fekvő proximális marker mutáció (Busson és mtsai 1983, Erdélyi és Szabad 1989). Megjegyezzük, hogy a fenti gondolatmenet csak akkor alkalmazható ha az *Fs* mutáció az ősvarsejtek funkcióját befolyásolja.

2.3.2. Nem teljes penetranciájú domináns nőstény steril mutációk térképezése

Nyolc *Fs(3)* mutáció penetranciája a *ru h th st cu sr e ca* térképező kromoszómával transzheterozigóta állapotban nem érte el a száz százalékot, tőlük ritkán utódok származtak. A nyolc *Fs(3)* mutáció térképhelyzetét a hagyományos meiotikus térképezéssel határoztuk meg.

2.3.3. Mitotikus rekombináció hím ősvarsejtekben

Fs(2)/al dp b pr c px sp ill. *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* transzheterozigóta hímeket sugaraztunk be 0-4 órával a bábozódás után 1500 R (1000 R/perc, 150 kV, 0,5 mm Al szűrő) dózisú röntgensugárzással. A fiatal bábok heréiben nagyszámú, meiotikus osztódások előtt álló, elsődleges spermatocita van (Bodenstein 1950, Lindsley és Tokuyasu 1980). A spermatociták néhány százalékában a sugárzás mitotikus rekombinációt indukálhat (Anderson és mtsai 1985). A kezelt hímeket a megfelelő térképező kromoszómára homozigóta nőstényekkel kereszteztük. A rekombináns utód nőstények fertilitását teszteltük.

2.3.4. A testi sejtek funkcióját befolyásoló domináns nősténysteril mutációk térképezése.

Négy *Fs* mutáció esetében a sterilitás a testi sejtek megváltozott funkciójának következménye. A testi sejt függő *Fs* mutációk térképezéséhez ivarsejtkimérákat állítottunk elő (2.6.1 fejezet). A kimérák, amelyeknek testi sejtjeik épek voltak és ivarsejtjeik a négy testi sejt függő *Fs* mutáció valamelyikét hordozták fertilisek voltak, a meiotikus rekombinációs térképezés lehetővé vált. Az *Fs* allélokat tesztelő keresztezéssel térképeztük. *Ugra/al dp b pr c px sp*, *Etre/cn bw sp*, *Apc/ru h th st cu sr e ca* és *Ava/ru h th st cu sr e ca* sarki sejteket ültettünk át vad fenotípusú embriókba. A kiméra nőstényeket a megfelelő térképező kromoszómát hordozó hímekkel pároztattuk, majd a rekombináns nőstény utódok fertilitását teszteltük.

2.4. A domináns nősténysteril allélok fenotípusos reverziója

A funkciónyeréses típusú *Fs* allélok második mutagenézisben funkcióvesztéses allélokká alakíthatók. A reverzió következménye a domináns sterilitás elvesztése. Különböző mutagén ágensekkel kezeltük az *Fs* mutánsokat, és szelektáltunk a fertilis allélokra, a revertánsokra (Fs^R).

2.4.1. Fenotípusos reverzió röntgensugárzás és EMS hatására

Fs(2)/SM5 ill. *Fs(3)/TM3*, *Sb Ser* hímeket sugaroztunk be 4000 R (1000 R/perc, 150 kV, 0,5 mm Al szűrő) dózisu röntgensugárzással, vagy kezeltük

25 mM-os EMS oldattal az 2.1.1. fejezetben leírtak szerint. A mutagenizált hímeket *CyO/In(2LR)Pm* ill. *TM3, Ser/TM1, Me sbd²* balanszer kromoszómákra transz-heterozigóta nőstényekkel pároztattuk. Az *SM5/CyO, SM5/In(2LR)Pm*, és *TM3, Sb Ser/TM3, Ser, TM3, Sb/TM1, Me sbd²* balanszerkombinációk életképtelenek. A fenti keresztezésekből származó utódok mindegyike hordozza a mutagenizált *Fs* kromoszómát. Az *Fs* revertáns mutációkra heterozigóta nőstények kivételével minden nőstény steril. Az utódokat friss táptalajra helyeztük, a fertilis nőstények utódaiból a *Cy, Roi* ill. a *TM3, Sb Ser* kromoszómákkal kiegyensúlyozott törzseket alapítottunk.

2.4.2. Fenotípusos reverzió transzpozon inszercióval

Fs(3)Laborc^{17c}/TM3 Sb Ser hímeket kereszteztünk *TM3, Sb Ser/GI* genotípusú, kb. ötven transzpozont, az ún. „P” elemet tartalmazó nőstényekkel (Bingham és mtsai 1981). Az utódok közül az *Fs(3)Laborc^{17c}/TM3, Sb Ser* hímeket kiválogattuk, és újra a „P” elemeket tartalmazó *TM3, Sb Ser/GI* nőstényekhez kereszteztük őket. Az eljárást még kétszer megismételtük, hogy olyan *Fs(3)Laborc^{17c}/Tm3, Sb Ser* P-típusú hímekhez jussunk, amelyek minél több „P”elemet hordoznak. A P-típusú hímeket *TM3, Sb Ser/CxD* genotípusú, M-típusú, nőstényekkel pároztattuk, amelyek nem hordoztak „P” elemeket. Az M-típusú nőstény X P-típusú hím keresztezési irány (transzpozon hordozó hím, transzpozon mentes nőstény) mobilizálja a „P” elemeket, ún. diszgenikus utódok jönnek létre, amelyek ősvarsejtjeiben a „P” elem inszerciók mutációkat okozhatnak (Engels 1983).

A mutagenizált *Fs(3)Laborc^{17c}/TM3, Sb Ser* nőstények ősvarsejtjeinek egy részében a domináns nősténysteril allél revertálódhatott, belőlük utód származhatott

A mutagenizált nőstényeket „P” elem mentes *TM3, Sb Ser/CxD* transzheterozigóta hímekekkel kereszteztük, majd figyeltük, hogy lesznek-e utódaik. A nőstény utódokat újra és újra *TM3, Sb Ser/CxD* genotípusú hímekekkel keresztezve revertáns vonalakat alapítottunk. A fenti keresztezési irány (transzpozon mentes hím, transzpozonokat tartalmazó nőstény) gátolja a „P” elem ugrást, ennek segítségével stabilizálhattuk a reverziót okozó „P” elem inszerciót a *Laborc* lókuszban (Good és Hickley 1987).

2.4.3. A transzpozon inszerció reverziója

Annak igazolására, hogy a *Laborc* „P” elemmel indukált revertáns (*Laborc^{17cRP}*) mutáció valóban „P” elem inszerció hatására jött létre, az *Fs(3)Laborc^{17cRP}* feltételezett inszerciós allélt újra „P” elem aktiváló genetikai környezetbe vittük. Ha az *Fs* reverzió oka „P” elem inszerció volt, úgy a „P” elem elugrása az eredeti *Fs* fenotípus visszaállítását eredményezheti.

Fs(3)Laborc^{17cRP}/TM3, Sb Ser nőstényeket gyűjtöttünk, és a kb. ötven „P” elemet tartalmazó *TM3, Sb Ser/GI* hímekekkel pároztattuk őket. Ez a keresztezési irány mobilizálta a „P” elemeket az utódok ősvarsejtjeiben, így mobilizálta a *Laborc* lókuszban ülőt is (ld. még a 2.4.2. fejezetet is). Az *Fs(3)Laborc^{17cRP}/TM3, Sb Ser* hím utódok a kémiai mutagenézisben bemutatott séma (1. ábra) mutagenizált hímjeinek felelnek meg. A „P” elem távozása a *Laborc* lókuszból az eredeti domináns nősténysteril fenotípus visszaállítását eredményezheti. A keresztezésből *Fs* kromoszómákat hordozó egyedeket gyűjtöttünk, majd azt vizsgáltuk hogy mutatják-e az *Fs* fenotípust, vagyis úgy jártunk el mint ahogy az 2.1.1. fejezetben leírt, harmadik kromoszómás *Fs* izolálási kísérletek esetében

2.5. Komplementáció

A revertáns allélokkal komplementációs analízist végeztünk, hogy megállapítsuk a 75 *Fs* mutáció hány lókuszt reprezentál. Komplementációs analízissel határoztuk meg azt is, hogy az *Fs* mutációk között vannak-e olyanok, amelyek korábban ismert *fs* mutációkkal allélikusak. A komplementációs analízist csak azokkal az *Fs^R* allélokkal végeztük el, amelyeknek domináns „ősei” azonos fenotípus csoportba tartoznak. Az *Fs* mutációknak kb. felét a „korai”, másik felét a „késői” fenotípus csoportba soroltuk (3.2. fejezet).

Különböző *Fs(2)^R/Cy*, *Roi* ill. *Fs(3)^R/TM3*, *Sb Ser* törzsekből származó egyedeket kereszteztünk egymással. A következő generációban figyeltük lesznek-e az utódok között olyanok, amelyek nem hordozzák a balanszer kromoszómákat. Az életképes revertáns transzheterozigóta kombinációk fertilitását teszteltük. Az életképes, de steril és az életképtelen allélpárokat nem komplementálóknak, allélikusaknak tekintettük.

2.6. Ivarsejt- és petefészekkimérák

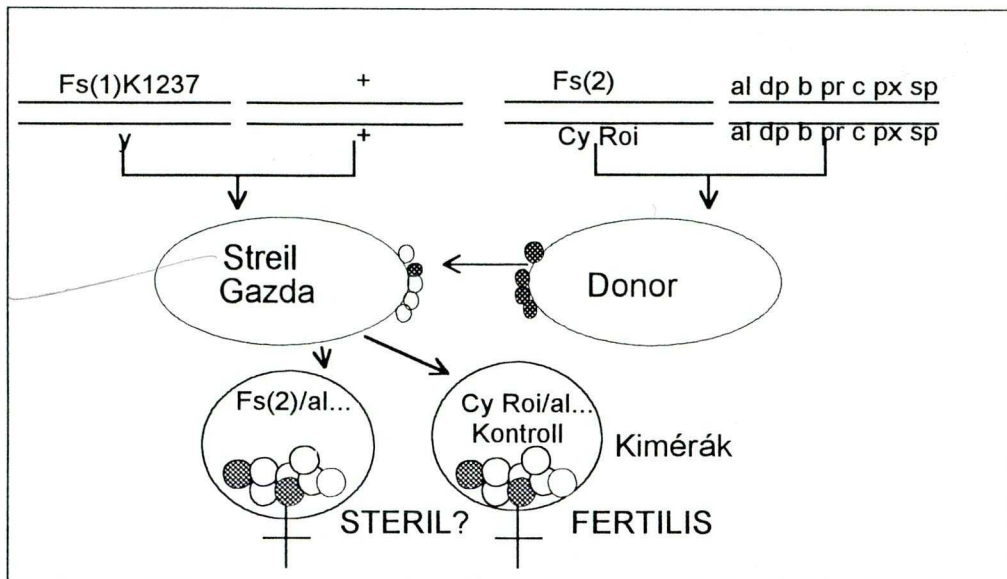
A nőtények fertilitása a testi és ivarsejtek összehangolt működésének eredménye (King 1970). Azt eldöntendő, hogy a mutáns fenotípus a testi, vagy az ősvarsejtek (vagy mindkettő) megváltozott működésének a következménye, mutáns ősvarsejteket ültettünk át ép testi sejteket hordozó embrókba, ún. ivarsejt kimérákat állítottunk elő. Amennyiben a mutáns fenotípus kialakulásáért a testi sejtek voltak a felelősek, petefészek kimérákat is konstruáltunk, olyan kimérákat amelyek mutáns

petefészkek és vad fenotípusú testi sejtek ill. mutáns testi sejtek és vad fenotípusú petefészkek alkottak, majd meghatároztuk, hogy a mutációk fókusza a petefészkekben vagy azon kívül van-e.

2.6.1. Ivarsejtkimérák

Az ivarsejtkimérákat sarki sejtek (embrionális ivarsejtek) átültetésével hoztuk létre (Lehmann és Nüsslein-Volhard 1986). A donor embriók az *al dp b pr c px sp* markermutációkra homozigóta nőstények és *Fs(2)/Cy*, *Roi* hímek ill. a *ru h th st cu sr e ca* markermutációkra homozigóta nőstények és *Fs(3)/Tm3*, *Sb Ser* hímek keresztezéséből származtak. Belőlük vékony üvegkapillárisal gyűjtöttük össze a sarki sejteket és ültettük át az *Oregon-R* nőstények és *Fs(1)K1237/Y* hímek keresztezésből származtató gazdaembriókba. Az *Fs(1)K1237=ovo^{D1}* egy kizárólag az ivarsejtek funkcióját befolyásoló domináns nősténysteril mutáció (Busson és mtsai 1983, Komitopoulou és mtsai 1983). A *+Fs(1)K1237* gazda nőstények testi sejtjei épek de saját ivarsejtjeiből, az *Fs(1)K1237* mutáció miatt, sohasem fejlődnek érett peték. Tehát az *+Fs(1)K1237* nőstényektől származó peték csak a beültetett ivarsejtekből eredhetnek (5. ábra).

A kimérákat *al dp b pr c px sp* ill. *ru h th st cu sr e ca* homozigóta hímekkel pároztattuk. A markermutációk segítségével meghatároztuk, hogy vannak-e a kimérák közül *Fs(2)* ill. *Fs(3)* allélt hordozók. Ha kimérák nőstény utódai sterilek, a vizsgált *Fs* mutáció fókusza nem az ivarsejtvonalban van. Ha az *Fs* kromoszómát hordozó utódok nem fejlődnek ki (a kimérák sterilek) akkor az *Fs* mutáció befolyásolja az ivarsejtek funkcióját.



5. ábra *Fs* ivarsejtekből és ép testi sejtekből álló kimérák előállítás

A *Cy*, *Roi* ill. *TM3*, *Sb Ser* balanszerkromoszómát hordozó kimérák fertilisek, őket belső kontrollként használtuk.

Ha egy *Fs* mutáció testi sejt függőnek bizonyult vele elvégeztük a következő sarki sejt átültetést is. *y v f mal* homozigóta embriók sarki sejtjeit ültettük olyan embriókba, amelyek *Fs(2)/Cy*, *Roi X al dp b pr c px sp/al dp b pr c px sp* ill. *Fs(3)/TM3*, *Sb Ser X ru h th st cu sr e ca/ru h th st cu sr e ca* keresztezésekből származtak. A gazda nőtényeket kikelésük után *y v f mal* hímekkel pároztattuk. Ha a transzplantált nőtényektől nem származtak utódok felboncoltuk őket, és aldehid oxidáz festéssel ellenőriztük hogy, vannak-e a petefészkeikben *mal* homozigóta, nem festődő petekezdemények (A *mal* homozigóta petekezdeményekben nincs aldehid oxidáz aktivitás, ezért hisztokémiai módszerrel azonosíthatók Janning 1972.) A *mal* fenotípusú petekezdemények jelenlétével bizonyítottuk a transzplantáció

sikerességét. A kimérák sterilitása azt mutatja, hogy a mutáció fókusza valóban a testi sejtekben van

Az *Fs* allélokat hordozó kimérák *Cy Roi/al dp b pr c px sp* és *TM3*, *Sb Ser/ru h th st cu sr e ca* genotípusú testvér nőtényeibe is ültettünk *y v f mal* ősvarsejteket. Az ilyen kimérák fertilisek, tőlük *y v f mal* utódok is származnak. Őket belső kontrollként használtuk.

2.6.2. Petefészekkimérák

A petefészek testi eredetű sejtjeinek vagy a petefészken kívüli sejteknek a megváltozásai egyaránt okozhatják a testi sejt függő *Fs* fenotípus kialakulását. Petefészekkimérákkal állapítottuk meg, hogy a testi sejt függő *Fs* mutációk fókusza a petefészken belül vagy kívül van.

Fs(2)/In(2LR)Gla, *Bc* hímeket *al dp b pr c px sp* markermutációra homozigóta nőtényekkel ill. *Fs(3)/TM6*, *Tb* hímeket *ru h th st cu sr e ca* homozigóta nőtényekkel kereszteztünk. A *Bc* és a *Tb* lárvális korban is szelektálható domináns markermutáció. A *Bc* és *Tb* markermutációkat nem hordozó *Fs(2)/al dp b pr c px sp* és *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* harmadik stádiumos nőtény lárvákat válogattunk ki, majd petefészküket üvegkapillárisal *+Fs(1)1237* gazdalárvákba transzplantáltunk (Ephrussi és Beadle 1936). (Az *Fs(1)1237* mutáció a testi sejtek működését nem befolyásolja.) Minthogy a petefészek és a petevezeték között a bábozódás során létesül kapcsolat, mód van arra, hogy az egyik petevezeték a beültetett petefészekhez kapcsolódjon. A kikelő kimérákat *al dp b pr c px sp* ill. *ru h th st cu sr e ca* homozigóta hímeikkel pároztattuk. A *+Fs(1)1237* gazdanőtények saját petefészekből nem származnak peték, vagyis a petéző *+Fs(1)1237* nőtények

mindegyike kiméra. Ha a kimérák sterilek, akkor a vizsgált *Fs* mutáció fókusza a petefészkekben van. A fertilis kimérák azt jelzik, hogy az *Fs* mutáció fókusza a petefészken kívül van.

A testi sejt függő *Fs* mutációkkal elvégeztük a következő transzplantációt is: *y v f mal* homozigóta lárvák petefészkeiket ültettük át *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* lárvákba, majd kifejlődésük után *y v f mal* hemizigóta hímekkel kereszteztük őket. Ha a gazda nőtényektől nem származtak utódok, felboncoltuk őket, és aldehid oxidáz festéssel igazoltuk kiméra voltukat (ld. még a 2.6.1 fejezetet is). Ha a beültetett petefészkek a petevezetékre feltapadt és nincsenek utódok, az azt jelenti, hogy az *Fs* mutáció fókusza a petefészken kívül van. Ha a beültetett *y v f mal* petefészkekből utód származik, az *Fs* mutáció a petefészken kívüli testrészek funkcióját nem érinti.

2.8. Citológiai preparátumok készítése

Ketel^{Rx}/Bc Gla genotípusú hímeket kereszteztünk *Oregon-R*, vad típusú nőtényekkel. Az utódokat 18°C-on neveltük fel harmadik stádiumos lárva korukig. A *Bc*, lárva korban szelektálható marker mutáció alapján kiválogattuk a *Ketel/+* lárvákat. A lárvák nyálmirigyét 45%-os ecetsav oldatban boncoltuk ki és 60%-os ecetsav:tejsav 1:1 arányú keverékében oldott, 3%-os orcein oldatban festettük. A megfestett nyálmirigyeket 60%-os ecetsav:tejsav 1:1 arányú keverékében tárgylemezen lefedtük és erőteljes ujjbeggyel történő nyomással az óriáskromoszómákat szétterítettük. A kromoszómákat fáziskontraszt mikroszkóppal vizsgáltuk, és a Bridges 1942-es módosított citogenetikai térkép szerint értékeltük (Lindsley és Zimm 1992).

3. EREDMÉNYEK

3.1.1. A domináns nősténysteril mutációk izolálása

Az *Fs* mutációkat EMS-sel indukáltuk letális mutációktól mentes kromoszómákon. A mutagenizált kromoszómák kb. 0,1 %-a (74/68860), hordozott *Fs* mutációt. Huszonegy független mutagenézis kísérletben összesen 18732 mutagenizált második kromoszómán 20 *Fs*(2) mutációt indukáltunk (2. táblázat). Három mutagenézisben egyenként kettő, 18-ból 1-1 *Fs*(2) mutációt izoláltunk. A *Himca*, *Tekele*, a *Barsa*³, *Ketele*³ és a *Tarhos*, *Told* mutációpárok származtak azonos mutagenézis kísérletből. Különböző térképhelyzetük, fenotípusuk és revertánsaik komplementációja kizárja, hogy azonos mutációs eseményt képviseljenek. Az *Etre*, *Hont*, *dlorsa*^{D6} és *dlorsa*^{D7} mutációk T.R.F. Wright munkacsoportjától származnak. A *Billa* mutációt G. Reuter izolálta.

További huszonnyolc független kísérletben 50128 mutagenizált harmadik kromoszómát vizsgáltunk meg. Közülük 54, a mutagenizált kromoszómák 0,1%-a hordozott *Fs*(3) mutációt, 51-ből tudtunk törzset alapítani a *T*(1,3)OR60 transzlokációval (3. táblázat). Az azonos mutagenézis kísérletben izolált *Fs*(3) mutációk közül csupán a *Huba*^{8/4a} és a *Huba*^{8/4b} bizonyult a későbbiek folyamán allélikusnak.

3.1.2. A mutagenézis hatékonysága

Kilencszáznyolcvannégy EMS-sel kezelt *lt bw* kromoszómát vizsgáltunk meg, hogy hordoznak-e újonnan indukált recesszív letális mutációkat. Közülük 589 nem



2. táblázat. A második kromoszómás *Fs* mutációk jellemzése.

<i>Fs(2)</i> <i>α</i>	Hordozó Kromoszómák	Nősténycsoportok száma					Utódszám a csoportokban			<i>Fs</i> [*] allélok az utódokban	<i>Fs</i>	Napok szá- ma az első petéig	Térkép- helyzet	Élettart- am d	Revertánsok		Ivarsejtkimérák		
		Összesen (N)	Utód nélkül (N [*])	<i>Fs(2)</i> [*] klónok b	Vizsgált nőstények	A klónindukció gyakorisága c	1	2	>3						EMS	Röntgen	Kimérák		
																	Vizsgált nőstények	<i>Fs(2)</i>	Kontroll
<i>Fs(2)1</i>	Ore-R	28	9	30	132	22.7	4	2	13				4.7 ± 0.3		2/2009				
<i>Barsa</i> ¹	<i>lt bw</i>	26	23	3	171	1.8	1	1	1			10-14	<i>al-dp</i>	6.6 ± 2.4**	4/5124	32	4	0	
<i>Barsa</i> ²	<i>lt bw</i>	30	26	4	242	1.7	2	0	2			15-25	<i>nub-stw</i>	8.1 ± 1.1	3/4099	31	7	1	
<i>Barsa</i> ³	<i>lt bw</i>	18	17	1	119	0.8	1	0	0			12-18	2L	6.6 ± 1.6**	1/4030	45	5	2	
<i>Barsa</i> ⁴	Canton-S	38	20	24	190	12.6	9	3	6			13-17	<i>al-dp</i>	4.0 ± 0.6*	3/4356				
<i>Billa</i>	Vadtípus	95	93	2	806	0.2	0	0	2	1	0	17-24	<i>nub-lt</i>	8.5 ± 1.5	0/2575	93	10	15	
<i>dl</i> ^{D4}	<i>lt bw</i>	19	7	19	133	14.3	2	3	7	2	2	9-14	<i>al-nub</i>	7.0 ± 1.1**	1/5252	43	6	2	
<i>dl</i> ^{D5}	<i>lt bw</i>	16	6	15	134	11.2	6	2	2	1	5	11-15	<i>al-nub</i>	8.4 ± 1.0*	2/4533	31	4	3	
<i>dl</i> ^{D6}	<i>pr</i>	55	53	2	526	0.4	1	0	1	1	1	17, 18	2L	9.6 ± 0.7	1/2150				
<i>dl</i> ^{D7}	<i>pr</i>	91	84	7	856	0.8	4	2	1	1	1	14-21	2L	9.4 ± 0.8	1/2625				
<i>Dorog</i>	<i>lt bw</i>	16	14	2	117	1.7	0	1	1			14, 21	2L	7.3 ± 1.2**	6/4014		20	2	1
<i>Etre</i>	<i>pr</i>	73	72	1	617	0.2	1	0	0			19	2-71.4	8.5 ± 1.6		1/	31	4	8
<i>Himca</i>	Vadtípus	40	38	2	364	0.5	1	0	1			16-21	2L	9.1 ± 0.9	2/3800		14	1	0
<i>Hont</i>	Ore-K	171	146	27	852	3.2	14	7	4	11	0	13-18	<i>al-dp</i>	5.0 ± 0.3		2/	10	1	2
<i>Ketel</i> ¹	<i>lt bw</i>	25	16	11	233	4.7	4	3	2	0	1	12-18	<i>lt-sca</i>	9.3 ± 1.6	3/6576		30	9	2
<i>Ketel</i> ²	Ore-R	34	11	25	170	14.7	10	7	6	10	14	11-16	<i>nub-sca</i>	7.4 ± 0.8**	1/2975		23	6	1
<i>Ketel</i> ³	<i>lt bw</i>	22	16	7	182	3.8	5	1	0			14-20	2L	8.3 ± 1.3*	4/4660		21	2	1
<i>Kompolt</i>	Canton-S	154	124	33	1520	2.2	15	9	6	23	1	15-21	<i>al-dp</i>	9.9 ± 0.6	8/3250		24	3	5
<i>Tarhos</i>	<i>lt bw</i>	14	13	1	77	1.3	0	1	0					5.5 ± 1.8**	9/2836	6/4450	40	1	3
<i>Tekele</i>	Vadtípus	152	130	24	741	3.2	11	5	6	14	1	14-19	<i>al-nub</i>	4.9 ± 0.3			15	3	3
<i>Told</i>	<i>lt bw</i>	26	10	25	175	14.3	6	2	8	9	1	9-13	<i>nub-sca</i>	6.7 ± 1.4**	4/2839		46	3	4
<i>torso</i> ^{D4021}	Vadtípus	138	133	5	1323	0.4	4	1	0			18-25	<i>lt-sca</i>	9.6 ± 0.7	4/2712	14/1549	113	11	6
<i>Ugra</i>	<i>lt bw</i>	24	22	2	211	0.9	1	0	1	1	2	18, 25	2-18	8.8 ± 1.0	1/6873		57	6	3
<i>Vaja</i>	<i>lt bw</i>	19											2-15.1	8.9 ± 1.2	15/4763		38	8	3

a: Az *Fs(2)* mutációkat a 14. századig kihalt magyar családokról neveztük el (Kristó és mtsai. 1973, 1974).

b: a poissoneloszlás szerint becsült érték

c: a klónok száma/a vizsgált nőstények száma X 100

d: a 21 napot túlélő nőstények átlagos száma a csoportokban +- szórás. Kontrollként *lt bw/al dp b pr c px sp* nőstényeket vizsgáltunk 10-es csoportokban. A 21 napot túlélő nőstények számának átlaga 9.3+- 1,5 volt. Az *Fs(2)1*, a *Barsa*⁴, a *Hont* és a *Tekele* mutációk életképességét 5-ös csoportokban vizsgáltuk. * és ** jelöli a kontrolltól való P<0,05 és 0.01 szintű szignifikáns eltéréseket (t-teszt).

Fs(3) *	Az N(i) klónt tartalmazó csoportok száma ^b						Az össz klón szám	A vizsgált nőstények száma	A klónin- dukció (%) gyakorisága ^c	A csoportonkénti utódszám			Az össz utódszám	Fs+ és F allélok az utódokba
	N	N ²	N ¹	N ²	N ³	N ⁴				1	2	>3		
<i>Apc</i> ^{10d}	42	21	14.6	5.0	1.2	0.2	29	413	7.0	0	2	19	183	23
<i>Avar</i> ^{2a}	38	33	4.7	0.3			5	348	1.4	0	1	4	76	12
<i>Baksa</i> ^{1a}	32	30					2	305	0.7	0	0	2	14	4
<i>Bercel</i> ^{8/1a}	21	21	0.0				0	174		0	0	0	0	0
<i>Bercel</i> ^{9a}	46	35	9.6	1.3	0.1		13	356	3.7	4	1	6	33	8
<i>Bojla</i> ^{1b}	49	48	1.0				1	477	0.2	0	0	1	7	0
<i>Botond</i> ^{10a}	49	40	8.1	0.8			10	470	2.1	7	1	1	14	3
<i>Damasa</i> ^{1ab}	54	46	7.4	0.6			9	521	1.7	2	2	4	64	7
<i>Damasa</i> ^{21m}	71	41	22.5	6.2	1.1	0.2	39	670	5.8	15	6	9	149	22
<i>ea</i> ¹¹⁺¹⁰²	39	30	7.9	1.0			10	381	2.6	7	0	2	33	13
<i>eaD</i> ⁵⁰²²	16	11	4.1	0.8	0.1		6	135	4.4	3	0	2	28	14
<i>ea</i> ^{112a}	45	37	7.2	0.7	0.1		9	444	2.0	6	1	1	13	4
<i>ea</i> ^{120m}	43	40	2.9	0.1			3	378	0.8	2	1	0	4	2
<i>Farkas</i> ^{9d}	25	21	3.7	0.3			4	248	1.6	3	0	0	3	0
<i>Cerec</i> ^{15e}	42	41	1.0				1	359	0.3	0	1	0	2	0
<i>Hodos</i> ^{19e}	58	44	12.2	1.7	0.2		16	401	4.0	4	2	8	85	29
<i>Horka</i> ^{12h}	41	35	5.5	0.4			9	379	1.6	3	2	1	13	5
<i>Huba</i> ^{8/4a}	33	19	10.5	2.9	0.5		18	284	6.3	7	6	1	22	3
<i>Huba</i> ^{8/4b}	35	29	5.5	0.5			6	323	1.9	1	2	3	15	6
<i>Huba</i> ^{11b}	39	33	5.5	0.5			6	372	1.6	4	1	1	10	3
<i>Huba</i> ^{18f}	30	25	4.6	0.4			5	284	1.8	3	0	2	17	1
<i>Jutas</i> ^{1b}	40	30	1.0				1	352	0.3	0	0	1	3	1
<i>Kavay</i> ^{18c}	48	45	2.9	0.1			3	445	0.7	1	0	2	19	6
<i>Kavay</i> ²¹¹	34	28	5.4	0.5			6	327	1.8	2	1	3	11	7
<i>Kavay</i> ^{21g}	34	32	1.9	0.1			2	309	0.7	1	0	1	5	1
<i>Keled</i> ^{9b}	41	27	11.3	2.4	0.3		17	395	4.3	5	1	8	36	6
<i>Keve</i> ^{17d}	32	20	9.4	2.2	0.3		15	292	5.1	5	3	4	66	10
<i>Kun</i> ^{20b}	67	44	18.5	3.9	0.5		28	640	4.4	12	4	7	42	14
<i>Laborc</i> ^{17c}	50	47	2.9	0.1			3	465	0.7	3	0	0	3	1
<i>Palat</i> ^{19b}	20	6	7.2	4.3	1.7	0.5	24	184	13.0	5	1	8	74	17
<i>Pilis</i> ^{12f}	56	48	7.4	0.1			8	214	3.7	3	2	3	32	2
<i>Tevel</i> ^{4a}	56	44	10.6	1.3	0.1		14	516	2.7	6	0	6	30	17
<i>Toll</i> ^{3c}	47	19	17.2	7.8	2.4	0.5	43	455	9.5	10	6	12	72	23
<i>Toll</i> ^{10b}	29	26	2.8	0.2			3	279	1.1	1	1	1	8	3
<i>Toll</i> ^{18a}	43	36	6.4	0.6			8	411	2.0	4	1	2	21	2
<i>Tomaj</i> ⁴⁰⁹⁹¹	85	68	15.2	1.7	0.1		19	823	2.3	14	1	2	24	6
<i>Tomaj</i> ^{3a}	18	16	1.9	0.1			2	174	1.2	1	1	0	3	0
<i>Tomaj</i> ^{16d}	43	35	7.2	0.7	0.1		9	395	2.3	3	2	3	42	3
<i>Tonuz</i> ^{5a}	33	24	7.6	1.2	0.1		10	310	3.2	6	0	3	16	9
<i>Varas</i> ^{5b}	36	31	4.6	0.4			5	336	1.5	1	0	4	25	7
<i>Zerind</i> ⁴¹⁰⁴	121	115	5.8	0.1			6	1137	0.5	5	1	0	7	1
<i>Zerind</i> ^{15d}	56	44	10.6	1.3	0.1		14	535	2.6	6	2	4	31	14
<i>Zombor</i> ^{18c}	45	35	8.8	1.1	0.1		11	400	2.8	3	3	4	52	21

3. táblázat. A harmadik kromoszómás Fs mutációk jellemzése.

térkép helyzet	Napok az az első Fs* petéig	Túlélők ^d	Hím rekombináció				Ivarsejtkimérák			Revertánsok		
			Utódok			Térkép- helyzet	A rekombinán- sok száma	Kimérák			EMS	Röntgen
			Összes	Rekom- bináns	%			Tesztelt nőstények	Fs(3)	Kontroll		
h-th		9,8 ± 0,5					74	14	10	0/2938	0/3730	
h-th	10-14	9,2 ± 0,5					18	3	2	0/900		
3L	15, 20	9,6 ± 0,5	5453	44	0,8	ru-h	23	5	2	3/954		
ND		8,3 ± 1,2**					24	2	5	3/375	1/143	
ru-h	11-16	7,7 ± 1,8**								1/515	1/500	
3L	12-18	9,7 ± 0,5	5356	64	1,2	h-th	19	2	5	1/1339		
3L	14-20	9,6 ± 0,7					21	7	4	1/4225		
ru-h	11-16	9,6 ± 0,7								2/2400		
3L	13-18	9,3 ± 1,2					21	2	3	7/3675		
3R	13-17	9,8 ± 0,3	4384	50	1,1	sr-e	25	7	1	1/1361	1/2310	
3R	12-17	8,4 ± 1,2**	2750	25	0,9	cu-e	14	1	1	—	1/2709	
sr-e	16-21	9,8 ± 0,5								2/1366	0/1236	
sr-ca	14-19	8,8 ± 1,3								5/1155		
ru-sr	16-22	9,9 ± 0,3					32	7	2	0/675		
h-th		8,5 ± 1,2*					35	8	2	1/873		
ru-h	10-14	6,9 ± 2,3**					24	1	4	3/2075		
3R	12-17	9,2 ± 0,9					58	8	11	1/925		
h-th	12-17	8,6 ± 1,2*					44	7	4	6/697		
h-th	12-17	9,2 ± 1,0					42	3	7	4/897		
ru-h	12-17	9,5 ± 0,6					27	4	5	1/925		
th-sr	14-19	9,5 ± 0,8					79	18	12	2/683		
3R	19-24	8,8 ± 1,2*	4276	46	1,1	sr-e	33	4	5	1/220		
ru-h	21-27	9,3 ± 1,1					37	5	9	2/731		
3L	12-19	9,6 ± 0,6								1/2156		
ND	12, 18	9,0 ± 0,9*								2/1985		
cu-sr	10-14	9,6 ± 0,5					8	1	1	1/2223	1/1200	
h-th	13-19	9,1 ± 1,1	2389	23	1,0	3L	16	3	2	3/391	2/1297	
e-ca	11-16	9,5 ± 0,7					11	1	2	3/854		
3L	14-19	9,3 ± 0,7					64	6	8	2/4525		
ru-h		9,2 ± 1,1					10	1	3	1/1340		
sr-e	14-20	3,8 ± 1,4**	2132	2	0,1	3R						
h-th	20-28	9,2 ± 1,1					31	4	3	2/896	5/2404	
e-ca		9,7 ± 0,5					43	2	3		1/1102	
e-ca	13-18	9,6 ± 0,9								3/219		
sr-e	12-18	9,6 ± 0,6					31	2	4		2/1530	
h-th	14-21	9,7 ± 0,5	3662	32	0,9	ru-cm	34	8	6	1/450		
ND	17, 21	9,6 ± 0,7	1623	21	1,3	3L	4			1/848		
ND	14-20	9,2 ± 0,9					36	3	7	3/605		
3R	17-22	9,4 ± 0,9	4290	46	1,1	sr-ca	39	3	8	1/1511		
ru-h	24-30	9,3 ± 0,8					36	7	5	5/5350		
3R	15-20	9,4 ± 0,9	3941	48	1,2	st-cu	15	2	1	3/638		
e-ca	16-22	9,6 ± 0,6								3/1023		
h-th	22-28	8,9 ± 1,2					65	2	4	2/295		

a: Az Fs(3) mutációkat a 14. századig kihalt magyar családokról neveztük el (Kristó és mtsai 1973, 1974).

b: A poissoneloszlás alapján becsült érték, $N(i)=NP(i)$, $P(i)=v^i e^{-v}/i!$, ahol $e^{-v}=N^0/N$

c: A klónok száma/vizsgált nőstények számaX100

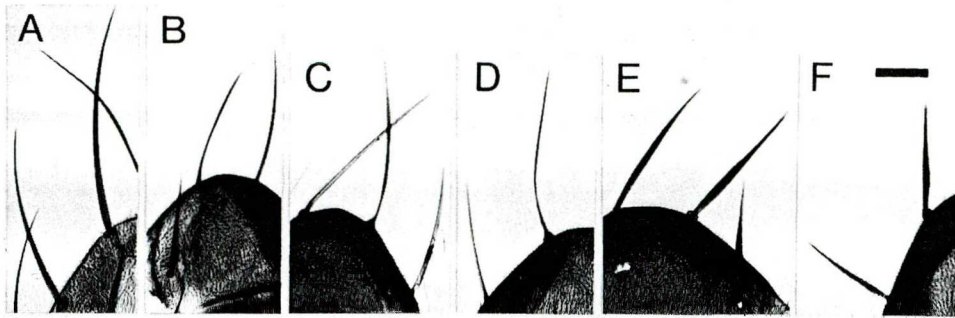
d: A 21 napot túlélő nőstények átlagos száma a 10-es csoportokban +- szórás. * és ** a kontrolltól való $P<0,05$ és $0,01$ szintű szignifikáns eltéréseket jelzi. Kontrollként mwh e/ ru h th st cu sr e ca nőstények tízes csoportjainak átlag álettartamát határoztuk meg (9,6 +- 0,7).

hordozott recesszív letális mutációt. A poissoneloszlás alapján meghatároztuk, hogy egy mutagenizált kromoszóma átlagosan 0,6 recesszív letális mutációt hordozott. Mivel az EMS-kezelés a 18732 mutagenizált második kromoszómán 20 *Fs* és $18732 \times 0,6 = 11239$ recesszív letális mutációt indukált, az *Fs*(2) mutációk relatív indukciós gyakorisága a letálisokhoz viszonyítva 1:546. Az *Fs*(2) mutációt hordozó kromoszómák közül kilenc csökkenti a nőstények életképességét szignifikáns mértékben (2. táblázat 28 oldal). A csökkent életképességet az *Fs* és a velük együtt indukált mutációk egyaránt okozhatják.

Százhusz mutagenizált *mwh e* kromoszómát teszteltünk recesszív letális mutációk jelenlétére. A mutagenizált kromoszómák közül mindössze hat volt homozigóta életképes. A poissoneloszlás alapján meghatároztuk, hogy egy EMS-sel kezelt kromoszóma átlagosan 2,7 letális mutációt hordozott. Az 50128 EMS-kezelt kromoszóma 54 *Fs* és $50128 \times 2,7 = 135347$ recesszív letális mutációt hordozott. Az *Fs* és letális mutációk aránya a harmadik kromoszómán 1:2506. Kilenc *Fs*(3) mutációt hordozó kromoszóma a heterozigóta nőstények életképességét szignifikáns mértékben csökkenti (3. táblázat 29 oldal).

A *Pilis*, *Bercel*^{8/1a}, *Bercel*^{9a}, *Levente*, és *Keve* mutációk domináns szőr fenotípussal járnak együtt. A *Pilis*, *Levente* és *Bercel*^{8/1a} mutációkat hordozó egyedek az ún. *Minute* szőr fenotípust mutatják (Lindsley és Zimm 1987). A *Pilis* és *Levente* esetében az *Fs* és a *Minute* fenotípust rekombinációval elválasztottuk egymástól. A *Bercel*^{9a} és *Keve* mutációt hordozó egyedeknek a *Minute*-től eltérő szőr fenotípusuk van, amelyeknél az *Fs* és a szőr fenotípus nem választható szét (6. ábra).

A *Keve* és a *Bercel*^{9a} mutációk esetében az *Fs* és a szőr fenotípusok közös eredetét az is mutatja, hogy az *Fs* fenotípus reverziójával egyidejűleg a domináns szőr fenotípus is revertálódott.

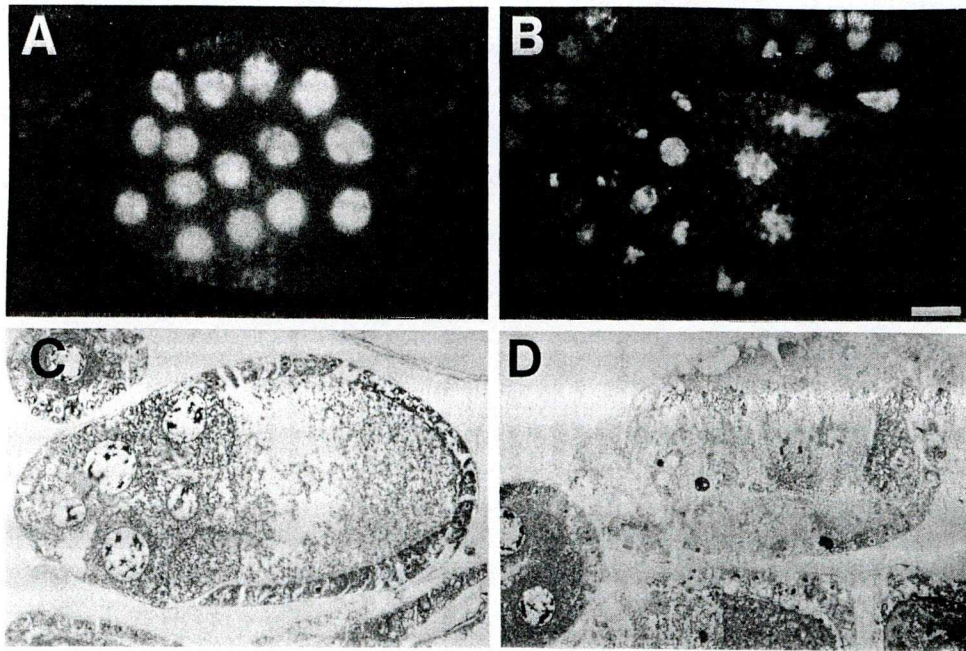


6. ábra. Mutáns szőr fenotípussal járó *Fs* mutációkat hordozó nőstények szkutelláris szőrei A: *Oregon-R* (vadtípus), B: *Pilis*, C: *Berce^{B7a}*, D: *Levente*, E: *Keve*, F: *Berce^{9a}*

3.2. A domináns nősténysteril mutációk fenotípusai

A hetvenöt *Fs* mutáció közül mindössze kettő agamétikus. Az *Fs(2)Ugra* heterozigóta nőstények nem raknak petéket. Bennük a petekezdemények a King szerinti 10. stádiumig, a szíkanyagnak a petesejt citoplazmájába történő lera-kódásáig fejlődnek. Petekezdeményeikben rendes számú és alakú folliculáris sejtet figyelhetünk meg, kialakul a 15 dajkasejt, és megkezdődik a vitellinmembrán szintézise (King 1970). Később a dajkasejtek magjai szétesnek, a petekezdemény elpusztul (7. ábra).

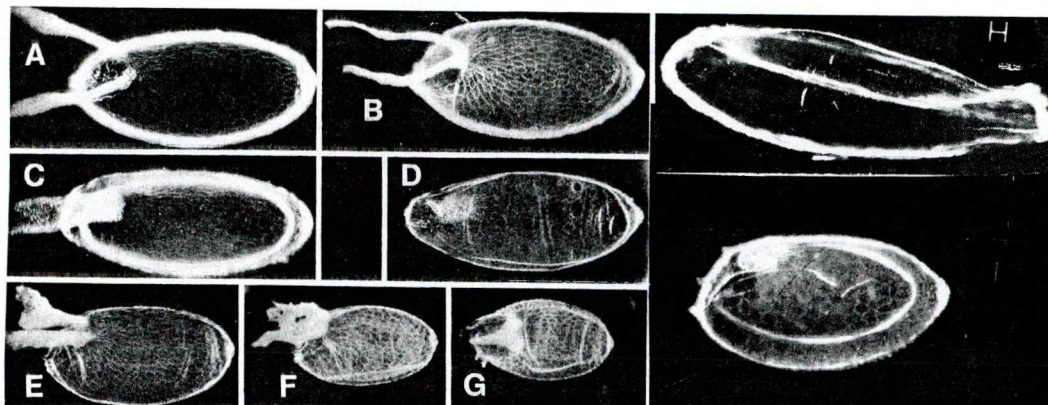
Az *Fs(3)Avar* mutáció hatására a nőstények visszatartják az egyébként vad fenotípusú, érett petéiket. A mutáció penetranciája és expresszivitása néhány genetikai kombinációban nem 100%-os, így az *Fs(3)Avar/CxD* genotípusú nőstények mintegy 2%-a rak néhány petét, melyekből olykor egy-egy utód származhat.



7. ábra. Vad típusú, (A és C) és az *Fs(2)Ugra* hordozó nőstények petefészkeiben fejlődő petekezdemények (B és D). A és B: egész petekezdemények DAPI festéssel, C és D: félvékony metszetek.

3.2.1. Petealak mutánsok

Hét *Fs(2)* mutáció befolyásolja a peték alakját. Az *Fs(2)1* heterozigóta nőstények kevés, összeeső petét raknak, melyekről mindig hiányoznak a háti kórionfüggelékek (8. ábra). A *Barsa* allélokat hordozó nőstények petéi zömökek, kórionfüggelékeik vastagok és rövidek, a vad típusúnál hátrébb erednek, alapjuknál gyakran összeforradnak (8. ábra). A *Barsa⁴* anyától származó petékben ennek ellenére az embriogenezis néha elkezdődik, a bennük fejlődő embriók feje azonban rendellenes, az embriók elpusztulnak. A *Billa* mutáció fenotípusa a *Barsa* allélokra hasonlít. A *Dorog* nőstények normális számú petéin csak egészen kicsi háti függelék van (8. ábra). Az *Etre* hordozó nőstények a vad típusnak megfelelő számú petét raknak, de ezek kórionmintázata halvány, a háti függelékek nagyon vékonyak.



8. ábra. A petealakat befolyásoló *Fs* mutációk fenotípusa. A: *Oregon-R* (vadtípus), B: *Fs(2)Billa*, C: *Fs(2)Barsa¹*, D: *Fs(2) Dorog*, E: *Fs(2)Barsa²*, F és G: *Fs(2)Barsa³*, H: *Fs(2)1*, I: *Fs(3)Vencellin*

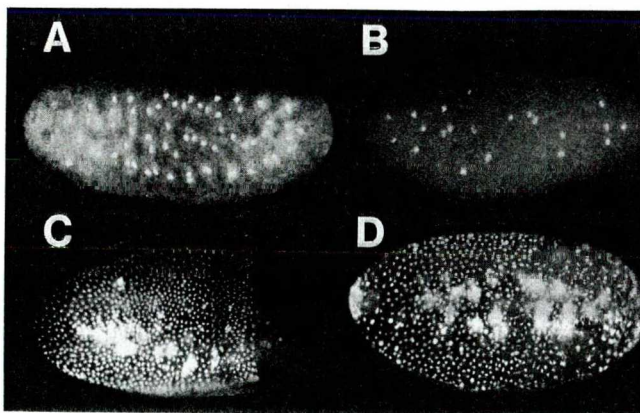
Két *Fs(3)* allél eredményez mutáns petealakat. Az *Apc* esetében a peték elülső végén a kóron rendellenesen vékony, az elvékonyodott részen keresztül sokszor a pete citoplazmája kifolyik, a peték összeesnek. A háti kóronfüggelékek is csökevényesek. A *Vencellin* mutáció a háti függelékek erős redukcióját okozza. A függelékek csökevénye a szokásosnál hátrébb ered (8. ábra). Hasonló fenotípusú recesszív nősténysteril allélok vizsgálata nyomán ezt az elcsúszást a pete hasi-háti polaritásának megváltozával magyarázzák (Schüpbach 1987).

3.2.2. „Korai” embrióletalitást okozó mutációk

A *Ketel* és *Himca* mutációkat hordozó nőstények normális alakú és számú petét raknak. A petékben azonban az embriók elpusztulnak, mielőtt elérnék a sejtes

blasztodema állapotot. A *Hont*, a *Ketel¹* és a *Ketel³* mutáció esetben a petékben már a meiózis sem játszódik le, bennük DAPI festéssel abnormális meiózist, vagy annak teljes elmaradását mutattuk ki. A *Ketel²/Cy Roi* nőstények petéinek fele nem termékenyül meg, míg a másik fele eléri a szinciciális blasztoderma stádiumot. A *Himca* allélt hordozó nőstények petéi megtermékenyülnek, lejátszódik a meiózis, a további fejlődés azonban elmarad.

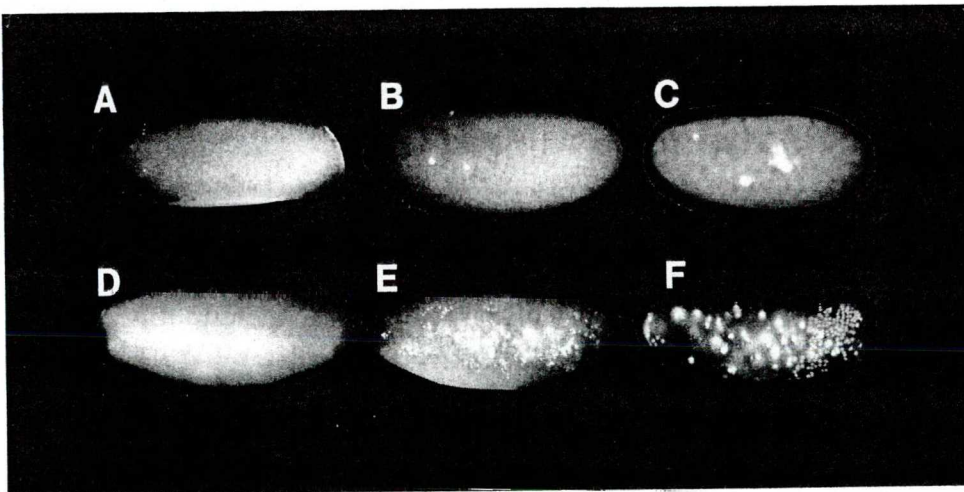
A következő mutációkat rendellenes sejtmegosztódások jellemzik. A *Kompolt* nőstények petéiben az embriogenezis 20-28 sejtmag képződéséig halad. A *Tarhos* nősténytől származó embriók hátulsó végében nincsenek sejtmagok. A *Tekele* mutáció esetében a sejtmagok elrendeződése szabálytalan (9. ábra).



9. ábra. Rendellenes sejtmegosztódásokat okozó *Fs(2)* mutációk fenotípusai. A: *Oregon-R* (vadtípus), B: *Kompolt*, C: *Tarhos*, D: *Tekele*

A harmadik kromoszómás domináns nősténysteril mutációk több mint fele (27/51) korai embrióletális fenotípust okoz. Közülük csupán egy, a *Zeind^{15d}* mutatott meiózis hibát. Bár a *Baksa*, a *Botond*, a *Pudur*, a *Damasa^{16b}*, a *Damasa^{21m}* és

a *Tomaj*⁴⁰⁹¹ nőtények petéiben a megtermékenyítést szabályos meiózis követi, az embriogenezis további szakaszai elmaradnak. A *Botond*, *Pudur*, *Damasa* petékben az embriók esetenként a blasztoderma állapotig is eljuthattak. A *Tonuz*, *Varas*, *Kun*, *Bojla*, *Laborc*, *Zerind* és *Huba* nőtények petéinek fejlődése szintén a meiózis után reked meg, de esetükben a spermium magja osztódik. A *Bojla* mutációnál akár nyolc, feltehetően spermium eredetű mag is képződhet, melyek a pete belsejében, a hossz tengely mentén helyezkednek el (10. ábra).



10. ábra. Rendellenes sejtmegosztódásokat okozó *Fs(3)* mutációk fenotípusai. A: *Pudur*, B: *Varas*, C: *Laborc*^{17c}, D: *Bojla*, E: *Jutas*, F: *Kartal*.

A *Laborc*^{17c} eredetű petékben a DAPI festés nagy, szabálytalan magokat mutatott ki, melyek feltehetően sejtmegosztódás nélküli kromoszóma replikációk után jönnek létre (10. ábra). A *Gerec*, *Horka*, *Tomaj*^{3a}, *Tomaj*^{16d} és a *Huba*^{8/4a} mutációt hordozó nőtényektől olyan peték származnak, amelyek megtermékenyülnek és bennük mind a hím, mind a nőtény pronukleuszok kialakulnak. Néha a pronukleuszok összeolvadnak, de többé nem osztódnak. A *Tomaj*^{16d} mutáció expresszivitása nem teljes, így az embriók 20-30%-a a

blasztoderma stádiumig fejlődik. A *Farkas*, *Zombor*, *Hodos* és *Huba*^{8/4b} eredetű petékben a hím és nőstény eredetű pronukleuszok összeolvadás nélkül osztódnak néhányszor.

A *Huba*^{18f}, a *Jutas*, a *Kartal*, és a *Levente* eredetű embriók pronukleuszai összeolvadnak, de a következő magosztódások rendje eltér a vadtypusútól. A *Huba*^{18f} nőstények petéiben csak három magosztódás játszódik le. A *Jutas* mutációt hordozó anyák petéiben néhány szabálytalan magosztódás történik (10. ábra). Bár a *Kartal* nőstények petéinek 20%-ában az embriók a blasztoderma stádiumig fejlődnek, de az embriók testén a sejtmagok nagy foltokban hiányoznak. A *Levente* eredetű embriók a szinciciális blasztoderma stádiumig fejlődnek, majd elpusztulnak.

3.2.3. „Késői” embrióletalitást okozó mutációk

Hét *Fs(2)* mutációt késői embrióletalis fenotípus jellemez. Az embriók lárvális kutikulát képeznek. Kutikulájuk mintázata azonban jellegzetes torzulásokat mutat. Az embriók fejlődési rendelleneségeit a megváltozott kutikula mintázattal jellemeztük.

A *dI^{D4}*, a *dI^{D5}*, a *dI^{D6}* és a *dI^{D7}*, az általunk izolált új domináns allélok a korábban ismert *dorsal^D* allélok fenotípuskáláját mutatják (Nüsslein-Volhard 1979 és Nüsslein-Volhard és mtsai 1980, Govind és Stevard 1991). Őket allélerősségük szerinti mértékben feji, hasi és oldalsó kutikulahiányok jellemezznek.

A *torso^{D4021}* egy korábban recesszív anyai hatású mutációkkal azonosított *toso* gén domináns allélja (Nüsslein-Volhard és mtsai 1987). Mind a domináns mind a recesszív fenotípus kutikulahiánnyal írható le. A domináns mutációt hordozó nőstények utódaiban minden sejt a vadtypusú nem szelvényezett akron és telzon testtájakra jellemző fejlődési utat követi, a szelvényezett testtájak hiányoznak.

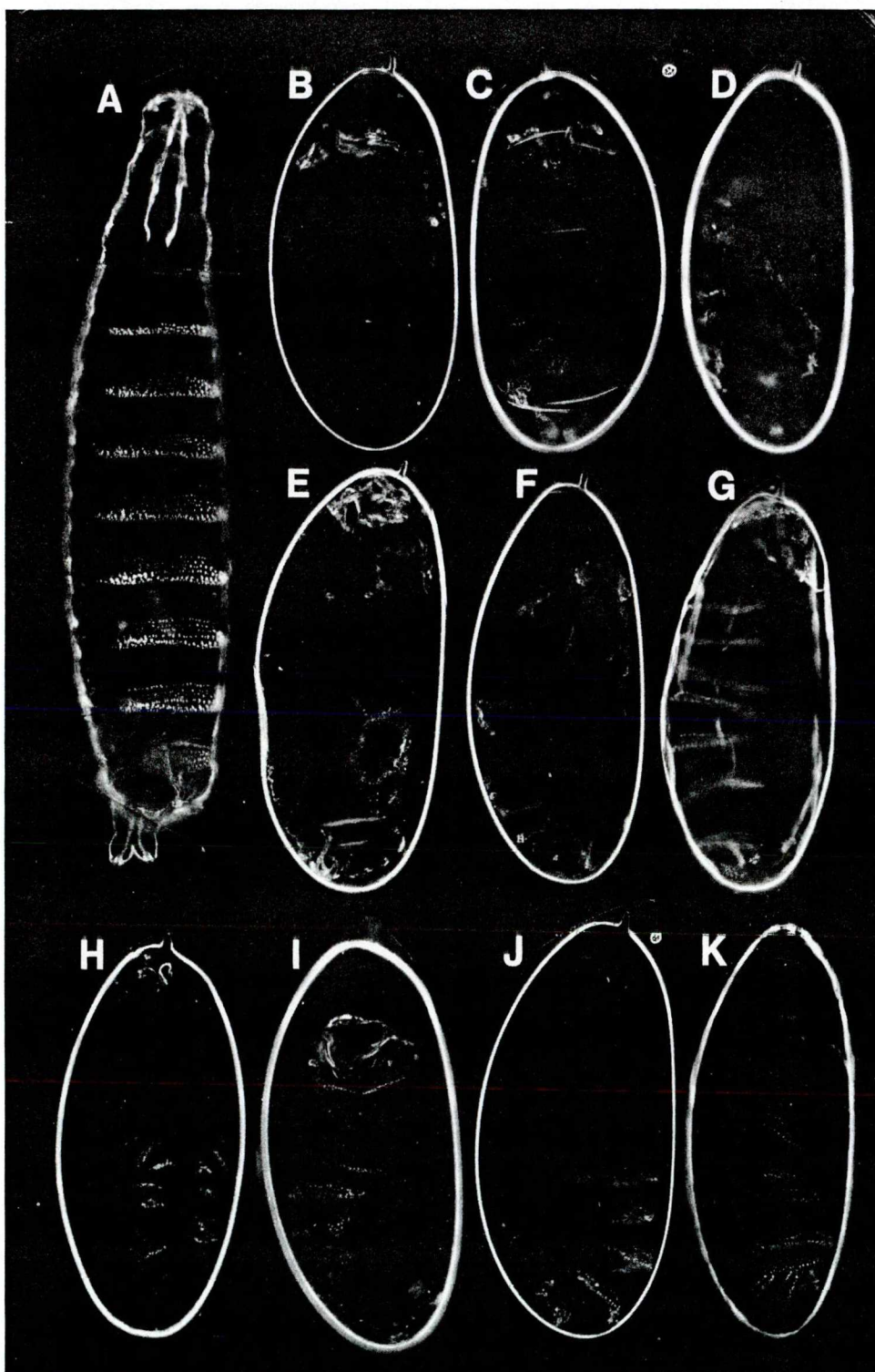
A recesszív (funkcióvesztéses) allélok fenotípusa ellentétes a dominánsával: bennük akron és telzon nem képződik, míg a középső struktúrák épek (Klingler és mtsai 1988, Strecker és mtsai 1989).

A *Told* eredetű embriók 15%-ában a fej és az első szelvények hiányoznak, vagy erősen csökevényesek. A *Vaja* mutáció is feji rendellenességeket eredményez. A fenotípus a genetikai háttértől függ, a majdnem vadtypustól a teljes fejhiányig változhat. A *Vaja* fenotípus emlékeztet a *Bicaudal^D* domináns nősténysteril mutáció fenotípusára (Mohler és Wieschaus 1986).

Az *Fs(3)* mutációk közül 21 okoz „késői” embrióletális fenotípust. A *Berzel^{B/1a}* és a *Berzel^{9a}* esetében csak alaktalan kutikula rögök képződnek a petékben (11. ábra). A *Keled* és a *Pilis* eredetű embriók 50%-ában olyan kutikulafoszlányokat láttunk, melyeken a sorstérkép leghátsó részén elhelyezkedő struktúrákat fedeztünk fel mint pl. a filzkörper (Jürgens 1987). Gyakran a hasi horogsorok nyomai is felismerhetők voltak (Hartenstein és mtsai 1985). A *Keve* eredetű embriókban csak a legelső és a leghátsó struktúrák fejlődnek ki (11. ábra). A *Palat*, *Rosd* és *Kavar^{21g}* fenotípusok fej torzulással írhatók le (11. ábra). A további két *Kavar* allél a *Kavar^{18c}* ill. a *Kavar^{21l}* fenotípusa különbözött a *Kavar^{21g}*-étől: az embrióknak mindössze 5%-a fejlesztett kutikulát és azokon is csak hátsó struktúrák látszódtak.

Öt új *Toll* és négy új *easter^D* allélt izoláltunk (3. táblázat 29. oldal). Fenotípusuk azonos a korábban leírt *Toll* és *easter^D* mutánsokéval. Mindannyian az ún. ventralizáló fenotípust mutatják: a hasi horogsorok oldalirányban kórosan megnövekednek az oldalsó ill. a háti struktúrák rovására (Anderson, és mtsai. 1985, Anderson és Nüsslein-Volhard 1986). A hasi jellegek túlnövekedését gyakran feji és telzondeфекtusok kísérik. A *Tevel* heterozigóta nőstények utódai szintén ventralizáló

fenotípusúak, amit mindig erős fejdefektus kísér A *Zolfa* eredetű embriók csaknem vadttípusúak, mindössze a fejevázuk ún. háti karja felfelé és kifelé áll.



11. ábra. „Késői” embrióletalitást eredményező *Fs(3)* mutációk fenotípusa. A: *Oregon-R* (vadttípus), B: *Berce1^{B1a}*, C: *Keve*, D: *Kavar^{1Bc}*, E: *Keled*, F: *Rosd*, G: *Berce1^{Ba}*, H: *Pilis*, I: *Palat*, J: *Toll^{Bc}*, K: *easter^{D5022}*

3.3. Térképezés

3.3.1. Térképezés nőstény ősvarsejtekben indukált mitotikus rekombinációval

Huszonkét *Fs(2)* mutációt röntgensugárzással indukált mitotikus rekombinációval térképeztünk. A besugarazott *Fs(2)* heterozigóta nőstények utódaiban a markermutációk mutáns és vad alléljainak előfordulási arányát figyeltük. Az *Fs(2)* mutációt nem hordozó kromoszómakaron lévő markermutációk esetében a mutáns és a vad allélok megközelítően 1:1 arányban jelentek meg, míg a nősténysteril allélt hordozó kar esetében az arány eltért az 1:1 aránytól (4. táblázat).

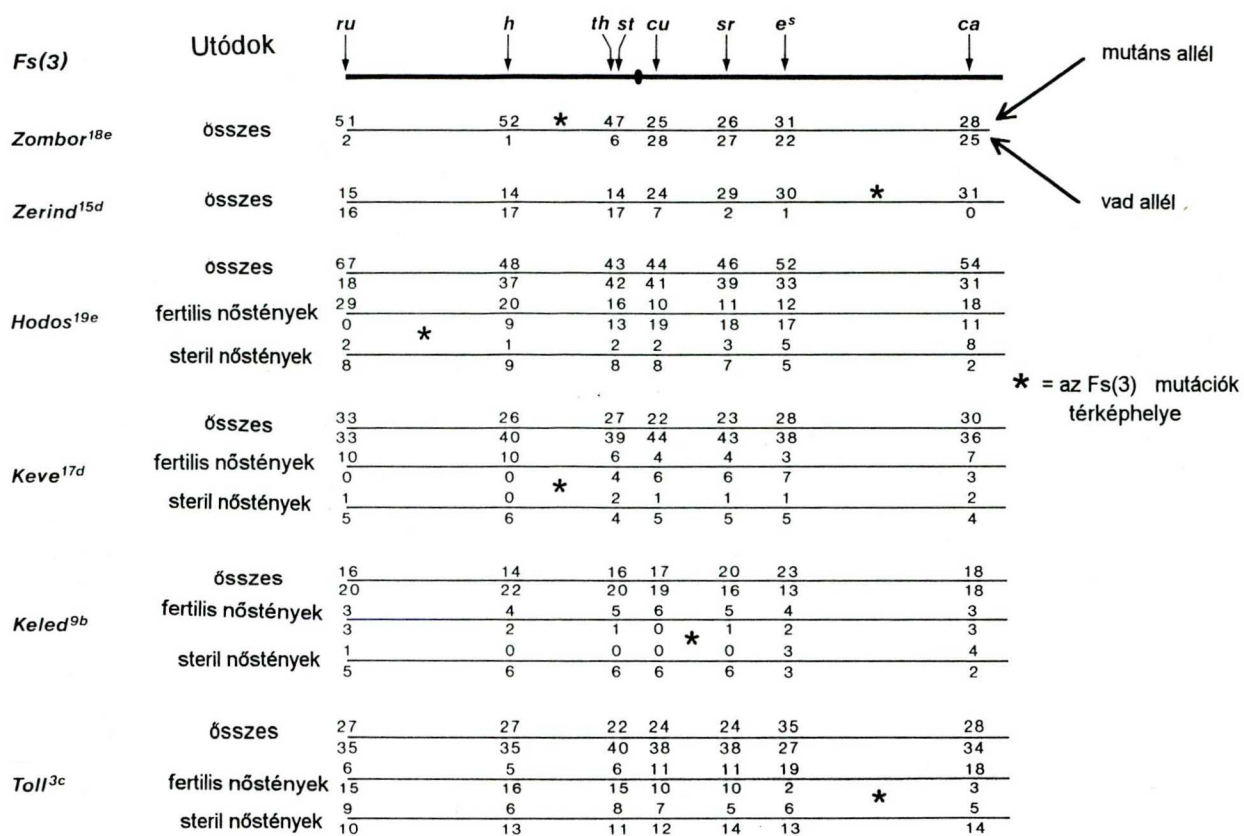
4. táblázat . *Fs(2)*mutációk térképezése mitotikus rekombinációval, az utódokban megjelenő alléloszlás alapján.

<i>Fs(2)</i> allélok	A markermutációk vad és mutáns alléljainak megjelenési gyakorisága az utódokban							térkép- helyzet
	<i>al/al</i> ⁺	<i>dp/dp</i> ⁺	<i>b/b</i> ⁺	<i>pr/pr</i> ⁺	<i>c/c</i> ⁺	<i>px/px</i> ⁺	<i>sp/sp</i> ⁺	
<i>Fs(2)1</i>	167/5	133/39	136/36	139/33	86/86	85/87	85/87	<i>al-dp</i>
<i>Barsa</i> ⁴	41/0	39/2	39/2	33/8	12/29	13/28	13/28	<i>al-dp</i>
<i>Kompolt</i>	72/0	72/0	66/6	44/28	26/46	29/43	29/43	<i>dp-b</i>
	<i>al/al</i> ⁺	<i>nub/nub</i> ⁺	<i>lt/lt</i> ⁺	<i>stw/stw</i> ⁺	<i>sca/sca</i> ⁺	<i>sp/sp</i> ⁺		
<i>Tekele</i>	34/0	33/1	22/12	12/22	11/23	9/25	<i>al-nub</i>	
<i>Ketel</i> ²	20/22	26/16	22/20	28/14	29/13	24/18	?	
	6/4	9/1	10/0	8/2	7/3	5/5	<i>nub-sca</i>	
	5/9	2/12	0/14	0/14	1/13	7/7	<i>nub-sca</i>	

A táblázatban szereplő utódok az *Fs(2)al dp b pr c px sp* vagy az *Fs(2)al nub lt stw sca sp* besugarazott nőstényektől és a megfelelő tesztlő (térképező) kromoszómára homozigóta hímek párosodásából jöttek létre.

Például a *Kompolt/al dp b pr c px sp* besugarazott nőstényektől 26 $ci46 c^+$ és 29 $pxí$ 43 px^+ fenotípusú utódot kaptunk. A bal karon az arányok a következők voltak: 72 $dpíO dp^+$ és 66 $bí 6 b^+$. Ezek alapján a *Kompolt* mutációt a *dp* és a *b* markermutációk közé térképeztük. Az *Fs(2)1/al dp b pr c px sp* heterozigóta nőstények besugárzása nyomán 167 *al* és 5 al^+ utód képződött. A 133 *dp* fenotípusú egyedre 39 dp^+ jutott. Ugyanakkor a jobb kar markermutációinak vad és mutáns alléljai megközelítően 1:1 arányban jelentek meg a tesztelő keresztezésből származó utódokban (4. táblázat). Az *Fs(2)1* mutációt a bal karra, az *al* és a *dp* markermutációk közé térképeztük. Az *Fs(2)1/al dp b pr c px sp* heterozigóták besugárzása után azonosított 5 al^+ fenotípusú utód megjelenését egyaránt magyarázhatja kettős mitotikus rekombináció, az *Fs* allél reverziója vagy az *Fs(2)1⁺/+* mozaikos petekezdemények kialakulása, amely lehetőségeket a 4.3. fejezetben részletezem.

Az *Fs(2)1* esetéhez hasonlóan, a várakozással ellentétben, a térképező kromoszómán lévő összes markermutáció vad és mutáns allélja megjelent a harmadik kromoszómás térképezési kísérletekben. Tizenegy estében a markermutációk mutáns és vad fenotípusának megjelenési aránya különböző volt a két kromoszóma karon, és az *Fs(3)* mutációk helyét a megjelenő markermutáció arányokból állapítottuk meg. Így térképeztük például a *Zombor* mutációt. A *Zombor/ru h th st cu sr e ca* nőstényeket sugaraztunk be és kereszteztük *ru h th st cu sr e ca* homozigóta hímekkel. Figyeltük a markermutációk alléljainak megjelenési arányát az utódokban. Amíg a jobb karon a mutáns és vad allélok aránya közel 1:1 volt, a bal karon lokalizált markermuációk esetében a következőket figyeltük meg: $ru:ru^+=51:2$, $h:h^+=52:1$, $th:th^+=47:6$. A *Zombor* mutációt a *h* és a *th* lókuszok közé térképeztük (12. ábra).

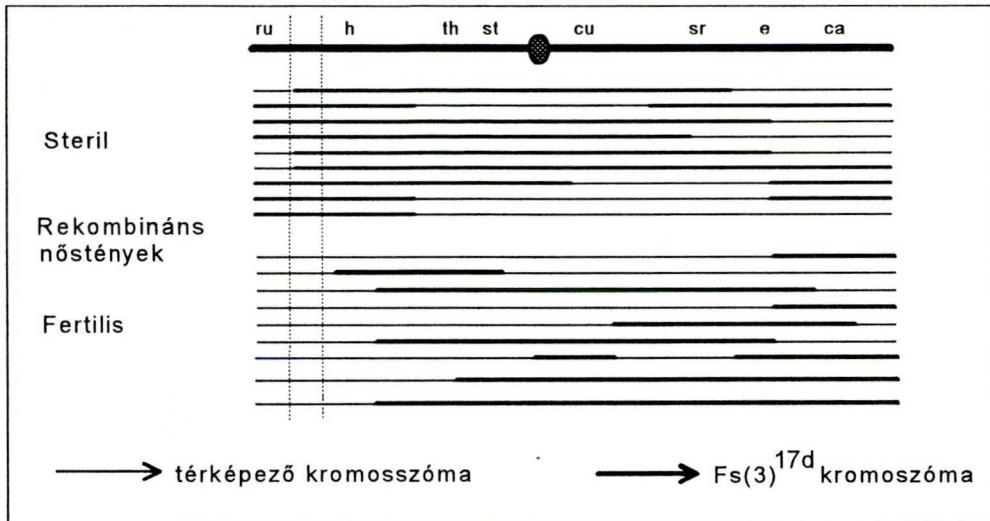


12. ábra. Az *Fs(3)* mutációk térképezése mitotikus rekombinációval A: az utódokban megjelenő allélgyakoriság alapján, B: az utódokba átjutott *Fs* allélok alapján.

Hasonlóan egyértelmű alléleloszlást tapasztaltunk a *Baksa*, *Zerind^{15d}*, *Tonuz*, *Kun*, *Kavar^{18c}*, *Kavar^{21l}*, *Tevel*, *ea^{D5022}*, *ea^{D12a}*, *ea^{D4102}* és a *Varas* nevű *Fs(3)* mutációk térképezésekor (3. táblázat 29. oldal).

Tizenkilenc *Fs(3)* mutáció esetében a marker mutációk mutáns és vad alléljai mindkét kromoszómakaron közel azonos arányban jelentek meg. Mind a 19 esetben az *Fs⁺* allélok mellett, várakozásunkkal ellentétben, az *Fs* allélok is megjelentek az utódokban. Ezeket az *Fs* mutációkat úgy térképeztük, hogy megvizsgáltuk a rekombináns nőstények fertilitását (12. ábra). Például a *Keve^{17d}* térképezése során a bal karon 33:33 (*ru*) 26:46 (*h*) mutáns:vad allélarányt figyeltünk meg. A jobb karon is a mutáns:vad arány közelítőleg 1:1 volt: 23 *sr*: 43 *sr⁺*, 30 *ca⁻*: 36 *ca⁺*. Az előzőek alapján a *Keve^{17D}* mutáció térképhelyét nem tudtuk meghatározni (4.3 fejezetet).

Megvizsgáltuk a rekombináns nőstények fertilitását. A fertilis rekombinánsokon a *th* *st* *sr* *e* *ca* markermutációk vad alléljai megjelentek (13. ábra).



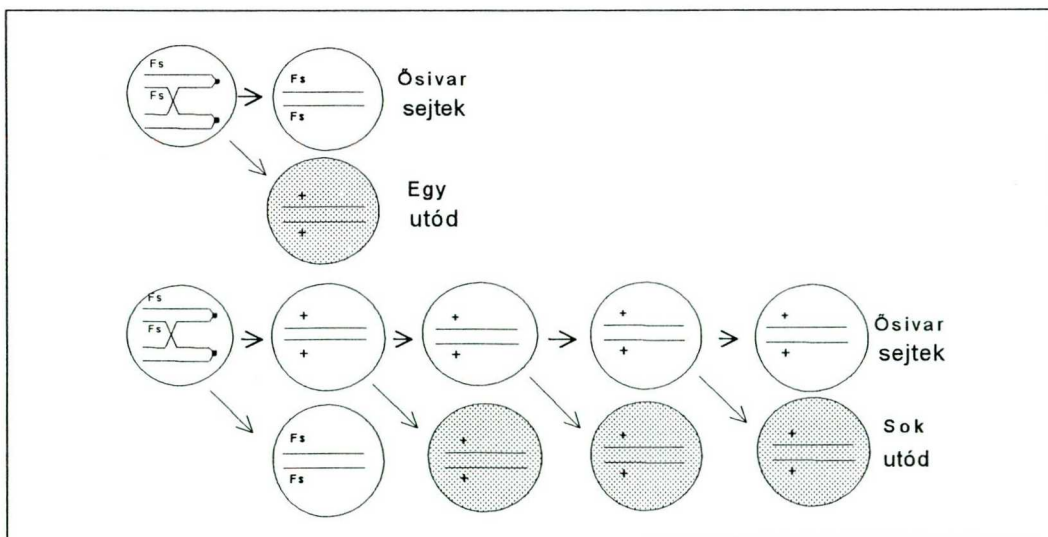
13. ábra. Térképezés a mitotikus rekombináció során az utódokba átjutott *Fs* allélok segítségével.

Vagyis ha a rekombináns kromoszóma *th-st-sr-e-ca* régiója az *Fs* kromoszómából származik a rekombináns nőstények fertilisek, ennek alapján az *Fs* allél a *th-st-sr-e-ca* szakaszon kívül, a *ru-th* intervallumban helyezkedik el. A steril rekombinánsok mindegyikének *h* kromoszómaregiója az *Fs* kromoszómából származott (mindegyik *h⁺* volt), jelezve hogy a *Keve^{17d}* mutáció a *h* régióba, a *ru* és a *th* markermutációk közé térképeződik.

Tizenkét *Fs(3)* mutáció esetében mindössze 3-8 utód származott az *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* besugarazott nőstényektől. Közülük négy (*Zerind⁴¹⁰⁴*, *Tomaj^{3a}*, *Bercel^{8/1a}* és *Kavar^{21g}*) allélikusnak bizonyult más, ismert térképhelyzetű *Fs(3)* allélokkal. A *Toll^{10b}*, a *Toll^{18a}* és az *ea^{D20n}* ismert térképhelyű anyai hatású letális mutációkkal allélikusak.

Miközben az *Fs*/*+* nőstényekben *+/+* klónokat indukáltunk, a mozaikosság jellemzőiből a térképezésen túl, az *Fs* mutációknak az ivarsejtekre gyakorolt hatására is következtettünk. Feltűnt, hogy az *Fs*⁺ klónok ritkák és kicsik voltak, továbbá később nyilvánultak meg. A *+/+* klónok gyakoriságát az *fs(1)K10* recesszív nősténysteril mutáció mitotikus rekombinációs adataihoz hasonlítottuk. Wieschaus és Szabad (1979) eredményei szerint az *fs(1)K10* heterozigóta kifejlett nőstények besugárzása után az első *fs(1)K10* peték a 9-12. napon jelennek meg. Mindössze hét *Fs* mutáció esetében figyeltünk meg a *fs(1)K10* kísérletben mért időtartamnak megfelelő értéket. A többi *Fs* allélt hordozó nőstény az első *Fs* mutációt nem hordozó petét, melyből utód fejlődött, a kontrollnál hosszabb idő, csak a 11-28 nap elteltével rakta (2. és 3. táblázat 28. és 29. oldal).

A legtöbb *Fs* mutáció esetében a mozaikos nőstények a várttól eltérő utódeloszlást mutattak. Az *Fs*/*+* ősvarsejtekből a mitotikus rekombinációt követően létrejött *Fs*⁺ leánysejtek két fejlődési utat követhetnek. Ha közvetlenül petekezdeménnyé válnak, belőlük csak egyetlen utód fejlődik. Ha megmaradnak differenciálatlan csírarsejteknek, belőlük sok *Fs* mentes petekezdemény, és sok utód származhat (14. ábra, Nöthiger és mtsai 1978, Wieschaus és Szabad 1979).



14. ábra. Az ősvarsejtek sorsa mitotikus rekombináció után.

A leánysejtek véletlenszerűen „választanak” a két fejlődési út közül így elméletben egy rekombinációs eseményt az esetek felében egy, másik felében egynél több utód jelez. Ha egy nőstény két ősvarsejtjében is történik rekombináció, két eset lehetséges: mindkét független rekombinációból egyetlen utód származik, ez az esetek egynegyedében következik be és két utódot eredményez. Ha az egyik, vagy mindkét rekombináció több utódhoz vezet, az esetek fennmaradó háromnegyed részében, természetesen kettőnél több utódra számíthatunk. Összességében az esetek több mint felében a nőstény ősvarsejtek mitotikus rekombinációja kettőnél több utódot eredményez. Ilyen utódeloszlást természetesen csak az ivarsejtfüggő *Fs* mutációk esetében várunk. Az elméleti eloszlást csupán az *Fs(2)1*, *Ketel¹*, *dl^{da}*, és *Told* második, és *Bercel^{9a}*, *Keled*, *Tevel* és *Palat* harmadik kromoszómás mutációk mozaik analízisekor figyeltünk meg (2. és 3. táblázat 28. és 29. oldal).

Az *Fs(3)Apc*, és az *Fs(3)Avar* mutációk esetében olyan klónt, amelyből csupán egy utód származott nem észleltünk. E két mutációról ivarsejt átültetésekkel bebizonyítottuk, hogy a mutáns fenotípus nem az ősvarsejtek genotípusától függ (3.6 fejezet). A fennmaradó *Fs* allélok sem az elvárt utódeloszlást mutatták. Az *Apc* és az *Avar* mutáció esetében az egy és két utódot produkáló nőstények száma haladta meg az elméleti értéket a kettőnél több utódú kategória rovására (2. és 3. táblázat 28. és 29. oldal). Összefoglalva az *+/+* klónok a vártnál később jelentek meg és eloszlásuk jellegzetesen eltorzult: az egyes és a kettes klónok aránya megnőtt a kettőnél több utódot létrehozó kategória rovására.

3.3.2. Mozaikos follikuláris sejtek

Az *Fs(2)Ugra* heterozigóták a 18-25. napon rakták le első életképes petéiket. Az *Ugra* mutációról ivarsejt és petefészkek kimérákkal kimutattuk, hogy a mutáns

fenotípus kialakításáért valamelyik petefészket alkotó testi eredetű sejtípus a felelős (3.6 fejezetet). Elvégeztük az *Ugra* mutáció részletes mozaik analízisét, hogy információt szerezzünk az *Fs* fenotípust kialakító sejtekről. Különbéféle fejlődési stádiumban *Ugra/lt bw* heterozigóta nőstényekben +/- klónokat indukáltunk röntgensugárral. A különböző életkorban besugárzott nőstények különböző arányban és számban raktak petéket. A blasztoderma korban 3,8 a korai harmadik stádiumos lárva korban 10,1 és az egy napos báb korban besugárzott nőstények 12,8 %-ától származtak vad típusú peték. A kifejlett nőstények 1,3 %-a rakott *Ugra+* petéket a besugárzás után (5. táblázat).

5. táblázat. Az *Ugra* mozaikosság jellemzői.

A besugárzás stádiuma	Nőstények			Nőstényenkénti klónszám ^a	Naponkénti klónszám	A napok száma az első klónig ^b	A peték %-a melyekből utód fejlődött	Rendellenes peték %-a
	megvizsgált	mozaik	%					
Kontroll	511	4	0.8	3.0 ± 2.4	0.14	—	22.1	41.7
Blasztoderma	1209	46	3.8	29.1 ± 56.0	2.01	3.8	69.2	4.7
Fiatal harmadik st. lárva	1059	107	10.1	5.8 ± 9.4	0.22	5.7	66.0	9.6
Egy napos báb	171	22	12.8	2.7 ± 1.8	0.13	7.9	32.0	24.7
Kifejlett nőstény	374	5	1.3	2.6 ± 1.5	0.11	17.7	17.2	46.2

a: A 24-28 napig tartó kísérleti idő alatt.

b: A napok száma a kikeléstől ill. a felnőtt besugárzás esetén a besugárzásról számítva. A klónok 95%-nak észrevételéhez a különböző stádiumokban a blasztoderma stádiumtól kezdve sorban 8, 12, 13 és 24 nap kellett.

A sugárzás nélküli kontroll nőstények 0,8%-ától származtak vad típusú peték. A blasztoderma korban indukált mozaik foltból nőstényenként 29,1 a fiatal harmadik stádiumos lárvaiban indukált foltból 5,8 az egy napos báb korban indukáltból pedig 2,7 *Ugra+* pete származott (5. táblázat). Az életkorral növekvő mozaik gyakoriság azt jelzi, hogy az *Fs* fenotípust kialakító sejtek őseiből embrió korban kevés, a későbbi életszakaszokban egyre több található a nőstények testében, az *Fs* fenotípusért

felelős sejtek klonális fejlődést mutatnak. A korai életszakaszban indukált +/- klónok a mozaik nőstény fejlődése során növekedhetnek, ezért a korai sugárkezelés kevés, de nagy mozaik foltot eredményez (Poulson 1950, King 1970). A későbbi életkorban történő besugárzás nagyobb számú, de kisebb +/- klónokat eredményezett. A klónméret csökkenésével az abnormális mozaikos peték aránya növekedett. A felnőtt nőstényekben indukált kisméretű +/- klónok 46.2 %-a nem volt elég nagy ahhoz, hogy a peteburok teljes mértékben vad típusú legyen, a lerakott peték felének burka mozaik volt. A blasztoderma korban történő besugárzás mindössze 5 % abnormális petét eredményezett. A +/- foltok gyakran aszimmetrikus kórionfüggelékeket alakítottak ki.

A felnőtt nőstényekben indukált klónok bizonyítják, hogy az *Fs* fenotípusért felelős sejtek kifejlett korban is osztódnak. A *Drosophila* petefészket alkotó testi sejtek közül csak a follikuláris sejtek osztódnak kifejlett korban, tehát a mozaik analízis adatai alapján az *Ugra* mutáció fókusza a follikuláris sejtekben van. Szabad és Hoffmann (1989) az *Fs(3)Apc* testi sejt függő mutációról szintén a klónanalízis módszerével bizonyították, hogy a mutáció fenotípusa a follikuláris sejtek genotípusától függ.

3.3.3. Nem teljes penetranciájú domináns nősténysteril mutációk

térképezése

A *Vaja* az egyetlen *Fs(2)* mutáció, amelynek sem penetranciája sem expresszivitása nem 100%-os. A *Vaja/al nub lt stw sca sp* nőstények mintegy 30%-ától néhány utód származott. Az *al nub lt stw sca sp* hímekkel végzett tesztelő keresztezésből származó utódokban figyeltük a *Vaja* és a térképező kromoszóma

aléljainak megjelenését. Tizenhárom rekombinációt detektáltunk az *al-Vaja* és 36-ot a *Vaja-nub* lokuszok között. Figyelembe véve az *al* (2-O.1) és a *nub* (2-47.0) lokuszok helyzetét és azt, hogy a köztük lévő távolságot a *Vaja* rekombinánsok 13:36 arányban osztják, a *Vaja* mutációt a 2-15.1 pozícióba térképeztük.

Nyolc *Fs(3)* mutáció penetranciája és expresszivitása nem volt teljes a *ru h th st cu sr e ca* kromoszómával transz-heterozigóta állapotban. A heterozigóták 10-100%-a rakott olyan petéket melyekből utódok származtak. A *Kartal*⁴⁰²³, *Levente*^{3f}, *Pudur*⁵⁰²¹, *Rosd*^{21r}, *Toll*^{2b}, *Toll*²⁰ⁱ, *Vencellin*⁴⁰²² és *Zolta*^{20e} mutációk helyét meiotikus térképezéssel állapítottuk meg (6. táblázat).

6. táblázat. A nem teljes penetranciájú *Fs(3)* mutációk jellemzői.

<i>Fs(3)</i>	A fertilis nőstények %-a ^a	Térkép-helyzet	A rekombinánsok száma	Revertánsok		Hím rekombináció				Ivarsejtkimérák			
				EMS	Röntgen	Utódok			A rekombinánsok száma	A vizsgált nőstények száma	A kimérák száma		
						Összes	Rekombináns	%			Térkép-helyzet	<i>Fs(3)</i>	Kontroll
<i>Kartal</i> ⁴⁰²³	100	cu-ca	60	5/149	2/749	2246	45	2.0	cu-sr	4	14	3	1
<i>Levente</i> ^{3f}	10	80.7	58			7299	126	1.7	cu-ca	19	12	4	2
<i>Pudur</i> ⁵⁰²¹	23	ru-cu	4	5/194	1/2709	3344	57	1.7	st-cu	12	18	3	5
<i>Rosd</i> ^{21r}	14	cu-sr	3	4/1375		5035	50	1.0	cu-sr	5	20	2	4
<i>Toll</i> ^{2b}	23	89.5	80		2/820						37	8	8
<i>Toll</i> ²⁰ⁱ	65	89	10	1/1875		7158	77	1.1	sr-ca	8			
<i>Vencellin</i> ⁴⁰²²	81	28.1	54	1/675	1/688								
<i>Zolta</i> ^{20e}	26	cu-sr	7										

a: az *Fs(3)\ru h th st cu sr e ca* genotípusú, fertilis nőstények aránya.

3.3.4. Térképezés hímvarsejt-vonalban indukált mitotikus rekombinációval

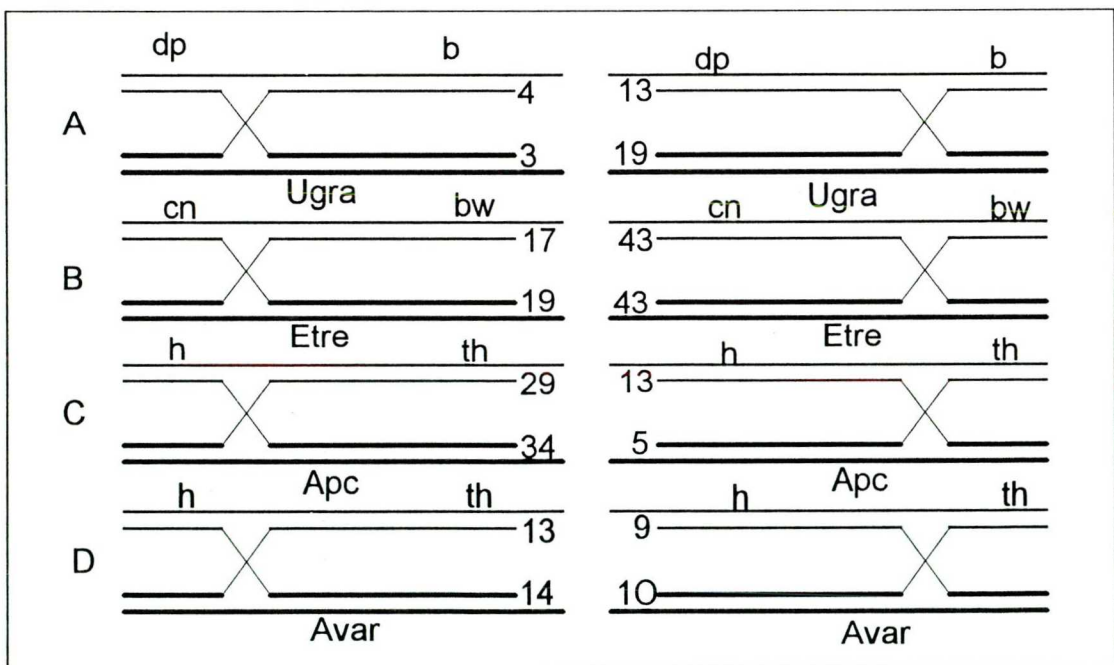
torso^{D4021}/al nub lt stw sca sp fiatal bábokban indukáltunk mitotikus rekombinációt röntgensugárzással. Kiválogattuk a hímeket, majd tesztelő keresztezést végeztünk velük. Az utódok 0,4 %-a, 10959-ből 44 volt rekombináns. A nőtény rekombinánsokat megvizsgáltuk, hogy vajon az *Fs* vagy *Fs⁺* allélt hordozzák. A huszonegy nőtény rekombináns közül két *al⁺ nub⁺ lt⁺ stw⁺ sca sp* fenotípusút azonosítottunk. Az egyik hordozta a *torso^{D4021}* mutációt, *torso^D* fenotípusú, életképtelen petéket rakott, a másik fertilis volt. A fertilis nőtényt a *stw* és *torso^{D4021}* közötti rekombináció okozta. A *steril* nőtény *torso^{D4021}* és *sca* között rekombináns kromoszómát hordozott. A *torso^{D4021}* mutációt a *stw* és a *sca* marker mutációk közé térképeztük.

A harmadik kromoszómás *Fs* mutációk közül 16-ot térképeztünk indukált hímrérekombinációval (3. és 6. táblázat 29. és 47. oldal). *Fs(3)/ ru h th st cu sr e ca* hímbábokat sugaraztunk be. Megvizsgáltuk a tesztelő keresztezésből származó rekombináns utódok fertilitását. Az adatokat a hagyományos meiotikus térképezés szabályai szerint értékeltük. Kontrollként azt az *mwh e* kromoszómát használtuk amelyen az *Fs(3)* mutációk zömét indukáltuk. *mwh e/ru h th st cu sr e ca* fiatal bábokat sugaraztunk be az *Fs* térképezési kísérletekkel azonos körülmények között. Az utódok 1,5%-a volt rekombináns (175/11663). A harmadik kromoszómás hímrérekombinációs kísérletekben 0,8-2%-os indukált rekombinációs gyakoriságot tapasztaltunk (3. és 6. táblázat 29. és 47. oldal).

3.3.5. Testi sejt függő domináns nősténysteril mutációk térképezése

Fs(2)Ugra és *Fs(2)Etre* ivarsejtkimérákat állítottunk elő. A vad típusú testi sejteket és a testi sejt függő *Fs/+* heterozigóta ivarsejteket hordozó kiméra nőstények fertiliznek, ivarsejtjeikben meiotikus rekombinációk zajlanak le (3.6 fejezet). A kiméráktól származó rekombináns utódok tesztelhetők az *Fs* allélok jelenlétére ill. hiányára.

Az *Fs(2)Ugra/al dp b pr c px sp* ősvarsejtekből és vad típusú testi sejtekből álló kimérákat *al dp b pr c px sp* hímekkel pároztattuk. Az utódok között a következő rekombinánsok képződtek; 3 *dp-Ugra-b⁺*, 4 *dp⁺-Ugra⁺-b*, 13 *dp-Ugra⁺-b⁺* és 19 *dp⁺-Ugra-b*. A *dp-Ugra* és az *Ugra-b* lókuszek közötti rekombinációk aránya 7:32. A *dp* (2-13.0) *b* (2-48.5) távolságot 7:32 arányban osztva az *Ugra* lókuszek helye 2-19.4 (15. ábra A).



15. ábra. A: az *Fs(2)Ugra*, B: az *Fs(2)Etre*, C: az *Fs(3)Apc* és D: az *Fs(3)Avar* mutációk meiotikus térképezése ivarsejtkimérák segítségével.

Az *Etre/cn bw sp* ivarsejtek és vad típusú testi sejtek alkotta kimérákat használtunk az *Etre* mutáció térképezésére. 19 *cn-Etre-bw⁺*, 17 *cn⁺-Etre⁺-bw*, 43 *cn-Etre⁺-bw⁺* és 43 *cn⁺-Etre-bw* rekombináns alapján az *Etre* mutációt a 2-71.4 pozícióba térképeztük (15. ábra B).

Az *Fs(3)Apc* és az *Fs(3)Avar* testi-sejt függő mutációkat is kimérákkal térképeztük. Bennük az *Fs(3)/ru h th st cu sr e ca* ivarsejteket vad típusú testi sejtek vették körül. Az *Apc* mutáció esetében a 34 *h-Apc-th⁺*, 29 *h⁺-Apc⁺-th*, 13 *h-Apc⁺-th⁺* és az 5 *h⁺-Apc-th* rekombináns a *h-th* távolságot 63:18 arányban osztotta. A *h* (3-26.5) és a *th* (3-43.2) lókuszt térképhelyzete alapján az *Apc* lókuszt a 3-39.5 térképhelyre illesztettük (15. ábra C).

Hasonlóan a 14 *h-Avar-th⁺*, 13 *h⁺-Avar⁺-th*, 9 *h-Avar⁺-th⁺* és a 10 *h⁺-Avar-th* kimérától származó rekombináns utód alapján az *Avar* a *h-th* távolságot 27:19 arányban osztja, ami alapján az *Avar* lókuszt a 3-36.3 térképhelyre tettük (15. ábra D).

3.4.1. A domináns nőstény steril mutációk fenotípusos reverziója EMS-sel és röntgensugárzással.

A fenotípusos revertánsokat (Fs^R) a domináns steril allélok második, EMS-sel vagy röntgensugárzással indukált mutagenézisével állítottuk elő. Az Fs^R allélokkal végeztük el a komplementációs kísérleteket, ill. határoztuk meg néhány esetben az *Fs* lókusztok funkcióvesztéses fenotípusát. Az EMS-indukált revertánsokat Fs^{RE} , a röntgensugárzással indukáltakat Fs^{RX} -szel jelöltük.

Az *Fs(2)* mutációk eltérő gyakorisággal revertáltak. Amíg átlagosan kb. háromszáz *Tarhos* hordozó mutagenizált kromoszómán egy revertáns képződött, addig az *Ugra* esetében 6900-ból csak egy. Az újra mutagenizált második kromoszó-



más domináns nősténysteril mutációkból átlagosan kb. minden ezredik revertált az EMS kezelés hatására. A *Told* mutáció revertánsai részlegesen megőrizték a domináns steril fenotípust. A *Billa* és *Tekele* kivételével mindegyik *Fs(2)* allélnak előállítottuk legalább egy (összesen 98) fenotípusos revertánsát (2. táblázat 28. oldal).

Az *Fs(3)* mutációk közül a *Toll^{10b}* revertált a legkönnyebben: a 219 EMS-kezelt kromoszómán három reverzió következett be. Ezzel szemben a 4225 mutagenizált *Botond* allél közül csak egy revertált. Átlagban 350 mutagenizált *Fs(3)* kromoszómán következett be egy fenotípusos reverzió. Az átlagos reverziós gyakoriságot jóval meghaladó számban vizsgáltunk meg (2938 EMS-sel, 3730 röntgensugárzással) mutagenizált *Apc* mutációt hordozó kromoszómákat, de közülük egy sem hordozott revertáns allélt. Az *Apc*, *Avar*, *Farkas*, *Levente*, *Pilis*, és *Zolta* mutációk reverzánsait sem EMS-sel sem röntgensugárzással nem sikerült előállítanunk. Az egyetlen *Botond^R* allél részlegesen megőrizte a domináns steril fenotípust. A *Botond^R* heterozigóta nőstényektől származnak ugyan utódok, de a peték nagyrésztében az embriók elpusztulnak. Végeredményben 44 *Fs(3)* mutáció 113 revertánsát állítottuk elő (3. és 6 táblázat 29. és 47. oldal).

3.4.2. Az *Fs(3)Laborc^{17c}* mutáció transzpozon indukált reverziója

A transzpozonnal indukált revertánsok előállításáért P típusú, kb. ötven „P” elemet tartalmazó *Laborc^{17c}/TM3*, *Sb Ser* hímekeket kereszteztünk „P”elem mentes két balanszerkromoszómát hordozó nőstényekhez. Mind a hím mind a nőstény utódok ivarsejtjeiben a transzpozonok aktiválódtak, mutációkat indukálhattak. Összesen 30690 mutagenizált hímivarsejtből származó nőstényt vizsgáltunk meg anélkül,

hogya *Laborc*^{17c} allél reverziójának nyomát láttuk volna. Ugyanakkor a 6963 mutagenizált nőstény egyikétől 3 utód származott. A három utódot minden bizonnyal egyazon genetikai esemény okozta. A transzpozon az ősvarsejtben indukálta a reverziót és mind a három utód egyetlen, a reverziót hordozó ősvarsejt leszármazottja. Mindhárom utódból törzset alapítottunk, de a továbbiakban azonos revertánsnak tekintettük őket.

A *Laborc* lókuszbba inszertálódott „P” elemet genetikai módszerrel mutattuk ki. A transzpozonnal indukált *Laborc*^{17cRP} allélt hordozó egyedekkel újra „P” elemet aktiváló keresztezéseket végeztünk, hogy a reverziót okozó „P” elemet az *Laborc* lókuszból eltávolítsuk. Ha a transzpozon eltávolítása az eredeti *Fs* fenotípus visszaállítását eredményezi, úgy az *Fs* allél reverzióját valóban „P” elem inszerció okozta. Kilencszázötvenkilenc *Laborc*^{17cRP} kromoszómát vittünk „P” elemet aktiváló genetikai környezetbe. Huszonegy esetben visszaállt az eredeti *Fs* fenotípus, tehát a *Laborc*^{17cRP} valóban egy „P” elem indukált allél.

3.5. Komplementációs analízis

Az *Fs* és a belőlük készített revertáns allélok heterozigóta kombinációban néhány kivételtől eltekintve életképtelenek. A letalítás egyaránt lehet az *Fs* lókuszbok jellegzetessége, vagy azoknak az ún. second-site letális mutációknak a következménye, amelyek az *Fs* allélok indukációjakor képződtek. Ugyanazon *Fs* allél revertánsai transz-heterozigóta kombinációban általában életképtelenek. Mivel a letalítás az *Fs* kromoszómán indukált letális mutációk következménye is lehet, a letális fenotípust nem jellemeztük.

A huszonnégy *Fs(2)* mutáció közül huszonegyet vontunk be a komplementációs kísérletekbe. (A *Billa* és *Tekele* alléloknak nincs revertánsa, a *Told* revertánsai részlegesen megőrizték a domináns fenotípust 3.4.1 fejezet.) A különböző *Fs* allélok revertánsai általában komplementálták egymást: a transzheterozigóta nőstények életképesek és fertilisek voltak. Három, több *Fs* alléllal azonosított komplementációs csoportot azonosítottunk. A *dorsal^D* allélok revertánsaira heterozigóta nőstények sterilek, petéikben ún. dorzalizáló embriók fejlődtek, amelyeknek nem képződik hasi oldaluk és elpusztulnak (Nüsslein-Volhard és mtsai 1980). A *Barsa* revertánsok nem komplementálták egymást: revertánsaik transzheterozigóta állapotban elpusztultak. A *Ketel* komplementációs csoportot három domináns allél és azok revertánsai alkotják. A *Ketel* nem komplementáló fenotípusa szintén letalitás. Végeredményben a 21 *Fs(2)* allél 13 komplementációs csoportot alkot.

Az *Fs(2)* revertánsokat néhány korábban azonosított recesszív nősténysteril alléllal is komplementáltuk. Kiderült, hogy négy *Fs(2)* mutáció a *dorsal* gén domináns allélja. Revertánsaikra és a *dorsal* mutációra heterozigóta nőstények életképesek, de sterilek. Petéikben ún. dorzalizáló embriók fejlődtek. A *torso^{D4021}* revertánsai a *torso* recesszív nősténysteril allélokot nem komplementálták. A transzheterozigóta nőstényektől származó embriók a jellegzetes *torso* fenotípust mutatták: az embriók nem szelvényezett ún. terminális észkei hiányoztak, ami miatt elpusztultak (Schüpbach és Wieschaus 1986). A *torso^{D4021}* mutáció a *torso* gén domináns allélja. A *Barsa* és *Dorog* mutációkat hordozó nőstényektől származó petéken a hátoldali kóron függelékek rövidebbek és szélesebbek a vadtypusénál ez a „ventralizáló” kóronmintázat hasonlít a *gurken* és *torpedo* fenotípusra. A *Barsa* és *Dorog* revertánsok komplementálták a *gurken* és *torpedo* fenotípust. A komplementációs

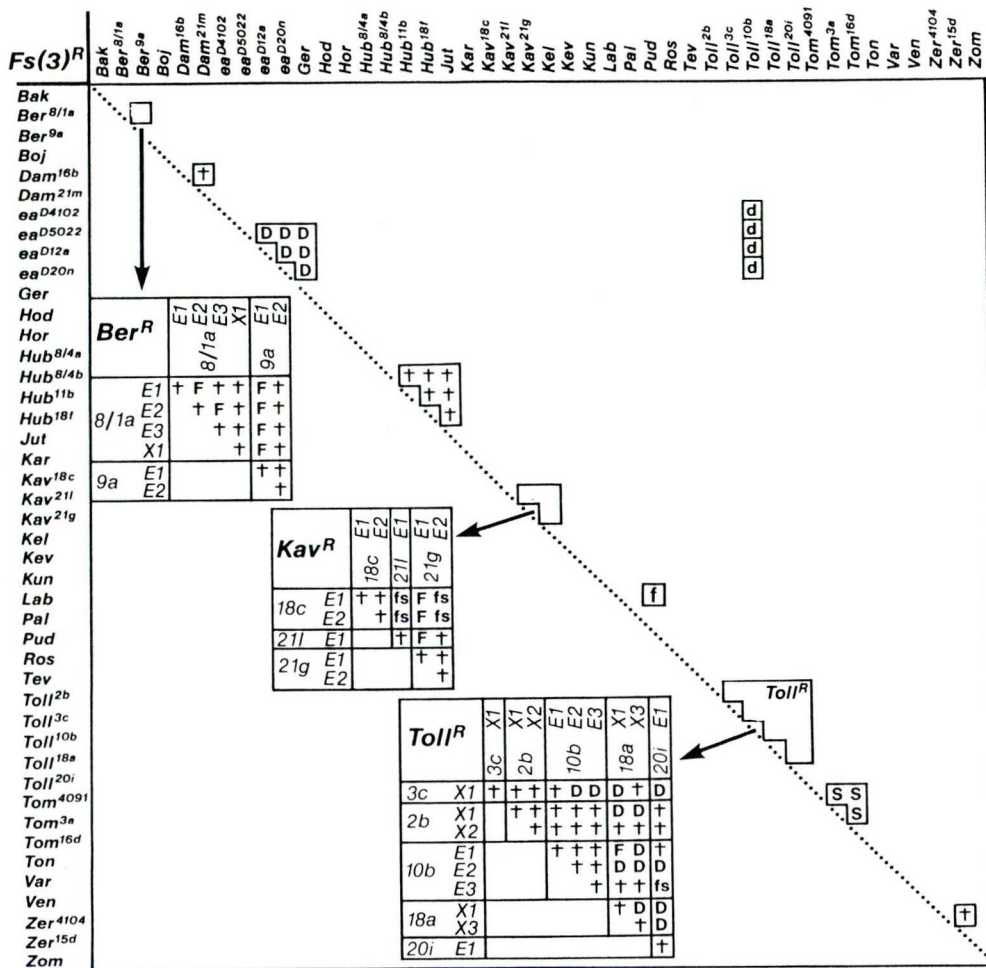
kísérletekben még a következő, a peteképzés ill. az embriogenezis irányításában szerepet játszó recesszív nősténysteril allélok szerepeltek (ld. még a függelék is). A *torpedo*, *exuperantia*, *staufen*, *trunk*, *tudor*, *vasa* és *valois* melyek domináns alléljait az *Fs(2)* mutánsok egyike sem azonosítja. A *Vaja* domináns fenotípusa emlékeztet a *Bicaudal^{D71.34}* fenotípusra (Mohler és Wieschaus 1986, ld. még a függelék is). A nem 100 %-os penetranciájú *Bicaudal^{D71.34}* és *Vaja^R* heterozigóták sterilek, az általuk rakott peték 50 %-ában *Bicaudal^D* fenotípusú embriók fejlődnek. A részleges komplementáció és a hasonló fenotípus alapján úgy gondoljuk, hogy a *Vaja* mutáció a *Bicaudal^D* gén új allélja.

Összesen 44 *Fs(3)* mutáció 113 revertánsával végeztünk komplementációs analízist. Az *Apc*, *Avar*, *Farkas*, *Levente*, *Pilis*, és *Zolta* mutációknak nincsenek revertánsaik, a *Botond^R* allél részleges revertánsnak bizonyult (3.4.1 fejezet). Először a revertánsokat az eredeti *Fs* alléjaikkal kombináltuk. Az *Fs* allélokkal egyszerre indukált recesszív letális mutációk miatt -két kivétellel- az *Fs/Fs^R* heterozigóták életképtelenek. A *Keve/Keve^{Rx2}* genotípusú nőstények életképesek és fertilisek. A *Tevel* mutációnak hét fenotípusos revertánsát állítottuk elő. Mind a hét életképesnek bizonyult a *Tevel* domináns alléllal heterozigóta formában. A *Tevel/Tevel^R* nőstények steril fenotípusa a *Tevel/+* heterozigótákéval azonos volt. A *Keve^{Rx2}* és a *Tevel^R* allélok valószínűleg nem *Fs* revertánsok, hanem rekombináció révén jöttek létre, vagy domináns szupresszor mutációt képviselnek. Ugyanazon *Fs* mutációk revertánsai transzheterozigóta állapotban általában életképtelenek voltak. Mivel a letalitást az *Fs* mutációkkal együtt indukált recesszív letális mutációk is okozhatták a letális fenotípust nem határoztuk meg.

Az *Fs* mutációkat fenotípusuk szerint két csoportba soroltuk. A „korai” embrióletális csoportot képező mutáns nőstények embriói a blasztoderma stádium

előtt elpusztulnak. A „késői” csoportba tartozó mutánsok embrióiban lárvális kutikula is kialakulhat. A komplementációt az azonos fenotípusos csoportba tartozó *Fs(3)* mutációk revertáns alléljaival végeztük el. A különböző *Fs(3)* allélok revertánsaiból képzett heterozigóta kombinációk általában komplementálták egymást: életképesek és fertilibek voltak. Harminckét nem komplementáló allélpárt azonosítottunk. Azaz eredményeket az 16. ábra foglalja össze.

Nyolc, több allélból álló komplementációs csoportot azonosítottunk. A *Berce^{9a}* mutáció két revertánsát állítottuk elő. A *Berce^{9aRE2}* letális, a *Berce^{9aRE1}* életképes és fertilis a négy *Berce^{8/1a}* revertáns alléllal heterozigóta formában. A *Berce^{8/1a}* és *Berce^{9a}* mutációt egy komplementációs csoportba soroltuk, mert figyelembe vettük, hogy azonos kromoszóma szakaszra térképeződnek és hasonló fenotípussal rendelkeznek. A *Zerind^{15d}* mindhárom revertáns allélja letális volt a három *Zerind^{4104RE}* alléllal heterozigóta formában. A *Huba^{8/4a}*, *Huba^{8/4b}*, *Huba^{11b}* és *Huba^{18f}* mutációk revertánsai nem komplementálják egymást, a transzheterozigóták letálisak voltak. A *Tomaj⁴⁰⁹¹*, *Tomaj^{3a}* és *Tomaj^{16d}* revertánsok szintén nem komplementálják egymást. A revertáns mutációkra transzheterozigóta nőstények sterilek. Mind a hét *Damasa^{21m}* revertáns steril fenotípusú a *Damasa^{16bRe1}* és *Damasa^{16bRe2}* allélokkal transzheterozigóta állapotban. A *Kavar* mutációk komplementációs mintázata összetett: letális, fertilis és steril allélkombinációk is léteznek. A *Kavar^{18cRE2}/Kavar^{21eRE1}* transzheterozigóta nőstények sterilek, petéikben a fej rendellenességeket mutató embriók fejlődnek. A másik három recesszív steril kombináció „korai” anyai hatású embrióletális fenotípust mutat: az embriók elpusztulnak mielőtt elérnék a blasztoderma fejlődési stádiumot (16. ábra).



† : letális kombináció, S:nőtényszeril kombináció, fs:nőtényszeril kombináció, D:dorzalizáló fenotípus, F:fertilis kombináció.

16. ábra. Az $Fs(3)$ mutációk revertánsainak komplementációja

A „késői” embrióletalitást okozó $Fs(3)$ mutációk revertánsait harmadik kromoszómás az ún. *dorsal* csoportba tartozó recesszív anyai hatású letális allélokkal is komplementáltattuk. Az *easter*, a *nudel*, a *pelle*, a *pipe*, a *snake*, a *spatzle*, a $Toll^{9QRE}$ és a *tube* recesszív allélok szerepeltek a komplementációban (Anderson, és mtsai 1985, Anderson és Nüsslein-Volhard 1986, Id még a függelék is). Négy Fs mutáció összesen tíz revertáns allélja nem komplementálja az *easter* mutációt: transzheterozigóta állapotban életképes, de steril nőtények fejlődnek. Petéikben az *easter* lókuszt funkcióvesztéses „dorzalizáló” fenotípusát mutató elhalt

embriókat mutattunk ki. Az *easter*^{D4102}, az *easter*^{D5022}, az *easter*^{D12a} és az *easter*^{D20n}, a négy új *easter* domináns allél revertánsai egymást sem komplementálták: a transzheterozigóták sterilek voltak, petéikben „dorzalizáló” fenotípusú embriók fejlődtek. Öt *Fs(3)* mutáció kilenc revertáns allélja a *Toll*^{9^{QRE} allélt nem komplementálta. (A *Toll*^{9^{QRE} a *Toll* gén funkcióvesztéses allélja). A heterozigóta nőtények sterilek, a tőlük származó embriók „dorzalizáló” fenotípusúak voltak. Az öt, általunk azonosított *Toll* allél revertánsaival komplementációs analízist végeztünk. A transz-heterozigóták sterilek, vagy letálisak voltak. A steril nőtényektől származó embriók a *Toll* funkcióvesztéses „dorzalizáló” fenotípust mutatták. Összességében a 44 *Fs(3)* mutációt 27 komplementációs csoportba soroltuk.}}

3.6. A domináns nőténysteril mutációk fókuszának meghatározása kimérák segítségével

Amikor az *Fs/+* heterozigóta nőtényekben röntgensugárzással *+/+* klónokat indukáltunk, a mozaik nőtények nem várt utódeloszlást mutattak. Harminckét esetben az *Fs* mutáns allél átöröklődött az utódokra a klónindukció után (2. és 3. táblázat 28. és 29. oldal). Ez a jelenség utalhat testi, esetleg folliculáris sejt függő domináns nőténysterilitásra. Ivarsejtkimérákat állítottunk elő, hogy megvizsgáljuk vannak-e az *Fs* allélok között olyanok, amelyek fenotípusa a testi sejtek genotípusától függ.

Az *Fs(2)/al dp b pr c px sp* vagy *Fs(2)/cn bw pr* ivarsejtekből és ép testi sejtekből álló kimérák fertilitását vizsgáltuk. Húsz *Fs(2)* mutációt teszteltünk így. (A *Barsa*⁴ mutációnak három, a *dorsa*^{D6}, *dorsa*^{D7} mutációknak két másik *Fs* allélja van,

ezért fókuszukat külön nem határoztuk meg. Az *Fs(2)1* mutáció fókuszát a mitotikus rekombinációval indukált klónok egyértelműen az ivarsejtekre térképezik.) Tizennyolc esetben az *Fs* alélt hordozó ivarsejtek az ép testi sejtek környezetében mutatták a jellegzetes nősténysteril fenotípust és a kimérák sterilek voltak (2. táblázat 28. oldal). Az *Fs(2)* mutációk többségében (18/20) az ősvarsejtek *Fs* jellege elegendő a domináns fenotípus kialakításához.

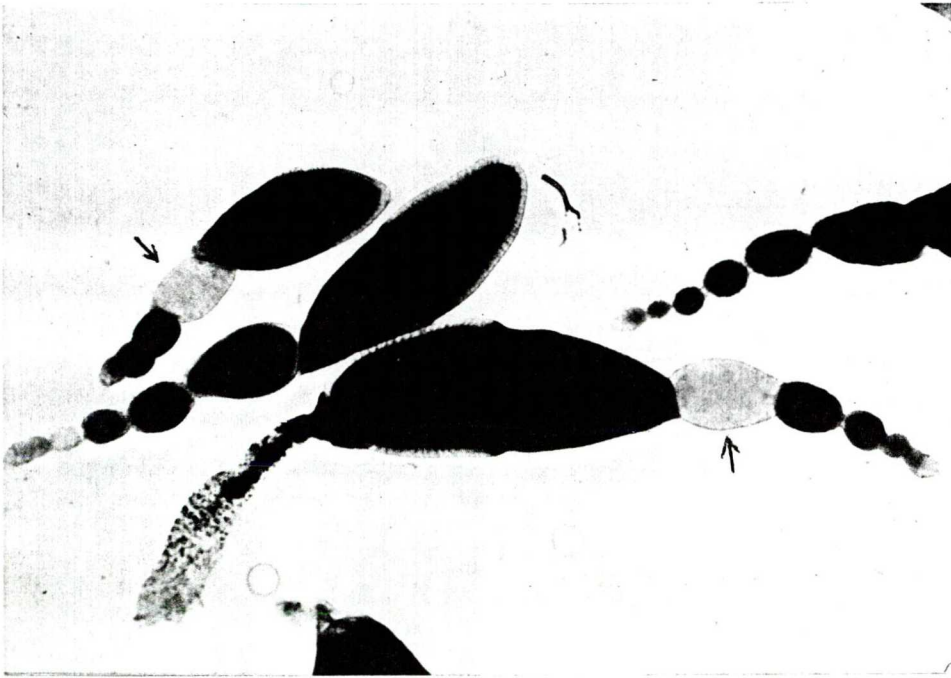
Az *Ugra/al dp b pr c px sp* és az *Etre/cn bw pr* ivarsejtekből és ép (+/*Fs(1)K1237*) testi sejtekből álló kimérák fertilisek voltak jelezve, hogy az *Ugra* és *Etre* mutációk fenotípusa nem ivarsejtfüggő. Ezt az eredményt a következő transzplantációkkal erősítettük meg: *Ugra/Cy Roi*, *Etre/Cy Roi* hímek és *al dp b pr c px sp* és *cn bw sp* nőstényektől származó embriókba *y v f mal* embrionális ivarsejteket ültettünk. A kifejlődő *Ugra/al dp b pr c px sp* és *Etre/cn bw sp* testi sejteket hordozó kimérák sterilek voltak. Tehát az *Ugra* és *Etre* fenotípus kialakításáért valóban a testi sejtek a felelősek (7. táblázat).

7. táblázat. Az *Ugra* és *Etre* testi sejtekből és ép ivarsejtekből összetevődő ivarsejtkimérák adatai.

Az embriók szülei		Gazda nőstények	A kimérák típusa		
Donor	Gazda		+/ <i>Fs(2)</i>	+/ <i>Cy Roi</i>	
+/+ ^a X <i>Ugra/Cy Roi</i>	+/+ ^b X K1237/ <i>Y</i>	5 1	6	3	
+/+ ^c X <i>Etre/Cy Roi</i>	+/+ ^b X K1237	3 1	4	8	
Az embriók szülei		Gazda nőstények			
Donor	Gazda	+/ <i>Fs(2)</i>		+/ <i>Cy Roi</i>	
		összes	Kiméra	összes	Kiméra
+/+ ^d X +/ <i>Y</i>	+/+ ^a X <i>Ugra/Cy Roi</i>	2 0	4	3 0	6
+/+ ^d X +/ <i>y</i>	+/+ ^c X <i>Etre/Cy Roi</i>	1 5	6	1 7	9

a: *al dp b pr c px sp*, b: *Oregon R*, c: *cn bw sp*, d: *y v f mal*

A transzplantáció sikerességét két bizonyíték mutatja. Először a kimérák petefészkeit aldehid oxidáz aktivitásra megfestettük, bennük kimutattuk a *y v f mal* ivarsejtekből származó petekezdeményeket. Másodszer a belső kontrolloktól, a *Cy Roi/al dp b pr c px sp* és *Cy Roi/cn bw sp* kiméráktól származtak *y v f mal* utódok (17. ábra, 7.táblázat).



17. ábra. Az *Ugra/al dp b pr c px sp* gazdába ültetett *mal* ivarsejtekből felnőtt korban aldehid oxidáz, nem festődő petekezdemények fejlődtek, amelyeket az ábrán nyíllal jelöltünk.

A két testi sejt függő *Fs(2)* mutáció fókuszát lárvális petefészkek átültetéssel pontosítottuk. *Ugra/+* és *Etre/+* genotípusú harmadik stádiumos lárvából petefészkeket ültettünk át testi sejtjeiket illetően vad fenotpusú (valójában *+/FS(1)1237* lárvákba. Három *Ugra* és öt *Etre* kimérát állítottunk elő. A beültetett petefészkekből

utódok nem származtak. Ez azt jelenti, hogy a mutáns fenotípust a petefészek autonóm módon eredményezi. Azt, hogy a petefészekben kívüli testrészeknek valóban nincs szerepe az *Fs* fenotípus kialakításában a következő transzplantációval bizonyítottuk. *Ugra/+* és *Etre/+* nőstény lárvákba *y v f mal* genotípusú petefészkeket ültettünk. A kikelő nőstényeket *y v f mal* hímekkel pároztattuk. A két *Ugra* és a három *Etre* nőstény kiméra fertilis volt. Tőlük csupán *y v f mal* utódok származtak, jelezve azt, hogy az *Ugra* és *Etre* mutációk fókusza a petefészekben, annak testi eredetű sejtjeiben van.

Ősivarsejtek transzplantációjával további harmincnyolc harmadik kromoszómás domináns nősténysteril mutáció fókuszt határoztuk meg. A *Bercel*^{9a}, *Damasa*^{16b}, *easter*^{D12a}, *easter*^{D20n}, *Kavar*²¹ⁱ, *Kavar*^{21g}, *Toll*^{10b}, *Toll*²⁰ⁱ, *Toma*^{3a} és a *Zerind*^{15d} mutációk több tagból álló komplementációs csoport alléljai, ezért fókuszuikat külön nem határoztuk meg. A *Vencellin*⁴⁰²² és a *Zolta*^{20e} mutációkra a fenotípus gyenge expresszivitása miatt, a *Pilis*^{12f} mutációra a hordozó egyedek gyenge életképessége miatt nem került sor.

Fs(3)/ru h th st cu sr e ca ivarsejtekből és ép testi sejtjeiből (+*Fs(1)K1237*) álló kimérákat állítottunk elő. Az *Apc* és az *Avar* kivételével mindnek a fenotípusa az ivarsejtek genotípusától függ (3. és 6. táblázat, 29. és 47. oldal).

Az *Apc* és *Avar/ru h th st cu sr e ca* ivarsejtek ép testi sejt környezetben funkcióképesek, belőlük ép petekezdemények majd utódok származnak jelezve, hogy a két mutáció fókusza a testi sejtjeiben van. Azt, hogy az *Avar* fenotípusért valóban a testi sejtjei genotípusa a felelős, a következő transzplantációval erősítettük meg. *Ava/ru h th st cu sr e ca* embrióba *y v f m al* ivarsejteket ültettünk. A kifejlődő nőstények mind sterilek voltak. Felboncoltuk őket és petefészkeiket aldehid oxidáz festéssel megfestettük. Összesen 39 nőstény petefészket vizsgáltuk meg.

Közülük 13 tartalmazott nem festődő, a beültetett *mal/mal* ivarsejtből származó petekezdeményt. A steril kimérák azt jelzik, hogy az *Avar* fenotípusért valóban a testi sejtek genotípusa felelős. A belső kontrollként szolgáló *TM3, Sb Ser/ru h th st cu sr e ca* gazdáktól utódok származtak (8. táblázat).

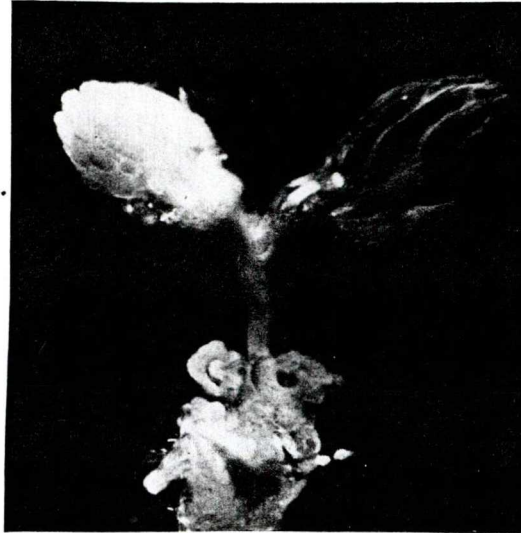
8. táblázat. Az *Avar* kimérák adatai.

Az embriók fenotípusa		Gazda nőstény	Kimérák		
Donor	Gazda		Ava/rucuca	^b +/rucuca	
Ava/rucuca ^a	+/K1237	18	3	2	
^b +/rucuca					
Az embriók fenotípusa		Gazda nőstények			
Donor	Gazda	Ava/rucuca		+/rucuca	
		Összes	Kiméra	Összes	Kiméra
y v f mal	Ava/rucuca ^b +/rucuca	39	13	18	7

a: *OregonR*, b: *Tm3, Sb Ser*

Petefészekkimérákat állítottunk elő, hogy eldöntsük vajon a *Avar* mutáció fókusza a petefészekben vagy azon kívül van-e. *Avar/h th st cu sr e ca* petefészkeket ültettünk ép testi sejtű (*Fs(1)K1237*) lárvákba. A két nőstény kiméra fertilis volt. A beültetett *Avar/h th st cu sr e ca* petefészkekből utódok származtak. Tehát az *Avar* mutáció fenotípusát a petefészken kívüli sejtcsoportok alakítják ki. Ezt a következő transzplantációs kísérlettel erősítettük meg: *Avar/ru h th st cu sr e ca* gazdába y v f mal lárvákból származó petefészkeket transzplantáltunk. A kimérákban aldehid oxidáz festéssel kimutattuk, hogy mind az öt esetben a beültetett

mal/mal, nem festődő petefészek a bábozódás során a petevezetővel kapcsolatot létesített, vagyis ha az *Avar* hordozó testi sejtek nem akadályozták volna, belőlük peték származhattak volna (18. ábra).



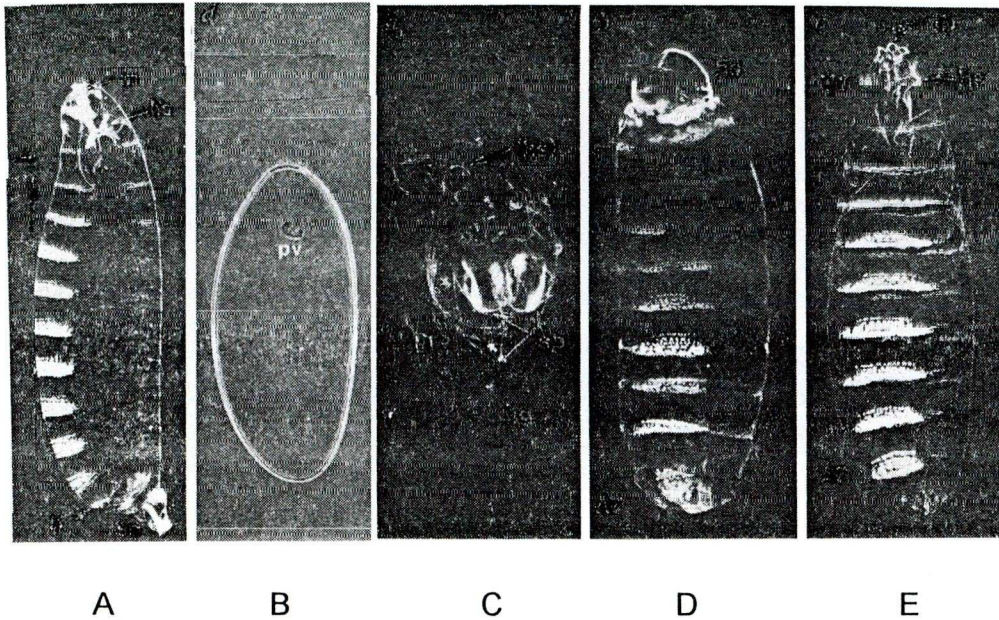
18. ábra. *Avar/ru h th st cu sr e ca*, festődő és *y v f mal* genotípusú, aldehydoxidáz, nem festődő petefészket hordozó kiméra két petefészke.

Az öt kiméra mindegyike visszatartotta a *y v f mal* petefészekből származó, érett petéit, azaz mutatta az *Avar* domináns fenotípust, megerősítve, hogy az *Avar* mutáció fókusza a petefészken kívül van.

3.7. A *torso* gén a *tailless* génen keresztül fejt ki a hatását

A *torso*^{D4021} egy korábban recesszív anyai hatású mutációkkal azonosított gén domináns allélja (Klingler és mtsai 1988, Szabad és mtsai 1989). Mind a domináns mind a recesszív fenotípus kutikulahiánnyal írható le. A domináns mutációt hordozó nőstények utódaiban minden sejt a nem szelvényezett akron és telzon testtájakra jellemző fejlődési utat követi, a szelvényezett testtájak hiányoznak (19 B. ábra).





19. ábra. A *torso^D* fenotípus *tailless* háttéren visszaszorul. A: *Oregon-R*, vad típusú első stádiumos lárva kutikula preparátuma. B: *tor^{D4021}/+* nőténytől származó letális embrió C: a *tor^{D4021}/+*, *tll¹/+* nőténytől és *tll¹/TM3*, *Sb Ser* hímtől származó utódok 75%-ára jellemző embrióletális fenotípus. D: a *tor^{D4021}/+*, *tll¹/+* nőténytől és *tll¹/TM3*, *Sb Ser* hímtől származó embriók 25%-ára jellemző embrióletális fenotípus. E: a *tailless* homozigóta fenotípus. pv: a proventriculus az egyetlen kitines képződnény a *tor^{D4021}/+* nőténytől származó utódokban.

A *torso* recesszív (funkcióvesztéses) allélok fenotípusa ellentétes: bennük akron és telzon nem képződik, míg a középső struktúrák épek (Nüsslein-Volhard mtsai 1987, Klingler és mtsai 1988). A zigotikus aktivitású *tailless* (*tll*) gén recesszív alléljai a *torso* funkcióvesztéses alléljaihoz hasonló fenotípust mutatnak (Stecker és mtsai 1988). A *torso* és a *tailless* gén az akron és telzon testtájak kialakításában vesz részt. Kettős mutánsokkal bizonyítottuk, hogy a két gén ugyanabban a fejlődési folyamatban játszik szerepet úgy, hogy az anyai hatású *torso* gén a zigotikus

keresztelésből származtak: *torso*^{D4021}/*Cy Roi*, *tailless*¹/⁺ nőtényeket pároztattunk *tailless*¹/*TM3 Sb Ser* genotípusú hímekkel. Annak ellenére, hogy mindegyik embrió *torso*^D anyától származott, kétféle utód fejlődött. Az embriók háromnegyede *torso*^D, egynegyede *tailless* fenotípust mutatott (19. ábra). Az utódok egynegyede *tailless*¹ homozigóta genotípusú volt. A *tailless* géntermék hiányában a *torso*^D fenotípus nem tudott megnyilvánulni, az embriók a *tailless* fenotípust mutatták, vagyis a *torso* gén valóban a *tailless* génterméken keresztül fejt ki hatását (19. ábra).

3.8. A *Ketel* gén részletes genetikai boncolása

Domináns nőténysteril gyűjteményünk három *Ketel* allélt tartalmaz. Mindhárom allél korai anyai hatású letális fenotípusú. A *Ketel*¹/⁺ és *Ketel*³/⁺ nőtények petéiben a meiózis sem játszódik le. A *Ketel*² heterozigóta nőtények is sterilek, de minden második petéjükben megindul az embriogenezis és a szinciciális blasztoderma stádiumig folytatódik (3.2.2. fejezet). Mindhárom *Ketel*^{Fs} allél funkcióvesztéses fenotípusos revertánsait előállítottuk (3.4.1. fejezet). A *Ketel*^R allélokkal komplementációs analízist végeztünk. Megállapítottuk, hogy a funkcióvesztéses fenotípus zigotikus letalitás, jelezve hogy a *Ketel* gén terméke az anyai hatás mellett más fejlődési folyamatokban is részt vesz.

Vajon hány fejlődési folyamatban van szerepe a *Ketel* génnek? Mi az összefüggés a különböző fenotípusokkal azonosított funkciók között? Mi a kapcsolat a *Ketel* és más, korábban azonosított fejlődésben szerepet játszó gének között? Célul tűztük ki a *Ketel* gén részletes genetikai boncolását, hogy a fenti kérdéseket megválaszoljuk.

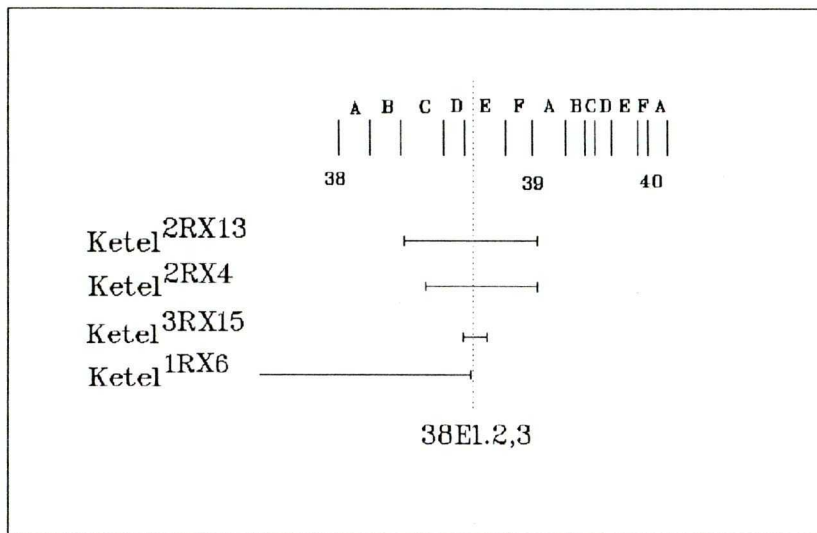
3.8.1. A *Kete*^{Fs} mutáns allélok citogenetikai térképezése.

Mindhárom *Kete*^{Fs} mutáns allélnak röntgensugárázással új fenotípusos revertánsait állítottuk elő, és elvégeztük a revertánsok citogenetikai vizsgálatát. Mindhárom *Fs* allélt hordozó kromoszómákat mutagenizáltuk. Az összesen 19975 mutagenizált kromoszóma közül hét hordozott új, *Kete*^R allélt (9. táblázat).

9. táblázat. A *Kete* allélok felsorolása eredetük szerint. Az *Fs* allélokat és az EMS indukálta revertánsokat a 3.2.2 és a 3.4.1. fejezetekben, a domináns hidegérzékeny allél röntgensugárázás indukálta revertánsait a 3.8.2 fejezetben írjuk le. A spontán revertánsokat az *Fs* törzsek fenntartása közben fedeztük fel.

Fs allélok	Fs revertánsok		Dhl revertánsok				
	Spontán	EMS	Röntgen	Röntgen			
<i>Kete</i> ¹	<i>Kete</i> ^{R14/1} <i>Kete</i> ^{Dhl}	<i>Kete</i> ^{1RE28}	<i>Kete</i> ^{1RX3} <i>Kete</i> ^{1RX6} <i>Kete</i> ^{1RX20}	<i>Kete</i> ^{DhlRX72} <i>Kete</i> ^{DhlRx75} <i>Kete</i> ^{DhlRx89} <i>Kete</i> ^{DhlRX98} <i>Kete</i> ^{DhlRx105} <i>Kete</i> ^{DhlRX172} <i>Kete</i> ^{DhlRx299} <i>Kete</i> ^{DhlRX300} <i>Kete</i> ^{DhlRX370} <i>Kete</i> ^{DhlRX610} <i>Kete</i> ^{DhlRX515}			
					<i>Kete</i> ²	<i>Kete</i> ^{2RE37}	<i>Kete</i> ^{2RX4} <i>Kete</i> ^{2RX13}

Elvégeztük a revertáns kromoszómák citológiai vizsgálatát, hogy megállapítsuk a *Ketel^{Fs}* lókuszt helyzetét. Négy revertáns kromoszóma látható átrendeződést mutatott. Három átfedő deléció és a deléciók átfedő szakaszán egy (2,3) transzlokáció második kromoszómás töréspontját azonosítottunk. A transzlokáció második kromoszómán lévő töréspontja a *Ketel^{Fs}* allélokot a 38E1.2,3 citológiai pozícióba térképezi (20. ábra).



20. ábra. *Ketel^{Fs}* allélok citológiai térképezése röntgensugárzás indukált *Fs^R* allélokkal.

3.8.3. *Ketel* revertáns allélok fenotípusa

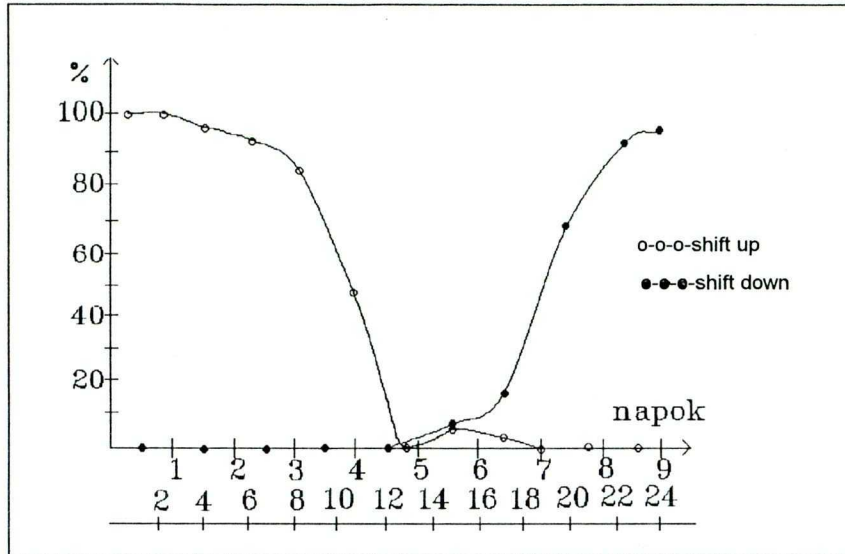
A *Ketel^{R/+}* revertáns heterozigóta nőstények fertilisek. Mivel a reverzió lehet részleges, a *Ketel^{RE/Cy Roi}* nőstényeket *Canton-S*, vad típusú hímekkel kereszteztük, és figyeltük, hogy az általuk rakott petéknek hány százalékából nem fejlődik utód. Ez az arány a *Ketel^{1Dhl}* és *Ketel^{3RE28}* allél kivételével a vad típusra jellemző 5%-ot kissé meghaladó, 6,4 és 11,6% között változott. Az alacsony peteletalítás azt jelzi,

hogy a domináns allél reverziója tökéletes: a második mutációs esemény az *Fs* allélokat teljesen inaktiválta. A *Ketel^{1Dhl}/+* és *Ketel^{3RE28}/+* nőtények által rakott petéknek 20 ill. 33%-a letális, vagyis a *Ketel^{1Dhl}* és *Ketel^{3RE28}* allélok részben megtartották az eredeti *Fs* allélok funkcionyeréses jellegét.

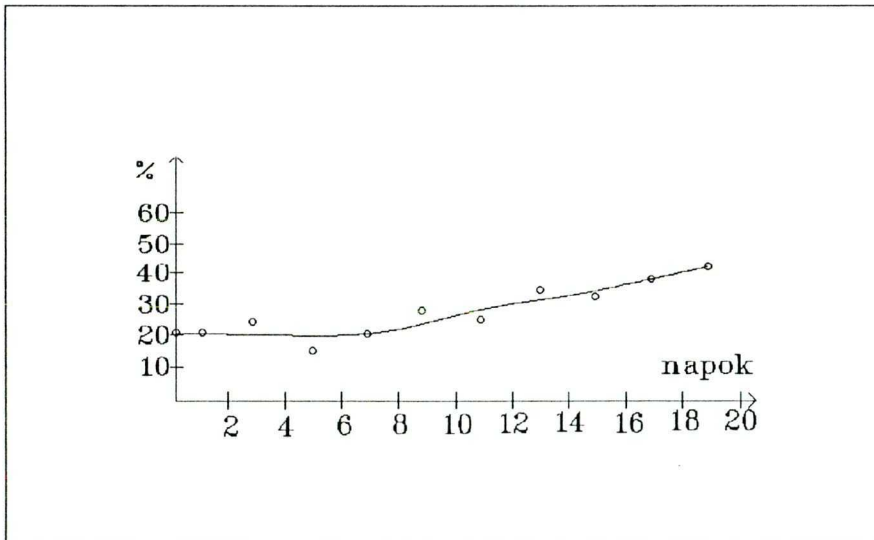
3.8.3. A *Ketel^{Dhl}*, egy domináns hidegérzékeny letális allél jellemzése

A *Ketel^{1Dhl}* allél domináns hidegérzékeny letális (*Dhl*) allélnak bizonyult. A *Ketel^{1Dhl}/+* genotípusú egyedek 18°C-on életképtelenek. A *Ketel^{1Dhl}* mutáció hidegérzékeny periódusát az ún. hőmérsékleti shift up shift down kísérletpárral határoztuk meg. *Ketel^{1Dhl}/Cy Roi* hímeket kereszteztünk *Oregon-R*, vad típusú nőtényekkel. Az utódok a shift up kísérletekben 2, 4, 6, stb napot töltöttek restriktív (18°C-os) hőmérsékleten, majd permisszív (25°C-os) hőmérsékletre kerültek. A Shift down kísérletekben 1, 2, 3, stb napot permisszív hőmérsékleten, majd a továbbiakban restriktív hőmérsékleten fejlődtek. (Az egyedfejlődés 25°C-on 9 napig 18°C-on 24 napig tart). Az egyes shift kísérletekben meghatároztuk és ábrázoltuk az *Oregon-R/Cy Roi* és a *Ketel^{1Dhl}/Oregon-R* utódok össz utód számhoz viszonyított arányát (21. ábra).

A shift kísérletek tanúsága szerint a mutáció hidegérzékeny periódusa a késői lárva, korai báb korban van. A hidegérzékeny periódust restriktív hőmérsékleten átélt egyedek bebábozódnak, metamorfozóznak, de a bábban belül elpusztulnak. Ez az eredmény azt jelzi, hogy a *Ketel* génnek szerepe van a lárva és báb fejlődési szakaszban.



21. ábra. A *Ketel^{Dhl}* domináns hidegérzékeny allél hidegérzékeny periódusának meghatározása az ún. shift up shift down kísérletpárral.



22. ábra. A *Ketel^{Dhl}* allél domináns anyai hatásának hőmérsékletfüggése.

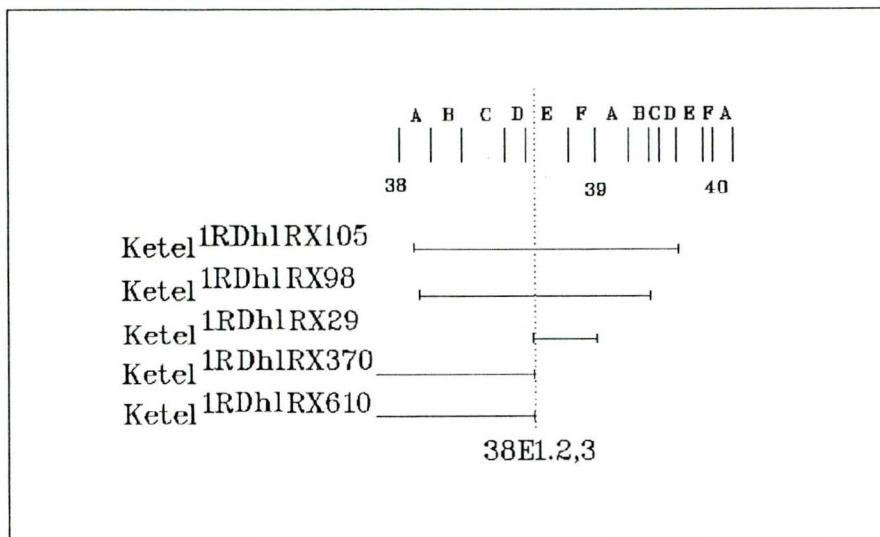
Annak eldöntésére, hogy van-e *Ketel^{Dhl}* allélnak hidegérzékeny periódusa a peteképzés folyamán a következő shift kísérletet végeztük el: *Ketel^{Dhl}/Cy Roi* nőstényeket neveltünk fel 25°C-on, a permisszív hőmérsékleten, amelyek *Canton-S*

vadtípusú hímekkel pároztak, majd 18°C-on petéztek. A táptalajt két naponként összesen 20 napon át cseréltük. Az egyes mintákból meghatároztuk és ábrázoltuk az életképes peték arányát a shift időpontjától eltelt idő függvényében (22. ábra 68. oldal). A permisszív hőmérsékleten mért 20%-os peteletalítás a restriktív hőmérsékleten 45%-ra emelkedett. A *Ketel^{Dhl}* allél enyhe domináns anyai hatású fenotípusa csak kismértékű hidegérzékenységet mutat.

A *Ketel* gént anyai hatású *Fs* alléljaival azonosítottuk. A *Ketel^{Dhl}* alléttől, mint funkciónyeréssel hidegérzékeny alléttől hidegérzékeny anyai hatású fenotípust vártunk. A kismértékű mért hidegérzékeny anyai hatás szükségessé tette, hogy bizonyítsuk, a *Dhl* mutáció a *Ketel* gén allélja. Ennek érdekében meghatároztuk a hidegérzékeny allél citológiai térképhelyzetét.

A domináns hidegérzékeny mutáció fenotípusos reverziójával újabb allélokot állítottunk elő (9. táblázat). *Ketel^{Dhl}/Cy Roi* hímeket sugaraztunk be 4000 R dózisú röntgensugárzással. A besugarazott hímeket *CyO/In(2IR)Pm* nőstényekkel kereszteztük. Az utódokat 18°C-on neveltük. Mivel a *CyO/Cy Roi* és *Cy Roi/In(2LR)Pm* genotípusú utódok életképtelenek, ill. alacsony, restriktív hőmérsékleten a *Ketel^{Dhl}* mutációt hordozó egyedek is elpusztulnak, csak azok az utódok fejlődnek ki, amelyek a domináns hidegérzékeny mutáció fenotípusos revertánsait hordozzák. A kísérlet reprezentatív részét permisszív hőmérsékleten végeztük, hogy meg tudjuk becsülni hány *Dhl* mutációt hordozó kromoszómát sugaraztunk be. Becslésünk szerint 58000 *Dhl*-hordozó kromoszómát kezeltünk, közülük 14-en következett be a domináns hidegérzékeny letális mutáció fenotípusos reverziója. A revertáns kromoszómát hordozó törzsekből lárvákat gyűjtöttünk és nyálmirigyükből kromoszóma preparátumokat készítettünk. A 14 revertáns között három átfedő deléciót és az átfedő szakaszon két transzlokációs töréspontot

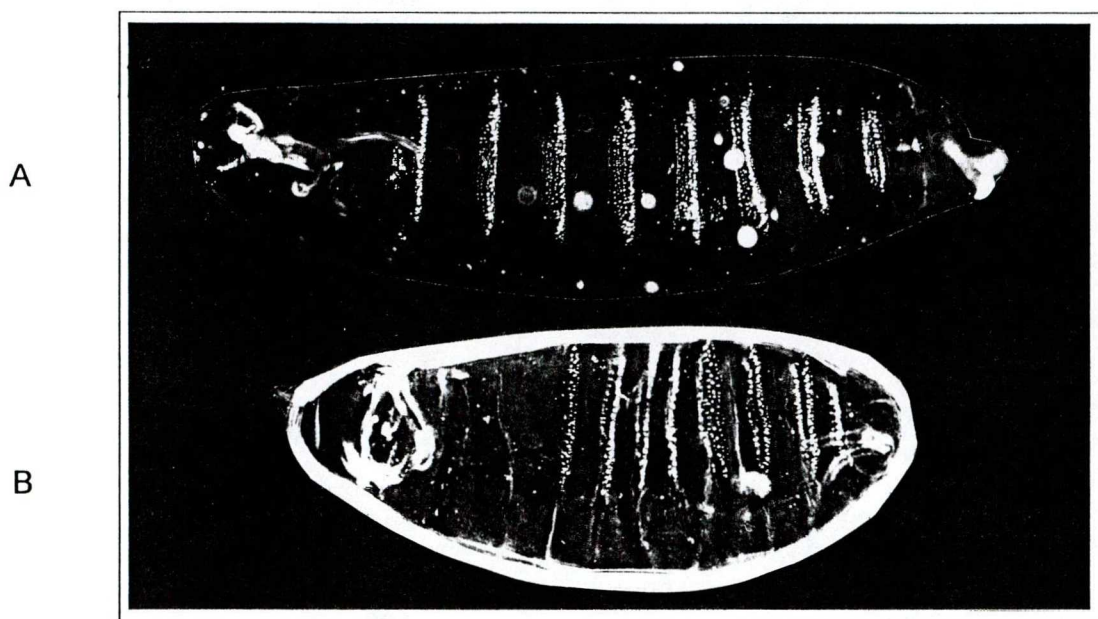
azonosítottunk (23. ábra). A transzlokációs töréspontok a *Dhl* allélt a *Ketel^{Fs}* allélokkal azonos citológiai pozícióba a 38E1.2,3 sávok közé térképezik, a *Ketel^{Dhl}* minden bizonnyal egy igazi *Ketel* allél.



23. ábra. A *Ketel^{Dhl}* allél citológiai térképezése röntgensugárzással indukált *Dhl* revertáns allélokkal.

3.8.6. A *Ketel^{3Re28}*, egy domináns hőmérsékletérzékeny *Fs* allél jellemzése

A *Ketel^{3Re28/+}* genotípusú nőstények petéinek 33%-ából (25°C-on) nem fejlődik utód. A letális peték felében olyan embriók fejlődnek, amelyek az embriogenezis végén pusztulnak el. A késői embrióletális fenotípust a fej kitinvázának torzulása és a háti struktúrákra jellemző kutikula hiánya jellemez, amely fenotípus az embriók gyenge ventralizációjára utal (Schüpbach 1987) (24. ábra). A magas peteletalitás részleges reverziót jelez. A *Ketel^{3Re28}* allél esetében a részleges reverzió mértéke hőmérsékletfüggőnek bizonyult. A 25°C-on mért 33%-ról a letális peték aránya közel 100%-ra növekedett a 29°C-on való petéztetéskor, visszaállt az *Fs* fenotípus. A reverziót okozó második mutáció magas hőmérsékleten nem, míg alacsony hőmérsékleten kifejeződik: a reverzió hidegérzékeny.

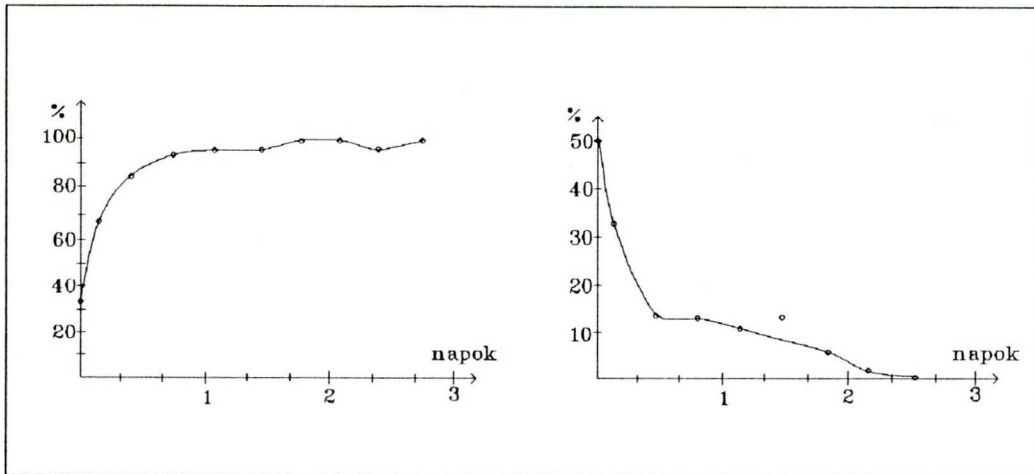


24. ábra. A *Ketel^{3Re28/+}* nőstények késői anyai hatású letális fenotípusa. A: Oregon-R, vadttípusú első stádiumos lárva kutikulája. B: a *Ketel^{3Re28/+}* nőstények késői anyai hatású letális fenotípusa.

A reverzió hidegérzékeny periódusát shift kísérlettel határoztuk meg. *Ketel^{3Re28}* nőstényeket 25°C-on neveltünk fel, *Canton-S*, vadttípusú hímekkel kereszteztük őket és meghatároztuk az általuk rakott életképtelen peték arányát. A petéztetést 29°C-on folytattuk. A táptalajt nyolc óránként cseréltük. Meghatároztuk és ábrázoltuk az életképtelen peték arányát. Amint a 25. ábra A része mutatja, az *Fs* jelleg már egy nap elteltével csaknem teljesen expresszáldott, a peték 93%-a letális volt, ami azt jelenti, hogy a reverziót okozó mutáció hidegérzékeny periódusa a peteképződés utolsó szakaszára esik. Meghatároztuk a shift kísérletben egymást követő mintákban a letális peték fenotípusát és ábrázoltuk a kutikulát képző peték arányát (25. ábra B).

A második nap közepétől csak a *Ketel³* mutációra jellemző korai letális fenotípusú petéket észleltünk. A fenti eredmények azt bizonyítják, hogy a *Ketel* gén

kifejeződik a peteképzés utolsó szakaszában, a géntermékek szerepe van az embrió hasi-háti polaritásának kialakításában.



A

B

25. ábra. A *Ketel*^{3Re28} mutáció hidegérzékeny periódusának meghatározása. A: a letális peték aránya a shift up időpontjától eltelt idő függvényében. B: a késői letális peték aránya a shift up időpontjától eltelt idő függvényében.

3.8.5. A *Ketel*^R revertáns allélok komplementációja

A *Ketel*^R allélok homozigóta formában az *Fs* alléllal ill. a reverziót okozó mutációval egyidejűleg indukált recesszív letális mutációk miatt életképtelenek. A *Ketel* funkcióvesztéses fenotípust a *Ketel*^{3RX15} és *Ketel*^{DhIRX98}, a *Ketel* régiót átfedő deléciókkal transz-heterozigóta kombinációkban határoztuk meg. Annak érdekében, hogy az *Fs* allélokkal együtt indukált recesszív letális mutációk zavaró hatását kiküszöböljük *Ketel*^{3RX15}/*CantonS* heterozigóta nőstényeket kereszteztünk *Ketel*^{1R}

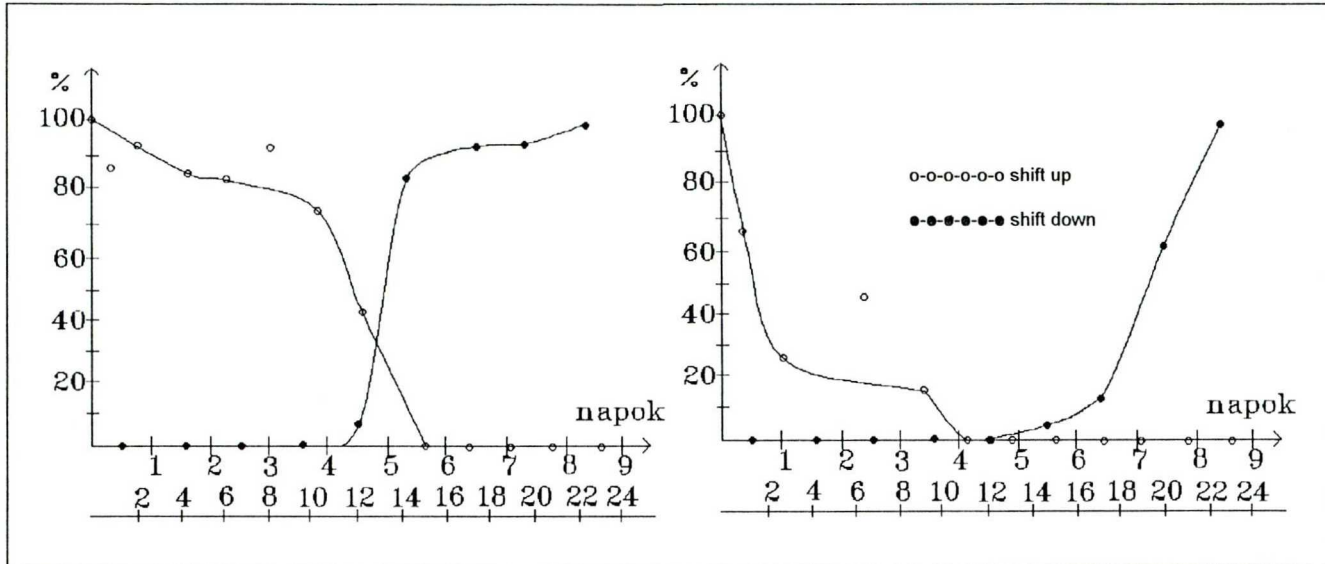
és *Ketel*^{2R}/*Canton-S* heterozigóta hímeikkel. A *Ketel*¹ eredetű *Ketel*^{DHIRX98} delécióval a *Ketel*^{3R} allélokat teszteltük. A transz heterozigóták a második lárva stádiumban pusztultak el. A letális zigótákat semmilyen látható rendellenesség nem jellemzi.

A *Ketel*^{3Re30} allél kivételes, hőmérsékletfüggő komplementációs fenotípust mutat: a *Ketel* deléció lárvaletális fenotípusát 25°C-on komplementálja, míg 18°C-on a *Ketel*^{3Re30}/- transzheterozigóták báb korukban elpusztulnak. Vagyis a *Ketel*^{3RE30} allél recesszív hidegérzékeny letális fenotípusú.

3.8.6 A *Ketel*^{3RE30}, egy recesszív hidegérzékeny letális allél jellemzése

Hőmérséklet shift down shift up kísérletpárral meghatároztuk a *Ketel*^{3RE30} mutáció hidegérzékeny periódusát. A kísérletekben a *Ketel*^{1DHIRX89} amorf allélt használtuk. *Ketel*^{1DHIRX89}/*Cy Roi* nőstényeket kereszteztünk *Ketel*^{3RE30}/*Cy Roi* hímeikkel. Meghatároztuk a 25°C-on imágóvá fejlődő *Ketel*^{1DHIRX89}/*Ketel*^{3RE30} heterozigóták arányát az összes utód számához viszonyítva. A 25°C-on mért arány százalékában ábrázoltuk az egyes shift kísérletekben mért heterozigóta arányt (26. ábra A). Megállapítottuk, hogy a *Ketel*^{3RE30} mutáció hidegérzékeny periódusa a lárva-báb átmenet időszakára esik. A hidegérzékeny periódust restriktív hőmérsékleten átélt *Ketel*^{1DHIRX89}/*Ketel*^{3RE30} heterozigóták kifejlett korban a bábön belül pusztultak el.

A shift kísérleteket fordított irányú keresztezéssel is elvégeztük. Ha a *Ketel*^{3RE30} allél a nősténytől származik a shift up görbe embriókorban hidegérzékeny periódust mutat jelezve, hogy a *Ketel*^{3RE30} allélénak hidegérzékeny anyai hatása van (26. ábra B).



A

B

26. ábra. A *Kete*^{3RE30} recesszív hidegérzékeny allél hidegérzékeny periódusának meghatározása

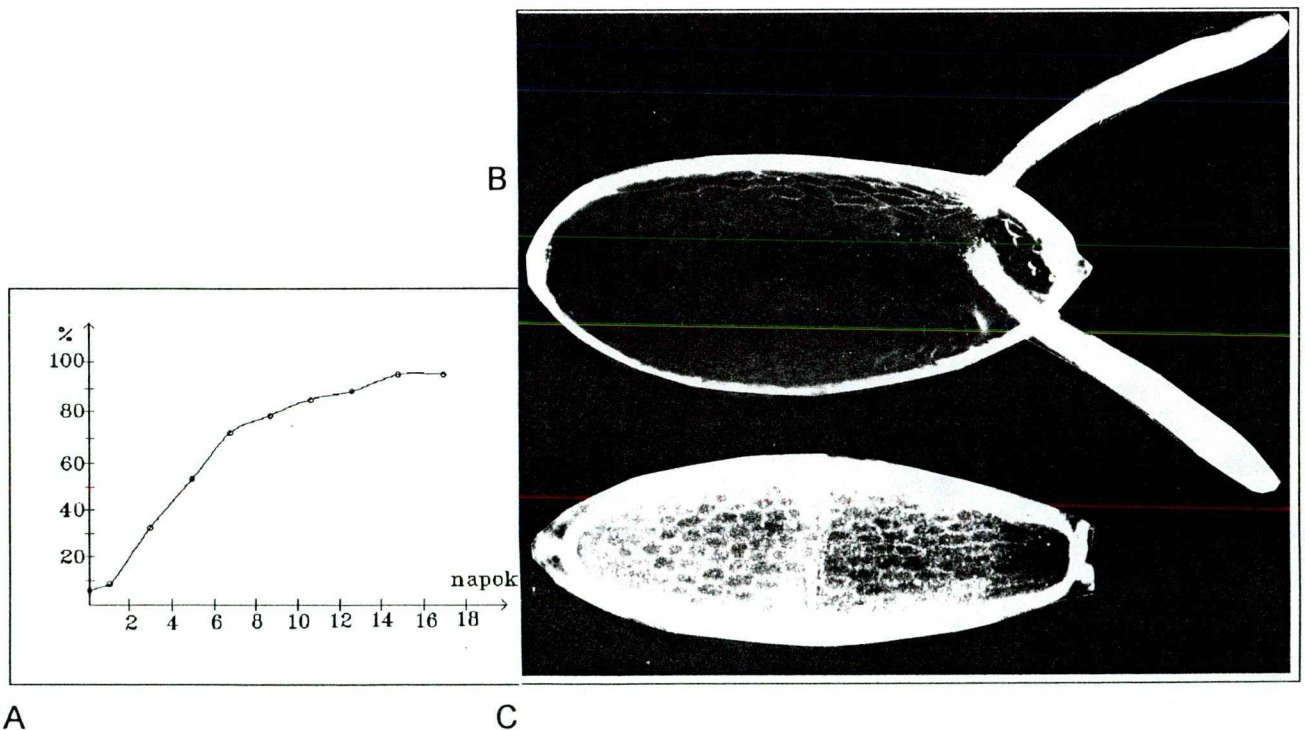
ún. shift up shift down kísérletpárral. A: a *Kete*^{3RE30} allél a hímeiktől, B: a nőstényektől származott.

A hidegérzékeny allél az peteképzés folyamán expresszálódik, a géntemék a petébe kerül, és az embriogenezis folyamán kifejti hőmérséklettől függő hatását.

A *Kete*^{3Re30} allél anyai hatása abban is megnyilvánult, hogy a shift kísérletekből származó *Kete*^{DhIRX89}/*Kete*^{3Re30} transzheterozigóta nőstények sterilek voltak. A steril fenotípus jellemzéséhez *Kete*^{DhIRX89}/*Kete*^{3Re30} nőstényeket neveltünk fel 25°C-on, *Oregon-R*, vad típusú hímekekkel pároztattuk őket és petéikből kutikula preparátumot készítettünk. A peték zömében az embriogenezis a kutikula képződés előtt megállt. A peték néhány százalékában az embriogenezis elindult, kutikula képződött, majd az embrió elpusztult. A kutikulát fejlesztő, késői letális embriókból

készült preparátumokon fej defektusokat észleltünk és az embriók „U” alakban pusztulnak el a peteburokban, ami a legfelső háti struktúra, az amnioszeróza hiányára, ventralizáló jellegre utal (Clifford és Schüpbach 1989).

A peték 6.6%-ának alakja is eltért a vad fenotípustól: a háti kórionfüggelékek összeforrtak, megrövidültek. Hőmérséklet shift kísérletet végeztünk, hogy eldöntsük a petealak fenotípus mutat-e hidegzékevény jelleget. *Kete*^{1DhIRX89}/*Kete*^{3Re30} nőstényeket 25°C-on, permisszív hőmérsékleten neveltünk fel és restriktív hőmérsékleten petéztettük, figyeltük a mutáns fenotípusú peték arányát. A restriktív hőmérsékleten töltött idővel arányosan a peték egyre nagyobb hányada mutatott a vadtypustól eltérő alakot (27. ábra A).



27. ábra. A: a *Kete*^{3RE30}/*Kete*^{2RE37} nőstények által rakott mutáns fenotípusú peték aránya a shift időpontjától eltelt idő függvényében. B: vadtypusú pete C: a 18 napot restriktív hőmérsékleten töltött *Kete*^{3RE30}/*Kete*^{2RE37} nőstényektől származó pete.

Tizennyolc nap után, amikor a petekezdemények kialakulása teljes mértékben restriktív hőmérsékleten történt az összes pete mutáns fenotípusú volt: a háti kórion függelékek eltűntek, a pete háti oldalán is a hasra jellemző kórionmintázat alakult ki, amely fenotípus a *torpedo* mutáció ventralizáló pete fenotípusával azonos (Schüpbach 1987, 26 C. ábra).



4. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

4.1. A domináns nősténysteril mutációk izolálása

Összesen 71 *Fs* mutációt indukáltunk EMS-sel a *Drosophila melanogaster* genom 80%-át hordozó második és harmadik kromoszómára. Körülbelül minden ezredik mutagenizált kromoszómán azonosítottunk újonnan indukált *Fs* mutációt.

4.2. A domináns nősténysteril mutációk fenotípusa

4.2.1 Petealak mutánsok

Az *Fs(2)1/+* heterozigóta nőstények kevés, összeeső petét raknak. A mutáció fenotípusa ivarsejt függő. röntgensugárzással az *Fs(2)1* mutációt hordozó nőstényekben nagy gyakorisággal indukáltunk *Fs(2)1* mentes ivarsejt klónokat. **A fenti jellemzők az *Fs(2)1* mutációt a domináns nősténysteril technika alkalmas eszközévé teszik (Szabad és mtsai 1987).** Az *Fs(2)1* mutáció segítségével például tetszőleges (*m*) mutációkra homozigóta ivarsejteket állíthatunk elő, és megvizsgálhatjuk azok ivarsejtekre gyakorolt hatását: *Fs(2)1/m* heterozigóta nőstényekben röntgensugárzással mitotikus rekombinációt indukálhatunk. A rekombináció következtében az ivarsejtek egy része *Fs(2)1* mentessé és egyidejűleg *m/m* homozigótává válik (4. ábra 17. oldal). A domináns nősténysteril technika lényege az, hogy az *m/m* homozigóta klónokat a domináns *Fs* fenotípus eltűnése

jelzi: utód csak az *Fs* mentes *m/m* homozigóta ivarsejtekből származhat, hacsak az *m* mutáció homozigóta formában nem interferál az ivarsejtek vad típusú működésével (Garcia-Bellido és Robbins 1983, Macdonald és Struhl 1986, Irish és Gelbart 1987, Szabad és mtsai 1989).

Az *Fs(2)1* mutáció az *al* és *dp* marker mutáció közé, a második kromoszóma disztális régiójába térképeződik. A proximálisan elhelyezkedő vizsgálni kívánt (*m*) mutációk mitotikus rekombinációjakor figyelembe kell vennünk a következőket: Az *Fs(2)1* és az *m* mutációk közötti rekombináció *Fs* mentes, de *m/+* heterozigóta ivarsejteket eredményez. A domináns nősténysteril technika ilyen esetekben is alkalmazható, ugyanis a mitotikus rekombinációk 50%-a a proximális heterokromatinban játszódik le (Garcia-Bellido 1972). Így az *Fs* mentes klónoknak legalább fele homozigóta lesz a vizsgálni kívánt mutációra. Az *m* mutáció ivarsejtekre gyakorolt hatására a kontrollal való összehasonlításból következtetünk. *Fs(2)1/+* letális mutációktól mentes nőstényeket kell kontrollként sugárkezelnünk. Ha az *m* mutáció az ivarsejtekben mutáns fenotípust okoz, az *Fs(2)1/m* nőstények besugárzása után feleannyi utódot kapunk mint a kontrollban. A besugárzott *Fs(2)1/+* kontroll nőstényekkel megegyező petehozam, és utódszám azt jelzi, hogy a vizsgált *m* mutációval azonosított génnek nincsen szerepe az ivarsejtek életében.

Az *Fs(2)Ugra/+* heterozigóta nőstények nem raknak petéket. Ivarsejt és petefészkek kimérákkal bizonyítottuk, hogy a mutáns fenotípus a petefészkek testi eredetű sejtjeinek genotípusától függ. Mozaik analízissel megállapítottuk, hogy a petefészkek follikuláris sejtjei felelősek az *Fs* fenotípusért. Az *Ugra* mutáció a második kromoszóma bal karjára térképeződik (2.18) és segítségével a domináns nősténysteril technikát a follikuláris sejtekben is alkalmazhatjuk (Szabad és mtsai

1991). Az *Ugra* mutációval a második kromoszóma bal karjára térképeződő mutációk folliculáris sejtekre gyakorolt hatása tisztázható.

Szabad J. és Hoffmann Gy.(1989) elvégezték az *Fs(3)Apc* mutáció részletes mozaik analízisét. Megállapították, hogy az *Apc* mutáció a folliculáris sejt függő. A domináns petealak fenotípusa a domináns nősténysteril technika alkalmas eszközévé teszi. **Az *Apc* mutáció segítségével a harmadik kromoszóma bal karján lokalizált mutációk szerepe vizsgálható a folliculáris sejtek életében.**

Az *Fs(3)Vencellin* mutációt hordozó nőstények „ventralizáló” petéket raknak: a háti korionfüggelékek rövidek, vastagok. A petealakot befolyásoló ventralizáló mutációkhoz (*gurken*, *torpedo* és *Ketel*) hasonlóan a *Vencellin* fenotípusért a petekezdemény ivarsejt eredetű sejtjei a felelősek. A *Vencellin* revertáns allélok a *gurken* a *torpedo* és a *Ketel*^R allélokat komplementálják. Ezek alapján úgy gondoljuk, hogy **a *Vencellin* a petealak hasi-háti szimmetriáját kialakító anyai hatású géncsoport új tagja.**

4.2.2. "Korai" embrióletalitást okozó mutációk

Az *Fs* mutációk fele, 35 allél "korai" embrióletalitást okoz. A heterozigóta nőstények vad típusú petéket raknak, melyekben az embriók a legkülönbélebb stádiumban elpusztulnak mielőtt a blasztoderma fejlődési szakaszt elérnék. **A "korai" embrióletalitást okozó *Fs* mutációk a megtermékenyítéstől a cellularizációig tartó életszakasz "genetikai boncolását" teszik lehetővé.**

Öt *Fs* mutáció esetében az embriogenezis egyáltalában nem indul el. A peték meg sem termékenyülnek ill. a meiózis nem játszódik le (pl. *Fs(2)Hont* és *Fs(3)Zerind*^{15d}). További 13 mutáns nőstény petéiben a meiózis végbemegy, de az

embriók fejlődése itt abbamarad (pl. *Fs(2)Himca* és *Fs(3)Tomaj*⁴⁰⁹¹). Közülük 6 esetben az apai eredetű pronukleusz osztódhat néhányszor, míg az anyai eredetű inaktív (*Fs(2)Tonuz* és *Fs(3)Varas*). Idáig az *fs(1)Ya*, nőstényszeril allélokkal azonosított génről mutatták ki, hogy szerepe van a pronukleuszok osztódásában (Lin és Wolfner 1989) Az *Fs(3)Laborc/+* anyák utódaiban két-három óriás sejtmag alakul ki, hasonlóan a *giant nuclei (gnu)* recesszív nőstényszeril mutáció fenotípusához. A *gnu* homozigóta nőstények utódaiban a replikáció és a centroszóma ciklusok szétkapcsolódnak (Freeman és mtsai 1986). Hasonló fenotípusuk ellenére az *Fs(3)Laborc* és a *gnu* nem alléljai egymásnak. *Fs* mutációink közül 8 eredményezi a pronukleuszok rendellenes osztódását. Például az *Fs(3)Farkas* eredetű embriókban a pronukleuszok összeolvadás nélkül osztódnak néhányszor emlékeztetve a *maternal haploid (mh)* recesszív nőstényszeril mutáció fenotípusára. A *mh/mh* eredetű embriókban azonban csak az anyai pronukleusz osztódik, a spermium inaktív (Edgar és mtsai 1986). Hat "korai" *Fs* mutáció fenotípusa a pronukleuszok osztódását, összeolvadását nem érinti, de a következő (cleavage) sejtmagosztódások a vadtypustól eltérnek. Hasonló cleavage osztódási fenotípusa van a *polo* és a *abnormal spindle* mutációknak (Sunkel és Glover 1988).

4.2.3. "Késői" embróletalitást okozó mutációk

Összesen 28 *Fs* mutáció "késői" embróletális fenotípust eredményez: a heterozigóta nőstényektől származó embriók a lárvális fejlődési stádiumot elérik. A "késői" letális fenotípust az embriókban megjelenő lárvális kutikula jellegzetességeivel írtuk le.

Az *Fs(3)Bercel^{8/1a}*, *Fs(3)Bercel^{9a}*, *Fs(3)Keled* és *Fs(3)Pilis* anyáktól származó embriókban csak kutikula foszlányokat mutattunk ki, melyek testtájakra jellemző sajátosságokat nem mutattak. Az embriók az epidermisz sejtek differenciálódása előtt elpusztultak. A kutikula hiányok sejthalálra utalnak. A *Bercel*, *Keled* és *Pilis* allélok feltehetően általános sejtfunciókat ellátó gének funkciónyeréses alléljai.

Az embriók hasi-háti szimmetriáját 14 *Fs* allél befolyásolja. A korábban azonosított *dorsal* géncsoport tagjaival komplementáltattuk őket. Közülük négy-négy új *dorsal* és *easter* és öt *Toll* domináns allélt mutattunk ki (Nüsslein-Volhard 1979, Nüsslein-Volhard és mtsai 1980, Nüsslein-Volhard 1987, Ingham 1988, Govind és Stewart 1991). Az *Fs(3)Tevel/+* heterozigóta nőstények által rakott peték 20%-ában az *easter* és *Toll* domináns allélokra jellemző, ventralizáló embriók fejlődnek. A *Tevel* revertáns allélok a *dorsal* géncsoport tagjait komplementálják. A *Tevel* mutáció fenotípusa alapján úgy véljük, hogy általa egy eddig ismeretlen, a *dorsal csoportba* tartozó gént azonosítottunk (ld még a függelék is).

Az embriók elülső-hátulsó szimmetriáját 10 *Fs* mutáció befolyásolja. A *torso^{D4021}* a terminális géncsaládba tartozó *torso* gén domináns allélja. A harmadik kromoszómán az *Fs(2)torso^D* domináns allélok fenotípusára emlékeztető mutációt írtunk le. Az *Fs(3)Keve* hordozó nőstényektől származó embrióknak csak a legelülső és a leghátsó testrészei fejlődnek ki. Az *Fs(2)Vaja* domináns fenotípusa a *Bicauda^P* domináns nősténysteril mutáció fenotípusára hasonlít. A *Bicauda^{D71.34}* mutációt a *Vaja* revertánsok részlegesen nem komplementálták. A *Vaja* valószínűleg a *Bicauda^P* mutáció új, nem teljes penetranciájú allélja (ld. még a függelék is).

Néhány *Fs* allél hatása az embriók feji részére korlátozódik (pl. *Fs(2) Told* és *Fs(3)Zolta*). Az *Fs(3)Kavar^{18c}* és az *Fs(3)Kavar^{21l}* mutáns anyák petéiben csak a hátsó testtájak alakulnak ki. Ezeknek az *Fs* alléloknak a részletes genetikai

vizsgálata az elülső-hátulsó embriópolaritás kialakulásának jobb megértését tehetik lehetővé.

4.3. Térképezés

Az *Fs* mutációk többségét nőstény ősvarsejtekben indukált mitotikus rekombinációval térképeztük. Ezzel a módszerrel az *Fs* mutációkat ismert térképhelyzetű markermutációk közé lokalizáltuk. Az *Fs* mutációk mitotikus rekombinációs analízise az elvárttól eltérő jellemzőket mutatott:

A besugárzott nőstények utódaiban az *Fs* mutációktól disztálisan elhelyezkedő markermutációk vad allélja is rendszerint megjelent. A jelenségnek több oka is lehet. A kettős mitotikus rekombináció -Garcia-Bellido (1972) adatai szerint- 10szer gyakoribb, mint az az egyes rekombinációk gyakoriságából poissoneloszlás alapján várható. A kettős mitotikus rekombináció gyakran hozhat létre *Fs* mentes rekombinációs kromoszómákat, amelyek az összes térképező mutáció vad allélját hordozzák. A röntgensugárzás hatására az *Fs* allélok reverziója is bekövetkezhet, ami szintén a valamennyi térképező mutáció megjelenéséhez vezet az utódgenerációban. Az *Fs* mutációk fenotípusos reverziója igen gyakori is lehet, pl a reverziós kísérletekben minden 100. röntgensugárzással kezelt *Fs(3)Toll^{10b}* allél revertálódik.

Noha az *Fs* mutációk túlnyomó többségének fenotípusa ősvarsejt függő, mégis sok esetben az *Fs* allélok megjelentek a besugárzott nőstények utódaiban. A jelenséget mozaikos petekezdemények idézhetik elő. A petekezdemény ősvarsejt eredetű része négy mitózis eredménye (King 1970, Mahowald és Kambysellis 1980, ld még a függelék is). A petesejt és a 15 dajkasejt különböző genotípusú lehet, ha

a négy mitózis valamelyikében mitotikus rekombináció játszódik le. A részben, vagy egészében *Fs* mentes dajkasejtek működése életképes petét eredményezhet, az *Fs* hordozó petesejt átörökítheti a steril allélt.

Az *Fs*/+ nőstényekben a röntgensugárzás hatására létrejött +/+ klónok a kontrollnál 5-15 nappal később jelentek meg. Az utódok nőstények szerinti eloszlása is jellegzetesen eltorzult: megnőtt az egy utódot létrehozó nőstények száma azokhoz képest, melyektől több utódo származott. Mindkét jelenség az *Fs* géntermékek perduranciájával magyarázható (Garcia-Bellido és Robbins 1983, Perrimon 1984). A funkciónyeréses allélok mutáns génterméke az *Fs* mutáció rekombinációja után is jelen lehet. Amíg a mutáns géntermék hatása érvényesül a petekezdeményekből életképtelen peték fejlődnek. A funkciónyeréses géntermék lebomlásához szükséges idővel késnek a +/+ klónokat jelző utódok. A +/+ genotípusú de életképtelen peték számával a klónok mérete csökken.

4.4. Fenotípusos reverzió

A funkciónyeréses mutációk második mutáció hatására funkcióvesztéses allélokká, fenotípusos revertánsokká alakíthatók. Az *Fs* allélok több mint 90%-ának EMS-sel, röntgensugárzással és transzpozon inszercióval fenotípusos revertánsait elő lehetett állítani, jelezve, hogy **az *Fs* mutációink túlnyomó többsége funkciónyeréses típusú.** Az esetek többségében valódi fenotípusos reverzió következett be: a második mutáció az *Fs* génben történt és új, funkcióvesztéses allél keletkezett. Mindössze egy "revertáns" allél genetikai viselkedése utal *Fs* génen kívüli mutációs eseményre, az *Fs*(3)*Keve*^{RX2}/*Fs*(3)*Keve* transzheterozigóta nőstények fertilisek. A *Keve*^{RX2} allél a *Keve* mutáció domináns szupresszora lehet. f

Néhány *Fs* allél fenotípusos revertánsát nem tudtuk előállítani. Ezek között a mutációk között lehet, hogy vannak haploid elégtelen típusúak is. Idáig csak a *BicoidC* domináns nősténysteril mutációról mutatták ki, hogy az *Fs* fenotípust haploid elégtelenség okozza (Mohler és Wieschaus 1986).

A reverzió gyakorisága az egyes *Fs* allélok esetében igen különböző volt. Az *Fs(3)BerceI^{B/1a}*, *Fs(3)Keve^{17d}*, és a *Toll^P* allélok kiemelkedően nagy gyakorisággal revertáltak mind EMS mind röntgensugárzás hatására. Anderson és mtsai (1985) a *Toll^P* allélok gyakori reverzióját a gén nagy fizikai kiterjedésével magyarázzák.

Az *Fs* fenotípus reverziója sokszor részleges. Például az *Fs(2)Told^{R/+}* heterozigóta nőstények csak néhány utódot hoznak létre, a domináns steril fenotípust mutatják. A második mutációs esemény csak a mutáció expresszivitását csökkenti. A *Toll^P* mutációknak kétféle fenotípusú revertánsa van. A reverzió sok esetben a *Toll* gént csak részlegesen inaktiválta, és recesszív nősténysteril allélt eredményezett (pl. *1Ob^{RE1} 18a^{RX3}*). A *2b^{RX2}* és a *3c^{RX1}* allélok esetében a reverzió a *Toll^P* allélok teljes inaktivációját okozta, heterozigóta formában zigotikus letális fenotípust adtak a *Toll* régiót átfedő deléciókkal. Grettula és mtsai (1988) eredményeiből tudjuk, hogy a *Toll* gén zigotikusan is expresszálódik, az amorf allélok letális fenotípusúak. Az *Fs(3)Kavar* domináns allélok revertánsai között recesszív nősténysteril és letális fenotípusú allélok is voltak. A *Kavar* gén a *Toll* génhez hasonlóan kettős szerepet tölt be a muslica egyedfejlődésében, anyai hatású és zigotikus expressziója is szükséges a vad típusú fejlődéshez. Az *Fs(3)Laborc* mutációt transzpozon inszercióval is revertáltattuk. Az inszerciós allél a *Laborc* gén pontos lokalizációját és molekuláris klónozását teszi lehetővé.

4.5. Komplementáció

A komplementációs analízist 65 *Fs* mutáció revertáns alléljaival végeztük el. A 65 mutáció 40 gént reprezentál. **A poissoneloszlás szerint az autoszómákon az *Fs* fenotípusú alléllá alakítható lokuszok 55%-át azonosítottuk.** A komplementációban nem szereplő 10 *Fs* allél, amelyeknek nem tudtunk megfelelő revertánsát előállítani, újabb, ismeretlen számú domináns nősténysteril gént azonosít. Az embriók polaritását befolyásoló anyai hatású gének közül a *gastrulation defective*, az *easter*, a *Toll*, a *dorsal*, a *torso*, a *Bicaudal^C* és a *Bicaudal^D* géneknek korábban is ismertek voltak *Fs* alléljai. **A *Bicaudal^C* és a *gastrulation defective* kivételével mindnek új domináns allélját írtuk le.**

A funkcióvesztéses fenotípust (az *Fs* revertáns allélok nem komplementáló fenotípusát) csak a több *Fs* alléllal reprezentált gének esetében tudtuk meghatározni. Az *Fs* mutációval együtt indukált letális mutációk miatt az *Fs* és a saját revertáns allélokból képzett heterozigóták a steril lokusztól független letális fenotípust mutatnak.

4.6. A Domináns nősténysteril mutációk fókuszának meghatározása

Túlnyomó többségben, négy kivétellel az *Fs* mutációk fenotípusa az ősvarsejtek genotípusától függ. Összesen 59 *Fs* mutációval végeztünk embrionális ivarsejt átültetést. Az *Fs(2)Etre*, az *Fs(2)Ugra*, az *Fs(3)Avar* és az *Fs(3)Apc* mutációk fókusza az ivarsejt kimérák viselkedése alapján a testi sejtekben van. Az *Avar* az egyetlen *Fs* mutáció, melynek fókusza a petefészken

kívüli testrészen van. Lehetséges, hogy a steril fenotípus hormonális vagy idegi diszfunkció eredménye (Szabad és Fajszi 1982).

4.8. A *Ketel* gén részletes genetikai boncolása

A domináns allélok fenotípusos reverziójával harminc tagból álló *Ketel* allélsort állítottunk elő. A reverziót okozó mutációk legtöbbje a domináns fenotípust teljesen megszüntette: erős hipomorf vagy amorfi allélok keletkeztek. A röntgensugárzás indukált revertánsok között átfedő deléciókat, és transzlokációkat azonosítottunk. A deléciókkal biztos *Ketel* amorfi allélokat azonosítottunk, a transzlokációs töréspontokkal pontosan térképeztük a *Ketel* gént. A három eredeti funkciónyeréses *Fs* allél mellett három *Fs* revertáns allél is funkciónyeréses jellegűnek bizonyult. A funkciónyeréses revertáns allélok hidegérzékeny fenotípusúak. Jórészt a kondicionális allélok tették lehetővé, hogy egyszerű módszerekkel válaszoljunk meg a következő kérdéseket:

Az egyedfejlődés mely szakaszában aktív a *Ketel* gén?

A *Ketel^{3RE30}/-* heterozigóta mőstények petefészkében restriktív hőmérsékleten ventralizáló alakú peték fejlődnek. A fenotípus expresszivitása és penetranciája akkor a legteljesebb, ha a peték a legkorábbi peteképződési stádiumtól kezdve restriktív hőmérsékleten fejlődnek. **A *Ketel* gén már a peteképződés legkorábbi szakaszában aktív.**

A *Ketel*^{βRE28}/+ nőtények fertilitása hőmérsékletfüggő. A *Ketel*^β allél *Fs* fenotípusa az *RE28* mutáció hatására hidegen visszaszorul, melegen kifejeződik. A hidegen nevelt *Ketel*^{βRE28}/+ genotípusú nőtényeknek elégséges két napot magas hőmérsékleten eltölteniök, hogy a *RE28*-as reverzió ne expresszáldjon, a hordozó nőtény teljesen sterillé váljon. **A *Ketel* gén a peteképződés késői stádiumában is aktív.**

A *Ketel*/+ szülőktől származó *Ketel*/*Ketel* ,amorf mutációkra heterozigóta egyedek második stádiumos lárvaletális fenotípusúak. Az anyától származó vad típusú *Ketel* géntermék elégséges az embrió kor „átvételéhez”. A lárvaletális fenotípus arra utal, hogy **a *Ketel* gén a lárvális szövetekben is aktív.**

A *Ketel*^{βRE30}/- és *Ketel*^{1R21}/+ heterozigóták életképtelenek, ha az egyedfejlődés 25°C-on számított ötödik napját restriktív hőmérsékleten töltik. **A *Ketel* gén a lárva-báb átmeneti fejlődési szakaszban is aktív.**

Mi az összefüggés a *Ketel* fenotípusok között?

A genetikai boncolás során a *Ketel* allélok többféle fenotípust mutattak. A *Ketel*^{βRE30} allélnak ventralizáló pete és embrió fenotípusa is van. A két fenotípus közötti összefüggés közvetlen. A *torpedo* hipomorf alléljai ventralizáló peteletalitást okoznak, a gyengén hipomorf allélokra ép pete, és ventralizáló embriófenotípus jellemző (Clifford és Schüpbach 1989). Az *fs(1)K10*, *capuccino* és *spire* mutációra homozigóta nőtények dorzalizáló petéiben dorzalizáló embriók fejlődnek (Govind és Steward 1991). Ezeknek a korábban ismert géneknek a fenotípusai bizonyítják, hogy a pete és a benne fejlődő embrió háti-hasi szimmetriájának kialakulása egymásra

épülő genetikai folyamatok eredménye. **A *Ketel* gén e folyamat részeként a pete és az embrió háti-hasi szimmetria kialakulásában egyaránt szerepet játszik.**

Az eredeti *Fs* allélok korai peteletális fenotípusúak. Az *Fs* mutációt hordozó nőstényektől ép külsejű peték származnak, de bennük a fejlődés nem indul el. Az *Fs* és a ventralizáló petefenotípus között a *Ketel*^{*βRE28*} kondicionális *Fs* revertáns allél shift kísérlete teremt összefüggést. A shift kísérlet folyamán a *Ketel*^{*βRE28*} alléllra jellemző ventralizáló embrió fenotípus folyamatos átmenettel, egyre erősebb kutikula hiányokat mutató embriókon át közelítette a korai *Fs* fenotípust. Az *Fs* allélok korai peteletális fenotípusát a pete belső szerkezetének megváltozott szimmetria viszonyaival magyarázzuk.

A *Ketel* gén a testi sejtekben is expresszálódik. A recesszív hidegérzékeny letális allélt hordozó *Ketel*^{*βRE30*}/+ heterozigóta nőstények *Ketel*^{*βRE30*}/- utódai alacsony hőmérsékleten embrióletális fenotípusúak míg a *Ketel*^{*βRE30*}/+ utódai életképesek. A zigóta által kifejezett *Ketel*⁺ géntermék komplementálja az anyai eredetű mutáns géntermék által okozott fenotípust. **A *Ketel* gén az embrió fejlődési szakaszban kifejeződik és a zigotikus termék az anyai eredetű géntermékkel azonos funkciót lát el.**

A *Ketel*^{*1R21*} domináns hidegérzékeny allél alacsony hőmérsékleten az amorf fenotípusnál enyhébb késői bábletális fenotípust okoz. Ez arra utal, hogy a *Ketel*^{*1R21*}/+ egyedekben restriktív körülmények között is marad *Ketel* aktivitás. A maradék *Ketel* aktivitás elégséges a lárvális szövetek vad típusú működéséhez, de elégtelen a lárva-báb átmenet időszakában. **Úgy véljük, a lárvális élet alatt a *Ketel* gén végig kifejeződik, de a lárva-báb átmenet időszakában megnövekedett *Ketel* géntermék szintre van szükség.**

Hogyan működhet a *Ketel* géntermék?

A *Ketel* *Fs* géntermékek fizikai eltávolítása a domináns fenotípust megszünteti: pl. a *Ketel*^{3RX98}=*Df*(2L)*Ketel*/+ heterozigóta nőstények fertilisek. Az *Fs* géntermék inaktivációja részleges is lehet, mint a *Ketel*^{3RE28} hidegérzékeny revertáns allél esetében: amikor a mutáció csak alacsony hőmérsékleten inaktiválja az *Fs* génterméket. A hidegérzékeny fenotípus arra utal, hogy a *Ketel* géntermék működése konformációváltással jár. Alacsony hőmérsékleten a *Ketel*³ géntermék az *RE28* második mutáció hatására nem, vagy csak csökkent mértékben képes a működéshez szükséges konformációváltásra, így az *Fs* fenotípus visszaszorul. Magas hőmérsékleten a konformációátmenet kisebb energia igényű, így az *RE28*-as mutáció ellenére végbemegy, a *Ketel*³ funkcionyeréses géntermék aktív állapotba kerül, az *Fs* fenotípus expresszálódik. **Feltételezzük, hogy a *Ketel* géntermék működése konformációváltással jár.**

A *Ketel*^{1Dhl} allél esetében az *Dhl* mutáció a *Ketel*¹ allél reverzióját, és egyben domináns hidegérzékeny letális fenotípust eredményezett. Az *Fs* és a *Dhl* allélok a citológiai térképezés felbontási határánál közelebb térképeződtek. Ezért feltételezzük, hogy a reverziót és a hideg érzékeny letalitást egy és ugyanaz a mutáció okozta. Az *Dhl* mutáció a *Ketel*¹ mutáns génterméket eltávolítja és egyben hidegérzékeny módon további, vad típusú *Ketel* génterméket inaktivál, ami domináns letális fenotípushoz vezet.

Létrehoztunk egy modellt, melyben a *Ketel* géntermék dimer formában, konformációváltás közben végzi biológiai funkcióját (28. ábra).

A modell magyarázatot ad a *Ketel*^{Dhl} ivarsejtek hőmérsékletfüggő viselkedésére is. A *Ketel*^{1Dhl}/+ nőstények magas hőmérsékleten fertilisek, de petéik 20 %-ában az

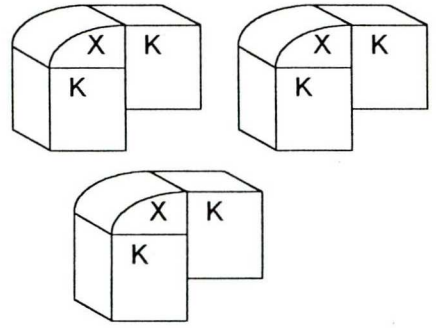
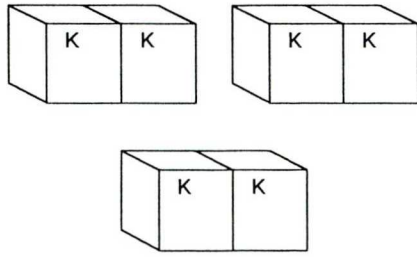
embriók elpusztulnak: a konformációváltás nem teljesen gátolt, az *Fs* fenotípus részlegesen érvényre jut. Ha a *Ketel*^{1Dhl/+} nőstényeket hidegen petéztetjük a sterilitás mértéke 20%-ról 50%-ra emelkedik. Bár a konformációváltás gátlása a mutáns *Ketel* génterméket tartalmazó dimereknél teljes, és így a domináns *Fs* fenotípus teljesen visszaszorul, de ezzel egyidőben a *Ketel* dimerek száma a vad típusra jellemző érték harmadára csökken ami részleges sterilitást eredményez.

A modell alapján a *Ketel*^{3Re30} recesszív hidegérzékeny allél viselkedése is értelmezhető. A *Ketel*^{3RE30/-} heterozigótákban csak a mutáns *Ketel* géntermék van jelen. A mutáns dimerek melegen képesek a működéshez szükséges konformációváltásra, a *Ketel*³ mutáció érvényre jut, a nőstények sterilek. Hidegen a konformációváltás elmarad, a *Ketel*^{3Re30} amorf fenotípust mutat.

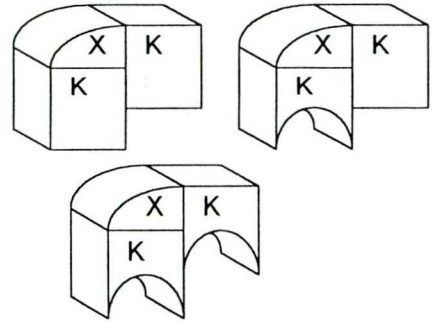
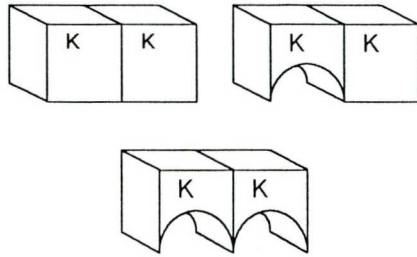
A fenti eredmények alapján a *Ketel* gént a pete dorzális ventrális aszimmetriáját kialakító géncsoport új tagjának tartjuk (ld még a függelék is).



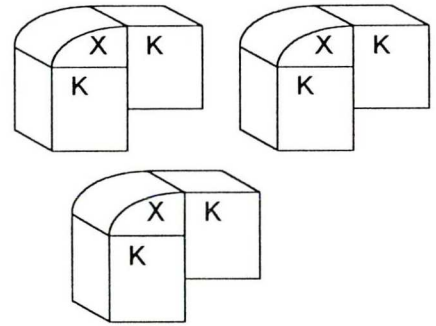
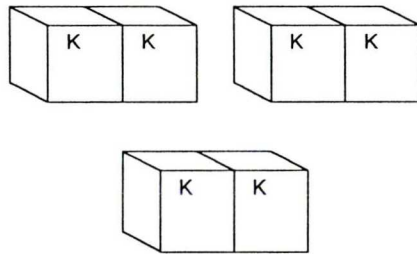
$+/+$



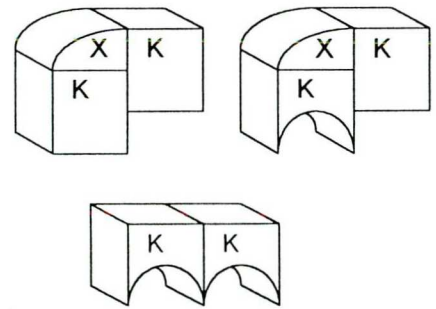
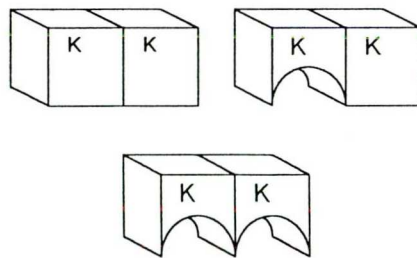
Ketel $+/+$



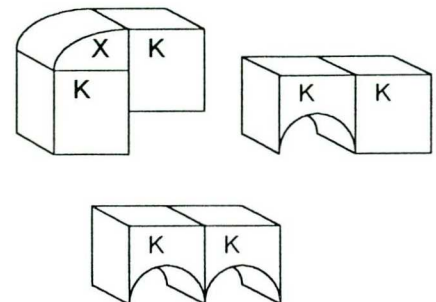
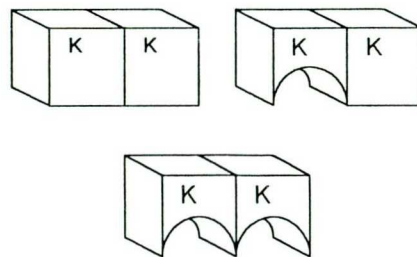
Ketel^R $+/+$



Ketel^{3Re28} $+/+$



Ketel^{1Dhl} $+/+$



A *Ketel* dimerek konformációváltás közben "X" faktort kötnek meg. A létrejövő komplex elvégzi biológiai funkcióját.

Háromféle dimer jön létre. A konformációváltás végbemegy, de a mutáns *Ketel* monomereket tartalmazó dimerek *Fs* fenotípust okoznak.

Az *Fs* fenotípusért felelős mutáns *Ketel* géntermék egy újabb mutáció által inaktiválódik. Csak vad típusú dimerek jönnek létre, a *Ketel* gén biológiai szerepét a mutáns géntermék zavaró hatása nélkül képes ellátni.

Az *RE28*-as jelű reverziót okozó mutáció hidegérzékeny. Alacsony hőmérsékleten a *Ketel*^{*3Re28*} génterméket tartalmazó dimerek konformációváltása korlátozott, az *Fs* fenotípus visszaszorul.

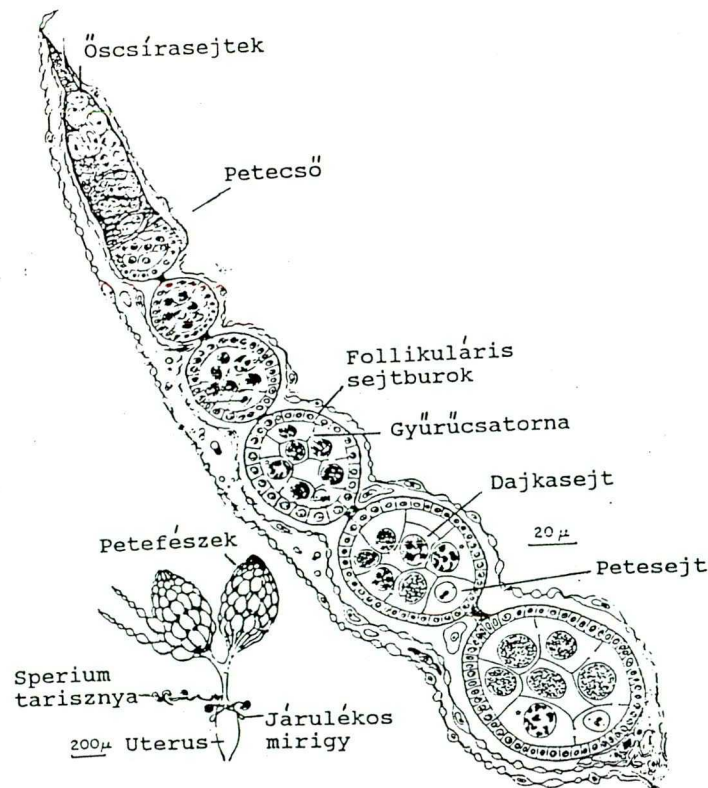
Az *Dhl* jelű reverziót okozó mutáció a *Ketel* dimerek konformációváltását erősen gátolja. Alacsony hőmérsékleten a dimereknek csak a harmada működőképes. A harmadára csökkent *Ketel* aktív géntermék szintje az amorf fenotípusnál (második stádiumos lárvaletalitás) enyhébb, bábletális fenotípust eredményez.

FÜGGELÉK

A muslica pete képződése és a korai embriogenezis genetikai boncolása nősténysteril mutációkkal.

Ebben a fejezetben vázlatosan áttekintem a vad típusú muslica peteképzését és a korai embriogenezisét. Párhuzamosan felsorolom az adott fejlődési folyamatokban szerepet játszó jellemzett géneket és röviden ismertetem az ide vonatkozó *fs* mutációik fenotípusát.

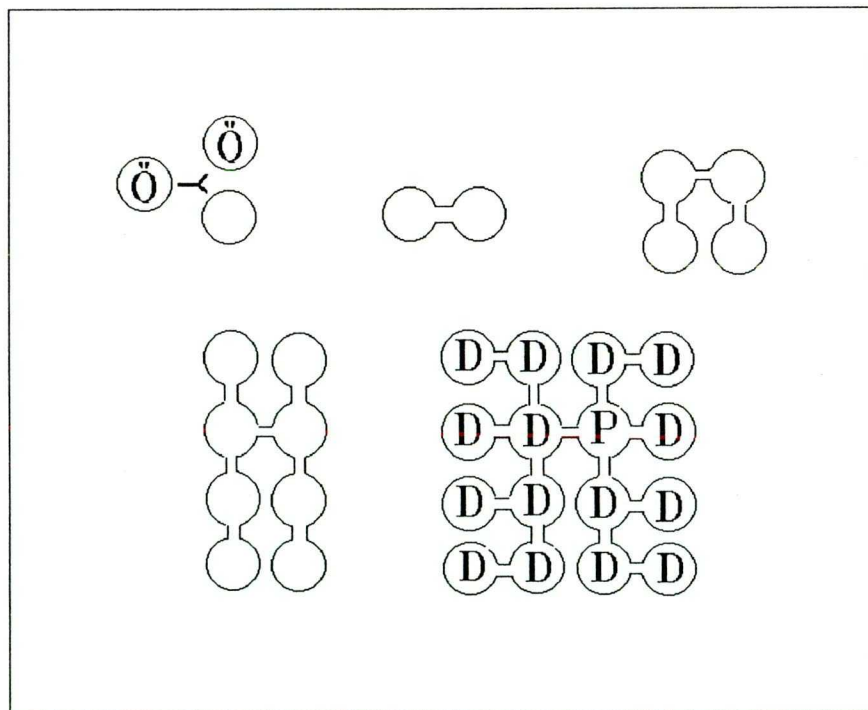
A kifejlett muslica két petefészket petecsövek alkotják. A petecsövek csúcsában helyezkednek el az ősvarsejtek, melyek egyenlőtlenül osztódnak. Az egyik leánysejt ősvarsejt marad, a másikkól négy mitotikus osztódás után petekezdemény fejlődik. (Nöthiger és mtsai 1978, Wieschaus és Szabad 1979, I. ábra).



I. ábra. A muslica petecső szerkezete

Az ovo gén erős alléljait hordozó homozigóta nőstények petecsöveiben nincsenek ősvarsejtek (Oliver és mtsai 1990). Az *Fs(2)D* domináns nősténysteril mutációt hordozó nőstények ősvarsejtjeiről lefűződő sejtek csak egyszer osztódnak. Az *fs(2)B* recesszív módon éppen ellenkező fenotípust okoz: a négy osztódás helyett sok osztódás játszódik le, a több száz sejt ovárium tumort okoz. Ovárium tumort okoz még az *fs231*, *ovarian tumor*, *bag-of-marble*, *orb* mutáció is (Mulligan és mtsai 1988, Steinhauer és mtsai 1989, McKearin és Spradling 1990, Lantz és mtsai 1992).

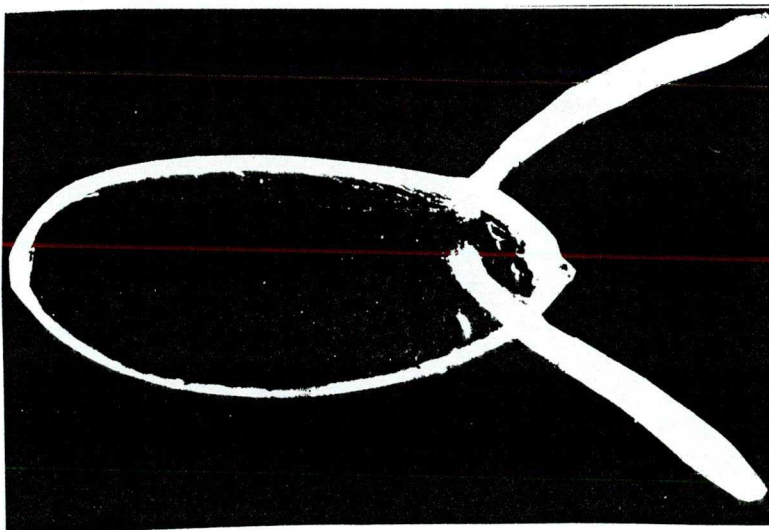
Az ősvarsejt osztódását követő négy mitózis során az utódsejtek szétválása nem teljes, köztük az ún. gyűrűcsatornák révén citoplazma kapcsolat marad. A 16 sejtből álló képződmény egyik, négy gyűrűcsatornával rendelkező sejtje petesejtté, a többi 15 pedig dajkasejtté differenciálódik (II. ábra).



II. ábra A tizenöt (D) dajkasejtekből és egy (P) petesejtből álló petesejt-dajkasejt együttes kialakulása az (Ö) ősvarsejtből.

A *Bicaudal-D* géntermék hiányában a petekezdeményben a petesejt differenciálódás nem zajlik le, 16 dajkasejt képződik (Suter és mtsai 1989). Az *egalitarian* mutáció szintén petesejt nélküli 16 egyforma sejtet tartalmazó petekezdeményt okoz (Schüpbach és Wieschaus 1991).

A petekezdeményt a petecsövek falából származó mezoderma eredetű follikuláris sejtek burkolják (King 1970, Szabad és Hoffmann 1989). A petekezdemények érése folyamán a dajkasejtek politenizálódnak, bennük erős transzkripció kezdődik. A dajkasejtek által szintetizált géntermékek, a gyűrűcsatornákon keresztül, a transzkripció szempontjából inaktív diploid petesejt citoplazmájába ömlenek. A follikuláris sejtek pedig a hemolimfából tápanyagokat juttatnak a petesejt citoplazmájába, majd szintetizálják a pete belső burkát, a vitellinmembránt, később pedig a külső burkot, a kóriot (Margarits 1985) (III. ábra).



III. ábra. Az érett pete.

Postlethwait és mtsai (1978) 18, vitellinmembrán szintézisre képtelen, recesszív nősténysteril mutánst írtak le és jellemeztek. Az *apterus*, az *fs(2)A1* és az *fs(2)A18* mutációk fenotípusát juvenil hormon adagolásával menekíteni tudták, igazolták, hogy a peteképzés hormonális szabályozás alatt áll. Az *fs(1)Nasrat* és *fs(1)polehole* amorf allélokra homozigóta nőstények petéin a vitellinmembrán foltokban hiányzik. A peték a peterakás után nyomban összeesnek (Degelmann és mtsai 1990). A külső peteburok szintéziséért a folliculáris sejtekben aktív kóriorion gének a felelősek. Hat fő korion gént azonosítottak, melyek két nagy csoportban helyezkednek el. Mindkét géncsoport a kóriorion szintézis beindulása előtt amplifikálódik (Tolias és Kafatos 1990). Amplifikáció hiányában a korion szintézise elégtelenül megy végbe, a peték életképtelenek lesznek. A fő korion géneken kívül Galanopoulos és mtsai (1989) nyolc másik, a korion kialakításban szerepet játszó gént jellemeztek.

Az ősvarsejt osztódásától az érett pete kialakulásáig tíz nap telik el (Wieschaus és Szabad 1979). Az érett pete aszimmetrikus felépítésű. A pete hátoldala egyenes, hasi oldala ívelt. A korion mintázata a hasi oldalon tömzsi, a háti oldalon vékony hatszögekből áll. Az elülső pólust a mikropilus és az operkulum jelzi. A hátoldalon elöl jellegzetes korionfüggelékek vannak (III. ábra 95. oldal).

fs mutációkkal a pete aszimmetriáját kialakító géneket is azonosítottak. Az *fsK10*, a *capuccino* és a *spire* homozigóta nőstények petéin a háti korion függelékek megkettőződnek és a hasi oldalon is a háti oldalra jellemző vékony hatszögű mintázatot találunk (Haenlin és mtsai 1987, Manseau és Schüpbach 1989). A *gurken*, a *cornichon* és a *torpedo* mutációk fenotípusa ellentétes: a mutáns nőstények petéinek háti függeléke csökevényes, a kóriorionmintázat a háti oldalon hasi jellemzőket mutat (Schüpbach 1987). A *Dicephalic* mutációt hordozó nőstények petecsöveiben „kétfejű” petekezdemények fejlődnek: a rendszeren elöl elhelyezkedő háti kóriorionfüggelék a farki végen is kialakul (Bohrmann és Sander 1987). Összefoglaló: Govind és Steward (1991).

A petekezdemények képződésének utolsó szakaszában a petesejt magjában elkezdődik a meiózis. Az érett pete az első meiotikus osztódás metafázisában várja a megtermékenyülést. A muslica petéket a nőstény a spermiumtarisznyában tárolt hímivarsejtek egyikével termékenyíti meg. A megtermékenyülés után a petesejt magja befejezi a meiózist. A négy anyai eredetű haploid magból három sarki testté, a negyedik női pronukleusszá lesz. Eközben a spermium kromatinja fellazul és a női pronukleusszal együtt kész az első mitotikus az ún. gonomerikus osztódásra. A gonomerikus osztódás után a duplikálódott anyai és apai kromoszómák diploid sejtmagokká egyesülnek.

Az *fs(1)Ya* homozigóta nőstények petéiben a női és hím pronukleuszok nem olvadnak össze. A *maternal haploid* gén *fs* fenotípusa hasonló, de esetében a női pronukleusz osztódik, haploid magcsoportot hoz létre (Lin és Wolfner 1989, Edgar és mtsai 1986).

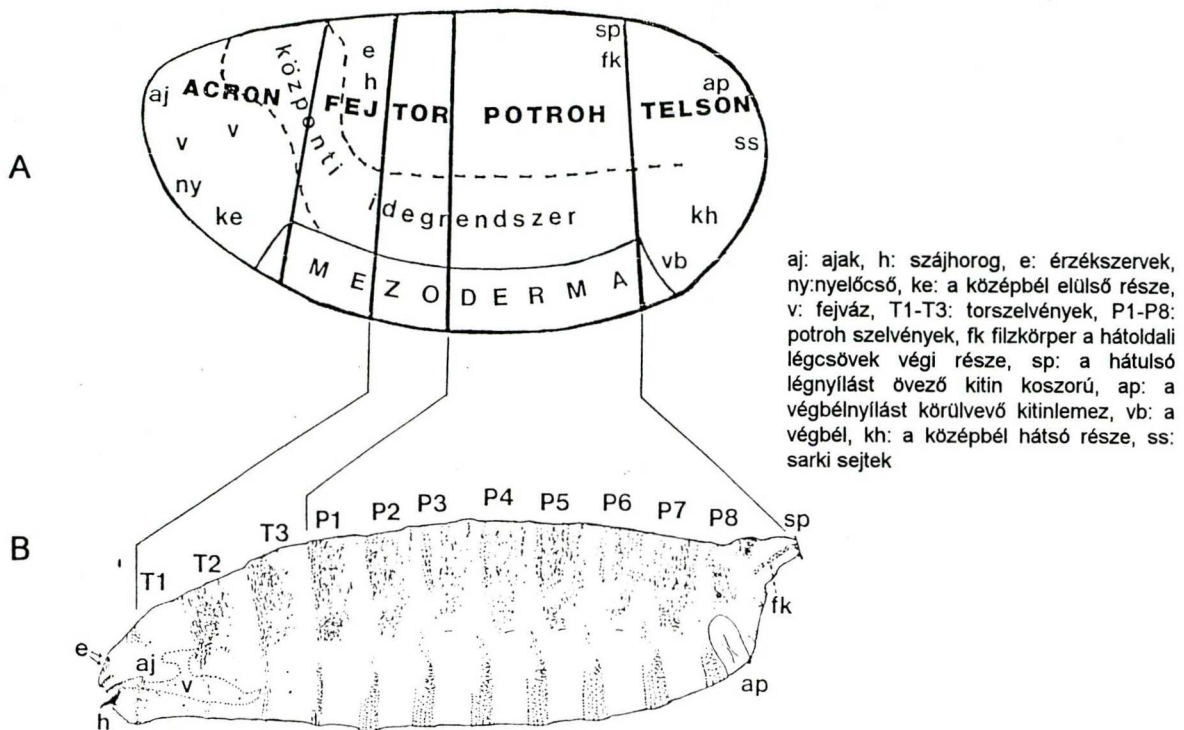
A két diploid magból tíz percenként osztódik. A cleavage osztódások révén rohamosan növekedő sejtmagpopuláció keletkezik. A magok nagyrésze a pete kérgi állománya felé mozog, míg néhány sejtmag a pete belsejében marad és poliploidizálódik. A poliploid ún. yolk sejtmagok a szikanyag lebontásában vesznek részt (Glover 1991).

A *giant nuclei*, a *plutonium* és a *pan gu* nősténysteril mutációk szétkapcsolják a DNS szintézis és a mitózis folyamatát. Helyben maradó óriás sejtmagok jönnek létre, mialatt a centroszómák ^arendben osztódnak és vándorolnak pete kérgi része felé (Freeman és mtsai 1986, Shamanski és Orr Weaver 1991). Az *abnormal spindle*, a *polo*, a *lodestar* és az *abnormal chromatin* mutációk a cleavage osztódás hibáját okozzák (Gonzales és mtsai 1990, Sunkel és Glover 1988, Vessey és mtsai 1991). Összefoglaló: Glover (1991).

Azokat a sejtmagokat, amelyek a pete hátulsó részében található poláris plazmán haladnak át, a pete sejthártyája poláris sejtekké, ivarsejt kezdeményekké fűzi le.

A *grandchildless* mutációk a poláris sejtek kialakulását akadályozzák meg. A *gs(2)M*, a *gs(1)N26* a *gs(1)N41* és a *germ cell-less* gének valamelyikének mutációira homozigóta nőstények utódaiban nem képződnek ivarsejtkezdemények, az utódok sterilek, a szülők unokátlanok lesznek (Mariol 1981, Niki 1984, Niki 1988, Jongens és mtsai 1992).

A vándorló magok a tizedik osztódás idejére érik el a pete kérgét, szinciciális blasztoderlát alkotva. A szincícium magjai a további fejlődés szempontjából még egyenértékűek. A szinciciális blasztoderma stádiumban kezdődik az embrió genomjának transzkripciója. Eddig a folyamatig az anyai transzkriptumok szerepe kizárólagos. A szinciciális magok még négyszer osztódnak. Az utolsó szinkron (13.) magosztódás alatt játszódik le a cellularizáció, amikor a petesejt hártájája a magok közé nő és valódi sejtekből álló blasztoderma alakul ki (Campos-Ortega és Hartenstein 1985, Wieschaus és Nüsslein-Volhard 1986). A mintegy 5600 sejtől álló blasztoderlát már különböző fejlődési irányban elkötelezett sejtek alkotják. Az egyes sejtek hiánya az embrióból kifejlődő lárvák testtájainak hiányát okozza. Lézersugárzással elpusztított, vagy mozaik technikával jelzett blasztoderma sejtek sorsát követve szerkesztették meg a *muslica* sorstérképét. A sorstérkép segítségével a lárvá testtájakait a blasztoderma felületére vetíthetjük (IV. ábra) (Szabad és mtsai. 1979, Lohs-sardin és mtsai 1979, Hartenstein és mtsai 1985, Jürgens és mtsai. 1986, Jürgens 1987).



IV. ábra A:a muslica blasztoderma sorstérképe Jürgens nyomán. B:a muslica elsőtádiomos lárva kutikula mintázata (Wieschaus rajza).

Számos anyai hatású letális *fs* mutációt azonosítottak kutikula hiányos, vagy rendellenes embrió kutikula fenotípusuk alapján. Az érintett kutikula területeket a sorstérképre vetítve kiderül, hogy az anyai hatású letális mutációk között vannak olyanok, melyek az embriók hosszanti és háti-hasi tengelyek szerinti aszimmetriáját zavarják meg. (A vad típusú gének feladata az embriók aszimmetriájának kialakítása.) Az embriók hosszanti tengelye mentén ható géneket három csoportba soroljuk mutáns fenotípusuk alapján. Az elülső géncsoport mutációi a fej és a tor hiányát okozzák. A hátulsó géncsoport mutációi a potroh kialakulását akadályozzák meg. A terminális gének a nem szelvényezett akron és telzon kialakulásáért felelősek, mutációik az embriók legelső és leghátsó testtájainak kialakulását akadályozzák meg (I. táblázat). Összefoglaló: St Johnston és Nüsslein-Volhard (1992).

I. táblázat. Az embrió hosszanti tengelye mentén ható aszimmetria meghatározó gének

GÉNCSOPORT A GÉNEK NEVE A GÉNEKRŐL TUDÓSÍTÓ DOLGOZATOK

Elülső	bicaudal	Nüsslein-Volhard 1977
	Bicaudal-C	Mohler és Wieschaus 1986
	Bicaudal-D	Mohler és Wieschaus 1986
	bicoid	MacDonald 1990
	exuperantia swallow	Schüpbach és Wieschaus 1986 Stephenson és mtsai 1989
Hátulsó	mago nashi	Boswell és mtsai 1991
	nanos	Wang és Lehman 1991
	oscar	Ephrussi és mtsai 1991
	pumilio	Lehman és Nüsslein-Volhard 1987b
	staufen	Schüpbach és Wieschaus 1986
	tudor	Boswell és Mahovald 1985
	valois vasa	Schüpbach és Wieschaus 1986 Hay és mtsai 1988
Terminális	fs(1)Nasrat	Degelmann és mtsai 1985
	fs(1)pole hole	Perrimon és mtsai 1986b
	l(1)pole hole	Perrimon és mtsai 1989
	torso	Strecker és mtsai 1989
	torso-like runk	Stevens és mtsai 1990 Schüpbach és Wieschaus 1986

A hasi-háti tengely menti aszimmetriát az embrióban a *dorsal* géncsoport tagjai és a *cactus*, anyai hatású gének határozzák meg. A *dorsal* géncsoport génjeinek funkcióvesztéses mutációi a hasi testtájon is háti fejlődési irányt szabnak meg. A „csupahát” embriók elpusztulnak. A *cactus* géntermék hiánya anyai hatású módon „csupahas” embriókat eredményez (II. táblázat). Összefoglaló: Stein és mtsai 1991).

Az egysejtrétegű blasztodermán jellegzetes befűződések keletkeznek, elindul a gasztruláció. A gasztruláció folyamán egyes testtájakon az ún. mitotikus szigeteken 2-3 aszinkron mitotikus ciklus játszódik le (Foe és Alberts 1983, Foe 1989). A poláris sejtek az embrió testének mélyébe vándorolnak. Az embrió megnyúlik, „U” alakot

vesz fel a peteburokban, miközben a szelvényezettség jelei kezdenek mutatkozni. Megkezdődik a szervképződés, a szegmentáció teljessé válik, az embrió újra megrövidül, a fej kitüremkedik. Végül, 24 óra múltán az első stádiumos lárva kibújik a petéből (Wieschaus és Nüsslein-Volhard 1986).

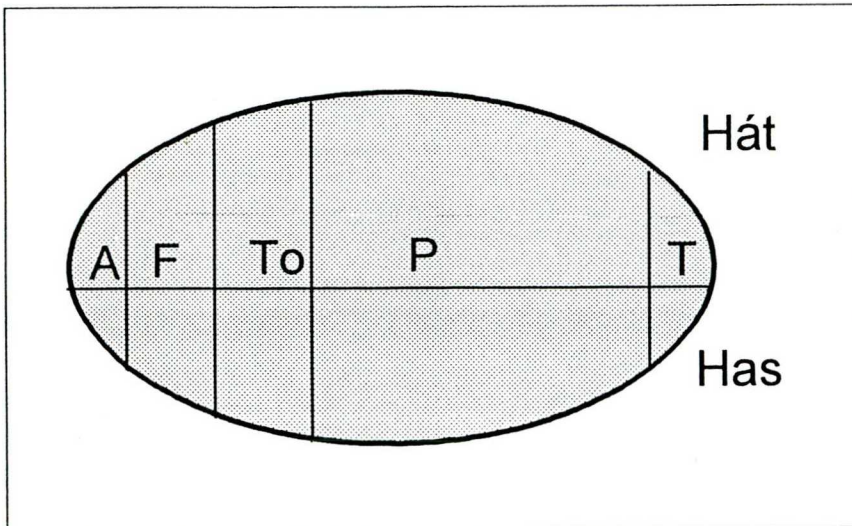
II. táblázat. Az embriók háti hasi aszimmetriáját kialakító gének.

A GÉNEK NEVE	A GÉNEKRŐL TUDÓSÍTÓ DOLGOZATOK
gastrulation defective	Konrad és mtsai 1988
snake	Anderson 1987
easter	Chasan és mtsai 1992
patzle	Anderson 1987
Toll	Hashimoto és mtsai 1991
tube	Letsou és mtsai 1991
pelle	Stein és mtsai 1991
dorsal	Ip és mtsai 1991
cactus	Roth és mtsai 1991
nudel	Stein és mtsai 1991
pipe	Stein és mtsai 1991
windbeutel	Stein és mtsai 1991

A blasztoderma kialakulásával az embrió korai, anyai eredetű információk által vezérelt fejlődési szakasza lezárul. Az egyedfejlődés következő lépéseit a zigóta saját génjei irányítják. A szegmentáció, a gasztruláció és a szervképződés genetikai boncolása már nem anyai hatású, hanem zigotikus letális mutációk azonosítása és vizsgálata révén lehetséges (lásd a következő összefoglaló munkákat Akam 1987, Ingham 1988, St Johnston és Nüsslein Volhard 1992).

Az embrió teskoordinátáinak kialakulása

A korai embriogenezis genetikai boncolása feltárta, hogy az embrók testtájjait anyai hatású gének szabják meg (V. ábra).



V. ábra. Az (A) akront és (T) telzont a terminális géncsoport, a (F) fejet és a (To) tort az elülső, a (P) potrohot a hátsó géncsoport határozza meg. A has-háti géncsoport az embrió hossz tengelye körüli aszimmetriáját alakítja ki.

A hasi-háti aszimmetria kialakulása

A hasi-háti aszimmetriát kialakító géneket két csoportba sorolhatjuk. A korai gének a pete és az embriók alakját is befolyásolják. A késői gének csak az embrió polaritását szabályozzák. A korai gének petére és embriókra kiterjedő hatása arra utal, hogy a pete és az embrió háti-hasi aszimmetriájának kialakulása egymásra épülő folyamat (VI. ábra).

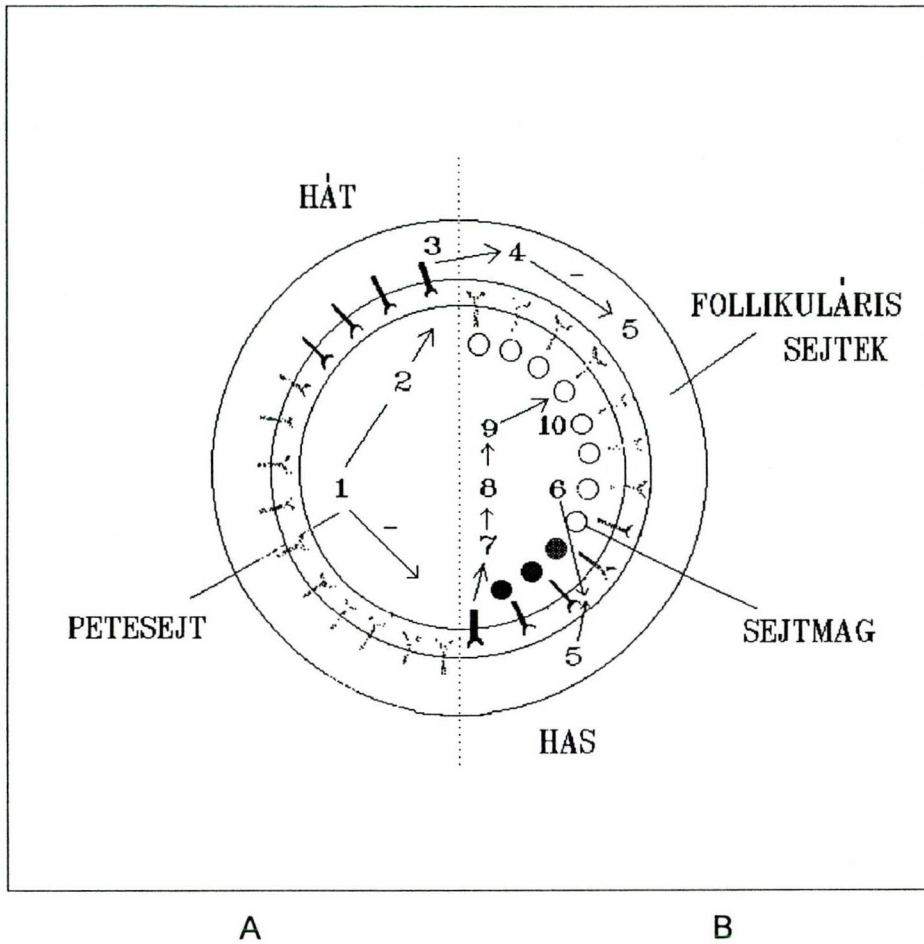
VI. ábra 1: A petekezdemény háti hasi aszimmetriáját a petesejt dajkasejt együttes indukálja. Az aszimmetrikus jel kialakulásának első ismert láncszeme az *fs(1)K10* gén által kódolt DNS kötő fehérje (Proust és mtsai 1988). Az *fs(1)K10* fehérje a háti oldalon elhelyezkedő petesejtmagban valószínűleg a transzkripció szintjén fejt ki aszimmetrikus hatását, a hasi oldalon gátolja, a háti oldalon megengedi a „háti jel” kialakulását (Cheung és mtsai 1992). A gátló funkció

kialakulásában és fenntartásában a *capuccino* és a *spire* géntermékeknek van szerepe (Manseau és Schüpbach 1989). Az *fs(1)K10*, a *capuccino* és a *spire* géntermékek hiánya következtében a „háti jel” hasi oldalon is kialakul, csupahát peték és embriók keletkeznek.

VI. ábra 2: Három gént azonosítottak, melyeknek szerepe lehet a „háti jel” kialakításában: a *gurken* a *cornichon* és a *Ketel* géntermékek hiányában a „háti jel” nem képes kialakulni, „csupahas” peték képződnek (Schüpbach 1987, Manseau és Schüpbach 1989, 3.8 fejezet).

VI. ábra 3: A pete alakját a folliculáris sejtek és a petesejt közösen határozzák meg. A háti jelnek a petesejt dajkasejt együttesből a folliculáris sejtekbe át kell jutni. A *DER* (*Drosophila* epidermis growth factor receptor homolog) gén a folliculáris sejtekben expresszálódik. A *DER* gén *torpedo* fenotípusú mutációi csupahas petéket és embriókat okoznak. Minden bizonnyal a háti jel a *torpedo* génterméken keresztül jut be a folliculáris sejtekbe. Az aktív receptor ismeretlen elemekből álló, feltehetően más fejlődési folyamatokban is szerepet játszó általános jelátvivő rendszeren keresztül aktiválja a folliculáris sejteben a végrehajtó géneket, amelyek a kórion háti jellegit alakítják ki.

VI. ábra 4: A *DER* aszimmetrikus aktivitása a késői génekre is kihat: az aktív receptor gátolja a az embrió hasi irányú fejlődést a háti oldalon. A receptor hiánya ventralizáló embriókat eredményez. A vad típusú petékben a hasi oldalon a *DER* receptor inaktív állapota lehetővé teszi a folliculáris sejtekben egy aszimmetrikus „hasi jel” kialakítását. A késői háti-hasi gének mindegyike a „hasi jel” kialakításában és továbbításában vesz részt. A késői gének funkcióvesztéses mutációi (a *cactus* később tárgyalt gén kivételével) „csupahát” embriókat okoznak. VI. ábra 5 A „hasi jel” aszimmetriáját a folliculáris sejtekben kifejeződő három gén a *pipe*, *nudel*



VI. ábra. A: a korai hasi-háti gének szerepe a pete alakjának kialakításában. B: a késői gének szerepe az embrió alakjának kialakításában.

és *windbeutel* gének asszimétrikus működése biztosítja. A *pipe*, *nudel* és *windbeutel* géntermékek a petesejt és a folliculáris sejtek közötti térbe szekretálódnak, ahol a *snake*, a *gastrulation defective*, az *easter* és a *spatzle* ivarsejt eredetű géntermékekkel együtt kialakítják az embrió fejlődéséhez szükséges „hasi jelet” VI. ábra 6 (Stein és mtsai 1991, Manseau és Schüpbach 1989). Ezidáig az *easter*, a *gastrulation defective* és a *snake* gének bázissorrendjét határozták meg, amelyek szerin proteázokhoz hasonló szekvenciákat tartalmaznak (De Lotto és Spierer 1986,

Chasan és Anderson 1989). A „hasi jel” valószínűleg proteolitikus hasítások sorozatán keresztül alakul ki.

Ha bármelyik „hasi jelet” kialakító géntermék hiányzik a perivitellin térből a hasi jel nem alakul ki, és csupahát embriók jönnek létre. A „hasi jelet” kialakító gének közül egyedül az *easter* génnek vannak domináns funkciónyerékes fenotípusú mutációi (Chasan és Anderson 1989, Erdélyi és Szabad 1989). Az *easter^D* mutációk fenotípusa a funkcióvesztéssel ellentétes: csupahas embriók. A domináns fenotípus arra utal, hogy az *easter* génnek kulcsszerepe van a hasi jel kialakításában. Az *easter* fehérje a tripszin típusú szerin proteázok csoportjába tartozik. A tripszinhez hasonlóan az aktív *easter* fehérje proteolitikus hasítás révén az *easter* zimogénből alakul ki. Chasan és mtsai (1992) in vitro mutagenézissel olyan csonkolt *easter* cDNS változatot állítottak elő, amely proteolitikus hasítás nélkül is aktív. A csonkolt cDNS domináns fenotípust okozott: a vad típusú embriókba injektált cDNS hatására az embriók hasi jellegzetességeket mutatnak az oldalsó és háti területeken is. Ez azt bizonyítja, hogy a „hasi jel” az *easter* zimogén aszimmetrikus hasításával alakul ki. A zimogén hasítást nem igénylő csonkolt cDNS okozta domináns fenotípus *pipe*, *nudel*, *windbeutel*, *gastrulation defective* és *snake* mutáns háttéren is kifejeződik, ami arra utal, hogy az említett hasi jel kialakító gének a szabályozási folyamatban az *easter* gén előtt helyezkednek el. A vad típusú embriók perivitellin terében szerepük az *easter* zimogént aszimmetrikusan hasító fehérjekomplex kialakítása lehet. Egyedül a *spatzle* mutáns háttér szorítja vissza a csonkolt cDNS fenotípusát, jelezve, hogy az *easter* gén a *spatzle* génterméken keresztül hat. A *spatzle* génterméket az aszimmetrikusan aktív *easter* csak a hasi oldalon aktiválja, ezzel kialakítja a végső „hasi jelet”.



VI. ábra 7 A *Toll* géntermék hiánya a „hasi jelet” kialakító gének hiányakor tapasztalt csupahát embriókhoz vezet. A *Toll* gén bázissorrendje az interleukin 1 és a Gp1b trombin receptorokkal mutat szekvencia homológiát (Hashimoto és mtsai 1988). A *Toll* fehérje valódi receptorként viselkedik: a szinciciális blasztoderma sejtthártyáján egyenletesen oszlik el, az aszimmetrikus *Toll* aktivitás egy aszimmetrikusan jelenlévő ligand révén, (a „hasi jel” révén) jön létre. (Hashimoto és mtsai 1991). A „hasi jel” a *Toll* gén által kódolt receptoron keresztül jut a szinciciális blasztoderma citoplazmájába.

A *Toll* génnek funkciónyeréses domináns alléljai is vannak (Anderson és mtsai 1985, Erdélyi és Szabad 1989). A domináns fenotípus a funkcióvesztéssel ellentétes: „csupahas” embriók jönnek létre. A domináns mutációk szekvencia vizsgálata azt mutatta, hogyha a mutációs változások a receptor molekula sejtén kívüli részét közvetlenül a membránon átívelő szakasz közelében érintik. A mutáns receptor ligand hiányában is aktív és a háti oldalon is hasi fejlődési irányt szab meg (Schneider és mtsai 1991).

VI. ábra 10: A *Toll* receptor által közvetített „hasi jel” végül a *dorsal* géntermék aszimmetrikus sejtmagi lokalizációján keresztül fejti ki hatását a végrehajtó géneken. A *dorsal* fehérje a friss pete citoplazmában egyenletesen oszlik el. A blasztoderma korú embriók sejtmagjaiban azonban a *dorsal* fehérje már hasi-háti irányú csökkenő grádiens szerint oszlik el (Roth és mtsai 1989). Ha a „hasi jel” nem alakul ki, vagy nem közvetítődik a szinciciális blasztoderma citoplazmájába a *dorsal* fehérje sejtmagba történő bejutása elmarad.

A *dorsal* gén szekvencia hasonlóságot mutat a *c-rel* gerinces onkogénnel, és a B sejtek *Nf-kB* komplexének *p50*-es DNS kötő alegységével (Steward 1987). Az *Nf-kB* polipeptid a B sejtek citoplazmájában az *IkB* inhibitor proteinhez kötve

helyezkedik el. Az inhibítor foszforilációja felszabadítja az *Nf-kB* polipeptidet, ami dimerizálódik és bejut a sejtmagba, ahol transzkripció szabályozó faktorként működik (Ghosh és mtsai. 1990). A *dorsal* géntermék maga is transzkripció faktor. A sejtmagokba történő bejutása az *Nf-kB*-hez hasonló módon szabályozódhat (Doyle és mtsai 1989, Ip és mtsai 1991). E modell szerint a *cactus* gén terméke lenne az inhibítor, ami a *dorsal* fehérjével a citoplazmában inaktív komplexet képez.

VI. ábra 9: A *cactus* géntermék gátló természetére utal funkcióvesztéses fenotípusa. A fehérje hiánya az embriók hasi jellegének oldal irányú kiterjedését eredményezi. A *cactus* mutáns fenotípus az oldalsó és háti testtájakon a megnövekedett sejtmagi *dorsal* szint eredménye. A *dorsal* géntermék a *cactus* homozigóta anyák petéiben is, a vadtypustól eltérő, sejtmagi gradienst képez, ami arra utal, hogy a *dorsal* géntermék sejtmagi lokalizációjának a *cactus* génen kívül más szabályozó elemei is vannak (Roth és mtsai 1991).

VI. ábra 8: A *dorsal* sejtmagi gradiens kialakításában a *cactus* génen kívül még két génnek lehet közvetlen szerepe. A *pelle* és a *tube* gének a *Toll* gén után, a *dorsal* gén előtt helyezkednek el a hasi jelátadási láncon (Anderson és mtsai 1985). A *pelle* és *tube* gének szerepe a *dorsal* protein sejtmagba való bejutásának elősegítése lehet (Letsou és mtsai 1991). A *pelle* és *tube* mutációk a gátló természetű *cactus* gén mutációival ellentétes fenotípust, „csupahát” embriókat okoznak.

VI. ábra 10: A *dorsal* fehérje az embrió háti-hasi aszimmetriáját kialakító morfogén (Steward és mtsai 1989). A blasztoderma sejtmagokban gradiensszerűen eloszló morfogén az anyai hatású háti hasi aszimmetriát kialakító gének működését összegzi és mint transzkripció faktor a hasi, az oldalsó és a háti régiókban különböző zigotikus hatású géneket közvetlenül aktivál és inaktivál. Végző soron

kialakítja az embrió hossz tengely körüli aszimmetriáját (Doyle és Mtsai 1989, Ip és Mtsai 1991).

Az embrió elülső és hátulsó testtájainak kialakulása

Klasszikus embriológiai vizsgálatokból az ún. lékeléses kísérletekből tudjuk, hogy a *Drosophila* peték citoplazmája az embriók hossz tengelye menti aszimmetriát kialakító jeleket tartalmaz. Ha a pete citoplazmájának elülső részét üvegkapillárisal eltávolítjuk a petében fejlődő embrió elülső része nem alakul ki. A pete hátulsó citoplazma részletének eltávolítása az embriók potroh szelvényeinek hiányát okozza (Frohnhofer és Mtsai 1986b, Sugiyama és Okada 1990). A hátulsó citoplazma lékelés az embriók leghátsó telzon testtájának kialakulását nem befolyásolja. A lékeléses vizsgálatok három aszimmetriát kialakító jel létezésére utalnak, melyek az embriók elülső, hátulsó és terminális testtájakat alakítják ki.

Nősténysteril mutációkkal négy olyan gént azonosítottak, melyek a petekezdemények szerkezetét és az embriók hossz tengely menti aszimmetriáját egyaránt érintik: A *Bicaudal-C* és a *Bicaudal-D* géneknek közös domináns anyai hatású letális fenotípusuk van. Az embriók feje és tora hiányzik, helyette a potrohszelvények tükörszimmetrikusan duplikálódnak (Mohler és Wieschaus 1986). A *Bicaudal-D* funkcióvesztéses fenotípusa a petekezdemény szerkezetét változtatja meg: a petekezdeményben petesejt nem differenciálódik, tizenhat dajkasejtből álló együttes alakul ki. A *Bicaudal-D* vad típusú géntermék a fejlődő petesejt-dajkasejt együttes a petesejt elülső részében lokalizálódik. A gén bázissorrendje a miozin nehéz láncát kódoló génnel mutat homológiát. Feltételezik, hogy a géntermék szerepe a dajkasejt eredetű RNS-molekulák, így a petesejt differenciálódáshoz

szükséges géntermék, és az „elülső jel” petesejtbe történő szállítása és helybentartása lehet (Suter és mtsai. 1989).

A *Bicaudal-C* gén funkcióvesztéses alléljai a pete elülső részén megnyilvánuló petealak fenotípust okoznak. A *Bicaudal-C* eredetű peték burkának elülső része nem záródik (Schüpbach és Wieschaus 1991). A domináns fenotípus szintén a petesejt elülső részét érintő, de enyhébb szerkezeti elváltozás eredménye. A domináns fenotípus a petealakot nem, csak az elülső jel lokalizációját érinti.

A *bicaudal* gén funkcióvesztéses fenotípusa a *Bicaudal-C* és *Bicaudal-D* domináns fenotípussával azonos. A *bicaudal* mutációk kettős heterozigóta kombinációban mindkét domináns allél fenotípusát erősítik (Mohler és Wieschaus 1986). Ez azt jelzi, hogy a három *bicaudal* gén funkciója közös. A petesejt elülső részének citoplazma-szerkezetét alakítják ki, ahol a dajkasejtekből származó elülső morfogén is lokalizálódik.

A *Dicephalic* mutáció hatása ellentétes a *bicaudal* fenotípussal. A *Dicephalic* nőstények petefészkeiben a petesejt hátsó része érintett. A dajkasejtek a petesejtnemcsak az elülső, de a hátsó oldalán is megtalálhatók (Bohrmann és Sander 1987). A petesejt két oldalán elhelyezkedő dajkasejtek két elülső pólust alakítanak ki és az embriónak két feji része fejlődik. Ez arra utal, hogy az embrió fejlődéséhez szükséges elülső jel a dajkasejtekben keletkezik. A kétféjű embriók léte azt bizonyítja, hogy a hátsó oldalon kialakuló elülső jel képes a hátsó jelet elnyomni. A *bicaudal* anyától származó embriók megerősítik a két pólus közötti alá- és fölérendeltségi viszonyt: az elülső jel hiányában a hátsó jel képes az elülső oldalon is kialakulni.

Az elülső jel kialakulása

A muslica embrió fej és tor kialakulásáért a *bicoid* morfogenetikai gradiens felelős. A *bicoid* RNS a frissen lerakott pete elülső részében helyezkedik el (Berleth és mtsai 1988). A kicsi citoplazmarészre lokalizált RNS-ről a megtermékenyítés után fehérje transzlálódik. A *bicoid* fehérje diffúziója és konstans degradációja hozza létre a *bicoid* gradienst (Driever és Nüsslein-Volhard 1988b). A *bicoid* fehérje a szekvencia specifikus transzkripció faktorok egyik csoportjára jellemző DNS-kötő fehérjeszakaszt az ún. homeodomént tartalmaz. A *bicoid* fehérje koncentrációtól függő módon az elülső és középső testtájakat kialakító zigotikus aktivitású gének kifejeződését szabályozza (Frigerio és mtsai 1986, Berleth és mtsai. 1988).

Azt, hogy a *bicoid* fehérje azonos a citoplazma-átültetési kísérletek „elülső faktorával” *bicoid* RNS injektálással bizonyították. In vitro szintetizált *bicoid* RNS-t injektáltak vad típusú peték hátulsó részébe. Az elülső citoplazma injekcióval egyező hatást értek el. Az RNS injekcióhoz közeli helyen kialakuló sejtek feji jellegzetességeket mutattak, az injekció helyétől távolodva a fejtől távolodó rendben torra jellemző jegyeket figyeltek meg (Driever és mtsai 1990).

A *bicoid* RNS lokalizációjához ép sejt váz és legalább három anyai hatású géntermék szükséges. A *bicoid* RNS a petekezdemények dajkasejtjeiben szintetizálódik, és azok perinukleáris terében megkötődik. A vad típusú petekezdeményekben mikrotubulus mérgek hatására a perinukleáris kötődés megszűnik. Az *exuperantia* homozigóta nőstények petekezdeményeiben sem lehet a *bicoid* RNS perinukleáris kötődését kimutatni (Pokrywka és Stephenson 1991). Ez arra utal, hogy az *exuperantia* géntermék által a *bicoid* RNS a mikrotubulus rendszerhez kötődik. A petekezdemény

fejlődésének későbbi szakaszában, a petesejt feltöltése során, a *bicoid* RNS a többi anyai eredetű transzkriptummal együtt a gyűrűcsatornákon keresztül a petesejtbe jut. A *bicoid* RNS-t a petesejt elülső részének kérgi citoplazmája „csapdába ejti”. A *swallow* homozigóta nőstényekben a kérgi lokalizáció elmarad, jelezve, hogy a *swallow* fehérje a kérgi lokalizáció egyik eleme (Stephenson és mtsai 1989). A megtermékenyülés előtt a *bicoid* RNS felszabadul a citoplazma alig 5 μ m vékony kérgi részéből és a citoplazma elülső részében lokalizálódik. Ezért a végleges lokalizálásért valószínűleg a *staußen* géntermék a felelős (St Johnston és mtsai 1989). A *staußen* fehérje a petesejt citoplazmájának elülső részében a *bicoid* RNS végleges helyén mutatható ki. A *staußen* géntermék szerepe a *bicoid* RNS diffúziójának megakadályozása, a végleges lokalizáció fenntartása lehet (St Johnston és mtsai 1991).

A hátulsó jel kialakulása

A hátulsó géncsoport mutációi a potroh hiányát okozzák. A géncsoport tagjainak többsége (*cappuccino*, *spire*, *staußen*, *oskar*, *vasa*, *valois*, *tudor* és *mago nashi*) a poláris plazma kialakításáért felelős. A poláris plazma a pete hátulsó részének fénymikroszkóposan is felismerhető citoplazma részlete. A poláris plazma tartalmazza a potroh kialakulásához szükséges „hátulsó” jelet és az ősvarsejtek kialakulásához szükséges géntermékeket is. A fenti gének bármelyikének mutációja kettős fenotípust eredményez. A homozigóta anyák utódaiban sem potroh sem az ivarsejtek őssejtjei sem alakulnak ki. A potrohhiányos fenotípus nem a hátulsó morfogén hiányának, hanem a morfogén vadtypustól eltérő lokalizációjának következménye (Sander és Lehmann 1988, Lehmann és Nüsslein-Volhard 1991).

A posterior géncsoportba tartozó *nanos* és *pumilio* gének specifikusan a potroh kialakításáért felelősek, mutációik a poláris sejtek kialakulását nem befolyásolják (Lehmann és Nüsslein-Volhard 1991).

E két gén terméke közül a *nanos* fehérje azonos a citoplazmainjekciók által kimutatott hátulsó jellel. A *nanos* anyától származó peték citoplazmája nem tartalmaz hátsó jelet (Lehmann és Nüsslein-Volhard 1991). In vitro szintetizált *nanos* RNS injekciójával az összes hátulsó géncsoportba tartozó gén mutációjának potroh hiányos fenotípusa menekíthető.

A frissen rakott petékben a *nanos* RNS a pete leghátsó részében, a poláris plazmában lokalizálódik. A *nanos* géntermékre azonban előrébb, a potroh testtájon van szükség. A *nanos* fehérje transzportja aktív módon, a *pumilio* géntermék közreműködésével történik. A *pumilio* anyától származó peték potroh nélküli fenotípusát *pumilo* anyáktól származó peték citoplazmájával sikerült javítani, ha a peték leghátsó részéből származó citoplazmát a potroh régióba injektáltak (Lehmann és Nüsslein-Volhard 1987a).

A *nanos* fehérje közvetetten irányítja a potroh fejlődést. A *hunchback* a fej és a tor kialakulásáért felelős zigotikus aktivitású gén. A *hunchback* gén zigotikus transzkripciója az „elülső jel”, a *bicoid* morfogén szabályozása alatt áll (Driever és Nüsslein-Volhard 1989). Zigotikus transzkripció csak az embriók elülső, magas *bicoid* koncentrációjú testtájaiban a fejben és a torban folyik.

A *nanos* morfogén szintén a *hunchback* gén szabályozásán keresztül fejt ki a hatását. A *hunchback* génnek anyai hatású transzkripciója is van. Az anyai eredetű *hunchback* RNS a frissen rakott petékben egyenletes eloszlású. Az embrió fejlődésének cleavage stádiumában a leendő potroh részen a *hunchback* RNS a *nanos* fehérje hatására megkötődik. A *nanos* mutáns anyák utódaiban az egyenletes

hunchback RNS eloszlás megmarad és ezt a *hunchback* gén pozitív autoregulációja egyenletes *hunchback* fehérje eloszlássá fordítja le (Taub és Pfeifle 1989). Ezek szerint a *nanos* fehérje szerepe a *hunchback* zigotikus kifejeződésének, így az előző fejlődési iránynak megakadályozása a potrohban.

A *nanos* fehérje szerepe egyedül a *hunchback* gátlásra korlátozódik. Mitotikus rekombinációval anyai *hunchback* és *nanos* mentes petéket állítottak elő. A kettős mutáns petékben ép, fertilis utódok fejlődtek (Hülsklamp és mtsai 1989).

A terminális géncsoport működése.

A terminális géncsoportba tartozó gének amorf fenotípusa közös. A *torsolike* a *trunk* az *fs(1)Nasrat* az *fs(1) pole hole* a *torso* és az *l(1)pole hole* homozigóta anyáktól származó embriók nem szegmentált akron és telzon testtájai hiányoznak. Pete citoplazmalékeléses kísérletekkel ezt a fenotípust nem lehet előállítani, ami arra utal, hogy a termináliákat nem a pete citoplazmában elhelyezkedő morfogén alakítja ki. A terminális géncsoport tagjainak genetikai és molekuláris biológiai vizsgálata, megerősítve a lékeléses vizsgálatok negatív eredményét feltárta, hogy a termináliák kialakulása a follikuláris és az ivarsejt eredetű sejtek közötti sejt-kommunikáció eredménye.

A sejt-kommunikáció kulcseleme a *torso* gén által kódolt tirozin kináz receptor (Sprenger és mtsai 1989). Az anyai eredetű *torso* RNS a megtermékenyülés után transzlálódik és a fehérje a petesejt membránjában lokalizálódik (Casanova és Struhl 1989). A *torso* fehérje egyenletes eloszlást mutat a membránban, ílymódon a termináliákra korlátozott receptor aktivitás a receptor ligandjának speciális térbeli eloszlásának lehet eredménye (Klingler és mtsai 1988, Strecker és mtsai 1989).

A *torso* génnek domináns (*tor^D*), funkciónyeréses alléljai is léteznek (Klingler és mtsai. 1988, Strecker és mtsai 1989, Szabad és mtsai 1989). A funkciónyeréses fenotípust a ligand nélkül is aktív receptormolekulák hozzák létre. A funkciónyeréses fenotípus terminális géncsoportra jellemző funkcióvesztéses fenotípussal ellentétes. A termináliák kialakulnak, míg az embriók középső, szegmentált testtájai hiányoznak. A terminális géncsoport tagjai közül a *torso^D* fenotípust egyedül az *I(1) pole hole* mutáns háttér szupresszálja (Ambrosio és mtsai 1989, Stevens és mtsai 1990). Az *I(1) pole hole* a *c-raf* onkogénnek, több ismert tirozin kináz szignáltranszdukciós lánc tagjának *Drosophila* homológja (Nisida és mtsai 1988).

A *torso like* gén a folikuláris sejtekben aktív. A vad típusú termináliák kialakulásához a farki véget borító kb 30 follikuláris sejt *torso like* aktivitása elégséges (Stevens és mtsai. 1990). Ezek alapján úgy gondolják, hogy a *torso like* gén kódolja a *torso* receptor helyhez kötött inaktív ligandját. A *trunk* az *fs(1)Nasrat* és az *fs(1)pole hole* gének az ivarsejtekben fejeződnek ki és szerepük feltehetően a *torso like* inaktív génterméknek aktív formába hozása.

KÖZLEMÉNYEK ÉS HIVATKOZÁSOK

Szabad, J., Erdélyi, M. and Szidonya, J., Characterization of *Fs(2)1*, a germ-line dependent dominant female sterile mutation of *Drosophila*. *Acta Biologica Hungarica* **38**, 257-266, 1987. if=O.1

Hivatkozások: (a Science Citation Index alapján 1993 ig)

Szabad J, *Mol Gen Genet* 211 56 1988
Erdélyi M, *Genetics* 122 111 1989
Schüpbach T, *Genetics* 121 101 1989
Weigel D, *Cell* 57 645 1989
Szabad J, *Develop Biol* 131 1 1989
Galanopoulos VK, *Develop Genet* 10 87 1989
Szabad J, *Genetics* 122 823 1989
Clifford RV, *Genetics* 123 771 1989
Manseau LJ, *Gene Develop* 3 1437 1989
Szabad J, *Genetics* 127 525 1991

összesen 10

Klingler, M., Erdélyi, M., Szabad, J. and Nüsslein-Volhard, C., The role of *torso* in determining the terminal anlagen of the *Drosophila* embryo. *Nature* **335**: 275-277, 1988. if=19,34

Hivatkozások:

Ambrosio L, *Development* 106 145 1989
Ambrosio L, *Nature* 342 288 1989
Driever W, *Nature* 340 363 1989
French W, *Development* 104 3 1989
Gaul U, *Development* 107 651 1989
Hopper KL, *Development* 107 489 1989
Nüsslein-Volhard C, *Ciba Found Symp* 144 37 1989
Pankratz MJ, *Nature* 341 337 1989
Sprenger F, *Nature* 338 478 1989
Struhl G, *Ciba Found Symp* 144 65 1989
Szabad J, *Genetics* 122 823 1989
Wilkins AS, *Bioessays* 11 67 1989
Strecker TR, *Science* 243 1062 1989
Schüpbach T, *Genetics* 121 101 1989
Erdélyi M, *Genetics* 122 111 1989
Weigel D, *Cell* 57 645 1989
Casanova J, *Genes and Development* 3 2025 1989
Lehmann R, *Development* 107 21 1989
Manseau LJ, *Genes and Development* 3 1437 1989
Manseau LJ, *Trends in Genetics* 5 400 1989
Roth S, *Cell* 59 1189 1989
Casanova J, *Development* 110 621 1990
Davidson EH, *Development* 108 365 1990
Degelman A, *Genetics* 126 427 1990
Driever W, *Development* 109 811 1990
Dworkin MB, *Mol Reprod* 26 261 1990
Gliniak BC, *Cell* 63 1073 1990
Hafen E, *Ciba Found Symp* 150 191 1990
Leptin M, *Development* 110 73 1990
Macdonalds PM, *Development* 110 161 1990

Nishida Y, Jpn J Genet 65 121 1990
 Pignoni F, Cell 62 151 1990
 Reinitz J, Develop Biol 140 57 1990
 Siegfried E, Trends in Genetics 6 357 1990
 Stevens LM, Nature 346 660 1990
 Sugiyama S, Develop Biol 141 299 1990
 Warrior R, Development 110 759 1990
 Weigel D, Science 248 495 1990
 Gaul U, Mech Develop 33 57 1990
 Basler K, Cell 64 1069 1991
 Eldon ED, Development 111, 367 1991
 Kraut R, Development 111 611 1991
 Hashimoto C, Development 111 1021 1991
 Melton DA, Science 252 234 1991
 Stein D, Cell 65 725 1991
 Hulskamp M, Bioessays 13 261 1991R
 Kimha J, Cell 66 23 1991
 Lehmann R, Development 112 679 1991
 Strecker T, PNAS US 88 5824 1991
 Thisse C, Cell 65 1191 1991
 Boswell RE, Development 113 373 1991
 Cohen S, Trends in Genetics 7 267 1991
 Hafen E, Development Suppl 123 1991
 Nüsslein-Volhard C, Development Suppl 1 1991
 Ray RD, Development 113 35 1991
 Wang G, Cell 66 637 1991
 Wolfgang WJ, Development 113 527 1991
 Duffy JB, Genes Dev. 5 2176 1991
 Schupbach T, Genetics 129 1119 1991
 Bonner G, Mech Dev 35 205 1991
 Steingrimson E, Science 254 418 1991
 Basler K, Bioassays 13 621 1991
 Casanova J, Mechanism of Dev. 36 41 1991
 Sprenger F, Cell 71 987 1992
 Dickson B, Genes Dev 6 2327 1992
 Dickson B, Nature 360 600 1992
 Tautz D, bioassays 14 262 1992
 Perkins LA, Cell 70 225 1992
 Pignoni F, Development 115 239 1992
 Arora K, Development 114 1003 1992
 Chandra HS, Journal of Genetics 70 137 1992
 Whitehousehills S, Rouxs Arch. Dev. 201 257 1992
 Hoch M, Science 256 94 1992
 Strecker TR, Dev Biol. 150 422 1992
 StJohnston D, Cell 68 201 1992
 Shilo BZ, Faseb Jurnal 6 2915 1992
 Avery L, Trends in Genetics 8 312 1992

összesen 75

Erdélyi, M. and Szabad, J., Isolation and characterization of dominant female sterile mutations of *Drosophilamelanogaster*. I. Mutations on the third chromosome. Genetics **122**, 111-127, 1989. if=3,85

Hivatkozások:

Struhl G, Nature 338 741 1989
 Szabad J, Genticis 122 823 1989
 Roth S, Cell 59 1189 1989
 Steward R, Cell 59 1179 1989
 Jin, YS, Cell 60 873 1990

Simpson L, Development 110 851 1990
Malva C, Mol Reprod 28 307 1991
Szabad J, Genetics 127 525 1991
Vessey KB, J Cell Sci 98 233 1991
Schneider DS, Gene and Development 5 797 1991
Shrons H, Genetics 132 481 1992
Stein D, Cell 68 429 1992
Cumberledge S, Development 115 395 1992
Szabad J, Development 115 527 1992
Chasan R, Development 115 607 1992
Norris JI, Genes Dev. 6 1654 1992
Chou TB, Genetics 131 643 1992

összesen 17

Szabad, J., Erdélyi, M., Hoffmann, Gy., Szidonya, J. and Wright, T.R.F.,
1989 Isolation and characterization of dominant female sterile mutations of
Drosophila melanogaster. II. Mutations on the second chromosome. Genetics
122, 823-835, 1989. if=3,85

Hivatkozások:

Roth S, Cell 59 1189 1989
Szabad J, Genetics 127 525 1991
Vessey KB, J Cell Sci 98 233 1991
Govind S, Trends in Genetics 7 119 1991
Karr TL, Mechanisms of Development 34 101 1991
Sprenger F, Cell 71 987 1992
Cumberledge S, Development 115 395 1992
Chou TB, Genetics 131 643 1992
Govind S, P.N.A.S 89 7861 1992
Dickson B. Gene. Dev. 6 2327 1992

összesen 10

RÖVIDÍTÉSEK

al	aristaless	2-0,4	csökevényes csáp
b	black	2-48,5	sötét testszín
Bc	Black cell	2-80,6	fekete sejtek a lárva, báb és az imágó epidermiszén
bw	brown	2-104,5	barna szemszín
c	curved	2-75,5	felfelé pördülő szárny
ca	claret	3-100,7	barna szemszín
cn	cinnabar	2-57,5	égőpiros szem
cu	curled	3-50,0	felfelé pördülő szárny
CxD			3. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
CyO			2. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
D	Dichaete	3-40,7	széttartott szárny
dp	dumpy	2-3,0	csökevényes szárny
e	ebony	3-70,7	fekete testszín
f	forked	1-56,7	villás szőrök
fs(1)K10	K10	1-0,5	nőténysteril mutáció dorzalizáló pete fenotípussal
Gl	Glued	3-41,4	kicsi, durva szem
Gla	Glazed	2-	kicsi, ovális szem
h	hairy	2-26,5	szőrös szárnyvéna
In(2LR)Pm			2. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
lt	light	2-55,0	sárgásbarna szemszín
mal	maroonlike	1-64,8	barna szem, az aldehydoxidáz aktivitás hiányzik
mwh	multiple wing hairs	3-0,3	bokorszerű szőrök a testen és a szárnyon
pr	purple	2-54,4	barnás szemszín
px	plexus	2-100,5	szabálytalan szárnyvéna
red	red	3-53,6	barna szemszín
Roi	rough eye	2-	durva szem
ru	roughoid	3-0,0	kicsi, durva szem
Sb	Stubble	3-58,22	rövid szőrök a testen
sbl²	stubbloid	3-58,2	Kissé megrövidült szőrök a testen
Ser	Serrate	2-91,9	kicsipett szárny
SM5			2. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
sp	speck	2-107,7	a szárnyak töve fekete
sr	stripe	3-62,0	fekete csík a toron
st	scarlet	3-44,0	égőpiros szem
T(1,2)BLD			1-2 reciprok transzlokáció
T1,2)OR64			1-2 reciprok transzlokáció
T(1,3)OR6O			1-3 reciprok transzlokáció
Tb	Tubby	3-90,6	rövid test
th	thread	3-43,2	elágazás nélküli csáp
TM1			3. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
TM3			3. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
TM6			3. kromoszómás inverziós balanszerkromoszóma
v	vermillion	1-33,0	égővörös szemszín
y	yellow	1-0,0	sárga testszín

A nagybetűvel jelölt mutációk dominánsak.



IRODALOMJEGYZÉK

- AKAM, M., 1987 The molecular basis for metameric pattern in the *Drosophila* embryo. *Development* **101**: 1-22.
- AMBROSIO, L., A.P MAHOWALD and N. PERRIMON, 1989 Requirement of the *Drosophila raf* homolog for *torso* function. *Nature* **342**: 288-291.
- ANDERSON, K.V., 1987 Dorsal ventral embryonic pattern genes of *Drosophila*. *Trends in Genet.* **3**(4): 91-97.
- ANDERSON, K.V., G. JÜRGENS and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1985 Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the *Toll* gene product. *Cell* **42**: 779-789.
- ANDERSON, K.A. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986 Dorsal-group genes of *Drosophila*. In: *Gametogenesis and the Early Embryo* (J.G. Gall ed.), pp. 177-194, Alan R. Liss, Inc. New York.
- BAKKEN, A.H., 1973 A Cytological and Genetic Study of Oogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Developmental Biology* **33**: 100-122.
- BERLETH, T., M. BURRI, G. THOMA, D. BOPP, S. RICHSTEIN, G. FRIGERIO, M. NOLL and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1988 The role of localization of *bicoid* RNA in organizing the anterior pattern of the *Drosophila* embryo. *EMBO J.* **7**: 1749-1756.
- BINGHAM, D.M., R. LEVIS and G.M. Rubin, 1981 Cloning of DNA sequence from white locus of *Drosophila melanogaster* by a novel and general method. *Cell* **25**(3): 693-704.
- BODENSTEIN, D., 1950 The postembryonic development of *Drosophila*. In 'Biology of *Drosophila*' (M. Demerec, ed.), pp. 275-367. Wiley, New York.
- BOHRMANN, J. and K. SANDER, 1987 Aberrant Oogenesis in the Patterning Mutant *Dicephalic* of *Drosophila melanogaster*- Time-lapse Recordings and Volumetry In *VitroRoux Archives of Developmental Biology* **196**(5): 279-285.
- BOSWELL, R.E. and A.P. MAHOWALD, 1985 *tudor*, a gene required for assembly of the germ plasm in *Drosophila melanogaster*. *Cell* **43**: 97-104.
- BOSWELL, R.E., M.E. PROUT and J.C. STEICHEN, 1991 Mutations in newly-identified *Drosophila melanogaster* gene, *mago nashi*, disrupt germ cell formation and result in the formation of mirror-image symmetrical double abdomen embryos. *Development* **113**: 373-384.
- BUSSON, D., M. GANS, K. KOMITOPOULOU and M. MASSON, 1983 Genetic analysis of three dominant female sterile mutations located on the X chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **105**: 309-325.

- CAMPOS-ORTEGA, J.A. and V. HARTENSTEIN, 1985 The Embryonic Development of *Drosophila melanogaster*, pp. 1-227, Springer-Verlag, New York.
- CASANOVA, J. and G. STRUHL, 1989 Localized surface activity of *torso*, a receptor tyrosine kinase, specifies terminal body pattern of the *Drosophila*. *Genes Dev.* **3**: 2025-2038.
- CHASAN, R. and K.V. ANDERSON, 1989, The role of *easter*, an apparent serine protease, in organizing the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo. *Cell* **56**: 391-400.
- CHASAN, R., Y. JIN and K.V. ANDERSON, 1992 Activation of the *easter* zymogen is regulated by five other genes to define dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo. *Development* **115**: 607-616.
- CHEUNG, H., T.L. SERANO, and R.S. COHEN, 1992, Evidence for highly selective RNA transport system and its role in establishing the dorsoventral axis of the *Drosophila* egg. *Development* **114**: 653-661.
- CLIFFORD, R.J. and T. SCHÜPBACH, 1989 Coordinately and differentially mutable activities of *torso*, the *Drosophila melanogaster* homolog of vertebrate EGF. *Genetics* **123**(4): 771-787.
- DEGELMANN, A., P.A. HARDY, N. PERRIMON and A.P. MAHOWALD, 1985, Developmental analysis of the *torso-like* phenotype in *Drosophila*, produced by a maternal-effect locus. *Dev. Biol.* **115**: 479-489.
- DEGELMANN, a., P.A. HARDY, A.P. MACHOVALD, 1990 Genetic Analysis of 2 Female Sterile Loci Affecting Eggshell Integrity and Embryonic Pattern Formation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **126**: 427-434.
- DELOTTO, R. and P. SPIERER, 1986 A gene required for the specification of the dorsal-ventral pattern in *Drosophila* appears to encode a serin protease. *Nature* **323**: 688-692.
- DOYLE, H.J., R. KRAUT and M. LEVINE, 1989 Spatial regulation of *zerknüllt*: a dorsal-ventral patterning gene in *Drosophila*. *Genes Dev.* **3**: 1518-1533.
- DRIEVER, W. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1988a A gradient of *bicoid* protein in *Drosophila* embryos. *Cell* **54**: 83-93.
- DRIEVER, W. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1988b The *bicoid* protein determines position in the *Drosophila* embryo in a concentration-dependent manner. *Cell* **54**: 95-104.
- DRIEVER, W. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1989 The *bicoid* protein is a positive regulator of *hunchback* transcription in the early *Drosophila* embryo. *Nature* **337**: 138-143.

- DRIEVER, W., V. SIEGEL and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1990 Autonomously determined anterior structures in the early *Drosophila* embryo by the *bicoid* morphogen. *Development* **109**: 811-820
- EDGAR, B., Kiehle, C.P., G. SCHUBIGER, 1986 Parameters controlling transcriptional activation during early *Drosophila* development. *Cell* **44**: 871-877.
- ENGELS, W.R., 1983 The p-family of transposable elements in *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet.* **17**: 313-344
- ERDÉLYI, M. and J. SZABAD, 1989 Isolation and characterization of dominant female sterile mutations of *Drosophila melanogaster*. I. Mutations on the third chromosome. *Genetics* **122**: 111-127.
- EPHRUSSI, A. L.K. DICKINSON, R. LEHMAN, 1991 *oscar* organizes the germ plasm and directs colocalization of the posterior determinant *nanos*. *Cell* **66**(1): 37-50.
- EPHRUSSI, B. and G.W. BEADLE, 1936 A technique of transplantation for *Drosophila*. *Am. NAT.* **70**: 218-225.
- FOE, V.E., 1989 Mitotic domains reveal early commitment of cells in *Drosophila* embryos. *Development* **107**: 1-22.
- FOE, V.E. and B.M. ALBERTS, 1983 Studies of the nuclear and cytoplasmic behaviours during the five mitotic cycles that precede gastrulation in *Drosophila* embryogenesis. *J. Cell Sci.* **61**: 31-70.
- FREEMAN, M., C. NÜSSLEIN-VOLHARD and D.M. GLOVER, 1986 The dissociation of nuclear and centrosomal division in *gnu*, a mutation causing giant nuclei in *Drosophila*. *Cell* **46**: 457-466.
- FRIGERIO, G., M. BURRI, D. BOPP, S. BAUMGARTNER and M. NOLL, 1986 Structure of the segmentation gene *paired* and the *Drosophila* *PRD* gene set as part of a gene network. *Cell* **47**: 735-746.
- FROHNHÖFER, H.G. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986 Organization of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene *bicoid*. *Nature* **324**: 120-125.
- FROHNHÖFER, H.G., R. LEHMANN and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986b Manipulating the anterior-posterior pattern of the *Drosophila* embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **97**: 169-179.
- GALANOPOULOS, V.K., W. ORR, J. SZABAD and F.C. KAFATOS, 1989 Genetic analysis of chorion formation in *Drosophila melanogaster*. I. The effects of one somatic specific and seven germ-line specific mutations. *Developmental Genetics* **10**: 87-97.

- GANS, M., C. AUDIT and M. MASSON, 1975 Isolation and characterization of sex-linked female-sterile mutations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **81**: 683-704.
- GARCIA-BELLIDO, A., 1972 Same parameters of mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Gen. Genet.* **115**: 54-72.
- GARCIA-BELLIDO, A. and L.G. ROBBINS, 1983 Viability of female germ line cells homozygous for zygotic lethals in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **103**: 235-247.
- GHOSH, S., A.M. GIFFORD, L.R. RIVIERE, P. TEMPST, G.P. NOLAN and D. BALTIMORE, 1990 Cloning of the p50 DNA subunit of NF- κ B: homology to *rel* and *dorsal*. *Cell* **62**: 1019-1029.
- GLOVER, D.M., 1991 Mitosis in the *Drosophila* embryo, in and out of control. *Trends in Genet.* **7**(4): 125-132.
- GONZALEZ, C., SAUNDERS R.D.C., CASAL, J., MOLINA, I., CARMENA, M., RIPOLL, P. and GLOVER, D.M., 1990 Mutations at the locus of *Drosophila* lead to multiple free.. *J. Cell Sci.* **96** (Aug): 605-
- GOOD, A.G., and D.A. HICKLEY, 1987 Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. The elimination of P elements through repeated backcrossing to an M-type strain. *Genome*, **29**: 195-200.
- GOVIND, S. and R. STEWARD, 1991 Dorsoventral pattern formation in *Drosophila*: signal transduction and nuclear targeting. *Trends in genet.* **7**(4): 119-125.
- GRETTULA, S., Y. JIN and K.V. ANDERSON, 1988 Zygotic expression and activity of the *Drosophila Toll* gene, a gene required maternally for embryonic dorsal-ventral pattern formation. *Genetics* **119**(1): 123-133.
- HAENLIN, M., A. CASSAB, E. MOHIER, C. ROSS, 1987 Oocyte-specific transcription of *fs(1)K10* a *Drosophila* gene affecting dorsal ventral developmental polarity. *Embo Jurnal* **6**(3): 801-807.
- HANDKE-KOCIOK, M. and W. LIEBRICH, 1986 A simple method for staining chromosomes in whole embryos of *Drosophila*. *DIS.* **63**: 142.
- HARTENSTEIN, V., G.M. TECHNAU and J.A. CAMPOS-ORTEGA, 1985 Fate-mapping in wild-type *Drosophila melanogaster* III. A fate map of the blastoderm. *Wilhelm Roux's Arch.Dev. Biol.* **194**: 213-216.
- HASHIMOTO, C., K.L. HUDSON and K.V. ANDERSON, 1988 The *Toll* gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* **52**: 269-279.
- HASHIMOTO, C., S. GRETTULA and K.V. ANDERSON, 1991 Plasma membrane localization of *Toll* protein in the syncytial *Drosophila* embryo: Importance of

- transmembran signaling for dorsal-ventral pattern formation. *Development* **111**(4): 1021-1028.
- HAY, B., L.Y. JAN and Y.N. JAN, 1988 A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by *vasa* and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases. *Cell* **55**: 577-587.
- HÜLSKAMP, M., C. SCHRODER, C. PFEIFLE, H. JACKLE and D. TAUTZ, 1989 Posterior segmentation of the *Drosophila* embryo in the absence of a maternal posterior organizing center. *Nature* **338**: 629-632.
- INGHAM, P.W., 1988 The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature* **335**: 25-33.
- IRISH, V.F. and W.M. GELBART, 1987 The *decapentaplegic* gene is required for ventral patterning of the *Drosophila* embryo. *Genes Dev* **1**(8): 868-879.
- IP, Y.T., R. KRAUT, M. LEVINE and C.A. RUSHLOW, 1991 The *dorsal* morphogen is sequence-specific DNA-binding protein that interacts with long-range repression element in *Drosophila*. *Cell* **64**: 439-446
- JANNING, W., 1972, Aldehyd oxidase as a cell marker for internal organs in *Drosophila melanogaster*. *Naturwissenschaften* **59**: 516-517.
- JONGENS, T.A., B. HAY, L.Y. YAN and L.N. YAN, 1992 The *germ cell-less* gene product: A posteriorly localized component necessary for germ cell development in *Drosophila*. *Cell* **70**: 569-584.
- JÜRGENS, G., 1987 Segmental organization of the tail region in the embryo of *Drosophila melanogaster*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* **196**: 141-157.
- JÜRGENS, G., E. WIESCHAUS and C. NÜSSLEIN-VOLHARD and H. KLUDING, 1984 Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*. II. Zygotic loci on the third chromosome. *Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol.* **183**: 283-295.
- JÜRGENS, G., R. LEHMANN, M. SCHARDIN and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986 Segmental organization of the head in the embryo of *Drosophila melanogaster*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* **195**: 359-377.
- KING, R.C., 1970 Ovarian Development in *Drosophila melanogaster*, pp. 1-227, Academic Press, New York.
- KLINGLER, M., M. ERDÉLYI, J. SZABAD and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1988 The role of *torso* in determining the terminal anlagen of the *Drosophila* embryo. *Nature* **335**: 275-277.
- KOMITOPOULOU, K., M. GANS, L.M. MARGARITIS, F.C. KAFATOS and M. MASSON, 1983 Isolation and characterization of sex-linked female-sterile

- mutants in *Drosophila melanogaster* with special attention to eggshell mutants. *Genetics* **105**: 897- 920.
- KONRAD, K., T.J. GORALSKI and A.P. MAHOWALD, 1988 Developmental analysis of *fs(1)gastrulation defective*, a dorsal-group gene of *Drosophila melanogaster*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* **197**: 75- 91.
- KRISTÓ G., F.MAKK, and L.SZEKFŰ, 1973 Data concerning names of "early" Hungarien settlements (in Hungarian). *Acta Hist. Univ. Szegediensis* 44:1-96
- KRISTÓ G., F.MAKK, and L.SZEKFŰ, 1974 Data concerning names of "early" Hungarien settlements (in Hungarian). *Acta Hist. Univ. Szegediensis* 48: 1-55.
- LANTZ. V., L. AMBROSIO and P. SHEDL, 1992 The *Drosophila orb* gene is predicted to encode sex-specific germline RNA-binding proteins and has localized transcripts in ovaries and early embryos. *Development* **115**: 75-88.
- LEHMANN, R. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986 Abdominal segmentation, pole cell formation, and embryonic polarity require the localized activity of *oskar*, a maternal gene in *Drosophila*. *Cell* **47**: 141-152.
- LEHMANN, R. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1987a Involvement of the *pumilio* gene in the transport of abdominal signal in the *Drosophila* embryo. *Nature* **329**: 167-170.
- LEHMANN, R. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1987b *hunchback*, a gene required for for segmentation of an anterior and posterior region of the *Drosophila* embryo. *Develop. Biol.* **119**: 402- 417.
- LEHMANN, R. and C. NUSLEIN-VOLHARD, 1991 The maternal gene *nanos* has a centrale role in posterior pattern formation in the *Drosophila* embryo. *Development* **110**: 73-84.
- LETSOU, A., S. ALEXANDER, K. ORTH and S.A. WASSERMANN, 1991 Genetic and molecular characterisation of *tube* a *Drosophila* gene maternally required for embrionic dorsoventral polarity. *P.N.A.S.* **88**(3): 810-814.
- LEWIS, E.B. and F. BACHER, 1968 A method of feeding ethil methane-sulfonate (EMS) to *Drosophila* males. *DIS* **43**: 193.
- LIN, H. and M.F. WOLFNER, 1989 Cloning and analysis of *fs(1)Ya*, a maternal effect gene required for the initiation of *Drosophila* embryogenesis. *Mol. Gen. Genet.* **215**: 257-265.
- LINDSLEY, D.L. and K.T. TOKYASU, 1980 Spermatogenesis, pp. 226-294 in the *Genetics and biology of Drosophila*, Vol **2d**, edited by M. Ashburner and T.R.F. Wright. Academic press New york.
- LINDSLEY, D.L. and G. ZIMM, 1992 The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic Press. Inc. San Diego, California.

- JÜRGENS, G., 1987 Segmental organization of the tail region in the embryo of *Drosophila melanogaster*. Roux's Arch. Dev. Biol. **196**: 141-157.
- LOHS-SCHARDIN, M., 1982 *Dicephalic* - A *Drosophila* mutant affecting polarity in follicle cell organization and embryonic patterning. Roux's Arch. Dev. Biol. **191**: 28-36.
- LOSH-SARDIN, M. C. CREMER and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1979 A fate map of the larval epidermis of *Drosophila melanogaster*: localized cuticle defects following irradiation of the blastoderm with an ultraviolet laser microbeam. Dev. Biol. **73**: 239-255.
- McKEARIN, D.M. AND A.C. SPRADLING, 1990 *Bag-of-marbles*: a *Drosophila* gene required to initiate both male and female gametogenesis Genes and Dev. **4**: 2242-2251.
- MACDONALD, P.M., 1990 *Bicoid* an RNA localisation signal: phylogenetic conservation of function and RNA secondary structure. Development **110**(1): 161-171.
- MACDONALD, P.M. and G. STRUHL, 1986 A molecular gradient in early *Drosophila* embryos and its role in specifying the body pattern. Nature **324**: 537-545.
- MAHOWALD, A.P. and M.P. KAMBYSELLIS, 1980 Oogenesis. In "Genetics and biology of *Drosophila*", Vol. **2D** (M. Ashburner and T.R.F. Wright, eds.), pp. 141-225, Acad. Press, New York.
- MAHOWALD, A.P., K. KONRAD, L. ENGSTROM and N. PPERRIMON, 1984 Genetic approach to early development. In. "*Molecular Biology of Development*". (E.H. Davidson and R.A. Firtle, eds.), pp. 185-197, Alan R. Liss, Inc., New York.
- MANSEAU I.J. and T. SCHÜPBACH, 1989 *capuccino* and *spire*: two unique maternal-effect loci required for both the anterior and dorsoventral patterns of *Drosophila* embryo. Genes and Dev. **3**: 1437-1452.
- MARIOL, M.C., 1981 Genetic and developmental studies of a New *grandchildless* mutant of *Drosophila melanogaster*. Mol. Gen. genet **181**(4): 505-511.
- MARGARITIS, L.H., 1985 Structure and physiology of eggshell. In: Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology, Vol. **1**. (L.I. Gilbert and G.A. Kerkut, eds.), pp. 153-230. Pergamon Press, Oxford.
- MOHLER, J.D., 1977 Developmental genetics of the *Drosophila* egg. I. Identification of 50 sex-linked cistrons with maternaleffects on embryonic development. Genetics **85**: 259-272.

- MOHLER, J. and E.F. WIESCHAUS, 1986 Dominant maternal-effect mutations of *Drosophila melanogaster* causing the production of double-abdomen embryos. *Genetics* **112**: 803-822.
- MULLIGAN, P.K., J.D. MOHLER, L.J. KALFAYAN, 1988 Molecular Localisation and Developmental Expression of *otu* Locus of *Drosophila melanogaster*. *Molecular and Cellular Biology* **8(4)**: 1481-1488.
- NIKI, Y., 1984 Developmental analysis of the *grandchildless* (*gs(1)N26*) mutation in *Drosophila melanogaster* Abnormal cleavage pattern and defects in pole cell-formation. *Dev. Biol.* **103(1)**: 182-189.
- NIKI, Y., 1988 Developmental analysis of *grandchildless* *gs(1)441* mutation in *Drosophila melanogaster* abnormal formation of pole cells. *Jap. Jour. Genet.* **63(1)**: 23-32.
- NISHIDA, Y., M. HATA, T. AYAKI, H. RYO, M. YAMAGATA, K. SHIMIZU and Y. NISHIZUKA, 1988 Proliferation of both somatic and germ cells is affected in the *Drosophila* mutants of *raf* proto-oncogene. *EMBO J.* **7**: 775-781.
- NÖTHIGER, R., T. SCHÜPBACH, J. SZABAD and E. WIESCHAUS, 1978 Stem cells and tissue homeostasis in insect development. In: *Stem Cells and Tissue Homeostasis* (British Soc. Cell Biol.), pp. 71-85, Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C., 1977 Genetic analysis of pattern formation in the embryos of *Drosophila melanogaster*: characterization of the maternal-effect mutation *bicaudal*. *Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol.* **183**: 249-268.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C., 1979 Maternal effect mutations that alter the spatial coordinates of the embryo of *Drosophila melanogaster*. *Symp. Soc. Dev. Biol.* **37**: 185-211.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C., M. LOHS-SCHARDIN, K. SANDER and C. CREMER, 1980 A dorso-ventral shift of embryonic primordia in a new maternal-effect mutant of *Drosophila*. *Nature* **283**: 474-476.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C., E. WIESCHAUS and H. KLUDING, 1984 Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*. I. Zygotic loci on the second chromosome. *Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol.* **183**: 267-282.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C., H.G. FROHNHÖFER and R. LEHMANN, 1987, Determination of anteroposterior polarity in *Drosophila*. *Science* **238**: 1675-1681.
- OLIVER B., D. PAULI, A.P. MACHOWALD, 1990 Genetics Evidence That the *Ovo* Locus Is Involved In *Drosophila* Germ Line Sex Determination. *Genetics* **125**: 535-550.

- PERRIMON, N., 1984 Clonal analysis of dominant female sterile, germline-dependent mutations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **108**: 927-939.
- PERRIMON, N. and M. GANS, 1983 Clonal analysis of the tissue specificity of recessive female-sterile mutations of *Drosophila melanogaster* using a dominant female sterile mutation *Fs(1)K1237*. *Dev. Biol.* **100**: 365-373.
- PERRIMON, N. and A.P. MAHOWALD, 1986 Maternal role of zygotic lethals during early embryogenesis in *Drosophila*. In: *Gametogenesis and the Early Embryo*, pp. 221-235, Alan R. Liss Inc., New York.
- PERRIMON, N., L. ENGSTROM and A.P. MAHOWALD, 1986b X-linked female sterile loci in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **113**: 695-712.
- PERRIMON, N., L. ENGSTROM and A.P. MAHOWALD, 1989 Zygotic lethals with specific maternal effect phenotypes in *Drosophila melanogaster*. I. Loci on the X chromosome. *Genetics* **121**: 333- 352.
- POKRYWKA, N.J. and E.C. STEPHENSON, 1991 Microtubules mediate the localization of *bicoid* RNA during *Drosophila* oogenesis. *Development* **113**: 55-66.
- POSTLETHWAIT, J.H. and A.M. HANDLER, 1978 Nonvitellogenic female sterile mutations and the regulation of vitellogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* **67**: 202-213.
- POULSON, D.F., 1950 Histogenesis, organogenesis and differentiation in the embryos of *Drosophila melanogaster* Meigen. In: *Biology of Drosophila* (M. Demerec, ed.), pp. 168-274. Wiley, New York.
- PROUST, E., F. DERICKERE, C. ROSS, M. HAENLIN, V. PANTESCO and E. MOHIER, 1988. Role of the oocyte nucleus in determination of dorsoventral polarity of *Drosophila* as revealed by molecular analysis of the *K10* gene. *Genes Dev.* **2**: 891-900.
- RICE, T.B., 1973 Isolation and characterisation of maternal-effect mutants: An approach to the study of early determination in *Drosophila melanogaster*. Ph.D. Thesis, Yale University.
- ROTH, S., D. STEIN and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1989 A gradient of nuclear localisation of the *dorsal* protein determines dorsoventral pattern in *Drosophila* embryo. *Cell* **59**: 1189- 1202.
- ROTH, S., Y. HIROMI, D. GODT and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1991 *cactus*, a maternal gene required for proper formation of the dorsoventral morphogen gradient in *Drosophila* embryos. *Development* **112**: 371-388.
- SANDER, K. and R. LEHMANN, 1988 *Drosophila* nurse cells produce a posterior signal required for embryonic segmentation and polarity. *Nature* **335**: 68-70.

- SCHÜPBACH, T., 1987 Germ line and soma cooperate during oogenesis to establish the dorsoventral pattern of egg shell and embryo in *Drosophila melanogaster*. *Cell* **49**: 699-707.
- SCHÜPBACH, T. and E. WIESCHAUS, 1986 Maternal-effect mutations altering anterior-posterior pattern of the *Drosophila* embryo. *Roux's Arch. Dev. Biol.* **195**: 302-317.
- SCHÜPBACH, T. and E. WIESCHAUS, 1989 Female sterile mutations on the second chromosome of *Drosophila melanogaster*. I. Maternal effect mutations. *Genetics* **121**: 101-117.
- SCHÜPBACH, T., and E. WIESCHAUS, 1991 Female sterile mutations on the second chromosome of *Drosophila melanogaster*. II. mutations blocking oogenesis or altering egg morphology. *Genetics* **126**: 1119-1136.
- SHAMASKI, F.L and T.L. ORR-WEAVER, 1991, The *Drosophila plutonium* and *pan gu* Genes Regulate Entry into S Phase at Fertilization. *Cell* **66**:1289-1300.
- SHNEIDER, D.S., K.L. HUDSON, T. LIN and K.V. ANDERSON, 1991 Dominant and recessive mutations define functional domains of *Toll*, a transmembrane protein required for dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo. *Genes Develop.* **5**: 797- 807.
- SPRENGER, F., L.M. STEVENS and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1989 The *Drosophila* gene *torso* encodes a putative receptor tyrosine kinase. *Nature* **338**: 478-483.
- STEIN, D., S. ROTH, E. VOGELSANG and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1991 The polarity of the dorsoventral axis in the *Drosophila* embryo is defined by extracellular signal. *Cell* **65**: 725-735.
- STEINHAEUER, W.R., R.C. WALSH and L.J. KALFAYAN, 1989 Sequence and structure of *Drosophila melanogaster ovarian tumor* gene and generation of antibody specific for the *ovarian tumor* protein. *Mol. Cell. Biol.* **9**(12): 5726-5732
- STEPHENSON, E.C., Y.C. CHAO and J.D. FRANKENTHAL, 1989 Molecular analysis of the *swallow* gene of *Drosophila melanogaster*. *Genes and Development* **2**: 1655-1665.
- STEVENS, L.M., H.G. FOHNHÖFER, M. KLINGLER, C. and NÜSSLEIN-VOLHARD, 1990 Localized requirement for *torso-like* expression in follicle cells for development of terminal anlagen of *Drosophila* embryo. *Nature* **346**(6285): 660-663.
- STEWART, R. 1987 *Dorsal*, an embryonic polarity gene in *Drosophila*, is homologous to vertebrate protooncogene, c-rel. *Science* **228**: 688-694.

- STEWART, R. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986, The genetics of the *dorsal-bicaudal* region of the *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **113**(3): 665-578.
- STEWART, R., S.B. ZUSMAN, L.H. HUANG and P. SCHEDL, 1989 The *dorsal* protein is distributed in a gradient in the *Drosophila* embryos. *Cell* **55**: 487-495.
- St JOHNSTON, D., W. DRIEVER, T. BERLETH, S. RICHSTEIN and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1989 Multiple steps in the localization of *bicoid* RNA to the anterior pole of the *Drosophila* oocyte. *Development Suppl.* **107**: 13-19.
- St JOHNSTON, D., D. BEUCHLE and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1991 *staufer*, a gene required to localise maternal RNAs in *Drosophila* egg. *Cell* **66**: 51-63.
- St JOHNSTON, D. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1992 The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* Embryo. *Cell* **68**: 201- 219.
- STRECKER, T.R., J.R. MERRIAM and J.A. LENGYEL, 1988 Graded requirement for the zygotic terminal gene, *tailless*, in the brain and tail region of the *Drosophila* embryo. *Development* **102**: 721-734.
- STRECKER, T.R., S.R. HALSELL, W.W. FISHER and H.D. LIPSHITZ, 1989 Reciprocal effects of hyper- and hypoactivity mutations in the *Drosophila* Pattern gene *torso*. *Science* **243**: 1062-1066.
- STRUHL, G., 1989 Differing strategies for organizing anterior and posterior body pattern in *Drosophila* embryos. *Nature* **338**: 741-744.
- SUGIYAMA, S. and M. OKADA, 1990 Cytoplasmatic factors determining anteroposterior polarity in *Drosophila* Embryos. *Roux Arch. Dev. Biol.* **198**(7): 402-410.
- SUNKEL, C.E., and GLOVER, D.,M., 1988 *Polo*, a mitotic mutant of *Drosophila* displaying abnormal spindle poles. *J. Cell Sci.* **89**(jan):25-38.
- SUTER, B., L.ROMBERG and R. STEWART, 1989 *Bicaudal-D*, a *Drosophila* gene involved developmental assymetry: localized transcript accumulation in ovaries and sequence similarity to myosin heavy chain tail domain. *Genes and Dev.* **3**: 1957- 1968.
- SZABAD, J., T. SCHÜPBACH and E. WIESCHAUS, 1979 Cell lineage and development of the larval epidermis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol* **73**: 256-271.
- SZABAD J. and C. FAJSZI, 1982 Control of female reproduction in *Drosophila*: genetic dissection using gynandromorphs. *Genetics* **100**: 61-78.
- SZABAD, J., M. ERDÉLYI and J. SZIDONYA, 1987 Characterization of *Fs(2)1*, a germ line dependent dominant female sterile mutation of *Drosophila*. *Acta Biol. Hungarica* **38**: 257-266.

- SZABAD, J. and G. HOFFMANN, 1989 Analysis of follicle cell functions in *Drosophila*: the *Fs(3)Apc* mutation and the development of chorionic appendages. *Dev. Biol.* **131**: 1-10.
- SZABAD, J., M. ERDÉLYI, G. HOFFMANN, J. SZIDONYA and T.R.F. WRIGHT, 1989 Isolation and characterization of dominant female sterile mutations of *Drosophila melanogaster*. II. Mutations on the second chromosome. *Genetics* **122**: 111-127.
- SZABAD, J., V.A. JURSHNICH and P.J. BRYANT, 1991 Requirement of cell proliferation control genes in *Drosophila* oogenesis. *Genetics* **127**(3): 525-533.
- TASKA, E. and D.T. SUZUKI, 1972 Temperature sensitive mutations in *Drosophila melanogaster*. XVII. Heat and cold-sensitive lethals on chromosome 3. *Genetics* **74**: 509-520.
- TAUZ, D. and C. PFEIFLE, 1989 A non radioactive in situ hybridisation method for the localization of specific RNAs in *Drosophila* embryos reveals translational control of the segmentation gene *hunchback*. *Chromosoma* **98**: 81-85.
- TOLIAS, P.P., F.C. KAFATOS, 1990 Functional Dissection of an Early *Drosophila* Chorion Gene Promoter - Expression Throughout the Follicular Epithelium Is Under Spatially Composite Regulation. *EMBO Journal* **9**: 1457-1467.
- VESSEY, K.B., R.L. LUDWICZAK, A.S. BRIOT and E.M. UNDERWOOD, 1991 abnormal chromatin (*abc*) a maternal-effect locus in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Sci.* **98**: 233-242.
- WANG, C. AND R. LEHMAN, 1991 *Nanos* is the localized posterior determinant of *Drosophila*. *Cell* **66**(4): 637-47.
- WHARTON, R.P. and G. STRUHL, 1989 Structure of the *bicaudal* protein and its role in localizing the posterior determinant *nanos*. *Cell* **59**(5) 881-892.
- WIESCHAUS, E. and J. SZABAD, 1979. The development and function of the female germ line in *Drosophila*: a cell lineage study. *Dev. Biol.* **68**: 29-46.
- WIESCHAUS, E., 1980 A combined genetic and mosaic approach to the study of oogenesis in *Drosophila*. In: 'Development and Neurobiology of *Drosophila*' (O. Siddiqi, P. Babu, L.M. Hall and J.C. Hall eds.), pp. 85-94, Plenum Press, New York and London.
- WIESCHAUS, E. and C. NÜSSLEIN-VOLHARD, 1986. Looking at embryos. In *Drosophila a Practical Approach*, (D.B. Roberts ed.), pp. 199-227, I.R.L. Press, Oxford.
- YARGER, R.J. and R.C. KING, 1971 The phenogenetics of a temperature sensitive, autosomal dominant, female sterile gene in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* **24**: 166-177.