

ÜBER EINE HETEROCHROMATIN-MUTATION AUS EINER WILDPOPULATION VON *CHIRONOMUS NUDITARSIS*

I. ZUR FUNKTION DES VERÄNDERTEN GENOM-ABSCHNITTES

J. FISCHER* & H. TICHY

Zoologisches Institut der Universität, Sahlistrasse 8, CH-3012, Bern, Schweiz, und Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, B.R.D.

Eingegangen und angenommen am 20. Februar 1980

A mutant bearing on heterochromatin, recovered from a wild population of Chironomus nuditarsis I. Functional aspects of the altered genome segment

From a wild population of *Chironomus nuditarsis* a mutant has been isolated, in which the fourth, or G, chromosome at its distal end lacks the conspicuous Balbiani ring and instead presents a large compact chromatin mass. This mass, referred to as 'G-knob' (GK), is genetically inactive as judged by uridine incorporation. It is present also in the giant chromosomes of the rectum and of the Malpighian tubules, as well as in the salivary gland chromosomes of *nuditarsis* × *plumosus* hybrids.

Es wird über eine in einer Wildpopulation von *Chironomus nuditarsis* aufgetretene Heterochromatin-Mutation 'G-Knopf' (GK) berichtet. Ein Genom-Abschnitt, der in den Speicheldrüsen-Chromosomen normalerweise einen Balbianiring bildet, liegt bei der Mutante als grosse, kompakte Chromatinmasse vor. In dieser Form ist der Genom-Abschnitt genetisch inaktiv. Der GK bildet sich auch in den polytären Chromosomen des Rectums und der Malpighi-Gefässe aus, ebenso in den Speicheldrüsen des *nuditarsis-plumosus*-Artbastards.

Einleitung

1970 entdeckten wir in der *Chironomus nuditarsis*-Population des Wohlensees bei Bern eine merk-

*Korrespondenz an den ersten Autor erbeten.

würdige Mutation, die seither in der Wildpopulation nicht mehr aufgetreten ist, die jedoch in einer Zuchtlinie erhalten werden konnte. Es handelt sich um ein chromosomales Merkmal, das sich auf den Phänotyp nicht auswirkt. In Speicheldrüsen-Präparaten von *Chironomus nuditarsis* ist am distalen Ende des (telozentrischen) G-Chromosoms ein Balbianiring zu erkennen, der normalerweise homozygot ausgebildet ist; die homologen Chromosomen sind in diesem Fall meistens bis ans Ende gepaart. Bei den Trägern der Mutation dagegen ist am Ende des G-Chromosoms regelmässig eine Paarungslücke festzustellen. Das eine der somit einzeln erkennbaren Homologen zeigt den Balbianiring, das andere dagegen eine im optischen Schnitt meistens elliptische, kompakte Chromatinmasse. Da das G-Chromosom dadurch einen Endknopf erhält, wurde die Mutation mit 'G-Knopf' (GK) bezeichnet (Abb. 1).

Der GK, bei dem es sich also um einen aberranten Balbianiring zu handeln scheint, ist bisher nur heterozygot und nur bei Männchen aufgetreten. Bei diesen handelt es sich um 'M₂-Männchen' (vgl. Rosin & Fischer, 1972); zwischen dem männlichkeitsbestimmenden Faktor M₂ und dem GK wurde bei über 700 geprüften Fällen keine Rekombination festgestellt. Der GK konnte deshalb bisher nicht homozygot dargestellt werden; die Frage, ob Homozygote überhaupt lebensfähig wären, bleibt also noch offen.

Es stellt sich nun die Frage, inwiefern der Genom-Abschnitt, der im Normalfall in den Balbianiring einbezogen ist, bei der GK-Mutation abgeändert wurde. Die Funktion des Balbianirings ist zwar noch nicht bekannt. Man kann jedoch zunächst die Frage prüfen, ob die kompakte DNS-Masse des GK (vgl. Pulver &

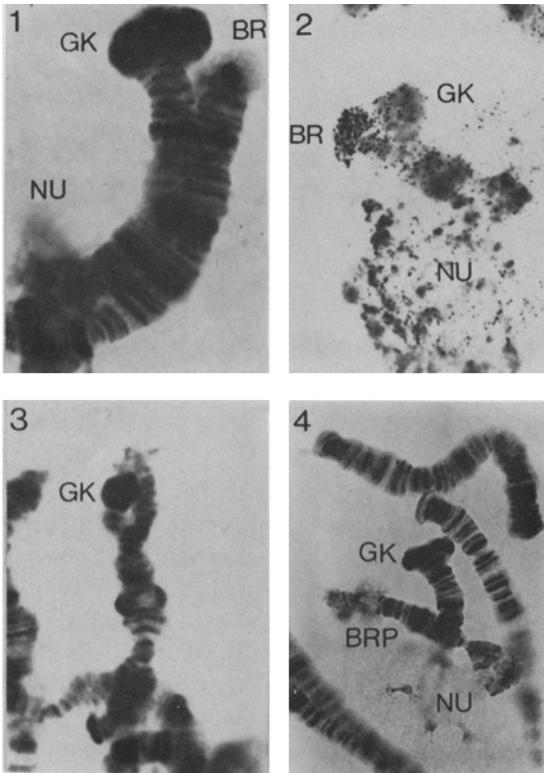


Abb. 1-3. G-Chromosom mit GK von *Chironomus nuditaris* (GK = G-Knopf, BR = Balbianiring, NU = Nucleolus): (1) Speicheldrüsenpräparat, Orceinfärbung. Aufnahme S. Rosin; – (2) Speicheldrüse, Autoradiographie. Präparat J. Heidecker; – (3) Malpighigefäße einer Puppe. Abb. 4. Ausbildung des GK im *nuditaris-plumosus*-Artbastard (Speicheldrüse). BRP = subterminal gelegener BR des *plumosus*-Chromosoms.

Fischer, 1980) überhaupt genetisch aktiv ist, und man kann die festgestellte Aktivität mit jener des Balbianirings vergleichen.

Autoradiographie

Es wurden Larven des 4. Stadiums untersucht. Die Speicheldrüsen wurden unverletzt freipräpariert und sofort in das Inkubationsmedium übertragen, wo sie während 15 bis 20 Minuten verblieben. *Tracer*: Uridine-5- H^3 , TRK 178, The Radiochemical Center, Amersham. Spezifische Aktivität: 25 Ci/m mol. *Medium*: Die beiden Drüsen einer Larve wurden in 1 μ l Lösung inkubiert. Herstellung der Lösung: 1 μ l Uridin-Lösung (Aktivität 1 μ Ci) wurde bei 35°C einge-

trocknet, dann der Rückstand in 1 μ l CR-Medium nach Robert aufgenommen (Robert 1971). Konzentration des Inkubationsmediums also wiederum 1 μ Ci/ μ l. *Fixierung*: Alkohol-Eisessig 3 : 1. *Film*: Kodak AR 10. *Expositionszeit*: 4 bis 6 Tage. *Entwickler*: Kodak D-19.

Resultat

Aus Abbildung 2 geht hervor, dass der Balbianiring viel Uridin eingebaut hat. Im Gegensatz dazu liegt die Einbaurate des GK, wenn überhaupt, nur unwesentlich über jener der am schwächsten markierten Chromosomenbereiche. Die kompakte Chromatin-Masse des GK ist also genetisch kaum oder überhaupt nicht aktiv.

Diskussion

Die programmierte Inaktivierung von Genen, Genkomplexen, Chromosomen oder ganzen Genomen ist ein bekanntes Phänomen. Wenn jedoch eine Mutation zur Inaktivierung eines Genomabschnittes führt, dürfte dies im allgemeinen im heterozygoten Zustand nachteilig und im homozygoten Zustand letal sein. Die (heterozygoten) GK-Männchen sind jedoch bezüglich Vitalität und Fertilität offenbar normal; die Weiterzucht der GK-Linie hat jedenfalls bisher keine Schwierigkeiten bereitet (Zuchtmethode: Fischer 1969). Bezüglich der Funktion des fraglichen Genom-Abschnittes sind deshalb zwei Möglichkeiten gegeben: (1) Bei den GK-Individuen fällt nur ungefähr die Hälfte des Genproduktes an, aber dieser Mangel wirkt sich kaum nachteilig aus (relativ unwichtiges Genprodukt); (2) Es entsteht kaum ein Mangel, weil der Balbianiring über eine beträchtliche Leistungsreserve verfügt; Rückkoppelungs-Mechanismen, die normalerweise die Leistung drosseln, könnten bei den GK-Individuen eine wesentliche Produktionssteigerung des nur heterozygot ausgebildeten Balbianirings bewirken. Welche der beiden Möglichkeiten zutrifft, kann vorderhand nicht entschieden werden.

Der GK dürfte viel mehr DNS enthalten als der fragliche Genom-Abschnitt im Normalzustand. Ob man diese Erscheinung als Fall von Gen-Amplifikation bezeichnen kann, hängt davon ab, ob mit diesem Begriff lediglich eine vergrößerte DNS-Menge gemeint

ist, oder ob der Begriff zudem eine gesteigerte Transkriptions-Aktivität beinhalten soll. Bei den zumeist genannten Beispielen von Amplifikation, insbesondere im Falle der Nucleolus-Organisatoren, fallen Extra-Replikation und gesteigerte Leistung zusammen (z.B. Nagl, 1972). Das Gleiche scheint auch für die bei den *Sciariden* beschriebenen 'DNS-puffs' zuzutreffen (Crouse, 1968; Crouse & Keyl, 1968). Im Gegensatz dazu ist beim GK die Erhöhung der DNS-Menge mit einem Leistungs-Ausfall verbunden. Der fragliche Genom-Abschnitt liegt also offenbar in heterochromatischem Zustand vor.

Polytäne Chromosomen sind bei *Chironomus* nicht auf die Speicheldrüsen beschränkt, sondern kommen auch in den Malpighi-Gefässen und im Rectum vor. Da die letztgenannten Organe, im Gegensatz zu den Speicheldrüsen, die Metamorphose überdauern, können Riesenchromosomen hier auch an Puppen und Imagines studiert werden. Es ist nun bemerkenswert, dass es auch in diesen Organen zur Ausbildung des GK kommt (Abb. 3). Es scheint sich beim GK also nicht um einen Fall von gestörter Gen-Expression zu handeln, bei dem die Störung lediglich in einem bestimmten Gewebe im Zuge der Zell-Differenzierung auftreten würde, sondern um eine Veränderung der primären Gen-Struktur, die bei allen Zellteilungen weitergegeben wird und demzufolge in allen Geweben vorhanden sein dürfte. Für diese Vermutung spricht zudem der Befund, dass sich der GK auch im *nuditarsis-plumosus*-Artbastard ausbildet (Abb. 4). Das *plumosus*-G-Chromosom zeigt übrigens keinen terminalen, sondern einen subterminalen Balbianiring. Ob dieser in funktioneller Hinsicht dem endständigen *nuditarsis*-Balbianiring entspricht, ist noch nicht bekannt.

Bei der Interpretation des Phänomens GK muss schliesslich auch noch die Möglichkeit im Auge behalten werden, dass der Genom-Abschnitt, der normalerweise den BR bildet, durch ein Translokations-Ereignis entfernt und durch einen heterochromatischen Bereich ersetzt worden sein könnte. Der BR konnte allerdings an keiner anderen Stelle des Genoms wiedergefunden werden. Man müsste also entweder eine nicht-reziproke Translokation annehmen, oder aber postulieren, dass der fragliche Genom-Abschnitt unter ein anderes Kontroll-System geraten wäre, das die Ausbildung des BR unterdrückt. Ähnliches (aber mit umgekehrtem Vorzeichen) müsste man für den GK annehmen: Da dieses Gebilde bisher

nicht bekannt war, müsste man postulieren, dass der translozierte Abschnitt, der normalerweise nicht repliziert (und damit der Beobachtung entzogen ist), in der neuen Umgebung einem anderen Kontrollsystem unterstellt worden wäre und nun intensiv repliziert.

Wir möchten Frau Sabina Liechti für ihre Mitarbeit herzlich danken. Die Arbeit entstand mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Gesuch Nr. 3.027.76.

Literatur

- Crouse, H.V. (1968). The rôle of ecdysone in DNA-puff formation and DNA synthesis in the polytene chromosomes of *Sciara coprophila*. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 61: 971-978.
- Crouse, H.V. & H.G. Keyl (1968). Extra replications in the 'DNA-puffs' of *Sciara coprophila*. *Chromosoma* 25: 357-364.
- Fischer, J. (1969). Zur Fortpflanzungsbiologie von *Chironomus nuditaris*. *Rev. suisse Zool.* 76: 23-55.
- Nagl, W. (1972). *Chromosomen*. Wilhelm Goldmann Verlag, München.
- Pulver, U. & J. Fischer (1980). Über eine Heterochromatin-Mutation aus einer Wildpopulation von *Chironomus nuditaris*. II. Zum Replikationsverhalten des veränderten Genom-Abschnittes. *Genetica* 54: 87-90.
- Robert, M. (1971). Einfluss von Ionenstärke und pH auf die differentielle Dekondensation der Nukleoproteide isolierter Speicheldrüsen-Zellkerne und -Chromosomen von *Chironomus thummi*. *Chromosoma* 36: 1-13.
- Rosin, S. & J. Fischer (1972). Polymorphismus des Realisators für männliches Geschlecht bei *Chironomus*. *Rev. suisse Zool.* 79: 119-141.