

NEMHEZ KÖTÖTT ÖRÖKLŐDÉSŰ, BÁBOZÓDÁSBAN GÁTOLT
DROSOPHILA MELAGONASTER MUTÁNSOK FEJLŐDÉS-
GENETIKAI ANALIZISE

Egyetemi Doktori Értekezés

MAJOR JENŐ

Készült az MTA Szegedi Biológiai Központ
Genetikai Intézetében
és
az Eötvös Lóránd Tudományegyetem
Genetikai Tanszékén

1979.



Tartalomjegyzék:

1. Bevezetés
 - 1.1. A DROSOPHILA egyedfejlődése
 - 1.1.1. Az embrió
 - 1.1.2. A lárvakor
 - 1.1.3. A metamorfózis
 - 1.2. Fejlődésgenetikai mutánsok
 - 1.3. A gének elhelyezkedése a kromoszómán
 - 1.3.1. A komplex helyek és a genetikai szabályozás
 - 1.3.2. A 2B5-6 régió
 - 1.4. Vizsgálatok genetikai mozaikokkal
 - 1.4.1. Mozaikrendszerek
 - 1.4.2. Autonómia vizsgálatok
 - 1.4.3. Sorstérképezés
 - 1.4.4. A mutációk fókuszálása
2. Anyagok és módszerek
 - 2.1. A mutánsok izolálása és fenntartása
 - 2.2. Fenotípus jellemzése
 - 2.3. Rekombinációs térképezés
 - 2.4. Komplementáció
 - 2.5. Gynander mozaikok előállítása
 - 2.6. Sorstérképezés és a mutációk fókuszálása
3. Eredmények
 - 3.1. Morfológia és egyedfejlődés
 - 3.1.1. A mutánsok életképessége



- 3.1.2. A mutáns lárvák morfológiája
- 3.1.3. Pupáriumképzés és metamorfózis
- 3.2. A mutációk térképhelyzete
 - 3.2.1. Rekombinációs térképezés
 - 3.2.2. Szemidominancia
 - 3.2.3. Komplementáció
- 3.3. A mutációk autonómiája
 - 3.3.1. Kontrol
 - 3.3.2. Kísérlet
- 3.4. Blasztodermáns sorstérképezés
- 4. Következtetések
 - 4.1. Fenotípus vizsgálatok
 - 4.1.1. Állapotspecificitás és mutáns génműködés
 - 4.1.2. Szövetspecificitás és mutáns fenotípus
 - 4.2. A mutációk rekombinációs térképezése
 - 4.3. Autonómia
 - 4.4. Sorstérképezés
 - 4.4.1. A letális mozaikok túlélése
 - 4.4.2. A sorstérkép
 - 4.4.3. További feladatok
- Összefoglalás
- Idézett irodalom
- Függelék

1. Bevezetés

A többsejtű eukarióta szervezetek egyedfejlődésének genetikai szabályozása egyre inkább az érdeklődés előterébe kerül.

A DROSOPHILA MELAGONASTER M. különösen alkalmas alanya ezeknek a kutatásoknak, mivel sokoldalú és gazdag genetikai és fejlődéstani ismeretanyag áll rendelkezésünkre /Fristrom, 1970./.

A DROSOPHILA egyedfejlődésének genetikai szabályozásával és azon belül is az azóta is leginkább kutatott problémakörrel, az imaginális szervezdeményekkel Hadorn kezdett foglalkozni /Hadorn, 1963./. A jelenlegi ismeretanyag összefoglalására jó és részletes ismertetések állnak rendelkezésre /Fristrom, 1970.; Postlethwaith, Schneidermann, 1973.; Gehring, 1976./. A dolgozatok többsége az imaginális korongok differenciálódásával foglalkozik.

Az MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézetének Rovargenetikai Csoportja is a rovar egyedfejlődés genetikai szabályozását tanulmányozza, ezért DROSOPHILA kései lárva és korai bábletális mutánsokat izoláltak /Kiss és mtsai, 1976a.; Bencze, 1976./. Mint egyetemi hallgató e munkába én is bekapcsolódtam. Disszertációm tárgyát néhány bábozódásra képtelen lárva-letális mutáns fejlődés-genetikai jel-

lemzése képezi, amely fenotípus leírást, rekombinációs és komplementációs térképezést, a mutációk autonómiájának vizsgálatát és blasztodermális sorstérkép szerkesztést foglal magában /Kiss, Szabad, Major, 1978./.

A fenotípus vizsgálatoknál a normális lárvális szervek és ugyanakkor a károsodott szerkezetű adult szervkezdemények együttes jelenlétét vártuk, mivel ezekben az esetekben feltétlenül egy, csak a bábozódás során jelentős gén szenvedett mutációt. /Természetesen elképzelhető, hogy a gén már korábban is működik, de terméke a lárvális élet során nem létfontosságú./

Figyeltük a lárvák spontán pupáriumképzését és, hogy a bábozódást követően a további fejlődésben meddig jutnak el, ill. teljes bábozódási képtelenség esetén meddig maradnak életben. A szövetek, szervek állapotának jó indikátora a sejthalál kimutatása /Murphy, 1974./, ezért a jellemzéshez ezt is felhasználtuk.

A térképezés eredményeként azt vártuk, hogy a mutációk az egész ivari /X/ kromoszómán eloszlanak, ill. néhány helyen csoportba tömörülnek /cluster/, ahol az allélikus viszonyok /komplementáció és negatív komplementáció/ is tanulmányozhatók. A "negatív komplementáció" egy érdekes esete az ún. szemidominancia /Suzuki és Mtsai, 1967./, melyre szintén figyelemmel voltunk. /Negatív komplementáció alatt, a transz heterozigótákban allélpárok esetén olykor megfi-

gyelhető fenotípus romlást értjük./ /Portin, 1975./

Az izolált mutánsok közül számunkra azok voltak a legérdekesebbek, amelyekben a mutáció a bábozódás során működő szerv /ek/ben autonóm módon nyilvánul meg. Az ilyen lárvákban a metamorfózis feltehetően általánosan gátolt. Mutánsaink egy részénél az autonómiára már korábban szereztek adatokat /Kiss és Hules, 1976./. Jelen disszertációban az akkor nem vizsgált, újabb mutánsok adatait dolgozzuk fel.

Mutánsaink közül kétöről a Szovjet Tudományos Akadémia Novoszibirszki Kutatóintézetében kimutatták, hogy a vedlési hormon /ekdizon/ jelenlétére specifikusan reagáló, 2B5-6 citológiai jelzetű génaktivitási helyen, "puffban", lokalizálható /Beljaeva és mtsai, 1979./. Az itt található, nem lárvaletális allélok lehetőséget biztosítottak a régió mutációi blasztodermás sorstérképének elkészítésére. E disszertáció a 1/1t4 mutáns sorstérképezését tartalmazza /1. az 1., ábrát/.

1.1. A DROSOPHILA egyedfejlődése

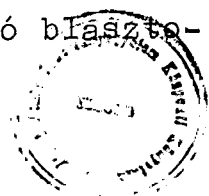
A DROSOPHILA egyedfejlődése négy fő szakaszból áll. Ezek az embrionális, a lárvális, a báb és az adult életszakasz. Ez a négy fő szakasz általánosan jellemzi a teljes vagy Holometabolikus átalakulást.

A legfontosabb szerveződési folyamatok az embrióban és a bábban zajlanak le. Az embrióban a lárvális szervek és a leendő adult szervek kezdeményei párhuzamosan alakulnak ki. /Poulson, 1950., Wright, 1970./ A bábban a lárvális szerveket az adult jellemző szervei váltják fel úgy, hogy az előbbiek el is tűnnek. /Bodenstein, 1960., Anderson, 1972./. Éppen ezért az egyedfejlődés genetikai szabályozásának vizsgálatára ezek az átalakulások igen alkalmasak.

1.1.1. Az embrió

A barázdálódó pete a megtermékenyítést követően három órával eljut a blastoderma állapotba /Wright, 1970./. Az ezt megelőző szincicium minden magja totipotensnek bizonyult, mivel a sejtek determináltsága sem magtranszplantációval, sem sorstérképezéssel nem volt kimutatható /Chan, Gehring, 1971./. Ezután a magok újabb osztódáson mennek keresztül, a felszínre emelkednek, a sejthatárok létrejönnek, /Garcia Bellido, Ripoll, 1978./, és kialakul a kb. 6000 sejtből álló blasztoderma /Wymann, King, 1978./.

A blasztoderma kialakulása során megtörténnek az előző szincicium minden magja totipotensnek bizonyult, mivel a sejtek determináltsága sem magtranszplantációval, sem sorstérképezéssel nem volt kimutatható /Chan, Gehring, 1971./. Ezután a magok újabb osztódáson mennek keresztül, a felszínre emelkednek, a sejthatárok létrejönnek, /Garcia-Bellido, Ripoll, 1978./, és kialakul a kb. 6000 sejtből álló blasztoderma /Wymann, King, 1978./.



A blasztoderma kialakulása során megtörténnek az első determinációs lépések, aminek végén soron a sejtek differenciálódása az eredménye /Garcia-Bellido, Ripoll, 1978./. Ebben az állapotban már minden sejt valamely lárvális vagy adult szerv kezdeményéhez tartozik. Az egyes sejtekből, sejtcsoportokból ún. sejtvonalak indulnak /Wieschaus, 1978./, melyek további determinációja a homogén sejtpopulációnak alpopulációkra, ún. kompartmentekre hasadásával történhet. Ezt a hipotézist támasztotta alá Garcia-Bellido vizsgálata a szárny imágókorongjának sejtpopulációin, aki kimutatta, hogy topológiailag két kapcsolódó "poliklón" különíthető el, amik az anterior és poszterior kompartmentnek felelnek meg /Garcia-Bellido, 1975.; Crick, Lawrence, 1975./.

A kompartmentalizáció tűnik tehát annak a mechanizmusnak, amivel a különböző sejtvonalak a megelőzően homológ sejtpopulációból kihasadnak. Ez a lépésenként, irreverzibilisen következik be, és feltehetően specifikus gének irányítják /Garcia-Bellido, Ripoll, 1978./.

Az embrióban lejátszódó sejtszintű determinációt minden bizonnyal megelőzi a szegmentek kialakulása. Ez azonban feltehetően nem a sejtekben lejátszódó determinációs lépés, hanem a pete kortikális plazmájában lévő maternális információk hatása /Schubiger, 1976./.

Az embrió kialakulásának folyamatát scanning elektronmikroszkópos felvételekkel is nyomunkövezték, és láthatóvá

tették a szerveződés lépéseit /Turner, Machowald, 1976./.

1.1.2. A lárvakor

A DROSOPHILA lárvális életét, a petéből való kikelés után, két vedlés osztja három stádiumra. E vedléseket is az ekdizon indulálja /Bodenstein, 1950,; Fristrom, 1970./.

A lárvában kétféle szövet ill. szervtípus van, lárvális és adult /Anderson, 1972./, melyeknek más az egyedfejlődést szabályozó hormonokra adott válaszuk /Ashburner, Richards, 1976., Milner, 1977./.

Az első típusba tartozó szervek a lárvális életműködéseket végzik és a bábban hisztolizálnak. Ilyenek pl. a lárvális epidermisz, izomzat, tápcsatorna, zsirtest, gyűrűmirigy, nyálmirigy stb. Az adult típusu szervek kezdeményei a lárvában differenciálatlanok, fejlődni éppen a hormonok hatására kezdenek. Ilyenek az abdominális hisztoblasztok, az imágókorongok, az adult tápcsatorna és nyálmirigy kezdeményei /Bodenstein, 1950./.

1.1.3. A metamorfózis

A metamorfózis kezdetekor a vedlési hormon specifikus ingere hatására az adult szervkezdemények differenciálódásnak indulnak. Ez a folyamat in vitro legjobban az imágókorongokon tanulmányozható /Gehring, 1978./.

a -ekdizon /vedlési hormon/hatására megkezdik az adult végtagstruktúrák kialakítását /Fristrom, 1970./. A folyamatot evaginációnak /kitürődés/ nevezik. Ebben valószínűleg fontos szerep jut a mikrotubulusoknak és mikrofilamentumoknak. /Fristrom, Fristrom, 1975./

A teljes átalakulás tulajdonképpen a genomnak a hormonmilió megváltozására adott válasza. /Anderson, 1972./ A metamorfózist alapvetően két hormon irányítja. E két hormon a lárvális állapotot fenntartó juvenilis hormon /JH/, és a vedlési hormon / -ekdizon/. /Wyatt, 1972./ A JH szerepéről ill. egyáltalán jelenlétéről a Dipterákban igen keveset tudunk.

A vedlési hormon aktív alakja a ~~β~~-ekdizon. Az ~~α~~-ekdizon a ~~β~~-módosulat prekürzora, és a sejtekben autonom módon alakul át. /Fristrom és mtsai, 1973./. Reichmann és Oberlander vizsgálták a zsirtest szerepét ebben az átalakulásban; GALLERIA MELLONSELLÁ-ban a zsirtestek jelenléte esetén in vitro lényegesen nagyobb hatékonyságúnak bizonyult az -ekdizon, mint a zsirtest nélküli kontrol tenyészetekben /Reichmann, Oberlander, 1971./. E megfigyeléseket DROSOPHILÁN is megerősítették /Milner, Sang, 1976./.

Az ekdizonkötő receptorok létét az imágókorongok sejteiben Fristrom és Yund igazolták, akik specifikus és nonspecifikus kötőhelyeket találtak. Ezek száma megközelítőleg 1000 sejtenként, /Yund, Fristrom, 1975./. A részletesebb vizsgálatok

napjainkban folynak /Yund és mtsai, 1979.; Maróy és mtsai, 1979./.

Ashburner és Richards vizsgálták in vitro a lárvális nyálmirigy politén óriáskromoszómáinak válaszát ekdizon hozzáadás és megvonás esetén, és az in vivo-hoz hasonló jellegzetes puffmintázatváltozást találtak /Ashburner, Richards, 1976.; Richards, 1976./.

Az ekdizon szintje a lárva élete ill. a metamorfózis során lényeges ingadozást mutat /Maróy, Vargha, 1976.; Richards, 1976./.

A hormoniter változásokat a kromoszóma puffmintázata is követi. A legkorábban jelentkező aktiv helyek a 2B5-6, 23E, 74EF és 75B citológiai jelzésű kromoszómaszakaszok /Ashburner, 1972./.

Ezek a helyeken az ekdizon-inger megkezdése után 10-15 perccel már puff alakul ki. A puffképződést a fehérjeszintézis előzetes gátlása sem akadályozza meg. Feltételezhető, hogy e négy puff az ekdizon elsődleges hatáshelyeit képviselik, és a későbbi puffmintázat ezek működésétől függ /Ashburner, Richards, 1975./.

A puffok megjelenése és a proteinszintézis megváltozása összefüggésben van /Tissieres, Mitchell, Tracy, 1974./.

1.2. Fejlődésgenetikai mutánsok

A metamorfózis genetikai szabályozásának felderítésére az egyik kézenfekvő lehetőség az átalakulást gátló mutánsok

felhasználása. Ilyen mutánsok, mint a hfw vagy a dor, már régóta ismeretesek /Lindsley, Grell, 1968./.

Az utóbbi időben mind jelentősebbé válik az egyedfejlődés speciális szakaszaiban gátolt mutánsok vizsgálata. Az új mutánsok izolálásakor az előzetes komplex analízist el kell végezni. Igen tanulságos és mintaszerű vizsgálatot végzett Stewart munkatársaival, X-kromoszómás, az imágókoron-
gokra ható letálisokon /Stewart, Murphy, Fristrom, 1972./.
Az ilyen mutánsokkal a bábozódás során lejátszódó folyamatok is tanulmányozhatók /Shearn, Garen, 197 .; Kiss és mtsai, 1976a./.

1.3. A gének elhelyezkedése a kromoszómán

A fejlődésgenetikai mutánsok térképezése során több esetben azt találták, hogy a mutációk a kromoszómákon tk. egyenletesen helyezkednek el, néhány helyen azonban csoportosulnak és ún. "cluster"-eket /fürt/ alkotnak /Stewart, Murphy, Fristrom, 1972.; Arking, 1975./.
Ilyen esetekben az allélikus viszonyok megállapítására a komplementációs analízist használják /Metcalfé, 1971.; Shearn, 1974./.
A genetikai szabályozás szempontjából igen érdekes az allélikus negatív komplementáció /Shellenbarger, Mohler, 1975.; Foster, Fincham → 1975.; Portin, 1975./, ill. ennek speciális esete a szemidominancia /Suzuki és mtsai, 1967.; Shannon és mtsai, 1972./.

Amennyiben a mutációk több egymás melletti cisztronban
→ helyezkednek el és részlegesen komplementálnak, a gént
komplex lokusznak nevezik. Ilyet eddig többet is ismerünk
a DROSOPHILÁN, mint pl. a dumpy /Metcalfé, 1971./, a
Notch /Portin, 1975./, a zeste-white régió /Judd, Shen,
Kaufman, 1972.; Shannon és mtsai, 1972./, a rudimentary
/Carlson, 1971.; Rawls, Fristrom, 1975./ a bithorax /Le-
wis, 197 ./. stb.

A
kompl.
white

Gen
dominancia
is lehet.

1.3.1. A komplex helyek és a genetikai szabályozás

A clusterek ill. komplex lokuszok lehetőséget nyujta-
nak mind a genetikai szabályozásnak, mind az eukarióta
genom szerveződésének tanulmányozására.

A fejlődési mutánsokat tartalmazó komplex helyek ese-
tében ugyanis felmerül a kérdés, hogy a mutáns gén struktu-
rális vagy regulációs funkciójú-e. A komplementációs elem-
zés e kérdés megoldásához is jelentős adatokat szolgáltat-
hat, A Notch lokusz alléljei negatív komplementációs tulaj-
donságai alapján Foster és Portin feltételezik a lokusz
regulátor vagy integrátor szerepét /Foster, 1975.; Portin,
1975./.

promotor!

A zeste-white régió vizsgálata alapján Judd és mtsai
felvetik, hogy egy band-ben egy funkcióképes komplemen-
tációs csoport van, amely egy strukturgént és egy vagy

több cisz-domináns regulációs elemet tartalmaz /Judd, Shen, Kaufman, 1972./ . Carlson a rudimentary komplex lokuszon igazolta, hogy a komplementációs és a rekombinációs térképek a DROSOPHILÁ-ban is kolineárisak /Carlson, 1971./ . A cisz-domináns regulációs elemet a rudimentary lokuszban poláris mutációkkal sikerült is kimutatni /Rawls, Fristrom, 1975./ .

A komplex lokuszok mérete hasonló nagyságrendűnek mutatkozik. A nem komplex /monocisztronos/ rosy gén teljes hossza 11.8×10^3 nukleotidpár /Ursprung, 1974./ , míg a rudimentary 24×10^3 /Carlson, 1971./ . Az átlagos funkcionális egység $10-50 \times 10^3$ nukleotidpár /Judd, Shen, Kaufman, 1972./ .

Mindezek együttesen összhangban vannak Britten és Davidson valamint Georgiev feltételezéseivel, akik szerint minden funkcionális genetikai egység a strukturgénekhez kapcsolódva magában foglal mind számos akceptor és receptor helyet, mind számos aktivátor és integrátor elemet /Georgiev, 1969.; Britten, Davidson, 1969./ . Crick a bandeket a kontrol elemekkel, az un. interbandeket pedig a struktur szekvenciákkal azonosítja /Crick, 1971./ .

→ A vermillion gén az ellenbandeijét bizonyítja

1.3.2. A 2B5-6 régió

A fejlődés-genetikai szempontból lényeges egyik kromoszómaszakasz, a 2B5-6 jelzetű, in vivo és in vitro egyaránt az egyik legkorábban kialakuló ekdizon indukálta

puff /Ashburner, 1972./.

A régió citológiai szerkezetére többféle adat is rendelkezésre áll. Bridges /1938./ 6 egyes és 6 ikerbandet figyelt meg. Ezzel szemben Berendes és Lossinsky egyaránt 15-15 bandet talált, amik között ikersáv nem volt /Berendes, 1970.; Lossinsky, Lefevre, 1978./.

Zsimulj^eov szerint Bridges ikersávjai fixálási műtermékek /Zhimulev, 197 ./.

A 2B5-6 régió ekdizonpuffjában az RNS szintézist Ananiev és Barsky /1978./ vizsgálta. A régió telítését mutánsokkal, és így a komplementációs viszonyok tisztázását Beljajeva és mtsai végezték el /Belyaeva és mtsai, 1978.; Belyaeva és mtsai, 1979.; Aizenzon és mtsai, 1979.,/. /L. az 1. ábrát./

Érdekes jellemzője a régiónak a bandek tükörképi szimmetriája. Ez talán mint "reverse repeat" értelmezhető.

A 2B5-6 korai, ekdizon indukálta puffba tartozó mutánsok, komplementációs csoportok vizsgálata során kiderült, hogy a 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 átfedő allélok /Kiss, Szabad, Major, 1978./ is ide tartoznak /Aizenzon és mtsai, 1979./.

1.4. Vizsgálatok genetikai mozaikokkal

A mutációk analizise során igen fontos a mutáns tulajdonságok autonómiájának vizsgálata és, ha lehetséges, a mutáció fókuszának behatárolása. Erre lehetőséget az in vitro szövetkultúra /Fristrom, 1970./, a szervtranszplantáció /Ephrussi, Beadle, 1936./ és a mozaik technika /Sturtevant, 1929./ ad.

1.4.1. Mozaikrendszerek

Genetikai mozaikok mindazon egyedek, melyeknek testében eltérő genotipusu sejtcsoportok vannak. Ilyenre példát a legtöbb rendszertani kategóriában találhatunk /Hall, Gelbart, Kankel, 1976./. Genetikai mozaikok létrejöhetnek spontán módon és mesterségesen is előállíthatók. Erre a célra szolgáló eljárások a sejt/csoportok/ átültetése, szomatikus mutációk ill. rekombinációk kiváltása, és kromoszómaszakaszok, vagy teljes kromoszómák "kikapcsolása" akár inaktiválással, akár kromoszómavesztéssel. A kromoszómavesztésre lehetőség DROSOPHILÁ-ban leginkább az 1./X/ és a 4. kromoszómán van, ugyanis a két nagy autoszóma /2. és 3./ esetén a parciális haploidia letális.

Ivari kromoszómás mutációk esetében a leggyakoribb eljárás az un. "gynander" mozaikok előállítása /Hall, Gelbart, Kankel, 1976./, amikben diplo-X /nőstény/ heterozigóta vad, és haplo-X /him/ hemizigóta mutáns szövetek találhatóak. A gynander mozaikok előállítására többféle lehetőség is van, mint a cand /Sturtevant, 1929.: ca a DROSOPHILA SIMULANS-ban; Lewis, Gencarella, 1952.: cand a DROSOPHILA MELANOGASTER-ben, a pal mutációk /Baker, 1975./, akik mint meiotikus mutánsok, kromoszóma vesztést okoznak.

Ugyancsak kromoszóma vesztésen alapul az általunk is használt eljárás, a gyűrűvé záródott X kromoszóma alkalmazása /Brown, Hannah, 1952./ Ennél a technikánál a vad típusu,

← *Wieschaus (az első osztódásnál)*

"ring" R/1/2 X kromoszómát állítják párba a markermutációkat is tartalmazó mutáns X kromoszómával. A gyűrűkromoszóma szerkezeti sajátosságai folytán bizonyos, kísérletről kísérletre változó gyakorisággal az osztódások során az utódsejtek egyikébe nem jut át /Hinton, 1955./. Így haplo-X genotípusu sejtvonul jön létre. A kromoszóma-vesztés a megtermékenyítést követő első osztódások során a leggyakoribb /Lifschytz, Falk, 1969./, és ez eredményezi az un. 50-50%-os azaz "fele-fele" gynanderek kialakulását /Wieschaus, Gehring, 1976./.

1.4.2. Autonómia vizsgálatok

Letális mutációk mozaikanalizise során Bryan és Zornetzer felvetik, hogy a homo- ill. hemizigóta szövetek túlélésére a mozaikokban két magyarázat lehetséges:

1., vagy nem sejtautonóm a letalitás,

2., vagy, ha autonóm, csak lokálisan letális, és ilyenkor vagy hegyszövet képződik, vagy a mutáns szövet nem létfontosságú /Bryan, Zornetzer, 1973./. E felfogás szerint autonóm letalitás esetén adult mozaikokat nem kaphatunk és az un.

lárva-báb gynander /LBG/ mozaikokat /Kiss és mtsai, 1976b./

↑ használhatjuk autonóm voltának eldöntésére.

a mozaik (ill. mutáns) résznek van kitért terület.

1.4.3. Sorstérképezés

Ha a kromoszómavesztés a megtermékenyítést követő első osztódás során következik be, a kialakuló mozaik egyed testszövegeinek fele haplo-X genotipusu lesz. A petén belül azonban az első osztódás sikja nem rögzített, aminek eredménye a legváltozatosabb mozaikpopuláció egy-egy kísérleten belül /Sturtevant, 1929./, ami ugyanakkor azt is jelenti, hogy mind az adulton, mind a blasztodermán tetszőlegesen megválasztott két pont között bizonyos gyakorisággal a mozaikhatár átmehet. Sturtevant ismerte fel ennek a gyakoriságnak és a két pont közti távolságnak összefüggését. Minél távolabb van ugyanis két pont egymástól, annál nagyobb a valószínűsége, hogy közöttük a mozaikhatár átmegy.

Ez az érték a távolság jellemzésére felhasználható /Hotta, Benzer, 1973./, egysége Sturtevant emlékére a sturt nevet kapta. 1 sturt tehát 1% valószínűségnek felel meg. Sturtevant adatai alapján Garcia-Bellido és Merriam megszerkesztették az első blasztodermás sorstérképet. /Garcia-Bellido, Merriam, 1969./.

A sorstérképezés elvi alapja tehát hasonló a rekombinációs térképezéshez. Ugyancsak hasonlóan érvényesül a távolságnövekedés és additivitás-romlás összefüggése. A térképezéshez általában az adult testfelszínén választanak jól megfigyelhető és genetikailag egyértelműen jelölhető viszonyító pontokat.



Ezek többnyire az érzéksörték és a végtagok. /Ferris, 1950./ A viszonyító pontok egymástól való távolsága alapján az un. "háromszögelési" elv alapján a térkép megszerkeszthető. /Hotta, Benzer, 1973,; Janning, 1978.; l. a 2.ábrát./ A szerkesztés megkönnyítésére számítógépes programot is kidolgoztak /Flanagan, 1976./.

1.4.4. A mutációk fókuszálása

Annak a szervnek, melyben a mutáció autonom módon nyilvánul meg, a blasztordermás sorstérképen levő helyzete a mutáció fókusza. Ha egy mutáció fókusza páros szervben van, a két fókusz, a mozaikhatároktól függően eltérő genotipusu is lehet. Ilyen esetben, ha a mutáció megnyilvánulásához mindkét fókusz haplo-X, azaz mutáns volta szükséges, "submissive" /alárendelt/, míg ha elegendő az egyik fókusz mutáns volta, "domineering" /uralkodó/ fókuszról beszélhetünk. /Hotta, Benzer, 1972./

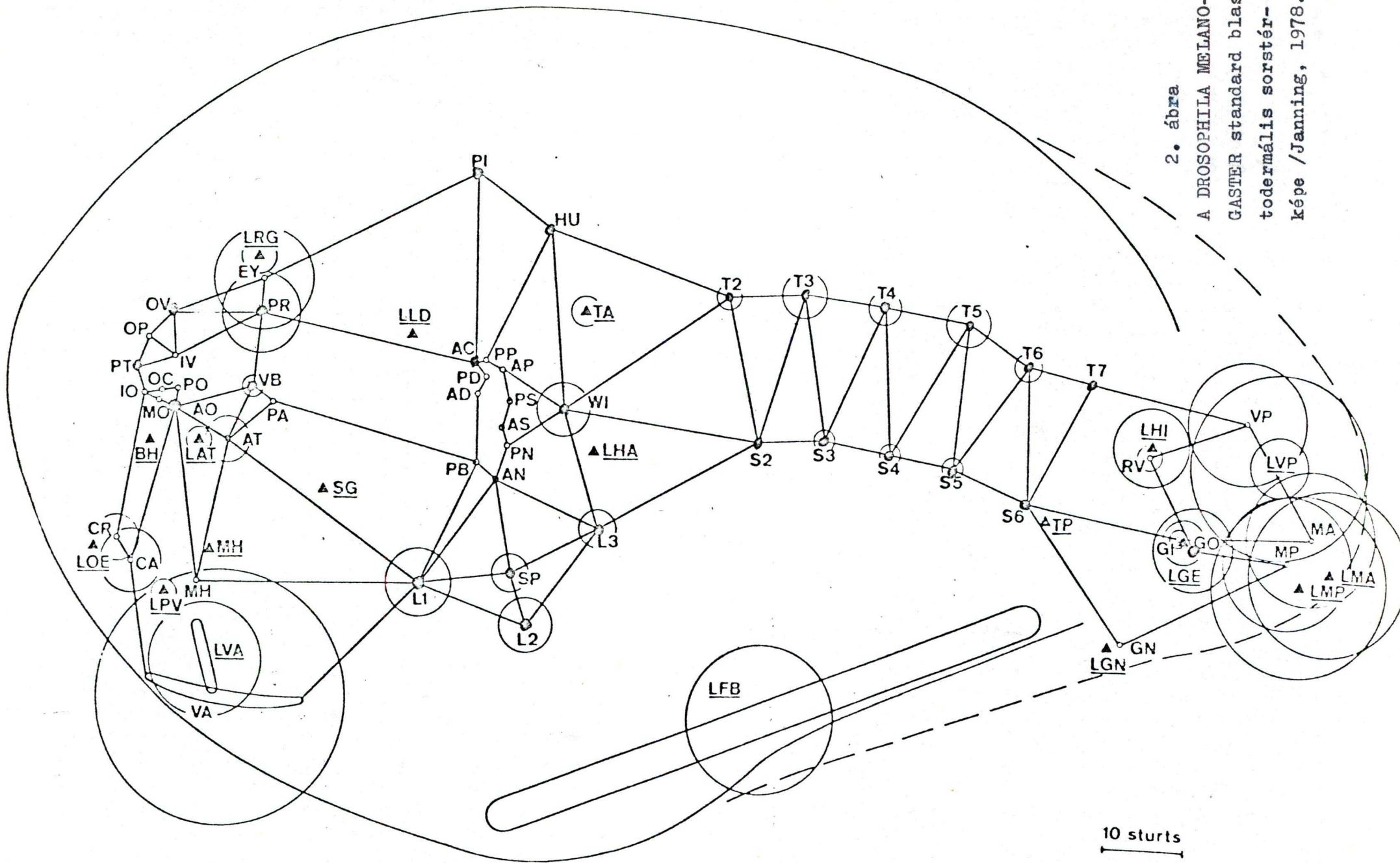
A mozaikokban túlélő un. fókuszos letális mutációk /Hotta, Benzer, 1972./ esetében az a viszonyító pont, amelyik a legkisebb valószínűséggel haplo-X van legközelebb a fókuszhoz, ami természetesen nem feltétlenül egy pont, lehet viszonylag diffuz terület is pl. idegrendszeri mutások esetén /Hall, 1978/. Értelemszerűen, ha valamely pont mozaik-valószínűsége = 0, az maga a fókusz.

↑
ékkelt
kon

A fókusz behatárolására többféle eljárás lehetséges. Hotta és Benzer /1973./ az azonos valószínűségű pontokat összekötve "izo-probabilitásokat" rajzoltak fel. Mások a viszonyító pontok köré a valószínűséggel arányos sugarú köröket rajzolva jelölik ki a fókuszok valószínű helyét /Bryan, Zornetzer, 1973./, Flanagan számítógépes fókuszálási eljárást dolgozott ki /Flanagan, 1977./.

<u>lt 257</u>	<u>t 467</u>	<u>1/1/t 435</u>		
<u>lt 187</u>	<u>t 251</u>	<u>1/1/t 324</u>		
<u>lt 148</u>	<u>t 200</u>	<u>1/1/npr-1</u>		
<u>lt 141</u>	<u>t 63</u>	<u>1/1/npr-2</u>		
<u>lt 128</u>	<u>t 32</u>	<u>1/1/d.norm.-1^a</u>		
<u>lt 81</u>		<u>1/1/d.norm.-24</u>	<u>t 197</u>	<u>t 252</u>
<u>66g</u>		<u>1/1/t 143</u>	<u>t 149</u>	
<u>169 F</u>		<u>1/1/t 126</u>	<u>t 76</u>	
<u>dor 1</u>		<u>1/1/t 4</u>	<u>t 10</u>	
<u>dor</u>		<u>t 376</u>	<u>lt 166</u>	
		<u>t 358</u>	<u>lt 336</u>	
		<u>t 144</u>	<u>lt 103</u>	
		<u>t 132</u>	<u>lt 35</u>	
		<u>t 99</u>	<u>br 4</u>	
			<u>br 3</u>	
			<u>br</u>	

1. ábra A 2B5-6 régió komplementációs térképe
/Belyaeva és mtsai, 1979./



2. ábra

A DROSOPHILA MELANO-
 GASTER standard blasz-
 todermális sorstér-
 képe /Janning, 1978./

2. Anyagok és módszerek

2.1. A mutánsok izolálása és fenntartása

A mutagenesist y w cv sn³ hímeken végezték /Kiss és mtsai, 1976a.; Bencze, 1976./ . A mutáns törzseket Binsn balanszer kromoszómával tartottuk fenn. /A markermutációk bővebb leírására l. Lindsley, Grell, 1968./

Az állatokat a szokásos kukoricaliszt-agar-élesztő táptalajon, üvegfiolában ill. félliteres üvegedényben tenyésztettük, 25°C-on, 60% relatív páratartalomnál.

A fenotípus vizsgálatokhoz szükséges lárvákat 12 órás petéztetésből neveltük. A 2. és 3. napon élesztő szuszpenziót csepegtettünk a táptalajra, így közel azonos fejlettségű, jól táplált állatokat kaptunk.

2.2. Fenotípus jellemzés

A mutáns fenotípus leírásához a y w sn³ l / Y hím túlélő lárvákat boncoltuk a petéből kikeléstől számított 4., 6., 8. és 10. napon. A letális lárvák a y bélyeg alapján elkülöníthetők. Vizsgáltuk az állat külső morfológiáját és a belső szervek fejlettségét. A boncolást a Robb által összeállított tápoldatban /Robb, 1969./ végeztük.

A szervekből a sejthalál kimutatására 10. napos túlélő lárvákat használtuk, Ringerben /Ephrussi, Beadle, 1936./ oldott, 1.6×10^{-5} M acridine-orange festékkel

/pH:7.2/ /Murphy, 1974./. Egyes esetekben kontrolként 0.4% tripánkék oldatot is használtunk.

A boncolást Zeiss /Jena/ preparáló mikroszkóp alatt 25x - loox nagyítással végeztük. A fluoreszcenciás vizsgálatokat Zeiss /Jena/ fluoreszcens mikroszkóppal, OG-4, BG-12/2g, BG-3/2g és GGL-3/2g szűrők és HBO 200 halogénlámpa alkalmazásával értékeltük, 63x - ~~160x~~ nagyítással. Az elpusztult sejtek így erősen fluoreszkálnak.

Kontrolként vad típusu /Oregon-R/, kései harmadik stádiumos lárvák szöveteit használtuk.

2.3. Rekombinációs térképezés

A letális mutációk térképezéséhez a y cv v f car markermutációkkal megjelölt standard kromoszómát használtuk. Mivel a w szemszinmutáció episztatikus a y és car szemszinmutációk fölött és a y testszinmutáció mindkét kromoszómán szerepel, a y és w mutációkat a letális kromoszómáról el kellett távolítani.

$$\begin{array}{l} P : \text{♀ } \underline{y w sn^3 l} / \underline{Binsn} \text{ x } \underline{+ + + +} / \underline{Y} \text{ ♂} \\ F_1 : \text{♀ } \underline{y w sn^3 l} / \underline{+ + + +} \text{ x } \underline{Binsn} / \underline{Y} \text{ ♂} \\ \text{válogatás} \rightarrow F_2 : \text{♀ } \underline{y^{-w^{+}} sn^3 l^{+}} / \underline{Binsn} \text{ x } \underline{Binsn} / \underline{Y} \text{ ♂} \\ F_3 : \text{♀ } \underline{y^{-w^{+}} sn^3 l^{+}} / \underline{Binsn} \text{ x } \underline{y w} / \underline{Y} \text{ ♂} \end{array}$$

H566
karyotíp

/Ellenőrzésként F₃ nőtényeket y w hímekkel kereszteztük vissza./

A térképezéshez elvégzett keresztezések:

P : ♀ l / Binsn x y cv v f car / Y ♂

F₁: ♀ l / y cv v f car x y cv v f car / Y ♂

F₂: rekombináns hímek: térképhelyzet megállapítása
rekombináns nőstények: szemidominancia vizsgálata.

A térképtávolságokat az általánosan ismert térképezési függvénnyel, a mutációk egymáshoz viszonyított sorrendjét pedig hárompontos elemzés alapján határoztuk meg.

2.4. Komplementáció

Az l/l/npr-1 és l/l/npr-2 mutánsok /Kiss, Szabad, Major, 1978./ esetében felmerült allélikus viszony igazolására, a Dp/l;Y/y²67g24 duplikációt hordozó Y kromoszómát /Lindsley, Grell, 1968./ felhasználva, a következő keresztezést végeztük el:

P : ♀ y l/l/npr-1 w sn³ / Binsn x y l/l/npr-2 w sn³ / Y/y²l⁺ ♂

F₁: ♀ y l/l/npr-1 w sn³ / y l/l/npr-2 w sn³ *
♀ y l/l/npr-2 w sn³ / Binsn
♂ y l/l/npr-1 w sn³ / Y/y²l⁺ és
♂ Binsn / Y/y²l⁺

A * kategória hiánya jelzi az allélikus viszony fennállását.

/A duplikáns Y kromoszóma átfedi az l/l/npr-1 és l/l/npr-2 mutációs helyeket és hordozza azok vad típusu alléljeit./

2.5. Gyander mozaikok előállítása

Az egyes mutánsok autonómiájának vizsgálata végett elvégeztük a mozaik analízist is. A mutánsok egy részénél ez már korábban megtörtént. /Kiss, Hules, 1976./ A most vizsgált mutánsoknál is az akkor alkalmazott keresztezést végeztük el:

$$\text{♀ } \underline{y w l^{npr}} / \underline{Binsn} \quad \times \quad \underline{R/1/2} / \underline{Yy}^+ \quad \text{♂}$$

A lárva-báb-mozaikok /Kiss és mtsai, 1976./ előállítására a R/1/2 jelű gyűrükromoszómát /Brown, Hannah, 1952./ használtuk. Az LBG mozaikokat tartalmazó utódnemzedéket két-részes fiolában neveltük /Kiss, 1978./ a korábban ismertett körülmények között, és lárva ill. adult korban értékeltük.

2.6. Sorstérképezés és mutáció fókuszálás

A l/1/t4 mutáns /Belyaeva és mtsai, 1979./ blasztodermális sorstérképének elkészítéséhez először a kromoszómára rekombináltattuk a y w sn³ markergéneket:

$$P : \text{♀ } \underline{y l/1/t4} / \underline{Binsn} \quad \times \quad \underline{w sn^3} / \underline{Y} \quad \text{♂}$$

$$F_1 : \text{♀ } \underline{y l/1/t4} / \underline{w sn^3} \quad \times \quad \underline{Df/1/RA19} / \underline{Y/y l^+} \quad \text{♂}$$

$$F_2 : \text{♀ } \underline{y l/1/t4} / \underline{Binsn} \quad \times \quad \underline{y l/1/t4^+ w sn^3} / \underline{Y/y l^+} \quad \text{♂}$$

párban

$$F_3 : \text{letalitás ellenőrzése } \text{♀ } \underline{y l/1/t4} / \underline{y l/1/t4 w sn^3}$$

alapján;

hasznos profi

inter se törzsfelállítás:

$$\text{♀ } \underline{y \ 1/1/t4 \ w \ sn^3} / \underline{B \ insn} \times \underline{B \ insn} / \underline{Y} \text{ ♂}$$

Ezt követően a R/1/2 kromoszómával mozaikokat állítottunk elő:

$$\text{♀ } \underline{y \ 1/1/t4 \ w \ sn^3} / \underline{B \ insn} \times \underline{R/1/2} / \underline{Yy^+} \text{ ♂}$$

Az így előállított adult mozaikokat alkohol : glicerin = = 3: 1 elegyben tartósítottuk, majd Szabad János módszere szerint, tárgylemezre preparáltuk /Szabad, 1978./ tartós kutikula készítményként.

A mozaikok epidermiszén 31 azonosítási pontot /1. az 1. táblázatot/ vizsgáltunk Zeiss /Jena/ és Reichert /Wien/ mikroszkópokon, 63x - 160x nagyítással. A kiértékelést a JATE Kibernetikai Laboratóriumában, Dr. Fajszai Csaba segítségével, R-40 típusu számítógépen végeztük. A számítógép által használt formulák:

1., $\frac{100 \cdot n'_n}{n'_n + n'_m}$ = egy struktúra az esetek hány %-ában him jellegű

$$n'_h = n_h + \frac{1}{2} n_m$$

n_h = him esetek száma

$$n'_n = n_n + \frac{1}{2} n_m$$

n_n = nőstény esetek száma

n_m = mozaik esetek száma

2., $d_{1,2} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{♂, ♀} + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \text{♀}}{n}$

A sorstérképet a háromszögelési módszerrel /Hotta, Benzer, 1972./ szerkesztettük meg. Kontrolként a fenti módon y w sn³ / B insn genotipusu törzset térképeztünk.



1., táblázat A blasztodermás sorstérképezés viszonyító pontjai az adult DROSOPHILA epidermiszén:

Fej:	1	PR	Posztorbitális sörték
	2	VB	Vibrisszák
	3	AT	Antenna
	4	AO	Anterior orbitális sörték
	5	PT	Posztvertikális sörték
	6	OV	Külső vertikális sörték
	7	PI	Proboszcsisz
Tor:	8	HU	Humerális sörték
	9	AC	Anterior szkutelláris sörték
	10	PS	Posterior szupraaláris sörte
	11	AN	Anterior notopleurális sörte
	12	TR	Triple row
	13	AL	Alula
	14	SP	Sternopleurális sörték
	15	L1	Első láb
	16	L2	Középső láb
	17	L3	Hátsó láb
Potroh:	18	T1	Ternitek
	19	T2	"
	20	T3	"
	21	T4	"
	22	T5	"
	23	T6	"
	24	T7	"

Potroh:	25	S2	Szternitek
	26	S3	"
	27	S4	"
	28	S5	"
	29	S6	"
	30	AP	Anális lemez
	31	GO	Ivarkészülék

3. Eredmények

3.1. Morfológia és egyedfejlődés

Az eredményeket a 2. táblázat összegezi. /1. a oldalt/ Van azonban néhány kiemelendő megfigyelés.

3.1.1. A mutánsok életképessége

Valamennyi vizsgált mutáns törzs jó lárvális életképességet mutatott, a letális lárvák gyakorisága közelítőleg a várható 25% maximális érték körül volt. Az npr mutáns lárvák a normális testméret elérése után hetekig is elélnek, a 1/1/npre-1 és 1/1/npr-2 átlagosan 12 - 16 napig, bár számuk közben folyamatosan csökken. A 1/1/npr-3 törzsnél megfigyelt maximális túlélési idő 30 nap volt.

Az lpr mutánsok szintén napokig túlélhetnek. A lárvák egy része még pupárium képzés előtt, mások utána pusztultak el.

3.1.2. A mutáns lárvák morfológiája

A legszembevetőbb és a mi vizsgálataink szempontjából legfontosabb bélyegek alapján a vizsgált törzseket három csoportba sorolhatjuk:

a./ Normális testméretű lárvák normális imágókorongokkal

E csoportra általánosan jellemző, hogy a petéből kikélestől számított 4. napra /a kontrol Oregon-R lárvák bá-

bozódásának kezdetére/ elérik a kontrol testméretét, és imágókoron^ggjaikon morfológiai elváltozás nem figyelhető meg. Ugyanakkor az agy és a gyűrűmirigy gyakran csak később éri el a normális fejlettségének megfelelő méretet. Ide sorolhatók a 1/1/lpr-1, 1-44, 1-48 és 1-89 mutánsok.

b./ Normális testméretű lárvák torz imágókorongokkal

A csoportba a 1/1/lpr-1, 1-43, 1/1/npr-1, 1/1/npr-2, és a 1/1/npr-3 mutánsok tartoznak. Közös jellemzőjük, hogy az imágókorongok szerkezetében jellegzetes változások mennek végbe, amik azokat végső soron evaginációra képtelenné teszi. /1. a 3. ábrát/ Ez a jelenség 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsok esetében feltűnően hasonlóan nyilvánult meg, ami az allélikus viszony gyanuját is felkeltette. Az agy több mutáns esetében a normálisnál kisebb méretű volt.

c./ Normálisnál kisebb testméretű lárvák

A csoport mutánsai közül az 1-94 törzs lárváiban imágókorongok nem alakulnak ki. A többi mutáns, az 1-40, 1-41, 1-45, 1-46, 1-50, és 1-74 jelű törzsek a Bevezetésben említett okok miatt a bábozódás szabályozásának vizsgálatához kevésbé voltak érdekesek.

3.1.3. Pupárium képzés és metamorfózis

Az npr mutáns lárvák, bár több mint 200 lárvát vizsgáltunk mutánsenként, egyetlen esetben sem bábozódtak. Ilyenek az 1-44, 1-94, 1/1/npr-1, 1/1/npr-2 és 1/1/npr-3

törzsek. Az lpr mutánsok a kikeléstől számított 8-9. napon torz pupáriumokat képeztek. A többi lárvaként pusztult el.

A mutáns báb nagymértékben torz volt. A 1/1/lpr-1 lárva fejüket nem huzzák vissza, ugyanakkor a prepupális és pupális vedlés végbemegy. /L. a 4. ábrát/ A 1/1/lpr-2 mutánsoknál, bár a prepupális vedlés mindenhol megtörtént, a pupális vedlés csak az abdomenen figyelhető meg, a fejen soha. /l. az 5. ábrát/ A mutáns kutikula nem képes meggátolni a belső viktartalom elpárologását, az állatok nedveskamrán kívül hamar kiszáradnak és elpusztulnak.

Törzs	Testméret		Zsirtest	
	4. napos	8. napos	4. napos	8. napos
1-39	normális	normális	normális	normális
1-40	apró	apró	normális	normális
1-41				
1-42	normális	felfú- vódott	kevesebb	igen kevés kerek sejt
1-43	kicsi	normális	normális	normális
1-44	normális	normális	normális	normális
1-45	Apró	apró	kevesebb	normális
1-46	kicsi	kicsi	normális	kevés kerek sejt
1-47	normális	normális	normális	normális
1-48	kicsi	normális	normális	kevesebb ^x
1-50	kicsi	közeli normális	normális	normális kerek sejt
1-74	kisebb	felfú- vódott	kevés	igen kevés üveglárva
1-89	normális	normális	normális kerek sejt	normális kerek sejt
1-93	normális	normális	kevés	kevés kerek sejt
1-94	kisebb	normális	kevés	kevés

Törzs	Imágókorongok		Agy	
	4. napos	8. napos	4. napos	8. napos
1-39	kisebb	normális	kisebb	normális
1-40	nem látható	nem látható	arányos	arányos
1-42	kicsi, torz	felfúvó- dott, amorf	kicsi	közel norm. megnyúlt!!
1-43	kicsi, torz	kicsi, torz	kicsi	kicsi
1-44	normális	normális	kicsi	kicsi
1-45	apró, torz	apró, igen torz	arányos	arányos
1-46	apró, torz	apró, torz	kicsi	kicsi ^{xx}
1-47	normális	normális torz evag.	közel normális	közel normális
1-48	apró	normális	igen kicsi	kicsi
1-50	apró	apró, amorf	kicsi	kicsi
1-74	apró, torz	apró, torz	igen kicsi	igen kicsi
1-89	normális	normális	normális	normális
1-93	apró, torz, amorf	apró, szét- eső, torz	kicsi	kicsi
1-94	apró, torz	apró, torz	igen kicsi	kicsi

Törzs	Gyűrűmirigy		Nyálmirigy	
	4. napos	8. napos	4. napos	8. napos
1-39	közel normális	normális	kisebb, átlátszó	normális
1-40	arányos	arányos	kicsi, átlátszó	kicsi átlátszó
1-41				
1-42	kicsi	normális	kicsi, üvegszerű	kicsi, opálos
1-43	arányos	arányos	kicsi, átlátszó	kicsi, "szőlőfürt"
1-44	kicsi	kicsi	kisebb, opálos	kisebb, opálos
1-45	kicsi	kicsi	kicsi, átlátszó	kicsi, átlátszó
1-46	kicsi	kicsi	kicsi, átlátszó	kicsi
1-47	normális	hipertró- fizált/!/	kicsi, opálos	közel norm. opálos
1-48	kicsi	kicsi	kicsi, átlátszó	kicsi, átlátszó
1-50	kicsi	kicsi,	kicsi, átlátszó	normális, átlátszó
1-74	igen kicsi	közel normális	igen kicsi átlátszó	igen kicsi átlátszó
1-89	normális	normális	normális	normális
1-93	közel normális	közel normális	kicsi, opálos	kicsi, opálos
1-94	kicsi	kicsi	igen kicsi átlátszó	kicsi, átlátszó



Törzs	Malpighi-edények		Bél	
	4. napos	8. napos	4. napos	8. napos
1-39	normális	normális	normális, kb:össze- sett,üres	normális kb:összee- sett,üres
1-40	arányos	arányos	arányos, vékony, üres	arányos, vékony, üres
1-41				
1-42	normális	normális	arányos, vékony, üres	arányos, bél-tartalom van
1-43	"bicikli- lánc"	"bicikli- lánc"	normális, bél-tar- talom van	normális, bél-tarta- lom van
1-44	"bicikli- lánc"	"bicikli- lánc"	normális	normális
1-45	rövid	arányos	arányos	arányos
1-46	arányos	vékony	arányos	vékony, bél-tarta- lom van
1-47	normális	normális	normális, bél-tarta- lom van	összeesett a lumen, normális
1-48	arányos	normális	normális, kb:óriás- sejt sárga	normális, kb:óriás- sejt sárga
1-50	vékony	vékony	arányos	normális
1-74	vékony	közel normális	vékony, üres	vékony, kicsi, bél- tartalom van
1-89	normális, átlátszó	normális átlátszó	normális, bél-tarta- lom sárga	normális üres
1-93	normális, átlátszó	normális, átlátszó	normális, bél-tarta- lom sárga	normális, bél-tarta- lom sárga
1-94	vékony	vékony	vékony, bél-tarta- lom van	vékony, üres

Törzs	Vedlések		Tumorok
	Prepupális	Pupális	
1-39	100%, 7 nap késés, mindenhol végbemegy	van, evagináció, fejeverzió nincs	nincs
1-40 1-41	-	-	nincs
1-42	50%, 4 nap késés, mindenhol végbemegy	abdomenen	az aortán a 8. napon
1-43	van, késés nincs	nincs	nincs
1-44	-	-	nincs
1-45	32%, késés nincs	nincs	nincs
1-46	-	-	az agyon a 8. naptól /az aortán?/
1-47	valószínűleg nincs	nincs	nincs
1-48	65%, 6 nap késéssel, csak az abdomenen	nincs	nincs
1-50	-	-	nincs
1-74	nincs	nincs	nincs
1-89	-	-	nincs
1-93	nincs	nincs	aortán, a diszkuszkok helyén, a 8. naptól
1-94	nincs	nincs	nincs

MEGJEGYZÉSEK

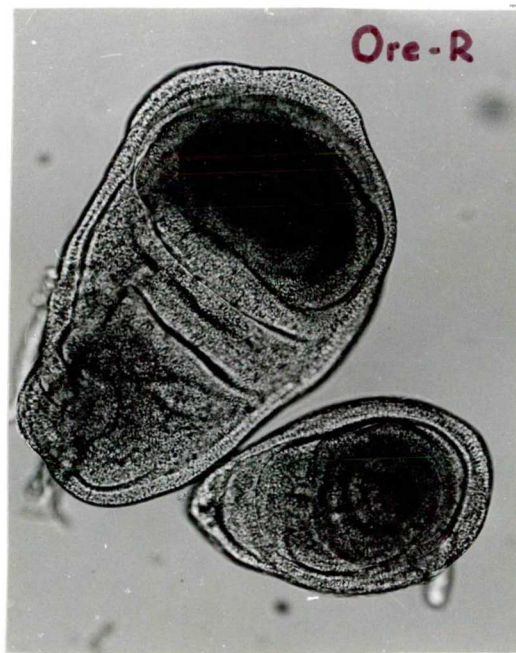
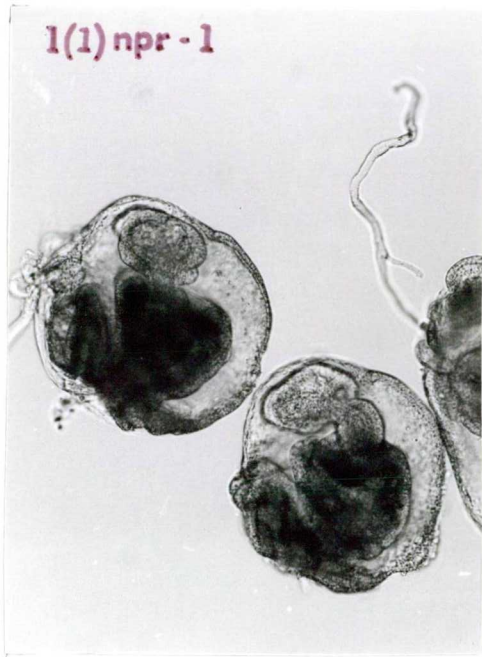
X Különbség van az első és hátsó zsirtest pár között,
az első nagy, kerek sejtekből áll, a hátsó normális.

XX A ventrális ganglion az agyféltekékhez képest arány-
talanul nagy, /adult jellegű?/.

- Nem vizsgált.

1-39 = 1/1/lpr-1
1-42 = 1/1/lpr-2
1-47 = 1/1/npr-2
1-73 = 1/1/napr-1
1-93 = 1/1/npr-3

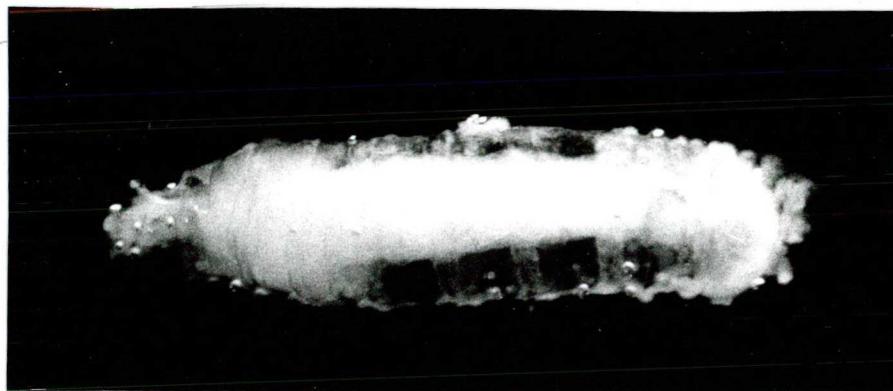
/Kiss, Szabad, Major, 1978./



3. ábra A 1/1/npr-1 mutáns torz imágókorongjai



4. ábra A 1/1/lpr-1 mutáns torz pupárium
A fej nincs behúzódva, a vedlések lezajlottak



5. ábra A 1/1/lpr-2 mutáns torz pupárium. A prepupális
vedlés után a pupális csak az abdomenen van meg

3.2. A mutációk térképhelyzete

3.2.1. Rekombinációs térképezés

A térképezéshez elvégzett keresztezések eredményeként az F_2 him rekombinánsokból a mutáns pontok térképhelyzete egyértelműen meghatározható volt. A számított térképtávolságokat az irodalmi értékekkel /Lindsay, Grell, 1968./ összehasonlítva a 3. táblázat tartalmazza /1-39 = 1/1/1pr-1 és 1-42 = 1/1/1pr-2/.

Szakasz hossz	Lindsay, Grell	1-39	1-40	1-41	1-42	1-45
			mutáns törzsek			
y - cv	13.7	15.1	16.9	12.0	13.2	16.1
cv - v	19.3	20.0	21.0	16.8	21.4	13.6
v - f	23.2	13.2	9.7	10.2	10.3	4.7
f - car	6.3	3.4	4.4	4.0	5.3	2.4

3. táblázat A térképezett mutációs pontok távolsága mutáns törzsként az F_2 hímek adatai alapján y és car markergének között.

A térképezési függvény és a hárompont elemzés alapján kapott térképhelyzeteket az egyes mutációk esetén a 4. táblázat foglalja össze.

	1-39	1-40	1-41	1-42	1-45
	mutáns törzsek				
A mutáns törzsek térképhelyzete	65.0	43.2	44.6	52.1	59.0
Hiba /m.u./	-	2-2	1.3	1.4	1.5

4. táblázat Az egyes letális mutációk térképhelyzete

A 1/1/npr-2 előzetes térképezése során kiderült, hogy a mutáció szorosan kapcsolódik a y és w génekhez /köztük helyezkedik el/, de a pontosabb behatároláshoz a kapott 204 him utód nem volt elegendő.

3.2.2. Szemidominancia (nyers pont!)

Az F_2 nőstény utódok alapján számított térképtávolságokat, valamint a kromoszóma vizsgált /y és car gének közti/ szakaszának látszólagos hosszúságváltozásait az 5. táblázat tartalmazza.

Szakasz hossz	Lindsley, Grell	1-39	1-40	1-41	1-42	1-45
		mutáns törzsek				
y - cv	13.7	16.3	16.8	15.9	16.8	15.7
cv - v	19.3	20.2	20.3	18.3	22.6	22.4
v - f	23.2	22.7	20.5	23.2	20.9	25.4
f - car	6.3	5.7	5.4	6.4	7.7	7.2
y - car	63	65	63	64	68	70

5. táblázat A térképezett mutációs pontok távolságának és a kromoszóma látszólagos hosszának alakulása F_2 nőstények alapján, y és car markerek közt.



3.2.3. Komplementáció

A 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsok allélikus viszonyának eldöntésére végzett komplementációs keresztezés eredményeit a 6. táblázat foglalja össze.

	♀ <u>y npr-2</u>	♀ <u>y npr-2</u>	♂ <u>y npr-1</u>	♂ <u>Binsn</u>
	y npr-1	Binsn	Y/y ² 1 ⁺ /	Y/y ² 1 ⁺ /
Egyedszám	∅	104	116	96

6. táblázat A 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutáns törzsek közötti komplementációs keresztezés eredményei.

A várható négy kategória közül hármát közel azonos egyedszámban megtaláltunk, míg a transzheterozigóta letális osztály szignifikánsan hiányzott.

3.3. A mutációk anatómiája

3.3.1. Kontrol

Kiss és munkatársai /1976./ korábban már elvégezték a mutánsok egy részének vizsgálatát. E kísérletek során meghatározták a várható gynander letálisok számát. Bár a gyűrökromoszóma elvesztési gyakorisága kísérletről kísérletre változik, a letális gént nem tartalmazó y w sn³ / Binsn x R/1/2 / Yy⁺ kontrol rendszerekben a kikelt

y w sn³ / R/1/2 ill. Binsn / R/1/2 gynanderek aránya állandóan 1.7 volt. Ezt az arányszámot erősítette meg a sorstérképezés kontrol kísérlete is. /1. a 3.4. fejezetet/

3.3.2. Kísérlet

A y l w sn³ / Binsn x R/1/2 / Yy⁺ keresztezésekből kikelő F₁ nemzedék adatait a 7. táblázat foglalja össze. /1. a 41. oldalt/

Mutáns törzs	<u>Binsn / R/1/2</u> adult gynander talált	várt	<u>y w sn³1 / R/1/2</u> gynander	
			talált	adult talált LBG
1-39	18	30	∅	∅
1-40	41	70	∅	∅
1-41	22	37	∅	∅
1-42	25	43	∅	5
1-43	20	34	∅	∅
1-48	23	39	∅	∅
1-49	20	34	∅	∅
1-93	9	15	∅	∅
1/1/npr-1	97	165	∅	71
1/1/npr-2	6	10	∅	8

7. táblázat A letális mutációk autonómiájának vizsgálata gynander mozaikkal

A várt letális gynanderek számát az $A = \frac{B}{C} D$ aránypárral számítottuk ki, /Kiss, és mtsai, 1976a./ ahol

A = a várt letális gynanderek száma

B = kontrol y w sn³ / R/1/2 gynanderek száma

C = kontrol Binsn / R/1/2 gynanderek száma

D = kapott Binsn / R/1/2 gynanderek száma

Autonóm mutációnak a pupáriumképzés szempontjából azt tekintettük, amely egyértelmű lárva-báb gynandereket ké-

pez. Ilyen a 1/1/npr-1, a 1/1/npr-2 és /részben/a 1/1/lpr-2 mutáns.

sz?
Az LBG mozaikokban a lárva és bábkutikula közti határ éles, az apolizist és prepupális ill. pupális kutikula kiválasztását csak a vad területeken figyelhettük meg, míg a mutáns rész lárvális maradt. Adult gynander egyetlen esetben sem kelt ki, bár minden mutánsnál szignifikánsan elegendő utódot kaptunk a keresztezésekből.

3.4. Blasztodermás sorstérképezés

A kontrol keresztezés eredményeként kapott 3375 F₁ utód genotípus szerinti megoszlását a 8. táblázat mutatja be. /1. 45. old./ A y w sn³ / R/1/2 gynanderek és a Binsn / R/1/2 gynanderek aránya = 371:219 = 1.69. Ez az eredmény jól meg- egyezik a korábban kapottakkal, /Kiss és mtsai, 1976a.; Kiss, Hules, 1976./ ahol ez az érték 1.7-nek adódott.

Ennek, mint állandó arányszámnak a felhasználásával a várható y 1/1/t4 w sn³ / R/1/2 gynanderek számát meg tudjuk határozni. Erre a célra az F₁ generációból reprezentatív mintát választottunk, melynek egyedszám szerinti megoszlását a 8. táblázat tartalmazza. A várt 119 letális gynander helyett csak 14 gynandert kaptunk, ami a várható egyedszám 12%-a.

A kísérletből kapott gynanderek adatait a következő-

képpen foglalhatjuk össze:

1., Meghatározzuk a vonatkozási pontok him és nő jellegének százalékos gyakoriságát a kontrol és letális gynanderekben. Ezeket az adatokat a mutáció fókuszálásához használhatjuk fel.

2., Meghatározzuk a különböző vonatkozási pontok közti távolságokat "sturt" értékekben. Ezekből az adatokból blasztodermális sorstérképet szerkeszthetünk.

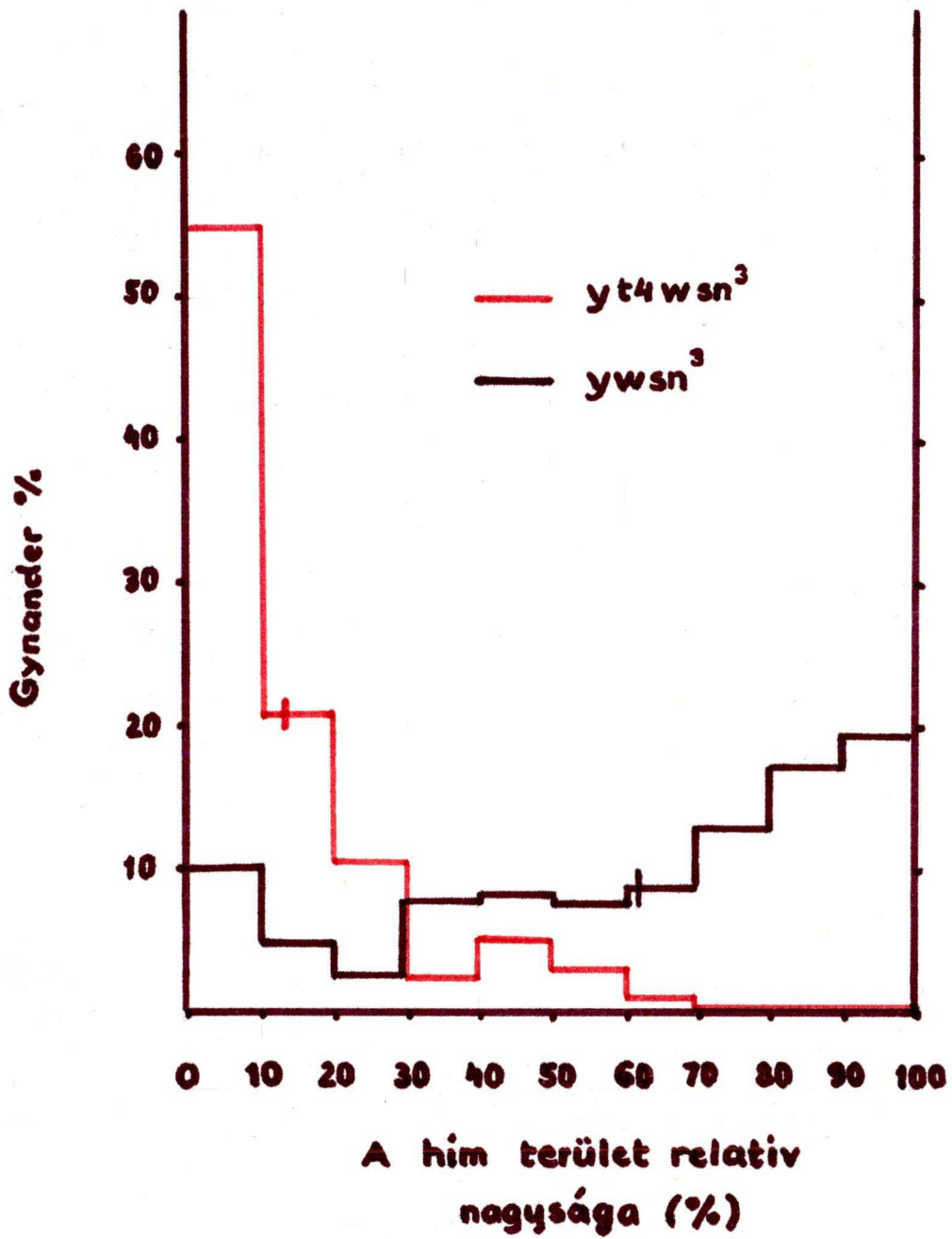
A him és nő jellegű pontok százalékos gyakoriságát a 9. és a 10. táblázat foglalja össze. A táblázatok nem tesznek különbséget a mozaikok jobb és bal oldala között.

A 6. ábra hisztogram formájában foglalja össze az adatokat.

Az egyes vonatkoztatási pontok közt mérhető "sturt" távolságokat a 11. és 12. táblázat tartalmazza. Mivel a vonatkoztatási pontok az állat mindkét oldalán szimmetrikusan helyezkednek el, az adatokat külön kezeltük. Így az azonos pontokhoz tartozó távolságok a bal és jobb oldal közti távolságot jelentik. E távolság értékek felezésével lehet a blasztoderma középvonalát meghatározni.

Az "sturt" távolságértékekből szerkesztett blasztodermális sorstérképeket a 7. és 8. ábra mutatja be.





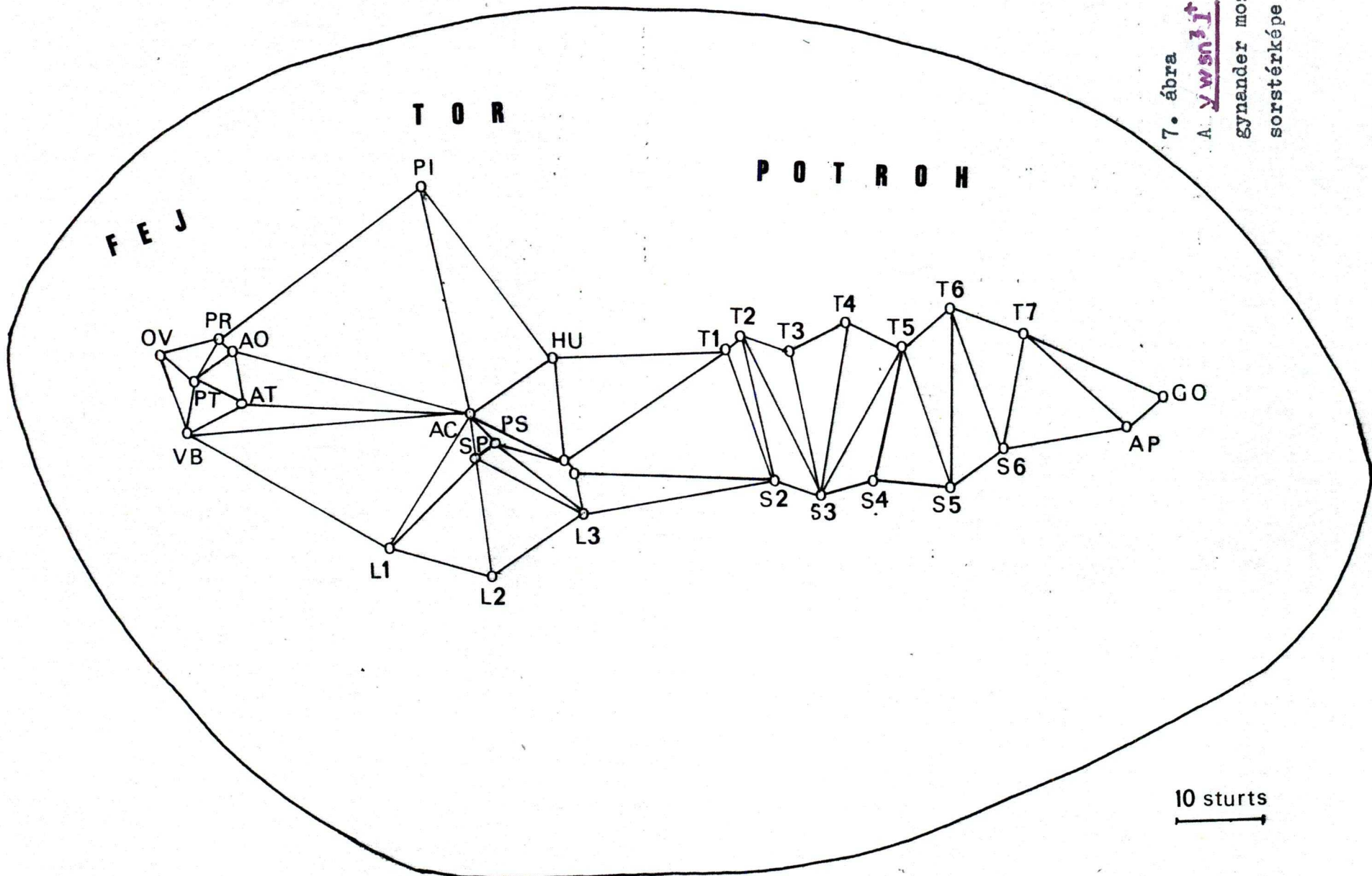
6. ábra A him területek százalékos megoszlása a mozaikokban

a felmérés

Kontrol keresztezés			Teszt keresztezés*		
adatai					
genotipus		egyedszám	genotipus	egyedszám	
$\frac{ywsn^3}{R/1/2w} vC$	♀	159	$\frac{ywsn^3_1}{R/1/2w} vC$	♀	123
$\frac{ywsn^3}{R/1/2w} vC$	♀	371	$\frac{ywsn^3_1}{R/1/2w} vC$	♀	14
$\frac{ywsn^3}{Y_y+1^+}$	♂	1482	$\frac{ywsn^3_1}{Y_y+1^+}$	♂	1201
$\frac{ywsn^3}{0}$	♂	417	$\frac{ywsn^3_1}{0}$	♂	0
$\frac{Binsn}{R/1/2w} vC$	♀	143	$\frac{Binsn}{R/1/2w} vC$	♀	169
$\frac{Binsn}{R/1/2w} vC$	♀	219	$\frac{Binsn}{R/1/2w} vC$	♀	112
$\frac{Binsn}{Y_y+1^+}$	♂	1584	$\frac{Binsn}{Y_y+1^+}$	♂	1312
$\frac{Binsn}{0}$	♂		$\frac{Binsn}{0}$	♂	

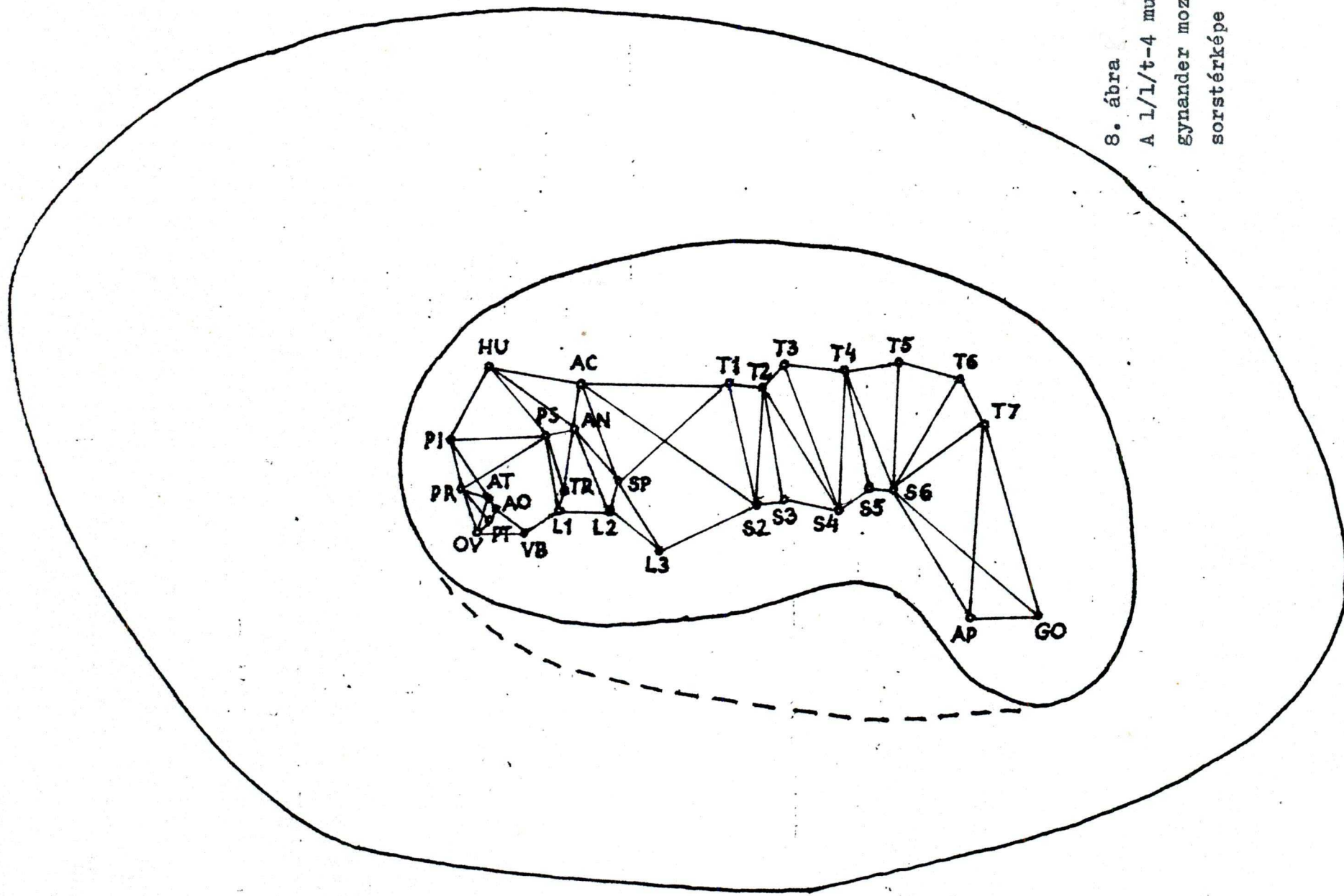
* egy, a populációból vett minta adatai

8. táblázat A kontrol és a kísérleti keresztezés egyedszám szerinti megoszlása



7. ábra
 A. ywsn3j kontrol
 gynander mozaik
 sorstérképe

10 sturts
 ───────────▶



8. ábra
 A 1/1/t-4 mutáns
 gýnander mozaik
 sorstérképe

T. táblázat. A vonatkozó pontok him ill. nő voltának valószínűsége a kontrol mozaikokban

PONT	PR	VB	AT	AO	PT	OV	PI	HU	AC	PS
HIM	58,73	61,68	57,97	58,91	55,92	54,86	56,29	64,70	68,92	67,86
H.N.O.	41,27	35,47	39,43	41,09	42,65	43,72	36,99	34,49	31,08	32,14
MOZAIK	0,0	2,85	2,60	0,0	1,42	1,42	6,72	0,81	0,0	0,0
H * H/2	58,73	63,11	59,27	58,91	56,64	55,57	59,65	65,10	68,92	67,86

PONT	AN	TR	AL	SP	L1	L2	L3	T1	T2	T3
HIM	69,82	67,04	66,75	66,98	60,42	61,69	61,00	60,90	56,94	55,84
H.N.O.	30,07	31,96	32,87	28,51	27,09	34,58	32,70	33,53	31,25	31,45
MOZAIK	0,12	1,00	0,38	4,52	12,49	5,73	6,30	5,57	11,81	12,72
H * H/2	69,87	67,54	66,94	69,24	66,67	64,56	64,15	63,69	62,85	62,20

PONT	T4	T5	T6	T7	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	AP	GO
HIM	51,91	51,74	49,25	46,91	60,24	59,78	57,06	53,67	50,84	51,45	40,62
H.N.O.	32,60	33,87	35,77	42,71	32,89	31,47	33,82	37,91	41,97	41,08	38,47
MOZAIK	15,49	14,39	14,98	10,39	6,87	8,75	9,12	8,42	7,19	7,47	20,91
H * H/2	59,65	58,93	56,74	52,10	63,67	64,16	61,62	57,88	54,44	55,18	51,08

9. táblázat Az egyes vonatkoztatási pontok him ill. nő voltának valószínűsége a kontrol mozaikokban

9. táblázat

PONT	PR	VB	AT	AO	PT	OV	PI	HU	AC	PS
HIM	4,67	5,43	5,81	5,88	7,03	7,51	2,31	7,45	15,73	12,06
N.O.	91,83	94,19	93,80	94,12	92,97	92,49	94,62	91,76	84,27	87,94
MOZAIK	3,50	0,39	0,34	0,0	0,0	0,0	3,08	0,78	0,0	0,0
H + H/2	6,42	5,62	6,01	5,88	7,03	7,51	3,85	7,84	15,73	12,06

PONT	AN	TR	AL	SP	L1	L2	L3	T1	T2	T3
HIM	10,00	10,67	10,20	9,49	4,23	3,46	4,25	10,38	11,62	13,08
N.O.	90,00	89,33	88,98	89,33	90,38	90,38	89,58	83,08	78,46	74,23
MOZAIK	0,0	0,0	0,82	1,19	5,38	6,15	6,18	6,54	9,62	12,69
H + H/2	10,00	10,67	10,61	10,08	6,92	6,54	7,34	13,65	16,73	19,42

PONT	T4	T5	T6	T7	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	AP	GO
HIM	14,62	15,77	18,46	15,77	9,60	9,56	13,78	12,55	11,46	25,19	21,92
N.O.	70,38	69,23	70,77	73,85	84,00	80,48	77,95	80,78	82,21	65,50	62,31
MOZAIK	15,00	15,00	10,77	10,38	6,40	9,96	8,27	6,67	6,32	9,30	15,77
H + H/2	22,12	23,27	23,85	20,96	12,80	14,54	17,91	15,88	14,62	29,84	29,81

10. tábl.

10. táblázat Az egyes vonatkoztatási pontok him ill. nő voltának valószínűsége a 1/1/t-4 mozaikokban

PR	9,77	VB	9,69	AT	7,36	AC	7,09	PT	8,66	OV	8,73	PI	6,15	HU	14,00	AC	27,50	PS	24,41	AN	20,00	TR	16,26	AL	15,52	SP	18,95	L1	12,31	L2	10,77	
VB	2,33		2,33																													
AT	3,11		2,94		0,98																											
AO	3,74		2,94		0,98																											
PT	4,51		4,10		2,93		1,97		8,66																							
OV	4,96		4,55		3,36		3,17		1,59		8,73																					
PI	5,64		4,46		4,46		4,31		5,08		5,53																					
HU	12,65		11,61		12,01		11,95		12,70		13,25																					
AC	18,50		17,00		18,42		18,44		18,37		19,01		16,13		11,11		27,50		7,29													
PS	16,34		15,49		15,88		15,87		17,00		17,60		12,84		10,32		7,29		24,41													
AN	14,20		13,37		13,76		13,73		14,84		15,42		11,15		7,45		8,87		3,50													
TR	13,35		12,90		14,09		14,06		14,40		14,98		11,46		9,27		10,29		6,80													
AL	14,40		13,93		14,96		15,15		15,50		16,11		12,24		9,34		8,94		6,20													
SP	12,30		11,46		12,65		12,60		12,55		13,10		10,47		11,85		11,93		9,76													
L1	10,70		9,50		10,66		10,59		10,55		11,07		8,08		8,24		14,11		10,51													
L2	11,28		10,27		11,43		11,37		11,72		12,25		8,85		9,41		14,11		11,28													
L3	12,30		11,48		12,65		12,60		12,94		13,49		10,04		9,84		13,36		10,94													
T1	17,51		16,67		17,44		17,06		18,16		18,77		14,81		12,75		17,14		17,90													
T2	20,62		19,77		20,54		20,20		21,29		21,94		17,88		16,27		20,16		21,40													
T3	22,96		22,09		23,26		22,94		23,63		24,31		20,19		19,41		22,38		23,35													
T4	25,68		24,42		25,58		25,29		26,37		26,88		22,88		22,16		24,80		25,10													
T5	26,07		25,19		25,97		24,90		26,37		26,88		23,65		22,55		25,60		26,07													
T6	26,65		26,16		26,55		25,49		27,73		27,67		24,62		23,53		27,42		26,85													
T7	24,12		23,26		23,64		22,94		25,20		24,70		22,12		21,37		25,40		24,71													
S2	16,47		15,80		16,20		16,19		18,15		18,78		14,40		15,79		21,67		18,07													
S3	17,80		17,53		17,93		17,94		19,88		20,53		16,14		16,73		21,37		19,00													
S4	21,15		20,87		21,26		21,31		23,21		23,49		19,49		20,20		23,57		22,42													
S5	20,08		19,22		19,61		19,64		21,54		21,80		17,84		19,32		23,47		21,54													
S6	19,25		18,38		18,77		18,80		20,72		21,37		17,39		18,47		22,43		20,72													
AP	33,53		32,62		33,01		33,20		35,04		34,26		32,17		32,02		35,77		33,33													
GO	33,46		32,56		32,95		33,14		34,96		34,39		31,73		32,16		34,48		32,49													

L3	13,18	T1	13,46	T2	14,23	T3	17,31	T4	19,62	T5	21,92	T6	24,62	T7	19,62	S2	8,06	S3	10,00	S4	10,71	S5	9,06	S6	7,20	AP	2,33	GO	4,23		
T1	13,71		3,46																												
T2	16,41		3,46		14,23																										
T3	13,34		6,54		3,85		17,31																								
T4	21,43		10,77		8,85		6,92		19,62																						
T5	22,97		12,09		11,15		10,77		6,15		21,92																				
T6	23,94		15,96		14,04		15,19		11,73		7,50		24,62																		
T7	21,04		14,62		13,46		14,62		11,92		9,23		5,58		19,62																
S2	13,05		13,60		13,20		15,60		14,60		14,80		15,40		11,60		8,06														
S3	14,40		13,35		12,55		15,34		14,34		14,54		14,74		11,75		3,00		10,00												
S4	18,38		17,72		16,54		17,72		15,94		15,75		16,14		13,58		6,60		5,98												
S5	16,34		15,69		14,51		16,08		14,71		14,12		14,90		11,96		4,80		5,78												
S6	15,08		15,22		14,03		15,61		15,02		14,43		15,22		12,65		4,82		5,82												
AP	27,82		28,29		27,13		27,13		25,19		24,81		23,84		20,93		19,56		22,09												
GO	27,22		28,08		27,31		27,31		25,38		25,00		25,19		22,69		20,00		21,31												

12. táblázat A vonatkoztatási pontok "sturt" távolsága

a 1/1/t-4 mozaikokban

12. tábl.

4. Következtetések

4.1. Fenotípus vizsgálatok

A nem bábozódó /npr/ mutánsok esetében a pupárium képzés gátlása felfogható úgy is, mint a metamorfózis egyik legelső lépésének gátlása. A kérdés az, hogy ez a gátlás a metamorfózis későbbi lépéseire is kiterjed-e vagy csak a pupáriumképzésre specifikus.

4.1.1. Állapotspecificitás és mutáns génműködés

A metamorfózist általánosan gátló mutánsok igen lényegesek a folyamat genetikai és humorális szabályozásának vizsgálata szempontjából. Mutánsaink közül ilyenek csak a normális lárva fejlődésüket tekintettük. Ezek közül az npr mutánsok késői lárva, míg az lpr-ek prepupa vagy korai báb letálisok. Az első csoportba tartoznak a l/l/npr-1, l/l/npr-2 és l/l/npr-3, míg a másodikba a l/l/lpr-1 és l/l/lpr-2. A többi mutáns a fenti kritériumot nem elégíti ki.

Mint hogy az npr és lpr mutánsok fejlődési rátája a lárva élet alatt normális, ez arra utal, hogy a gén funkciója szükséges a bábozódáshoz, míg a lárva élethez nem szükséges. A mutáns gén állapotsspecificitása a következő lehetőségeken alapulhat:

1., A letális gén nem nyilvánul meg a lárva fejlődésében, és nincs hatása, amíg a metamorfózis meg nem kezdődik.

2., A gén megnyilvánul a lárvaéletben, de terméke később használódik fel, így a lárva normális fejlődéséhez nem fontos.

3., Ha a mutáns gén megnyilvánul, és a mutáció következtében a hatása romboló, az valamilyen módon korlátozódik a szervezetben, pl. nem létfontosságú szerveket pusztít.

Ez az eset látszik valószínűnek az abnormális diszkuszkat mutató mutánsoknál /Shearn és mtsai, 1971.; Stewart, Murphy, Fristrom, 1972.; Kiss és mtsai, 1976./. Ugy tűnik, hogy a 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 viselkedését az első két gondolat valamelyike magyarázza, míg az 1/1/npr-3 a harmadik gondolattal értelmezhető. Az lpr mutánsokra magyarázatot talán a második vagy harmadik lehetőség adhat.

A vizsgálatok során gyakran megfigyeltük, hogy a mutáns jelleg kialakulása fokozatosan megy végbe. Ez egyaránt vonatkozik a testméret növekedésére a túlélés során /1/1/lpr-2, 1-43, 1-48, 1-74 mutánsok/, és a belső szervek változásaira.

4.1.2. Szövetspecifititás és mutáns fenotípusok

A bábozódás a Dipterákban két lépésből áll: 1., az izmok összehúzódásával a test felveszi a jellegzetes tonnabáb alakot, 2., a kutikula barnulása és keményedése, az un. "tanning" és szklerotizáció /Zdarek, Fraenkel, 1972./. A nem-bábozódó

mutánsok a kutikula változásainak vizsgálatát teszik lehetővé. E két folyamat a diffuzibilis hemolimfa faktorok hozzáférhetőségétől és a lárvális epidermisz sejtek működéséről függ. Az egyik ilyen diffuzibilis faktor az ekdizon hormon, amely a bábozódás és a metamorfózis megindításáért felelős /Karlson, Sekeris, 1966./. Az ekdizontiter a bábozódáskor maximális /Borst és mtsai, 1974.; Maróy, Vargha, 1976./. A juvenilis hormonnak eddig semmilyen szerepét nem sikerült igazolni a DROSOPHILA bábozódása alatt, így abban feltehetőleg nem vesz részt /Postlethwait, 1974./. További fontos tényező az, N-acetil-dopamin, ami közvetlenül felelős a kutikula proteinek kereszt kötéseinek kialakulásáért /Anderson, 1974./.

Bármely fenti faktor hiánya vagy késlekedése felelős lehet az npr, ill. lpr fenotípus kialakulásáért. Hogy ez a faktor az ekdizon-e, arra Szabad János végzett transzplantációs kísérleteket. A 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsok esetében a vad típusu gyűrűmirigy beültetése nem eredményezett metamorfózist, tehát e mutánsoknál nem az ekdizon jelenléte vagy hiánya okozza a metamorfózis gátlását. A 1/1/npr-3, 1/1/lpr-1 és 1/1/lpr-2 mutáns esetében viszont az ekdizontiter küszöbérték alattinak vélhető, ugyanis a mirigy beültetésével a metamorfózis megindítható volt /Kiss, Szabad, Major, 1978./.

Más mutánsoknál az un. "üveglárvák", azaz a nagyon kis mennyiségű zsirtestet tartalmazó lárvák kialakulását figyeltük meg. /1-74, 1/1/npr-3/ Ezeknél felmerülhet a zsirtest elégte-

len működése, azaz az α -ekdizon β -módosulattá alakításának /Milner, Sang, 1976./ hiánya, mint a bábozódási képtelenség vagy késlekedés egyik oka.

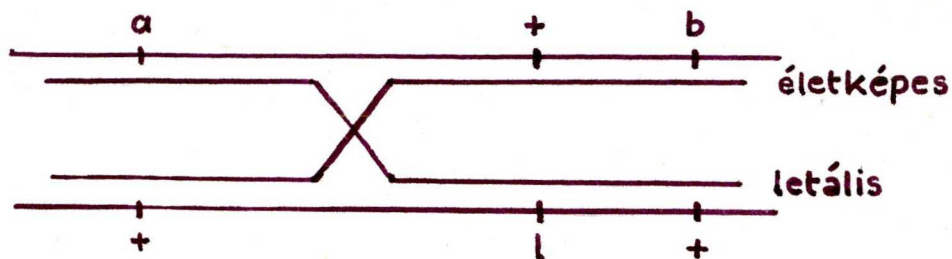
4.2. A mutánsok rekombinációs térképezése

Letális mutációt hordozó X kromoszóma térképezésekor az F_2 him rekombináns osztályok egyedszámának csökkenéséből vonhatunk le következtetéseket. Ha a letális gén megnyilvánulása 100%, a mutációt hordozó osztályok teljesen hiányzanak. Ennek látszólag ellentmond, hogy kis gyakorisággal reciproknak tűnő rekombinánsokat is találunk, ezek létrejötte azonban többszörös rekombinációval magyarázható /1. a 9. ábrát/.

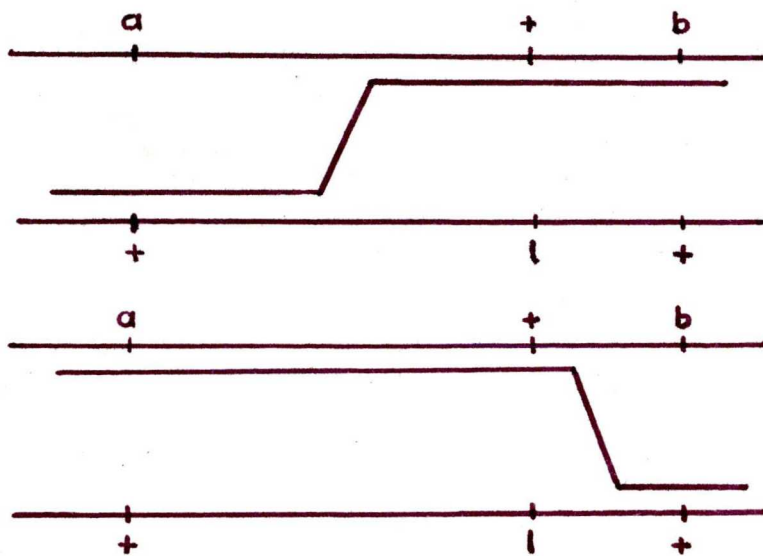
A sokszorosan megjelölt kromoszóma használatának előnye, hogy így a térképezett mutáció helyének behatárolása igen könnyen, egy keresztezéssel elvégezhető.

A letális mutációkat tartalmazó szakaszon látszólagos térképrövidülés figyelhető meg, ha a két szárnygén közti távolságot közvetlenül próbáljuk kiszámítani /1. a 3. táblázatot/. A térképezési függvényel és a hárompont elemzéssel azonban a letális mutációk helyzete pontosan meghatározható mindkét szélső pont felől. Az így kapott távolságok közel additivek,

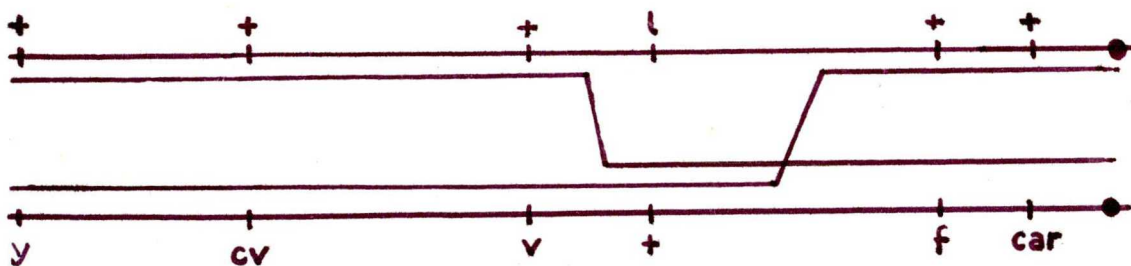
a., 1.,



2.,



b.,



9. ábra a., a látszólagos reciprok rekombinációk létrejöttének magyarázata

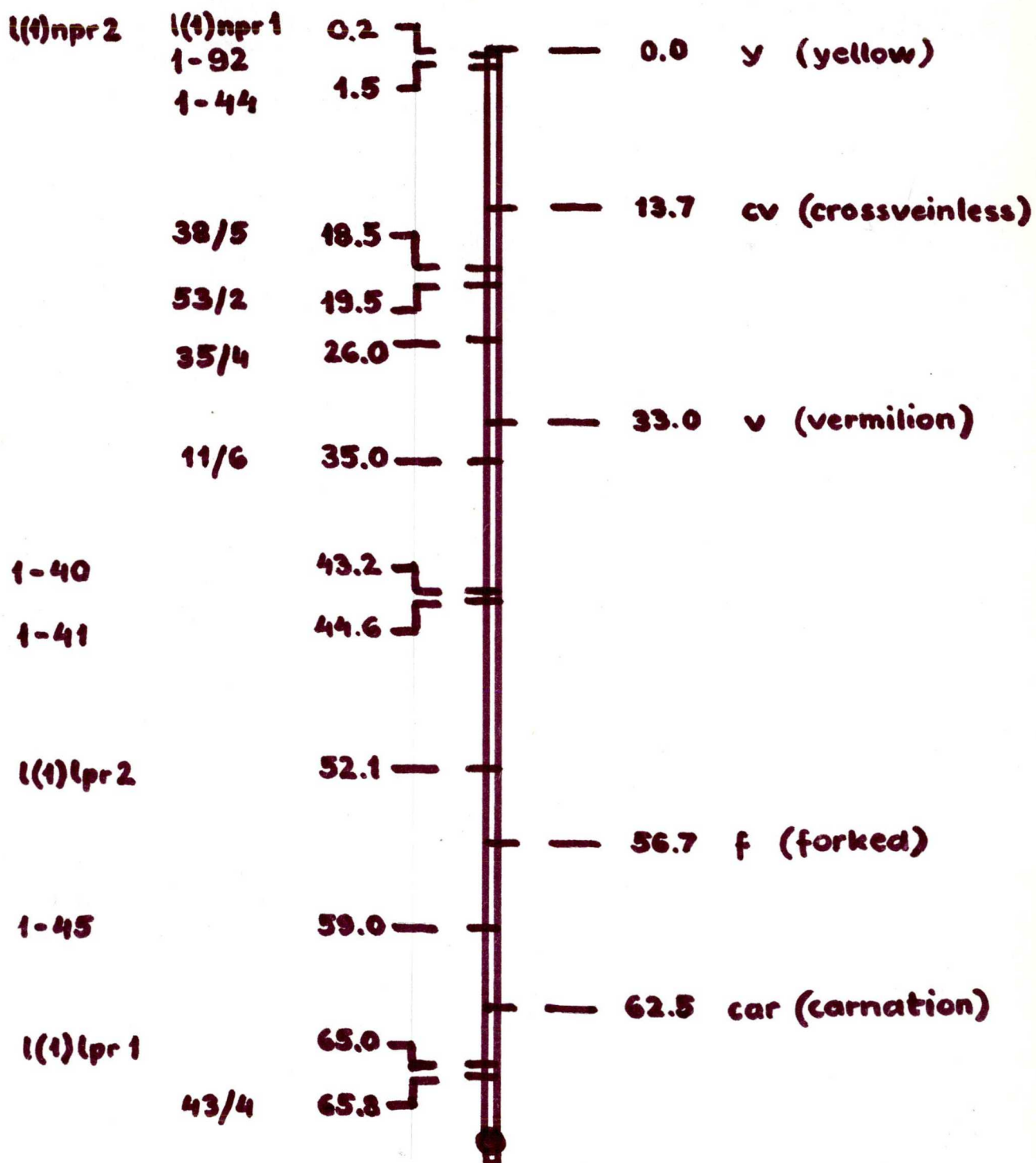
b., a többszörösen jelölt kromoszóma használata
/magyarázatok a szövegben./

A mutációk elhelyezkedése a kromoszómán véletlenszerűnek tűnik /1. a 10. ábrát/.

A komplementációs vizsgálat egyértelműen igazolta, hogy a 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsok közeli térképhelyzete valóban allélikus viszonyt jelent.

Az F_2 rekombináns nőstények felhasználásával a negatív komplementáció egyik érdekes esetét, a szemidominanciát vizsgálhattuk. A szemidominancia a mutáns/vad heterozigotákban következetesen előforduló, de 100%-nál lényegesen kisebb letalitás /Suzuki és mtsai, 1967./ . Figyeltük a reciprok rekombinánsok számarányának változását az egyes markermutációk közötti szakaszok és a kromoszóma y-car gének közötti additív hosszának alakulását. Negatív komplementáció esetén a számarány, és ezzel a térkép is torzul. Ilyet egyetlen esetben sem tapasztaltunk, a mutációk tehát valóban recesszívek. ✓

A 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsokat tartalmazó 2B5-6 régió komplementációs csoportjainak /Belyaeva és mtsai, 1979./ fejlődésgenetikai értékelése során a 11. ábrán bemutatott figyelemre méltó transzheterozigóta fenotípus változásokat észlelték. Feltűnő, hogy az A komplementációs csoporttal, amibe a két npr allél is tartozik, transzheterozigóta párban bármely csoport a homozigóta állapothoz képest egy fejlődési lépéssel tovább jut.



10. ábra A térképezett mutációk és a marker mutációk elhelyezkedése az X kromoszómán

	<u> A </u>	<u> G </u>	<u> H </u>	
	<u> B </u>			
	<u> C </u>	<u> D </u>	<u> E </u>	<u> F </u>
Transzheterozigóta				fenotipusa
	A/B			D/D
	A/D			D/D
	B/D			D/D
	A/E			torz adult

A: lárva letálisok
B: bdb "
C: " "
D: " "
E: " "
F: adult letálisok
H: " "
G: egyéb mutáns

11. ábra A 2B5-6 mutánsainak komplementációs viselkedése

Ez a jelenség a korábban feltételezett mikrodelécióval szemben inkább a poláris mutáció lehetőségét erősíti. Ha ez igaz, akkor a két npr allélt tartalmazó komplementációs csoport reguláló funkciója sem kizárt /Kiss, 1978b./.

4.3 Autonómia

Igen fontos eldöntendő kérdés a mutációk autonómiája mozaikokban. A fejlődési mutánsok vizsgálatának ugyanis első sorban a mutáció elsődleges hatáshelyére kell irányulnia. Autonóm módon kifejeződő mutáns fenotípus esetén a nem mutáns szöveti környezet sem képes a mutáns jelleget korigálni, míg, ha a vad típusu környezet hatására a mutánsra jellemző torzulások eltűnnek, a mutáció nem autonóm megnyilvánulás. Az autonómia jelenségének vizsgálatára tehát a ge-

netikai mozaik rendszerek alkalmasak. Ezekben, ha a vad típusu szövetek a metamorfózis minden humorális előfeltételét biztosítják, és a bábozódás mégsem következik be, nyilvánvaló, hogy a mutáció a metamorfózis kezdeti gátlásán keresztül, autonóm módon nyilvánul meg.

Bryant és Zornetzer /1973./ felvetése alapján autonóm lárva vagy korai báb-letális esetén nem kaphatunk adult gynandereket. A köztakaró képződését befolyásoló mutációnál ugyanakkor az adult gynanderek hiánya önmagában nem bizonyítja a mutáció autonóm voltát. Ez csak a lárva-báb gynanderek vizsgálatánál derül ki /Kiss és mtsai, 1976.; Kiss, Hules, 1976./.

A 1/1/npr-2 törzs lárva-báb mozaikjainak felboncolása során nyilvánvalóvá vált, hogy a mutáció nemcsak a felszíni ektoderma eredetű képződményekre, hanem a hasonló eredetű imágókorongokra is autonóm. Ugyanezt bizonyította Szabad János transzplantációs kísérlete is, melynek során vad típusu gyűrűmirigyét ültettek a mutáns lárvába, ill. ez utóbbi diszkuszait transzplantálták Oregon-R /vad/ lárvába /Kiss, Szabad, Major, 1978./ . Sem egyik, sem másik esetben nem kaptak pupáriumképzést, ill. evaginációt, ami a mutáció autonómiáját igazolta. ✓

A mutáció pleiotrop hatásainak tűnnek a túlélés során kialakuló jellegzetes torzulások, mint pl. a 1/1/lpr-2, 1-46

és 1/1/npr-3 tumoros aortahólyagjai, az 1-43, és 1-44 törzsek szögletes sejtekből álló "biciklilánc"-szerű Malpighi edénye, és az 1-48 mutáns rózsaszínű középbéli epitélium sejtjei.

4.4. Sorstérképezés

4.4.1. A letális mozaikok túlélése

Áttekintve a 1/1/t-4 mutáns mozaik analízisének eredményeit, feltűnő a túlélő letális mozaikok alacsony száma /a várható egyedszám 12%-a/.

Belátható, hogy egyetlen letális fókusz esetében a túlélés, ha a fókusz pontszerű, 50%, míg diffuzabb fókusznál a területtől és alaktól függően 50%-nál kevesebb. Ezt igazolta a 1/1/t-10 mutáns vizsgálata is, ahol 48% túlélést és egyetlen fókuszt találtak /Kocsár, Penyige, 1979./.

Két fókusz esetén azonban nemcsak a kiterjedés, hanem a fókuszpár viszonya egymáshoz is döntő a túlélés szempontjából.

Alárendelt fókuszok esetén ugyanis az szükséges a letalításhoz, hogy mindkettő mutáns legyen. A fókuszok külön-külön egyforma p_m valószínűséggel mutánsak. Minél közelebb van azonban a két fókusz, annál kisebb valószínűséggel megy köztük át a mozaikhatár, azaz annál inkább azonos genotipu-

suak. Ezt egy d arányossági tényezővel vehetjük figyelembe, ami függ a fókuszok egymás közti sturt távolságától.

Egyfokuszos modell esetén $p_m=0.5$, amiből a túlélés valószínűsége $s=1-p_m = 0.5$. Kétfokuszos alárendelt modell esetén a túlélés valószínűsége $s=1-dp_m^2 < 0.5$.

Domináló fókusznál elegendő a letalitáshoz az egyik fókusz mutáns genotipusa, de lehet mindkettő is mutáns. Ez utóbbi valószínűsége, mint láttuk, $= dp_m^2$. A túlélés esélye tehát első közelítésben $s=1-p_m + dp_m^2/$ lesz.

Diffuz fókuszok esetén mindhárom összefüggés bővül egy k arányossági tényezővel is, ami a fókusz diffuzibilitását veszi figyelembe. Ezen elvi megfontolások figyelembevételével a nagy letalitásból a 1/1/t-4 mutánsnál diffuz, domináns módon viselkedő két vagy több fókusz várható.

Hotta és Benzer /1972./ levezetése segítségével a fókusz domináló jellegét igazolni lehet. ✓

4.4.2. A sorstérkép

A kontrol és a 1/1/t-4 mutáns adatai alapján egyértelmű blasztodermális sorstérképeket szerkeszthettünk. A kontrol térkép jól megfelel az irodalmi térképeknek /Janning, 1978./
/1. a 2. és 7. ábrákat/

A 1/1/t-4 mutáns térképén feltűnő elváltozások figyelhetők meg. A potroh viszonyítópontjai nem változtak a kontrol-

hoz képest. A potroh és a tor, valamint a tor és fej távolsága azonban, főként ez utóbbi, nagymértékben rövidült. A leginkább torzult a fej és az eredetileg tori származású proboscis távolsága, ez a mutáns térképről leolvasható sturt érték a kontrolnak kb. 16%-a. Ugyanakkor figyelemre méltó, hogy a fejen és a toron belül a vonatkoztatási pontok egymáshoz viszonyított távolsága nem változott lényegesen.

A potrohon a genitália és az anális lemez környékén a kontrolhoz viszonyított távolságnövekedés valószínűleg a mozaikok kiértékelési körülményei folytán előállott műtermék. Nöthinger és mtsai kimutatták, hogy a DROSOPHILÁ-ban két független genitális primordium van, külön a him és külön a nőstény ivarszerv számára. Ezek közül a genetikai konstitúciónak megfelelő fog kifejlődni, míg a másik elpusztul /Nöthiger, Dübendorfer, Epper, 1977./. Elképzelhető, hogy a letális mozaikokban a mozaikhatárok egy adott lefutása esetén mindkét szervkezdemény elpusztul, ezért a talált ivarszerv nélküli állatok egy része feltétlenül mozaik. Más részük azonban későbbi sejttletalítás vagy kromoszóma vesztés következményeként is ivarszerv nélküli lesz. A kétféle lehetőség arányát nem tudtuk meghatározni, így minden ivarszerv nélküli egyedet mozaiknak tekintettünk.

A 12. ábra a kontroltérképre vetítve mutatja be a legfel-
tűnőbb távolságcsökkenéseket. Ezek alapján a fókusz a fej

és tor, valamint a fej és a lábak között, ill. közelében várható.

Hasonlóan feltűnő a letális gynanderekben a himterület, azaz a gynanderfolt nagyságának alakulása. A potrohon a gynanderfoltok nagy kiterjedésűek voltak, és előfordulásuk gyakorisága is a kontrolhoz hasonló. Ugyanakkor a toron és a fejen többnyire a kis gynanderfoltok voltak jellemzőek. Erre utal, hogy a letális szövet kis foltokban gyakrabban túlél. ✓

A kontroltérképre felvive az egyes vonatkoztatási pontok haplo-X valószínűségi értékeit, Hotta és Benzer módszere alapján /Hotta, Benzer, 1973./ megkíséreltük a fókuszok pontosabb behatárolását. A közelítési határok, amik alapján az azonos valószínűségűnek ítélt pontokat összekötve a fókuszt lokalizálhatjuk, a következő:

0-2.5; 2.5-5; 5-10; 10-15; 15-20; 20-30 és 30 fölött. Az egyes számok a haplo-X gyakoriság %-ban kifejezett értékei, melyeket összefoglalólag a 10. táblázat tartalmaz.

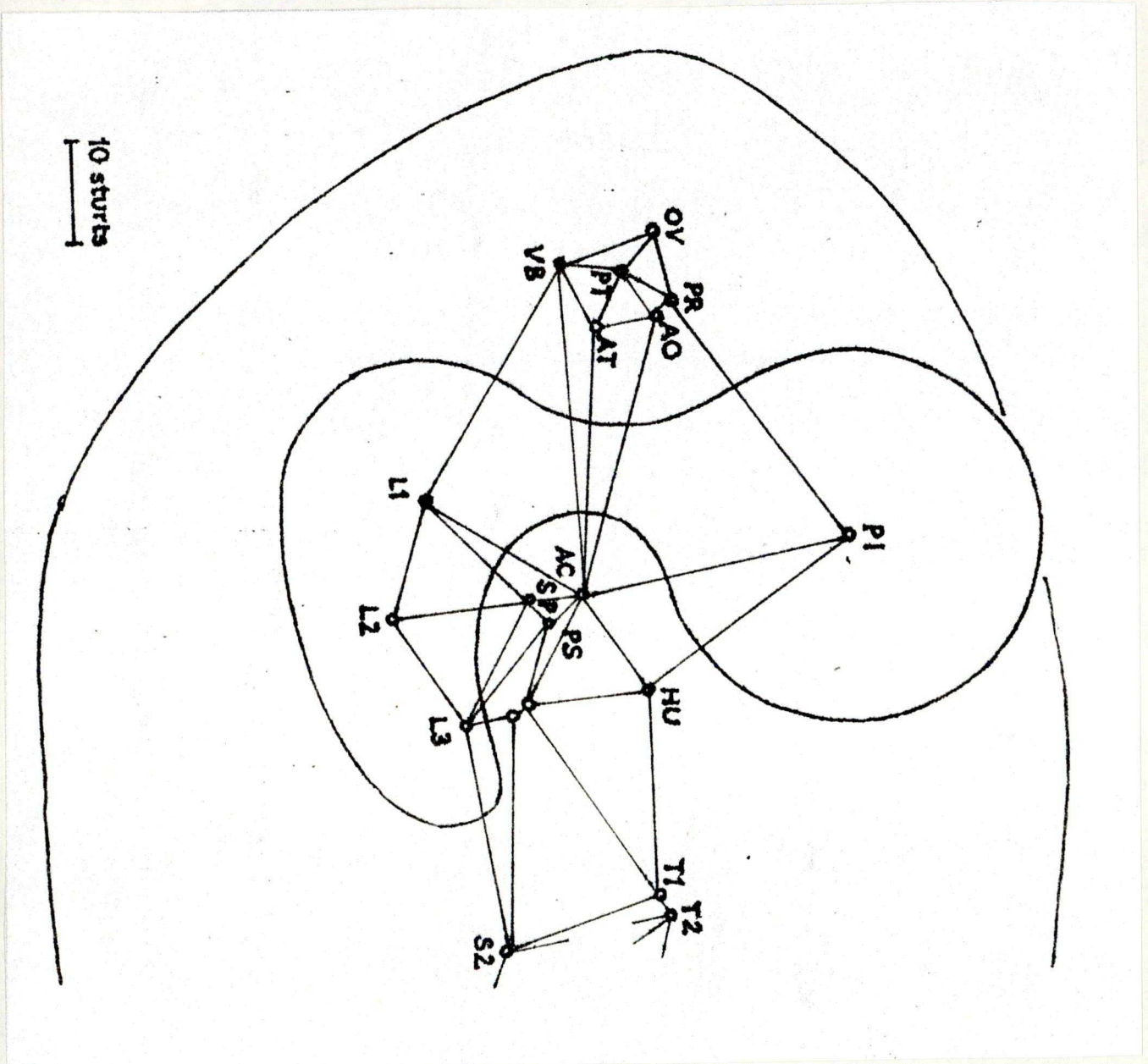
A 13. ábrán látható, hogy a mutáció fókusza a várakozásnak megfelelően, a fej és a proboscis között, valamint a lábaktól a hasi középvonal felé helyezkedik el. A pontosabb behatárolás nem lehetséges, mivel éppen ezekről a területekről nem állnak rendelkezésünkre részletesebb sors-térképek.

A Poulson-féle térképpel összevetve /Poulson, 1950./, és a fokusz diffuzibilitását, domináló jellegét figyelembe véve nem lehetetlen, hogy az ektoderma kezdemények mutáns volta felelős a mozaikok nagyértékű letalításáért, és ez esetben a fokusz az ektoderma kezdeményekben van.

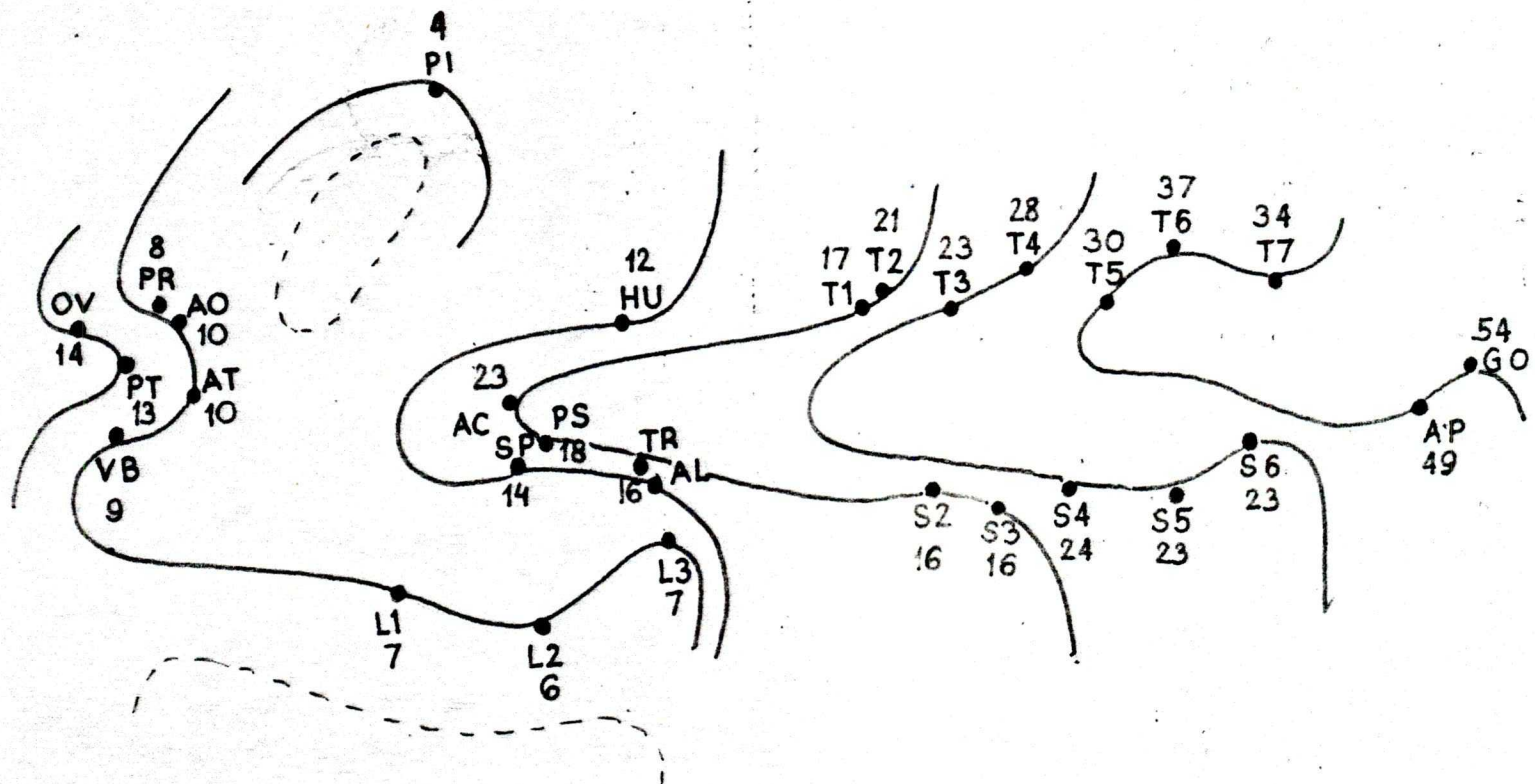
Ez a feltételezés még további megerősítésre szorul, az azonban már most valószínűsíthető, hogy a l/l/t-4 mutáció hatásmódja eltér a l/l/npr-1 és l/l/npr-2 mutánsok esetén feltételezhetőtől és, ha a letalítás oka valóban ektoderma defekt is, az a két npr mutánstól eltérő módon és mértékben autonom.

4.4.3. További feladatok

A 2B5-6 régió minden egyes komplementációs csoportjából kiválasztott reprezentáns mutánsok blasztodermális sorstérképezése tovább folyik. Ugyancsak folytatódik az npr mutánsok analízise is, amikkel részben az ekdizon hormon hatásmódját, részben a metamorfózis genetikai szabályozását érintő kérdésekre szeretnénk választ kapni.



12. ábra A 1/1/t-4 mutáns blasztoermalis sorstérképének legfeltűnőbb távolságcsökkenései a kontroll térkép-re vetítve.



t4

10 sturts
 ───────────

13. ábra A 1/1/t-4 mutáns fokusa a kontrol sorstérképre vetítve

Összefoglalás

A bábozódásra képtelen *DROSOPHILA MELANOGASTER* M. mutánsok genetikai analizise igen jó lehetőséget nyújt a metamorfózis genetikai szabályozásának tanulmányozására. Ezért elvégeztük az előállított ivarkromoszómás bábozódásképtelen mutánsok előzetes analizisét. A rekombinációs térképezés során a mutációk a kromoszómán eloszlottak, két mutáció azonban allélikus viszonyt mutatott. Ezt az elvégzett komplementációs elemzés is megerősítette. /1/1/npr-1 és 1/1/npr-2/ Szemidominanciát egyetlen vizsgált esetben sem találtunk.

Tanulmányoztuk a mutációk állapot- és szövetspecifitását. Megfigyeltük, hogy a mutáns jellegek kialakulása gyakran fokozatosan megy végbe. Az npr és lpr mutánsok fejlődési rátája a lárva élet alatt normális, ami arra utal, hogy az adott gén funkciója vagy terméke, vagy mindkettő, a bábozódáshoz szükséges, ugyanakkor a lárvaélethez nem szükséges.

A fejlődésgenetikai mutánsok vizsgálatának a mutáció elsődleges hatáshelyére kell irányulnia. Ezért elvégeztük az egyes mutánsok gynander mozaik vizsgálatát. Adult gynandert a vizsgálatok során egyetlen mutáns sem adott. Az autonómiára utaló lárva-báb-gynander mozaikokat azonban csak a 1/1/lpr-2, 1/1/npr-1 és 1/1/npr-2 mutánsoknál kaptunk. A két npr mutáns epidermisze autonom módon képtelen az ekdizon specifikus ingerére válaszolni.

Mivel az npr mutánsok adult gynandereket nem adnak, közvetlen blasztodermális sorstérképezésükre lehetőség nincs. Ugyanakkor a l/l/npr-1 és l/l/npr-2 mutáns a jólismert, 2B5-6 korai ekdizonspecifikus puff komplementációs csoportjaiba tartozik. Ez lehetőséget nyújt mind az egyes csoportok sorstérképezésén keresztül az npr mutánsok közvetlen tanulmányozására, mind esetleges regulációs szerepük vizsgálatára. E dolgozatban a l/l/t-4 mutáns blasztodermális sorstérképezését irtuk le. A mutáció fókuszja nagykiterjedésű, diffuz terület a feji és tori adult viszonyítópontok blasztodermális kezdeményei között, ami nagyjából megfelelhet az epidermális primordiumoknak.

Idézett irodalom

- Aizenzon, M.G., Belyaeva, E.S., Kiss, I., Koczka, K., Zhimulev, I.F., 1979.: Cytogenetic analysis of the 2B1-2-2B9-10 region of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*. II. Complementation groups
Megjelenés alatt
- Ananiev, E.V., Barsky, V.E., 1978: Localization of RNA synthesis sites in the 1B-3C region of *Drosophila melanogaster* X-chromosome.
Chromosoma 65: 359-371.
- Andersen, S.O., 1974.: Evidence of two mechanisms of sclerotization in insect cuticule.
Nature 251: 501-508.
- Ashburner, M., 1972.: Puffing patterns in *Drosophila melanogaster* and related species.
In: *Developmental studies on Giant chromosomes.* /Ed.: Beerman, W.; Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New-York.
- Ashburner, M., Richards, G., 1976.: The role of ecdysone in the control of gene activity in polytene chromosomes of *Drosophila*.
In: *Insect development.* /Ed.: Lawrence, P.A., Blackwell, Oxford./
- Baker, B.S., 1975.: Paternal loss /pal/: a meiotic mutant in *Drosophila melanogaster* causing loss of paternal chromosomes.
Genetics 80: 267-296.
- Belyaeva, E.S., Aizenzon, M.G., Ilina, O.V., Zhimulev, I.F., 1978.: Cytogenetic analysis of the puff in the 2B1-10 region of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*.
Dokl. Akad. Nauk. 240: 1219-1222.

- Belyaeva, E.S., Aizenzon, M.G., Semeshin, V.F., Kiss, I., Koczka, K., Zhimulev, I.F., 1979.: Cytogenetic analysis of the 2B1-2 - 2B9-10 region of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*.
I. Cytology of the region and mutant complementation groups.
Megjelenés alatt.
- Bencze G., 1976.: Az imágókorongok fejlődésében hibás mutáns *Drosophila* törzsek előállítása és jellemzése. Állattani Közlemények LXIII: 51-59.
- Bodenstein, D., 1950.: The postembryonic development of *Drosophila*.
In: Biology of *Drosophila*,
/Ed: M. Demerec; John Wiley Sons, Inc., New-York./
- Borst, D.W., Bollenbacher, W.E., O'Connor, J.D., King, D.S., and Fristrom, J.W., 1974.: Ecdysone levels during metamorphosis of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 39: 308-316.
- Britten, R.J., Davidson, E.H., 1969.: Gene regulation for higher cells: A theory.
Science 165: 349-351.
- Brown, S.W., Hannah, A., 1952.: An induced maternal effect on the stability of the ring-X chromosome of *Drosophila melanogaster*.
P.N.A. S. 38: 687-693.
- Bryant, P. J., Zornetzer, M., 1973.: Mosaic analysis of lethal mutations in *Drosophila*.
Genetics 75: 623-637.
- Carlson, P.S., 1971.: A genetic analysis of the rudimentary locus of *Drosophila melanogaster*.
Genet. Res. 17: 53-81.
- Chan, L., Gehring, W., 1971.: Determination of blastoderm cells in *Drosophila melanogaster*.
P.N.A.S. 68: 2217-2221.

- Crick, F.H.C., 1971.: General model for the chromosomes of higher organisms
Nature 234: 25-27.
- Crick, F.H.C., Lawrance, P.A., 1975.: Compartments and polyclones in insect development.
Science 189: 340-347.
- Ephrussi, B., Beadle, G., 1936: A technique of transplantation for *Drosophila*.
Amer. Natur. 70: 218-225.
- Ferris, G.F., 1950.: External morphology of the adult.
In: The Biology of *Drosophila*.
Ed.: Demerec, M., J.Wiley Sons, Inc.; New-York.
- Flanagan, J.R., 1976.: A computer program automating construction of fate maps of *Drosophila*.
Dev. Biol. 53: 142-146.
- Flanagan, J.R., 1977: A method for fate mapping the foci of lethal and behavioural mutants in *Drosophila melanogaster*.
Genetics 85: 587-607.
- Foster, G.G., 1975.: Negative complementation at the Notch locus of *Drosophila melanogaster*.
Genetics 81: 99-120.
- Fristrom, D., Fristrom, J.W., 1975.: The mechanism of evagination of imaginal disc of *Drosophila melanogaster*.
I. General considerations.
Dev. Biol. 43: 1-23.
- Fristrom, J.W., 1970.: The developmental biology of *Drosophila*
Ann. Rev. Genet. 4: 325-346.
- Fristrom, J.W., Logan, W. R., Murphy, C., 1973.: The synthetic and minimal culture requirements for evagination of imaginal discs of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 33: 441-456.
- Garcia-Bellido, A., 1975.: Genetic control of wing disc development in *Drosophila*.
In: "Cell Patterning" /CIBA Found Symp. 29: 161-180/

- Garcia-Bellido, A., Merriam, I.R., 1969.: Cell lineage of the imaginal discs in *Drosophila gynandromorphs*.
J. Exp. Zool. 170: 61-76.
- Garcia-Bellido, A., Ripoll, P., 1978.: Cell lineage and differentiation in *Drosophila*.
In: Genetic mosaics and Cell Differentiation.
/Ed.: W.J. Gehring; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York./
- Gehring, W., 1976.: Determination of primordial cells and the hypothesis of stepwise determination.
In. Insect development.
/Ed.: Lawrance, P.A. Blackwells, Oxford/
- Georgiev, G.P., 1969.: On the structural organisation of operon and the regulation of RNA synthesis in animal cells.
J. Theoret. Biol. 25: 473-490.
- Hall, I.G., 1978.: Behavioral analysis in *Drosophila* mosaics.
In: Genetic Mosaics and Cell Differentiation.
/Ed.: W.I., Gehring; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York./
- Hall, J.C., Gelbart, W.M., Kankel, D.R., 1976.: Mosaic systems.
In: The genetics and Biology of *Drosophila* Vol. 1/a.
/Ed.: Ashburner, M., Novitsky, E., Acad. Press. New-York/
- Hinton, C.W., 1955.: The behaviour of an unstable ring-X chromosome of *Drosophila melanogaster*.
Genetics 40: 951-961.
- Hotta, Y., Benzer, S., 1972.: Mapping of behaviour in *Drosophila* mosaics.
Nature 240: 527-535.
- Hotta, Y., Benzer, S., 1973.: Mapping of behavior in *Drosophila* mosaics.
In: Genetic Mechanisms of Development.
/Ed.: Ruddle, T.H., Acad. Press., New-York, London/



- Janning, W., 1978.: Gynandromorph fate maps in *Drosophila*.
In: Genetic Mosaics and Cell Differentiation.
Ed.: Gehring, W.J.; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg,
New-York/
- Judd, B.H., Shen, M.W., Kaufman, T.C., 1972.: The anatomy
and function of a segment of the X-chromosome of *Drosophila*
melanogaster.
Genetics 71: 139-156.
- Karlson, P., Sekeris, C.E., 1966.: Ecdysone, an insect steroid
hormone and its mode of action.
Recent Progr. Hormone Res. 22: 473-502.
- Kiss, I., 1978a.: A "split" rial specially used for collecting
larval prepupal gynander mosaics.
D.I.S. 53: 210.
- Kiss, I., 1978b.: Characteristics of mutants in the region
of the 2B5-6 puff.
In: Abstracts of "Current Topics of Insect Developmental
Genetics", Szeged.
- Kiss, I., Bencze, G., Fekete, É., Fodor, A., Gausz, J., Maróy,
P., Szabad, J., Szidonya, J., 1976a.: Isolation and
characterisation of X-linked lethal mutants affecting
differentiation of the imaginal discs in *Drosophila mela-*
nogaster.
Theoret. Appl. Genet. 48: 217-226.
- Kiss, I., Bencze, G., Fodor, A., Szabad, J., Fristrom, J. W.,
1976b.: Prepupal-larval mosaics in *Drosophila melanogaster*.
Nature 262 : 136-138.
- Kiss, I., Hules, H., 1976.: A genetikai mozaicizmus felhasz-
nálása *Drosophila* fejlődési mutánsok jellemzésében.
Állattani Közlemények LXIII./1-4: 95-100.
- Kiss, I., Szabad, J., Major, J., 1978.: Genetic and develop-
mental analysis of puparium formation in *Drosophila*.
M.G.G. 164: 77-83.

- Kocsár, B., Penyige, A., 1979.: *Drosophila* genetikai mozaikok analizise; a t-lo mutáns letális fókuszálása.
Szakdolgozat, KLTE.
- Lewis, E., 1964.: Genetic control and regulation of developmental pathways.
Symp. Soc. Develop. Biol. 23: 231-251.
- Lewis, E.B., Gencarella, W., 1952.: Claret and nondisjunction in *Drosophila melanogaster*.
Genetics 37: 600-601. /Abstract/
- Lindsley, D.L., Grell, E.H., 1968.: Genetic variations of *Drosophila melanogaster*.
Carnegie Inst. Wash. Publ. N^o 627.
- Lossinsky, A.S., Lefevre, H.M., 1978.: Ultrastructural banding observations in region 1A-loF of the salivary gland X-chromosome of *Drosophila melanogaster*.
D.I.S. 53: 126-131.
- Lifschytz, E., Falk, R., 1969.: The action of the gene prune /pn/ in *Drosophila melanogaster*.
Genet. Res. 14: 53-61.
- Maróy, P., Dennis, R., Beckers, Ch., Sege, B.A., O'Connor, J.D., 1979.: Demonstration of an ecdysteroid receptor in a cultured cell line of *Drosophila melanogaster*.
P.N.A.S. 75: 6035-6038.
- Maróy P., Vargha J., 1976.: A vedlési hormon vizsgálata *Drosophila melanogaster* előbábokban.
Állattani Közlemények LXIII: 101-102.
- Metcalfe, N. 1971.: Development and complementation of lethal mutations at the dumpy locus of *Drosophila melanogaster*.
Genet. Res. 17: 173-183.
- Milner, M.J., 1977.: The time during which -ecdysone is required for the differentiation in vitro and in situ of wing imaginal discs of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 56: 206-212.

- Milner, M.J., Sang, J.H., 1976.: The effect of fat body on the differentiation in vitro of wing imaginal discs of *Drosophila melanogaster*.
Wilhelm Roux' Arch. 180: 73-77.
- Murphy, C., 1974.: Cell death and autonomous gene action in lethals affecting imaginal discs in *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 39: 23-36.
- Nöthinger, R., Dübendorfer, A., Epper, F., 1977.: Gynandromorphs reveal two separate primordia for male and female genitalia in *Drosophila melanogaster*.
Wilhelm Roux's Arch. 181: 367-373.
- Portin, P., 1975.: Allelic negative complementation at the *Abruptex* locus of *Drosophila melanogaster*.
Genetics 81: 121-133.
- Postlethwait, J.H., 1974.: Development of the temperature-sensitive homeotic mutant *Ophthalmoptera* of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 36: 212-217.
- Postlethwait, J.H., Schneiderman, H.A., 1973.: Developmental genetics of *Drosophila* imaginal discs.
Ann. Rev. Genet. 7: 381-433.
- Poulson, D.F., 1950.: Histogenesis, organogenesis and differentiation in the embryo of *Drosophila melanogaster*.
In: The Biology of *Drosophila*.
Ed.: Demerec, M., J. Wiley Sons; New-York/
- Rawls, J.M., Fristrom, J.W., 1975.: A complex genetic locus that controls the first three steps of pyrimidine biosynthesis in *Drosophila*.
Nature 255: 738-740.
- Reichman, K., Oberlander, H., 1971.: Effects of fat body on alpha-ecdysone induced morphogenesis in cultured wing discs of the wax moth, *Galleria mellonella*.
J. Insect. Physiol. 17: 269-276.

- Richards, G., 1976.: Sequential gene activation by ecdysone in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*.
IV. The mid prepupal period
Dev. Biol. 54: 256-263.
- Richards, G., 1976.: Sequential gene activation by ecdysone in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*.
V. The late prepupal puffs
Dev. Biol. 54: 264-275.
- Robb, J.A., 1969.: Maintenance of imaginal discs of *Drosophila melanogaster* in chemically defined media.
J. Cell. Biol. 41: 876-884.
- Shannon, M.P., Kaufman, T.C., Shen, M.W., Judd, B.H., 1972.: Lethality patterns and morphology of selected lethal and semi-lethal mutations in zeste-white region of *Drosophila melanogaster*.
Genetics 72: 615-638.
- Shearn, A., 1974.: Complementatim analysis of the late lethal mutants of *Drosophila melanogaster*.
Genetics 77: 115-125.
- Shearn, A., Garen, A., 1974.: Genetic contorol of imaginal disc development in *Drosophila*.
P.N.A.S. 71: 1393-1397.
- Shellenbarger, D.L., Mohler, J.D., 1975.: Temperature-sensitive mutations of Notch locus in *Drosophila melanogaster*.
Genetics 81: 143-162.
- Stewart, M.C., Murphy, C., Fristrom, J.W., 1972.: The recovery and preliminary characterisation of X-chromosome mutants affecting imaginal discs of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 27: 71-83.
- Sturtevant, A.M., 1929.: The claret mutant type of *Drosophila simulans*: A study of chromosomal elimination and cell lineage.
Z. Wiss. Zool. 135: 323-356.

- Suzuki, D.T., Piternick, Hayashi, Tarasoff, Baillie, Erasmus, 1967.: Temperature-sensitive mutations in *Drosophila melanogaster*: I. Relative frequencies among -ray and chemically induced sex-linked recessive lethals and semilethals
P.N.A.S. 57: 907-912.
- Szabad, J., 1978.: Quick preparation of *Drosophila* for microscopic analysis
D.I.S. 53: 215.
- Tissieres, A., Mitchell, H.K., Tracy, U.M. 1974.: Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*. Relation to chromosome puffs.
J. Mol. Biol. 84: 389.
- Turner, F. R., Machowald, A.P., 1976.: Scanning electron microscopy of *Drosophila* embryogenesis:
1. The structure of the egg envelopes and the formation of the cellular blastoderm
Dev. Biol. 50: 95-108.
- Ursprung, H., 1974.: Developmental genetics of *Drosophila*
Genetics 78: 373-382.
- Wieschaus, E., 1978.: Cell lineage relationships in the *Drosophila* embryo
In: Genetic Mosaics and Cell Differentiation
/Ed.: Gehring, W.J., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York.
- Wieschaus, E., Gehring, W., 1976.: Clonal analysis of primordial disc cells in the early embryo of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 50: 249-263.
- Wright, T.R.F., 1970.: The genetics of embryogenesis in *Drosophila*
Adv. Genet. 15: 261-395.



- Wyatt, G.R., 1972.: Insect hormones.
/Ed. Litwack, G., Biochemical actions of hormones/
Vol I. Acad. Press.
- Wyman, R. J., King, D.G., 1978.: On the dispersion of imaginal progenitor cells in the *Drosophila* blastoderm.
Genet. Res. 31: 273-286.
- Zdarek, J., Fraenkel, G., 1972.: The mechanism of puparium formation in flies
J. Exptl. Zool. 179: 315-324.
- Zhimulev, I.F., Belyaeva, E.S., 1977.: Variation of banding patten in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster* larvae.
Genetika 13: 1398-1408.
- Yund, M.A., Fristrom, J.W., 1975.: Uptake and binding of -ecdysone in imaginal discs of *Drosophila melanogaster*.
Dev. Biol. 43: 287-298.
- Yund, M.A., King, D. S., Fristrom, J.W., 1979.: Ecdysteroid receptor in imaginal discs of *Drosophila melanogaster*
P.N.A.S. 75: 6039-6043.