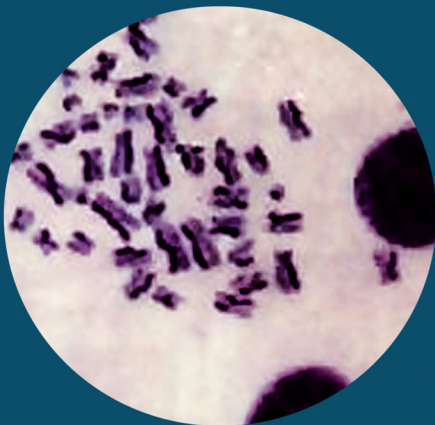


# a kro mo szó ma

Imreh Sz. István



Kriterion

A SOROZATOT SZERKESZT I  
ÁGOSTON HUGÓ  
MOLNÁR GUSZTÁV  
SZABÓ ATTILA  
TORÓ TIBOR



IMREH SZ. ISTVÁN

A KROMOSZÓMA



KRITERION KÖNYVKIADÓ  
BUKAREST 1986

## ELŐSZÓ

Ez a könyv századunk fontos tudományterületét — az *örökletes üzenet* (genetikai információ) sejten belüli szerveződésére vonatkozó tudást — tekinti át. Műfajilag egyrészt magas szintű szakmai kézikönyv, másrészt élvezetes tudományos esszé; az élet iránt érdeklődő olvasók, diákok, tanárok, mezőgazdászok és főképpen biológusok, orvosok örökléstani gondolkodását formáló kitekintés.

A történet főhőseit — a *kromoszómát* — másfél évszázaddal ezelőtt pillantotta meg először az emberi szem. Nálunk a századforduló táján, Gelei József munkássága révén került rövid időre eredményes kutatói érdeklődés középpontjába. A fonalcsomóba zárt üzenet nyelvét, a genetikai program kódrendszerét három évtizede ismerjük. A programok kromoszómaszinten megvalósuló összeépülését, az önszervezés (egyedfejlődés) és önpusztítás (öregedés, rák) vezérlését végző lágy szerkezetek felépítését és működését viszont részleteiben ma sem ismerjük, értjük, uraljuk. Olyasféle gát áll itt a haladás útjában, mint amilyennek annak idején Watson, Crick és munkatársaik fellepte előtt ütközött a gondolkodás. A gátnak az áttörése a továbbhaladás egyik feltétele; ezt kívánja segíteni a szerző, amikor egy mesterművű rézkarc hűségével, lendületességével és általánosító erejével rajzolja elénk a kromoszómakutatás történetét és mai állását.

Mindig *első kézből* adja az új tudást: vagy maga küzdött meg érte kemény laboratóriumi munkával, vagy olyanokra hivatkozik, akik hasonlóképpen a megismerés élcsapatában harcolnak. A kézikönyvek kialakult gyakorlatától eltérően a kötet (fény)képanyaga is egységes. A növényi citogenetikától az emberi kariotípusig, a mikronukleuszoktól a sejtmaganyag rákos folyamatokban észlelhető elváltozásaiig kivétel nélkül eredeti készítményekről felvett saját mikroszkópi fényképeket láthatunk. Egy jéghegy csúcsát, melynek alapjainál sokezernyi készítmény, fénykép és vizsgálat húzódik meg — láthatatlanul.

Imreh Sz. István szakterületéhez szigorúan ragaszkodó kutató. Egy szóval sem utal azokra a lehetséges párhuzamokra, hasonlóságokra és különbségekre, amelyek a biológiai és (a napjainkban oly divatos) elektronikus információátvitel és

-feldolgozás összehasonlítása során kínálkoznak, bár tudva tudja, hogy a kromoszómák programcsomagjai számtalan egyedi csodát — Ádámot vagy Évát, algát vagy mammutfenyőt — képesek szervezni az élettelen anyagból. Ennek ellenére — vagy talán éppen ezért — a fejezetek tényanyagán át egyenes út vezet egy új életérzés kialakulása felé: a szellemi törzsfejlődés emelkedő csigavonalában ma már nemcsak az anyag és az energia, de az információ szintjén is összefonódik az előre és az élettelenre vonatkozó tudás.

A *kromoszómák* könyve, új vonulat csírájaként, ennek az ismeretlen felé törő, egy-egy hagyományos tudományág kereteit ékként feszítő tudásnak az erejét és értékét hivatott bizonyítani.

1985. XI. 25.

Szabó Attila

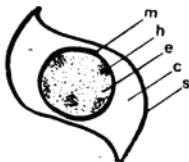
## 1. MAG A SEJT BEN

### LUCIFER:

Hiú ember, s mert korlátolt szemed  
Zilált csoportot lát csak odalent,  
Már azt hiszed, nincs összeműködés,  
Nincs rendszer az életnek műhelyében?

(Madách: Az ember tragédiája.  
Londoni szíj)

Hártya által határolt mikroszkopikus kamra, benne a metabolizmus boszorkánykonyhája: a sejt. Önálló életre képes (amőba), összeáll néhány társával (moszat), több billió csatlakozik (ember). Biológus szemmel nem lényeges a különbség köztük. Hogy mégis két külön világra oszlanak, azt csak egyetlen, a kamrán-sejten belüli tényező határozza meg: a sejtmag léte vagy hiánya. Ha még nem különült el a sejtmag, *prokariótáról* (vírus, baktérium vagy kékmoszat), ha elkülö-



1. ábra. A sejt vázlatos ábrázolása. s: sejthártya, m: sejtmag, c: citoplazma, h: heterokromatin, e: eukromatin

nült, *eukariótáról* beszélünk. Minden eukarióta külön sejtszervecskébe, a maghártyával elkülönített sejtmagba tömöríti örökletes anyagát, mely a sejtosztódás során *kromoszómákba* szerveződik.

A kaliforniai William Schopf és az ausztráliai Dorothy Z. Oehler (1976) prekambriumból származó üledékben eukarióta algák mikrokövéleteire bukkant. Adataik szerint a sejtmaggal rendelkező szervezetek már komoly változatosságot értek el  $850 \pm 100$  millió évvel ezelőtt. Feltehető, hogy az

első eukarióták körülbelül  $1400 \pm 100$  millió évvel ezelőtt jelentek meg.

Az eukarióta életrend egy lényeges szervezési újítást vezetett be a prokariótához képest: elválasztotta a transzkripciót (a genetikai kód DNS-ről RNS-re való átírását) a transzlációtól (a fehérjeszintézistől). Míg a prokariótákban a transzkripció és a transzláció egy helyen és szinte egy időben folyik, az eukariótákban a sejtmag fala szorítja „fal” a két folyamat között. Ezért volt igen jelentős evolúciós pillanat a sejtmag megjelenése.

### 1.1. SEJTMAGANYAG

*Kromatin*nak nevezte el W. Flemming (1882) a sejtmag jól festődő állományát. Ez — ma így tudjuk — dezoxiribonukleinsav (DNS), ribonukleinsav (RNS), hiszton típusú fehérjék és nem hiszton típusú fehérjék (ez utóbbiak gyűjtőneve: herton) elegye. A sejtosztódás során látszólag a teljes maganyag kromoszómákká kondenzálódik, ezért természetesnek tartották, hogy a kromoszómák vegyi összetétele azonos a sejtmaganyagával. Bár ez csak részben van így, gyakran nevezik kromatinnak a kromoszóma anyagát is. Talán helyesebb (Huberman 1973), ha a kromatin kifejezést csak a nem osztódó sejt maganyagára alkalmazzuk.

A kromatin, a sejtmag az öröklési anyag hordozója, mégsem a DNS van túlsúlyban benne. Meglepődtem Bostock és Sumner (1978) táblázatát először nézve: négy szerző négy vizsgálatát összegzi, és a tengeri sünn, a patkány, a borsó és az ember sejtmagvainak vegyi elemzését adja közre. Ha a sejtmag DNS-tartalmát egységnyinek vesszük, a következő kép tárul elénk:

$$\text{DNS} = 1$$

$$\text{hiszton} = 1,02$$

$$\text{herton} = 0,48$$

$$\text{RNS} = 0,06$$

Látható, hogy összesen másfélszer annyi fehérje (hiszton és herton) van a sejtmagban, mint DNS, de a hiszton és DNS mennyisége gyakorlatilag megegyező. Mire jó ez a sok hiszton, hiszen csak a DNS kódolja az örökletes információt? —

kérdezi a mai, a centrális dogma bűvkörében felnőtt olvasó. Egészen az ötvenes évekig a biológusok nagy többsége a fehérjékben látta az örökletes anyagot, a gén anyagát. Ez teljesen érthető, hiszen a fehérjék 20 aminosav igen változatos polimerjei, míg a nukleinsavakat hosszú ideig igen egyszerű és nem is túl nagy molekulának tartották, melyben egy cukorfoszfát gerincen négy nukleotida (két-két purin és pirimidin) igen unalmasan ismétlődik. Ez volt az ún. tetranukleotidhipotézis. Amikor Griffith, majd Avery, McLeod és McCarty híres kísérletei bebizonyították, hogy a DNS a genetikai anyag, a magfehérjék szerepe még rejtélyesebbnek tűnt.

A nukleinsavakról, a genetikai kódról az e könyvet forgatók feltehetőleg sokat tudnak, el kell mondanom viszont néhány dolgot a sejtmag fehérjeiről.

### 1.1.1. Magfehérjék

A magfehérjék kétharmada hiszton típusú. Ha az élővilág egységének egyik döntő bizonyítéka, hogy a bacillus és az ember örökletes jegyeit nukleinsavak bázishármasai kódolják, az eukarióta élőlények egységét mi sem bizonyítja jobban, mint az, hogy majd mindegyik sejtmagban ugyanazokat a hisztonmolekulákat találjuk. Csak néhány gombáról és páncélos ostorosról (dinoflagellata) tudjuk, hogy bár eukarióta, mégsem tartalmaz hiszton. És persze ne feledjem a nagy kivételt, a spermatozoidát, melyben a csírasejtképzés során a hiszton egy másik fehérjecsoport, a protamin váltja fel. A protaminokat különben ugyanaz a Miescher fedezte fel a pisztráng spermájában, mint aki a nukleinsavakat.

A hiszton típusú fehérjéket a biokémikusok négy vagy öt csoportra szokták osztani. A rendszerezés alapja a molekulásúlyon kívül az, hogy egy-egy aminosavból viszonylagosan többet vagy kevesebbet tartalmaznak. Ezt az angol terminológia a megfelelő aminosavban gazdagnak, „rich”-nek nevezi. Eszerint lizin-gazdag a  $H_1$  hiszton, de lizinben viszonylag szegény a  $H_2$ -es. Ez utóbbinak két altípusa ismert: a  $H_{2A}$ , mely szerinben és a  $H_{2B}$ , mely leucinban gazdag. A két utolsó hiszton argininből tartalmaz többet, de a  $H_3$  ugyanakkor glutaminban, a  $H_4$  argininban is gazdag. Molekulanagyság tekintetében a 4-es hiszton vezet, és visszafelé az egyesig mind könnyebbek a hisztonfrakciók. Los Angelesben fedezték fel, hogy a hisztonok az évmilliók során szinte semmit sem változtak,

elképesztően „konzervatívak“. Feltűnt az is, hogy a  $H_2A$ ,  $H_2B$ ,  $H_3$  és  $H_4$  molekulák száma majd minden eukariótában azonos. Azt is tudjuk, hogy ezek bármelyikének kb. 25 nukleotidpár hosszúságú DNS-szakasz felel meg a sejtmagban. A felsorolt hiszton típusok tehát „kötelező“ kísérői a DNS-nek.

A nem hiszton típusú fehérjék (a herton) kevésbé érdekelnék minket, hiszen a kromoszómaszerkezetben, mint később látni fogjuk, szerepük csekély. Meg kell említenem viszont, hogy az utóbbi években a sejtmagban a hisztonok és DNS eltávolítása után egy igen érdekes struktúra bukkant elő mind a vegyi, mind az elektronmikroszkópos vizsgálatok során. A herton felépítésű sejtmagvázról igen keveset tudunk; ezt jól érzékelteti a Paul Agutter és Jonathan Richardson (1980), a skóciai Napier College kutatói által javasolt elnevezés: „nuclear ghost“ (sejtmagszellem).

### 1.1.2. Rögök a sejtmagban

A fentebb felsorolt vegyi összetevők természetesen nem alkotnak homogén keveréket a sejtmagban. A fénymikroszkóp kétezerszeresen nagyít, feloldóképességének határa kb. 0,2 mikrométer. Már kisebb nagyítás is elárulja azonban, hogy a kromatin nem egynemű, sötétebbre és világosabbra festődő rögöket tartalmaz. Az első bizonyosan DNS-t festő eljárás, a Feulgen—Rosenbeck-féle azt is nyilvánvalóvá tette, hogy a sejtmag festődésembeli heterogenitását (heteropiknózisát) a DNS tömörebb vagy lazább elhelyezkedése okozza. Ma már több olyan anyag áll rendelkezésünkre, amelyek a DNS-hez specifikusan kötődnek (pl. akridinfestékek) és ultraibolya fénnel megvilágítva felragyognak, fluoreszkálnak. E képességüket kihasználva a fluoreszcens mikroszkóp és a hozzácsatolt spektrofлуoriméter segítségével mérni is tudjuk a kondenzáltabb és dekonzenzáltabb maganyag DNS-mennyiségét (lásd 7.3. fejezet). A sötétebbre festődő (pozitív heteropiknózist mutató) részeket heterokromatinnak, a világosabbra festődő (negatív heteropiknózisú) területeket eukromatinnak nevezzük (Heitz, 1920) (lásd részletesen a 6. fejezetben).

A genetika utóbbi évtizedeiben egyhangúan elfogadottá vált, hogy a heterokromatin inaktív génanyagot tartalmaz. El kell fogadnunk azt is, hogy a génaktivitás csak a DNS erősen fellazult, dekonzenzált állapotában lehetséges. Nemcsak a lo-

gika szól emellett, hanem az összes eddigi elektronmikroszkópos vagy mikroautoradiográfiás felvétel is. Ez utóbbi lehetővé teszi az aktivitás során beépült radioaktív izotópok kimutatását. Említhetem az óriáskromoszómát, a legyek, muslicák, szünyogok egyes szöveteiben állandóan kondenzált állapotban levő kromoszómaköteget. Az óriáskromoszómán a transzkripció — DNS-információ átírása RNS-re, tehát kromoszómaaktivitás — során ún. „puff”-ok jelennek meg, helyileg fellazítva a kromoszómafonalakat és kiszélesedett, világosra festődő gyűrűt alkotva. Végül még egy, talán döntő érv a heterokromatin genetikai inaktivitása mellett. Tudjuk, az emlősök hímjei XY, nőtényei XX ivari kromoszómapárt hordoznak. Az X általában nagyobb, mint az Y-kromoszóma, így a nőtény több aktív gént hordozna két X-kromoszómájában, mint a hím az XY-jában. A génmennyiség egyensúlya Mary Lyon hipotézise szerint úgy tartható fenn, hogy a hím egyetlen X-éhez képest fölös számú kromoszóma inaktíválódik. Nos ez az inaktív X-kromoszóma a sejtosztódás közötti időszakokban kondenzált, heterokromatikus marad. Ez a női nemi kromatin (Barr-testecske), mely egyszerű genetikai ivarmeghatározást tesz lehetővé nem osztódó sejtekből is (nyálkahártya, hajhagyma, magzatvíz stb.) (lásd 6.3. fejezet).

A látszólag nyugvó sejtmagban a többi kromoszóma sem szintetizálja folyamatosan DNS-ét vagy írja át RNS-re. E két funkció feltételez egy igen könnyed mechanizmust, mellyel az éppen aktív szakaszok dekondenzálódnak, az inaktívak újból kondenzálódnak. Miért látjuk ezt problematikusnak? Hiszen minden biológiai tudásunk azt mutatja, hogy az élő szervezet lefegyverző egyszerűséggel oldja meg alapvető feladatait; éppen ez teszi-tette lehetővé az evolúciót. Nos, azért probléma, mert a sejtmagban igen kevés a hely. A két századmilliméternyi átmérőjű emberi sejtmag kb. 2 m (igen, két méter!) hosszú kettős DNS-spirált tartalmaz, annyi darabra osztva, ahány kromoszóma van a sejtben. Ilyen hosszú DNS elhelyezkedésére és könnyed, gyors működésére kell a szerkezetnek és funkciónak megfelelő magyarázatot találni. Az utóbbi időben felsejlik a helyes válasz a nukleoszóma-elmélet kialakulásával. Ennek történetét próbálom meg a továbbiakban felvázolni Kornberg és Klug (1981) alapján.



## 1.2. A NUKLEOSZÓMA — „SZTORI”

A módszerek forradalma a biológiában is forradalmi felfedezésekhez vezet. Már közhelyszámba menő igazság ez, de így történt a nukleoszóma felfedezése során is. A röntgendiffrakció és neutronszóródás, a gélelektroforézis és -szűrés, a nukleáris mágneses rezonancia és elektronspin-rezonancia, az elektronmikroszkópia és az elektronmikroszkópos autoradiográfia szekundáltak az ebben a felsorolásban már klasszikus egyszerűségűnek tekinthető fény- és fluoreszcens mikroszkópiának.

### 1.2.1. A röntgendiffrakció

Jelentette az első lépést és talán a leghatározottabbat a modern kromatinvizsgálatban. Ez a módszer a röntgenspektroszkópia alapján fejlődött ki, amelyet Max és Laue (1914-es Nobel-díjas) és a két Bragg (William Henry és William Lawrence, apa és fia, 1915-ös Nobel-díjasok) felfedezésének tekinthetünk. Az élettelen anyag kristályait vizsgáló röntgenspektroszkópia után a röntgendiffrakció már szerves molekulákat is elemez, ismétlődő szerkezeti elemek kimutatására kiváló. E módszernek döntő szerepe volt az ötvenes években a DNS szerkezetének megfejtésében. A londoni King's College-ban Maurice Wilkins és Rosalind Franklin, a Lawrence Bragg vezette cambridge-i Cavendish laboratóriumban a fiatal James Watson végezte a DNS-kristályok röntgenanalízisét. A kromatin elemzése néhány évtizeddel később szintén Cambridge—London versengetést váltott ki.

Cambridge-ben az utóbbi negyedszázadban az X-sugár-diffrakció analízisének központi alakja Aaron Klug fizikus, molekuláris biológus, aki a vírusok szerkezetének felderítésében alkotott maradandót. Később túlságosan indirektnek tartva a diffrakciós képet, összekapcsolta az elektronmikroszkópiával. Elsőként vezette be a képelemzésbe a számítógépet. 1982-ben a krisztallográfiás elektronmikroszkópia terén elért eredményeiért és a biológiailag fontos nukleinsav-fehérje komplexumok szerkezetének tisztázásáért a kémiai Nobel-díj kitüntette lett.

Londonban a kromatin szerkezetének röntgendiffrakciós elemzését Wilkins kezdeményezte, és Vittorio Luzattival (akkor angliai vendégkutató, jelenleg a párizsi Molekuláris Bio-

lógiai Központ munkatársa) a kromatinban ismétlődő szerkezetet ismertek fel. A röntgendiffrakciós képeken általában koncentrikusan elhelyezkedő sugárnyomokat lehetett felfedezni. Ezek és a kép középpontja közötti távolságból ki lehetett számítani az ismétlődő elemek közötti távolságot. Wilkins és Luzatti 10 nm-ként (100 Å) ismétlődő struktúrát fedeztek fel a kromatinban. Mit tartalmaz, hogyan néz ki ez az ismétlődő elem? Biokémikusok vették fel a kutatás fonalát. Tudjuk, hogy egyes enzimek emésztenek, darabolják a molekulákat. A patkány májsejtjeiből kivont nukleáz volt az az

### 1.2.2. enzimolló,

amely a sejtmag-DNS-t képes volt feldarabolni. Persze sejtették már abban az időben, hogy az enzimolló csak ott nyírja el a DNS-fonalat, ahol az hozzáférhető, ahol nem védik a fehérjék. Nos, amikor Dean R. Hewish és Leigh A. Burgoyne (1973) az ausztráliai Flinders Egyetemen patkánynukleázzal kezelték a kromatint, egymásnak egész számú többszörösét alkotó hosszúságú DNS-darabokat nyertek.

Hewish és Burgoyne cikkét az Eugene Garfield vezette Tudományos Információ Intézete (ISI: Institute of Scientific Information) szerint 1973—1982 között 655-ször idézte a csúcsszintű szakirodalom. A szerzők egyike (Hewish) így ír a dolgozat megjelenésének előzményeiről: „... izolált patkánysejtmagokat vizsgáltunk, in vitro rendszert keresve DNS-replikációhoz. A sejtmagpreparálás során kiderült, hogy a magok nagy mennyiségű dezoxiribonukleázt tartalmaznak, amely ... igen gyorsan megemésztette a sejtmag-DNS-t. Nyilván ezek a sejtmagok egyáltalán nem voltak alkalmasak a DNS-szintézis vizsgálatára, hiszen önpusztítást végeztek... Fogtam magam, és egy adag sejtmagot hagytam önemésztődni. Megtisztítottam a DNS-t és szétválasztottam a darabokat elektroforézissel, nagyságuk alapján. Az eredmények drámaiak voltak. Az emésztési idő függvényében egész sorozat finom fragmentum jött létre, azt jelezve, hogy az enzim csak bizonyos pontjain hatott a kromatinnak. Javasoltuk, hogy a magfehérjék felelősek ezért a szabályos szerkezetért — e feltételezésünk később helyesnek bizonyult. A nagyszámú idézés magyarázata nyilvánvaló. A módszer, amit bevezettünk, egyszerű is volt és hatásos is.“

Megjegyzendő tehát, hogy az enzimolló nem akárhol, hanem meghatározott távolságokon csattant. Ha ugyanannak a nukleáznak megtisztított DNS-t teszünk ki, egyenlőtlen hosszúságú DNS-darabokat kapunk. Nem a DNS-től függ tehát a darabolás helye. Ezt az első enzimollót a nukleoszóma-„szto-ri“-ban még továbbiak követték.

### 1.2.3. „Gélelfo“

a laborneve a gélelektroforézisnek. A gélek (pl. zselatin, agar-agar) olyan alaktartó kolloidok, melyekben a kolloid szemcsék rendkívül nagy felületet biztosítanak, így az adszorpció, adhézió, ioncsere stb. igen nagy hatásokkal megy végbe bennük. Az elektroforézis azt a lehetőséget használja fel, hogy egy oldat szerves részecskéi töltésükkel ellentétes elektród felé vándorolnak az elektromos erőterben. A gél pórusosságát és az elektroforézis vándoroltatási kényszerét összekapcsolva, a gélrétegen egész kis anyagmennyiség is alkotóira bontható, mert a kis molekulák gyorsabban haladnak a pórusok között, mint a nagyobbak, tehát azonos idő alatt messzebbre is. A „gélelfo“ lehetővé teszi mind a DNS-darabok nagyság szerinti elkülönítését, mind pedig az előzetesen leírt 5 hisztontípus elválasztását. Ne tévesszük össze viszont a gélelektroforézist a gél-szűréssel. A gél-szűrőoszlop gélrögöcskéket tartalmaz, és nem az elektromos erőter, hanem a gravitáció vándoroltatja a próbát. Fordított az eredmény is. Mivel a kis molekulák bejutnak a gélrögök pórusaiba, lassan haladnak az oszlopon, a nagy molekulák ellenben a rögök közein viszonylag gyorsan keresztüljutva elsőnek érkeznek.

A röntgendiffrakciós és enzimemésztéses adatok tehát 10 nm-ként ismétlődő szerkezetet és szabályos hosszúságú DNS-szakaszokat eredményeztek. E megfigyelések magyarázatára a két Nobel-díjas, Wilkins és Crick már 1971-ben megalkotják a szuperhélix elméleti modelljét.

### 1.2.4. A szuperhélix

modell feltételezi, hogy a DNS, mely maga is kettős spirál, pontosabban hélix, még újabb göngyölödést szenved, és 10 nm-ként ismétlődő gombolyagokat alkot. A szuperspirálosodás (supercoiling) fogalmát Jerome Vinograd vezette be 1965-ben

(Bauer, Crick és White 1980) a kaliforniai műegyetemen („Cal Tech“).

Francis Crick a tőle megszokott ötletességgel megfeszített és megcsavart gumiszalagok lazítás közbeni összesodródását fényképezi, így vizualizálva a szuperspirál lehetőségét. Ez a lehetőség azóta bizonyítást nyert bakteriális DNS-en. Eukarióta kromatinmodellként a szuperhélix gyengéje, hogy figyelmen kívül hagyja a hisztonok szerepét.

Roger D. Kornberg 1972-ben kapcsolódott be a cambridge-i munkába, Aaron Klug molekuláris biológiai laboratóriumában. R. D. Kornberg nem tévesztendő össze a Nobel-díjas Arthur Kornberggel, aki először szintetizált DNS-t in vitro. Nos Roger Kornberg megfordította a kísérletezés menetét. Ismerte már a kromatin röntgendiffrakciós képét, most megpróbált DNS-ből és magfehérjékből olyan keveréket alkotni, amely hasonló képet ad. Kezdetben nem járt sikerrel, valószínűleg azért, mert durva, kellőképpen nem tisztított hisztonpreparátumot használt. Deneys R. van der Westhuisen és Claus von Holt (Fokvárosi Egyetem) segítette ki a kísérleti mélypontról. Ők a gélszűrés módszerét tökéletesítették, jóval „tisztább“ hisztonokat nyerve, ráadásul „szelídebb“ módszerrel. Két csoportban érkeztek a hisztonfrakciók a szűrőoszlopokon. Egyik csoport a  $H_1$ ,  $H_3$  és  $H_4$ , a másik a  $H_2A$  és  $H_2B$  frakciókat tartalmazta. Többszöri próbálkozás után, amikor a  $H_1$ -et kihagyva a többi négy hisztont keverték a DNS-el, megkapták a természetes kromatin röntgendiffrakciós képét. Tőlük függetlenül több kutatonak is sikerült ugyanezt az eredményt elérni.

Gélszűréskor azt is megfigyelték, hogy a  $H_3$  és  $H_4$ , bár fele akkorák, azonos sebességgel szűrődnek, mint a  $H_1$ , tehát valószínűleg összekapcsolódva: *dimer*ként. Stanfordi és cambridge-i kutatók pedig rövid időn belül a *tetramer*:  $H_3-H_3-H_4-H_4$  létét is bizonyították. Mint már említettük, az eukariótákban a kromatin azonos számú molekulát tartalmaz minden hiszontípusból és egy-egy hisztonra kb. 25 nukleotidapárnyi hosszúságú DNS-szakasz esik. Ha létezik a  $H_3-H_3-H_4-H_4$  tetramer, mellette és vele szoros kapcsolatban léteznie kell négy molekula kettes hisztonfrakciónak is:  $2 \times H_2A$  és  $2 \times H_2B$ -nek. Így igen logikusnak tűnt egy hiszton *oktamer* léte.

### 1.2.5. Az oktamerre,

tehát nyolc hisztonmolekula együttesére pedig összesen egy 200 nukleotidapárt tartalmazó DNS-szakasz számítható. Hogyan gondolkodtak tovább Klug munkacsoportjában? Cambridge-ben voltak, és cambridge-i felfedezéséért nemcsak Watson és Crick kapott Nobel-díjat 1962-ben. Amikor ők az orvosi-életteni díj boldog tulajdonosai lettek, a kémiai Nobel-díjat Max F. Perutz és John C. Kendrew nyerték el, a hemoglobin és mioglobin háromdimenziós szerkezetének megfejtéséért. A hemoglobin pedig sok szempontból jó példa a hisztonkutatóknak is. Némileg hasonlóan a  $H_3$  és  $H_4$  tetramerhez, a hemoglobin is két aminosavlánc tetramerje. A hemoglobinkutatók megállapították, hogy ez a tetramer igen tömör képletté gomolyodik, majdnem gömbszerű. Egyszerűen elképzelhetetlen lenne egy akkora üreg léte, amelyben elférne a DNS-lánc. Klugék érezték, ha egyelőre bizonyítani nem is tudták: ha a nyolc hisztonmolekula csatlakozik, egy tömör rögöt fog alkotni, így a hozzákapcsolódó DNS-szál elhelyezése új megoldást kell találni. Szakítani kell azzal a szinte hit erejével gyökeret vert elképzeléssel, hogy a DNS-t körülveszi a hiszton, olyanszerűen, mint a villanydrótot a szigetelő műanyag burkolat. Úgy tűnik, le kell mondanunk erről a hasonlatról, melyet magam is többször leírtam.

A biológusok általában a vizuális embertípushoz tartoznak, csak akkor hisznek el valamit, ha látják is azt. Ezért az enzimemésztéses, gélelektroforézises, röntgendifrakciós stb. munka mellett igen komoly erőfeszítéseket tettek a kromatinszerkezet közvetlen vizsgálatára is elektronmikroszkóppal.

### 1.2.6. Az elektronmikroszkóp

két fajtáját alkalmazzák jelenleg. A transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM) tulajdonképpen hasonlít a fénymikroszkóphoz. Fénysugár helyett viszont elektronnyaláb, lencsék helyett elektromágnesek vagy elektrosztatikus tér segítségével alkot képet. A leglényegesebb és számunkra legfontosabb különbség viszont, hogy míg a fénymikroszkópban mikrométeres ( $\mu\text{m}$ ) nagyságrendű képleteket látunk, a TEM nagyítása ennek több mint ezerszerese is lehet, nanométerekben (nm) számolhatunk. Míg a fénymikroszkóp maximális feloldóképessége  $0,2 \mu\text{m}$ , a TEM-é  $0,2 \text{ nm}$ . A TEM alkalmazásának világhírű úttörői közé tartozik a román származású Nobel-díjas George Pallade

professzor is. A hatvanas években fejlesztették ki a pásztázó vagy eredeti angol elnevezéssel scanning elektronmikroszkópot (SEM). Szintén elektronsugárral működik, de ez a sugárralab egymást követő sorokban végigjárja, végigpásztázza, mintegy végigtapogatja a vizsgált anyag felületét. A képet a visszaverődött szekunder elektronok képezik. Nagyon éles, háromdimenziós hatást keltő képet alkot, de feloldóképessége elmarad a TEM-é mögött, 20 nm körüli.

A kromatin TEM-es vizsgálatában az Olins házaspár, Ada és Donald, a Tennessee állambeli Oak Ridge mammut kutatóintézetének munkatársai jártak az élen. Őket C.F.L. Woodcock professzor követte a Massachusetts Egyetemen, majd Pierre Chambon a strasbourgi Molekuláris Genetikai Laboratórium-ból és Jack D. Griffith (Stanford Egyetem) is bekapcsolódnak a kutatásba. TEM-mel eddig mindig fonalas szerkezeteket lehetett látni a sejtmagban. A módszerek csak a hetvenes évekre „szelődültek“, finomodtak annyira, hogy e fonalak szerkezetét részleteiben is vizsgálni lehessen. Olinsék 1974-ben közölték a Science-ben felfedezésüket: a kromatinfonalak szferikus alapelemből állnak, „nu“ testecskékből, melyek úgy helyezkednek el, mint egy zsinórra felfűzött gyöngysor.

### 1.2.7. A gyöngysor

részletesebb vizsgálatához most már össze kellett kapcsolni az eddig említett módszereket. Pierre Chambon és a cambridge-iek tették meg ezt. A közben felfedezett újabb enzimollóval, a *Micrococcus*-nukleázzal emésztett kromatinelemeket vizsgálták elektronmikroszkóppal. Egyedülálló, vagy hármási-



2. ábra. Az eredeti javaslat a 10 nm átmérőjű kromatinfonal szerkezetének ábrázolására. A hisztonoktamer „gyöngyök” mindenikéhez 200 nukleotida hosszúságú DNS-lánc kapcsolódik (Kornberg 1974 nyomán).

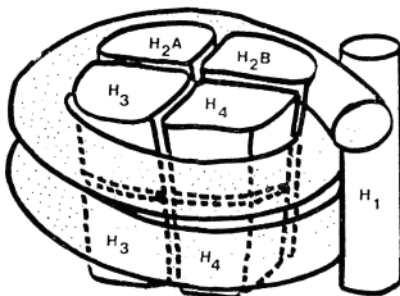
val négyesével összekapcsolt, 10 nm átmérőjű „gyöngyöket” figyelhettek meg, melyek a röntgendiffrakciós ismétlődő struktúra látható megfelelői. Ez a hiszton oktamerből és kb. 200 nukleotidapár hosszúságú DNS-ből álló „gyöngy” a kromatin alapeleme, amelyet ma Chambon elnevezését követve *nukleoszóma*ként ismerünk. A következő megoldandó feladat a

### 1.2.8. nukleoszóma finomszerkezetének

feltárása volt. Hogyan kapcsolódik össze a DNS és a hiszton oktamer, hogyan „szerelhető” össze nukleoszómvá? Kornberg és Klug (1981) epés megjegyzése szerint a kutatók „minden elképzelhető mechanizmust javasoltak — a helyes kivételével”.

A 10 nm-es nukleoszóma 200 nukleotidás DNS-t tartalmaz, ennek hossza kb. 70 nm, tehát a DNS valamilyen felgöngyölt állapotban kell hogy legyen. Nagyon szorosra sem lehet csavarni a DNS-t, hiszen — a vegyészek figyelmeztetnek — meglehetősen merev, könnyen törő molekula. Újabb enzimollót kellett keresni. Felhagytak a *Micrococcus-nukleáz*os emésztéssel, amely a gyöngyök között nyírja el a DNS-t, és áttértek a szarvasmarha hasnyálmirigy-dezoxiribonukleázra (DNáz I.), mely egyenletesen emésztí a DNS-t. Marcus Noll Cambridge-ben ezzel az enzimmal kb. 10 nukleotidás, kis egy-egységű DNS-darabokat különített el. Hogyan lehet ezt a méretet megmagyarázni? Feltételezték, hogy az enzim mindig csak egyik oldalához fér hozzá a DNS-nek, hiszen a kettős hélix éppen 10 nukleotidánként fordul át teljesen. Ebből viszont az következik, hogy a másik oldala hisztonvédelem alatt áll, és a DNS kívülről öleli át a hisztonrögöt, az oktamert. Most már bizonyított volt, hogy nem a hisztonok burkolják a DNS-t, hanem éppen fordítva, a DNS csavarodik a fehérjérögökre. Megváltozik Olinsék meghatározása is, hiszen nem zsinórra fűzött gyöngysorról (beads on a string), hanem gyöngyökre hurkolt zsinórról (string on beads) beszélhetünk. Ezt neutronszoródásos módszerrel bizonyítani is lehet. Pardon és Bradbury neutronszoródásos térképe szerint a DNS messzebb van a nukleoszóma középpontjától, mint a fehérje.

Most már szépen körvonalazódott a kromatin szerkezeti alapegységének, a nukleoszómanak a képe, csak „élesre kellett állítani”. Az eddigi eredményeket a nukleáris mágneses rezonancia (NMR) eredményeivel is kiegészítve, a következőképpen alakul a nukleoszóma szerkezetének képe (lásd Lil-



3. ábra. A nukleoszómagot a  $H_2A$ ,  $H_2B$ ,  $H_3$  és  $H_4$  hiszton két-két molekulájából álló oktamer alkotja. A magot két és félszer öleli át a DNS-lánc. A szerkezetet a  $H_1$  hiszton stabilizálja (Kornberg, Klug 1981 nyomán, módosítva).

ley, Pardon 1979, Hozier 1979, Bostock, Sumner 1981, és Kornberg, Klug 1981 összefoglaló munkáit).

A nukleoszóma egy *központi szemcséből* (core particle) és a szomszédos szemcséket összekötő, *kapcsoló DNS* (linker DNS) áll. Amint azt igen helyesen megsejtették a röntgendiffrakciós munka során, a központi szemcse hiszton oktamerje igen tömör. Alakja azonban inkább lapított hengerhez hasonlít, melynek magassága 5,5 nm, átmérője 11 nm. A henger lapjai nem párhuzamosak, hanem a boltív zárókövéhez hasonlóan (Kornberg és Klug hasonlata, 1981) egyik irányban összetartanak. A szemcse közepén mérsékelten befűzött, mintha a rátekeredő DNS szorongatná. E két DNS-ív majdnem az egész szemcséfelületet beborítja, hisz a dupla hélix átmérője 2 nm, így a szemcse összmagasságából (5,5 nm) 4 nm DNS-el fedett. Ahhoz, hogy a szuperhélix kétszer teljesen körülérje a szemcsét, 166 nukleotidpár hosszúságú DNS-re lenne szükség. Az enzimémlesztési kísérletek bebizonyították, hogy a központi szemcsére csak 146 nukleotidpár hosszúságú DNS csavarodik. Te-



hát a DNS csak 1 és 3/4-szer öleli körül a hisztionszemcsét. Az összekapcsoló DNS (linker DNS) hossza kb. 54 nukleotidpárnyi. Így kapjuk (146+54) a 8 hisztionmolekulára számítható 200 nukleotida hosszúságú DNS-t. Az oktamer molekuláinak térbeli elhelyezésekor viszont kevésbé magabiztosak a kutatók. A moszkvai Molekuláris Biológiai Intézetben Andrej D. Mirzabekov és munkatársai specifikus kötődési pontokat találtak a DNS-szuperhélixen mind a 4 hisztontípusnak. Adataik fényében a  $H_3-H_4-H_4-H_4$  tetramer, a szemcse középpontját foglalja el, míg alsó és felső lapját egy-egy  $H_2A-H_2B$  dimer alkotja. Mivel minden szemcse azonos méretű, igen jól kristályosítható. A Stanford Egyetemen Daniel Rhodes, Ray Brown és Barbara Rushton 7 állatfaj nukleoszóma-alapszemcséit kristályosította, megállapítva, hogy eredetüktől függetlenül azonos röntgendiffrakciós képet adnak. Igen szép példája ez az eukarióta genetikai anyag univerzális felépítésének!

Nemcsak szép, meggyőző is a kromatin általános nukleoszóma-szerkezetéről kialakult elmélet. Hogyan felel meg viszont a nukleoszóma-szerkezet a fejezet elején jelzett követelménynek, a gyors kondenzáció-dekondenzáció lehetőségének? Itt kell elővennünk az ötödik hisztontípust, amelyről — mivel kiderült róla, hogy a nukleoszóma felépítésében közvetlenül nem vesz részt — szinte meg is feledkeztünk:

### 1.2.9. a $H_1$ hisztion-t.

Már régóta gyanítható volt, hogy a  $H_1$ -nek fontos szerepe van a kromatinkondenzációban. A  $H_1$ -től megtisztított kromatin szabadon, laza szerkezetben mutatja a nukleoszómákat (Hozier 1979). Ezt a legnagyobb molekulásúlyú hisztontípust már egész jól ismerjük. Aminosavsorrendjét Bustin és Cole állapították meg, térbeli szerkezetét Hartman. Az „orr“- „fej“- és „farok“-részt el lehet egymástól választani és külön-külön elemezni. Az orr- és fejrész igen gyengén, a lizingazdag farokrész viszont igen erősen kötődik a DNS-hez.

Az elektronmikroszkóp a kromatinban legfennebb 10 nm-s fonalat tud kimutatni. Ez a régebben „100 Å-os alapfonal“-nak nevezett kromatinszál a nukleoszómák megismerése óta linker DNS-el összekötött laza szerkezetű nukleoszóma-gyöngysort jelent. Elektronmikroszkóppal sokkal könnyebben láthatóvá tehetők viszont 25–30 nm-es (250–300 Å-os) fonalak. Ezeket régebben „vastag fonál“-ként emlegették, és feltéte-

lezték, hogy két-három „alapfonál“ összefonódásából származnak. Jelenleg azt tartják, hogy a „vastag fonalat“ egyetlen nukleoszómasor alkotja, de szoros összekapcsoltságban, spirálszerkezetben, fordulatonként 6—8 nukleoszómával. Ezt a nukleoszómákból álló spirált Thoma és mtsai (1979) *szolenoid*nak nevezik. Alacsony sókoncentrációjú oldatban a nukleoszómák kiszabadulnak a szolenoidból és cikcakkos fonalat alkotnak. Azért cikcakkos a fonál, mert — mint fennebb említettem — a központi szemcse ugyanazon oldalán kapcsolódik mind a belépő, mind a kilépő linker DNS. Ezt az átmenetet alapfonálból szolenoidba valószínűleg a  $H_1$  hiszton teszi lehetővé. Úgy képzelhető el, mint egy molekuláris mágnes, mely egymáshoz közel „vonzza“ a nukleoszómákat, vastagabb fonalat kialakítva vagy pedig „vonzását“ felfüggesztve „szabadon engedi“ őket, lehetővé téve a valószínűleg már a génaktivitást, replikációt sem akadályozó dekonzenzált vékony fonalas kromatinállapotot.

## 2. A SEJT ÉLETCIKLUSA

Az evolúció során minden bizonnyal először az egysejtű élőlények jelentek meg. Az eltelt évmilliók aztán hiába hoztak létre sokszor elképesztő tökéletességgel alkalmazkodó soksejtűeket. Hiába van a több millió sejttel rendelkező emlősben a szigorúan csak egy feladatra specializálódott sejtek egész hadserege. Külön-külön vizsgálva, minden egyes sejtünk nagyon sokat őriz az egysejtűség magányos múltjából. Azonos felépítésük általános terve és azonos lényegében szaporodásuk is. A sejt sejtből, osztódással jön létre, és bizonyos határig növekszik, majd újraosztódik. Ennek az osztódáslavinának köszönhetjük, hogy egyetlen zigótából kifejlődhet a felnőtt ember  $10^{14}$  sejtje. A sejtosztódás gyűjtőszinórja a legvalószínűbb elképzelés szerint a sejt növekedése. Hartman klasszikus kísérletét szoktuk említeni, aki az amőba citoplazmájának ismételt amputálásával elejét tudta venni az osztódásnak. A többsejtű szervezetben a sejt előtt két lehetőség áll, vagy folytatja az állandó osztódásokat, vagy pedig specializálódik. Az osztódó sejtek viszont igen pontosan, faj- és sejtípus-specifi-

kusan betartják az egymást követő osztódási és nyugvó szakaszok időbeni menetrendjét.

A két sejtosztódás között eltelt időt *sejtciklus*nak nevezzük. A szervezeten kívül tenyésztett sejtek stabilizált törzseire igen jellemző és megfelelő *körülmények* között percnyi pontossággal ismétlődő mind a *sejtciklus* időtartama, mind pedig egyes szakaszainak időbeni hossza. Bár a specializált sejtek általában nem osztódnak, és így mintegy sejtcikluson kívülre kerülnek, különleges esetekben (regenerálódás, hegesedés, rákos transzformáció) újból sejtciklusba lépve, visszaalakulhatnak osztódó szöveté.

Osztódó sejteket megfigyelve, kialakult egy olyan vélemény, hogy e sejtek élete két szakaszban zajlik: egy dinamikus szakaszban (*osztódás*) és egy látszólag passzív, nyugvó szakaszban (*interfázis*). Ez a felosztás máig használatos, bár nem tükrözi mindenben a valóságot. A sejt igazán éppen a nyugvó szakaszban, az interfázisban aktív genetikailag és élettanilag, az osztódás során látványosan mozgalmas életet él ugyan, de genetikai aktivitása nulla.

A genetika történetében hamarabb tisztázták az osztódás részleteit, az interfázisba csak az atomkorban tudtunk bepillantani sugárzó izotópok segítségével. A logika mégis az interfázis ismertetését követeli először.

## 2.1. MIKROAUTORADIOGRÁFIA

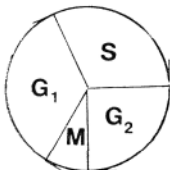
Hevesy György 1923-ban elsőként alkalmazta a radioaktív izotópokat az életfolyamatok nyomon követésére. Érdemeiért 1932-ben Nobel-díjat kapott.

A *radioaktív izotóp* spontán átalakulása egy újabb izotóppá energia- és anyagfelszabadulással jár, melyet ionizáló sugárzás formájában ad le környezetének. Ezért radioaktív, sugárzó elem.

Az orvosi röntgenvizsgálat mesterségesen előállított ionizáló sugárzást használ. Az X-sugárral (röntgensugárral) kívülről „világítjuk át” a szervezetet és a szervek különböző sugárelnyelő képességének köszönhetően megjelenik lumineszcens ernyőn, újabban tévémonitoron a röntgenkép. Ez a *radioszkópia*. Ha az ernyő helyett filmlemez található, a szervezet sugárelnyelőképességét ábrázoló röntgenkép, *radiográfia* jön létre.

Hogyha viszont sugárzó izotópok formájában maga a szervezet tartalmazza a radioaktív sugárforrást, a fölé helyezett röntgenfilmet ez a belső sugárzás exponálja, ezért az eljárást *autoradiográfiának* nevezzük. A sugárzó izotópok óriási előnye, hogy autoradiográfias módszerekkel igen kis mennyiségben is kimutathatók. Így az egyes sejtszervekbe, a sejtmagba, a kromoszómába beépült izotópok sugárzása is megjeleníthető a filmen, persze csak igen nagy nagyításban, mikroszkóp vagy elektronmikroszkóp alatt. Ez az eljárás a *mikroautoradiográfia*. A mikroautoradiográfiában a sugárzó izotópoknak általában a béta-sugárzását hasznosítjuk. A  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$  vagy  $^{35}\text{S}$  a szervezetben mindenütt jelenlévő elemek izotópjai, így könnyen jelölhető velük bármely szövet- vagy sejtszerv-specifikus vegyület. A fénymikroszkópos mikroautoradiográfia legtöbbször  $^3\text{H}$ -val (trícium) jelzett molekulákat alkalmaz. A hidrogénizotóp béta-részecskéinek áthatolóképessége igen kicsiny,  $0,8\ \mu\text{m}$  alatti, így a szövet metszete fölé helyezett filmréteg első ezüstbromid kristályaiból váltanak ki látható ezüströgzőcskéket. Az ezüströgzőcske fekete pontként fedi az alatta levő részt, tehát pontos információt ad beépülésének helyéről.

A mikroautoradiográfiában a szövetmetszetre vagy sejtpreparátumra rétegezett emulziókban (nukleáris emulzióknak nevezik őket) a legjobb fényképezőfilmeknél is finomabb szemcséjű és egyenetlenebb eloszlású az ezüstbromid:  $0,03\text{--}0,4\ \mu\text{m}$



4. ábra. A sejt életciklusának (T) vázlata; G<sub>1</sub>: preszintetikus szakasz, S: szintetikus szakasz, G<sub>2</sub>: poszt-szintetikus szakasz, M: mitózis. A lóbab (*Vicia faba*) gyökércsúcsában  $T = 19,7$ ;  $G_1 = 4,1$ ;  $S = 8,1$ ;  $G_2 = 5,5$ ;  $M = 2,0$  óra (Kihlman 1975). A hagyma (*Allium cepa*) gyökércsúcsában  $T = 23$ ;  $G_1 = 3,3$ ;  $S = 12,3$ ;  $G_2 = 3,6$ ;  $M = 4,0$  óra (Matagne 1968). A kínai hőresőg szomatikus sejtenyészetében (CHO-K<sub>1</sub>)  $T = 12,5$ ;  $G_1 = 4,5$ ;  $S = 4,0$ ;  $G_2 = 3,0$ ;  $M = 1,0$  óra (Raskó és mtsai 1974). Emberi sejtenyészetben (HeLa-S<sub>3</sub>)  $T = 19,5$ ;  $G_1 = 9$ ;  $S = 6,5$ ;  $G_2 = 3$ ;  $M = 1$  óra (Tolmach, Basse 1930).

átmérőjű kristályokat tartalmaz, a fotózásban használatos 0,5–3,0  $\mu\text{m}$  kristályátmérő helyett.

Tételezzük fel, hogy a szervezetbe tríciummal jelzett timint juttattunk be. A timin a DNS-nek specifikus alkotórésze, mint tudjuk, az RNS helyette uracilt tartalmaz. Ahol a szervezetben DNS-szintézis folyik, ott a saját timin mellett a radioaktív, jelzett timint is felhasználja, beépíti az új DNS-molekulába. Osztódó szövetből készült metszetre vagy akár kromoszómapreparátumra rétegezett és bizonyos idő múlva előhívott nukleáris emulzió közvetlenül a beépült  $^3\text{H}$ -timin-molekula fellett fog mutatni egy fekete ezüstszemcsét. A módszer egyetlen hátránya, hogy feloldóképessége elmarad a mikroszkópé mögött: ötször gyengébb, mint a fénymikroszkóp feloldóképessége (1  $\mu\text{m}$ , 0,2  $\mu\text{m}$  helyett), és legalább százszor gyengébb, mint az átlagos elektronmikroszkópé (50 nm, 0,5 nm helyett).

Meg kell említenem még, hogy a sejtbe beépült radioaktív DNS-alkotórészek mennyiségét nemcsak mikroautoradiográfiával tudjuk kimutatni, hanem az általuk kibocsátott kis sugármennyiséget nagy teljesítményű nukleáris számlálókkal is mérhetjük.

## 2.2. INTERFÁZIS

Alma Howard és S.R. Pelc (1953) megfigyelte, hogy a sugárzó DNS-alapanyag csak az interfázis bizonyos szakaszában épül be a lóbab (*Vicia faba*) gyökérsejtjeinek DNS-ébe. A beépülés időben jól elhatárolható. Ez alatt az idő alatt történik a DNS replikációja, a sejt genetikai anyagának megkettőződése. Ezt a periódust *S-fázis*nak nevezték el, a „synthetic phase“, tehát DNS-szintetizáló időszak rövidítéseként. Az előző sejtosztódás befejezte és az *S-fázis* kezdete közötti időszakot *G<sub>1</sub>-fázis*nak nevezték. A *G* az angol „gap“, űr, hiány, szünet jelentésű kifejezés rövidítése, Howard és Pelc azt kívánta vele kifejezni, hogy még szünetel a DNS-szintézis. A *G<sub>1</sub>* tehát posztmitotikus és preszintetikus fázis a sejt életében. Az *S-fázis* befejeztével sem kezdődik azonnal a sejtosztódás. Egy újabb „gap“-ot figyeltek meg a kutatók, és ezt *G<sub>2</sub>-fázis*nak nevezték. A *G<sub>2</sub>* tehát posztszintetikus és premitotikus fázis.

Az *S-fázis* szerepe könnyen érthető. Osztódáskor a sejt két, genetikailag azonos leánysejtté hoz létre. Ennek feltétele

viszont, hogy a sejt genetikai anyaga megkettőződjék az osztódás előtt. A sejtmag DNS-éről az S-fázisban egy minden szempontból azonos kópia készül, a másolás neve: DNS-replikáció. A kettős hélix egy-egy szála szolgál mintául egy-egy újabb szál szintéziséhez. A replikációval keletkező két DNS-molekula mindegyike egy új és egy régi szálat tartalmaz, ezért nevezzük a replikációt *szemikonzervatív*nak. A  $G_1$  a sejtaktivitás időszaka, a kellően dekondenzált kromatinfonalak transzkripciós aktivitása a maximumot éri el benne. Ekkor történik a különböző hisztonok és enzimek citoplazmatikus szintézise is. A  $G_2$ -fázisban fehérjét és RNS-t szintetizál a sejt — anyagcseréje felkészül a sejtosztódásra. A kromatinfonalak kettős szerkezetűek, és bár még fénymikroszkóppal nem láthatók, kondenzálódásuk megkezdődött és folyamatos az egész időszak alatt.

A leglényegesebb, amit a kromoszómavizsgálónak az interfázisról tudnia kell, az, hogy a  $G_1$ -ben a DNS egyszeres mennyiségben, a kromatinfonalak egyszálas állapotban, a  $G_2$ -ben a DNS kétszeres mennyiségben, a kromatinfonalak pedig kétszálas állapotban találhatók. Amint a későbbiekben látni fogjuk, egyáltalán nem mindegy, hogy a sugárhatás vagy más DNS-t károsító tényező az interfázis melyik szakaszában éri a sejtet.

Az interfázis befejeztével megkezdődhet a sejtek osztódása.

### 2.3. SEJTOSZTÓDÁS

A múlt század első harmadában figyelték meg először a sejtosztódást: az állatokét 1827-ben, a növényekét 1832-ben. Első részletes leírását A. Schneidernek köszönhetjük, aki laposférgek sejtjeit vizsgálta 1873-ban (Paveletz, Little 1980). A kromoszómákat viszont először egy botanikus, Eduard Strassburger írta le 1872-ben. Ugyanő 1875-ben már monográfiát jelentet meg a sejtosztódásról. 1882-ben Walter Flemming szintén könyvet ír az általa *kariomitózis*nak elnevezett sejtmegosztódásról. A mitózis során megjelenő jól festődő pálcikaszerű testecskéket, mint említettem, Strassburger írta le először, de Waldeyer 1888-as javaslatára *kromoszómáknak* hív-

juk őket. Waldeyer így különböztette meg a kromoszómákat a „festődő testeket“, a mitózisra szintén jellegzetes, de nem festődő osztódási orsótól, az *akromatikus apparátustól*.

Abban az időben, a múlt század vége felé a sejttan és embriológia szorosan összefonódott, laposférgek (örvényférgek vagy planáriák), hengeresférgek (Ascarisok) és a tengeri sűrű ivarsejtfejlődésének és korai embrionális barázdálódásának vizsgálata „divatozott“. Ezeket vizsgálta Oscar és Robert Hertwig, Boveri és Bütschli éppúgy, mint kolozsvári munkatársuk a fiatal Gelei József, Apáthi István professzor Németországba küldött asszisztense (Szabó 1976). Figyeljük meg a mellékelt mikrofelveteleket az *Ascaris megalocephala* oocita osztódásáról. Igaz, mai mikroszkóppal és mai mikrofényképezési körülmények között készültek, de 1910 körüli preparátumról. Szabó Zsigmond hisztológiaprofesszor őrizte meg a kolozsvári katedraalapító Apáthi vagy famulusa, Gelei által készített, ezüst-nitrátos festésű preparátumot és ajándékozta e könyv szerzőjének. Nemcsak metszése és festése, hanem a tárgy és fedőlemez meg a beágyazás minősége is csodálatot és szakmai irigységet vált ki a mai kutatóban (Szabó, Imreh, Rădulescu 1981). Kár, hogy nem láthatja színes eredetiben az olvasó. Ma sem tudunk sokkal többet a sejtosztódás mikroszkópi megjelenéséről, mint ami e preparátumokon látható.

Az eukariótákban a sejtosztódásnak két alapvető típusát ismerjük:

1. a testi sejtek osztódását, mely a genetikai anyag egyenlő eloszlásával, a kromoszómaszám megmaradásával jellemezhető, ekvacionális, számtartó sejtosztódás: a *mitózis*;

2. a csírasejtképzés során történő, a genetikai anyag és a kromoszómaszám felezésével jellemezhető, redukcionális, számfelvező sejtosztódás: a *meiózis*.

## 2.4. MITÓZIS

Múltunkat jelenünkkel a szájhagyomány, a mondák, a mítoszok fonala köti össze. A görög mítosz = fonál szóból alkotta Walter Flemming a mitózis fogalmát a nemzedékeink folytonosságát biztosító sejtosztódás elnevezésére.

A számtartó osztódás előzménye az interfázis S-fázisában megduplázódó DNS és a G<sub>2</sub>-ben megkezdődő kromatinkonden-

záció. Az interfázis  $G_1$  szakaszában az emberi sejtmagban feltehetőleg 46 különálló DNS-molekula van. Ezek megkettőződésével 92 molekula képződik, páronként összefogva. Azonos információjú DNS-molekulapár alkotja tehát a mitózis során megjelenő kromoszómák testvér kromatidapárját.

A mitózis úgy fogható fel, mint a sejt „találmánya“, amely kellő technikai precizitással oldja meg a testvér kromatidák összehangolt szétesztésének, a genetikailag teljesen azonos két leánysejt létrehozatalának feladatát. A mitózist a sejttanban egyezményesen 4 szakaszra osztják. Ezek:

1. profázis,
2. metafázis,
3. anafázis,
4. telofázis.

E négy szakasz távolról sem váltja egymást jól elhatárolhatóan. A mitózis olyan előadás, melynek egyes felvonásai észrevétlenül tűnnek át egymásba.

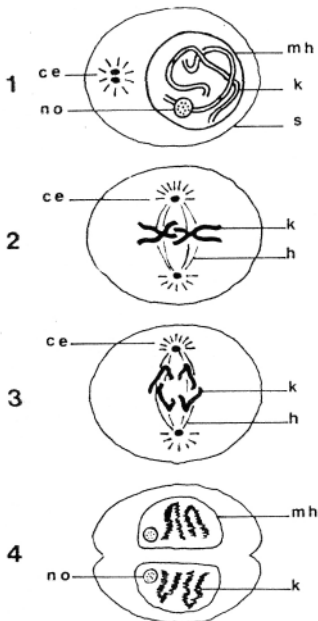
A mitózis során két strukturális ciklus figyelhető meg: 1. a *kromoszómaciklus*, mely a kromoszómák kondenzálódási-dekondenzálódási ciklusa, és 2. a *magorsó ciklus*, mely a magorsó megjelenésétől annak változásait tartalmazza, melyek véghezviszik a kromoszóma vándorlást a mitózis során (5. ábra).

Kövessük a mitózis fénymikroszkóppal látható folyamatát úgy, hogy közben azt se feledjük: az eukarióták világában minden jellegzetesnek tartott vonás alól van „szabályt erősítő“ kivétel.

#### 2.4.1. Profázis

A sejtmag finom, viszonylag hálvány festődésű, fénymikroszkóppal kromoszómafonalakat nem mutató állapotának gombolyagszerű állapotba való átmenetével kezdődik a sejtosztódás. A sejtmag kezdetben megduzzad, megnagyobbodik. A gombolyagot alkotó fonalak mind jobban festődnek, vastagodnak, egyértelműen kromoszómafonalak most már. Sokszor már a profázis elején látható, hogy a kromoszómák kettős szerkezetűek, a két *kromatidából* állnak. A kromatidák a sejtosztódás igazi funkcionális egységei (Swanson 1963). A profázis előhaladtával a gombolyagjelleg fokozatosan megszűnik, már külön-külön is fel lehet ismerni, el lehet határolni a kromoszómákat.





5. ábra. A mitózis vázlatos ábrázolása kétkromoszómás képzeletbeli sejten; 1: profázis, 2: metafázis, 3: anafázis, 4: telofázis, ce: centriólum centroszférával, no: sejtmagvacskák (nukleolusz), mh: maghártya, k: kromoszóma, s: sejthártya, h: a magorsó húzófonalai

A magorsóciklus a *centroszóma* megjelenésével veszi kezdetét. Régebben, félrevezető módon, sejtközpontnak (citocentrumnak) is nevezték, pedig a sejtben aszimmetrikus elhelyezkedésű, a maghártya mellett jelenik meg. A centroszómát Van Beneden írja le először 1875-ben, ez a magasabb rendű növények kivételével majd minden eukariótában megfigyelhető. Elektronmikroszkóposok által előszeretettel vizsgált kettős köröng vagy henger alakú magja van (a *centriólum*), és sugaras szerkezet, a *centroszféra* vagy *aszter* veszi körül olyanszerűen, ahogy a kisgyermek a napot rajzolja.

A még ép sejtmaghártya mellett látható aszter, a kromoszómák egymásba fonódó hosszú kettős fonalai és köztük a jól kirajzolódó sejtmagvacska (nukleolusz): amíg ezek az elemek együtt láthatók, biztosan profázisról beszélhetünk.

Következik egy átmeneti periódus, melyet sokan külön szakaszként, *prometafázisként* emlegetnek. A centroszóma magja kettéosztódik, két külön centriólum indul el ellentétes irányban, köztük pedig egy orsó alakú nem festődő szerkezet feszül, melyet alakjáról *mitotikus orsónak*, festődési képtelenségéről *akromatikus apparátusnak* nevezünk. Eltűnik az előbb említett jellegzetes profázisos kép két eleme, a sejtmaghártya és a nukleolusz. A *magorsó megjelenése és a maghártya feloszlása* egyértelműen a második mitózisfelvonás, a metafázis kezdetét jelenti.

#### 2.4.2. Metafázis

Ebben a fázisban a sejtmagorsó veszi át az uralmat. Az orsófonalak (húzófonalaknak is nevezik őket) a két centriólum között feszülnek. A centriólumok kettős sugaras aureolája a *diaszter* nevet viseli. A felsőbbrendű növényekben nem találunk centriólumokat, de a sejtmagorsó létrejötté igen hasonló, az orsó csúcsait itt *sejtpólusoknak* nevezzük.

Megjegyzendő, hogy minden egyes kromoszóma két testvér kromatidája csak a *centromer* régióban (az elsődleges befűződés területén, lásd később 3.1. fejezet) érintkezik. A magorsó húzófonalai rákapcsolódnak a kromoszómák centromereire, az azok két oldalán található *kinetochorokra*. Úgy tűnik, mintha a rákapcsolódás során az orsófonalak rendeznék is a kromoszómákat. Minden kromoszóma a sejt és az orsó központi, ún. egyenlítői, ekvatoriális részére, pontosabban minden centromer egy képzeletbeli *ekvatoriális lemez* felületére

kerül. Egyes szerzők szerint a magorsó „rendszeretete“ odáig terjed, hogy a kromoszómák egymás melletti helye is pontosan előre meghatározott, mint egy protokolláris ünnepi asztalnál a vendégeké.

Mi történik a metafázis alatt szerkezetileg a kromoszómával? A kromoszómaciklus a kondenzálódás irányába halad tovább, valószínűleg e szakaszban éri el maximumát, ekkor a legrövidebb a kromoszóma és a legvastagabbak a kromatidák.

A magorsó ekvatoriális részén sorbarendezt, a centromerekkel még összefogott, de igen megrövidült kromatidák a sejtmaghártya és sejtmagvacska nélküli sejtben: ez tehát a tipikus metafáziskép.

Ez a kép felületes ránézésre egy ideig semmit sem változik. Csak jó preparátummal, jó mikroszkóppal és éles szemmel megáldott szemlélő veheti észre a következő lényeges lépést: a centromerek kettéosztódását. Ami viszont már az anafázis kezdetét is jelenti.

### 2.4.3. Anafázis

Attól a pillanattól, hogy egy helyett két centromert látnunk a kromoszómán, megkezdődik a sejtosztódás legdinamikusabb szakasza, a kromatidák vándorlása. A húzófonalak most érdemlik ki elnevezésüket. Fénymikroszkóppal nézve, az a benyomásunk, mintha a centromertől fogva húznák-vonnák a centriólum, a sejtpólus irányába a kromatidákat. Tulajdonképpen már kromatidáról beszélni sem egészen helyes. Hisz a kromatida a profázisos-metafázisos kromoszóma része, és a centromer kapcsolja kromoszómává. Mivel az anafázisban a testvérkromatidák elválnak egymástól és mind jobban távolodnak, helyesebb, ha *leánykromoszómát* mondunk. A centromer szerepe döntő a vándorlásban. Centromer nélküli, levált kromoszómarészek képtelenek elmozdulni a pólusok felé és ottmaradnak a sejt közepén az interpoláris térben.

Ahogy szűkül az orsó a pólusok felé, úgy tömörülnek össze a centromerek, míg a leánykromoszómák végei az elhagyott ekvatoriális zóna felé néznek. Ez a jellegzetes anafáziskép: egymástól távolodó ujjaival egymás felé fordított két kéz.

Amint a centromerek elérik a sejtpólusokat, befejeződik a magorsóciklus, és véget ér az anafázis is. Kezdetét veszi a telofázis.

#### 2.4.4. Telofázis

Talán még az eddigieknél is nehezebb megvonni a határt az ana- és telofázis között. Attól a pillanattól jelölhetjük e névvel a sejtosztódás végső folyamatait, amikor már nem láthatóak a kromatida- vagy leánykromoszómavégek. Mintha az előbb említett két kéz ökölbe szorulna, a kromoszómaállomány a pólusokon tömör, igen erősen festődő, szabálytalan kontúrú két tömböt alkot. Úgy tűnik, mintha a kromoszómafonalak kondenzáltsága, amiről azt hittük, elérte maximumát a metafázisban, még tovább fokozódna. Igazán rövid ideig tűnik ez így, mert ahogy megkezdődik a két új sejtmaghártya kialakulása, azonnal gyors fellazulás, kromoszóma-dekondenzáció következik. Befejeződik tehát a sejtmagosztódás, a *kariokinézis*.

A sejt maga még nem osztódott el, de benne már két új laza szerkezetű, világosabb festődésű *leánysejtmag* található. Persze a citoplazma osztódása sem várat sokáig magára; a *citokinézis*, mely most már létrehozva a két új *leánysejtet* a mitózist is befejezi.

#### 2.4.5. Kivételek

Soroljunk fel néhányat a fejezet elején említett kivételek közül (Rieger, Michaelis, Green 1976).

Bár az állati és növényi sejtek osztódása során eltűnik a sejtmaghártya, sok egysejtű eukariótánál megmarad a kariokinézis egész ideje alatt. Az épen maradó sejtmaghártya felsőbbrendű eukariótáknál *endomitózist* is eredményezhet, az osztódás végén megtöbbszöröződő kromoszómaszámmal (*endopoliploidia*) vagy óriáskromoszómák létrejöttével (politénia) (10. ábra). Az endomitózist egy Gerris nemzetségbe tartozó poloskafajtánál írták le először. E rovar nyálmirigysejtjeiben 1024—2048 ismételt osztódás történik az ép sejtmaghártyán belül. Nagyon gyakori az endomitózis a rákos sejtekben is, normál emberi szövetben viszont csak a méhlepényben írták le (Therman 1980).

Bár a metafázisban a centromerek (a nagy kromoszómájú fajoknál) vagy akár a teljes kromoszómaszerelvény (kis kromoszómájú fajoknál) általában az ekvatoriális síkban rendeződik, egyes sejttípusokban, mint például a pollencsírában ez lehetetlen. Itt „helyszűke” miatt a kromoszómák egymás mögött sorjáznak.

Nagyon nagy a mitotikus orsó, az aszter és diaszter morfológiai változatossága is. Egyes fajokban nem sikerült eddig kimutatni sem asztert, sem centriólumot, sem centroszómát.

A centromer sem vándorol mindig elsőnek; néha az egész kromoszóma egyszerre halad a pólusok irányába (diffúz centromerű fajoknál), máskor pedig a karok megelőzik a centromert (néhány növény és moszat esetében). Bár a leánykromoszómák általában együtt, összehangoltan vándorolnak, egyes fajoknál leírták például az ivari kromoszómák lemaradását.

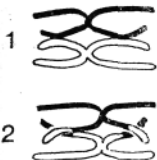
## 2.5. MEIÓZIS

A sejtosztódás másik típusa eukariótáknál a redukcionális, számfelező sejtosztódás. A görög *meion* — kisebb szóból származtatta elnevezését Farmer és Moor.

A meiózis folyamatának tisztázásához nem az osztódás hanem a sejtegyesülés kutatása vezette el a tudósokat: a megtermékenyítés folyamata. Oscar Hertwig és Eduard Strassburger figyelte meg, hogy a megtermékenyítés egy-egy apai és anyai eredetű csírasejt összeolvadása. Egy évszázada, 1883-ban Van Beneden bebizonyította azt is, hogy a két szülő csírasejtjeiben azonos számú kromoszóma található. Ma már tudjuk, hogy *haploid* kromoszómagarnitúráik egyesüléséből jön létre a zigóta. A zigótából fejlődő utód tehát a csírasejt kromoszómaszámának kétszeresét tartalmazza, *diploid* kromoszómagarnitúrát. August Weismann értette meg leginkább a kor citogenetikai megfigyeléseinek fontosságát és — akkor 1887-ben még csak elméleti úton — feltételezte, hogy kell léteznie egy osztódástípusnak, mely a szülői kromoszómaszám felére csökkenti. A meiózis tehát a megtermékenyítés antitézise (Swanson 1963).

A meiózis tulajdonképpen két osztódásból áll. Az elsőbe a homológ kromoszómapár „házassága” felbomlik, így a kromoszómaszám felére, diploidról haploidra csökken. A második osztódás során a már feleződött kromoszómagarnitúra egy normális számtartó osztódáson, mitózison megy át (12. ábra).

Az első meiotikus osztódás *profázisa* a legérdekesebb és legnagyobb genetikai jelentőségű. Egy kis túlzással a meiózis részét a kromoszómák „szerelmi életének”, a „szexualitá-



6. ábra. Két homológ kromoszóma crossing-overe a meiózis első profázisában; 1: diplotén, 2: diakinézis

szexualitásának“ lehetne nevezni. A sejtmaghártyán belül történik, szakaszait Winiwarter nevezte el a századfordulón:

1. leptotén,
2. zigotén,
3. pachitén,
4. diplotén,
5. diakinézis.

1. A *leptotén*t erősen dekonzenzált kinyúlt kromatidák jellemzik. A kromatidák olyan szorosan fonódnak össze, hogy nem különböztethetők meg fénymikroszkóppal, viszont kondenzáltabb, gyöngysorszerű erősebben festődő szakaszok ismerhetők fel rajtuk, a *kromomerek*.

2. A *zigotén* kezdetével a kromoszómák fokozatosan mind rövidebb, vastagabb, tömörebb formát öltenek, kondenzálódnak. A homológ kromoszómák egymás mellett helyezkednek el, és egy-egy ponton megkezdődik az apai és anyai eredetű kromoszómák érintkezése, ún. párosodása (szinapszisa).

3. A *pachitén*ben a homológok teljes hosszukban összetapadnak, szinapszisuk kiteljesedik, a homológ párok szinte egyetlen vastagabb kromoszómának tűnnek. Ezt az apai és anyai eredetű összetapadt kromoszómapárt *bivalens*nek hívják. Részletesebb vizsgálattal megállapítható, hogy a bivalensben a homológ kromatidák keresztezik egymást a *kiazmán*ak nevezett pontokon, ahol a *crossing-over* történik.

A crossing-overről itt csak annyit említünk meg, hogy a folyamat során a homológ kromoszómák kromatidái között teljes szakaszok kölcsönösen kicserélődnek. Mivel tudjuk, hogy a homológ pár egy apai és egy anyai kromoszómából áll, ezek

kromatidái egyes részeinek cseréje mintegy összekeveri a örökletes jegyeket. E folyamat nélkül az emberi csírasejtben például a számfelendezés után jutó 23 kromoszóma mindegyike vagy csak apai, vagy csak anyai jellegeket hordozna, teljesen a véletlentől függő arányban, mondjuk 11 apai és 12 anyai eredetű kromoszómát. A crossing-over eredményeképpen, példánknál maradva, a 11 apai eredetű kromoszóma nagyon sok anyai eredetű gént is hordoz. A meiotikus crossing-over tehát a genetikai rekombináció egyik leghatásosabb mechanizmusa ekkor olvad össze, „habarodik egymásba” de facto a szerelmes szülőpár genetikai szinten is.

4. A következő profázisszakasz, a *diplotén* a homológ kromoszómák szétválásával kezdődik, de a kromatidákat jól láthatóan összekapcsolják még a kizsmák, melyeket ebben a fázisban a legkönnyebb megszámolni.

5. A profázis utolsó szakasza a *diakinézis*, melynek során a homológ kromoszómák még jobban eltávolodnak, de a kizsmák összetartják őket, így széles hurkokat alkotnak. A diakinézis végén a sejtmaghártya felszakadozik, az első meiotikus osztódás profázisa véget ér.

A *metafázis* során a sejtmaghártya teljes eltűnésével létrejön a magorsó. A párosodott homológ kromoszómák centromerjükkel rákapcsolódnak a magorsó húzófonalaira. A metafázis végére a bivalensek a két sejtpólus közötti felezővonalon, az egyenlítői síkban helyezkednek el, de centromerjeik kezdenek távolodni egymástól.

Az *anafázis*ban centromerjeiket követve a homológ kromoszómák eltávolodnak egymástól, és a húzófonalak mentén a sejtpólusok felé vándorolnak. A mitózis anafázisával ellentétben a kromoszóma centromerje nem osztódik, és teljes, két-kromatidas kromoszómák vándorolnak.

A *telofázis*ban a vándorlás befejeződik, és a sejtpólusoknál kialakul a két új leánysejtmag. E sejtmagokban viszont feleannyi kromoszóma található, mint a kiindulási anyasejtmagban, hisz a homológ kromoszómapárnak csak az egyik tagját tartalmazza. Ezért nevezik a meiózis első osztódását számfelező sejtosztódásnak.

A *második meiotikus osztódás* bizonyos idő (*interkinézis*) után kezdődik. Attól eltekintve, hogy feleannyi kromoszómából indul ki, mint a testi sejtek osztódása, tulajdonképpen szabályos mitózis (számartó osztódás). A második meiotikus osz-

tódás *profázisa* során megkezdődik a kromoszómák kialakulása kondenzációval. Az interkinézis nélküli fajoknál a profázis hiányzik, ezeknél az első meiotikus osztódás után a kromoszómák nem dekondenzálódnak. A *metafázis* alatt létrejön a magorsó, a kromoszómák centromerjükkel a húzófonalakra kapcsolódnak és az egyenlítői síkban helyezkednek el. A második meiotikus osztódás anafázisában osztódnak a centromerek, és egy-egy kromatida (leánykromoszóma) a sejtpólusok felé vándorol a húzófonalak mentén. Az utolsó szakaszban, a *telofázisban* két új leánysejtmag, majd leánysejt jön létre.

A meiózis eredménye tehát négy új sejt, amelyekben a kiindulási sejthez képest feleződött számú kromoszóma található.

## 2.6. KÖSZVÉNY ÉS C-MITÓZIS

Olvasóim egy része eddig jutva valószínűleg zavarba jött. A mitózis és meiózis leírásánál, valamint a mellékelt mikrofelvételeken hiába várta a legközismertebb kromoszórnakép leírását, megjelenését. X vagy V alakú képleteket ismert, ahol a betűszárak a kromatidáknak, a szárak találkozási pontja a centromereknek felel meg. Azért nem szerepelt így eddig, mert a kromoszóma természetes állapotában sohasem ilyen. Megjelenése alapján metafázisos kromoszóma lenne, erre utal erős kondenzáltsági állapota, két kromatidája és ép centromerje. Ami megkülönbözteti az osztódásban megfigyelhető kromoszómáktól, az a „szabadsága”. Azért vált a citogenetikusok (kromoszómakutatók) fő vizsgálódási tárgyává, mert sikerült kivonniuk a sejtmagorsó által diktált ekvatoriális tömörülésből a metafázisban. Hogyan? Egy alkaloidával, a *kolchicinnal*.

Érdekes és valószínűleg kevesen tudják, hogy a kolchicinnal tulajdonképpen a köszvény gyógykezelése során került először kapcsolatba a tudomány. Az igen fájdalmas ízületi duzzanatokat okozó betegség oka a húgysav magas vérkoncentrációja. A leucociták felfalják a húgysav sóinak (urát) mikrokristályait, irritáló enzimeket szabadítanak fel, ez a fájdalom oka. Megfigyelték, hogy a köszvényes fájdalmat az őszi kikerics (*Colchicum autumnale*) hagymájából kivonható kolchicin csökkenti. B. Pernice vonta ki először a kolchicint 1883-



ban, egy szicíliai kutató, akiről mindmáig igen keveset tudunk. Pedig Pernice már azt is megfigyelte, hogy kivonatát a kutya szervezetébe juttatva a bél nyálkahártyájában majdnem minden sejt osztódásban van.

A század elején Albert P. Dustin Brüsszelben a sejtosztódást vizsgálta, és tanítványa, Franz Lits javaslatára egereket fecskendeztek be kolchicinnal. Meglepően sok osztódó sejtet találtak a megvizsgált szövetekben. A kolchicint mind a múlt századi Pernice, mind a század eleji kutatók sejtosztódás-serkentőnek hitték. Csak később fedezték fel, hogy épp ellenkezőleg, a kolchicin sejtosztódásgátló, blokkolja azt a mitózis közepén. A sejtosztódást leállító anyagokat *citosztatikumok*-nak nevezzük. A kolchicin egyike a rák gyógyászatában is alkalmazott citosztatikumoknak. Miért tűnt serkentőnek? Azért, mert kisebb dózisban nem túlságosan mérgező anyag, így az osztódó szövet sejtei életben maradnak a kolchicin kezelés mellett. Azonban míg kezelés nélkül a sejteknek legfeljebb 2–5%-a található osztódásban, néhány órás kolchicinozás mintegy összegyűjti a sejteket metafázisban, akár 40–50%-uk is blokkolt mitózisban található.

Havas László már 1937-ben megfigyelte Brüsszelben, hogy hosszú kolchicinos kezelés után a növényi gyökéresücsök bünköszerűen megvastagszanak, ún. C-tumork alakulnak ki. A harmincas években már a kolchicin poliploidizáló (lásd kromoszómaszám-mutációk) hatását is felismerték, és sikerrel alkalmazták a szaporodóképes hibridek létrehozatalában.

A sejtmagorsó a kolchicin és más hasonló hatású alkaloidák hatására szétesik, a mitózis leáll metafázisban. A sejtosztódás kolchicin hatására blokkolt állapotát *C-mitózisnak* nevezzük.

A sokszor csak metafázis megjelölést viselő, egymás mellett szépen szétterült X vagy V alakú kromoszómákat ábrázoló mikroszkópi kép tehát C-mitózist, kolchicinozott kromoszómákat tartalmaz.

Hogyan hat a kolchicin a sejtmagorsóra? Többet kellett megtudni a sejtmagorsó felépítéséről, hogy választ tudjunk adni e kérdésre. 1960-ban Edwin W. Taylor a chicagói egyetemen radioaktív izotóppal ( $^3\text{H}$ ) jelzett kolchicinnal megállapítja, hogy irreverzibilisen kötődik a sejttényészet osztódó sejteiben a magorsóhoz. 1967-ben Gary G. Borisy izolálja és elemzi a kolchicint kötő sejtfehérjét. Érdekes, hogy nem az

osztódó sejtekben, hanem az agy idegsejtjeiben találja a legnagyobb mennyiséget. E sejt típusra pedig — ezt már tudták abban az időben — a mikrotubulusok magas százaléka jellemző.

A mikrotubulus elnevezését Leebetter, Porter és Slaughterback vezette be. 24–25 nm külső és 15 nm belső átmérőjű csővecskék. Elektronmikroszkópos ultrastruktúrájuk azonos az alacsonyabb és magasabb rendű növényekben, valamint az egysejtű és legfejlettebb állati sejtekben is. Nemcsak a mitotikus orsó alapelemei, hanem, az idegsejtek és mindenfajta csillós és ostoros sejt közös és általában azonos felépítésű alkotóeleme. A mikrotubulusok egyik legjobb ismerője különben az említett Albert Dustin fia, Pierre Dustin brüsszeli patológiai professzor (Dustin 1979). A mikrotubulusok mindig több  $\mu\text{m}$  hosszúak, de néha, pl. az idegsejt axonjaiban több méterre húzódnak, bár nem valószínű, hogy folyamatosan. Alkotóanyaguk a fehérjetermészetű *tubulin*, mely kb. 500 aminosavból áll, és két lánc, az alfa és béta dimerje. Nagyon szép immunfluoreszcenciás képeket közöltek az utóbbi időben, melyeken a tubulinhoz kötődő fluoreszcens ellenanyag ragyogva világít a teljes mitotikus orsó felületén.

A Temple Egyetemen (USA) Richard C. Weisenberg azt is tisztázta, hogy az alfa és béta dimernek speciális kötődési pontja van a kolchicin és a vinblastin (a *Vinca rosea*-ból kivont citosztatikum, C-mitózist okozó alkaloida) részére.

A sejtmozgáshoz éppúgy elengedhetetlen a mikrotubulusok épsége, mint az anafázisos kromoszómavándorláshoz. Különösen a célzott sejtmozgáshoz fontos, mint amilyen a fagocitózis. A közsvényben lehet hogy épp azért segít a kolchicin, mert a fehérvérsejtek kolchicinhatas alatt nem tudnak az urát-kristályok felé vándorolni, nem fagocitálnak, és nem termelődik a fájdalmat kiváltó enzim sem.

A magorsó húzófonalai tehát mikrotubulus-kötegekből állanak.

Hogyan mozgatják a kromoszómákat a mikrotubulusok?

## 2.7. MIKROTUBULUSOK ÉS KROMOSZÓMAVÁNDORLÁS

Láttuk a mitózis leírásakor, hogy a magorsó húzófonalainak döntő szerepe van a kromoszómák anafázisos vándorlásában. Ma már azt is tudjuk, hogy a húzófonalak éppúgy, mint

az aster sugaras elemei, egyforma mikrotubulusokból állanak. Több adat szól amellett is, hogy a centriólumok között a mikrotubulusok egy része folyamatos. Ha ehhez még azt is hozzátesszük, hogy a tubulíncsövecskék merevek, cseppet sem rugalmasak, akkor mind nehezebb elképzelni, végül is hogyan történik a kromoszómavándorlás. Bármilyen nehéz volt is lemondani arról az egyszerű magyarázatról, hogy a húzófonalak — melyeket a centriólumvándorlás mint valami parittyagumikat feszített meg az anafázisban — elszabadulva a pólusok felé rántják a kromoszómákat, a tények makacsul mást mutatnak. Érdekes, azt senki sem feltételezte, hogy a kromoszómának is lehetne valamilyen aktív szerepe a vándorlásban. A kromoszóma mindenki szerint teljesen „ártatlan” az anafázisos mozgásban, de hogyan működik az „aktív fél”, az osztódási orsó mikrotubulus-rendszere? Három alapvető elméletet említünk meg, megjegyezve, hogy egyikük sem végleges-tökéletes.

1. Dietz (1969) nevével jegyzett az *össze-szét szerelési hipotézisnek* (assembly-disassembly hypothesis) fordítható elmélet. A kromoszómákat a mikrotubulus hosszának csökkentése, illetve növekedése mozgatná. Dietz elképzelése szerint a centriólumnál, a sejtpólusnál elbomlana a mikrotubulus, és a kinetochornál, a leánykromoszóma mögött újraépülne. Így a folyamatos húzófonálként megmaradásával a leánykromoszóma a centriólum felé tolódik.

2. A Harvard Egyetemen (USA) a McIntosh és mtsai (1969) által kidolgozott *csúsztatási* (sliding) *hipotézis* már bonyolultabb. Szerintük léteznek az átellenes pólusok között kihúzott és csak a kinetochor és a pólus között feszülő mikrotubulus-típus is, az ún. félorsónyi mikrotubulus. Felfedezték azt is, hogy oldalágak, keresztkötések találhatók az orsófonalak között. A keresztkötések elmozdulása a párhuzamos mikrotubulusok elcsúszását eredményezné. A megfelelő irányba csúszó mikrotubulushoz kapcsolódó kinetochor vinné azután a pólusok felé az egész leánykromoszómát. A harvardiak HeLa sejteken készített elektronmikroszkópos felvételei mellett egy ilyen mechanizmus létére utal a csillók mozgás- és az izomműködés aktin—miozin rendszere is.

3. Szintén az USA-ban az Oregon Egyetemen dolgozta ki az egyik nagy kortárs citológus, Andrew S. Bajer (1973) a *villámzár-* (zipper) *hipotézist*. Elektronmikroszkóppal felfedez-

tek nemcsak párhuzamos, hanem egymást keresztező mikrotubulusokat is. A keresztezési pont, mint a villámzár húzója, elmozdulhat egyik irányba. Ha — mint Bajer feltételezi — e ponthoz olyan mikrotubulusok kapcsolódnak, melyek másik vége a kinetochorhoz kötött, akkor ez a „zipper“-pont őket is elmozdítja a hozzájuk csatolt kromoszómával együtt.

Természetesen 1973 óta több átmeneti hipotézis is született. A fentiekből azt kell megjegyeznünk, hogy az anafázisos mozgás igen komplex, bonyolult folyamat. Helyes lebonyolításához óraműszerűen kell együtt forognia minden sejten belüli fogaskeréknek. Amint azt látni fogjuk, a legkisebb beavatkozás is megzavarja a kromoszómák szétválásának szabályos menetét.

### 3. SZERELJÜK SZÉT A KROMOSZÓMÁT!

A nyílt eszű „normális“ gyermek új játékára rácsodálkozik, rövid ideig forgatja, tologatja, „rendeltetésszerűen használja“, majd elkerülhetetlenül következik az igazi gyönyörűség: szétszedi. Háttha kiderül, mi van benne, hogyan működik. A genetikussal sincsen másként. Hogyan jelenik meg a kromoszóma a sejtben? Hogyan lesz a kromatinfonálból kromoszómafonál, majd mikroszkóppal jól látható képlet, melyet centromerjénél „megragadva“ már mozgatni is képes a mitotikus apparátus? Legalább annyira izgatja korunk biológusait a kromoszóma felépítésének, szerkezetének problémája, mint a kromoszóma működéséé. A lehetséges válaszok körvonalazása előtt hadd hivatkozzunk a Nobel-díjas Watson professzor egyik könyvére: *A gén molekuláris biológiája* ma már minden genetikustanonc alaptankönyve, vagy legalábbis annak kellene lennie. Annál is inkább, mert néhány éve már nemcsak angolul, hanem magyarul és románul is elérhető (Watson 1970, 1978, 1980). A kromoszómáról szóló fejezetnek Watson a következő hosszú címet adta: *Még sok mindent kell megtudnunk a kromoszómák molekuláris felépítéséről*. A nyolcvanas években sem lehet sem rövidebben, sem találóbban jellemezni a kromoszómaszerkezet kérdéskörét. A kromoszómaszerkezet kutatói majd mindannyian beleesnek abba a hibába — jegyzi

meg E. J. DuPraw (1974) —, hogy a kromoszómának egyetlen helyes szerkezetmodelljét keresik, és a megoldást egy kellő feloldóképességű módszerben látják, mint például a modell-építés (Crick) vagy röntgendiffrakció (Pardon és Wilkins).

Az eukarióta genetikai anyag — mint az előző fejezetben láttuk — egységesen nukleoszomális szerveződésben kapcsolja össze a DNS-t és a bázikus kromoszómafehérjéket. A hiszton-rögökre csavarodott DNS a kromatinfonál kromoszómává való szerveződése során igen változatos háromdimenziós formát ölthet. Az élő kromoszóma talán legfontosabb jellemzője éppen az állandó átmeneti állapot egyik struktúrából a másikba, interfázisból mitózisba, mitózisból meiózisba, inaktivitásból aktivításba. Amikor a kromoszómaszerkezetet vizsgáljuk, nem szabad tehát elfeledni, hogy egy igen dinamikus képletet boncolgatunk. Minden alakjára vagy szerkezetére vonatkozó leírás legfennebb egy pillanatnyi állapotára érvényes, változásai filmjének egyetlen „kimerevített“ kockájára. Az általános citogenetikusi gyakorlatban ez a filmkocka a kolchicinnal metafázisban leállított mitózis, a C-mitózisos kromoszómaállapot.

### 3.1. A SZÉP KROMOSZÓMA (A FÉNYMIKROSKÓP ALATT)

A mikroszkópos objektumok, különösen a kromoszómák, önmagukban a szépség tárgyai, szépségük analóg egy Rembrandt-művel.

(T. C. Hsu)

A mottóul választott idézet egy amerikai kongresszuson hangzott el korunk egyik legnagyobb citogenetikusának szájából, saját preparátumainak bemutatásakor. Válaszul Herbert Stern talán kissé irigyen jegyezte meg: „Igen, Hsu kromoszómái Rembrandtok, olyan árnyékosak és fénytelenek, de nézzék meg az ő Feulgen-fast-green festésű kromoszómáit, tiszta Renoir mindahány“ (T. C. Hsu 1979). Tényleg gyönyörűek, változatosságukban megunhatatlanok a kromoszómák a fénymikroszkóp alatt. Igazán csak a C-mitózisban hasonlítanak egymáshoz. Ritkán lehet megmondani ismeretlen C-mitózisról, hogy növény vagy állat, fejletlen vagy az evolúció csúcsán álló eukarióta sejtjéből származik-e. Mégsem kell azt hinni, hogy a kromoszómák nagysága és száma is hasonló.

A kromoszómahossz egy mikrométertől (krizantémok, körtőrfélék, madár-mikrokromoszómák) a 30 mikrométert meghaladóig (liliom, göte, szalamandra, muntyákszarvas) terjedhet. Számuk pedig az *Ascaris megalocephala* var. *univalens* nevű belféreg 2 (kettő) kromoszómájától az *Ophioglossum reticulatum* nevű haraszt 1260 és az *Aulacantha* nevű sugáralatka (radiolária) 1600 (igen, ezerhatszáz) feletti kromoszómaszámaig terjedhet. Ezek testi sejtekre vonatkozó kromoszómaszámok ( $2n$ ), a csírasejtekben mindig feleannyi kromoszómát találunk ( $n$ ), tehát a fenti példákban 1, 630 és 800-at. Megjegyzendő, hogy a kromoszómaszám fajspecifikus, tehát éppoly jellemzője egy fajnak a kromoszómaszáma, mint az, hogy egyedei csak egymás között tudnak szaporodni. A fajra jellemző kromoszómaismérveket a kariotípus összesíti, melyet a következő (4.) fejezetben fogunk részletesen tárgyalni.

Amikor a kromoszómát fény- vagy elektronmikroszkóppal vizsgáljuk, felépítését biokémiai módszerekkel boncolgatjuk, mindig a mitózis metafázisában (C-mitózisban) rögzített állapota az elemzés tárgya. Ne feledjük azonban, hogy a meiózis első osztódása alatt mindig más a kromoszóma morfológiája, egészen különleges felépítésű kromoszómák jelenhetnek meg testi sejtekben is, pl. egyes lárvák nyálmirigyeiben. A C-mitózisos kromoszóma megfelelően preparálva minden eukariótában többé-kevésbé hasonló megjelenésű, kromoszómafestékekkel azonosan festődő és, mint fentebb láttuk, igen „szép” sejtalkotórész.

Hogy néz ki a mikroszkóp alatt egyetlen metafázisos (C-mitózis) kromoszóma? Két kötegből áll, melyek átmérője megközelítőleg egy mikrométer. A párhuzamos kötegek elnevezése: *kromatida*. Mint már említettem, a fénymikroszkóp feloldóképessége  $0,2\ \mu\text{m}$ . Ezért fontos tehát a jó minőségű mikroszkóp a kromoszómakutatónak, hiszen majd mindig maximális nagyítással dolgozik, ha a kromatidákat élesen akarja látni. A két kromatidát középtájon vagy végen az ún. *centromer* köti össze, mely általában a kromoszóma elvékonyodását is jelenti, ezért *elsődleges befűződésnek* is nevezik. A centromer táján kapcsolódnak az ún. *kinetochorra* a mitotikus orsó húzófonalai. A centromer nélküli kromoszóma *acentrikus*, képtelen vándorolni a mitózis során. A két centromerával rendelkező kromoszóma *dicentrikus*, a több centromerrel rendelkező pedig a *policentrikus* nevet viseli. Egyes növények (Jun-

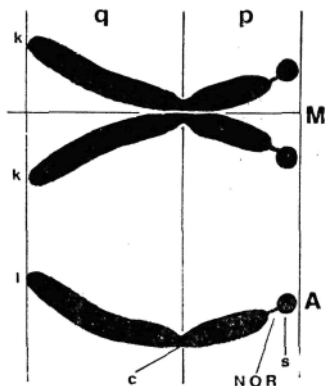
cus, Carex), hengeresférgek (*Ascaris megalocephala*) és izelt-lábúak (poloskafélék, skorpiók) centromerje nem ismerhető fel befűződésésként, a húzófonalak a kromoszóma teljes hosszán kapcsolódhatnak. Ezek tehát nem acentrikus kromoszómák, hanem *diffúz centromerű* vagy más néven *holocentrikus* kromoszómák. A centromer a kromoszómát két karra osztja. A *kromoszómakarok* tehát hosszában tagolják a kromoszómát, teljesen függetlenül attól, hogy egy-vagy kétkromatidás állapotban található-e. Fontos ezt megjegyezni, mert a metafázis-kromoszóma X-szerű látványa egyszerűsített emberábrázolást asszociál a szemlélőben és ösztönszerűleg sugallja a „karok” elnevezést az X egymás melletti ágaira. Pedig ez az X-szerű képlet a kromoszóma középpontja (centromer) felett csak egy és alatta is csak egy kromoszómakart tartalmaz. A két kromatida ezen a képletben a középponttól jobbra és balra található. A félreértés lehetősége rögtön megszűnik, mihelyt a mitózis folyamatában gondolkodunk és összehasonlítjuk a metafázisos és anafázisos kromoszóma képét (7. ábra). A kromoszóma végét *telomernek* nevezzük. A kromoszómakar hosszát tehát a centromer-telomer távolság adja. A centromer, kromoszómán elfoglalt helye szerint négy jellegzetes kromoszómatípust szokás megkülönböztetni (8. ábra):

1. *Metacentrikus* az egyenlő vagy majdnem egyenlő hosszúságú karokkal, rendelkező kromoszóma.

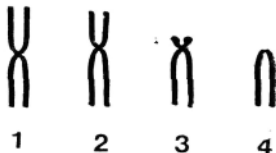
2. *Szubmetacentrikus* az egyenlőtlen karhosszúságú kromoszóma, de ha a rövidebbik kar igen kicsiny, sokszor alig látható, akkor,

3. *akrocentrikusnak* nevezzük a kromoszómát.

4. *Telocentrikus* az egykarú kromoszóma, melynek centromerje a kromoszóma végén található. A telocentrikuson régóta vitatkoznak a citogenetikusok. Sokan tagadják létüket, mondván, hogy egész kicsiny, rövid karnak mindig kell lennie, csak a mikroszkopizálás (mikroszkopizáló?) tökéletlensége nem ismeri fel, hogy tulajdonképpen akrocentrikus a vizsgálat tárgya. Mások elismerik, hogy centromerosztódással (erről később még lesz szó) az evolúció során létrejöhett telocentrikus kromoszóma is, hiszen ez kísérletesen bizonyítható. Elektromikroszkóppal ellenben eddig még mindig sikerült rövid kart is felfedezni a fénymikroszkóppal telocentrikusnak tűnő kromoszómákon, például az egér látszólag egytől egyig V alakú kromoszómáin.



7. ábra. metafázisos (M) és anafázisos (A) kromoszóma vázlatos ábrázolása; k: kromatida, l: leánykromoszóma, p: rövid kar, q: hosszú kar, c: centromer (elsődleges befűződés), NOR: nukleoluszorganizáló régió (másodlagos befűződés), s: szatellita



8. ábra. Kromoszómatípusok a centromer elhelyezkedése szerint: 1: metacentrikus, 2: szubmetacentrikus, 3: akrocentrikus, 4: telocentrikus kromoszóma



A rövidebb kromoszómakart egyezményesen „p”-vel jelöljük a francia „petit” — kis szó első betűjével, a hosszabb kart pedig a francia ABC következő betűjével, „q”-val.

Az elsődleges befűződésen kívül némelyik kromoszóma mentén még találhatunk egy jellegzetes elvékonyodást, az ún. *másodlagos befűződést*. Az elvékonyodásként jelentkező másodlagos befűződésnek különösen régebben tulajdonítottak nagy jelentőséget, a hetvenes évekig, a sávmódszerek megjelenéséig. Ma viszont fontos fénymikroszkópos morfológiai elemnek csak akkor tartjuk őket, ha a kromatidán hosszabb festődési hiányként, mintegy szünetként jelentkeznek. Általában ezek a nagyobb, nem festődő, másodlagos befűzések a kromoszómavégekhez közel találhatók és egy kisebb vagy nagyobb kromoszómadarabot határolnak el, melyet *szatellitá*-nak (trabantnak) nevezünk. Gyakran összefüggésbe hozható ez a rész a sejtmagvacska (nukleolusz) képzésével, ezért *nukleolusz szervező szakasz*nak (nucleolus organising region, NOR) is nevezzük. Később látni fogjuk, hogy speciális módszerekkel meg lehet festeni a NOR-t. A szatellitahordozó kromoszómákat SAT-kromoszómáknak is nevezik, de az elnevezés nem rövidítés, hanem Heitz által alkotott betűszó, a „sine acido thymonucleico”-ból, és arra utal, hogy a másodlagos befűződés DNS-tartalma minimális.

### 3.2. KUSZA GUBANC? (KROMOSZÓMA AZ ELEKTRONMIKROSKÓP ALATT)

A teljes kromoszóma az elektronmikroszkóp alatt a legjobb esetben is olyasvalami, mint egy üzemzavar a makarónigyárban.

(Hewson Swift)

Mint már említettem, a fénymikroszkóp maximális feloldóképessége  $0,2\ \mu\text{m}$ , a transzmissziós elektronmikroszkópé (TEM) pedig ennek ezerszerese ( $0,2\ \text{nm}$ ,  $2\ \text{\AA}$ ) is lehet. Az elektronmikroszkóptól azt vártuk, hogy minden, a fénymikroszkóp számára elérhetetlen titkát feltárja a kromoszómának. Mint látni fogjuk, a citogenetika egyelőre kicsit úgy járt az elektronmikroszkópiával, mint a hegymászó, aki az előtte égre író-dó hegyperemet a tetőnek hiszi, aztán amikor egy végső hajrával eléri, lélegzetét kapkodva kell tapasztalnia, hogy újabb

kapaszkodó következik a perem mögött, és még félúton sem jár. No de remélhetőleg, ahogy nincsen csúcs nélküli hegy, éppúgy nem létezik megoldhatatlan biológiai probléma sem.

Az egyik első elektronmikroszkópos vizsgálatot talán Palay és Claude végezte (1949) a *Drosophila* óriáskromoszómáin az ún. replikamódszerrel. Az elnevezés azt jelzi, hogy Palayék és követőik vékony kollódium-, Parlodion- vagy Formvar-filmet rétegeztek a kromoszómára, majd az így készült lenyomatot, negatív másolatot, vékony fémréteggel árnyékolva helyezték az elektronmikroszkóp alá. Hosszú ideig azonban csak az osztódó sejt egy-egy szeletén, ultravékony metszetén vizsgálhatták közvetlen módszerrel a kromoszómát a citogenetikuskok. Tegyük magunk elé a mitózis vagy meiózis bármely fázisát ábrázoló képet, vázlatot, és húzzuk át találmomra egy egyenes vonallal. Épp így készül a rögzített, beágyazott sejt-preparátum metszete is, és nem csoda, ha teljesen alkalmatlan a kromoszóma térbeli szerkezetének érzékeltetésére. Ezeken a kromoszómákat egy síkban elmetesző preparátumokon sok-sok fibrillum 20—30 nm (200—300 Å) átmérőjű metszete látszott, elkerülhetetlenül kialakítva a kromoszómaszerkezet *sokfibrillumos* vagy *polinémás modelljét* (Ris 1957, Marquardt 1957). A polinémás modell szerint mindkét kromatida sok, a kromoszóma hosszában párhuzamosan futó fonalas szerkezeti elem-ből áll. A modell előzményei visszanyúlnak a mikroszkópos citológia korai történetébe. Még 1931-ben indította útjára Kaufmann a feltételezést, hogy a kromatida kettős szerkezetű, két félkromatidából áll. Később még látni fogjuk, a félkromatida azóta is „kísért” a citogenetikában. Nobel (1932) már tovább ment, feltételezte, hogy a félkromatida is kettős szerkezetű, így a metafázisban a kromoszóma-keresztmetszet már 8 alapelemet tartalmazna. A citológiai lícitálást most már nem lehetett megállítani, 16, 32, majd 64 párhuzamos kromatida-alapelemet tételeztek fel. A 64 osztatú kromoszóma egységnyi fonala maga a DNS-molekula lett volna. A polinémás modell kromatidáinként 32 DNS-molekulát is feltételezett, és a genetikuskok azon törhették a fejüket, hogyan lehetne olyan kromoszómaszerkezetet kimódolni, mely egy emlős 30—50 kromoszómájában többszáz DNS-molekulát úgy tudna elhelyezni, hogy megfeleljen a genetika akkor már jól ismert törvényszerűségeinek, mint a szemikonzervatív replikáció, a gének linearitása, a pozícióeffektus stb.

Megoldhatatlannak tűnt a feladat mindaddig, míg nem látjuk a teljes kromoszómát az elektronmikroszkóp keresőjében. Tudnunk kell, hogy az elektronmikroszkópban rendszert egy kb. 3 mm átmérőjű, jó elektromos vezető rézrács helyettesíti a fénymikroszkóp  $7,5 \times 2,5$  cm-es üveglemezét, az ún. tárgylemezt. Erre a rézrácsra vitték át egy hártyán az osztódó sejtől izolált kromoszómákat. Az eredmény kezdetben siralmas volt. A kromoszómák fonalai szabad levegőn száradva összezsapódtak, és az elektronmikroszkópos kép legjobb esetben is egy ugyanolyan kromoszómát ábrázolt, mint a fénymikroszkóp, ugyan nagyobb nagyításban, de szabálytalanabb kontúrral. A kromoszómafonalak a legjobb igyekezet ellenére sem maradtak szabad elrendeződésben, hanem csapzott összevisszaságban tömörödve elfedték előlünk a kromoszóma finomszerkezetébe való betekintés lehetőségét.

Hogyan lehetne megóvni a kromoszómafonalak száradás közbeni roncsolódó összezsapódását, és egyáltalán mi okozza ezt? Elég nehezen hihető, de ezt a súlyos kromoszómafelfületkárosodást maga a víz okozza. A kromoszómafonalakat fedő vékony vízréteg felületi feszültsége elképesztő erőt képvisel, összehúzódo pánccélként hat az alatta levő képletekre. Egy amerikai mikrobiológus kiszámította, hogy a baktérium ostorán száradás közben a felületi feszültség  $46\,000\text{ kg/cm}^2$ . Ez a négyzetcentiméterenkénti soktonnás feszültség tör-zúz, nyomorít, tehát tönkretesz minden finomabb szerkezeti elemet. Ez a magyarázata a fent említett lehangolóan részletszegény kromoszómaképeknek. Hogyan lehet mindezt megelőzni?

Először is igen „finoman“ kell felvinni a rácsra a még „jó vizes“ kromoszómákat (tehát érintetlen szerkezeti állapotban), azután pedig úgy kell megszáritani, hogy ez az állapot ne változzék. Az első feladatot már régebben megoldotta Kleinschmidt (1961), csak elő kellett venni a citológia eszköztárából. Ez a módszer éppen a víz felületi feszültségét használja, amelyet az előbb kárhoztattunk. Az állati szövetekből kiszabadított (izolált) kromoszómákat óvatosan desztillált víz felületére lehet rétegezni. A vízfelületen szélesztett sejtalkotórészek a felületi feszültségnek köszönhetően nem süllyednek el, hanem egy vékony filmszerű réteget alkotnak, amelyben ott úsznak a kromoszómák is. Ezt a réteget „halásszák“ le aztán magával az elektronmikroszkóp rácsával. Szelíd, kromoszómakímélő módszer ez, de hátra van még a preparátum kiszárit-

tása. A felületi feszültség okozta károsodásokat egy újabb módszer: a *kritikus ponton szárítás* módszere előzi meg.

Mit értünk kritikus ponton? Charles Gaguier de la Tour fedezi fel 1822-ben és talán a legtömörebben W. Ramsey jellemzi még szintén a múlt században: „Az a pont, melyen a folyadék kiterjedőben és a gáz sűrűsödőben azonos specifikus tömeget ér el, és így egymással elegyedni képes.” Hogyan lehet elérni ezt a fizikusoknak természetes, biológusoknak első hallásra kissé misztikusnak tűnő kritikus pontot? Egyszerűen: zárt edényben melegítünk egy folyadékot, mely hőhatásra kiterjed, a keletkező gőz viszont bezártságában összenyomódik. A nyomás és hőmérséklet növekedtével adott ponton a folyadék és gázhalmazállapot közötti érintkezési felület eltűnik egy átmeneti zónában, ahol határozott folyadékfelület hiányában felületi feszültség sincs! Nos ez a kritikus pont, és e kritikus hő- és nyomásponton úgy távolítható el a homogén folyadék-gáz keverék, hogy semmilyen felületi feszültség okozta károsodás sem jöhet létre.

Ez igen szépen hangzik, de a biológiai preparátumokat 80–90%-ban alkotó vízre nem alkalmazható, mert a víz kritikus hőmérséklete 347 °C, a kritikus nyomás 217,5 atm. Ezért a vizet ki kell cserélnünk egy céljainknak megfelelő folyadékra. A rácson rögzített kromoszómapreparátumot alkoholsorozaton (mind töményebb — vízmentesebb — alkohololdatokon) visszük át, majd a vizet lecserélő koncentrált alkoholt Freon vagy folyékony szénsav váltja fel. A szénsav kritikus hőmérséklete csak 31 °C, ekkor a szén-dioxidot ki lehet szippantani légritkítással a preparálókamrából. Nitrogén-protoxid ( $N_2O$ ) még előnyösebben alkalmazható, mert vízben oldódó, így a vízből a preparátum rögtön a folyékony protoxidos szárítóedénybe helyezhető. Kritikus hőmérséklete 36,5 °C, kritikus nyomása 217,5 atm.

A vízfelületen szélesztés és kritikus ponton szárítás módszerét együtt először Joseph G. Gall alkalmazta a kromatin preparálására, de a legszebb és ezért a leggyakrabban újraközölt felvételeket e módon talán E. J. DuPraw készítette a kaliforniai Stanford Egyetemen. Ép szerkezetű, szemmel láthatólag megóvott kromoszómafonalakkal rendelkező kromoszómakép ez, de a szerkezet titkait kutatóknak nem kevésbé lehangoló, mint a kezdeti „csapzott” felvételek.

A metafázisos kromoszóma X-szerű látványa megmarad, de a szépen rendezett részletek helyett kétségbeejtően zavaros, „gubancos“ struktúrát mutat. E fejezet mottójában Swift egy makarónigyár rossz napját emlegeti, de a már többször idézett Nobel-díjas Watson is „olaszosan“ asszociál: „a kromoszóma kompakt tömege irtózatossá, de mégis reprodukálhatóan bonyolult képet mutat, amelyet a kromatinszálak spagettiszerű tömegei uralnak“. Az ultravékony metszetek elektronmikroszkópiájáról mondtak alapján kitalálhatjuk, hogy e „gubancos spagettiszálak“ átlagos átmérője 20–30 nm (200–300 Å). Tehát az égvilágon semmi új elem a kromoszómaszerkezet megértéséhez, leszámítva annak a feltételezésnek a kényszerű elfogadását, hogy a kromatidákban a 20–30 nm-es fonál kaotikusan hajtogatódott, gyűrődött össze. Egy lényeges dolgot azért megfigyelhetünk a gubancos fonáltömeget jobban megvizsgálva: nagyon ritkán láthatunk szabad fonálvégeket, azok is legtöbbször műtermékeknek (artefaktumnak) tűnnek. E megfigyelésen alapul DuPraw (1966) modellje, a „folded fibre“ kromoszóma-modell, melyet *összegyűrt fonál*- vagy *gubancos fonál*-modellnek fordíthatnánk (Hadlaczy Gyula szerint egyenesen a „gyűrt fonalas gubanc“ lenne a helyes terminus; szóbeli közlés, 1983).

A folded fibre-modell nem ad magyarázatot a hosszanti fonálrendeződés mikéntjére, de határozottan leszögezi: egy kromatida egy DNS-molekulából áll (!), tehát *egyszálas, uninémás modell*.

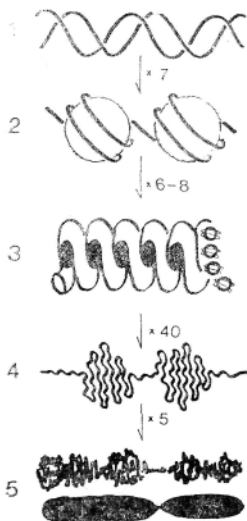
Az uninémás modell összhangban van mai genetikai ismereteinkkel, akkor is, ha még nem tudjuk megmagyarázni, hogyan kerül egy-egy gén mindig meghatározott helyre a kromoszómán belül ebben a fonálkáoszban. A gének rögzített helye a kromoszóma hosszán ugyanis sokszorosán bizonyított mind indirekt (keresztelési), mind pedig direkt módszerekkel, amikor kromoszómasérülés által eltávolított kromoszómaszakasz vezet a gén helyének felismeréséhez. Az „ugráló gének“ éppen szabályt erősítő kivétel voltukban érdekesek (14. fejezet). Tehát hiába kusza ez a gubancos kromoszómaszerkezet, valamilyen módon mind működésbeli, mind topográfiai szinten rendnek kell lenni benne. Miért nem találjuk e rendezettség képét eddigi elektronmikroszkópos preparátumainkon? Egyszerű a válasz pillanatnyi sikertelenségünkre:

### 3.3. A KROMOSZÓMA 10 000-SZER RÖVIDEBB, MINT AZ ÁLTALA TARTALMAZOTT DNS-MOLEKULA

Az ember sejtmagja haploid állapotban (csírasejt tehát) 3 pg ( $10^{-12}$ g) DNS-t tartalmaz. Ha ebből a sejtmagból kivonnánk a DNS-t és minden egyes molekulát egymás végéhez ragasztanánk, egy kb. 2 m hosszú kettős spirál nyernénk (Evans 1977). Kvantitatív elektronmikroszkópiás kísérletek alapján a kis emberi kromoszómákban (ezek hossza 1–2  $\mu$ m) átlagosan 1,4 cm, a legnagyobbakban (ezek hossza 5–7  $\mu$ m) átlagosan 7,3 cm hosszú kettős spirál található (DuPraw, Bahr 1969). Ha a metafázis teljes kromoszómagarnitúráját ragasztjuk egyetlen szalaggá, 150  $\mu$ m lesz az összkromoszómahossz. Tehát kb. két-millió mikrométer tömörödik másfélszáz mikrométerre. E tömörödés hogyanja a kromoszómaszerkezet megfejtésének kulcsa, hiszen minimálisan négy nagyságrendnyi, alulszámolva is legalább 10 000-szeres kondenzálódásra keresünk magyarázatot.

A sejtnag kromatinszerkezetének vizsgálatakor kiderült: igen valószínű, hogy a *nukleoszóma* szerkezet általános érvényű az eukarióták világában. Az interfázisos sejtmagban tehát a DNS még a teljesen fellazult, dekonzenzált részeken is fehérjerögökre csavarodik, így 7-szeresére rövidül a nukleoszóma-gyöngysorban. Láttuk azt is, hogy a 10 nm átmérőjű nukleoszómalánc a  $H_1$  hiszton segítségével 20–30 nm-es, vastagabb fonalat alkot. Ebben a fonalba 6–8 nukleoszóma található fordulatonként, a struktúra elnevezése, mint említettük, *szolenoid*. Nos, ez a fonálvastagság, a szolenoidé, azonos az 1965–70-es évek nagyszerű elektronmikroszkópizálói (Gall, Ris, DuPraw) által általánosan jellemzőnek tartott 20–30 nm-es fonálvastagsággal. A szolenoidban a nukleoszóma-gyöngysor legalább hatszorosan kondenzálódik.

A DNS kondenzáltsági foka viszont már 42-szeres a szolenoidban: a nukleoszóma 7-szeres és az ezt követő 6-szoros kondenzálódás szorzataként. Arne Leth Bak és mtsai (1979) a dániai Aarhus Egyetemen elektronmikroszkópos vizsgálataik összegezéséként egy újabb strukturális elemet javasolnak, a *szuperszolenoidot*. Ez a szolenoid spiralizációjával, annak kb. 40-szeres kondenzálódásával jön létre, átlagos átmérője 400 nm (0,4  $\mu$ m), hosszú, szabályos, hengeres elem, vastagsága majdnem azonos a kromatida felével. A szerzők az „egységnyi



9. ábra. Az eukarióta kromoszómaszerkezet modellje; 1: DNS-lánc, 2: nukleosóma-„gyöngysor”, 3: szolenoid; 4: lazább és tömörebb göngyölődési alapfonál (szuperszolenoid), 5: kromatida a mitózisban a tömören göngyölt kromoszómafonállal, mellette a homogén festődésű fénymikroszkopos kromatidkép. A nyilak mellett a kondenzálódás mértéke látható (Comings 1978 vázlatát felhasználva)

fonál“ (unit fiber) elnevezést javasolják, és későbbi dolgozataikban használják is. Az „egységyi fonálban“ (szuperszolenoidban) a DNS kondenzáltsági foka már kb. 1680-szoros (a szolenoid 42-szeres és a szuperszolenoid 40-szeres kondenzált-



sági fokának szorzataként). A mikroszkóp alatt látható mitotikus kromoszóma létrejöttéhez már csak egy újabb lépés szükséges. Ez a lépés az „egységnyi fonál” egész egyszerű gyűrődése, hajtogatódása, gubancolódása, angolul foldingja, amivel eléri az általános, majdnem 1  $\mu\text{m}$ -es keresztmetszetet és további 5-szörös kondenzációt szenved. Végül tehát a kromatidában az eddigi adatok szerint  $1680 \times 5 = 8400$ -szoros a DNS kondenzáltsági foka. Kissé a 10 000-szeres alatt marad ez a szám, de hadd emlékeztessünk arra, hogy a szolenoidban 6–8 nukleoszómával számolhatunk fordulatonként, és mi a kisebbik 6-os értékkel szoroztunk. Ha a második kondenzálódási lépcsőben 8-cal szorzunk, 11 200 a végeredmény. Ez a Bak és mtsai által javasolt kromoszómamodell végül egész jó megközelítéssel magyarázza a kromoszómakondenzálódás hierarchiáját. Ismételjük meg tehát ennek lépcsőfokait:

$$\text{DNS} \xrightarrow{\times 7} \text{nukleoszóma} \xrightarrow{\times 6 \text{ v. } 8} \text{szolenoid} \xrightarrow{\times 40} \text{szuperszolenoid} \xrightarrow{\times 5} \text{kromatida}$$

#### 3.4. KROMOSZÓMAVÁZ A BITÓN?

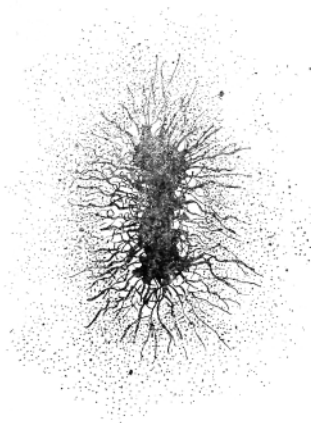
Található-e a többrendbéli spiralizációt (hajtogatódást) szenvedő kromatinfonalon kívül egyéb szerkezeti elem is a kromoszómában? Miért ne lenne egy belső váz is? Hiszen a kromoszómafonal hajtogatódása látszólag kaotikus, míg a génnek elrendeződése bizonyítottan lineáris a kromoszóma hosszán. Lehetséges, hogy egy belső „létra” fokai között hajtogatódik a kromoszómafonal? Nem lehetetlen, mert nem logikátlan.

A kromoszómaváz létét feltételező hipotézisnek számunkra a rá újabban alkalmazott terminus technicus kölesönöz egy kis pikantériatöbbletet. Az angol „scaffold” kifejezés ugyanis nemcsak váz, állvány értelemben használatos, hanem így hívják a vérpadot, bitőt is. Megtörténhet, hogy maga a scaffold-hipotézis is elvérzik az ellenérvek ácsolatán.

Laemmli és mtsai (1977) elektronmikroszkópos preparátumai jelzik először egy fehérjetermészetű kromoszómaváz jelenlétét, miután a kromoszómális hisztonokat eltávolították. Rögtön eszébe jutott a kromoszómakutatóknak, hogy Maio és Schildkraut (1966), majd Stubblefield és Wray már évekkel



azelőtt (1971) feltételezték egy ilyen struktúra létezését a kinai hőrsög kromoszómájában. Ők a kromoszómát mesterségesen megnyújtva egy látszólag tömör kromoszómagerincet figyeltek meg a kromatidában, melyet egy lazább szerkezetű „epikromatin” vett körül. Tömény sóoldatos vagy ureás kezelés — mely kivonja a DNS zömét — eltávolítja az epikromatint, és csak a „belső váz” fonalai maradnak. Később Golomb és Bahr (1979) dezoxiribonukleázzal szintén először a külső lazább szerkezetű DNS-t tudta eltávolítani, és vázszerű, zömmel hosszanti lefutású kromoszómafonalak maradtak vissza. A princetoni munkacsoport viszont bizonyítani vélte, hogy



10. ábra. A kromoszómaváz (scaffold) elektronmikroszkópos képének vázlatos ábrázolása. A kromoszómát idező „maradék” kromatin körül a kiszabdított DNS-fonalak hálózata látható (Hadlaczky, Sumner, Ross 1981 felvételről készült vázlat).

a hiszton és herton típusú kromoszómafehérjék majdnem teljes eltávolításával a kromoszóma vízfelszínre való terítésekor annak DNS-fonalai mintegy kiömlenek, és az eredeti kromoszóma felületét sokszorosan meghaladó területen oszlanak el, laza hurkokban, míg a DNS-fonálkáosz közepén az eredeti kromoszóma formáját többé-kevésbé megőrző vázszerkezet válik láthatóvá.

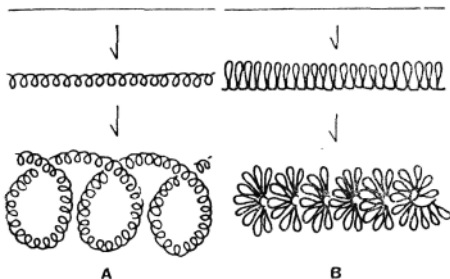
Tadashi A. Okada és David E. Comings (1980) a duartei (Kalifornia) Hope National Centerben, az edinburghi Western General Hospitalban pedig a szegedi vendégkutató Hadlaczky Gyula és mtsai (1981 a, b,) egymástól függetlenül tették fel a kérdést: valóban létezik-e kromoszóma-„scaffold“, vagy pedig preparálási műtermék, artefaktum? Igen módszeresen jártak el, fokozatosan távolítva el a hisztonokat, a nem hiszton típusú fehérjéket, majd magát a DNS-t. Mindkét munkacsoport végső következtetése: a scaffold műtermék. A kromoszóma alkotóelemeinek kivonása sohasem tökéletes, mert az adott kísérleti körülmények között a kondenzált metafázisos kromoszóma fonalai sohasem lazíthatók fel kellőképpen. A „maradék“ természetesen megőrzi az eredeti kromoszóma alakját, teljesen függetlenül attól, hogy ez a maradék elsősorban fehérje vagy elsősorban DNS. A történet ironikus csattanója lehetne, ha nem lenne annyira jellemző a citogenetikára: a negatív eredmény elérése során mindkét munkacsoport az eddigi legszebb scaffold-felvételeket készítette. Kétszeres tiszteletet érdemel, hogy gyönyörű „kromoszómaváz“-képeik ellenére is képesek voltak hidegen mérlegelni eredményeik realitását. A scaffold ellen szól különben minden olyan elektronmikroszkópos felvétel is, amely vékony keresztmetszetben vizsgálja a kromoszómát. Ezekben a képeken csak a kromoszómafonalak metszetei látszanak, nem lehet felfedezni sohasem valamilyen más struktúrát. Végül meg kell említenünk, hogy ugyancsak a scaffold léte ellen szól a testvérkromatida-csere (sister chromatid exchange) jelensége és a kromoszómaaberrációk létrejöttének mindkét lehetséges hipotézise is, melyekről a későbbiekben lesz szó.

A scaffold mellett és főleg ellen szóló adatok mind állati, főleg emlős kromoszómákról származnak. Mi a helyzet a növényi kromoszómával? Hasonló módon reagál a kromoszómafehérjék kivonására? Nagyon friss a válasz e kérdésre. Tudtuk ugyan eddig is, hogy az eukarióta sejtmag egységes szervező-

désű. Hiányzott viszont a közvetlen bizonyíték arra, hogy a növényi és állati kromoszóma szerkezete azonos. Nem tudtuk tömegesen izolálni a növényi kromoszómát, pedig az állatok kromoszómaizolálása már évtizede megoldott volt. Nos, Hadlaczky és mtsai (1983) egyszerre két növényfaj, a búza és a mák kromoszómainak izolálására is közöltek módszert. Természetesnek tűnt ezután, hogy kipróbálják a scaffoldkészítés fentebb említett módozatait a növényi kromoszómaanyagon is (Hadlaczky és mtsai 1982). Sorban sikerült megismételni minden scaffoldképet, melyet előzőleg emlős kromoszómákon nyertek. Egymás mellé téve a mák és a kínai hőrsőg scaffoldképeit, egyszerűen nem lehet megkülönböztetni őket. Lebizonyosodott az is, hogy a kromoszóma fehérjekivonásra legellenállóbb része növényen, állaton egyaránt a centromer.

A scaffold létrehozására kialakított módszeren alapszik a „buklózott” kromoszómamodell is (radial loop model). Yunis és Bahr (1979) emberi fehérvérsejtek kromoszómáit vizsgálta interfázisban és a kondenzálódás kezdetén (a  $G_2$  és a profázis határán). Módszerük a kromatin és a kromoszómafonalak igen jó szélesztését tette lehetővé. A hosszanti lefutású fonalak mentén egyedülálló és csoportos, hurokszerű képződményeket láttak. A már említett princetoni kutatócsoport, EDTA-val (etilén-diamin-tetraecetsav) duzzasztotta a kromoszómát ultravékony metszetek készítése előtt. A kromatida közepének tömörebb fonalgombolyagából sugarasan álló laza hurkok váltak láthatóvá. A szerzők (Marsden és Laemmli 1979) szerint a 25–30 nm átmérőjű kromatinfonal először hurkokba rendeződik, „buklózódik”, majd a huroksor úgy csavarodik, hogy az egyedi hurokívek alapjukkal összetömörülnek olyan képet alkotva, mint ahogy a virágot szoktuk vázlatosan rajzolni, sugárirányban szétterülő szirmokkal. Marsden és Laemmli *sugárirányú hurkok modelljének* (radial loop model) nevezte hipotézisét. Erőssége, hogy olyan struktúra létét tetelezi fel a kromoszómában, melyre képi bizonyítékunk van, és amely struktúra egyszerre biztosítja a nagy fokú kromatinkondenzációt és a fellazulás gyors lehetőségét (11. ábra). Hibája, hogy a „buklózott” kromoszómamodell a scaffoldképzés műtermékjellegű módszerén alapszik, így semmi közvetlen bizonyítékunk sincs realitására.

Íme, milyen távlatokat nyitó, problémákat oldó és újakat felvető lehet egy hipotézis cáfoló kísérletsorozat. Számomra az



11. ábra. A kromatinfonal kondenzációs lehetőségei a spirális modell (A) és a sugárirányú hurkok modellje szerint (Marsden és Laemmli 1977 nyomán).

eddig felsoroltakon túl leglényegesebbnek az tűnik, hogy végre elkülönítette a két kromoszómafehérje-típus (a hiszton és herton) kromoszómaszerkezetben játszott szerepét. E kísérletek eredményeképpen úgy tűnik, hogy a hisztonok mindannyian a nukleoszómaszintű felépítés részei, a  $H_2A$ ,  $H_2B$ ,  $H_3$  és  $H_4$  a nukleoszóma magját alkotják, a  $H_1$ -es hiszton pedig stabilizálja a DNS-hurkot a nukleoszómagyöngyön. A nem hiszton típusú kromoszómafehérjék összessége pedig, a herton, úgy tűnik, a szupranukleoszomális kromoszómaszerkezet kialakításában játszik döntő szerepet, mintegy összeragasztva a kromatinfonalakat kromoszómává. Érdekes, hogy Hearst és Botchan (1970) már évtizeddel ezelőtt megsejtette a herton „kromoszómaragasztó” (glue for chromosomal folding) szerepét, mielőtt a „scaffoldozók” konkrét bizonyítékkal szolgáltak volna. Ezek a bizonyítékok leírva egész egyszerűek: hisztoneltávolítással DNS szabadul ki a nukleoszomális rendszerből, a nem hiszton típusú fehérjék eltávolításával csak a centromerzóna marad többé-kevésbé épen, a kromoszómaszerkezet szétesik.

## 4. KROMOSZÓMA-RENDSZERTAN

A biológusról alkotott és az irodalomban sokszor — sajnos — igen sikerülten karikírozott kép szerint a biológus egész nap gyűjt és rendszerez. Megszállottan gyűjt lepkét, növényt, élő és rég kihalt fajokat, belehelyezve őket az elődei vagy akár őnmaga alkotta rendszerbe. Ha csiklandozza is egyesek humorérzékét, ennek a rendszerező „mániának” köszönhetjük, hogy földgolyónkon nem vakon tapogatózunk élőlénytársaink ismeretlen és idegen tömegében. Minden tudomány képviselője teszi ezt tudományának tényanyagával, minden kutató-tudós alapvető intellektuális kényszere, hogy amit megfigyel, megismer, tudománya logikus összefüggéseinek rendszerébe helyezze. Nem történt ez másként a genetikában sem. Amint kiderült, hogy minden eukarióta kromoszómákba tömöríti öröklési anyagát a sejtosztódás során, meg akartuk tudni, hogyan lehet a kromoszómákat összehasonlítást lehetővé tevő rendszerbe foglalni.

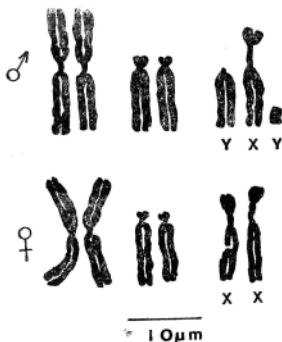
### 4.1. HÁNY KROMOSZÓMA

van egy sejtben, hány kromoszómája van egy-egy növény- vagy állatfajnak? Az első lépést ezen az úton K. Rabl tette, aki már 1885-ben feltételezte, hogy a fajok kromoszómaszáma állandó. Ez később bizonyossággá érett, és mint a mellékelt táblázatból látható, a közismertebb fajok kromoszómainak száma általában néhányszor tíz körül van. A végletek viszont látványosak, kettő és másfélezer között találhatók.

Mi határozza meg egy faj kromoszómaszámát? Ha sok mindent tudunk is a kromoszómaszám megváltozásának módzatairól (lásd kromoszómamutációk), az alapkromoszómaszám meghatározásának kulcsa hiányzik. A legkézenfekvőbb magyarázat az lenne, hogy a kromoszómákba tömörülő DNS mennyisége dönt a kromoszómaszámról. Nincs így. Az *Amphiuma means* (angolnagöte) 28-szor több DNS-t tartalmaz testi sejtjeiben, mint az ember, de csak 28 kromoszómája van, míg nekünk 46. Az angolnagöte legkisebb kromoszómája is nagyobb, mint a legnagyobb emberi kromoszóma. Feltételezhető (Bostock, Sumner 1978), hogy a kromoszómaszám felső határát korlá-

toznia kell a mikrotubulusok számának, hiszen ezek vontatják a pólusokra a kromoszómákat. Ha kromoszómánként csak 3—4 mikrotubulust számolunk, akkor is például a sokkromoszómás lepkék és halak sejtjeiben sok száz mikrotubulusnak kell szabadon működnie az anafázis során.

A kromoszómakutatót a kérdés különben egy igen gyakorlati szempontból is érdekli. Minél kevesebb és nagyobb kromoszómája van egy kísérleti objektumnak, annál könnyebben figyelhető meg, annál alkalmasabb genetikai tesztelésre. Nem véletlen, hogy a citogenetikát hosszú ideig a növények kromoszómakutatói uralták. Ennek elsődleges oka a kromoszómapreparálás egyszerűbb-sikeresebb volta a század első felében, de az sem volt mellékes, hogy a liliomnak csak 10, a pletykának és a lóbabnak csak 12 kromoszómája van. Nagyok is ezek a kromoszómák, 7—23  $\mu\text{m}$  közöttiek pl. a Vicia faba (lóbab) sejtjeiben, tehát a legkisebbek is akkorák, mint az emberi kromoszómák legnagyobbika. A liliomnak még ennél is nagyobb kromoszómái vannak. A növényi kromoszómavizsgálat másik előnye hosszú ideig az volt, hogy viszonylag egyszerű módon, a kolchicinozott sejtekre gyakorolt nyomással (squash preparátum a neve szakmai berkekben, de milyen találó a Gelei által használt kifejezés: foszlatás) sikerült a kromoszómákat egymástól eltávolítani és így értékelhető preparátumhoz jutni. Ez állati sejtekben még évtizedekig probléma volt, különösen a nagyobb számú kromoszómával rendelkező fajoknál. A kevés kromoszómásoknál már a század elején nagyon szép kromoszómapreparátumok készültek mind metszéssel, mind pedig a squash-módszerrel, amint azt az Apáthy intézetéből kikerült preparátumokról (1910 körül készültek) fotózott mikrofelveteleim bizonyítják. A növényekre visszatérve még meg kell említenem, hogy egyes növények tovább is mennek a kutató „segítésében”, pl. a Tradescantia (pletyka) pollencsira tömlőjében a kromoszómák még szépen sorba is állnak egymás mögött, a helyszükének köszönhetően és a genetikus örömére. Persze napjainkban a preparatív eljárások tökéletesedésével már nem olyan lényeges a fenti szempont, de azért most is vannak kedvenceink. A kromoszómakutatás egyik ilyen modern „sztárja” szintén alacsony kromoszómaszámának köszönheti sikerét. Ez a sztár a muntyákszarvasok egyik faja (Muntiacus muntiac), melyet angolul, hangját utánézva ugató szarvasnak „barking deer”-nek neveznek. Kecse-



12. ábra. A muntyákszarvas (*Muntiacus muntjak*) kariotípusa. A hím (bika) kromoszómaszáma  $2n = 7$ , a nőstény (tehén) kromoszómaszáma  $2n = 8$  (Wurster és Benirschke után közli Brown 1972).

gida nagyságú, filigrán, vöröses színű szarvasocska ez, India, Ceylon, Kína és Indonézia területén él. Bár a kérődzők kromoszómaszáma általában nagy, gyakran 60 is lehet (pl. a szarvasmarhái, kecskéi), a muntyákszarvas tehenének 6, bikának 6–7 kromoszómája van, így minden emlős közül legkisebb kromoszómaszámot mondhatják magukénak. (Kiss nevetséges, de ha szarvasféle, nőstényét tehennek, himjét bikának kellett neveznem ebben a „súlycsoportban” is.) Hogy lehet páratlan számú kromoszómája a bikának? Úgy, hogy normális méretű Y-kromoszómája mellett néha egy pontszerű kis Y—plusz kromoszómát is hordoz, szaporítva az e faj körülrajzó kérdőjeleket.

T. C. Hsu (1979) csodálatos kis könyvében elmeséli, hogyan fedezte fel Kurt Benirschke és Doris Wurster a muntyákszarvas különleges kariotípusát. Ők a 60-as évek közepe táján a Catskill Farm fajgyűjteményének állatait vizsgálták egy kéyszülő kromoszómaatlasz számára. Először a muntyákszarvasol

közül a kínai vagy Reeves-féle szarvast (*Muntiacus reevesi*) vizsgálták meg, és 46 kromoszómát találtak. Már ez a szám is a legalacsonyabbak közé tartozik a szarvasfélék között, de még nem ment szenzációszámba. Mikor sorozatos kudarcok után végre sikerültek sejtenyésztéseik a *M. muntiac*-ból is, egyszerűen nem akartak hinni a szemüknek és a látott 7 kromoszómának. Két-három évig nem is mertek szólni róla senkinek, gondolván, hogy valami egész különleges hibát követtek el a sejtenyésztés vagy kromoszómapreparálás során. Csak mikor több állatból indított többszöri ismétléssel újból és újból 6—7 kromoszómát találtak, merték végre le is közölni a szenzációt (Wurster Benirschke, 1970). Hogyan változhatott a *M. reevesi* 46 kromoszómája 6—7-té egy hozzá igen-igen közel álló fajban? A kromoszómaevolúcióról összegyűjtött mai tudás mennyiségünk képtelen válaszolni a kérdésre. Hsu szeliden csak rejtélynek (mystery) tartja, de idézi Robert Matthey, aki egyenesen botránynak (scandal) minősíti a jelenséget. Az ugató muntyákszarvas legnagyobb kromoszómája 25—30  $\mu\text{m}$  is lehet, tehát valóságos „csemege“ a kutató asztalán az em-lősök mindig 10  $\mu\text{m}$  alatti kromoszóma-„kínálatában“.

A tesztlátatoknál maradvá meg kell említenem, hogy bár talán legtöbbször a laboratóriumi egerrel kísérletezünk (szándékosan nem irtam fehér egeret, mert ma már igen gyakran fekete, zsemleszínű stb.), kromoszómáitól nem vagyunk elragadtatva. Negyven kicsiny, majdnem egyforma V alakú akrocentrikus kromoszómájuk igazán nem könnyíti meg dolgunkat. A laboratóriumi patkány 42 kromoszómája alakilag már változatosabb, de a tízszeres testsúly sokszor gátja — anyagi megfontolásból — a vele való kísérletezésnek.

Sokszor kérdezik tőlünk, hogy a közeli rokonságban álló fajok kis méretű és óriás képviselői kromoszómaszámban van-e lényeges eltérés. A növényeknél gyakran tényleg a kromoszómakészlet megsokszorozódása (poliploidia, 8. fejezet) vezet a nagyságnövekedéshez, de az állatoknál ez nem figyelhető meg. Gondolom, olvasóim közül sokan hallottak korunk egyik legdéldegesebb kísérleti állatáról, a törpe selyem-majmocskárról (*Callithrix jacchus* vagy *Hapale jacchus*). A *Callithrix*-kölykök a szó legszorosabb értelmében ujjnyi nagyságúak. Nos ezeknek a pöttöm majmocskáknak éppúgy 46 kromoszómájuk van, mint a magát a földi evolúció csúcának tekintő óriás rokonnak, az embernek. A macska és oroszian kro-



moszómáit csak különleges citogenetikai „trükkök“ bevetésével lehet megkülönböztetni, de több macskaféléét még így sem. Az evolúció kevés nyomot hagyott az ember és az emberszábasú majmok (csimpánz, gorilla és orangután) kromoszómáiban. Első ránézésre csak annyi történt, hogy az emberben két kromoszóma „összeforrt“, és így a kromoszómaszám 48-ról 46-ra csökkent.

A fajok kromoszómainak elemzéséhez nemcsak a kromoszómaszámot kell rögzíteni, hanem a kromoszómák összes jellemzőit. Az osztódó sejt kariológiai jellemzése a kariotipizálás eredménye pedig a kariotípus.

## 4.2. KARIOTÍPUS

A kariotípus elnevezés a kijevi G. A. Levitszkij professzortól származik, 1924-ből. Arra utal, hogy a kariotípus sejt, egyed, faj sejtmagi jellemzőit tartalmazza. Hogyan készül? Tételezzük fel, hogy előttünk egy szépen preparált C-mitózisról készült mikroszkópi fényképfelvétel. Minden egyes kromoszóma jól látható, nem fedik egymást, és az előző fejezetben felsorolt fénymikroszkópos morfológiai jellemzők jól felismerhetők. Megszámoljuk a kromoszómákat. Az eredmény majdnem mindig kettővel osztható, hiszen testi sejtből származik a preparátum, tehát egy teljes anyai és egy teljes apai kromoszómagarnitúrát tartalmaz. Alaposan szemügyre véve őket, szerencsés esetben, ki is lehet választani az egyforma nagyságú, alakú, egy-egy apai és anyai eredetű kromoszómából álló *homológ párokat*. Ha sok a kromoszóma, ehhez igen nagy gyakorlat kell, ha egyáltalán sikerül. Leegyszerűsítjük a dolgot. Minden egyes kromoszómát kivágunk a felvételtől. Most már egymás mellé tologathatjuk őket, közvetlenül összehasonlítva. Rövidesen előttünk a kromoszómaszerelvény minden egyes homológ kromoszómapárja. Hogyan rendezzük őket sorba? Először a legnagyobb kromoszómapárt, aztán nagyságban következőt és így tovább. A még jobb áttekinthetőség kedvéért kromoszómacsoportokat is alkothatunk. A csoportosításra a centromer helyzete önként kínálkozik. Először például a metacentrikusokat helyezzük nagyság szerint egy csoportba, a következő csoportba a szubmetacentrikusokat, majd az akro- és telocentrikusokat. Ez már a kariotípus.

A kariotípus tehát a metafázisos (C-mitózis) kromoszómaszerelvény minden jellemzőjét (kromoszómaszám, morfológia) összegző képe. Figyelem! Egyetlen osztódó sejtől készítettük és egyelőre csak arra érvényes. Ugyanattól az egyedtől újabb és újabb mitózisokat vizsgálunk meg és hasonlítunk össze. Eszrevehető, hogy a kromoszómák hossza mitózisonként bizonyos eltérést mutat: karcsú, hosszú profázisszerű kromoszómáktól rövid, zömök, vaskos kromatidás kromoszómákig. Nyilvánvaló ellenben, hogy egy sejtben vagy mind zömök, vagy mind karcsú kromoszómát találunk, egymáshoz viszonyított arányuk állandó, még ha abszolút hosszúságuk változik is bizonyos határok között. Tehát az első sejt kariotípusa meg egyezik a többi megvizsgált sejt kariotípusával. Ez esetben már azt mondhatjuk bármelyikre, hogy a vizsgált egyed jellemző kariotípusa, melyet bármely esetlegesen kiválasztott sejtjének kariotípusa érdemben képvisel. Érvényes ez a kariotípus arra a fajra is, amelyből az illető egyed származik? A faj több egyedét megvizsgálva kiderül, hogy igen, egy kromoszómapár kivételével. Ez az egy kromoszómapár a faj hím és nőstény egyedében különbözik: elnevezése *ivari kromoszómapár* (szex-kromoszómák), mert a nemi hovatartozást jelölik, *gonoszómapár*, mert a gonádok különbözőségére utalnak, vagy *heteroszómapár*, mert nem két egyforma kromoszómából áll, és ebben különbözik a mindkét nemnél azonos megjelenésű *autoszómapártól*. Nos, ha egymás mellé tesszük a faj hímjeinek és nőstényeinek egy-egy jellemző kariotípusát, kezünkben a faj jellemző kariotípusa. A kariotípus tehát közvetlen mikroszkópi megfigyelés (mikrofelvétel), régebben a legkisebb részletekig a látványt reprodukáló rajz (kariogram) alapján készül.

Mint említettem, különböző C-mitózisokban a kromoszómák hossza kissé eltérő. Hogyan lehet akkor tudományosan érvényes módon leírni egy faj kariotípusának jellemzőit? Először kromoszómahosszméréseket végzünk, és kiszámítjuk minél több mérés alapján a kromoszóma átlagos hosszát. Felüntetjük a határértékeket is. Gyakran a kromoszóma *relatív hosszúságát* adjuk meg. A relatív kromoszómahossz azt jelenti, hogy hány ezreléket tesz ki a haploid kromoszómaszerelvény kromoszómái hosszának összegéből egy-egy kromoszóma. A kromoszómahossz megállapítása után megmérjük és kiszámítjuk a kromoszómakarok arányát, ami morfológiai besoro-

lásuk alapja is. A *kar-arány* (arm ratio) tehát egyenlő a hosszú kar ( $q$ ) és rövid kar ( $p$ ) hosszának hányadosával:  $q/p$ .

A kar-arány szerint:

$q/p=1$  — metacentrikus kromoszóma

$q/p=1-3$  — szubmetacentrikus kromoszóma

$q/p=3-\infty$  — akrocentrikus kromoszóma

$q/p=\infty$  — telocentrikus kromoszóma.

A *centromerindex* ( $c$ , néha  $i$ ) a kromoszóma rövid karjának ( $p$ ) és összhosszának ( $p+q$ ) hányadosa:

$$c = \frac{p}{p+q}.$$

A centromerindexet százalékban is szokás számítani ( $c\%$ )

$$c\% = \frac{p}{p+q} \times 100.$$

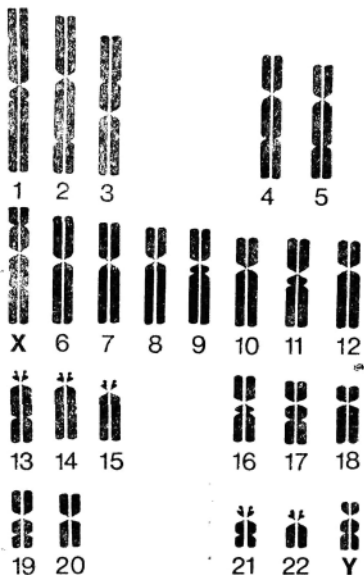
Ez esetben azt fejezi ki, hogy a rövid kar hány százaléka a kromoszómahossznak.

Számolnak ún. *morfológiai indexet* ( $M$ ) is, amely a kromoszómahossz és a kar-arány hányadosa:

$$M = \frac{p+q}{p/q}.$$

Régebben a centromer helyzetét úgy is jelezték, hogy egyszerűen kivonták a rövid kar hosszát a kromoszóma összhosszából.

Ezeknek az adatoknak a birtokában meg lehet szerkeszteni a sejtpopuláció vagy faj jellemző *idiogramját*. Az idiogram elnevezés szintén orosz tudóstól származik, Navascsin javasolta 1922-ben. Az idiogram tehát a kromoszómaszerelvény méréseken alapuló, statisztikailag helytálló, idealizált, rajzos ábrázolásmódja. Természetesen csak a haploid szerelvényt ábrázolja, hiszen a homológok morfológiai jellemzői azonosak, viszont tartalmazza mindkét ivari kromoszómát. Az idiogram fontossága napjainkban, a korszerű sávozási módszerek bevezetése óta újból megnövekedett. Az út a sávtechnikák felé tulajdonképpen az ember citogenetikájának története. Ismerkedjünk meg vele.



13. ábra. Az ember kromoszómaszerelvényének *idiogramja*, a Giemsa-festéssel néha látható másodlagos befűződések feltüntetésével. Az *idiogram* alapján készül a kariotípus (Sellyei 1976 nyomán).

## 5. KROMOSZÓMÁINK HISTÓRIÁJA

Ma általános vélemény, hogy az ember kromoszómaival tudománya két évtizednél alig korosabb. Könnyen elfeledjük milyen széles és mély alapokat kellett kiépítenie a sejttannak amíg eljutott az ember citológiájáig, citogenetikájáig. Davis A. Hungerford (1978), korunk egyik nagy citogenetikai rákkutatója (a philadelphiai Fox Chase Rákkutató Intézet egyik vezetője) kromoszómaink történetét az 1863-as évvel kezdi. Ekkor vált t. i. a festés állandó lépéssé a sejttani-szövettan. munkában, ekkor vezette be Waldeyer és Beneke a hematoxilin-anilines festésmódot. Természetesen ebben az időben a citológus és hisztológus (sejt- és szövettan) mindennel foglalkozott, ami csak a ma könyvtárakat megtöltő igen kiterjedt tudománynak része lehet. Nem véletlen, hogy a hisztológia festést kidolgozó Waldeyer azonos azzal, akinek a kromoszóma elnevezést köszönhetjük.

Nehéz ma már megállapítani, ki látott először emberi kromoszómát. Valószínűleg körülbelül azonos időszakban több is. A legkorábbi közlemény, mely humán kromoszómákra foglalkozik, egy heidelbergi patológustól, Arnoldtól (1879) származik. Ezért szokás az ember citogenetikáját 1879-től kezdeni. Az eltelt több mint száz évet két nagy történelmi szakaszra oszthatjuk: az első, 1879—1956 közötti időszak az ember citogenetikájának hőskora, melyet főleg a helyes kromoszómák megállapítására tett erőfeszítések jellemeznek, a második szakasz 1956-tól napjainkig az ember citogenetikájának modern kora, mely egy igen komoly tudományág kiteljesedését eredményezte.

### 5.1. HŐSKOR: HÁNY KROMOSZÓMÁNK VAN?

A múlt század nyolcvanas éveire mind a mikroszkópia mind a festési eljárások eljutottak arra a szintre, hogy jó láthatóvá tegyék a kromoszómákat. Az ember citogenetikájának hőskorát egy fő kérdés uralta: tulajdonképpen hány kromoszómánk van? A válasz nehézségét magyarázandó, vázoljuk a korabeli eljárást, mely az első világháború utánig dívott szövettanban (Sandberg 1979). A kiválasztott szövetdarab

víztelenítő hatású rögzítőoldatba helyezték. Ez általában alkoholt, ecetsav és kloroform keveréke (Carnoy rögzítője) vagy alkohol, ecetsav, krómsav és ozmiumsav keveréke (Flemming rögzítője). A sejtek víztartalmát a rögzítőoldatra, majd a rögzítőoldatot elég magas hőmérsékleten (55—60 °C-on) paraffinra cserélték fel, amelybe lehűlés után be is ágyazták a preparátumot. Mivel spontán osztódó szövetet kerestek, legtöbbször TBC-sek vagy kivégzett halálraítéltek hereszövetdarabkait vizsgálták. Az eljárás önmagában és néha a hullaállapot is komoly szerepet játszott abban, hogy a preparátumokon az ember kromoszómaszámát igen hosszú ideig nem tudták helyesen megállapítani. Kéves sejtosztódást lehetett bennük találni, és a kromoszómák általában átfedték egymást, ugyanakkor szerkezetileg is meglehetősen „elnyomorítottak” voltak.

Arnold (1879) után Walter Flemming írja le az emberi kromoszómákat 1882-ben, szaruhártya-preparátumból. 20—28 kromoszómát számlál. 1889-től a 24-et tartja „helyes” számnak. Bár majdnem mindegyik későbbi kutató ennél több kromoszómát talál preparátumaiban, Flemming 24-es kromoszómaszámát jó 30 évig ismételten elfogadták, sőt „igazolták” is.

Hungerford (1978) szerint von Hanseman 1890-ben 18, 24 és 40 feletti kromoszómát számol emberi szövetben. Bardeleben egész dolgozatsorozatban foglalkozik a kérdéssel, ismételten a 16-ot tartja a helyes számnak a spermatogenezis során. A  $2n=24$  igazolói: Duesberg 1906, Branca 1910, Guyer 1914, Jordan 1914.  $2n=32$ : Flick 1905, Moore és Walker 1906, Wiemann 1912, de  $2n=36$ : Wilcox 1900 és  $2n=47$ : Montgomery 1912 megfigyelése szerint.

Az ember ivari kromoszómainak létét először Guyer ismerte fel 1910-ben. Liège-ben a belga Hans von Winiwarter még az első világháború előtt úgy találta, hogy a nők kromoszómaszáma 48 ( $n=23+XX$ ), a férfiaké 47 ( $n=23+XO$ ). Miután a Hokkaido Egyetemen Oguma hasonló eredményeket kapott, munkatársával, Kiharával Liège-be utazott, és von Winiwarterrel együtt 1921-ben több dolgozatban is igazolták, hogy az ember kromoszómaszáma 47, XO ivari kromoszóma-összetétel.

1921-ben az amerikai T.S. Painter, nyilvánvalóan von Winiwarter nyomdokain haladva, közli a Science-ben, hogy az embernek 48 kromoszómája van, a nőknél XX, a férfiaknál XY ivari kromoszóma-összetétellel. Ugyanebben a dolgozatban

viszont megemlíti, hogy a „legtisztább ekvatoriális lemezen, melyet eddig vizsgáltunk, csak 46 kromoszóma található“. Fantasztikus és tragikus Painter tekintélytisztelete — amibe a még fiatal amerikai tudomány kisebbségi komplexusa is beletartozott —, amellyel ahelyett, hogy saját megfigyeléseit tartaná valóságnak, nagynevű elődeit próbálja, ha kell, erőszakkal is igazolni. Painter idézett dolgozata majd 30 évre eldöntötte a kérdést: hibásan. Nincs egyedül, Evans és Swery Kaliforniában szintén 48 kromoszómát talált 1929-ben, XX/XY nemű kromoszóma-összetétellel. Az Y-kromoszóma létét viszont Oguma egészen 1937-ig tagadja, bár japán kollégái (Minouchi, Ohta és Iriki) egyetértének Painterrel, Koller 1937-ben szintén ez utóbbit igazolja.

Ismétlem, az első világháború után a hisztológia korabeli módszerei, ha nem is voltak tökéletesek, eljutottak már a fejlettség azon fokára, amely ha nehezen is, de lehetővé tette volna a helyes kromoszómaszám megállapítását. Az önbizalom hiánya, az túlzottan tekintélytisztelő kutatói hozzáállás, az eleve 48 kromoszóma „keresése“ akadályozta hosszú évtizedekig az objektív kutatómunkát. Figyelemre méltó tanulság lehet ez a mai kutatóknak is. A már többször idézett T. C. Hsu különben századunk első felét az ember- és emlőscitogenetika sötét korának (dark era) nevezi, talán a fentiek miatt is.

Hogyan sikerült végül is kijutni ebből a kátyúból, melybe a túlzó tekintélytisztelet is juttatta genetikánkat? Mint anynyiszor története során, most is a módszerek fejlődése lendítette előre a humán citogenetika szekerét.

Három módszertani tényezőnek volt döntő szerepe a modern citogenetika létrejöttében:

1 A kolchicin alkalmazása a mitózsok leállítására, „öszszegyűjtésére.“

2) A hipotóniás oldat alkalmazása a sejtek duzzasztására és a kromoszómák szétterítésére.

3) Az in vitro sejtenyészet fejlődése.

E három módszer döntő szerepével mindenki egyetért. Az egyetértés viszont azonnal továbbúnik, amint azt kell eldönteni, kinek személyes érdeme a fenti módszerek valamelyikének elsőkénti alkalmazása.

### 5.1.1. A kolchicinozásról.

a C-mitózisról részletesen szoltam a 2.6. fejezetben, megemlítve, hogy az őszikikerics-alkaloida, a kolchicin mikrotubulus-roncsoló hatása nyomán a kromoszómák kiszabadulnak a mitotikus orsó „fogságából”. A mitózisok gyakorisága tekintélyesen megnövekszik, mivel nem tudják meghaladni a metafázis (C-mitózis) állapotát. A kolchicin felfedezéséről is írtam előzőleg, itt azt említem meg, hogy úgy tűnik, emlős sejteken először Levan alkalmazta 1938-ban. Ő az amerikai Cold Spring Harbor mammut kutatóintézetben dolgozott, ahol a második világháború előtt a kutatás erősen a citogenetika felé orientálódott, és kipróbáltak minden lehetséges mitózisgátlót, csak hogy minél több sejtosztódást tudjanak mikroszkópjuk alá gyűjteni. E próbálkozásoknak később a rák gyógyszeres kezelése látta hasznát a citogenetika mellett. A kolchicin igen rövid idő alatt nélkülözhetetlenné vált.

### 5.1.2. A hipotóniás kezelés.

a szövetnedvek koncentrációjánál alacsonyabb töménységű oldatok alkalmazása rögzítés előtt forradalmi változást hozott az emlős- és embercitogenetikában. Tulajdonképpen e kezelésnek köszönhetően váltak felismerhetővé, egyenként elkülöníthetővé kromoszómáink. Hipotóniás sokknak is szoktuk nevezni ezt az eljárást, pedig elsősorban a modern citogenetika történetére volt sokkoló hatással, a sejteket legfeljebb felduzzasztja, mintegy felfújja az ozmotikus különbséget kiegyenlítő törekvő, kívülről befelé áramló higabb oldat. A hipotóniás kezelésről szóló fejezetet megírtam, aztán dobhattam a papírkosárba. Időközben ugyanis eljutott hozzám T. C. Hsu *Human and mammalian cytogenetics. A historical perspective* című könyve. Hsu főszereplő a modern citogenetika színpadán, s a szereposztást éppen a hipotónia felfedezésének (később látni fogjuk, hogy újrafelfedezésének) köszönheti.

A muslicák, szöcskék kromoszómáit kutató kínai T. C. Hsu (semmilyen általam fellelhető forrásban, még könyve címlapján sem szerepel teljes neve, így nem tudhatom, mit rejt a „T. C.”) a hazájában eluralkodó lizenkoizmus miatt maradt az Egyesült Államokban. Más lehetőség hiányában fogadta el Charles M. Pomerat ösztöndíját a Texas Egyetem galvestoni orvosi fakultásán. Itt szakítania kellett előző munkájával, ember és más emlősök sejtjeit kellett vizsgálnia sejt- és szövet-



tenyészetekben. Pomerat professzor akkor már világszerte ismert volt a laboratóriumban tenyésztett sejtek mozgásáról, osztódásáról fáziskontrasztmikroszkóppal készített filmjeiről. Mindezt megtanulta Hsu is. Az emlőskromoszómák ellenben az ő preparátumaiban is csakúgy, mint elődeiében, egymás hegyén-hátán zsúfolódtak. Egy alkalommal léptenyészetből preparálta a sejteket, és hematoxilinnal festette őket. A fehérvérsejtek létrejöttét szerette volna megfigyelni *in vitro*, laboratóriumi körülmények között. De hadd mesélje tovább T. C. Hsu: „Nem akartam hinní a szememnek, amikor gyönyörűen szétszóródott kromoszómákat láttam ezekben a sejtekben. Senkinek sem mondtam el, körülsétáltam az épületet, elmentem a kávézóba, majd visszatértem a laborba. A lépkultúra gyönyörű kromoszómái még mindig ott voltak; most már elhittem, valóban léteznek. Nekiálltam végigvizsgálni a többi lemezt is, és azt találtam, hogy a teljes sorozat hihetetlenül csinos mitotikus kromoszómákat tartalmazott. Egy mitózisos kép sem mutatta a jellegzetes orsóorientációt. Egyetlen mitózisos sejtben sem látszott harántirányból a metafázis. Nem voltak ezek tipikus metafázisok. Újabb tenyészeteket indítottam, hogy megismételjem a csodát. De nem történt semmi. A mitózisok megtartották normálisan nyomorúságos megjelenésüket. Még kétszer ismételtam, sikertelenül. Azt kezdtem gyanítani, valami bajuk volt épp azoknak a léptenyészeteknek attól lettek olyan bámulatosak a mitózisok. Három hónapot át megkíséreltem megváltoztatni minden eszembe jutó faktort a táptalaj összetételét, a tenyésztési körülményeket, a hőmérsékletet, a kolchicin mennyiségét, a rögzítési eljárást, a festési módszert stb. — minden alkalommal csak egy tényező változtatva. Semmi sem működött 1952 áprilisáig, amíg meg nem változtattam a tonicitását a sóoldatnak, amelyet mindenki használt a laborban a tenyészetek átmosására rögzítés előtt. Amikor az izotóniás sóoldathoz desztillált vizet töltöttem, hogy csökkentsem tonicitását, a csoda újra megjelent. Valóban va rázslatos érzés képesnek lenni egy rejtély megoldására. Megértettem, hogy egy erőteljes eszköz van kezembem, és elkezdtem letesztelni más, nem emberi eredetű sejteken is. Minden fajra és minden tenyészetre alkalmazhatónak találtam.“

Nyilvánvalóan az első csoda azért jelentkezett, mert a léptenyészeteket a rögzítés előtt balesetszerűen hipotóniás oldatban mosták át. Egyetlen logikus magyarázat erre, hogy Pe

merat professzor valamelyik laboránsa hibásan készítette el az izotóniás sóoldatot. Mire Hsu mindezt kiderítette, négy hónap telt el, így sohasem sikerült azonosítani, kinek a „bűne“ volt a „hipotóniás csoda“. „Szerettem volna legalább egy csókot nyomni — írja Hsu — az ifjú hölgy arcára“, de egyikük sem volt hajlandó magára vállalni azt a hibát, mely a citogenetika fejlődésének egyik legjelentősebb módszertani felfedezéséhez vezetett. Azt viszont cáfolja Hsu, amit e sorok írója is olvasott, hogy a hibás oldatkészítésért állását veszítette volna a laboráns.

Nemcsak a hitelesség kedvéért idéztem szó szerint Hsut. Figyeljük meg, nála a kromoszómák, ha sikeresen preparálta őket, „gyönyörűek“, „csinosak“, ha sikertelenül, akkor „nyomorúságosak“. Ez a viszonyulás, mely a szenvedély erejével köti munkájához, jellemzi az igazi citogenetikust. Ez különben egyik magyarázata annak is, hogy őt tekintjük a hipotóniás kezelés felfedezőjének. Hiszen bizonyosan kezelték sejtjeiket mások is — véletlenül vagy tudatosan — desztillált vízzel vagy egyéb hígabb oldattal. Elsők között lehetett Eleanor H. Slifer (1934), de ő embrióológus volt, nem figyelt a kromoszómákra, Arthur Hughes (1952) szintén embriósejteket vizsgált különböző tonicitású oldatokban, ő is elment a felfedezés mellett. Nem így két japán kutató a Hokkaido Egyetemen (Sapporo). Makino és Nishimura (1952) jóval Hsu előtt kezdték alkalmazni a módszert, de mivel foszlatásos (squash) preparátumot használtak, kromoszómaik szétválása nem volt olyan látványos, mint kínai kollégájuk sejtszuszpenziójában. Különb, amint azt Hsu leírja, Saji-ro Makino is véletlenül fedezte fel a módszert, igaz még 1948-ban. Rovarhere-preparátumokat készített, amikor falusiak érkeztek a sapporói egyetemre. A lemezeket egy vízes edényben hagyta, és rohant bevásárolni, mert a háború utáni inséges időkben a falusiak látogatásai jelentették az egyetlen élelemforrást. Mire visszaérkezett, nála is megtörtént a „csoda“. Még 50 állattajon próbálta ki „japán alapossággal“, míg leköszölte 1952-ben, Hsuval egyidőben. De Hsu emberi kromoszómákat vizsgált, a Journal of Heredity c., széles körben ismert és olvasott lapban közölt, és olyan intézetben dolgozott, ahonnan a hírek azonnal bejárták a fél világot. Jellemző a felfedezés kiváltotta lelkesedésre, hogy a Texas Egyetem orvosi fakultásának dékánja egy teljes munkanapját áldozta arra, hogy a hipotóniás kezelésnek egy hosz-

szű költeménnyel tisztelegjen. Hsu vagy Makino prioritásár értelmetlen vitatkozni, ők sem tették. Amint arra Hungerford (1978) is felhívja a figyelmet, a Szovjetunióban Sliferrel egy időben (1934—35-ben), Zivago és mtsai, illetve Aisenberg mód szeresen vizsgálták alacsony töménységű sóoldatok hatását osztódó sejtekre. Felfedezésük csak egyike volt a kor jóva Nyugat előtt járó szovjet genetikai sikereinek, melyeket az tán feledésbe taszított a liszenkói éra.

### 5.1.3. A sejtenyésztés,

a sejtek, szövetek életben tartása és szaporítása a szervezeten kívül, laboratóriumi körülmények között, régi vágya volt a biológusoknak. A múlt század végén vált valóra, mégpedig az embriológia egyenes ági leszármazottaként. Wilhelm Roux az első pionírja e módszernek. Ő 1885-ben egy csirkeembrió-darabot tartott életben meleg sóoldatban. Megpróbált békaembrió-t is életben tartani tojásfehérjében. 1898-ban Ljunggren né hány napig meleg aszciteszfolyadékban tartott emberi bőrda rabokat. Életben maradásukat sikeres visszaültetéssel bizonyította. 1903-ban Jolly hónapokig tenyésztett szalamandra-felhérvérsejtekben egy kivált lemez mélyedése felett fedőlemezzel függő cseppben. 1906-ban Beebe és Ewing már kutya limfocitáriszarkómasejteket tenyésztett teljes sikerrel. Az első valódi szövettenyésztési kísérletet szintén embrióológus, Harrison végezte 1907-ben. Ebihal idegyszövetét nyiroknedvben tenyésztette, és megfigyelte az idegrostok sarjadzását az idegsejtből. Burrows 1910—11-ben nyirok helyett vérplazmát használt csirke-embriószövet tenyésztésére.

Alexis Carrel ugyancsak a század első évtizede körül kapcsolódott be a szövettenyésztési munkába. Roux után őt tartjuk a szövettenyésztés igazi úttörőjének. Módszerei mindmáig alkalmazhatók. Tenyészedeényei jóformán változtatás nélkül alkalmasak ma is, e sorok szerzőjének laboratóriumában is nőnek sejtek Carrel-edényben. Carrelnek sikerült először stabilizálni egy sejttörzset. A szervezetből kiemelt sejtek ugyan is körülbelül 50—60 osztódás után az „öregedés“ jeleit mutatják, osztódásuk leáll és elhalnak. Nos, Carrel csirkeembrióból indított fibroblasztjaiból a húszas években stabilizálódott egy sejttörzs, mely a hatvanas években még biztosan tenyésztett. Kezdetben a szövettenyésztők természetes biológiai nedveken tenyésztették a sejteket: tojásfehérje, nyirok, vérplaz

ma, vérsavó, embriókivonat. A régebbi szövettenyészési monográfiákban látható a rajza, de néhány mai laboratóriumban még meg is található a fémből készült embrióprés, mellyel főleg csirke-, de egér-, patkány-, nyúl-, tengerimalac- vagy akár elvetélt emberi embrióból is lehetett „táptalajt facsarni“. Nyilvánvaló, hogy a természetes táptalajok összetétele igen változó. Még ha azonos módon készülnek is, a donor döntően befolyásolja minőségüket, a természetes táptalajon végzett kísérletek jóformán összehasonlíthatatlanok.

A táptalaj problémája hosszú ideig a sejttenyésztés Achilles-sarka volt, viszont amióta sikerült megoldani, a modern biológia jóformán minden ágában alkalmazzák a laboratóriumban nevelt sejteket. A tenyészetek növekedését meghatározó tápanyagok vizsgálatát W. H. Lewis és M. R. Lewis kezdeményezte 1950-ben, Morgan és mtsai vezették be a 199-es médiumot, mely igen rövid idő alatt bámulatosan elterjedt és ma is használatos. De az ötvenes években Fischer, Parker, Morton, Morgan és Eagle, később Puck és Ham létrehozott egy egész sor szintetikus táptalajt, mely már csak 5–20% savó (borjú, ló) vagy embriókivonat hozzáadását kérte. A szintetikus táptalajok létrehozásában a román Cיעiura is komoly érdemeket szerzett Puck laboratóriumában. A bukaresti Cantacuzino Intézet által forgalmazott táptalaj (IC 65) az ő receptjük alapján készül. Az „igazi“ szintetikus táptalajok nem kérnek semmiféle természetes adalékot. Ma már több ilyen táptalaj ismeretes, létrehozataluk elsősorban annak köszönhető, hogy míg eddig a táptalajok ásványi sókat, aminosavakat és vitaminokat tartalmaztak, ezekbe a legújabbakba hormonokat is kevernek.

A szintetikus táptalajok és a sejttenyésztés módszertának biológus „közkinccsé“ válása nagyon megkönnyítette a citogenetikai munkát is. Jóformán bármely szövetből nagy mennyiségű osztódó sejtet lehetett nyerni, a kifogástalan kromoszómakészítmény vágyálomból elérhető realitássá vált. A sejttenyésztés persze ma sem könnyű. Újból a Nobel-díjas Watsont idézem: „Egészen a közelmúltig jókora miszticizmus övezte a tenyészetben való sejtnövekedést. A sikerhez igen pontos kísérleti körülmények szükségesek, s ami még rosszabb, úgy tűnik, nincs mindenkinek érzéke a dologhoz“ (Watson 1980).

A különböző egészséges szövetek tenyésztéséhez kapcsolódott a rákos szövetek tenyésztése, melyekről hamar kiderült, hogy igen alkalmasak, sokkal könnyebben stabilizálódnak sejttörzssé. Gay, Coffman és Kubicek Henrietta Lachs nevű félvér páciensük méhnyakráksejtjeit 1951-ben izolálta, HeLa-sejttörzs néven ma is az egyik leggyakrabban használt ember eredetű sejt szerte a nagyvilágon, azóta rég elhunyt donorjának tudományos halhatatlanságot biztosítva. Az egyik első stabilizált sejtenyészet viszont egér eredetű volt, a híres L sejttörzs. Earle professzor laboratóriumában izolálták még 1940-ben! Száznapos normál hím egér bőr alatti kötőszövetéből származik (tehát nem rákos eredetű, mint sokan hiszik szakmabeliek is). A különböző aszciteszek tenyésztésbe vitelében George Klein (1951) munkássága úttörő jelentőségű. A kromoszómavizsgálat szempontjából legnagyobb vívmánynak viszont a fehérvérsejtek tenyésztése számít. Erről részletesebben szól majd az 5.2.1. fejezet.

#### 5.1.4. Negyvenhat kromoszómánk van!

A fejezet elején tisztáztuk, a modern citogenetika létrejöttében három tényező játszott lényeges szerepet: a kolhicinózis, a hipotonizálás és a modern sejtenyésztés. T. C. Hsu kezében mindhárom tényező találkozott, tetézve azzal, hogy éppen emberi sejteket tenyésztett. Megakadályozhatta valam a helyes kromoszómaszám megállapításában? Igen. A tekintélytisztelt, mint annyi elődjét. Bár preparátumai a „hipotóniás csoda” következtében igazán szépek voltak, egy laza centromerű metacentrikus kromoszómára „ráfogta”, hogy kéakrocentrikus, csak hogy igazolni tudja Paintert. Ezt említett könyvében nem kis malíciával meséli el. Painter professzor a Texas Egyetem elnöke volt, Hsu még „Drosophilás korában” megtanulta abszolút tekintélyként tisztelni, el sem tudta képzelni róla, hogy tévedhet.

1955-ben született meg végül az ember citogenetikájának hőskorát koronázó, helyes eredmény: 46 kromoszómánk van. Jo Hin Tjio és Albert Levan 1956-ban közlik a Svédországban megjelenő Hereditas 42. kötetének első hat oldalán. Levar többször dolgozott az Egyesült Államokban, megtanulta a sejtenyésztést és a hipotónia alkalmazását is. Előítéletmentességét mégis elsősorban az biztosította, hogy éppúgy, mint régi spanyolországi munkatársa, Tjio, növényi citogenetiku-

volt. Levan laboratóriumában (Lund, Genetikai Intézet, Svédország) művi vetéléssel nyert magzatok tüdőszövettenyészeit vizsgálták. Negyvenhatnál több kromoszómát nem találtak. Közleményükben mégis óvatosan úgy fogalmaztak, hogy ez a szám a tüdőszövetre érvényes, nem föltétlenül az emberi fajra. No de ugyanebben az évben Angliában Ford és Hamerton (1956) herebiopsziában a meiózis során 23 bivalenst találtak. Azt hinnénk, e két eredmény véglegesen meggyőzőtt mindenkit. Nem volt egészen így. Hitetlenek akadtak még 1958-ban is, például Kodani és Chang, akik „nem engedtek a negyvennyolcból“, váltig állították, hogy egyes kínai és japán populációkra a 48-as kromoszómaszám a jellemző. Dr. Tjio nem hagyta magát. Most már Theodore Puck denveri (Colo-

#### 1. táblázat

##### Az ember citogenetikájának evolúciója

(Srivastava és Lucas 1976 után kissé módosítva)

#### HÓSKOR

##### 1956 előtt

hiányos módszerek

teljes zavar az ember kromoszómáinak számát, alakját illetően

##### 1956

a helyes emberi kromoszómaszám:  $2n = 46$

(Tjio, Levan)

#### MODERN CITOGENETIKA

1956–1970 Denver 1960

London 1963

Chicago 1966

módszerek:

- |                       |   |
|-----------------------|---|
| 1. kolchicinozás      | 1. ismert betegségek kromoszomális alapjának tisztázása |
| 2. hipotóniás kezelés | 2. limfocitatenyésztés                                  |
| 3. ftohemagglutinin   | 3. az elnevezések szabványosítása                       |
| 4. sejttenyésztés     | 4. kromoszómaaberrációk                                 |
| (táptalajok)          | (klasztogének: sugárzás, vegyszerek, vírusok)           |
|                       | 5. magzati kromoszómavizsgálat                          |
|                       | (spontán abortumok, magzatvíz sejtjei)                  |
|                       | 6. mikroautoradiográfia                                 |

1970–

Párizs 1971

Mexico City 1976

Stockholm 1978

1. kromoszómaszavozás  
(Q, G, C, R)
2. kromoszómatérkép
3. kromoszómaszerkezet  
molekuláris szinten
4. automatizált kromoszómaanalízis

do) laboratóriumában dolgozott, ahol 13 személytől vett különböző szövetmintákat és a sejtek ezreiben számlálta a kromoszómákat. Minden sejtben azonos számú, 46 kromoszómát talált (Puck 1962).

A *Homo sapiens* kromoszómaszámaához kétség most már nem férhetett, rá lehetett térni kariotípusának jellemzésére a kromoszómapbetegségek felderítésére. Lezáródik tehát a humán citogenetika hőskora, új fejezet nyílik: a modern citogenetikáé.

## 5.2. A MODERN CITOGENETIKA ELSŐ ÉVTIZEDE: 1960–197

A hőskor technikai építkezését betetőzi a Rothfels—Si minovich-féle (1958) meleg levegős preparálási módszer (air drying methodként közismert). Kromoszómapreparálási szinten az azóta eltelt negyed században nem léptünk előre semmit az emlősök és az ember citogenetikájában.

### 5.2.1. Vértényészet

Az emberi kromoszómák preparálása addig nem válhatott rutinszámmá, amíg nem találtak mintavételre megfelelő szövetet. Osztódó szövet még a felnőtt emberi szervezetben is van, több is. A különböző nyálkahártyák, hámszövetek osztódása cseréli felületi rétegüket, a haj, a köröm állandó növekedésben van, az üreges csontokban a csontvelő szüntelenül termel a vér alakos elemeit, és a herecsatornába milliószámra érkezik a több érési osztódással létrejött hímcsírasejtek. Nehezen hozzáférhetőek ezek a szövetek, nehézkes a kromoszómapreparálás belőlük. Kimetszett kis bőrdarabokhoz viszonylag kis fájdalommal lehet jutni, de mire jó minőségű kromoszómapreparátumot készíthetünk, két, három hét is eltelik. Még viszonylag legalkalmasabbnak a csontvelő bizonyult, csi pó- vagy mellcsontpunkció után két-három órával már preparálhatunk. Bizony nem kellemes módszer, nem is lehet állandóan ismételtetni, megmarad igen jelentős diagnosztikai eljárásnak a fehérvérűség különböző változataiban. Hasonló módon nehézkes a herebiopszia is. A fentiek magyarázzák, miért hatott szenzációként és miért lendített óriásit a humán citogenetika szekerén a vértényészet, pontosabban a vér limfocitái

táinak tenyésztési módszere. Hiszen csiramentes vérvétel tényleg megoldható, egyszerű és sokszor ismételhető.

A kérdésre, hogy mikor alakult ki a limfocitatenyésztés módszere, tizből kilenc citogenetikus az 1959—60-as évet jelöli meg, nem is egészen hibásan. Nem árt ellenben emlékeztetni arra, hogy Timofejevskij már 1928-ban leírta a limfociták osztódását a szervezeten kívül. A harmincas években a szovjet genetikusok a fehérvérsejttenyésztést javasolják az emberi kariotípus rutinszerű analizisére (Chrustschoff és mtsai 1931, Chrustschoff és Berlin 1935). Újabb példája ez a szovjet genetika Lisenko előtti magas színvonalának és a neve által jelzett kor ártalmas voltának. Hiszen a vértenyéssel 30 évet késett a világ citogenetikája Lisenko és követői „áldásos“ tevékenysége nyomán, melynek során egyesek a kromoszómákat egyenesen műterméknek (artefaktumnak) kiáltották ki, tehát létezésüket is tagadták.

1949-ben újból igen közel kerültünk a limfocitatenyésztéshez. Li és Osgood (1949) megfigyelték, hogy a *fitohemagglutinin*, ez a babból kivonható mukoprotein összecsapja a vörösvértesteket, amelyek így elválaszthatók a fehérvérsejtektől. Tovább nem jutottak.

Peter C. Nowell normális és leukémiás fehérvérsejtek differenciációját vizsgálta a Pennsylvania Egyetemen Philadelphiában. A Li—Osgood-módszerrel csapta össze az eritrocitákat. Döbbenet állapította meg, hogy a normális vérben is (egyes források szerint ez saját vére volt) tekintélyes a mitózisok száma. Tudnunk kell, hogy természetes körülmények között a vér alakos elemei még a vérképző csontvelőben befejezik érési osztódásaikat, a keringő vérben csak igen ritkán lehet osztódást megfigyelni. Kezdetben Nowell arra gyanakodott, hogy a mitózisok létrejöttében az oxigén vagy a széndioxid nyomásának változása, a plazmakoncentrációbeli eltérések a „bűnösök“. Precíz ellenőrző kísérletei rá kellett hogy döbbsenék: a fitohemagglutinin, ez a Nowell szerint „nem fiziológiás tényező“ okozza a limfociták transzformációját. Transzformációnak azt a jelenséget nevezzük a sejtbioológiában, amikor egy specializált sejt újból visszanyeri osztódóképességét (14. fejezet). A limfociták — immunszerepre specializált, már nem osztódó sejtek a vérkeringésben — a fitohemagglutinin hatására mintegy visszahátrálnak egy korábbi állapotukba, újból limfoblasztá alakulnak, és egy idő után



elkezdenek osztódni. A fitohemagglutinin tehát mitóziskiváltó tényező a vérkultúrában: *mitogén*. Mint ilyen, távolról sem a egyetlenegy ma már, de a rutinszerű kromoszómaanalízisben szinte kizárólagosan ezt a bakkivonatot használjuk. Nowell fel fedezését követően 5 philadelphiai kutató fogott össze: Moor head a Wistar Intézetből, Nowell és Mellman a Pennsylvani Egyetemről, Battips és Hungerford a Rákkutató Intézetből együtt közölték (1960) az emberi leukocitatenyésztés és kromoszómapreparálás módszerét. Ez a nagy philadelphiai siker jelentő dolgozat tartalmazza tehát azt a módszert, melyet azóta is alkalmazunk a humán citogenetikában, lényegét érint változtatások nélkül. Lássuk tehát az emberi „kromoszómakészítés” menetét.

Öt-husz ml vénás vért veszünk le véralvadásgátló, tiszt heparinra. A vért hagyhatjuk ülepedni magában, vagy fitohemagglutinnal összezsapjuk a vörösvértesteket és centri fugálással üleptjük. A leukocitákban gazdag felülúszó plazmából lehet indítani egy vagy több párhuzamos tenyésztet Hungerford (1965) javaslatára teljes vérből is lehet indítar limfocitatenyésztet. Ez a módszer, mely különösen újszülöttek, csecsemők kromoszómaanalízisekor ajánlott, 0,2—0,7 ar vérből tenyésztli a limfocitákat, elnevezése *mikrokultúra*, fenti módon plazmából indított *makrokultúra*val ellentétben. Az indítás módjától eltekintve a tenyésztés és preparálás tévábbi menete azonos. A makrokultúra általában több elemzethető mitózist eredményez, mint a mikrokultúra. A plazmavagy a kis mennyiségű teljes vért táptalajba helyezzük. Ez tenyésztőelegy tartalmaz egy szintetikus tápoldatot (TC-19; Eagle, Ham's F-12, Romániában a Cantacuzino Intézet IC-65-ös tápoldata, de létezik egyenesen kromoszómapreparálás céljára gyártott oldat is, a McCoy-féle kromoszómaamedium); 10—20% homológ vagy autológ emberi savót, újabban főtális borjúsavót; antibiotikumot (régebben penicillin és sztreptomycin elegyét, ma inkább gentamicint vagy kanamcint). Ha nem használtunk fitohemagglutinit a fehérvérsejszeparáláshoz, a táptalajhoz kell adagolnunk (általában Difco cég készítménye használatos, de igen jó eredmények lehet elérni a Wellcome fitohemagglutininnal is). A tulajdonképpeni tenyésztés ezután kezdődik, zárt edényben, 37 °C-termosztátban, 48—72 órán át. A tenyésztés utolsó másfél-három órájában kolchicint (még jobb, ha kolcemidot vagy vinl

lasztint) adagolunk a tenyészethez. Ezután veszi kezdetét a kromoszómapreparálás. Centrifugálással (óvatosan, viszonylag alacsony fordulatszámon) leüleptítjük a sejteket, és a táptalajt 18–20 percre meleg hipotóniás oldatra cseréljük. Újabb centrifugálás után leszívjuk a hipotóniás felülszót, és hideg rögzítőoldatot (jégecet és alkohol friss keverékét 1:3 arányban) adagolunk a sejtekhez, igen óvatosan rázogatva a csövet. A rögzítést kétszer-háromszor megismételjük, majd hideg és nedves mikroszkópi tárgylemezre csöppentjük a sejtuszuszenziót bizonyos távolságról (ez a távolság minden laboratóriumban bizonyos misztikummal övezett, és mindenki esküszik az egyedül helyesre 10 cm és majd egy méter között). A lemezre esöppentett sejteket azonnal meleg levegőáramba helyezzük, ez magyarázza a genetikai laboratóriumban a hajszárító szinte kötelező jelenlétét. Bizonyos idő múlva (általában a preparálás másnapján, amikor az ecetsav jó része elpárolgott) megfestjük a preparátumokat, legtöbbször Giemsa-oldattal, de lehetőségeink igen változatosak, mint az a későbbiekben kiderül. Teljes száradás után xiloban áztatjuk a lemezeket, kanadabalzsamba ágyazzuk, így „véglegesítjük” őket, majd a mikroszkóp legnagyobb immerziós objektívjével vizsgáljuk a kromoszómákat.

Nem nehezebb a kromoszómapreparálás, mint bármelyik modern sejtbiológiai módszer, legtöbbször egyenesen könnyebbnek tűnik. A citogenetika varázsa talán éppen abban rejlik, hogy a legtökéletesebben standardizált laboratóriumi körülmények mellett sem sikerül mindig egyformán a kromoszómapreparátum. Nagyon sok ismeretlen, kiszámíthatatlan tényezőt rejt magában a donor vére, a heparin, a táptalaj, a savó, a sejtek által termelt szén-dioxid mennyisége, a hőmérséklet, a mitózisgátló minősége, a hipotonizálás módja, a rögzítés sebessége, a kicsöppentés távolsága stb. Lapozzunk vissza a kromoszómaszerkezetről szóló fejezetre. Többször is hangsúlyoztuk, mennyire dinamikus képlet a kromoszóma. Akinek mégis gyakran sikerül preparálni viszonylag hosszú kromoszómákat, szétvált kromatidákkal, jól kirajzolódó első és másodlagos befűződésekkel, joggal lehet büszke szakmai tudásán túl citogenetikusi rátermettségére is. Százszázalékos sikerre ebben a szakmában senki sem számíthat. Mivel a szakkönyv, szakkikk alapján precízen megismételt „recept” általában nem elég a

szép preparátum létrehozatalához, mivel a tapasztalat mellé érzék és „szerencsés” kéz is kell, a citogenetika kissé művészetté is avatódik.

### 5.2.2. Kariotipizáló konferenciák

Visszakanyarodva a történeti áttekintéshez, el kell mondanom, hogy 1959-re már világszerte több laboratórium szinte rutinszerűen tenyésztett emberi sejteket és preparált emberi kromoszómákat. A kariotípus megalkotásában a kutatónak meglehetősen szabad keze van. Maga dönt a kromoszómák csoportosítása, sorszámmal való ellátása terén. Amint tucatjával készültek az emberi kariotípusok, az emberi kromoszómák osztályozásának is tucatnyi változata született. Így aztán a még igen fiatal humán citogenetika máris kommunikációs zavarokkal küzdött. Kézenfekvő volt a tennivaló. Meg kellett alkotni a standard humán kariotípust. Charles E. Ford javasolta, üljenek össze mindazok, akik eddig emberi kromoszómákról közöltek. A házigazda szerepét Theodore T. Puck vállalta denveri laboratóriumában, a Colorado Állam Egyetemén. A genetika történetébe mint a *Denveri Konferencia* (1960) vonult be ez a munkaülés, melynek eredményeit *Javaslat az ember mitotikus kromoszómái elnevezésének standard rendszerére* (A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes) címmel közzölték a *Lancet*-ben. Ma Romániában talán többen tudnak emberi kariotípust készíteni, mint 1960-ban az egész világon. Tudásunk alapját többek között éppen az a 14 genetikus rakta le, akik a denveri konferencián összeültek. Nem is született semmi látványos eredmény, még meglepetés sem, hiszen néhány év és tucatnyi laboratórium munkájának összegezése, közös nevezőre hozatala volt a cél. Mégis mérföldkő. Az, mert ahogy 1953-tól, Watson és Crick DNS-modelljének megalkotásától számítjuk a molekuláris biológia létrejöttét, éppúgy 1960-tól a modern humán citogenetikáét. Watson és Crick a *Nature*-ban közölte felfedezését 930 szóban. A denveri 14 sem szaporította a szót. A *Lancet*-ben 1960. május 14-én közölt jelentésük 2 oldalas. De hadd soroljam fel a 14 résztvevőt: J. A. Böök (Institute of Medical Genetics, Uppsala), J. Lejeune (Hospital Trousseau, Paris), A. Levan (Institute of Genetics, Lund), E. H. Y. Chu (Oak Ridge National Laboratory, Tennessee), C. E. Ford (Medical Research Council, Radiobiological Research Unit, Har-

well, Berkshire), *M. Fraccaro* (Institute for Medical Genetics, Uppsala), *D. G. Harnden* (Medical Research Council, Group for Research on the General Effects of Radiation, Western General Hospital, Edinburgh), *T. C. Hsu* (M. D. Anderson Hospital and Tumor Institute, Houston, Texas), *D. A. Hungerford* (Institute for Cancer Research, Philadelphia), *Patricia A. Jacobs* (Medical Research Council, Group for Research on the General Effects of Radiation, Western General Hospital, Edinburgh), *S. Makino* (Zoological Institute, Hokkaido University, Sapporo), *T. T. Puck* (University of Colorado, Medical Center, Denver), *A. Robinson* (titkár, Denver), *J. H. Tjio* (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland). Tanácsadói és döntőbírói minőségben még három meghívottja volt a konferenciának, három professzor, akiknek tekintélye elégségesnek tűnt a vitás kérdések „békés” rendezésére: *D. G. Catheide* (elnök, Department of Microbiology, The University Edghaston, Birmingham), *H. J. Muller* (Indiana University, Bloomington) és *Curt Stern* (University of California, Berkeley). A *Lancet*-beli közlemény szükségesnek tartja megjegyezni, hogy a döntő- és békebírói szereppel nem kellett élnie a három professzornak. Magam teszem hozzá: valószínűleg azért, mert nem politikai kérdéseket tárgyalt a konferencia, itt az érvek is elegendőnek bizonyultak.

A Denveri Konferencián az emberi kromoszómákat a kariotipizálás szabályai szerint 1-től 22-ig sorszámmal látták el, nagyságuk csökkenő sorrendjében. Ez alól csak néhány kivétel van, amikor más kritérium került előtérbe. Az ivari kromoszómák (gonoszómák): X és Y. A 22 autoszómát 7 csoportba osztották: 1—3, 4—5, 6—12 (X), 13—15, 16—18, 19—20, 21—22 (Y).

A kromoszómák *relatív hosszúságát* a teljes (X-kromoszómát tartalmazó) haploid szerelvény hosszának (tehát 22 autoszóma + X-gonoszóma) ezrelékében adják meg. A *kar-arányt* a hosszú és rövid kar hányadosaként, a *centromerindexet* pedig a rövid kar teljes kromoszómahosszhoz viszonyított arányaként.

Ugyancsak a Denveri Konferencia pontosítja a *kariotipus* és az *idiogram* fogalmát, olyan értelemben, ahogyan előzőleg meghatároztuk (4.2. fejezet). Hogy mennyire szükséges volt ez a fogalomtisztázás, mi sem bizonyítja jobban, mint az, hogy C. P. Swanson híres és alapos *Citológia és citogenetikájában*

(1957) még egyszerű metafázisok és C-mitózisok fényképe alatt is gyakran szerepel, hibásan, a kariotípus felirat.

A genetikusok világa azonnal felismerte a Denveri Konferencia mérföldkö jellegét (annyi különbséggel, hogy ahogy a sarokkő — cornerstone kifejezést használják), de ez nem volt akadály, hogy azonnal el ne kezdjék bírálni fellelhet hibáit. Klaus Patau (Wisconsin Egyetem, Madison) az egyik leghevesebb bíráló, amiben annak is szerepe lehetett, hogy valamilyen okból nem volt ott Denverben, és a denveriek tulajdonképpen ugyanazt a hét kromoszómacsoportot „törvényesítették”, mint amit maga (1960) tőlük függetlenül (?) javasolt. Azzal a különbséggel, hogy a kromoszóma-sorszámozás mellett ő az egyes csoportokat az ABC nagybetűivel is jelezte, megkönnyítve vele „hétköznapi” alkalmazásukat. Hiszen könnyebb C-csoportot mondani, mint azt, hogy „a 6-tól 12 és X-kromoszóma csoportja”.

Három évvel Denver után Lionel S. Penrose professzor meghívására Londonban gyűltek össze a humán citogenetikai művelői. Míg Denverben 12 intézet 14 képviselője találkozott Londonban már 21 intézet 26 kutatója volt jelen. A leglényegesebb eredménye e munkaülésnek, amelyet a szakirodalom *Londoni Konferencia* (1963) néven idéz, hogy szentesítette a csoportok betűjelzését, Patau javaslatának megfelelően.

Az ember citogenetikájának e rendszerező időszakában még egy munkaülés írta be a nevét: a *Chicagói Konferencia* (1966). Chicagóban már 34 intézet 37 kutatója gyűlt össze. Mivel ez időre már az összes nagy kromoszómaszindróma ismert, ezek jelölésének kérdései szerepeltek a napirenden.

Összegezzük talán, mit tudtunk meg az emberi kariotípusról a modern citogenetika első évtizede alatt, a denveri londoni és chicagói konferenciák időszakában.

### 5.2.3. Az ember kariotípusa

1966-tal bezárólag az ember 46 kromoszómáját (homogén festésű kromoszómák kora ez még) a következő módon tudtuk csoportosítani és jellemezni (Denveri Konferencia 1960, Londoni Konferencia 1963, Chicagói Konferencia 1966, Patau 1960, 1966):

Testi sejtjeinkben 44 autoszómánk van és két ivari kromoszómánk, két X a nő, egy X és egy Y a férfi sejtjeiben

„A” csoport (1—3. kromoszómapár) — a három legnagyobb kromoszómapár. Nagyságuk is megkülönbözteti őket egymástól. Az 1. és 3. majdnem tökéletesen metacentrikus, a 2. egyik karja rövidebb valamennyivel. Az 1. kromoszóma hosszú karjának proximális (centromerhez közeli) részén gyakran másodlagos befűződés látható.

„B” csoport (4—5. kromoszómapár) — nagy szubmetacentrikusok. A 4. kromoszóma hosszabb, mint az 5., majdnem mindig megkülönböztethetők.

„C” csoport (6—12. kromoszómapár és az X kromoszóma) — közepes nagyságú szubmetacentrikusok. A legnagyobb csoport, a legnehezebben megkülönböztethető kromoszómákkal. Az X a második legnagyobb a csoporton belül, de pontos azonosítása csak autoradiografiával lehetséges, és csak a „lyonizált”, heterokromatikus X-é (5.2.4. és 5.3. fejezet). A 6, 7, 8. és X karjainak hossza között kisebb a különbség. A 9, 10 és 12. kromoszóma egyik karja feltűnően rövid.

„D” csoport (13—15. kromoszómapár) — közepes nagyságú akrocentrikusok, a humán kariotípus „nagy akrocentrikusai”. A rövid kar igen rövid, nem is látszik. Nincs számottevő nagyságbeli különbség köztük, így azonosításuk klasszikus festéssel majdnem lehetetlen. Bármelyik D kromoszóma hordozhat kisebb-nagyobb szatellitát. A Denveri Konferencián még úgy tudták, hogy csak a 13-nak és a 14-nek lehet szatellitája, és a 13-é mindig nagyobb.

„E” csoport (16—18. kromoszómapár) — viszonylag kicsiny, majdnem metacentrikus (16). és szubmetacentrikus (17, 18.) kromoszómák. A csoportban a 16. elkülönítése problémamentes, a 17. és 18. között nehéz különbséget tenni. A 16. rövid karján gyakori a másodlagos befűződés.

„F” csoport (19—20. kromoszómapár) — kis metacentrikusok, mint kicsiny keresztescskéké látszanak a metafázisos lemezen. Nagyságbeli eltérésük nem mindig elégséges az elkülönítéshez.

„G” csoport (21—22. kromoszómapár és az Y-kromoszóma) — a legkisebb akrocentrikusok, a humán kariotípus „kis akrocentrikusai”. A 21- és 22-en gyakran látható szatellita. Nagyság szerint sokszor lehetetlen megkülönböztetni őket. Az Y nagyságbeli polimorfizmusa igen számottevő, rendszerint hosszabb, mint a 21, 22., szatellitája nincs, a kromatidák gyakran párhuzamos állásúak.

Az ember kromoszómáinak hossza nagyban függ a kolchicinoszás időtartamától, a preparálás módjától. Átlagos nagyságukat a mellékelt táblázat tükrözi (2. táblázat).

Látható, hogy igen sok a kérdőjeles azonosítás a humár kariotípusban a humán citogenetika Denver utáni első évtizedében. Bonyolult, ám igen lényeges segítséget jelentett e téren, de elméleti téren is a sugárzó izotópok alkalmazásának kiterjesztése a citogenetikára.

## 2. táblázat

Az emberi kromoszómák átlagos hosszúsága és a mérhető szélső érték (Levan és Hsu 1959-es adatai, idézi Hienz 1971)

CSOPORT	Kromoszóma-sorszám	Kromoszómahosszúság $\mu\text{m}$ -ben Átlag	Szélső értékek
A	1	6,8	5,5–7,9
	2	6,3	5,1–7,9
	3	5,5	4,3–6,8
B	4	5,0	4,0–5,9
	5	4,7	4,1–5,4
C	X	4,2	3,7–4,8
	6	4,5	3,7–5,4
	7	4,1	3,4–4,8
	8	3,9	3,2–4,9
	9	3,7	3,0–4,5
	10	3,6	3,0–4,2
	11	3,5	2,8–4,5
	12	3,3	2,5–3,9
D	13	3,0	2,6–3,6
	14	2,8	2,4–3,4
	15	2,6	2,2–3,2
E	16	2,5	2,0–3,0
	17	2,4	2,0–3,0
	18	2,0	1,5–2,4
F	19	1,9	1,4–2,3
	20	1,7	1,2–2,1
G	Y	1,4	1,2–1,7
	21	1,3	0,9–1,7
	22	1,1	0,8–1,4
Összeg:		157,1	134,2–178,4

## 6. A „VALÓDI” ÉS A „MÁS”? (Az eu- és a heterokromatin története)

### 6.1. SUGÁRZÓ KROMOSZÓMÁK

Az előzőekben (2.1. fejezet) már említett mikroautoradiográfia a radioaktív tríciummal ( $^3\text{H}$  hidrogénizotóppal) jelzett timidin alkalmazásával „tört” be a citogenetikába. A timidin egyike a négy nitrogénbázisnak, melyek a nukleinsavak felépítésében részt vesznek, és az egyetlen, mely csak a DNS-ben található meg (az RNS-ben helyette uracil szerepel). A timidin beépülésének kimutatása tehát DNS-szintézisre utal. A jelzett timidinnel bizonyította látványosan Herbert J. Taylor 1957-ben a szemikonzervatív replikációt kromoszóma-mikroautoradiográfiával, lóbab gyökércsúcsából készített preparátumokon. Antonio Lima de Faria norvégiai professzor 1959-ben az S-fázist vizsgálta (2.2. fejezet) e módszerrel. Megfigyelte, hogy a *Melanopus differentialis* nevű szöcske spermatocitáiban egy kromoszóma nem kettőzi meg DNS-ét a többi kromoszómával egyidőben, hanem csak azok DNS-szintézisének végétével. Bebizonyította, hogy ez a későn replikáló kromoszóma az X-kromoszóma. Módszerét finomítva a rozs szomatikus kromoszómáin is sikerült aszinkron replikációt kimutatnia (Lima de Faria 1959). Rövid idő alatt több dolgot is megerősítette ezt a felfedezést *Crepis*-, *Tradescantia*-, *Rhynchosia*-ra-kromoszómákon.

Az ember citogenetikájában legalább öt laboratórium kezdte el 1962–63-ban alkalmazni a mikroautoradiográfiát. A prioritás talán mégis a japán származású Morishimáé (1962), aki Taylorék laboratóriumában dolgozott a Columbia Egyetemen, New Yorkban. A humán vizsgálatok is különösen kitűntették az X-kromoszómát. Bebizonyosodott, hogy olyan sejtekben, ahol két vagy több X-kromoszóma található, csak egyetlen X-kromoszóma szintetizálja DNS-ét az autoszómákkal egyidőben, a többi az S-fázis vége felé kezdi DNS-ének replikációját, és mindig utolsóként fejezi be (lásd Harnden-szabály, 5.3.2. fejezet).

Bár bonyolult és nagyon munkaigényes módszer, a mikroautoradiográfia lehetővé tette a humán kariotípuson belüli pontosabb kromoszómamegkülönböztetést. Ez igen jelentős,



mert, mint fentebb láttuk, tulajdonképpen csak az 1, 2, 3, 16, 17, 18. és az Y-kromoszómát lehet klasszikus festéssel megbízhatóan megkülönböztetni, a többit csupán csoportbesorolás szerint tudjuk elhelyezni. Sok mindent megtudtunk az 1. kromoszómáról autoradiográfiás módszerekkel, de az 1. eddig is könnyen felismerhető volt. Ezért fontosabb az a felfedezés, hogy a 4. kromoszóma hosszú karján, az 5. kromoszóma rövid karján késve replikáló zóna található, tehát a B csoportban megoldódik az azonosítási probléma. A D csoportban a 13. kromoszómapár hosszú karján, a 14. centromerje közelében van egy-egy késő replikáló zóna, míg a 15. kifejezetten korán szintetizálja DNS-ét, korán replikáló. A 19. és 20. kromoszóma legkorábban replikáló kromoszómáink, de a 21. mégis késik egy keveset a 22-höz képest (Therman 1980).

A mikroradiográfiás módszer előremutatott. Mutatta a lehetőségét annak, hogy a kromoszómák ne csak homogénen festődő képletekként legyenek vizsgálhatók. Talán „rá lehet beszélni“ őket, hogy újabb részleteket áruljanak el egyéniségükről. Ezt sejtette meg korunk egyik legnagyobb humángenetika-professzora, Lionel Penrose, amikor a Chicagói Konferencia (1966) megnyitásakor a következőket mondta: „Könnyű vezetetni magunkat a felismerhető módosulások által és elfeledni, hogy a mögötte rejlő variabilitás még mindig rejtve szemünk előtt, egészen addig, míg valamely új technikai megoldás fel nem fogja fedni a kromoszóma finomabb szerkezetét, éppúgy, mint a *Drosophila* nyálmirigysejtjeiben.“

Prófécia? Ha azt nézzük, hogy nyilvánvaló az utalás az óriáskromoszóma sávozottságára, akkor bizony az. Ha ellenben azt nézzük, hogy Penrose professzor és általában a genetikusok már igen sokat tudnak 1966-ban arról, hogy a kromoszóma hosszán egyes szakaszok sem strukturálisan, sem funkcionálisan nem azonosak, akkor legfennebb hit a citogenetika fejlődésében. Hit abban, hogy ha létezik eu- és heterokromatin, meg kell találnunk vizualizálásának módját is.

## 6.2. VALÓDI ÉS MÁS KROMATIN?

Egyik előző fejezetben (1.1.2) már szó volt arról, hogy a nyugvó, tehát nem osztódó sejtmagban sötétebbre festődő, kondenzált rögöket és laza szerkezetű, világosabban festődő része-

ket különböztethetünk meg, és hogy az előbbi hetero-, az utóbbit eukromatinnak nevezzük. A heterokromatin „hetero“, tehát más voltát az „eu“, tehát valódinak, igazinak nevezett kromatinnal szemben elsősorban festődésbeli különbség magyarázta. Lássuk talán most részletesebben e két kromatintípust.

A sejtmag sötétebbre festődő részeit Baccarini figyelte meg először még a XIX. század végén, és ő nevezte el *kromocentrum*oknak. A később meggyökeresedett *heterokromatin* fogalom Emil Heitztől (1928) származik. Ő több növény, köztük a mohafélék kromoszómáit követte a sejtosztódás során, és megfigyelte, hogy kétféle kromatin van: eukromatin, mely kondenzálódik a sejtosztódás során és fellazul, diffúzzá válik interfázisban, és heterokromatin, mely kondenzált állapotban marad interfázisban is. A kromocentrumok, melyeket Baccarini leírt, a heterokromatin megfelelői. Rövidesen már a kromoszómákon is fel lehetett ismerni a kondenzáltabb, heterokromatikus részeket. Erre különösen az *acetmuslica* esetében nyílt lehetőség, ahol a kromoszómákat és a hozzájuk kapcsolódó géneket egyaránt jól ismerték, így azt is meg tudták alapítani, melyek azok a kromoszómaszakaszok, amelyek nem lehet mutációkat felfedezni. Az ötvenes évekre (Hannah 1951) már tudtuk, hogy a *Drosophila* kromoszómáinak centromer körüli részei, az X-kromoszóma proximális harmada és a teljes Y-kromoszóma heterokromatikus: kondenzált sötétebbre festődő sávokat alkotnak az óriáskromoszómán, és nem kapcsolható hozzájuk mutáció. Tehát a heterokromatin genetikailag minden valószínűség szerint inaktív. 1959-ben aztán Lima de Faria oslói genetikus azt is megfigyelte, hogy a *Melanopus differentialis* nevű szöcske kromoszómáin a heterokromatin az eukromatinhoz képest késve szintetizálja DNS-ét, ún. *késve replikáló* (late replicating) zónákat alkot. Ezek a megfigyelések kialakították azt a nézetet, hogy az eukromatin a mendeli szabályokat követő gének tárháza, míg a heterokromatin genetikailag semleges, „génmentes“ anyagnak tekinthető, ami mai szemmel igen túlzó sarkítás.

A heterokromatin permanens inaktivitásába vetett hit akkor rendült meg alapjaiban, amikor kiderült, hogy az X-kromoszóma mindenestül heterokromatinizálódhatik — genetikai aktivitását elveszítve. A hím szöcske spermatocitájában például az X-kromoszóma heterokromatikus festődésű, de ugyan-

az az X-kromoszóma testi sejtekben éppúgy eukromatikus, mint a nőtény szöcske minden sejtjében (Hsu 1974). Az X-kromoszóma a molnárpóloska testi sejtjeiben is lehet mind hetero-, mind pedig eukromatikus. A témával foglalkozó forrásmunkák mindegyike említi a *Planococcus citri* nevű rovar, melynek hímjeiben a kromoszómagarnitúra fele, tehát egy teljes haploid szerelvény heterokromatinizálódik. Spencer Brown (1966) fedezte fel, hogy ezek az apai eredetű kromoszómák! A csírasejtképzés (meiózis) során aztán ez a genetikailag „elnémított“, heterokromatikus garnitúra elvész. A hím *P. citri*-ben tehát minden működő gén anyai eredetű. A következő generációban ellenben ezeket a géneket hordozó kromoszómák már apai eredetűnek számítanak, és mint ilyenek áldozataivá válnak a heterokromatinizációnak.

Közeliőbb, de legalábbis közismertebb példa a női sportolók szexvizsgálatához kapcsolódik, illetve az e néven ismert, világversenyeken kötelező procedúrához. Ez az egy időben nagy vihart kavart, ma már megszokott vizsgálat a nőgyógyászati diagnózis mellett tartalmazza a szájnyalkahártya-kenetből vagy hajhagymából vett sejtek ivari kromatin (szex-kromatin, Barr-testecske) elemzésének eredményét is. A Barr-testecske (5.3.2. fejezet) heterokromatinizálódott X-kromoszómát jelez, de ugyanakkor azt is, hogy mellette vagy mellettük létezik még egy aktív, eukromatikus X-kromoszóma is.

Tehát vannak a genomnak olyan részei, melyek mindig heterokromatikusak, és olyan részei, melyek hol hetero-, hol eukromatikus viselkedésűek? Bármennyire is furcsa, de így van. A *Planococcus* „elnémított“ apai kromoszómáival kapcsolatosan említett Spencer Brown (1966) tisztázta ezt a zavarosnak tűnő helyzetet. Ő a heterokromatint két kategóriába sorolta:

- a) konstitutív heterokromatin,
- b) fakultatív heterokromatin.

Mindkettő heterokromatin, mert annak ismérveit mutatja: 1. differenciáltan (erősebben) festődik klasszikus kromoszómafestékekkel, 2. mind interfázisban, mind mitózisban kondenzáltsága kifejezettebb, 3. késve szintetizálja DNS-ét (késve replikáló), 4. genetikailag mindkettő többé-kevésbé inaktív.

Mi különbözteti meg akkor őket? Az, hogy a konstitutív heterokromatin szerkezetileg is különbözik az eukromatintól;

mindkét homológ kromoszómán azonos módon és helyen található; genetikai inaktivitása azzal magyarázható, hogy valószínűleg egyáltalán nem tartalmaz működőképes struktúrgéneket.

A fakultatív heterokromatin ellenben szerkezetileg ugyanolyan DNS-t tartalmaz, mint az eukromatin; tartalmazza ugyanazokat a struktúr-géneket is, csak „viselkedése” heterokromatikus bizonyos életszakaszokban. Mint neve is mutatja, fakultatív, opciószerűen dől el egy kromoszómapár egyik tagjáról (pl. az egyik X kromoszómáról) vagy akár egy teljes haploid szerelvényről (pl. a *Planococcus apai* kromoszómáiról), hogy aktivitásukat veszítve kondenzáltak maradnak.

Hogyan magyarázzuk a fakultatív heterokromatin létrejöttét?

### 6.3. NEMI KROMATIN

A második világháborúból magasrangú repülő katonavosként leszerelt Murray Barr és a friss diplomás biológus Ewart Bertram (1949) fedezte fel az ivari kromatint a macska idegsejtjeiben. Érdekes, hogy nem voltak genetikusok. A kanadai London Ontario Egyetemén az idegrendszer fiziológiáját tanulmányozták, a neuronok kifáradását vizsgálták elektromos ingerlés hatására. Az idegsejtek magjában megfigyeltek egy elkülönülő kromatinrögöt a sejtmaghártya mentén. Lehetett volna éppen egy fajspecifikus jelenség is, de Barr és Bertram rájött, hogy e rög csak a nőstény macska sejtmagjában található, a kandúréban sohasem. A nősténynek viszont majd minden szövetében megtalálták. Barr és Bertram felismerte, hogy e megfigyelésük sokkal nagyobb jelentőségű, mint idegfiziológiai kísérleteik. Felhagytak tehát ez utóbbival, és végigelemeztek az ember, bundermajom, fehér selyemmajom, kutya, macska, nyérc, nyst, vadászgörény, mosómedve, medve, szkunk, prérifarkas, farkas, róka, kecske, szarvas, sertés, szarvasmarha és oposszum nőstényének és hímjének szöveteit, mindnél megtalálva a kizárólag női nemre jellemző heterokromatikus rögöcskét, melyet Barr *szexkromatinnak*, mi pedig felfedezője iránti tiszteletből *Barr-testecskének* (Barr-body) nevezünk. Ma a szexkromatin jelölés helyett a pontosabb *X-kromatin* vagy *női nemi kromatin* kifejezést ajánlják, a férfi-sejtekben azóta kimutathatóvá vált *Y-kromatin* vagy *férfi*

nemi kromatinnal való összetévesztés lehetőségének kizárására (Párizsi Konferencia 1971, Osztovcics 1977) (3. táblázat).

A Barr-testecske rövid idő alatt a klinikai gyakorlatban is jelentős szerepet kapott, a genetikai nem megállapítását tette lehetővé kérdéses esetekben (hermafroditizmus stb.). A klinikum megmutatta, hogy patológiás esetekben egynél több is lehet a Barr-testcskék száma, de eggyel mindig kevesebb, mint a sejt által tartalmazott X-kromoszómáké. Ez az ún.  $n-1$  vagy, az edinburghi David Harnden után, *Harnden-szabály*. E szabály szerint a normális nőnek éppúgy egyetlen X-kromatinja van, mint az XXY gonoszómaképletű Klinefelter-szindrómásoknak. Az XXX gonoszómás ún. szupernők éppúgy két Barr-testcskét hordoznak, mint a Klinefelter-szindróma XXXY változatának áldozatai.

Ohno és mtsai (1959) gondoltak először arra, hogy a Barr-testcskék jelenlétére a magyarázat az, hogy akárhány X-kromoszóma van egy kromoszómaszerelvényben, egy kivételével mindegyik inaktív. Ez logikus is volt, hiszen az X-kromoszóma jóval nagyobb, mint az Y, és génjei (pl. a színlátás, az Xg vércsoport, a G6PD-enzim stb.) kétszer szerepelnének nőkben és csak egyszer férfiakban. Ohnoék sejtése helyes volt, ennek

3. táblázat

A nemi kromatinok jellemzői (Srivastava, Lucas 1976 után, kissé módosítva)

Megkülönböztetés	X-kromatin (Barr-test, női nemi kromatin)	Y-kromatin (F-test, férfi nemi kromatin)
Nagyság Alak	1,0–1,2 $\mu\text{m}$ (átmérő) síkdomború vagy ellipszis	0,68–0,87 $\mu\text{m}$ (átmérő) kerek vagy ellipszis, néha basadt vagy „duplex”
Elhelyezkedés	a maghártya belső felületén (legtöbbször)	csak 5%-uk a maghártya belső felületén
Számuk sejtenként	$B = n - 1$ (Harnden-szabály, $B$ = a Barr-testek száma, $n$ = az X-kromoszómák száma a kariotípusban)	megegyezik az Y-kromoszómák számával
Megjelenítés	szájnyalakúmaghártya-sejtek a legmegfelelőbbek (fénymikroszkóppal kimutatható)	szájnyalakúmaghártya-sejtek, magzatvízsejtek (fluoreszcens mikroszkóppal látható, csak az Y hosszú karjának vége fluoreszkál, a negatív eredmény nem Y-hiány jele)

ellenére az edinburghi *Mary Lyon* (1961) nevéhez fűződik az X-kromoszóma inaktivációjának elmélete, mivel pontosabb kísérleti bizonyítékokkal támasztotta alá. *Mary Lyon*, aki egyike a modern citogenetika „nagy nőinek” (Barbara McClintock, Lore Zech, Patricia Jacobs, Marina Seabright, Ann Chandley, Karin Buckton, Janet Rowley és mások mellett), laboratóriumi egerekkel dolgozott. Megfigyelte, hogy az XO kariotípusú, tehát csak egy X-kromoszómájú nőtény egér teljesen egészséges, és még szaporodóképes is. (Megjegyezzük, hogy az embernél sem jár különösebben súlyos elváltozásokkal az XO, gonoszóma-összetétel, az ún. Turner-szindróma, de néhány (Lejeune 1982 szerint összesen 30) kétséges esettől eltekintve mindig sterilítással társul.

Továbbmenve *Mary Lyon* azt is megfigyelte, hogy az X-kromoszómához kötött szörmutációt hordozó egerek heterozigóta nőtényein a két X-kromoszóma által meghatározott szín foltos mozaikként jelentkezik, ahelyett, hogy csak az egyik X-kromoszóma dominanciája érvényesülne, ahogy az a „rendes” allélpárok esetében törvényszerű. *Lyon* következtetése az volt, hogy a bőr felületén hol egyik, hol másik X-kromoszóma allélja érvényesítette hatását, így feltételezhető, hogy a megfelelő bőrfelületen csak az egyik X-kromoszóma aktív, párja inaktív. Az X-kromoszóma inaktivációja az embrionális fejlődés során, annak korai szakaszában történik, hozzávetőlegesen az 1000–2000 sejt állapotban. Egy kivétellel mindegyik X-kromoszóma heterokromatinizálódik, mégpedig véletlenszerűen. Az inaktív X-(patológiás esetben több X-) kromoszóma tehát fakultatívan heterokromatikus marad az egyén egész életében. Egy évvel a *Lyon*-hipotézis megfogalmazása után *Grumbach* és mtsaj azt találták, hogy az X-kromoszómához kötött enzimek a nőkben is úgy termelődnek, mint a férfiakban, tehát mintha csak egy X-kromoszómájuk lenne. *Davidson* munkacsoportja is talált bizonyítékot az egyik X véletlenszerű inaktivációjára. Egy olyan nő sejtjeit tenyésztették, aki heterozigóta volt a G6PD-enzim két altípusára, tehát két X-kromoszómája kétféle G6PD-allélt tartalmazott. A sejttenyésztetből kiemelt egyetlen sejt utódainál (ez a klónozás) a két altípusból mindig csak az egyik volt kimutatható.

Meg kell jegyeznem, hogy hiba lenne a *Lyon*-hipotézist doktrínaként elfogadni. Túlás azt hinni, hogy mind a férfiban, mind a nőben csak egyetlen X-kromoszóma „működik”,

és a nő második X-e tulajdonképpen fölösleges. Hogy mennyire nem az, mutatják a 8.3. fejezet genommutációi, az, hogy az X-kromoszóma hiánya vagy fölös száma kóros állapot kiváltója.

## **7. A MÁSODIK ÉVTIZED: KROMOSZÓMA RABRUHÁBAN**

A modern humán citogenetika első évtizede záporozta a felfedezéseket mind a citogenetika technikai vonatkozásaiban, mind pedig a kromoszómákkal kapcsolatos patológiában. Akinek — mint e sorok írójának is — biológiai világképe éppen ebben az 1960—70 közötti évtizedben alakult ki, idegesen kapkodhatta fejét a rajokban elősüvöltő újabb és újabb adatok után. Ez alatt az évtized alatt meghatározták az ember és az emlősök zömének kromoszómaszámát és nagyjából a kariotípusát is. Felfedezték az összes nagy kromoszómaszindrómát. Főleg az egy teljes kromoszóma többletével (triszmia) vagy hiányával (monoszmia) járókat (11.1 fejezet) sikerült azonosítani még az évtized elején. A Down-kór kromoszómális állapotjának felfedezését (21. kromoszóma triszómiája, Lejeune 1959) követte a Patau-kór (13. kromoszóma triszómiája, Patau és mtsai 1960), majd az Edwards-kór (18. kromoszóma triszómiája, Edwards és mtsai 1960, Smith 1962), a Klinefelter-kór (XX ivari kromoszóma-összetétel, Ford és mtsai 1959a), Turner-kór (XO ivari kromoszóma-összetétel, Ford és mtsai 1959b) és az XYY kromoszómaállapot (Jacobs 1959) felfedezése. Megoldódott az emberi sejtek (limfociták) laboratóriumi tenyésztése. Sugárzó izotópokat építettek be a kromoszómába. Vizsgálták az elvetélt magzatok kromoszómáit, és megkezdtek a magzatvízből nyert sejteken az élő magzat kromoszómavizsgálatát. Felderítették a főbb kromoszómakárosító tényezőket (sugárzás, klasztogén vegyszerek és vírusok).

Akkora volt a humán citogenetika fejlődési sebessége, hogy félő volt, kiég az évtized végére. A tudományág legjobbjai kezdtek mondogatni, hogy vége a „citogenetikai mézeshegyeknek“, újabb felfedezésre mind kevésbé lehet számítani, a kromoszómavizsgálat is be fog szürkülni a klinikai rutin kü-

lőnben igen hasznos unalmába. Miért? Mert az adott módszerekkel nem lehetett részleteket felfedni a kromoszómákon, még a homológ párok azonosítása is nehézkes volt, hát a finomabb átrendeződéseké. Az 1960 körül forradalmi újításnak számító módszerek nem egészen egy évtized alatt már visszahúzó konzervatívizmussá merevedtek.

Pedig a hatvanas évek végére már a „levegőben volt” a kromoszómák hosszanti alegységei láthatóvá tételének eszméje. A lehetőség tudatát csak erősítette mindaz, amit eddig megtudtunk az eu- és heterokromatinról, az autoradiográfiás kromoszómadifferenciálásról. Voltak közvetlen előzmények is. Így például Darlington és La Cour már 1940-ben megsávozta a liliumfélék gyökércsúcsának kromoszómáit az általuk „nukleinsav-éheztetésnek” nevezett módszerrel. Ők úgy hozták létre a sávozott kromoszómákat, hogy a Trillium- és Paris-gyökereket hosszú ideig 0 °C-on tartották. A módszer nehézségeihez elég elképzelnünk, milyen alacsony lehet a mitózisok száma a fagypontra. Később Yamasaki orchideakromoszómákat festett savas kezelés után orceinnel gyönyörű csíkosra. Munkája megelőzte korát (pedig ez már valódi kromoszómasávozás volt), ezért nem tudott korszakot nyitni (Therman 1980). Hiszen Yamasaki 1956-ban csikozott, amikor, mint fentebb láttuk, a humángenetikusok még csak a kromoszómavizsgálat elemi iskolájának padjaiban ültek.

De ahogy egy évtized elegendő a középiskola és egyetem elvégzésére, elegendő volt a humán citogenetika nagykorúsodásához is. Még mielőtt az iránta felsekert lelkesedés lényegesen alábbhagyott volna, megtörtént a várva várt módszertani áttörés Tjörbörn Caspersson stockholmi laboratóriumában.

A Caspersson-csoport a *mikroszkópi fluoreszcenciás eljárások* szaktekintélye volt már régebbről. A fluoreszcencia sejtteni alkalmazása azon alapszik, hogy vannak olyan festéksavak — *fluorokróm* a nevük —, melyekkel a sejteket festve, azok alkotórészei ultraibolya fény hatására csillogva világítanak, fluoreszkálnak a mikroszkóp alatt. Caspersson tudta, hogy a DNS szálain sorakozó nitrogénbázispárok gyakorisága változik. Ahol egy típus gyakoribb, ott a kromoszóma fénye is izzóbb kell hogy legyen. És lőn. Egymás után csillantak fel a csillagvirág, a lóbab, a kínai hörcsög és végül 1970-ben az ember kromoszómáin is a fluoreszkáló sávok. Egy olyan fluo-



rokróm okozta ezt, mely képes „befurakodni“ a DNS-be, a „quinacrin mustár“, mely a maláriaellenes gyógyszerként alkalmazott Atebrin (quinacrin-dihidro-klorid) rokona. A quinacrinról az általa láthatóvá váló sávokat „Q-sávoknak“ nevezték el (7.2. fejezet). Ezzel megkezdődött a genetikában a sávozott kromoszómák kora („banding era“) és vele a citogenetika újabb mézesheteinek sorozata. Nem az én ötletem ez a frigyközpontú hasonlat, több szerzőnél (Hsu, Hungford, Sandberg) olvastam a „second honeymoon“ kifejezést. A fluoreszcencia alkalmazása bonyolult és költséges. Az első „mézeshetek“ alatt elszaporodott citogenetikai laboratóriumokban csak a legritkábban volt meg a szükséges felszerelés. Olyan módszert is kellett találni, amellyel időtálló preparátumok készülhetnek, hiszen a fluorokróm izzása kihuny néhány perc alatt. 1971-ben az USA-ban T. C. Hsu és kolléganője, Frances Arrighi létrehozták a C-sávozást. Molekuláris biológusok (a fényképei alapján filmstárosan szép) Mary Lou Pardue és (a „normális“ genetikus megjelenésű szemüveges) Joseph G. Gall (1970) nukleinsav-hibridizációs kísérletei vezették őket. A C-sáv elnevezés onnan származik, hogy módszerükkel a centromer festődik első-sorban (7.3. fejezet). A C-sávozás jelentősége inkább elméleti, mint gyakorlati, hiszen nem teremt mintázatot a kromoszóma teljes hosszán. Hónapok sem teltek el azonban, és az Arrighi, Hsu (1971) -módszer továbbfejlesztésével az edinburghi A. T. Sumner és mtsai (1971) teljes hosszukban megcsíkozták a kromoszómákat. Őket is nagyon gyorsan, még 1971-ben követte az olasz származású, Skóciába honosodott Marina Seabright tripszinemésztési módszere, melynek változatai mindmáig a leggyakrabban alkalmazottak. Mind Sumner, mind Seabright módszerével a kezelés végén Giemsa professzor festési eljárását alkalmazzuk. Így a G-sávozás nevet kapta (7.4. fejezet). A Q-, C-, G-sávokat követték a fiatal francia Bernard Dutrillaux (ma a párizsi Institut de Progénese professzora) R-sáv módszere (Dutrillaux, Lejeune 1971) (7.5. fejezet). Az R-sáv mintázata fordítottja a Q- és G-sávokénak, innen az elnevezés, a reverse-bandingből származóan. Végül megemlítjük a sejtmagvacska (nukleolusz) organizáló zónáját festő N-sávozást, melyet a saporói Sei-Ichi Matsui és Motomichi Sasaki (1973) közölt; a T-sávozást, mely a kromoszómavégeket (telomert) festi (Dutrillaux 1973) és az F-sávozást, melyet Rodman (1974) dolgozott ki és a klasszikus Feulgen DNS-festésen alapszik.

Q-, C-, G-, R-, N-, T- és F-sávok: ráhúztuk a rabruhát a kromoszómáinkra. Olyan rabruhát, melynek csíkjai minden egyes kromoszómára jellemzőek. A kromoszómasávok segítségével most már igen pontosan helyhez lehet kötni minden kromoszómát a kariotípus rabságában. E módszerekkel majd mindegyik kromoszómán felfedeztek kis, eddig felismerhetetlen aberrációt. A kromoszómasávok sokat feltárnak a kromoszómaszerkezet titkaiból, felmérhetetlen szolgálatot tettek és tesznek a klinikai genetikának, lehetővé tették a fajok kromoszomális evolúciójának vizsgálatát, új utakat nyitottak a rákos folyamatok kutatásában, és még sorolhatnám. A lényeg az, hogy a csíkos rabruhás kromoszóma „fogsága” felszabadított valakit: a kromoszómakutatót.

## 7.1. SÁV?

Különböző módszerekkel különböző sávmintázatot lehet létrehozni a kromoszómán. Hogyan lehet meghatározni e mintázat egységét, a sávot?

Forduljunk a legilletékesebb forráshoz, a IV. Nemzetközi Humángenetikai Kongresszus (Párizs 1971) és a stockholmi Citogenetikai Nomenklatúra Bizottság (ISCN 1978) zárójelentéséhez:

*Sávon (band) a kromoszóma azon részét értjük, amely egy vagy több sávozási módszerrel félreérthetetlenül megkülönböztethető a környező kromoszómaszakaszoktól, mivel azoknál sötétebb vagy világosabb. Az egyik módszerrel sötétre festődő sáv világosan festődhet más módszerrel. A kromoszóma e módszerekkel úgy látható, mint sötét és világos sávok folyamatos sorozata, tehát már a szabályból következően sem lehet szó sávközőkről (interband) vagy sávozatlan kromoszómaszakaszokról, a világos festődésű éppúgy teljes értékű sáv, mint a sötét.*

Hogyan határozzuk meg a sávok helyét, hogyan írjuk le és hogyan ábrázoljuk a sávozott kromoszómákat? A Párizsi Konferencia szabályozta ezt is.

Mint láttuk (3.1.; 4.2.; 5.2.3. fejezetek), a kromoszómát igen ritka esetektől eltekintve a centromer helyzete szerint rövid és hosszú karra lehet osztani, ezek jelölése „p” és „q”. A centromert, a kromoszómakarok végét (telomert) és a karo-

kon megjelenő feltűnő sávokat *landmark*knak nevezték el, melyeket magyarul kromoszóma-határjelzőknek lehet nevezni (Sellyei 1976). A Párizsi Konferencia (1971) döntése szerint a két szomszédos határjelző közé eső kromoszómaszakaszt *régió*nak (region) nevezik. A kromoszómarégiókat a centromertől a kromoszómavég felé sorszámmal jelölik. Így a centromer mellett van mind a rövid, mind a hosszú kar „1”-es régiója, utána a karok vége felé távolodva a „2”-es és így tovább. A határjelzőként használt sáv teljes egészében a határjelzőtől disztálisan (a kromoszómavég felé terjedően) elhelyezkedő régióba tartozik. A centromer által kettéosztott sáv két külön sávként szerepel, a megfelelő kromoszómakar 1-es sávja az 1-es régióban. A sáv leírásakor tehát szükséges meghatározni a kromoszóma sorszámát a kariotípusban, a kar jelzését („p” vagy „q”), a régió sorszámát és az illető sáv sorszámát a régió belül. Ezeket az adatokat egymás után, távolságtartás és központozás nélkül közlik. Például: 1p33 az 1. sz. kromoszóma rövid karján a 3. régió 3. sávját jelöli.

A Párizsi Konferencián megrajzolt idiogram (sávdigram, banding diagram) a fentebb felsoroltak alapján készült. A Q- és R-sávok kellőképpen fedik egymást, így ha nem is egzakt mérések alapján, de az általános megfigyeléseket, a citogenetikuusi empiriát jól tükrözi ez az idiogram. A sávok helyzetét nem széleik, hanem középpontjuk szerint ábrázolták. Nem jelölték a festődés vagy a fluoreszcencia intenzitását, hiszen ez erősen függ a sávozáskor alkalmazott módszertől. Az intenzitásbeli különbségek csak a határjelzőként használt sávoknál nyertek különleges jelentőséget, a centromer és a kromoszómavég mellett, hogy így természetes és könnyen felismerhető régiókra lehessen osztani minden kromoszómát.

A sávdigramon (sávidiagramon) a sötét sávok a G-sávozás erős festődésének, a Q-sávozás intenzív fluoreszcenciájának és az R-sávozás halvány festődésű sávjainak felelnek meg. A C-sávok idiogramja külön készül.

Mint később látni fogjuk (7.7. fejezet), a módszerek tökéletesedésével szükségessé vált a sávok újraosztása alegységekre. Mindegyik alsáv (sub-band) megtartja az eredeti határjelző sáv régió- és sávszámát. A sáv felosztásakor egy pontot iktatnak az eredeti sávot jelölő sorszám után, ezt követi az alsáv sorszáma. Az alsávokat is a centromertől távolodóan sorszámozzák. Pl. ha az eredeti sáv 1p33 három alsávra oszlik,

ezeket 1p33.1; 1p33.2 és 1p33.3-al jelölik, a 33.1 közelebb, a 33.3 távolabb lévén a centromertől. Amennyiben az eredeti sáv mibenléte kérdéses, a pontot kérdőjel követi, és csak ezután a javasolt alsáv sorszáma, pl. 1p33.?!.

Az alsáv esetleges további felosztását újabb sorszámozással, de pontozás nélkül jelöljük. Pl. az 1p33.1 alsáv felosztható 1p33.11; 1p33.12; 1p33.13 stb. al-alsávokra (14. ábra, Yunis 1981).

## 7.2. FLUORESZCENS SÁVOK (CSILLAGOK AZ ÉJSZAKÁBAN)

Különlegesen megkapó az almazöld, narancs vagy piros fényben csillogó kromoszómák látványa a fluoreszcens mikroszkóp éjsztét látóterében.

Az ultraibolya fényben fényesen felizzó (fluoreszkáló) festékek alkalmazását a mikroszkópiában A. Köhler, a Zeiss cég munkatársa kezdeményezte még a század elején. Mint már említettem, Európában a Caspersson-munkacsoport volt a fluoreszcens vizsgálatok és különlegesen a fluorokrómokkal festett sejtalkotórészek mérésének (citofluorometria) terén a legnagyobb szaktekintély. Kromoszómakutatásai előrehaladtával Caspersson professzor elképzelése az volt, hogy létre kellene hozni egy olyan fluorokrómot, mely alkilálószeret tartalmaz. Az alkilánsok hatása utánozza a radioaktív sugárzásét, ezért radiomimetikumoknak is nevezik őket. Mutagén voltukat Charlotte Auerbach fedezte fel a második világháború alatt, a mustárnitrogént vizsgálva. A mustárnitrogénről a hatvanas évekre köztudott volt, hogy a DNS guaninához keresztkötéssel (cross-link) kapcsolódik. Így a stockholmiak a quinacrin nevű fluorokróm és a mustárnitrogén összekapcsolása mellett döntöttek. A casperssoni hipotézis szerint, amennyiben a bázispárok elhelyezkedése a kromoszóma hosszán nem esetleges, a GC bázispárokból gazdagabb részek több alkiláló fluorokrómot kötnének meg, mint az AT-gazdag zónák, tehát a kromoszóma hosszán a fluoreszcencia intenzitása változó lenne. Ed Modest bostoni szervesvegyészt bízták meg a quinakrinmustár szintézisével, aki sikerrel el is végezte a munkát. Ezt követte a bevezetőben említett Vicia, Scilla, Trillium, Cricetulus, majd a Homo sapiens kromoszómáinak vizsgálata, a quina-

crinról elnevezett Q-sávozás létrejött (Caspersson és mtsai 1968, 1970).

Nagyon tanulságos a Q-sávozás kidolgozásának története. Látszólag ez az igazi útja-menete a tudományos felfedezésnek: ismert tényeket (a DNS-ben a GC, AT bázispárok nem azonos sűrűségűek, az alkilánsok preferenciálisan kötődnek a guanin-hoz) ismert módszerekkel újszerűen kombinálni (új fluorkrom szintézise alkilánsból és quinacrinból, a fluoreszcencia alkalmazása kromoszómakutatásban) és végül a tények és módszerek újszerű együttesét egy tudományos és gyakorlati feladat megoldására alkalmazni (ha sávozást lehet létrehozni a kromoszómán, azonosíthatóvá válnak végre a homológok és a kromoszóma-alegységek).

Szép és esetünkben kiváló eredménnyel járó munkahipotézis volt a Casperssoné. Csak éppen annyit kell elárulnunk, hogy az eredmény nem a hipotézisnek megfelelően született: nem a GC-gazdag szakaszok fluoreszkálnak erősebben, hanem éppen ellenkezőleg, az AT-gazdag részek. Kiderült, hogy a mustárnitrogénre egyáltalán nem is lett volna szükség, hiszen a quinacrin-dihidrokloriddal — a maláriaellenes gyógyszerrel, melyet Atebrin néven forgalmazznak — a quinacrinmustáréval azonos fluoreszcenciámintázat hozható létre.

Az AT-gazdag szakaszokhoz való kötődésre a legegyszerűbb magyarázat Pullmantól származik (idézi Moutschen 1976), aki megfigyelte, hogy két egymást követő GC bázispár között a kapcsolat erősebb, mint két egymást követő AT között, így egy interkaláló festék (pl. a quinacrin), mely e kapcsolat felbontását feltételezi, kisebb ellenállásba ütközne az AT-gazdag, mint a GC-gazdag szakaszokon.

A quinacrinnaal festett kromoszóma 200 W-os túlnyomósos higanygőzlámpa által kibocsátott ultraibolya fény, kék gerjesztőszűrő és 510 nm hullámhossztartományú barrierszűrő alkalmazásával gyönyörű almazölden fluoreszkál, a fluoreszcencia intenzitása pedig a kromoszóma hosszán változik. Megfigyelték, hogy a 3. és 4. emberi kromoszóma centromerje, a 13-as, 15-ös, a 21—22-es rövid karja és szatellitái, no meg az Y hosszú karja erős fluoreszcenciát, de a vizsgált személyek között nagyfokú polimorfizmust is mutat (Zech 1969, Pearson, Bobrow 1970).

Az Y-kromoszóma polimorfizmusának vizsgálata aztán rövid úton elvezette az oxfordi Pearson, Bobrow-t és Vosát

(1970) egészen addig, hogy rájöjjenek: az Y-kromoszóma erősen fluoreszkáló, heterokromatikus, interfázisban is kondenzált hosszú karja felismerhető nem osztódó sejtekben is, erősen fluoreszkáló pont- vagy pontpárként. Ez a Barr-testecske (női nemi kromatin, X-kromatin) vizsgálatával társítható *F-testecske*- (az angol fluorescent bodyből) vagy *férfi nemi kromatin*-, vagy *Y-kromatin*-vizsgálat a kromoszomális nem igen pontos vizsgálatát teszi lehetővé kariotipizálás nélkül is (!), nemcsak a nemi fejlődés különböző zavaraiiban, hanem prenatálisan is a magzatvízből nyert főtális sejtekben vagy (első terhesség esetén) akár az anyai fehér vörsejtekben, a méhlepény ereinek összeköttetéseiben ugyanis magzati vérelemek keverednek az anyai keringésbe.

Ne becsüljük le azt a jelentős segítséget sem, amelyet az egér 40 akrocentrikus (telocentrikus) kromoszómájának fluoreszcens sávozása jelentett. A hetvenes évekig a legkisebb 19-es és az Y-kromoszómán kívül igen nehéz volt azonosítani bármelyik egérkromoszómát. Márpedig a laboratóriumi egér a legkisebb, így a leggazdaságosabb, legintenzívebben kutatott emlősállat. A *Drosophila* természetől sávozott óriáskromoszómájának példája mutatja, hogy egy kísérleti állat genetikai rendszerét megismerve hihetetlenül sokat tudunk meg magáról az emberről is. Az egér Q-sávozott kromoszómáit már 1972-ben standardizálták.

Nemcsak a különböző quinakrinszármazékokkal lehet sávmintázatot találni az ultraibolya fénnel megvilágított kromoszómán. A frankfurti Hoechst cég kutatója, Ingemar Hillwig és a Bonni Egyetem genetikus, Alfred Gropp (1972) egy új fluorokróm kromoszómasávzó hatásáról számoltak be. Ez a 2,2- (4-hidroxifenil) -6-benzimidazolil-6- (1-metil-4-piperazil) -dihidroklorid, mely a Hoechst 33258 nevet viselte. Érdekes, hogy a Hoechst 33258 szintén parazitaellenes gyógyszer, mint az Atebrin, csak egy féreg, a filária ellen szintetizálták. A Hoechst 33258-ról kiderült, hogy szintén az AT-ben gazdagabb DNS-szakaszok erősítik fel fluoreszcenciáját (Latt 1973). Ez a fluorokróm 1972 óta csodálatos citogenetikai karriert futott be, és jelenleg bisbenzimid vagy H33258 néven a modern kromoszómagenetika egyik legértékesebb vegyszere. Hillwig és Gropp első megfigyelése csak annyi volt, hogy az egérkromoszóma centromer körüli régióját igen intenzív fluoreszkálásra készíti a H33258. Ezután viszont még érdekesebb felfedezést

tett ugyanez a szerzőpáros (Hillwig és Gropp 1973), azt is hogy ha az élő sejteket (egérsejtenyészeteket) kezelik ezzel a anyaggal, a centromerzóna kondenzációja nem megy végbe és ez a rész fonalszerűen megnyúlt marad. Mivel ezt a fonalszerű centromert csak az egér eredetű kromoszómákon lehet megfigyelni, igen alkalmas a sejthibridekben az egérkromoszómák felismerésére (Kim, Grzeschik 1974, Lin és mtsai 1974 Kucherlapati és mtsai 1975, Imreh és mtsai 1976). Raposa és mtsai (1974) azt is jelentették, hogy megfelelő koncentrációban a H33258, a C- és a Q-sávozás előnyeit egyesítve, alkalmas az emberi kariotípus vizsgálatára.

Az *akridinoranazs* (AO) nevű fluorokróm jól ismert hisztokémiai festék volt a DNS kimutatására. Rövidesen kiderült róla az Oxfordi Egyetemen, hogy szintén sávmintázatot hoz létre az emberi kromoszómákon, de ez a sávmintázatot fordítottja a Q-sávozásnak (és a G-sávozásnak), tehát R-sávozás (Bobrow és mtsai 1972). Az AO kettős szálú DNS-hez kötődve zölden fluoreszkál, egyszálú DNS-hez kötődve narancsvörös. Hőkezelés után mindkét színű sáv látható a kromoszómakarokon. Amit a „szép kromoszómáról” (3.1. fejezet) írtam, talán itt még indokoltabb, hiszen e színek éjfélete mikroszkóp mezőben ragyognak.

Az *etidium-bromid* (EB) nevű fluorokróm nem kapcsolódik specifikusan egyik nitrogénbázishoz sem. Az ember és lóbab kezeletlen kromoszómái egyenletesen, fényes narancsszínben fluoreszkálnak EB-kezelés után, de a *Scilla sibirica* nevű csillagvirág a Q-sávozással fordított R-sávmintázatot mutat (Hsu 1974).

A hetvenes évek végén már több olyan fluoreszcens antitibiotikumot is találtak, melyek a kromoszómák GC bázispárokban gazdagabb szakaszaihoz kötődnek: *kromomicin A<sub>2</sub>*, *mitramicin*, *olivomicin* (Schweizer 1977, Sande és mtsai 1977). Ezek is R-sávozók tehát.

A kromoszómák fluoreszcenciás vizsgálatában jelenleg nagy szerepe van az immunológia behatolásának a citogenetikába. A *fluorokrómmal jelzett ellenanyagok* specifikus kötődése biztosított, és segítségükkel a kromoszóma igen lényeges morfológiai és funkcionálisbeli részletei deríthetők fel. A New York-i Columbia Egyetemen Orlando J. Miller és Bernard Erlanger (1975, idézi Hsu 1979) bizonyították elsőként, hogy az antiadenozin ellentest specifikusan kötődik a Q-sávok-

hoz. Ez végleges bizonyíték arra nézve is, hogy a quinakrinszármazékok tényleg az AT-gazdag szakaszokat festik. Ugyanakkor az anti-5-metilcitozin ellentesttel R-sávózást sikerült elérni, tehát a GC-gazdag szakaszok specifikus festését.

A felsorolt fluoreszcens sávmódszerekből azt a következtetést lehet levonni, hogy kizárólag DNS-függőek; a Q-fluoreszcenciát az AT tartalom növekedése segíti, a GC-tartalomé csökkenti. Bár ez az állítás érvényes, mégis általánosító egyszerűsítés. A *Mus musculus* bizonyosan AT-gazdag centromerje Q-val nem fluoreszkál fényesen, H33258-al igen. A *Mus cervicolors* hasonló zónája alacsonyabb AT-tartalmú, mégis igen fényesen izzik ultraibolya fényben. A *Cancer pagurus* nevű tarisznyarak különböző fehérjetartalmú sejtjeiben a Q-fluoreszcencia is különböző (Bostock, Sumner 1978). Az AO-fluoreszcencia különböző fehérjekivonási módszerekkel is erősen befolyásolható (Bobrow és Madan, 1973).

A gyakorlatban a fluoreszcens kromoszómaanalízis elég sok hátránnyal jár: 1) A fluoreszcens sávok analízisét — mint említettem — megnehezíti, hogy speciális felszerelést igényel. A jó minőségű fluoreszcens mikroszkóp nem olcsó mulatság, gyengébbel kísérletezni pedig időpocsékolás. 2) A kromoszómák közvetlen vizsgálatára elég kevés idő jut, mert UV fény alatt a fluoreszcencia igen gyorsan elhalványodik, kihuny. A fényképek minősége a szegényes fényviszonyok és a „fordított kép” (sötét alapon világos kromoszómák) miatt bizony ritkán részletűs. A mikroszkopizálás alapszabálya különben is, hogy minél többet kell megfigyelni közvetlenül a mikroszkópban. A fénykép, még a legtekélyesebb is, csak veszít a felismerhető részletekből. 3) A szemünk sem megfelelő folyamatos fényintenzitás-átmenetek követésére, ezért automata fotoelektromos berendezésekkel, komputeres analízissel próbálkoztak, ami viszont korántsem csökkenti a kromoszóma-vizsgálat költségeit (Hsu 1974, Bostock, Sumner 1979).

### 7.3. C-SÁV: DADOGÓ ÖRÖKLETES INFORMÁCIÓ?

A genetika egyik mindmáig megoldatlan titka, miért tartalmaz az eukarióta genom sokszor igen nagy mennyiségű ismétlődő (repetitív) szekvenciát. A rövid DNS-szakaszok néha többszörös ismétlődése (pl. TATATATATA...), „dadogá-



sa" semmiképpen sem jelenthet „értelmes genetikai szöveget“. Köztudott, hogy a mRNS a DNS szekvenciáinak átírásával, transzkripciójával születik. Mivel az RNS komplementer a DNS egyik szálával, nem lehetetlen ezt a komplementaritást kihasználva *in vitro* (szervezeten kívüli) körülmények között lokalizálni az RNS kapcsolódását a DNS-hez. Ha ismert szekvenciájú, sugárzó izotóppal jelzett RNS-darabot juttatunk a DNS közelébe, amennyiben az komplementaritásánál fogva hozzákapcsolódik a DNS-hez, ott helyben DNS—RNS hibrid keletkezik. Neve tehát: *in situ* DNS—RNS hibridizáció. Az elv adott volt, de a kivitelezés csak látszólag egyszerű. A „molekuláris biológia és citológia házasságát“ (Hsu 1979) jelentő *in situ* hibridizációt a már említett Gall és Pardue (1969) végezte először sikeresen. Azóta a módszer igen sokat fejlődött és jelenleg a génlokalizáció legigéretesebb eljárásainak egyike (Henderson 1982). Gall és Pardue előtt is sikerült hibridizálni DNS-t RNS-el. Ezt úgy végezték, hogy a DNS-t enyhe lúgos kezeléssel denaturálták, ami azt jelenti, hogy a kettős spirált két szálára bontották, majd az oldathoz  $^3\text{H}$ -uridinnal jelzett RNS-t adtak. A szálak újraegyesítését (a renaturációt) hosszabb-rövidebb idejű meleg nátrium-citrát- és konyhasóoldatban végezték. Ezután ribonukleáz enzimmal eltávolították a fölösleges nemhibridizált RNS-t, és érzékeny nukleáris mérőberendezéssel mérték a beépült radioaktív RNS mennyiségét. Az *in situ* hibridizáció nehézsége éppen „*in situ*“ voltában rejlik. A DNS-molekulát kromoszómává tömörödött kondenzált állapotában kell denaturálni, majd a hibridizációt megejteni. Emlékezzünk (3.3. fejezet): a kromoszóma 10 000-szer rövidebb, mint az általa tartalmazott DNS-molekula. Ahhoz, hogy felületén egy jól körülhatárolt helyen találjuk a radioaktív jelzést, az RNS mennyiségének viszonylag kicsinynek, az RNS radioaktivitásának viszont igen nagygnak kell lennie. Nos Gall és Pardue megtalálták a lehetőséget, hogy a karmos béka (*Xenopus laevis*)  $^3\text{H}$ -uridinnal „táplált“ sejtenyészeteiből a repetitív DNS-t tartalmazó riboszomális cisztronnak megfelelő jelzett RNS-t ultracentrifugálással elválasszák. Később a riboszomális RNS szintézisét is kimódolták, kivonva a szatellita régió (a másodlagos befűződés, a nukleoláris cisztron helye) DNS-ét és *in vitro* templatként használva szintetizálták az RNS-t. Ezután eltávolították a preparátumok saját RNS-ét, lúgos kezeléssel denaturálták a kromoszóma-DNS-t, sötétben

vékony filmréteggel fedték be a lemezeket, és hagyták exponálódni elég hosszú ideig. Előhívás után a szatellita DNS-nek megfelelő szakaszokon 6—8 ezüstszemcse (laborslangben „grain”) jelezte az RNS—DNS-hibridizáció helyét. Pardue és Gall leggyakrabban idézett cikke nem ez, a módszer ismertetését tartalmazó, hanem az egy évvel későbbi (1970), amelyben az egér (tehát végre egy emlős a kételtűek után) szatellita DNS-ének lokalizációját írják le az akrocentrikus kromoszómák centromerzónájában. E dolgozatban azt is megírták, hogy az *in situ* hibridizáció után megfestett citológiai preparátumokon az egér centromerzónája erősebben festődött Giemsa-olddal, mint a karok.

Az egér szatellita DNS-e nagyfokúan repetitív, „dadogó” genetikai anyagot tartalmaz. Metabolikus aktivitása nem mutatható ki. Késve replikálja DNS-ét. Lapozzunk vissza a 6.2. fejezetre: mindez a heterokromatin ismerve.

Frances Arrighi és főnöke, T. C. Hsu (1971) érdeme, hogy felismerte a Pardue és Gall *in situ* hibridizációs módszere mögött megbújó kiváló lehetőséget a heterokromatin citológiai kimutatására. Hiszen ha a centromer körüli heterokromatin nagyfokúan repetitív, akkor logikus, hogy gyorsabban renaturálódik, mint az egyedi szekvenciákat tartalmazó részek. Tehát a lúgos denaturációt, majd meleg sóoldatos renaturációt követően a Giemsa-festék sokkal hevesebben festi a már renaturált, mint a még denaturált állapotban levő részeket. Mivel mind a két X-kromoszóma egyformán festődik e módszerrel, az eljárás csak a konstitutív heterokromatin kimutatására alkalmas.

Arrighi és Hsu (1971) módszerével létrehozott mintázatot C-sávoknak nevezte el a Párizsi Konferencia (1971). E két szerző a heterokromatin kimutatására alkalmazott denaturációs-renaturációs módszert egyértelműleg mint új humán citogenetikai festési eljárást írta le a Cytogeneticsben. Ennek köszönhetik a dolgozat sikerét, mert a patológusok azonnal felfedezték jelentőségét a klinikai genetikában. Nem így a Lancet angol orvosi lap szerkesztői, akik Hsu szerint azzal utasították vissza az először hozzájuk beküldött dolgozatot, hogy nincs klinikai jelentősége (Hsu 1979). A történeti hűség kedvéért meg kell említenünk, hogy Yunis és Yasmineh (1971) Arrighivel és Hsuval egyidőben közölték a Science-ban, hogy

az alkálikezelés szatellita DNS tartalmú heterokromatin festését teszi lehetővé.

A DNS-denaturáció tényét Mace és mtsai, majd de la Chapelle és mtsai be is bizonyították egyszálas DNS-re specifikus antiszérummal és akridinoranzs fluoreszcenciával. Később viszont Pathak és Arrighi, Schmiady és mtsai és még mások is rájöttek, hogy a C-sávozás nemcsak de-renaturációval, hanem DNS-kivonással is jár éppen a nem festődő kromoszómaszakaszokon (Bostock, Sumner 1978). Ezen a nyomon haladva Alfi és mtsai (1973) szelíd dezoxiribonukleáz-kezeléssel is elérték C-sávozást.

Ha jól meggondoljuk, nincs tényleges ellentmondás a denaturációs-renaturációs mechanizmus és a DNS-eltávolítás között. A heterokromatin tulajdonságait ismerve, mindkettő hozhat létre C-sávot. Legfeljebb annyi a különbség, hogy az első mechanizmusban a konstitutív heterokromatin repetitívítása, a másodikban „tömör csomagolódása” játszsa a főszerepet.

A C-sávozás felfedezése óta eltelt jó évtizedben nagyon sok állat- és növényfaj kromoszómáit sávozták e módszerrel. A növényeknél a denaturációt NaOH helyett  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -vel lehet eredményesen végezni, de emlőskromoszómát is lehet C-sávozni bárium-hidroxiddal. Az általánosítható következtetések számos vizsgálat nyomán a következők (Srivastava, Lucas 1976):

1. minden megvizsgált fajon létre lehetett hozni C-sávokat;
2. az esetek túlnyomó többségében a C-sáv a centromerzónában van;
3. centromeren kívüli C-sáv gyakran látható a telomer terminális szakaszán;
4. közbeékelődő (interszticiális) C-sáv, bár létezik, igen ritka;
5. a heterokromatin össz mennyisége a C-sávozás alapján a legtöbb vizsgált fajnál meghaladja a genom 20%-át;
6. a C-sávozás nem segít a homológok könnyebb felismerésében, egyrészt mert kevés többletinformációt hordoz a homogén festődésű kromoszómákhoz képest, másrészt mert az apai és anyai eredetű kromoszóma C-sáv-nagysága között gyakran tetemes az eltérés (ez utóbbi individuális polimorfizmus ellenben felhasználható apasági vizsgálatokban).

#### 7.4. G-SÁV: MITOTIKUS KROMOMER?

A Q-sávozás új korszakot nyitott a citogenetikában, de hátrányai között szerepelt, hogy rövid életű; a C-sávozás ugyan permanens festés eredménye, de nem segít sokat a kromoszómaazonosításban. Szerencsére — mint mindig, amikor az elméleti és módszerbeli feltételek adottak — a kialakult szükségletre már „levegőben lóg” a megoldás. Sumner és mtsai (1971) a C-sávozásban használt meleg sóoldatos kezelést lúgos előkezelés nélkül alkalmazva, sok harántsávot hoztak létre Giemsa-festéssel a kromoszómán. Módszerükkel, mely ASG-ként is ismert (Acetic-Saline-Giemsa) a modern citogenetika felfedezéseinek labdája, mely Stockholmból (Q-sáv) Texasba (C-sáv) repült, visszapattant Európába, hiszen Sumnerék éppúgy a skóciai Edinburghben dolgoztak, mint Marina Seabright (1971), aki a mindmáig talán legnépszerűbb sávozási eljárás kezdeményezője, a tripszinemésztéses módszeré. Mivel az előkezeléstől függetlenül végül a Giemsa-féle festékoldattal „csikozódik” a kromoszóma, az eljárást a Párizsi Konferencia G-sávozás-ként jegyezte be és standardizálta.

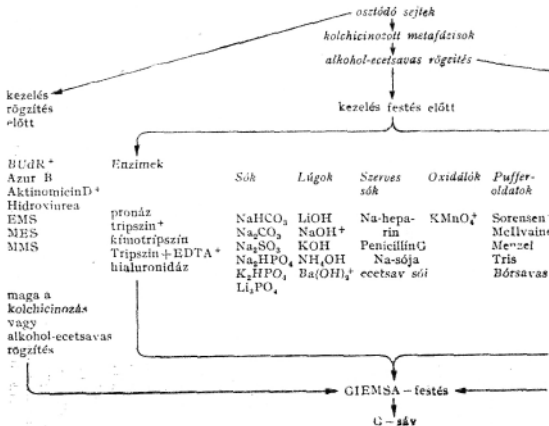
Meg kell említenem, hogy a C-sávozásból kiinduló G-sávozási módszerek kikísérletezésében az amerikai Drets és Shaw (1971) végzett úttörő munkát. A Seabright tripszines oldatát verzénnel (EDTA) kombináló Wang és Fedoroff (1972) pedig a talán legreproduktibilisabb G-sávozási módszert dolgozták ki, a mai citogenetikai laboratóriumok nagy többsége — a miénk is — az ő módszerük valamelyik változatát alkalmazva sávozza kariotipizálás előtt a kromoszómákat. 1971—76 között tucatjával írták le azokat a lehetőségeket, melyekkel G-sávok hozhatók létre. Közös jellemzője mindannyiuknak, hogy a Giemsa-oldat ugyanazokat a kromoszómaszakaszokat festi sötétebbre, melyek több fluorokrómot kötnek meg Q-sávozás-kor, tehát erősebben fluoreszkálnak. A Q- és G-sávok tehát egymásra helyezhetők, és ma már azt is tudjuk, hogy a fenti sorrendben létre is hozható a két sávmintázat ugyanazon a kromoszómán.

A G-sávmódszerek fejlődésére 1971 után az volt jellemző, hogy az anyagok és előkezelések tucatjait próbálták ki, és ténylegesen változatosabbnál változatosabb eljárások vezettek ugyanarra az eredményre: G-sávmintázat megjelenésére. A szerzők felsorolása fölöslegesen terhelne anyagunkat, de any-

#### 4. táblázat

##### A G-sávmintázást létrehozatali lehetőségeknek áttekintése

A + -szal jelzett kezelési módok eredményesebbek



előkezelés  
nélkül

Fehérje-  
dena-  
turálók  
urea +  
guanidin  
HCl +

Koldtorok  
és/vagy  
deter-  
gensek  
EDTA +  
SDS  
Aerosol  
OT  
Tween 80  
Triton  
X-100  
Lipsol +

nyit hadd említsek meg, hogy az extenzív „sávmódszervadászatban“ Kato, Utakoji, Korf, Comings és Hsu munkacsoportjai szereztek különleges érdemeket.

Tekintsük át nagy vonalakban, hogyan lehet G-sávokat létrehozni (4. táblázat):

*Enzim*es kezeléssel (pronázzal) Dutrillaux-ék Párizsban már Seabright előtt sávoztak, de francia nyelvű dolgozatuk és nehézkesebb módszerük nem vált közismertté. Következett a tripszin, kimotripszin, tripszin+EDTÁ-s módszerek ármádiája. Ezek főleg az enzim oldószerében, a kezelési hőmérsékletben és időtartamban különböztek egymástól. Újabban hialuronidázzal érnek el érdekes eredményeket.

A DNS denaturációjával (hőhatás) G-sávokat lehet létrehozni, de a *DNS-denaturációt nem feltételező módszerek* száma is elképesztő. Alkáli-fémek sói lúgos közegben, alkáli-fémek hidroxidjai, de az ammónium- és különösen a bárium-hidroxidos előkezelés is igen alkalmas G-sávok létrehozására. *Oxidáló*k (kálium-permanganát) és *szerves sók* (heparin, a penicillin nátriumsói, az ecetsav sói stb.) éppúgy létrehozhatnak G-sávokat, mint egyes *fehérjedenaturáló*k (urea, guanidin-HCl). A különböző *pufferoldatok* (kiegyenlítőoldatok) önmagukban melegen vagy tripszinnel kombinálva szobahőn, sőt 4 °C-n is jól sávozzák a kromoszómákat, különösen ha kalcium- és magnéziumhiányos változataikat alkalmazzuk. A szerves vegyületek közül különlegesen érdekesek a kelátorok (ezek gyakran nedvesítőszer, detergens is ugyanakkor). Egy skóciai detergennel, a Lipsollal például meglepően egyszerű és reprodukálható a G-sávozás. Egyes szerzők szerint a tripszin hatása is elsősorban kelátor hatás.

Korf és munkacsoportja (1976) két külön laboratóriumban, a New Jersey-i Long Branch-ben és a New York-i Columbia Egyetemen azonos kísérleteket párhuzamosan végezve kutatták, megőrzi-e a tripszin kromoszómasávozó hatását akkor is, ha ún. tripszin inhibitorokat (az enzim aktivitását megszüntető anyagokat) adagolunk oldatához (pl. a szójabab-tripszin inhibitor). Szerintük a kalcium-, esetleg a kalcium+magnéziumionok kelátora a tripszin, de a szabad enzimkötő helyek szerepe nagyobbak tűnik, tehát mégis az enzimaktivitás a döntő. Ennek ellentmond viszont sokunk megfigyelése, sőt rutinszerű laborgyakorlata, mely szerint 0–4 °C-on (melyen enzimaktivitása nehezen feltételezhető) hosszabb idő alatt

## 5. táblázat

A sávmódszerek által felderített kromatintípusok  
(Comings 1978 után, kissé módosítva)

	1. Centromer körüli konstitutív heterokromatin	2. közbeélt vagy G-sáv-hetero- kromatin	3. Eukromatin
melyik sáv tartalmazza ?	C	G	R
hol ?	általában a centromer körüli zónában	a kromoszómák ar hosszán	a kromoszómák ar hosszán
genetikai aktivitás	inaktív	valószínűleg inaktív	általában aktív
DNS-replikáció ideje	késő S-fázis	késő S-fázis	korai S-fázis
bázisjellemzők	GC-gazdag, semleges vagy AT-gazdag a szatellita DNS-től függően	AT-gazdag	GC-gazdag
DNS-repetitívitas	repetitív, szatellita DNS	mérsékeltén repetitív és egyedi szekvenciák	mérsékeltén repetitív és egyedi szekvenciák
DNS-metiláció	erősen metilált állapot	többé-kevésbé metilált	kevésbé metilált
a pachitén kromoszómahoz viszonyítva	a centromerikus kromomerek megfelelői	közbeélt kromomerek megfelelői	a kromomerközök megfelelői

ugyan, de ugyanúgy sávoz a tripszin, mint szobahőn vagy 37<sup>o</sup>-on. Éppen emiatt tételezték fel, hogy a Ca- és Mg-ionokat köti meg inkább, mintsem a fehérjéket emésztene.

Az összes eddig számba vett G-sávozási eljárás azon alapszik, hogy az alkohol-ecetsavas rögzítés után és a Giemsa-festés előtt valamilyen kezeléssel megváltoztatjuk a festék kötődési lehetőségét a kromoszóma hosszán. Maga az alkohol-ecetsavas rögzítés nagyon lényeges beavatkozást jelent a kromoszóma szerkezeti felépítésébe. Az ecetsav tí. hisztont von ki és denaturál, a maradék fehérjét pedig kicsapja. Az alkohol-ecetsavval rögzített kromoszóma főleg DNS-ből áll, kevés fehérjemaradékkal, ami viszont elsősorban nem hiszton típusú (Hsu, Pathak, Schafer 1973). Comings és Avelino elektroforézissel azt is bizonyították, hogy a sósavas kezelés a hisztonokat majdnem teljesen eltávolítja, a G-sávozódást mégsem befolyásolja. Nos, a hisztonok savas fehérjék, a savas fehérjék



egyoldalú eltávolítására pedig a fentebb felsorolt anyagcsoportok majd mindegyike képes (Kato, Moriwaki 1972). Ez lehet a magyarázata, hogy amennyiben preparálás közben az alkoholt fellobbantjuk, már nem lehet megsávozni a kromoszómákat, hiszen a fehérjék ezután már hozzáférhetetlenek.

Van-e tehát szerepe a hisztonoknak a G-sávozódásban? Nem valószínű, hiszen a fentebb említett hisztoneltávolítások (rögzítés, savas kezelés) nem akadályai a kromoszóma homogenitásának. De ha formalinnal rögzítünk, ami megakadályozza a hisztoneltávolítást, tripszinnel akkor is meg lehet sávozni a kromoszómát. A leglogikusabb érv a hisztonok ellen Holmquisttől és Comingtól (1976) származik. Tudjuk, a G- és R-sávok egymás fordítottjai. Amennyiben tehát a hisztonoktól függne a sávozódás, a G- és R-sávok hisztonösszetétele lényegesen el kellene térjen egymástól. Mi pedig tudjuk, hogy a nukleosomális kromoszómaszerkezet mind a négy hisztonot tartalmazza, és a hiszton oktamer szerkezete független a DNS minőségétől. A G- és R-sávok pedig elsősorban ez utóbiban különböznek: a G-sávok zöme késve replikáló, az R-sávok korán replikáló DNS-t tartalmaznak. A fenti szerzők azt is megemlítik, hogy a hisztonellentestek immunfluoreszcenciája egyenletes a kromoszóma teljes hosszán.

Amikor hisztonokról beszélünk, hajlamosak vagyunk csak a nukleoszóma magjának négy hisztonjára gondolni és elfeledni a  $H_1$ -et. Pedig úgy tűnhet, a  $H_1$ -nek komoly szerepe van a sávozódásban:

1. A kromoszómafestés inhibíciójában a  $H_1$  tízszer olyan hatásos, mint a többi hiszton.

2. Ha a tripszinezett kromoszómához  $H_1$ -et adunk, majd újra tripszinezünk, G-sávot kapunk; ha pl.  $H_2A$ -hisztonot, csak homogén kromoszómafestés az eredmény.

3. A  $H_1$  nem része a nukleosomának, de úgy tűnik, a kondenzálódásban komoly szerepe van, keresztkötéseket hoz létre (1.2.9. fejezet). Nem elképzelhetetlen, hogy e keresztkötéseket el kell távolítani eredményes kromoszómasávozáshoz.

Mi szól a  $H_1$  szerepe ellen?

Az alkohol-ecetsavas rögzítés kivonja a  $H_1$  zömét is, a kromoszóma mégis sávozódik, a formalinnal rögzített,  $H_1$ -ét megtartó kromoszóma szintén. Sőt a hematológusok nem rögzítik egyáltalán mikroszkópi keneteiket, csak szárítják, mégis intenzív magfestődést nyernek.

In vitro tenyésztett sejteket gyakran etanol-, formalin- vagy glutár-aldehid-rögzítés után festenek igen eredményesen. Ne feledjük: a kromatint azért nevezték így, mert bázikus festékekkel festődik. Mégpedig igen hatékonyan: 1 mól DNS-foszfáthoz 0,5 mól tiazinfestéket köt a teljes kromatin minden hisztonjával egyetemben.

No de mi a helyzet a leglogikusabbnak tűnő érvvel, a  $H_1$ -keresztalkotások szerepével? Elektronmikroszkóppal vizsgálva kromoszómákon metanol-ecetsavas rögzítés után nem lehet sávot felfedezni, ha viszont tripszinezük őket, megjelennek a sávok. Az elektronnyaláb nem festékmennyiséget érzékel, mint a fénymikroszkóp, hanem csak anyagmennyiséget, tehát szerkezeti átrendeződést is okoz a tripszin, ami a  $H_1$  szerepe mellett szól. De ha minden hisztont kivonunk, a kromoszóma még mindig egyenletesen festődik, ha ezután tripszinezünk, újból jelentkeznek a sávok, és amint már többször említettem: formalinrögzítés után is sávozódik a kromoszóma, bár  $H_1$ -e érintetlen.

Nehéz és eldöntetlen kérdés tehát a fehérjék G-sávozásában játszott szerepének értékelése. Lehetnek még eddig figyelemre nem méltatott szempontok is. Mint például Sumner indokolatlanul elfeledett megfigyelése, mely szerint a G-pozitív szakaszok diszulfidokban, a G-negatív szakaszok szulfhidridekben gazdagabb fehérjéket tartalmaznak (Bostock, Sumner 1978). És mint a kromoszómaszerkezet vizsgálatánál általában, itt is homályos a nem hiszton típusú fehérjék sávozásában játszott szerepe.

Miután Hsu és román származású munkatársa, Popescu (1974) már régebben sávozott rögzítés utáni alkiláns kezeléssel (aktinomicinnel, hidroxüreaával), kiderült, hogy egyes anyagok még a rögzítés előtt az élő sejthez adagolva is képesek *in vivo* G-sávazódást indukálni. Ilyenek a DNS-be timin helyett beépülő bróm-deoxiuridin (BUDR), a DNS-hez kötődő és/vagy alkiláló vegyszerek, mint az aktinomicin-D (antibiotikum), a hidroxürea (HU), az etil-metán-szulfonát (EMS), metil-metán-szulfonát (MMS). Feltételezik, hogy az alkilálás csökkenti a Giemsa festékkötő képességet, így az AT-gazdag szakaszok (a konstitutív heterokromatin) festődne erőteljeseb-

ben. Különben a zebracsíkos kromoszómák évtizedének első felére az jellemző, hogy minden olyan anyag, amivel meg lehetett sávozni a kromoszómát, azonnal egy újabb hipotézis kiindulópontjává vált.

Ezért aztán szinte bosszantásként hatott, amikor Kato és Yoshida (1972) Japánban, majd később Walther és mtsai Münchenben kiderítették, hogy minden *előkezelés nélkül* is meg lehet figyelni G-sávokat a frissen preparált, megnyúlt (korai metafázisban levő) kromoszómák megfelelő rövid időtartamú Giemsa-festésével.

Ez viszont felvetette a kérdést: nem lehetne-e mégis a DNS-re „fogni” a sávozódás „bűnét”? A legegyszerűbb az lenne, ha a DNS mennyisége változna a kromoszóma hosszán, de ezt Casperssonék citofluorometriás mérései még a sávozás „gyermekkorában” cáfolták. Adataik szerint a kezeletlen kromoszómán csak az elsődleges és másodlagos befűződés területén csökken számottevően a DNS mennyisége. Ezt később az edinburghiek, Sumner és mtsai is megerősítették. Vannak ellentétes eredmények is: McKay, majd Prescott és mtsai eltérő koncentrációban találták a DNS-t a kromoszóma hosszán (Bostock, Sumner 1978). A G-sávok késve replikálása sem egyértelműleg bizonyított. Nem is könnyű bizonyítani, hiszen Huberman és Riggs kromatidanként legalább 1000 replikációs egységet talált kínaihőrcsög- és emberi kromoszómákon, tehát 10  $\mu$ m-nyi DNS-szakaszra esik egy. Ha a G-sávok egyértelműleg konstitutív heterokromatint mutatnak is ki, a késve replikálás akár száz replikációs egység közös jellemzőjeként is jelentkezhetik.

A túlságosan kategorikus kijelentések mindig gyanúsak a biológiában. A G-sávok mechanizmusának értékelésében sem lehet sarkítani: csak a fehérjék vagy csak a DNS felelős a zebracsíkos kromoszóma létrejöttéért. Tudomásul kell vennünk, hogy a G-sávok mögött a kromoszómafonál nukleoproteikus egységként szerepel. A G-sávok létrejöttében a vegyi jellemzőknek (AT-gazdagság, fehérjemegoszlás) éppolyan jelentőségük lehet, mint a kromoszómafonalak kondenzációjának. Miután a többi sávmódszert is áttekintettük, visszatérünk a sávozott kromoszóma szerkezetének elemzéséhez.

## 7.5. R-SÁV: FORDÍTOTT VILÁG

Az ifjú francia Bernard Dutrillaux — jelenleg az Institut de Progenése professzora — és a már évtizede világhírű Jerome Lejeune — a Down-kór és a cri du chat-szindróma kromoszomális alapjának felderítője — forró foszfátpufferoldatban kezelve a kromoszómákat, a G-sávokkal azonos sávmenyiséget figyeltek meg, de fordított módon: azok a szakaszok, amelyek G-sávozással intenzíven festődtek, Dutrillaux-éknál halványak voltak, míg a G-negatív szakaszok erősen kötődtek a Giemsa-festéket. Fordított sávozás tehát ez, innen az elnevezése is (Reverse banding). Amint a fluoreszcens sávoknál már említettem (7.3. fejezet), ha a fenti kezelés után Giemsa-festék helyett akridinoranzs (AO) fluorokrómmal festik a kromoszómát, fluoreszcens R-sávok izzanak az ultraibolya fényben. Az R-sávozás intenzitása kisebb, ezért fáziskontraszt-mikroszkópiával kell kombinálni, reprodukibilitása is hagy kívánnivalókat a G-sávozással összehasonlítva, de van egy hátrázott előnye: a telomerek majd mindig erős festődésűek R-sávozással, így a kromoszómák klasszikus — hossz- és kararány szerinti — rendezése gond nélküli. A Q- és G-sávozásnál viszont sokszor nehézkes megállapítani a kromoszóma hosszát a kar végén elhelyezkedő negatív festődésű sáv miatt. Ezen előnye ellenére a francia citogenetikai iskolán kívül nem nagyon használják. Romániában is csak a Iași-i egyetemen vált gyakorlattá, a Dutrillaux-tanítvány Mircea Covicnak köszönhetően. Dutrillaux és Covic különben a kémhatás, hőmérséklet, idő, preparátum kora, ionkoncentráció hatását vizsgálva arra a következtetésre jutott (1974-ben), hogy a G-R-T- és C-sávozás progresszív kromoszómaszerkezet-leépülésnek felel meg.

## 7.6. A TÖBBI SÁV

A T-sávozás — az R-sávozási módszerek továbbfejlesztésével — szintén Dutrillaux (1973) műve. Csak a kromoszóma-vegek (telomerek) festődnek e módszerrel, innen származik elnevezése. Giemzával vagy acridinoranzssal lehet festeni a T-sávokat éppúgy, mint az R-sávokat. Kariotipizálás T-sávokkal igen nehézkes és nem is érdemes, de transzlokációk és te-

limerikus töréspontok kimutatására hasznos lehet. Nem terjedt el a citogenetikuskok világában.

Az *F-sáv*ozás népszerűsége sem nagyobb, mint a *T-sáv*ozásé, pedig elméletileg igen fontos módszer, melyet Rodman (1974) dolgozott ki. Jelentősége abban áll, hogy a DNS-t festő Schiff-reagenst használja, a Feulgen által kidolgozott módszer szerint. Így e sávmintázatnál a negatív festődés bizonyosan DNS-hiányt is jelent. A módszer szelíd lúgos és hosszú idejű sóoldatos kezeléssel DNS-t távolít el, és a maradék DNS-t festi. Az *F-sáv*ok hasonlóak, de nem teljesen azonosak a *Q-* és *G-sáv*okkal.

Az *N-sáv*ozás — a szatellita vagy nukleoláris organizáló régió (NOR) festésére — a japán Matsui és Sasaki (1973) által kidolgozott eljárás. Magas hőfokon, híg savas kezeléssel eltávolítják mind a bázikus fehérjéket, mind a DNS nagy részét. A megmaradó savanyú kémhatású kromoszómafehérjék mint egy-egy kis rubinpár csillognak a sejtelmesen halvány festődésű kromoszómákon. A riboszomális cisztronok kimutatására kiváló módszer. Goodpasture és Bloom (1975) ezüstoffestéses *N-sáv*ozásával később sokat javult minőségben. Funaki, Matsui és Sasaki (1975) a Hokkaido Egyetem és a houstoni Baylor College együttműködésével már 27 fajt vizsgálnak meg *N-sáv*ozással. Később a *Q-sáv*ozást, majd a *G-sáv*ozást sikerült összekapcsolni a NOR megfestésével, és a sávozási módszerek fejlődése eljutott oda, hogy Tantravaki és mtsai (1977) bebizonyították: bármely sávozás (*Q*, *C*, *G*, *R*) után alkalmazható a Goodpasture—Bloom-féle ezüstoffestés.

A *G-11-sáv*ozás — lúgos kémhatású pufferoldatban kezelt kromoszómákat (a 11-es pH az eljárás elnevezésének magyarázata) festi Giemsa-oldattal.

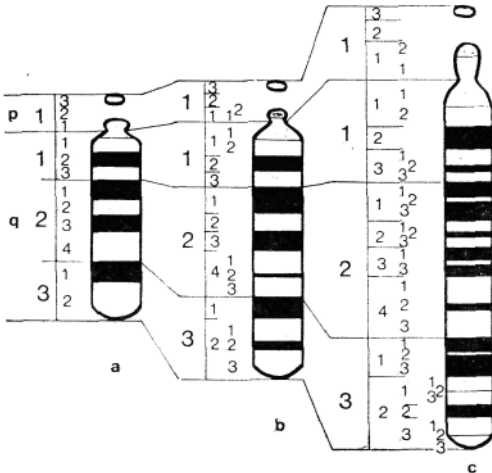
## 7.7. SOK SÁV, HÁNY GÉN?

A rutinszerű klinikai citogenetikában legtöbbször *G-sáv*ozák a kromoszómákat, esetleg *Q-* vagy *R-sáv*ozást alkalmaznak. Mint fennebb láttuk, e három sávozási módszer mintázata gyakorlatilag egymásra helyezhető, egyetlen idiogram elég a jellemzésükre. Csak annyit kell emlékezetünkbe idéznünk, hogy az idiogram sötét sávjai erősen festődő *G-*, erősen fluoreszkáló *Q-* és nem festődő *R-sáv*oknak felelnek meg.

A leírt módon kolchicinnal „gyűjtött” emberi mitózisokon 320 sáv különböztethető meg, ennyi szerepel a Párizsi Konferencia empirikus idiogramján. Ennyi sáv tehát a haploid kromoszómaszerelvényen látható (hiszen az idiogram természetesen nem tartalmaz homológ párokat), közepesen kondenzált kromoszómákon. Empirikusnak nevezzük ezt az idiogramot, mert nem mérések, hanem a sávozott kariotípusok képe alapján állították össze. A legkomolyabb kísérlet a sávdiagram objektívizálására Claes Lundsten dániai kutatónak és munkatársainak köszönhető (1980), akik régóta foglalkoznak a kariotipizálás számítógépes értékelési lehetőségeivel. 6985 tripszinnel sávozott (G-sáv) kromoszómán végeztek számítógépes képelemzést. A komputer 351 sávot talált: 181 világos és 170 sötét festődésűt. Lundstenék számítógépes sávdiagramja csak részletekben tér el a párizsi (1971) vagy stockholmi (1978) standardtól.

Hogyha a kolchicin töménységét és hatóidejét erősen lecsökkentjük (egy nagyságrenddel), 400 sáv ismerhető fel a 23 kromoszóma haploid garnitúráján (Yunis 1976, 1981). A stockholmi munkáulés (ISCN, 1978) már ezt a 400-as sávdiagramot közölte. Nehézkesebb így a kariotipizálás, hiszen a kolchicint (kolcemidet) ez esetben már csak az orsó roncsolására használjuk, a mitózisok „összegyűjtésére” a 10 perces kezelés teljesen alkalmatlan.

Miután a koppenhágai Skovby (1975) R-sávozással 606 sávot azonosított, a minneapolis-i orvosi egyetem professzora, Jorge J. Yunis sikeresen oldotta meg azt is, hogy ne csak megnyúlt kromoszómákat preparáljon, hanem a mitózisok száma is elegendő legyen. Ehhez az osztódó sejtpopulációt „szinkronizálni” kellett, tehát azonos sejtciklusfázisba „kényszeríteni” őket. Ametopterines és timidines kezeléssel meg lehet oldani azt, hogy az osztódások zömét a profázis és metafázis határán „kapjuk el”, ekkor a kromoszómák kondenzáltsági foka elég alacsony, tehát ők maguk elég hosszúak ahhoz, hogy minél nagyobb számban jelenjenek meg a sávok rajtuk. A sávok összeolvadását még úgy is megakadályozzák, hogy a G<sub>2</sub>-fázisban kondenzációgátlókat (aktinomicin D-t, bróm-deoxiuridint) is adagolnak a tenyészetbe. E módszerekkel fokozatosan 800, 850, majd 1256 sávot sikerült felismerni kromoszómáinkon (Yunis 1980). A Citogenetikai Nomenklatúra Bizottság 1980-



14. ábra. Az ember 14-es kromoszómája sávmintázatának vázlata, a 400 (a), 550 (b) és 850 (c) G-sávmódszerrel (p = rövid kar, q = hosszú kar). A nagy számok a kromoszómaregiókat mutatják. A kis számok első sora a sávokat jelöli, tehát az a kromoszóma legalsó sávja 14q32. Az alsávokat pont választja el a sávot jelölő számtól, tehát a b kromoszóma legalsó sávja 14q32.3. A nagy feloldóképességű sávozással az alsáv további felosztását pont nélkül jelzik. A c kromoszóma legalsó sávjának jelölése tehát 14q32.33.

ban 850 sáv elhelyezkedését rögzítette (ISCN, 1981), de azóta már 2000 sávról is érkezett jelentés.

E sokszávos módszerek a *magas feloldóképességű sávozás* (high resolution banding) gyűjtőnevet viselik.

Gondolom, mindenki ben felötlük a kromoszómafelismerés finomításáról hallva: mennyiben segít minket a gének helyé-

nek azonosításában, a kromoszómatérképezésben Yunis — citogenetikusi szemmel minden csodálatot megérdemlő — ezernél több sávja?

Ha az embernek is, mint a prokariótáknak, 2—300 génje lenne, de még ha 5000 is, mint az ecetmuslicának, akkor az 1000—2000 kromoszómasáv igen közel vinne minket a gén-színthez. Azonban 46 kromoszómánkon minden valószínűség szerint legalább 30—40 000 működő génnel kell számolnunk. Mindeddig hozzávetőlegesen 450 gén kromoszomális lokalizációját ismerjük. Messze vagyunk tehát attól, hogy kromoszómatérképünket ismernők. Mindazonáltal, ha azt is számításba vesszük, hogy újabban elektronmikroszkóppal egy sávon belül további 10—14 alegységet is ki lehet mutatni, már bizakodhatunk: közelít a citogenetika a génszínthez.

### 7.8. ZEBRA-KROMOSZÓMASZERKEZET

Nagy szobrászoktól szokták idézni: a fában, kőben, márványban ott a szobor, csak ki kell bontani belőle. Ott van a sávszerkezet is a kromoszóma homogén festődése alatt? Ez a legfontosabb kérdés, melyet a sávozási módszerek felvetnek, hiszen elképzelhető, hogy kizárólag a kezelés hatására történik olyan szerkezeti változás a kromoszómában, mely aztán sávzottságként értékelhető.

Amint előzőleg láttuk (3.2. fejezet), sem a korai elektronmikroszkópos felvételek, sem a DuPraw-féle „kusza gubanc” nem tagolják sávoknak megfelelő szakaszokra a kromoszómát. Vannak olyan TEM-es kromoszómaképek, ahol a gubanc sűrűsége változó a kromoszóma hosszán, de a tömörebb göngyölődés nem nagyon felel meg a sávoknak. Később Stubblefield (1980) izolált kínaihörcsög-kromoszómákat vizsgált, kezeletlenül, TEM-mel. Ezek is egyenletesen gubancosak voltak, de ha a két vegyértékű ionkoncentrációt (a kalcium-, magnéziumionsűrűséget) csökkentette, a sávoknak megfelelő szakaszokra esett szét a kromoszóma. Ez viszont már kezelésként fogható fel. A fénymikroszkópos sávozásnak megfelelő kezelés után mind a TEM, mind a SEM ki tud mutatni sávokat (Fleischman és mtsai 1971). Xu és Wu (1983) már egyenesen rutinanálízisre alkalmas módszerrel számol be a berlini Chromosomá-



ban, mellyel a tripszines G-sávozott kromoszómák TEM-es analizise végezhető el.

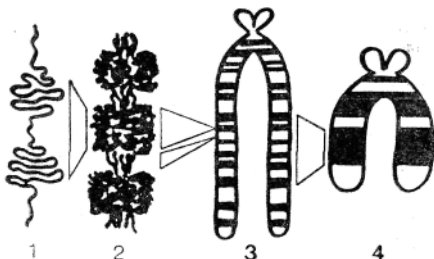
**Maradjunk** a kezeletlen kromoszómában rejtelkedő (?) sávoznál. A G-sávozásnál már említettem, hogy néha minden beavatkozás nélkül láthatók a profázis és metafázis határán levő megnyúlt kromoszómákon sávok. A késő profázisos kromoszómák elektronmikroszkópos elemzésekor Yunis és Bahr (1979) a kromoszómafonalak hurkos tömörüléseit találta, melyeket lazább, ritkább, párhuzamos lefutású kromoszómafonalak kötöttek össze. De még fénymikroszkóppal és minden festés nélkül, csak a fáziskontrasztgyűrűk alkalmazásával is láthatunk vagy legalábbis sejthetünk sávozódást a kromoszómán. Nos, ezek tények, de a „spontán” sávozódás sohasem éri el a jó minőségű G-R-Q-sávozás kontrasztosságát.

Az egyetlen meggyőző bizonyítékot a kromoszómaszerkezet „természetes” sávozottságára a mesterségesen sávozott kromoszómák és a meiózis *kromomerjeinek* összehasonlítása hozta. Ferguson-Smith és Page (1973) közölt először hasonlóságot a pachitén kromomerjei és a G-sávok között. Comings és Okada (1975) már elektronmikroszkóppal bizonyították: a pachitén kromomerek megfelelnek a G-sávoknak. Ezek szerint a sávozódás mögött is kondenzációkülönbségeket kell keresnünk.

Vázoljuk röviden, e vízió szerint hogyan módosul a 3. fejezetben felvázolt kromoszómakép.

A finomszerkezet változatlan: A DNS hisztonmagra ( $H_2A$ ,  $H_2B$ ,  $H_3$  és  $H_4$  oktamerre) csavarodva *nukleoszómat* képez. A nukleoszóma-gyöngysort a  $H_1$  és nem hiszton típusú fehérjék göngyölik tovább 20–30 nm-es, valószínűleg *szolenoid*szerkezetű *alapfonállá*.

Ezen a szinten változhat a kromoszómaszerkezetről kialakított elképzelésünk a sávozás nyomán. Feltételezhető, hogy az alapfonál tömörebb hurkos gubancolódása, mely igen nagyszámú haránt irányú fonalat is tartalmaz, *kromomert* képez. A szomszédos kromomereket lazább szerkezetű szakaszok kötik össze, melyekben a párhuzamos lefutású fonalak vannak többségben. Minden ilyen, tömörebb fonálszerkezetű kromomer nagy feloldóképességű sávozással (high resolution banding) G-sávként érzékelhető a profázisban, és e sávok megfelelnek a meiózis pachiténjében látható kromomereknek. A mitózis előrehaladtával a kromoszómafonalak kondenzációja is



15. ábra. A sávozott kromoszóma szerkezeti vázlata; 1: Lazább és „gubancosabb” szakaszokból álló *alapfondl.* 2: *Kromomerekké* tömörödő és lazább, dekonzenzáltabb szakaszokból álló  $G_2$ -végi kromatida. 3: A profázis elején nagy feloldóképességű sávzással a kromatidákon a kromomerek  $G+$ ,  $Q+$ , és  $R-$  sávokat, a kromomerközök  $G-$ ,  $Q-$  és  $R+$  sávokat eredményeznek. 4: A metafázis kondenzált kromoszómáján több kromomer egyetlen sávvá olvad össze (Comings 1978 és Bostock, Sumner 1981 nyomán, módosítva).

egyre nagyobb mérvű, ezt a kromomerek—sávok összeolvadása-ként érzékeljük. A megfigyelhető sávok száma csökken, méretük növekedik a metafázis végére.

E kondenzációközpontú magyarázat mellett szól az is, hogy a  $G-Q-R$ -sávok, főleg az állatok (hüllők, madarak, emlősök) kromoszómáin voltak szépen kimutathatók. A növényi kromoszómákon igen nehézkes ez a sávzáscsoport (általában csak a  $C$ -sávnak megfelelő módszerek eredményesek). Úgy tűnik, hogy a növényi és állati kromoszóma közötti kevés különbség egyike éppen a kondenzáció mértékében van! A növényi kromoszómában sokkal tömörebb a mitotikus genetikai anyag. Greilhuber (1979) szerint pl. az *Ornithogalum virens* (a liliumfélék családjába tartozó sármaféle) kromoszómáinak kondenzációja 16,5-szöröse az emberének. A pachiténben az *Ornithogalum*-kromoszómák 13,3-szor hosszabbak, mint a mitózisban, az ember kromoszómái viszont csak 2,3-szor.

E kondenzációközpontú elképzelésben teljesen mellékessé válik, hogy a tömör „gubancú”  $G$ -pozitív (sötétén festődő) sá-

vok ugyanakkor AT-gazdagok is, a laza „gubancú“ R-pozitív szakaszok (G-negatív szakaszok) ugyanakkor GC-gazdagok is.

A többi sávmódszer közül a C-, G<sub>11</sub>- és N-sávok elsősorban egy DNS-tulajdonsághoz kapcsolódnak: a szekvenciáik magasfokú repetitívitasával „dadogó“ genetikai anyag jelenlétéhez. Ezért a C-típusú heterokromatin — mint említettem — egyaránt kimutatható mind a növényi, mind pedig az állati kromoszómán.

Bostock és Sumner (1978) a fentiek alapján a „zebrakromoszómák“ sávjait két csoportba rendezi:

A. állandó (konstans) sávok (heterokromatikus),

B. változó (fluktuáló) sávok.

A. Az állandó (konstans) sávokra mindenben illenek a konstitutív heterokromatinról előzőleg (6. fejezet) elmondottak. Megfelelnek tehát az interfázisos sejttag heterokromatikus rögeinek (kromocentrumainak). Az állandó sávok C-, G<sub>11</sub>- és N-sávmódszerrel tehetők láthatóvá, de valószínűleg ide tartozik a Q-, G- és R-sávok egy része is. Bostock és Sumner (1978) felhívja figyelmünket, hogy ezek a sávok semmiképpen sem jelentik a genom teljes konstitutív heterokromatin-készletét, és megemlítik egy rovar (*Myrmeleo tectrix*) egyes kromoszómáit, melyek teljes hosszukban heterokromatikusak, mégis szépen sávozhatók a C-sáv-módszerrel. A fakultatív heterokromatin (bár inaktivitása kétségtelen) a konstans sávok kimutatására szolgáló módszerekkel nem tehető láthatóvá.

B. A változó (fluktuáló) sávoknak nincs interfázisos megfelelője. Profázisban a nagy feloldóképességű sávozással egészen csikszorozatként jelentkezhetnek, a meiózis kromomereinek megfelelően, prometafázisban már összeolvadóban vannak, metafázisban pedig kevés sávvá tömörülnek. A Q-, G és R-sávok zömét e kategóriába kell sorolnunk, leszámítva azokat, amelyek megegyeznek a C- vagy N-sávokkal.

Hasonló érveléssel, de három csoportba osztja Comings (1972, 1978) a sávozással kimutatható kromatintípusokat:

1. centromer körüli konstitutív heterokromatin,

2. közbeékelte vagy G-sáv-heterokromatin,

3. eukromatin.

Tömören fogalmazva, az első csoportba a C-sávok által, a második csoportba a G-sávok által, a harmadik csoportba pedig az R-sávok által kimutatható kromatin tartozik (5. táblázat).

## 2. TÖBB-KEVESEBB KROMOSZÓMA (genommutációk)

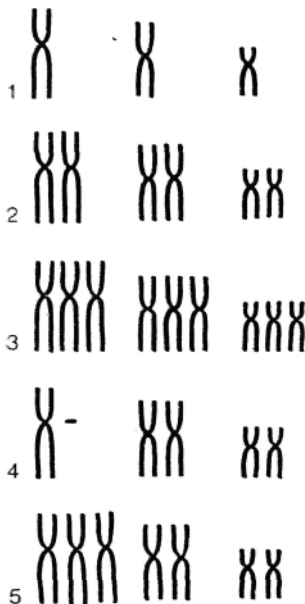
### 2.1. GENOMMUTÁCIÓ

A *genom* a sejt teljes öröklődési állománya, mely a sejt-osztódás során kromoszómákká szerveződik. A fajra jellemző kromoszómaszám bármely megváltozása *kromoszómaszám-mutáció*, más szóval *genommutáció*. Ezen a teljes genom megfeleződését, megsokszorozódását, illetve egyes kromoszómák hiányát vagy többletét értjük.

A csírasejtek felét tartalmazzák a testi sejtek kromoszómaszámának. Az a sejt vagy szervezet, amelynek kromoszómaszáma az illető faj csírasejtjeinek kromoszómaszámaival megegyező, *haploid* sejt vagy *haploid* szervezet. A haploid állapot: *haploidia*, rövidített jelölése:  $n$ . A csírasejtek egyesülésével keletkező, kétszeres kromoszomagarnitúrájú testi (szomatikus) sejtek *diploidok*; jelölésük  $2n$ . A *diploidia* állapota a jellemző, a „normális” az eukarióták világában. A haploid kromoszómaszám többszörösei a triploid ( $3n$ ), tetraploid ( $4n$ ), pentaploid ( $5n$ ), hexaploid ( $6n$ ) stb. A diploidnál többszörös kromoszomagarnitúrájú állapot gyűjtőneve: *poliploidia*. *Autopoliploid* a saját genom megsokszorozódásával, tehát homológ genomokat tartalmazó sejt, illetve faj; *allopolidiploid* szervezet (főleg a növényeknél) nem homológ genomok egyesülésével, keresztezéssel, hibridizálással jön létre. *Endopoliploid* az a sejt, vagy szövet, melyben sorozatos osztódások történnek anélkül, hogy a leánysejtek szétválának (ezek neve endomitózis, lásd 2.4.5. fejezet). *Mozaicizmus* az a jelenség, amikor egy szervezetben több sejtpopuláció található különböző kariotípussal.

#### 2.1.1. Haploidia

A haploid állapot az eukariótáknál mindig átmeneti, és mint tudjuk, természetes körülmények között a számfelező sejtosztódással, a meiózissal jön létre. A prokariótáknál a haploidia a jellemző állapot, hiszen azoknál a genom egysorozatú, egyetlen DNS-molekula (az arenovírusoknál egyetlen RNS-molekula) alkotja a „kromoszómát”. Az algák, gombák, mohák életének egy szakasza általában haploid. A gombák egy része teljes életét haploid formában éli le, az igen rövid diploid zigóta állapotot kivéve. *Gametofita* életszakasznak, csíra-



16. ábra. A genommutációk vázlatos ábrázolása egy háromkromoszómás képzeletbeli kromoszóma-összetételnél. 1: haploid ( $n$ ), 2: diploid ( $2n$ ) 3: triploid ( $3n$ , poliploidia), 4: monoszóm ( $2n - 1$ , aneuploidia), 5: triszóm ( $2n + 1$ , aneuploidia).

sejtállapotú tenyészésnek szoktuk nevezni ezt a növényeknél, megkülönböztetésül a *sporofita* életszakasztól, mely a diploid zigótából fejlődő formákat összesíti, és amely a meiózissal le is zárul. A felsőbbrendű növények között is vannak zsurlófélék, hínárfélék haploid generációval. Az állatvilágra viszont az jellemző, hogy a meiózis egyenes úton vezet a csírasejtképzéshez, és rövid életű haploid csírasejtállapotot követ szinte azonnal a megtermékenyítéssel „helyreállított” diploid életszakasz, mely a *zigótával* (a hímcsírasejt által megtermékenyített petesejttel) veszi kezdetét. Kivétel, mint minden biológiai törvény alól, itt is akad, elég megemlíteni a méhek hímjeit (a heréket), melyek megtermékenyítetlen petéből származó haploid lények. A rovarok között a hártvásszárnyúak mellett a poloskaféléknél is találunk hasonló példát. Mindezen haploidok „természetesek”, a fajra jellemző, evolúció során kialakult „rendet” követik.

Balesetszerűen létrejövő haploidia viszont már genommutáció. Egyes növények (maszlag, dohány, csodátölcsér, burgonya, paradicsom, búza, kukorica, árpa) véletlenszerűen haploid magvakat teremhetnek. E magvakból néha érdekes törpe növények nevelhetők. Parthenogenetikus (egyszülős) rovarok túlélhetnek haploid állapotban, nemcsak azoknál a fentebb említett fajoknál, amelyeknél ez törvényszerű, hanem genommutációként is, pl. az ~~acet~~muslicánál (*Drosophila*). Gerinces állat (hal, kételtű, hüllő, madár és emlős) viszont sohasem marad életben haploid állapotban.

### 8.1.2. Poliploidia

A poliploidia — a teljes genom megsokszorozódása — a növények és különösen a kultúrnövények evolúciójában igen nagy jelentőséggel bírt (Vida 1982, Szabó 1983). Brown (1972) a szokásos tetra-, hexaploid fajok mellett egész nagyfokú poliploidiaikról is beszámol, így pl. a kb. 38-ploid *Poa litorosáról* (pázsitfűféle), melynek kromoszómaszáma  $2n=265$ . A nagy kromoszómaszámok különben mind poliploidizáció eredményei. Szó volt már az *Aulacantha* sugárállatkáról a maga 1000—2700 kromoszómájával, de a páfrányok között is ismeretes 1000 feletti kromoszómaszám. A triploidia, pentaploidia, tehát a páratlan ploidiaik esetében a meiózis során a kromoszómák egyenlőtlenül párosodnak, ami túlélési lehetőségeiket erősen lecsök-

kenti. A páros ploidiaíknál (tetra-, hexa-, okto- stb.) a meiózis teljesen normális lehet.

*Triploid* növények felnőnek, de csírasejtjeik változó kromoszómaszámot tartalmaznak (aneuploidok, lásd alább). Változó kromoszómaszámuk viszont nagyon hasznosnak bizonyult a növényi genetika fejlődésében, amint azt az 1983-as Nobel-díjas Barbara Mc Clintock munkássága bizonyítja, aki a harmincas években kezdte elemezni a kukorica-triploidokat (Mc Clintock 1929). Sutka (1980) említ spontán triploid nárciszfajtákat, melyek nagyobb virágúak, több almafajtát (Boskoop, Kaselli, Panette), körtefajtát (Papkörte), banánfajtát (Gros Michel) és a legismertebb példát, a cukorrépát. Mindezek a saját genom megháromszorozódásával jönnek létre, *autotriploidok*. Léteznek *allotriploidok* is, ezek egy nem homológ genomot is tartalmaznak a homológ pár mellett. A gerincesek között csak a farkos kétélűeknél sikerült hőkezeléssel okozott triploidokat felnevelni, de ezek is ritkán érik meg a ki-fejlett kort.

A vadon élő és főleg a termesztett növények jó része auto-, illetve allopoliploidiaival jött létre. Ennek felismerése nyomán a harmincas évektől kezdve a növények citogenetikusainak „népszerű sportja” (Brown 1972) volt évtizedekig az ún. *alapkromoszómaszám* (basic number) „vadászata”. Az alapszám a poliploid szervezetek legkisebb lehetséges kromoszómaszáma. Jelölése:  $X$ . Az alapszám többszörösével rendelkező fajok sorozata *poliploid sor*. Az alapszám egész számú többszörösével rendelkező élőlényeket ugyanakkor *euploidoknak* is nevezik. Stabilizált fajoknál a testi sejtek genomját  $2n$ -nel jelöljük akkor is, ha ismeretes róluk, hogy auto- vagy allopoliploidiaival jöttek létre. Közismert poliploid sor például a *Chrysanthemum* genusban a *C. makinoi* ( $2n=2x=18$ ), *C. indicum* ( $2n=4x=36$ ), *C. japonense* ( $2n=6x=54$ ), *C. ornatum* ( $2n=8x=72$ ) és *C. pacificum* ( $2n=10x=90$ ).

A tetraploidia növényekben nagyon gyakori. A tönke búza (*Triticum dicoccon*) ( $2n=4x=28$ ) és a kemény szemű búza (*Triticum durum*,  $2n=2x=14$ ), az alakor (*Triticum monococcum*,  $2n=2x=14$ ) és egy kecskebúzafaj, az *Aegilops speltoides* ( $2n=2x=14$ ) allotetraploidjai. A közönséges búza (*Triticum aestivum*,  $2n=6x=42$ ) már allohexaploid, az alakor és a kecskebúza (*A. speltoides*) genomja mellett egy másik kecskebúza, az *A. squarrosa* ( $2n=2x=14$ ) genomját is tartalmazza.

A hibrid növények életképessége (a normális meiózis) akkor biztosított, ha a hibrid genom megkettőződik. Ezeket a növényeket (pl. a retek, *Raphanus sativus*  $2n=18$  és káposzta, *Brassica oleracea*  $2n=18$  hibridje a *Raphanobrassica*,  $2n=36$ ) *amfidiploid*oknak nevezzük.

A mesterséges poliploidizálás leggyakrabban alkalmazott vegyszere mindmáig a kolhicin.

### 8.1.3. Aneuploidia

Egy vagy több ép kromoszóma hiánya vagy többlete a genomban az *aneuploidia* nevet viseli. A nem szakember számára eddig sem egyszerű genommutációs nomenklatúra itt még tovább bonyolódik.

Abból kell kiindulnunk, hogy az aneuploidia esetében a testi sejtek normális diploid kromoszóma garnitúráját ( $2n$ ) nevezzük ez esetben *diszom*nak, ami azt jelenti, hogy szabályos apai és anyai eredetű kromoszómapárok alkotják. Ehhez a diszom állapothoz képest egy kromoszóma hiánya ( $2n-1$ ) egy pár nélküli kromoszómát eredményez, ezért a *monoszómia* nevet viseli. Ha egy teljes homológ pár hiányzik ( $2n-2$ ), *nulliszómiáról* beszélünk. Ha egy kromoszóma többletben van, akkor az egyik kromoszóma három homológgal szerepel, ezért a  $2n+1$  elnevezése *trisómia*, a két kromoszóma többlete ( $2n+2$ ) *tetraszómia* stb.

Ha egy kromoszóma karjából elvész egy szakasz, *részleges monoszómiáról*, ha megkettőződik egy szakasz, *részleges triszómiáról* beszélünk. Ezek is kromoszómamutációk, de már nem a számmutációk, hanem a szerkezetű kromoszómamutációk, a kromoszómaaberrációk kérdéskörébe tartoznak.

Mielőtt a kromoszómaaberrációk tárgyalására térnénk, hadd vegyük sorra az ember kromoszómaszámmutációit, melyek az ún. nagy kromoszómaszindrómákat alkotják.

## 8.2. AZ EMBER AUTOSZOMÁLIS GENOMMUTÁCIÓI

A poliploidia összeegyeztethetetlen az ember életével. Csak a triploidiat éli túl rövid ideig az embrió, amint azt a spontán vetélések kromoszómavizsgálata bebizonyította. 1974-re már 275 triploid abortumot jelentettek, melyek a terhes-



ség 20. hetét sem érték el általában. Huszonkét magzat túlélte a 28. hetet, 5 elpusztult még a méhen belül, a többi néhány órát vagy napot élt születése után. Ez utóbbiak fenotípusa elsősorban a kromoszóma-rendellenességre utaló nem specifikus jegyeket mutatta (Vogel, Motulsky 1979).

Az emberi aneuploidiák száma is véges. Teljes kromoszóma-többletével vagy hiányával ritkán lehetséges az élet még súlyosan beteg formája is. Csak a 8, 9, 13, 14, 18, 21, 22. autoszómák triszómiái, a 21-es monoszómiája és a gonoszómák aneuploidiái ismeretesek.

### **8.2.1. 8-as triszómia**

A párizsi gyermekkórház citogenetikusai, Grouchy, Turleau és Leonard írták le 1971-ben a 8-as triszómiát fluoreszcens szávozással. Nagy kromoszóma a 8-as, csak néhány tucat esetben találtak belőle hármat egy kariotípusban. Mindegyik új kromoszómamutációnak tűnik, bár örökítése sem kizárt, hiszen az intellektuális és nemi funkciók kevésbé károsodnak. Caspersson ismertet egy esetet, amikor teljesen normális nő volt a hordozó, aki csak többszörös spontán vetélés miatt került kariotipizálásra (Grouchy, Turleau 1977). Mozaik formában gyakoribb.

Sokszor túl nagy fejüket előreugró magas homlok, a szindrómára jellegzetes lógó, vastag alsó ajak, az állcsont kicsinyése miatti csapott áll torzítja. Magas szájboltozatukon néha hasadék található. A törzs és a végtagok csontozata sem fejlődik harmonikusan. Rövid nyak, szűk vállak, gerinctorzulás (abnormis vagy szám feletti csigolyák, velőcsőzáródási zavarok), szám feletti bordák, szűk mellcsont a gyakoribb elváltozás. Hosszú, vékony, ún. pókujjak vagy az ujjak görbültsége sem ritka. Túl hosszú nagyujjak kézen-lábon, térdkalács-hiány, fejletlen vagy születéskor teljesen hiányzó körmök figyelhetők még meg a végtagokon. A tenyér és talp barázdái igen mélyek. Rejtettheréjűség, fejletlen here, késői pubertás zavarhatja a nemi fejlődést. A belső szerveknél csak kis, életet nem veszélyeztető malformációkat figyeltek meg. Leiróik szerint kedves, szociálisan, csak ritkán pszichotikus páciensek, intelligenciájuk 50–80-as IQ-tól a normálisig terjedhet. Kifejezésbeli zavarokkal küzdenek. A teljes kórkép viszonylagos árthatatlansága sejteni engedi, hogy nem minden esetet ismer-

nek fel. A glutation reduktáz gén a 8-as kromoszómán található. Mivel e kromoszóma triszómiájával megnő az enzimi mennyisége, ezt is fel lehet használni a diagnózishoz.

### 8.2.2. 9-es triszómia

Feingold és Atkins (1973) közli az első esetet, de mindmáig összesen talán 10-et írtak le. Megjegyzendő, hogy mind egyik fiú. Súlyos értelmi és testi elmaradottsággal járó körkép. 1977-ig egyetlen ilyen triszómiás élt 9. évéig, az is mozaik volt. A homogén 9-es triszómia csak a magzati fejlődést és a születés utáni egy-két hónapos túlélést teszi lehetővé.

Kisfejség és hosszúfejség mellett magas homlok, mélyen ülő ferde résű szemek, széles orrnyereg, fejletlen állcsont és az alsót teljesen elfedő felső ajak (!), no meg alacsonyan ízesülő kerek fülek torzíthatják az arcot. A majdnem kötelező csípőficam csak egyike a többszörös vázrendellenességnek, térd-, könyök-, gerinc- és bordaelváltozásokat, a szárkapocshiányát, lábfejdeformációt találtak gyakrabban. A nemi fejlődés sem zavartalan, rejtettheréjűséget, fejletlen herézacskót és hímvesszőt jegyeztek fel az újszülötteknél. A belső szervek szinte kötelező malformációi (szívkamrafal záródásának hiánya, verőeres vezeték, súlyos agyi elváltozások) magyarázzák a korai halálozást.

### 8.2.3. 13-as triszómia (Patau-kór)

Klaus Patau és mtsai 1960-ban közölték D-triszómiaként a nyúlajak-farkastorokkal és többszörös fejlődési rendellenességgel járó tünetegyüttest. Tudnunk kell azonban, hogy egyseges körkép voltát Bartolin már 1657-ben felismerte (Czeizel, Dénes, Szabó 1973) és klinikailag jóval a kromoszóma vizsgálatok megjelenése előtt azonosítható volt. Születéskori gyakorisága 1/4000—1/10 000, különböző szerzők szerint. Az átlagéletkilátás 130 nap. Hároméves túlélés igen ritka, egyetlen 10 éves túlélést ismerünk (Grouchy, Turleau 1977).

A koponya középső emeletének kialakulása súlyosan károsodik, ami az említett nyúlajak-farkastorok együtteshez is vezet, de a szaglóméző és a nyúltagy károsodásával együtt az arc középső része akár teljesen hiányozhat. Ilyenkor pl. a szem alig vagy egyáltalán nem alakul ki. Jobb esetben csak jóval kisebb a koponya, csapott homlokkal, keskeny halántékkal, tág, nyitott kutacsokkal és koponyavarratokkal. Távol álló víz-

szintes szemrések és igen kicsiny szemek között széles, lapos orr és alacsonyan ízesülő fülek egészítik ki az arc szívszorító képét. A törzs is abnormálisan fejlődik, az utolsó bordák gyakran hiányoznak, a medence fejletlen. A végtagok igen gyakori elváltozása a hatujjúság, máskor a kéz ujjai görcsösen átfedik egymást, karomszerűek. A tenyeret gyakran teljesen kettéosztja egy harántbarázda, az ún. majombarázda. A talp domború, a sarok kiugró. Rejtettheréjúság, herezacskó-anómália sem ritka, lánycsecsemőknél csiklónagyobbodást, kétszarvú méhet és kettős hüvelyt figyeltek meg. Az esetek 80%-ában szívrendellenesség (kamrafalhasadék, verőeres vezeték), 30—60%-ban húgyúti rendellenesség egészíti ki a kórképet.

#### **8.2.4. 14-es triszómia**

Murken és mtsai (1970) írják le az 1977-ig egyetlen ismert 14-es triszómiát (Grouchy, Turleau 1977). Kivüle még egy mozaikról számoltak be (Rethoré és mtsai 1975). A fenotípusra súlyos visszamaradottság jellemző.

Igen rövid nyakon kis koponya ül magas boltozatos homlokkal, távol álló szemekkel, beesett orrnyereggel, hosszú felső ajakkal és alacsonyan ízesülő fülekkel. Állandóan görcsösen behajlított kézfej és kidomborodó, ún. hintaszéktalp jellemzi még a kórképet.

#### **8.2.5. 18-as triszómia (Edwards-kór)**

Ritka triszómia, de történeti jelentősége nagy. A második kromoszómaszindróma volt, amit emberről azonosítottak. Közölte, Edwards (1960) 17-es triszómiának hitte, de még ugyanabban az évben kartársai (Schmid és mtsai 1960) tisztázták valódi kóreredetét, ugyanakkor javasolták, hogy nevezzék el Edwardsról a szindrómát. Születéskori gyakorisága 1/8000, négyszer több lány születik e kórral, mint fiú. Az előbbieket életkilátása átlagosan 10 hónap, az utóbbiaké 2—3 hónap. Súlyos malformatív zavar, melyet a kúpos tarkó, csapott áll és ún. faunfülek hármasa jellemez.

A koponya hosszú, a tarkótájéka kitüremkedő. A szemrések vízszintesek, mindkét sarkukban bőrredővel, de szaruhártya-závarosodás, sőt fejletlen szemgolyó sem ritka. Az állcsont fejletlen, rövid, a fülek alacsonyan ízesülnek, de nagyok, elállóak és hegyesek, ezért faunfüleknek szokás őket nevezni. A nyak rövid, laza bőrrel. A csecsemő keze kinyithatatlan öklöbe

szorított, körmei fejletlenek. Veleszületett csípőficam, hintaszéktalp, 2—3 lábujj összenövése társulhat a képhez. A külső nemi szervek fejletlenek, de gátrendellenességeket, sőt végbélnyíláshiányt is leírtak. Zsigeri rendellenességek is gyakoriak: 95%-os a veleszületett szívrendellenességek gyakorisága, melyek majdnem mindig a korai halálozás okai is, de tüdő-, vastagbél-, vékonybél-, rekeszizom- és vesemalformációk sem ritkák.

### 3.2.6. 21-es triszómia (Down-kór)

Seguin 1846-ban, majd Langdon Down 1866-ban írta le a szellemi visszamaradottság egy olyan jellegzetes fenotípussal társuló formáját, mely minden orvos által könnyen azonosítható. A mongolos szemrés miatt Down elég szerencsétlenül „mongol idiotizmusnak” vagy egyszerűen „mongolizmusnak” nevezte el a kórképet. Jelenleg a Down-kór vagy a még precízebb 21-es triszómia elnevezés használatos. A Down-kór kromoszomális alapját Jerome Lejeune, Martha Gautier és Raymond Turpin közzölték 1959-ben. Ez volt az első azonosított kromoszómaszindróma! Érdekes, hogy Ursula Mittwoch már az ötvenes évek elején vizsgálta a Down-kórosok meiózist, de nem talált aneuploidiaira utaló jelet.

A Down-kór gyakorisága születéskor meglehetősen nagy: 1/500—1/700, különböző szerzők szerint. Az életkilátások elég jók, és növekednek a beteg életkorának előhaladtával. Így születéskor az életkilátás átlagosan 16,2; 1 éves korban 22,7 és 5—9 évesen 26,7, de gyakran magas életkort is megérnek.

A Down-szindróma akár az utcán is felismerhető a széles, lapos arcról, melyben „mongolosan” nyesett szemek ülnek. A mongolos szemrést a szemzűg belső bőrrédeje hangsúlyozza. A szem szívárványhártyáján gyakran kis fekete pöttyök rendezetlen gyűrűje figyelhető meg (Brushfield-féle pöttyök). Az orr rövid és lapos, az orrlukák szemből is láthatók általában. A túlméretezett, barázdált nyelv miatt a különben nem nagy száj majd mindig félig nyitva, látni engedi a rendetlenül nőtt fogakat, és még feltűnőbbé teszi a szellemi visszamaradottság benyomását. A csapott homlok és a tünetegyüttesre igen jellemző lapos, a nyakkal függőlegesen egy síkban levő tarkó, a profilt teszi összetéveszthetetlenné. Alacsony izesülő, általában rosszul „szabott”, gyakran „bokszolásra csipkézett” fülek egészítik ki a képet. A Down-kórosok archerendezése, kopó-

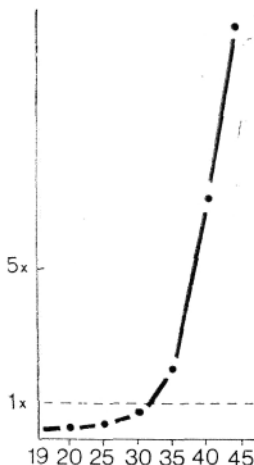
nyaformája annyira hasonló, hogy több könyvben látható fénykép-összeállítás a különböző emberi rasszok Down-kórosainak hasonlóságát demonstrálja, de ezen túlmenően is genetikusi szállóige, hogy a „21-es triszómiások jobban hasonlítanak egymáshoz, mint szüleikhez“.

A 21-es kromoszóma egyike ősi kromoszómáinknak, sávmódszerekkel azonosnak tűnik az embernél és az emberszabású majmoknál. Az bizonyos, hogy a Down-kór fenotípusos jegyei hasonlóak az emberszabású majmoknál és egy gyermekorvos diagnosztizálhatja például egy csimpánzbébin is.

Igen jellegzetes a tömpe, rövid, elálló ujjakkal ellátott kéz, ami a középső ujjperecek rövidségének eredménye. A kisujj befelé görbült. A tenyeret mintegy kettéosztja egy mély és széles „szálkás“ harántbarázda, ez az ún. majombarázda. Erről viszont tudnunk kell, hogy gyakran megjelenik más kromoszóma-rendellenességben, kromoszóma-rendellenességgel nem társuló malformációs kórképekben is, sőt csak az egyik kézen nem ritka a teljesen normális vagy egyenesen kiemelkedő intellektusú embereknél sem. Az ujjak bőrlécrajzolata különleges, sok hurkot tartalmazó. A láb ujjai tömpék és egymástól elállóak. Hiányzik a 12. borda, és abnormálisan fejlődik a medence, ami a járást jellegzetesen „cölönkölővé“ teszi. Izomtónusuk születéskor annyira gyenge, hogy „összecsomagolható“ csecsemőknek nevezik őket; ez később javul. Az esetek 40%-ában veleszületett szívrendellenesség társul ehhez a kórképhez is (rés a kamrasövényen vagy a pítvarsövényen, illetve a verőeres vezetőik léte, összeköttetése az aortaív és a tüdőartéria között). A patkóbél szűkülete és a vastagbél tágulata (Hirschprung-betegség) sem ritka. A nemi fejlődés szervileg általában normális, de a Down-kóros férfiak sterilek. Több mint 20 esetben írtak le terhességet Down-kóros nőnél, az utódok egy része szintén a szindróma áldozata, egy részük szellemileg elmoradott, de nem Down-kóros, és egy részük teljesen normális (Grouchy, Turleau 1977).

Fertőző betegségekkel szembeni ellenállóképességük alacsonyabb, és mint több más kromoszóma-rendellenességnél, itt is gyakoribb a rosszindulatú daganatok előfordulása, 20-szor annyi Down-kóros betegszik meg akut fehérvérűségben, mint normális kariotípusú.

Értelmi képességeik elég széles skálán mozognak, de zönnük súlyosan retardált. Intelligenciahányadosuk öt éves korban



17. ábra. Down-kóros (21-es triszómiás) születésének kockázata az anyai életkor függvényében (Vogel, Motulsky 1979 nyomán).

átlagosan 50, de csak 38 tizenöt éves korban. Vannak köztük majdnem normálisak és csak vegetatív életmódra képesek is. Jellemző általában az elvonatkoztatási készség teljes hiánya. A formális logika néhány eleme megmaradhat, így egyesek jól számolnak. Kedves, ragaszkodó kisgyermekek. Örök gyerekként a szülőkhöz erősen kötődő, a mechanikusan ismétlődő automatizmusokat kívánó munkát jól végző felnőttekké serdülhetnek megfelelő nevelés mellett. Külföldi példák azt mutatják, hogy legjobb eredményt a kizárólag Down-kórosokat tömörítő kisegítő osztályokban lehet elérni, mivel lelki alkatuk a többi

értelmi fogyatéktól lényegesen eltér éppen affektivitásukban és jól szocializálhatóságukban.

A Down-szindrómások kariotípusa az esetek 92,5%-ában szabad triszómia. Egy részük transzlokációs (10.4 fejezet), ez esetben az ismétlődés veszélye jóval nagyobb.

Az anyai életkor szerepe a Down-kór létrejöttében bizonyított. Az anya életkorának előrehaladtával mértani haladásvány szerint növekszik a 21-es triszómia előfordulásának esélye. Ha az anya 20 éves, a kockázat 1/2000, 35 éves korban 1/300, 40—45 év között 1/100, és 45 év felett 1/50. A nagy amerikai kórházak (Mayo, Mount Sinai, M. D. Anderson) már évek óta minden 35 év feletti terhesnél magzati kromoszómavizsgálatot végeznek a terhesség elején. Számításunk szerint hazánkban a magzati kromoszómavizsgálat bevezetésével és általánossá tételével mintegy évi 200—300 Down-kóros eset lenne megelőzhető, azaz tíz év alatt 2000—3000. E kérdésre még visszatérünk (15.2 fejezet).

Hosszabban időztem a 21-es triszómiánál, mert az egyetlen olyan kromoszómaelváltozás, mely 1) gyakori, 2) életkilátásai jók, 3) a társadalom számára egyértelműleg csak terhet jelentő egyedeket eredményez. Az összes többi kromoszóma-szindróma vagy ritka, vagy korai halálozáshoz vezet, vagy ha egyik sem, akkor a társadalom számára reprodukciós szempontoktól eltekintve teljes vagy majdnem teljes értékű személyeket eredményez (pl. a Klinefelter-kór).

### 8.2.7. 22-es triszómia

1960—69 között 18 olyan G-triszómiás gyermeket találtak, akik nem illettek bele a Down-szindróma kereteibe, ezért „non mongolian” G-triszómiának nevezték el körképüket (Grouchy, Turleau 1977, Geormăneanu 1978). Később autordiográfiás módszerrel sikerült a szám feletti kromoszómát azonosítani, és bebizonyosult, hogy ez a 22-es. Q- és G-sávzással Punnett (1973) bizonyítja a 22-es triszómiát. Romániában Duca és mtsai (1976), illetve Hurgoiu és Imreh (1983) írtak le egy-egy esetet, ami meglepően sok (!), hiszen világszerte kevés az ismert 22-es triszómiások száma. Grouchy és Turleau 1977-es kromoszómaatlasza 19 esetről tud. Magyarországon egy mozaikos esetet írtak le (Osztovics és Ivády 1977), a többi szomszédos országból egyetlen azonosított 22-es triszómiáról sem tudunk.

A 22-es triszómia klinikai képe fejlődésbeli és értelmi visszamaradottságot árul el. A koponya kicsinysége és az áll rövidsége itt is feltűnő. A szemrések vízszintesek vagy éppen lefele nyesettek (antimongol szemrés), a belső szemzug bőrredője miatt a szemek távolállóknak tűnnek. Papagájcsőrhez hasonló orr, alacsonyan ízesülő fülek, nagy felső ajkak, a végtagcsontok elváltozásai, szívrendellenességek, a nemi fejlődés zavarai és lágyéksérv jellemzi még a körképet. Alacsony izomtónusú, fejletlen vázizomzatú csecsemők, a betegek nem járnak, általában fel sem tudnak ülni, és sohasem beszélnek. IQ-juk 20 alatti. A mi esetünkknél (Hurgoiu, Imreh 1983) az arckoponya megfelelt a fenti leírásnak. A nemi szervek malformált képet mutattak, a rövid. hímvessző alatta nyíló húgycsővel és rejtettheréjűséggel társult. A herezacskó erősen kettéosztott volt, annyira, hogy kezdetben hermafroditizmusra gyanakodtunk.

A 22-es triszómiások életkilátásai nem túl biztatók, a legidősebb ilyen személy 12 éves. A fertőzések iránti érzékenységükön túl egyre súlyosbodó értelmi zavaraik, esetleg skizofrénia nehezíti életben tartásukat.

### **8.2.8. 21-es monoszómia**

Ha létezik egyáltalán teljes autoszomális monoszómia, amelyet az ember túlélhet, az a 21-es kromoszómáé. A leírt esetek citogenetikai feldolgozása kétségessé teszi, nincs-e mozaikosságról szó. A bebizonyítottan mozaikos 21-es monoszómia fenotípusa a 21-es gyűrűkromoszóma-szindrómához hasonlít (10. fejezet) (de Grouchy, Turleau 1977).

## **8.3. AZ EMBER GONOSZOMÁLIS GENOMMUTÁCIÓI**

Láthattuk, hogy az autoszómák hiányát nem lehet túlélni, még a legkisebbét is ritkán. Spontán vetélésekben is ritka az autoszomális monoszómia. Az egy kromoszóma többletét is csak akkor éljük túl, ha viszonylag kis vagy kevés gént tartalmazó kromoszóma triszómiájáról van szó. Nem véletlen tehát, hogy az egyetlen gyakori triszómia éppen az igen kicsiny 21-es kromoszómáé.

Mi a helyzet az ivari kromoszómák (gonoszómák) számmutációival? Az Y-kromoszóma nagyon kevés gént tartalmaz; ezek



döntő jelentőségűek a here kialakulásában és a nemi szervek férfiasá válásában, de kis számuk miatt a dupla Y nem okoz súlyos elváltozást. Mivel azonban az Y homológ párja normális férfi-kariotípusban az X, az Y hiányában a fenotípus mindig nőies lesz. A gonoszomális nulliszómia (mindkét ivari kromoszóma hiánya) nem létezik, mert összeegyeztethetetlen az élettel. Az X-kromoszóma sok gént, a teljes genom 5%-át tartalmaz. Eddig csak kis hányadát ismerjük az X-re lokalizálható géneknek, de ez is több mint 70 (Raskó 1977). Viszont az X-kromoszóma genetikai viselkedése egyedülálló. A férfi és női géndózis-kompenzáció miatt csak egyetlen X-kromoszóma marad teljesen aktív, a többi a Lyon-hipotézisnek megfelelően (6. fejezet) jórészt inaktívulódik. Ezért aztán nemcsak az lehetséges, hogy egyetlen X legyen a kariotípusban (X-monoszómia), hanem — éppen lefojthatósága miatt — a megsokszorozódása is, mégpedig nem túlságosan súlyos következményekkel. Vegyük sorra tehát a gyakoribb gonoszóma-számmutációkat.

### 3.3.1. X-monoszómia (Turner-kór)

Turner 1938-ban írta le a nők alacsony növéssel, a nemi érés elmaradásával és sterilitással, rövid bőrredős nyakkal és könyökmalformációval jellemezhető szindrómáját, mely ma a nevét viseli. 1954-ben Polan észrevette, hogy nincs Barr-testekéje a pácienseknek, majd 1959-ben Ford és mtsai felfedezték, hogy kariotípusuk 45, X, vagyis egyetlen gonoszóma és 44 autoszóma.

A Turner-kór születéskori gyakorisága 1/2500. Feltételezik azonban, hogy megtermékenyítéskor sokkal gyakoribb, de 97%-uk a terhesség korai megszakadásához vezet.

A csecsemőt kéz- és lábháti vizenyőjéről lehet felismerni, legkönnyebben a születés után. Később az ödéma nem jellemző, és a növekedésbeli elmaradás sem mindig feltűnő. A nyak laza bőre által alkotott kétoldali lebenyszerű redő miatt szemből igen jellegzetes szfinx-szerű megjelenést eredményez. A csuklyaszerűen kiszélesedő nyakon, hátul igen alacsonyan kezdődik a hajzat vonala. Az arcon elsősorban az állcsont fejletlensége és a gótikus szájpad miatt kialakuló „halszáj” és a gyakran alacsonyabban ízesülő fülek lehetnek feltűnőbbek. A mellkas széles, pajzszerű. A könyök kifelé fordult, a 4—5. kéztőcsont rövidebb. A lábak deformisak lehetnek a sípcsont felső végének ellaposodása miatt (Kosowicz-jel). A külső nemi szervek infan-

tilisak, a szörzet gyér. A petefészek helyett egy ujjnyi kötőszöveti szalagot találunk, ezek az ún. csikgonádok. A méh is fejletlen, és a másodlagos nemi jegyek szintén hiányosak. Ennek ellenére nemi életük általában normálisnak mondható, de természetesen meddők, egy-két kétséges kivételtől eltekintve. 20%-os a szív és keringési rendellenességek, 40–60%-os a vesefejlődési rendellenességek (patkóvese) előfordulási gyakorisága. Az X-kromoszómához kötött betegségek gyakorisága nem nagyobb köztük, de gyakoribb az átlagpopulációhoz képest a rákos megbetegedés, fehérvérűség. Az értelmi fejlődés általában nem szenved különösebb zavart, néha egész kiemelkedő IQ-t érhetnek el. Tizenhét, kariotípussal bizonyított, 45, X saját esetünk egyike enyhén értelmileg visszamaradott, két tizenéves betegünk viszont egészen kiemelkedő tanulmányi eredménnyel büszkélkedhet. Tizenhárom Turner-szindrómás mikronukleusz-frekvenciájának elemzésekor (9. fejezet) a kromoszómatörésre, illetve kromoszómavesztésre utaló sejtmagvacskák (mikronukleusz) átlagot meghaladó gyakoriságát találjuk (Imreh és mtsai 1984).

Életkilátásaik normálisak.

Carothers és mtsai (1980) vizsgálatai szerint 288 eset alapján úgy tűnik, a Turner-kór kockázatát nem befolyásolja sem az apa, sem az anya életkora, sem pedig a születési sorrend.

Mivel a havivérzés elsődleges hiánya miatt kerülnek kromoszómaanalízisre, hadd soroljuk fel, hogyan oszlik meg a kariotípusok gyakorisága a primer menstruációhiányban:

- 46, XX—72%
- 46, XY—77%
- 45, X—10%
- 45, X mozaik — 9%
- egyéb—2%

(kerekített értékek, van Niekerk 1978 után).

Tíz alatti a kettős, Down—Turner aneuploid esetek száma, ahol általában tiszta Down- és Turner-mozaikról van szó (Bajnóczky, Méhes 1979).

### 8.3.2. 47, XXX, X-triszómia (nem szupernő)

Patricia Jacobs és mtsai írták le először 1959-ben a 47, XXX kariotípust. Mivel ezt a kromoszóma mutációt a *Drosophila*-nál már ismerték és „szupernőnek” nevezték, Jacobsék tovább-

vitték az analógiát. Mivel azonban az analógián kívül a terminusnak semmi olyan értelme sincs, ami az embernél általa szuggerált asszociációkat indokolná, ma már nem használják ezt az elnevezést. Születéskori gyakoriságuk 1/1250, de megjegyzendő, hogy az esetek jelentős hányada minden bizonynyal rejtve marad. Ha visszalapozunk a 6. fejezetre, a Lyonhipotézis tárgyalására, megértjük, miért. Az egy aktív és két inaktív X-kromoszómájú, tehát két Barr-testecskéjű nők fenotípusa általában normális (de semmi nőiességi többlettel). Nemi érésük és termékenységük általában normális, ritkábban menstruációs zavar és korai menopauza társulhat a 47, XXX kariotípushoz. Az esetek 1/3-a kevéssel az átlag alatti értelmi fejlettségű. Gyakoriságuk viszont átlagon felüli a pszichiátriai intézetekben.

### **8.3.3. 48, XXXX, X-tetraszómia**

1961-ben Carr és mtsai írták le az első két esetet, melyet női fenotípussal és nemi fejlődéssel, de értelmi visszamaradottsággal jellemeztek. Ez azt is jelenti, hogy nem mindegyik X-tetraszómiást fedeznek fel még napjainkban sem. E három Barr-testecskével rendelkező nők egy része teljesen normális lehet nemcsak fizikailag, hanem intelligenciaszempontból is.

Amennyiben rendellenesebb a megjelenésük, ez ovális arcot, távolabb ülő szemeket, kétoldali bőrrödöt a szemzugban és enyhén felfele nyesett szemeket jelent, tehát a 21-es triszómiára emlékeztető arcterendezést (Grouchy, Turleau 1977). Feljegyezték még a singsont-orsócsont összenövését, a rövid ujjakat és az 5. ujj görbülségét. Gyakorta menstruációs zavarokkal küzdenek. 1977-ig egyetlen esetet ismertek ezzel a kariotípussal, akinek két gyermeke volt, egyik ezek közül Down-kóros.

### **8.3.4. 49, XXXXX, X-pentaszómia**

Kesaree és Wooley írta le az első X-pentaszómiás páciens 1963-ban; 1979-ig 15 esetet ismertettek (Archidiacono és mtsai 1979). Az X-pentaszómia mindig fenotípusos elváltozással jár. A legjellegzetesebb az alacsony születési súly, már az élet első óráiban is feltűnő reakciómentesség, a Down-kórra kissé emlékeztető arc, rövid nyak, rendetlenül-hibásan növvő fogazat.

Kevéssé súlyos csontelváltozások és a növekedési porcok késői csontosodása egészíti ki a kórképet. Kilenc esetben a 15-ből veleszületett szívrendellenességet is megfigyeltek.

### **8.3.5. 47, XXY (Klinefelter-kór)**

1942-ben Klinefelter és mtsai a *Journal of Clinical Endocrinology*-ban írtak le egy szindrómát, melyet ginecomastiával (nőies mellel), a spermiumok hiányával és a női nemi hormon túlsúlyával jellemeztek. Bradbury és mtsai (1956) figyelik meg a Klinefelter-szindrómások Barr-pozitivitását, két év múlva Polani és mtsai már feltételezik két X-kromoszóma létét e sejtekben, aztán végül Patricia Jacobs és J. A. Strong (1958) először bizonyítják mikroszkóposan a 47, XXY kariotípust.

A Klinefelter-kór gyakorisága születéskor 1/450—1/847. A leggyakoribb vagy legalábbis a Down-kór gyakoriságával „versengő” gyakoriságú kromoszómaszindróma tehát. „Alulbecslésem” szerint országunkban évente 600 csecsemő születik e szindrómával. A 47, XXY kariotípus nemesak orvosgenetikai, hanem az egész társadalom szempontjából is igen fontos kromoszómarendellenesség.

A Klinefelter-szindróma legjellegzetesebb diagnosztikai körvonalai a pubertás körül alakulnak ki. Az újszülötteknél csak a szokásosnál jóval kisebb herékre, esetleg rejtettherájúságra vagy a húgycsőnyílás rendellenes elhelyezkedésére lehet felfigyelni, kérve a kromoszómaanalízist vagy legalább a Barr-tesztet. A fenotípus változékony, az eunuchoid külsőtől a teljesen normális férfias megjelenésig. Ha a statisztikai átlag alapján akarjuk leírni őket, feltűnő a magas növény, mely első-sorban a hosszú csontok megnyúlásának köszönhető. Normális vagy majdnem normális fejlettségű himvesző mellett a két here kicsiny, puha és rugalmasság nélküli, felnőttkorban a normális, hozzátétőlegesen 3,4 cm átmérőnél legalább 30%-kal kisebb. A here kanyarulat csatornái — melyek falában a spermiumok képződnek — nem alakulnak ki vagy elsorvadnak. A hereszövetben viszont felismerhetőek a férfi nemi hormont — tesztoszteront — termelő Leydig-sejtek. Mivel a kórképben sok az átfedés egyéb nemi fejlődésbeli zavarral, Grumbach és mtsai (1957) a „*herecsatorna-fejletlenség*” (seminiferous tubule dysgenesis) szindrómát tartják az egyértelmű, ezért helyes elnevezésnek. A prosztata is fejletlen. Az ondóváladék csökkent mennyiségű, és nem tartalmaz spermiumokat. Az esetek

50%-ában a másodlagos nemi jellegek nem alakulnak ki teljesen. A szakáll gyér vagy teljesen hiányzik, fanszőrzet felső határa egyenes nőies vonal, nem a férfira jellemző, köldök felé néző hegyesszög. Gyakori a nőies emlő, illetve ahhoz hasonló zsírlerakódás és a csipő is nőiesen gömbölyded. Hormonkezelés nélkül a nemi készítés többnyire gyengébb, a nemi potencia az esetek 33%-ában csökkent. Fiatalkori csonttritkulás és az arc korai ráncosodása — amit a szakáll hiánya még feltűnőbbé tesz — igen jellemző a szindrómára. A hormonháztartást a férfi nemi hormon hiánya és a női nemi hormon túlsúlya jellemzi.

A legtöbb vitát a Klinefelter-kórosok értelmi fejlődése és deviáns, egyesek szerint az átlagpopulációnál gyakrabban antiszociális viselkedésmódja váltotta ki. Az első jelzés tudommal az edinburghi Western General Hospital munkaközösségétől származik (Jacobs és mtsai 1959), akik az értelmi fogyatékos bűnöző férfiak között több gonoszóramutatót találtak, mint azt az átlagos gyakoriság alapján várni lehetett volna (lásd még a 8.3. 11. fejezetet). Court Brown, az edinburghiek igazgató-főorvosa hívta fel a figyelmet az antiszociális viselkedésmód genetikai determináltságának lehetőségére a Klinefelter-kórosban, mivel 46 kromoszómavizsgálattal bizonyított Klinefelter-kóros között 14-et lopás, gyújtogatás, magamutogatás miatt börtönviseltnek talált. Moisieir és Scott (1960) 600, intézetben nevelt szexuális pszichopata között 6 (1%) Barr-pozitív személyt azonosított. Raboch és Sipová (1961) a prágai Károly Egyetem Szexológiai Intézetében 47 Klinefelter-kórost vizsgált. Egyikük sem szerzett egyetemi diplomát. Középiskolai eredményük 20 esetben feltűnően gyenge, 24 esetben közepes és csak három esetben kiemelkedő. Intelligenciavizsgálat során 12 bizonyított populációs átlag alattinak és csak kettő átlagon felülnek. Bár a tankönyvek zöme lakonikusan leszögezi, hogy a Klinefelter-szindrómások enyhe értelmi fogyatékosok, ez igen túlzó általánosítás még akkor is, ha pl. Nielsen és mtsai (1980) 34 eset átlagául 102,8-as IQ-t kaptak, néhány ponttal a populációs átlag mögött. Azért tartom hibásnak ezt így kijelenteni, mert sok köztük a teljesen normális vagy átlagon felüli értelmi képességű. Problémáik nagyrészt pszichikai jellegűek. Saját kis számú (20) Klinefelter-kóros esetünk egyike sem első fokú végzettségű, de egyiket sem lehet értelmi fogyatékosnak nevezni. Szociális beilleszkedésük is jónak tűnik, elég, ha

megemlítem, hogy 11 házasember, 5 csecsemő vagy iskolás, 3-nak családi állapotát nem ismerjük, és egy legényember, aki krónikusan beteg. Ő az egyetlen különben e csoportban, aki pszichiátriai kezelés alatt áll. Két páciensünk neuraszténias tünetei feltűnők, és 4 kimondottan infantilis egyéniség. Büntetendő cselekményt egyikük sem követett el. Az antiszociális magatartásukra vonatkozó adatok különben igen ellentmondásosak. Wegmann és Smith (1963) például 1318 fiatalkorú bűnözőt vizsgált meg, de köztük csak két Klinefelter-szindrómást talált, ami a születéskor észlelhető gyakoriságnál is alacsonyabb. Forssman és Hambert (1963) 1625 pszichiátriai beteg között 10-et talált, 760 értelmi fogyatékos, nehezen kezelhető büntetett előéletű között viszont 15 volt Klinefelter-kóros. Ezt a munkát idézik a legtöbben, no meg Swanson és Stipes (1969) közleményét a chicagói Loyola Egyetemről, amelyben megállapítja, hogy míg a Klinefelter-kór általános gyakorisága 1/450, addig a neurológiai klinikákon és az értelmileg visszamaradottak között egyaránt 1/100-as gyakoriság figyelhető meg. Szerintük a tipikus Klinefelter-kóros általános beilleszkedési zavarokkal küzdő, érdeklődés- és ambícióhiányos, emellett érzelmileg kiegyensúlyozatlan. Egyedi esetekben neurózisok, pszichózisok és a szociopatológias viselkedésmód egész sorozata jelentkezhet kompenzációs reakcióként. Tudathasadásra való hajlamuk is megnövekedett. Pritchard (1969) viselkedésmódjukat az „anya nélküli gyermekkor” (maternal deprivation childhood) okozta pszichikai traumával hasonlítja össze. Mindkettő hajlamosít ugyan a pszichopatológias, illetve szociális devianciára, de egyik sem elkerülhetetlenül. Czeizel (1977) a bűnöző karakter örökletességét tárgyaló tanulmányában korabeli forrásokra hivatkozva egyenesen elveti a bűnözésre való hajlam és a Klinefelter-szindróma kapcsolatát. Ez különben a hetvenes évek végére jellemző álláspont, mely a társadalmi melléállást szorgalmazza és az orvosi kezelés hatékonyságának növelését sürgeti.

Közben nem szűnt meg annak kutatása sem, mi okozhatja az XXY gonoszóma-összetételben megfigyelhető panaszokat. Legérdekesebb, bár nem bizonyított hipotézis a Barlowé (1973), aki szerint a plusz X-kromoszóma ugyan inaktíválódik, de a heterokromatin-többlet az embrionális agy fejlődésekor gátolja a sejtosztódást. A differenciált agysejtek számának legkisebb módosulása is kihat az agy működésére. Ugyanebben az

időben figyelték meg azt is, hogy a Klinefelter-szindrómások embrionális herefejlődése normálisnak mondható, újszülöttkorban sincs lényeges különbség a normális kariotípusúakhoz képest, de 10 hónapos korban már feltűnően kisebb a csirasejtek száma, 7—10 éves korban pedig nem lehet normális hereszövetet találni. Tizenkét éves kortól a here kanyarulat csatornái már sorvadtak, áttetszőek, ami a felnőttkori Klinefelter-kóros here sajátja is. Ezért is igen fontos a Klinefelter-kór felismerése még kisgyermekkorban és a hormonkezelés prepubertális megkezdése. A helyesen alkalmazott kezelés ugyan nem szünteti meg a sterilitást, de sokat javít a hipogonadizmuson (a nemi szervek fejletlenségén), kiegyensúlyozza az értelemi fejlődést, és igen hasznos mind fizikai, mind pszichikai szempontból (Nielsen 1980).

Hosszabban időztünk e kromoszóma mutációnál, és nem véletlenül. Amint láttuk, a leggyakoribb, a Down-kór gyakoriságát valószínűleg meghaladó kromoszómaszindróma, de azzal ellentétben a Klinefelter-kórban szenvedők fenotípusa beilleszkedik az átlagpopuláció paramétereire közé. Ennek ellenére eltűnt távolról sem problémamentes sem maguk, sem a társadalom szempontjából. Jóval nagyobb figyelmet érdemelnének mind egészségügyileg, mind szociálpolitikailag. E figyelem egyik — igen lényeges — eleme a korai, pontos kromoszómaanalízis.

### **8.3.6. 48, XXXY-szindróma**

Három X- és egy Y-kromoszómával rendelkező két személy kariotípusát Carr és mtsai (1961) közzétették először Kanada—USA kollaborációban.

Súlyos értelmi fogyatékoságról számoltak be (IQ = 60 mindkét esetben) normális habitus mellett, leszámítva a kicsiny heréket. Ritka kromoszóma mutáció, bár jelenleg már több tucat esetet ismerünk, melyek fenotípusa beleolvad a Klinefelter-kórképbe, annak egy súlyosabb formáját eredményezve.

Saját egyetlen esetünk fenotípusa is tipikus Klinefelter-szindróma, annak eunuchoid változatával. Egyik heréje alig tapintható kötőszöveti rögnek tűnik, a másik babszem nagyságú. Értelemi fejlődése említésre méltó, mert jól demonstrálja, mennyire nehéz általánosítani e kérdésben. Igen gyenge tanuló volt, de a vidéki kisvárosban, ahol lakott, elvégezte a mesteriskolát, és gyárban, lakatosként kielégítően dolgozik. Tizennyolc éves koráig pszichikai fejlődése nem árult el kü-

lönösebb zavart, pszichiátriai vizsgálata is normális képet mutatott. Huszonnégy éves korában viszont, amikor hozzánk került, már idült alkoholistá és viselkedése, beszédmódja súlyos értelmi fogyatékosra utal. El lehet képzelni meglepetésünket, amikor kiderült, hogy beutalására azért került sor, mert kiváló sakkozónaként egy sakkversenyen (!) epileptikus rohamot kapott.

### **8.3.7. 49, XXXXY-szindróma**

Fraccaro és mtsai (1960) az első leírói e kariotípusnak. 1977-re (Tumba) már több mint 80 esetet ismernek.

Minden esetben feltűnő az igen alacsony születési súly. Kisfejség és távol álló szemek, mongolos szemréssel és a szemzug bőrrödjével az esetek 92%-át jellemzi. Gyakori a szemtengelyferdülés és rövidlátás csakúgy, mint az előreugró áll, könnyökélváltozás, singsont—orsócsont-összenövés, lúdtalp, térd- és csípőelváltozás és késői csontosodás. A kisujj görbültsége is állandó tünet. A hímvesző alig fejlett, a herék nem ereszkednek alá a szintén fejletlen herezacskóba. Ennek ellenére a fenotípus férfi, bár hiányos másodlagos nemi jellegekkel. A szakáll hiányzik vagy gyér, a fanszőrzet nőies, viszont nem szokott nőies emlő társulni a kórképhez. Az X-kromoszómák számának növekedésével egyre súlyosbodik az értelmi visszamaradottság (18. ábra). Tumba (1975) szerint az IQ átlagosan 38,2, 19 és 73-as szélső értékekkel.

### **8.3.8. 46, XX — női kariotípusú férfi**

Az első ilyen esetet La Chapelle (1964) írta le. Tulajdonképpen genommutáció, hiszen a kariotípus normális női. A fenotípus viszont általában férfiasabb még a Klinefelter-szindrómásokénál is, pedig azok nemi hovatartozása csak ritkán kétséges.

Mivel a herék kialakulásához mai tudásunk szerint elengedhetetlen az Y-kromoszóma léte, illetve az általa hordozott gének, 46, XX kariotípusú férfiak létezésének magyarázatára kidolgozott hipotézisek rejtett X/Y transzlokációt (10. fejezet), fel nem derített 46, XX/46, XY mozaicizmust vagy génmutációt tételeznek fel (Grouchy, Turleau 1977).



### 8.3.9. 46, XY — férfi kariotípusú nő

Ez sem genommutáció, hanem a genetikai és a látható nem ütközése. „Legtisztább” változata az ún. *testikuláris feminizáció*. E szindrómában, valószínűleg egy X-kromoszómához kötött gén mutációja miatt, a here nem fejtheti ki „férfiasító” hatását. Fenotípusosan normális nők, akik azért kerülnek nőgyógyászhoz, majd citogenetikushoz, mert nincsen havivérzésük. A here általában a hasüregben vagy a nagyajakban fellelhető. A kariotípus normális 46, XY.

Kevésbé egyértelmű a női fenotípus, eunuchoid inkább, a gonadális diszgenezisek különböző változataiban. A petefészek helyett a Turner-szindrómában megismert csikgonádokat találjuk. A kariotípus lehet 46, XY, a gonoszomális mozaikok bármely elképzelhető együttese vagy a gonoszomák szerkezeti megváltozása, aberrációja.

### 8.3.10. Fiú vagy lány?

Sajnos nem ritka e kérdés a klinikák újszülöttsztyán. A valódi kétneműség, a *hermafroditizmus*, amikor mindkét nem külső és belső nemi szervei megtalálhatók, igen ritka. Az átmeneti formák (*interszexualitás*) sora ellenben hosszú, és az orvosoknak nem kevés gondot okoz. A kromoszómáról szóló könyvben csak annyit kell megjegyeznünk róluk, hogy gyakran húzódik meg kromoszómamutáció a háttérben. A klinikust az interszexualitás minden változatában sokban segítheti a kromoszómavizsgálat. Gyakran fordulnak a citogenetikushoz a nem eldöntése végett, magunk is több esetben javasoltuk a bejegyzett nem megváltoztatását a kromoszómavizsgálat eredménye alapján.

### 8.3.11. 47, XYY és 48, XXYY — nem szuperférfi és nem gyilkos

Avery A. Sandberg, akit ma főleg a rák citogenetikájában elért eredményeiért tartunk számon, fedezte fel az első 47, XYY-os esetet 1961-ben. Nem ritka genommutáció. Különböző szerzők szerint születéskori gyakorisága 1/700–1/2000 között van. Therman (1980) szerint gyakorisága azonos a Klinefelter-kóréval.

A 47, XYY kariotípus az esetek többségében nem okoz semmilyen fenotípusos elváltozást, ezért tudatosan kerültem

„fejezeteimbem a szindróma vagy kór kifejezést. Bár Edinburghban Patricia Jacobs és mtsai, hüen önmagukhoz (8.3.2. fejezet), „szuperférfinak“ nevezték e kariotípus hordozóit, szuperségük egyetlen jele az átlagot meghaladó magasságuk:  $182 \pm 6,5$  cm (Maximilian és Ionescu forrásai szerint, 1978), de tudunk 227 cm-re nőtt dupla Y-osról is (Czeizel 1976). Majdnem mindig magasabbak, mint normális kariotípusú testvéreik. Robusztus, atlétikus alkatúak általában, csak ritkán aszténiások. Kis, nem súlyos malformációkat ugyan feljegyeztek náluk, de ezek minden valószínűség szerint véletlenül kapcsolódnak a kariotípushoz, és semmiképpen sem alkotnak körképet. Másodlagos nemi jellegeik általában normálisak, de gyakran a Klinefelter-kórhoz hasonlóan nőiesek. A nőies mell viszont elég ritka. Nemi vágyuk normális vagy túlzott, potenciájuk ellenben átlag alatti. Zömük termékeny és bár utódaik között gyakoribbnak kellene lennie az XXY és XYY kromoszóma-összetételnek (hiszen négyféle: X, Y, XY, YY-os spermiumot termelnek), majdnem mindegyik gyermekük normális kariotípusú.

Muldal és Ockey írta le az első 48, XXY kariotípusú férfit, 1960-ban, enyhe malíciával „kétszeresen“ férfinak nevezve a páciens, mert ugyanakkor a Klinefelter-szindrómakörbe sorolták. Ritka genommutáció, gyakorisága születéskor 1/50 000, de veszélyes értelmi fogyatékosok között 50–100-szor több fordul elő, mint az átlagpopulációban (Grouchy, Turleau 1977). Fenotípusuk megfelel a Klinefelter-kórnak, nemcsak megjelelésben és hormonháztartásban, hanem a here szövettani képében is. Sterilek tehát mindannyian. Az átlagpopulációnál magasabbak. Értelmi fogyatékoságuk sokkal kifejezettebb, mint a 47, XXY és 47, XYY kariotípus hordozóié.

A természettudományok művelői gyakran úgy érzik, hogy munkájuk méltánytalanul kevés társadalmi figyelemnek örvend, hogy a mikroszkóp inkább a mikrovilág felé, semmint embertársaik felé nyit utat. E téren bizonyosan nem panaszkodhattak a hetedik évtized közepének angol és skót genetikusai, kiknek neve ez időben állandóan szerepelt a mass media minden csatornáján. Mi váltotta ki ezt a váratlan és nagymérvű érdeklődést? Patricia Jacobs és mtsai (1965) cikke a Nature-ban, mely *Agresszív viselkedés, átlag alatti értelem és az XYY-os férfiak* címmel jelent meg, indokolt érdeklődést

keltve szakmai körökben, de ugyanakkor be is dobva a gyeplőt a szenzációhajhász zsurnalisztika csikói közé.

Az előzményekhez tartozik az, hogy Casey és mtsai Angliában (1966) 942 férfi nemi kromatinvizsgálatát végezték el szájnyálkahártya-kenetből, két állami kórház zárt osztályán, ahol állandó felügyeletet igénylő durva, illetve agresszív viselkedésű pácienseket kezeltek. Huszonegy Barr-pozitívot találtak, ezeket kariotipizálva, 7 „kétszeres férfit“, tehát 48, XXYY kariotípusút. Skóciában már előttük végzett egy hasonló felmérést Mac Lean és munkacsoportja (1962), de ők csak „egyszerű“ értelmi fogyatékosokat vizsgáltak. 2607 férfiból 28 volt Barr-pozitív, ezeket kariotipizálva két XXYY-ost találtak. Az „agresszívek“ között tehát több a dupla Y, mint a „csak“ értelmi visszamaradottak között? Ezt a lehetőséget ellenőrizi Jacobs említett cikkében, az edinburghi Western General Hospital híres munkacsoportjával. Százkilencvenhét értelmi fogyatékosat vizsgáltak meg, akik a Casey eseteihez hasonlóan veszélyes, durva, illetve büntetett előéletűekként voltak számon tartva és speciális őrizet alatt. Tizenkét rendellenes kariotípust találtak, köztük hét 47, XYY, egy 48, XXYY, egy 47, XYY/46, XY mozaik és három autoszomális kromoszómaaberráció-hordozó volt. Később összesen 315 kórházban kezelt bűnözőt vizsgáltak meg, köztük 9 dupla Y-ost találtak, akik nagy része (6) 181 cm feletti magasságú volt. Ezt követően a citogenetikuskok nagyon sok bűnöző elmebeteget vizsgáltak meg, a sajtó pedig a maximumig felfújta minden esetet, amikor 47, XYY-os vagy feltételezett dupla Y-os követett el súlyosabb büntetett (Price és mtsai 1966). 1974-re a helyzetet a 6. táblázat összegzi.

A szakemberek sem tudtak elmenni a következtetés mellett: ha két Y fokozott agresszivitással jár, a férfiak normálisan egyedüli Y-jának kell tartalmaznia az agresszióra hajlamosító géneket, melyek a „férfias“ viselkedésmódot meghatározzák. Az újságírók pedig nemes egyszerűséggel máris „gyilkos kromoszóma“-ként emlegették a többlet-Y-t. Czeizel (1976) kitűnő tanulmányában a bűnöző hajlam örökölhetőségéről idézi is Patricia Jacobst: „Ezek a szuperférfiak magasabbak, agresszívebbek (e férfias jellemvonásuk túlságos érvényesülését jelzi gyakran csikos ruhájuk!) és értelmileg visszamaradottak.“

## 6. táblázat.

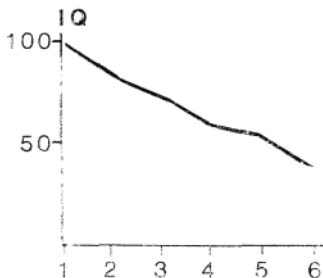
A dupla Y-os kariotípus összesített gyakorisága a különböző populációkban 1974-ig (Hook adatait idézi Maximilian és Ionescu 1978, módosítva)

vizsgált populáció	47, XYY		48, XXYY	
	esetszám	gyakoriság	esetszám	gyakoriság
újszülöttek	39 082	1/908	84 768	1/42 384
értelmi fogyatékosok	2 243	1/374	2 243	1/1 121
büntetettek	4 012	1/236	4 012	0
értelmi fogyatékos büntetettek	3 852	1/48	3 852	1/428

Jacobs e hármas jellemzésével kialakulna tehát a dupla Y-os tünettriász: 1. feltűnő magasság; 2. értelmi fogyatékos; 3. fokozott agresszivitás. Vegyük sorra.

A *magasnövés* és dupla Y kapcsolata bizonyítottan tűnik, ha az ismert eseteket nézzük. De hogy jutottunk hozzájuk? Az első vizsgálat 9 dupla Y-osa közül 6 feltűnően magas volt. Ettől fogva majdnem minden nagyobb felmérés szelektíven követte a magasakat, hiszen Court Brown (1967) szerint a dupla Y-osok fele 183 cm-nél magasabb, és magasságukkal „kölögnak” a családból. Philip és mtsai (1976) szerint a 184 cm-t meghaladó (a koppenhágai férfiak 15%-át kitevő) populációban (4139 eset) 1%-os a kromoszóma-rendellenességgyakoriság, és ezen belül 0,3% (12 eset) XYY, 0,4% (16 eset) XXY gonoszóma-összetételű. Bár ez az egész populáció szelektíven magas, a 47, XYY-osok és 47, XXY-osok átlagmagassága meghaladta a 46, XY-osokét. Az XYY-osok 1/345-ös gyakorisága e felmérésben valószínűleg meghaladja az újszülöttkori gyakoriságot, ami fiú-csecsemőknél 1/700—1/1000-re becsült. Egyes adatok szerint a születéskori gyakoriság nemre való tekintet nélkül 1/700 (Therman 1980), ami azt jelentené, hogy éppen átlagértéket kaptak Philipék. A gonoszómák és a hosszú csontok növekedése között bizonyosan van kapcsolat, hiszen az egy X-kromoszómás Turner-kórosok igen alacsonyak, és a genetikusok két X-kromoszómán és egy Y-kromoszómán elhelyezkedő génlocust gyanítanak a magasnövés mögött.

Az *értelmi fogyatékos*ág sem „szuperférfi”-kvalitás, bármennyire tetszik is Patricia Jacobs női gunyorosságának ez a lehetőség. Mi férfiak vissza tudnánk vágni azzal, hogy eddig csak a „női”, az X-kromoszóma számának növekedése és az



18. ábra. A gonoszómaaneuploidiók és az értelmi szint (IQ = intelligentia quotiens) összefüggése. 1: XX vagy XY; 2: XXY; 3: XXX; 4: XXXY; 5: XXXX; 6: XXXXY (Tumba 1975 nyomán).

értelmi fogyatékoság súlyosbodása között találtak lineáris összefüggést (18. ábra), de ez már tudománytalan elfogultság lenne részünkről. Idézzük fel még egyszer az előző fejezetben elmondottakat. Az Y-kromoszóma jelenléte férfias fenotípust vált ki, akárhány X található is mellette. Kettőnél több X-kromoszóma, ellentétben az autoszómákkal, csak azért egyeztethető össze az élettel, mert a fölös számú X-ek jórészt inaktíválódnak (heterokromatinizálódnak). Az autoszómák triszómiái, mint láttuk, mindig súlyos értelmi fogyatékosággal járnak. Az alacsonyabb intellektuális szint XYY gonoszóma-összetételnél tulajdonképpen természetes kellene hogy legyen, és inkább az a meglepő, hogy nem mutatható ki minden esetben. Ha kettőnél több Y-kromoszóma van (néhány XYYY és egyetlen XYYY/XO mozaikot ismerünk), hordozója magatartászavarral küzdő értelmi fogyatékos. Az értelem tipikusan poligénes tulajdonság, sok kromoszómán (akár mindegyiken) elhelyezkedő több száz gén tökéletes együttműködésével alakul ki az egyedfejlődés során a normális szerkezetű és működésű idegrendszer. Ebben a „génkoncertben“ bármely plusz vagy hibás hangszer diszszonanciát kelt, összezavarja az értelem zenekarát. A té-

nyek is az Y nem specifikus disszonanciaokozó hatása mellett szólnak. Láttuk, hogy minden értelmifogyatékos-kategóriában gyakoribb a dupla Y. Czeizel (1976) beszámol arról, hogy Budapesten 1364 alsótagozatos gyógypedagógiai iskolai tanulót és intézeti gondozottat vizsgáltak meg Y-kromatinra, köztük 8 dupla Y-os fiút találtak, és ez a szám a fiúk 1%-át jelentette. Ez szerint a születéskori gyakoriság 6–10-szerese. Witkin és mtsai (1976) a már említett dániai felmérésben a katonai sorozáskor alkalmazott intelligenciateszt értékei alapján találták értelmileg gyengébben fejlettnak az XYY-osokat, de iskolai végzettségük is lényegesen elmaradt a rekruaátlagtól. Ennek ellenére megjegyzik, hogy volt olyan köztük, aki majdnem normális pontszámot ért el. Az XYY-osok tehát az autoszomális triszómiásokhoz képest „olcsón megússzák“, mert mint tudjuk, az Y kicsiny kromoszóma és legnagyobb része (majdnem az egész hosszú karja) heterokromatikus. Minden valószínűség szerint kevés gén helyezkedik el rajta. Ezek között van az agresszív magatartásé is?

Mielőtt a dupla Y-osok agresszivitásáról tárgyalnánk, vizsgáljuk meg, örökölhető-e egyáltalán az agresszivitásra való hajlam. Kísérleti állatoknál úgy tűnik, hogy igenlő a válasz. Bárki, aki egerekkel kísérletezett, tapasztalhatta, hogy vannak egértörzsek, melyek egymással verekszenek és a kutatót megharapják, ha nem vigyáz, míg más törzsek a szomszédos dobozokban (tehát azonos környezeti feltételek között) szelídek, „simogathatók“. Tudunk arról is, hogy lehet szelektálni egert, patkányt agresszív viselkedésmódra, ezüstrókat különleges szelídségre. Áll mindez az emberre is? Kérdéses. Az emberi viselkedés örökletes meghatározottsága eltörpül a tanulás mellett. Viszont ha valaki értelmi fogyatékosága miatt nem képes megfelelően elsajátítani az együttélés normáit, összeütközésbe kerül a társadalommal. Joshua Lederberg Nobel-díjas molekuláris biológus elragadtatottan nyilatkozta, hogy az „XYY jelenség az egyik legkézzelfoghatóbb kapcsolat a genetikai konsztitúció és az emberi viselkedés között“. Valószínűleg nincs igaz. Az említett felmérések nem átlagpopulációt vizsgáltak, hanem vagy újszülötteket, vagy pedig bűnözőket, elmebetegeket, veszélyes értelmi fogyatékosokat. Bár ezek között ténylegesen több az XYY és XXYY, egyáltalán nem lehetetlen, hogy különösen az előbbiből sokan „rejtőzködnék“ a szürke átlagemberek tömegében anélkül, hogy bármilyen agresszív cselekedet-

tel felhívnák magukra a figyelmet. Már Court Brown (1967) megfigyelte, hogy ugyan az edinburghiek agresszívekként „cím-kézték“ dupla Y-osait, de a rendőri nyilvántartásban főleg tulajdon elleni bűncselekmények szerepeltek. A dánjai felmérés (Philip és mtsai 1976, Witkin és mtsai 1976) 4139 magas férfia között az XYY-osok 41,7%-a volt elítélve (5 a 12-ből), az XXY-osok 18,8%-a (3 a 16-ből) és a normális kariotípusú XY-osok 9,3%-a. A kontrollok és XYY-osok bűnözése közötti különbség szignifikáns, a Klinefelter-kórosoké nem. Amikor azonban Witkinék a bűnözés mikéntjét kezdték elemezni, kiderült, hogy csak egyetlen esetben volt szó ember elleni agresszióról, az is egy visszaeső bűnöző (50 vagyon elleni bűncselekményéből egy). A bűnök sem voltak különösebben súlyosak (a legnagyobb kiszabott büntetés sem érte el az egy év börtönt). A három XXY-os közül az egyik részegen brutálisan verte a feleségét, a másik kettőt tolvajlásért büntették. Mivel önmagában a magasság nem predesztinál bűnözésre, sőt több alacsony növésű kerül összeütközésbe a törvénnyel, mint magas (Court Brown 1967, Owen 1972), az alacsonyabb értelmi szinttel kell magyaráznunk az elítéltek nagyobb számát a két gonoszóma mutáció-csoportban. Amint Witkinék megjegyzik, nemcsak könnyebben téved antiszociális útra, de könnyebben meg is fogják az értelmi fogyatékos. A dupla Y-kromoszóma agresszióra való hajlamosítása Witkinék felméréséből viszont nem derül ki. Vizsgálatukat azzal zárják, hogy mivel adataik nem támasztják alá sem az XYY-osok, sem az XXY-osok különösebben agresszív voltát, azonosításuk nem könnyítene a növekvő bűnözés miatt aggódo társadalmon. Értelmi elmaradottságuk oka társadalmi beilleszkedési nehézségeiknek.

Befejezésül hadd idézzem Eva Therment (1980), a Wisconsin Egyetem genetikaprofesszorát: „A 47, XYY kariotípus szerencsétlen módon szenzációvá vált, mivel hordozóit a mass media erőszakos bűnözők és gyilkosok csoportjaként ábrázolta. Egyszerűen: ez nem igaz.“

#### 3.4. AZ EMBERI GENOMMUTÁCIÓK EREDETE

Végiglapozva az emberi autoszómák és gonoszómák aneuploidiainak számát ismertetését, óhatatlanul felöltik bennünk: mi okozza őket? Az eukariótákban megfigyelhető két osztódás-

típus „igazságosan“ felezi a genomot: a meiózisban a homológ kromoszómapárok válnak szét, a mitózisban a centromer hasad, és a két kromatida vándorol most már leánykromoszómaként a pólusok felé. Amennyiben ez a folyamat hibásan zajlik, a kromoszómák szét nem válásával, szaknyelven a *nondisjunction* jelenségével állunk szemben. A nondisjunctiont Bridges írta le még 1916-ban a *Drosophila melanogaster*-en.

A *meiotikus nondisjunction* során egy homológ kromoszómapár együtt vándorol, mivel a bivalensek nem válnak szét. Így egy diszom és egy nulliszom csírasejt jön létre. A megtermékenyítés során e sejtek normális csírasejtekkel fuzionálnak, az eredmény triszóm vagy monoszóm zigóta. A monoszóm, mint tudjuk, az embernél csak akkor maradhat életben, ha az X monoszómiája, a triszómia viszont aneuploid kromoszóma-szindrómás magzatot eredményezhet. A meiózis második osztódásában (ami tulajdonképpen egy „normális“ mitózis) a centromer hasadása elmaradhat vagy megkéshet, így mindkét testvér kromatida egy leánysejtbe kerül. Az eredmény ugyanaz, mint az első esetben. A valóságban ez azt jelenti, hogy például az XY gonoszóma-összetételű férfi spermatogenezise során az első meiotikus osztódásban egy X és egy Y gonoszómás spermium helyett egy XY és O gonoszómás spermium jön létre: a második meiotikus osztódásban pedig XX és O, illetve YY és O.

A második meiotikus osztódásbeli nondisjunctionhoz hasonló módon, a centromerosztódás elmaradásával jön létre a *mitotikus nondisjunction* (szomatikus nondisjunction), de nem a csírasejtképzés során, hanem posztzigotikusan. Ha az embrionális élet korai szakaszában történik, a magzat normális és aneuploid sejtek *mozaikja* lesz.

Az aneuploidia létrejöttére a második lehetőség a *lagging* vagy anafázisos lemaradás jelensége. A kromoszómavándorlás mechanizmusánál ismertettük a húzófonalak működését. Ha egy kromoszóma (az első meiotikus osztódásban) vagy egy leánykromoszóma (a második meiotikus osztódásban és a mitózisban) nem kapcsolódik a húzófonalakra, elmarad a többitől, és a leánysejtmagok egyike hiányos lesz. A lemaradt kromoszóma általában az osztódás befejeztével ún. mikronukleuszt (lásd 9. fejezet) képez, ami aztán a következő sejtosztódás során végleg elvész.



A nondisjunctio és a lagging okozza tehát az aneuploidiat. Mi okozza viszont az osztódás e hibáit? Sajnos pontos magyarázattal még nem szolgálhatunk, de több olyan tényezőt is ismerünk, amely szerepel a nondisjunctio és lagging létrejöttében. Ezek a következők:

1. genetikai tényezők,
2. szülői életkor,
3. szatellita-asszociációk,
4. centromerosztódási menetrend,
5. hormonháztartási zavarok,
6. fizikai-kémiai mutagének.

#### 8.4.1. A genetikai tényezők

szeropét a logika is diktálja, hiszen a meiózis és mitózis szigorú genetikai kontroll alatt áll. Konkrétumokkal is rendelkezünk e téren, hisz a *Drosophila* vagy a kukorica géntérképén több olyan locus ismeretes, amely befolyásolja a szinapszist vagy kizmaképződést a meiózisban. A *Drosophila* meiotikus nondisjunctio-gyakorisága nőstényekben 0,01—0,08%, hímeiben 0,03—0,06%. Több olyan *Drosophila*-mutáns ismeretes, mely meiózis-rendellenességgel jár. Így pl. a „mei-S8“, „mei-081“, „mei-269“ elnevezésűek az első meiotikus osztódásban váltanak ki nondisjunctiót hímeiben. A „pal“ mutáció az apai kromoszómák vesztését okozza, nemcsak a meiózis, hanem az első embrionális mitózisok során is. A nőstény ecetmuslica néhány „mei“ locusa is ismert, ezek mutációit külső mutagén hatással is ki lehet váltani, pl. az etil-metán-szulfonát (EMS) nevű alkilánssal. X-sugárral a 3. kromoszómán lehet „ca<sup>nd</sup>“ mutációt okozni, ami meiotikus és mitotikus nondisjunctióhoz vezet.

Nem egy esetben írtak le az embernél többszörös aneuploidiat (pl. Turner- és Down-kór együttesét), ami a meiózis genetikai szabályzásának súlyos zavarára utal. A testvéreknél ismétlődő aneuploidiak is genetikai determinációról árulkodnak. Alfi és mtsai (1980) szerint a rokon házasság növeli a nondisjunctió rizikót. Therman (1980) idézi Hecht felmérését: 60 D-triszómiás vagy Edwards-kóros gyerek családjában három Edwards-kórosnak is volt Down-kóros testvére, amit már nem lehet a véletlen számlájára írni. Ezenfelül e csoportban még egy Down-kóros nagybácsit is találtak.

A már sokszor idézett Mary F. Lyon egyik legújabb tanulmányában (1983) a robertsoni transzlokációt (10. fejezet) hordozó egerek magas nondisjunctiók százaléklára hívja fel a figyelmet mint lehetséges modellre az aneuploidiaak eredetének vizsgálatában.

### 8.4.2. A szülői életkor

szerepét kezdetben kizárólag csak azok a megfigyelések támogatták, amelyek szerint idősebb korban szülő *nők*nek gyakrabban van Down-kóros gyermeke (17. ábra). Páratlan, szinte hihetetlen a rizikó — 40-szeres, de egyes szerzők szerint 100-szoros — növekedése 20 éves kortól 45 éves korra. Egérnél is nő az aneuploidia gyakoriság a nőstények életkorával, de csak duplázódik (de Boer, Bates 1980). Mint fentebb láttuk, nemcsak a 21-es triszómiánál, hanem a 13-as, 18-as triszómiánál és gonoszómaaneuploidiaák többségénél is kimutatható a kockázat növekedése az anya életkorával. A 21-es, 13-as, 18-as triszómiák, XXY és XXX gonoszóma-összetételű gyermekek anyai életkorának összehasonlításakor ún. kétvállas görbe nyerhető. A görbe első vállának csúcsa 24–29 évre esik annak az anyai életkornak megfelelően, amikor a gyermekek túlnyomó többsége születik. A második váll viszont a 39–44 éves életkor között található, és 20%-os gyakoriságot jelez.

Nem ilyen egyértelmű az *apa* életkorának szerepe az ember aneuploidiaiban. Statisztikailag az a helyzet, hogy előrehaladott anyai életkor esetén általában az *apa* sem fiatal. Fordítva ellenben, idős apák és fiatal anyák nem ritka utódnemzésében nem volt bizonyítható a Down-kór gyakoriságának növekedése egészen a legutóbbi időkig. Ismét Dánia végtelenül részletes szociális nyilvántartásának köszönhető, hogy kiderült: a) 55 év feletti férfiaknak szignifikánsan több Down-kóros gyermeke születik; b) az összes nagyobb vizsgálati szériában feltűnően sok az anyánál jóval idősebb *apa*; c) a Down-kóros gyerekek apáinak átlagéletkora kissé meghaladja az átlagpopuláció apaéletkorát (Vogel, Motulsky 1979). Bár nem mindig, de gyakran megállapítható, hogy az apánál vagy anyánál következett-e be a szerencsétlen utódot eredményező osztódási bal eset, és így azt is megállapították, hogy a nondisjunctio legáltalább az esetek 25%-ában az apánál következett be.

A 21-es triszómia, de a többi akrocentrikus triszómiája esetében is a különlegesebb formájú, nagyságú szatelliták vagy

a centromer körüli heterokromatin méretkülönbsége vezethet a plusz kromoszóma apai vagy anyai eredetének nyomára. Mikkelsen és mtsai tanulmányában (1980) a 21-es triszómia többletkromoszómiája 66,2%-ban anyai és első meiotikus osztódási nondisjuncióból származott, 11% pedig a második meiotikus osztódás nondisjunciójából. A Down-kórosok 13,8%-ában történt a nondisjunctio az első apai meiotikus osztódásban, 9,0%-ában a második meiotikus osztódásban.

A gonoszóma-nondisjunctiónál az X-kromoszómához kapcsolódó örökletes betegségek jelentenek azonosítási lehetőséget. Egy daltonizmusos Turner-kóros (45, X) (piros és zöld szintévesztés), amennyiben az apa normális színlátású, egész biztosan az anyai X-kromoszómát örökölte. A nondisjunctio tehát az apa spermatogenezise során következett be. Klinefelter-kóros (XXY) daltonizmusánál viszont az ép apai színlátás az anyai ovogenezis során bekövetkezett nondisjunctiót valószínűsíti (Tumba 1977). A G6PD enzim (glukóz-6-foszfát dehidrogenáz) hiányos termelése szintén nyomra vezethet, mert e gén X-kromoszómához kötött. Az  $X_g$  vércsoport vizsgálatával állapították meg, hogy az XXY, XXX, XXXX és XXXXY-os gonoszómaösszetételnél gyakoribb az anyai nondisjunctio, ami egyezett azzal a megfigyeléssel, hogy e gonoszómaszám-mutációk gyakorisága nő az anyai életkorral.

A Klinefelter-kór esetében a nondisjunctiók 50%-a az első, 10%-a a második anyai meiózisban történik, 40%-uk pedig az első meiotikus osztódás során bekövetkező apai nondisjunctio eredménye.  $X_g$  vércsoportvizsgálatot négy XXXY és XXXXY esetben végeztek, a többletkromoszómák mindenikben anyai eredetűek voltak. Az eddig vizsgált „kétszeres férfiak” (XXYY) mindegyike apai nondisjunctio következménye volt. A Turner-kórosoknál az X vércsoport alapján az X-kromoszóma 74%-ában anyai, 26%-ában apai eredetű. Az XO gonoszóma-összetételhez vezető nondisjunctiók háromnegyede tehát az apa csírasejtképzésekor történik (Vogel, Motulsky 1977)!

#### 8.4.3. A szatellita-asszociációkat

Wilson már 1925-ben leírta, Ferguson-Smith és Handmaker (1961) hozta kapcsolatba az aneuploidióval. Mit fed ez a fogalom? Az ember kromoszómáinak vizsgálói is felfigyeltek arra, hogy a V alakú akrocentrikus kromoszómák „gya-

núsan" szeretnek egymás társaságában lenni. Több kellett hogy legyen, mint véletlen, hogy a D- és G-csoport kromoszómái igen gyakran kettesével-hármasával „összekapaszkodnak" rövid karjaik, illetve szatellitáik által. Ezt hívják szatellita-asszociációnak vagy akrocentrikus asszociációnak. Mivel ezeknek az együttállásoknak a gyakorisága változó, feltételezték, hogy akiknél gyakoribb, azok hajlamosabbak a nondisjuncióra, hiszen a meiózis során is könnyebben összekapaszkodhatnak kromoszómáik.

Öt emberi kromoszómapár (13, 14, 15, 21 és 22) hordozhat szatellitát, és hordoz biztosan riboszomális DNS-szekvenciákat a rövid kar rosszul festődő másodlagos befűződése körül az ún. nukleoluszorganizáló régióban (NOR). A sejtmagvacska (nukleolusz) létrehozatalában több kromoszóma is társul. DNS-ük fellazult, „legombolyodott" állománya mélyen behatol a sejtmagvacska anyagába. A mitózis során a nukleolusz eltűnik, de a NOR-hordozó akrocentrikusok csoportosulása nem oszlik fel, rövid karjaik közel maradnak, az osztódás során szatellita- vagy akrocentrikus asszociációként érzékelhetők. Az emberrel ellentétben az egér NOR-hordozó 15, 16, 17, 18. és 19. kromoszómáinak mindegyike saját sejtmagvacskát „organizál", ezért asszociációik sem feltűnően gyakoriak.

Liem és mtsai (1977) az asszociációkban részt vevő kromoszómák számát és gyakoriságát vizsgálták a kaliforniai Stanford Egyetemen. Az asszociációs frekvencia nőknél magasabb, mint a férfiaknál, növekszik az életkorral, 30 éves korban tetőzik. Prokofjeva-Belgovszkaja régebbi megfigyelése szerint 50 éves korban a leggyakoribbak az asszociációk. Újszülöttekben nem találtak négy-öt kromoszómát tömörítő akrocentrikus asszociációt.

Mikkelsen (Vogel-Motulsky 1977) 40 Down-kórost és azok szüleit vizsgálta meg. A 21-es kromoszóma asszociációi gyakoribbak a Down-kórost szülő nőknél, mint az apáknál. A 21-es kromoszóma mellett a 14-es is gyakrabban asszociál.

Di Lernia (1980) a milánói egyetemen 21-es triszómiásokat, Patau-kórosokat és szüleiket vizsgálja, összegyűjtve a szakirodalom hasonló adatait is. A matematikai elemzés ki tudta zárni a véletlen szerepét az akrocentrikusok asszociációiban.

Kirsch-Volders és mtsai (1980) Brüsszelben meg is mérték a centromerek és telomerek közötti távolságokat minden

szomszédos kromoszómánál. Az akrocentrikusok asszociációs tendenciája nyilvánvaló volt. A belga genetikusok azt is megfigyelték viszont, hogy a telomer-együttállások száma is felűnően magas, és nem valószínű, hogy a centromerhez kötött heterokromatin játssza a főszerepet az akrocentrikusok asszociációiban.

A már sokszor idézett edinburghiek (Evans és mtsai 1974) megfigyelték egy igen nagy szatellitás 15-ös kromoszómát, melynek riboszomális DNS-tartalma az átlagot jóval meghaladta. E kromoszóma ritkábban kapcsolódott asszociációba, mint a többi akrocentrikus. Ann Henderson és K. C. Atwood a New York-i Columbia Egyetemen egy kettős szatellitájú 15-ös kromoszómára figyeltek fel, ez esetben a riboszomális DNS-mennyiség és az asszociációs gyakoriság között direkt összefüggést találva.

Bár többen lándzsát törtek amellett, hogy a besugárzás növeli a szatellita-asszociációk gyakoriságát, a legújabb vizsgálatok sem tudták ezt igazolni (de Boer, Bates 1983).

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy minden valószínűség szerint az interfázisban a dekondenzálódott kromoszómák elhelyezkedése nem véletlenszerű; a homológok genetikai funkcióazonossága citológiai szinten is megnyilvánul (Comings 1980). A homológ kromoszómák közelsége az interfázisban és az akrocentrikusok nukleoluszképzéséhez szükséges asszociációja alapja lehet a nondisjunctio létrejöttének.

#### **3.4.4. A centromerosztódási menetrend**

ma már bizonyított tény: a metafázis végén nem egyszerűen, hanem bizonyos sorrend szerint válnak szét a kromoszómák leánykromoszómákra. A lóbab ( $2n=12$ ) 5-ös kromoszómájának a „legsürgősebb“ elosztani centromerjét, a 4-es a „legráéresebb“, a zörgőfű (*Crepis capillaris*,  $2n=6$ ) legnagyobb kromoszómája vezet, a legkisebb kullog a centromerosztódási sorrendben. A tavi béka (*Rana ridibunda*,  $2n=26$ ) 13 kromoszómapárjából az 1-es (a legnagyobb) centromerje osztódik elsőnek, a kis akrocentrikusok itt is utolsók. A kengurupatkány (*Potorous tridactylus*,  $2n=14$ ) sejtenyészetében a 4-es és 5-ös kromoszóma centromerje osztódik először, és a kis kromoszómák, 8-tól 14-ig késnek. A kínai hörcsög (*Crictulus griseus*,  $2n=22$ ) kromoszómái hasonlóan viselkednek, itt is a kis kromoszómáknak hasad utoljára a centromerje. Ezek

után nem meglepő, hogy az embernél is a kis akrocentrikusok maradnak le leginkább a centromerosztódásban. Érdekes viszont, hogy az 1-es és 16-os kromatidai is késve válnak el. Korai centromerosztó a 18-as kromoszómapár (Vig 1983).

Nos, ha eddig hajlamosak voltunk azt hinni, hogy minden kromoszómával egyenlő eséllyel fordulhat elő nondisjunktions baleset és a különböző tapasztalati frekvenciák csak a túlélési esély különbségeiből fakadnak, a centromerosztódás menetrendje más sugall. Ha egy kromoszóma „kicsit”, de törvényszerűen késik kromatidai szétválásában, „sokat” nagyobb valószínűséggel fog késni, mint „pontos” társai, és így nagyobb valószínűséggel okoz nondisjunctiót. Méhes Károly (1978) a győri gyermekklinikán bebizonyította, hogy a 21-es trizómiások G-kromoszómái korábban osztják centromerjüket, mint a diszóm kontrollok. Később három Edwards-kórt vizsgált, és megállapította, hogy míg általában a 18-as kromoszóma a legkorábbi centromerhasító, e három eset közül kettő szülőanyjánál nem lehetett korai centromerosztódást megfigyelni. Méhes adatai nem tártalanok a szakirodalomban (lásd Vig 1983 összefoglalóját). A centromerhasadás menetrendje és az aneuploidiak eredete közötti összefüggés tehát nyilvánvaló, de még nagyon sok a tennivaló e jelenség mindmáig ismeretlen mechanizmusának tisztázásáért.

### **3.4.5. A hormonháztartási zavarok**

szintén összefüggésbe hozhatók a nondisjunctióval. Már 1921-ben felhívta a figyelmet Dollinger, hogy a Down-kóros gyermek anyja gyakran fokozott pajzsmirigyműködésű. A hipertireózisban később az akrocentrikusok (különösen a 14-es és 21-es kromoszóma) asszociációinak nagyobb gyakoriságát is feljegyezték, sőt azt is megállapították, hogy a sikeres kezelés után csökken az asszociációk száma (Nilsson és mtsai 1975). Zankl és mtsai (1980) Kaiserslauternben ellenőrizték ezt a megfigyelést. A 22-es kromoszóma asszociációs frekvenciája nagyobb volt a hipertireózisban szenvedőknél, a kezelés után a NOR-festődés javult. A 14-es és 21-es kromoszómára vonatkozó eredményeket viszont nem tudták reprodukálni. Fialkow szerint azok az anyák, akik Down-szindrómás gyermeket szültek, gyakrabban tartalmaznak vérükben pajzsmirigy-ellenesteket. Az autoimmunitás szerinte hajlamosít a nondisjunctióra. Újabban a fiatalkori cukorbetegségek egy részét autoim-

mun mechanizmussal magyarázzák. Ezért érdekes és a fialkowi hipotézist alátámasztó, hogy a Turner- és Klinefelter-kórosok rokonságában meglepően magas a cukorbetegség száma (Vogel, Motulsky 1979).

A kromoszómaszám-mutációk mennyisége 1965–70 között minden statisztika szerint növekvő tendenciát mutat. Bár ez az időszak a citogenetika térhódításával is egybeesik a humán klinikumban, nehéz elfeledkeznünk arról, hogy a hormonális fogamzásgátlók ugyancsak ebben az időszakban terjedtek el világszerte. A kapcsolat kézenfekvő, bár nem bizonyított. Carra (1967) jelezte viszont, hogy azoknál a nőknél, akik a „pirulaszedés” befejeztével azonnal teherbe estek, a triploid vetélés gyakoribb volt. A Down-kórost szülő nőknél viszont nem lehetett kapcsolatot kimutatni a „pirula” és a triszómia között.

A nemi hormonok szerepe a csírasejtképzésben nyilvánvaló: a meiózis ritmusa például bizonyítottan ösztrogéndependens (De Boer, Tates 1983). E ritmust módosíthatja a fogamzásgátló hormondömpingje, melegágyai szolgálva a nondisjunkciónak.

#### **3.4.6. A fizikai-kémiai mutagének**

képesek aneuploidiát, kromoszómaszám-mutációt okozni? Csak látszólag könnyű e kérdésre igennel válaszolni.

A sugárzás kromoszómaszám-mutációt kiváltó hatását kezdetben kész tényként ismerték el. Uchida és mtsai, valamint Siegler és mtsai többszörös diagnosztikai besugárzásnak kitett anyáknál 28%-ra becsülték a Down-kóros utód születésének lehetőségét. Carter és mtsai, majd Stevenson és Matousek viszont nem találtak több besugárzottat a Down-kórost szülő anyák között, mint a kontrollszemélyek között. Neel és Shull az atombomba genetikai hatását vizsgáló bizottság (ABCC, Atomic Bomb Casualty Commission) hirosimai és nagaszaki adatait vizsgálva semmi összefüggést sem talált az anyai besugárzás és a Down-kór között. Neel 1974-ben 15 019 gyermek adatait dolgozza fel, akik édesanyja a két japán városban 0,3 Gy (30 rad) feletti besugárzást szenvedett. A 21-es triszómia gyakorisága megfelelt a populációs átlagnak (Imreh, Rădulescu 1980).

Az ENSZ atomsugárzás hatását vizsgáló bizottságának jelentése (UNSCEAR, 1979) több szerzőt is idéz, akik szerint

sugárbaeset után (Bender és Gooch), szakmai besugárzás után (Norman és mtsai), sugárkezelés után (Buckton és mtsai, Warren és Meisner) a limfocitatenyészetekben gyakoribb az aneuploidia. A Hiroshimát és Nagaszakit sújtó tragédiát túlélők között Doida 13,4%-os aneuploidiagyakoriságot talált, a populációs átlagot jóval meghaladva. Az ABCC viszont már nem talál különbséget a 94 besugárzott túlélő és a kontrollszemélyek között. Az ABCC vezető professzora, Arthur D. Bloom egyenesen artefaktumoknak minősíti a régebbi adatokat. El kell ismernünk, hogy az 5. fejezetben leírt módon preparált limfocitatenyészetben igen nagy az esély arra, hogy a túlhipotonizált sejtekből „el-elrepüljön” egy-egy kromoszóma. Nem találtak lényeges eltérést az aneuploidok számában Ishihara és Kumatori (1967) sem, amikor azt a 16 japán halászt vizsgálták, akik 1954-ben a Bikini-szigeteken megejtett kísérleti atomrobbantás után radioaktív hamu által szenvedtek súlyos sugárártalmat. A sort még folytathatnók, de fejezzük talán be Evans és mtsai (1979) egyik újabb felmérésének ismertetésével, amelyet egy atomtengerelattjáró-javító doki 197 munkáján végzett. A különböző sugármennyiségnek kitettek és a kontrollszemélyek egyaránt 3% körüli aneuploid sejtet tartalmaztak limfocitatenyészeteikben. Nem jelenti ez azt, hogy a sugárzás nem képes növelni az aneuploid gyakoriságot, legfőnnebb csak annyit, hogy a rendelkezésünkre álló egyszerű módszerek nem megfelelőek ennek kimutatására. De Boer és Tates (1983) összefoglalójából kiderül, hogy mind a him, mind a nőtény kísérleti állatok besugárzása növeli a nondisjunktions gyakoriságot. A szerzők szerint a legvalószínűbb, hogy a meiózis ritmusa változik meg sugárhatásra, ezzel pedig a kizsármagterminalizáció üteme szenved zavart az első, és a centromer-osztódás menetrendje a második meiotikus osztódásban.

A *vegyi mutagének* egy része ismert mitózisgátló, orsófonalroncsoló. A kolhicin, a vinblasztin és velük rokon alkalooidák aneuploidiaokozó hatása nem meglepő, hiszen kis koncentrációban anafázisos „lagging” kiváltói lehetnek. A fluorodeoxi-uridin és timidin hatására a nukleoluszok nem tűnnek el, együtt tartva a NOR-hordozó kromoszómák testvér kromatidait és nondisjunctióhoz vezetve (Bloom 1972). Darmstadterban Miltenburger professzor és mtsai (1980) kínai hőreség spermatogoniális csontvelőmitózisaiban követték a centromer-osztódást és annak menetrendjét. Megállapították, hogy a



röntgensugárzás és a ciklofoszfamid (ismert rákeellenes gyógyszer és mutagén) késleltetik, gátolják a centromerosztódást, míg a TBC-ellenes isoniazidnak nincs ilyen hatása. Sem a sugárzás, sem a mutagén vegyszer nem befolyásolja magát az osztódási menetrendet. Kirsch—Volders és mtsai (1983) egy belga—USA együttműködés keretében vizsgálták a tubulinellenes (mitotikus orsógátló) kolhicin és nocodazol, illetve a fehérjeszintézis-gátló cikloheximid hatását. Ez utóbbit fenn tartja a homológok asszociációit. A komoly matematikai apparátussal felvértezett tanulmány szerint több homológ asszociáció mutatható ki cikloheximid-, mint kolhicin- és nocodazolkezelés után. A vegyi mutagének a meiózis genetikai kontrollját ellátó génekben okozhatnak olyan mutációt, melynek következménye a nondisjunctio (lásd fentebb a „mei“ génekről mondottakat a *Drosophilánál*).

A kromoszómatörő (klasztogén) vegyszerek ármádiája is okozhat aneuploidiát, de szinte kizárólag csak azért, hogy a súlyos sérülésnek kitett kromoszóma elvesz a sejtből, vagy pedig a karjaikkal összeforrt „dicentrikus“ kromoszómák osztódáskor egyik sejtbe kerülve aneuploidiát okoznak. Minden valószínűség szerint a klastrogén vírusok is csak így módon válhatnak genommutáció kiváltóivá.

Itt érdemes megemlítenünk, hogy úgy tűnik, anafázislaggingot és mikronukleusz-képződést, tehát egyes kromoszómák elvesztését okozzák növényi sejtekben a szulfonamidok is, közös séges gyógyszereink. Ez még a humán genetikai aneuploidiakutatás fellendülése előtti időszakból való adat (Lazányi 1965), valószínűleg azért nem figyeltek fel rá.

Az embernél 1498 spontán vetélés citogenetikai vizsgálatkor kiderült, hogy 42,4%-uk aneuploidia (33% triszómia, 9,4% monoszómia) következménye (Boué és mtsai 1975). Nem ritka jelenség tehát a nondisjunctio, annyira nem, hogy az összes megtermékenyítések 15—20%-a vetéléssel végződik és ezek egyharmadáért autoszómális triszómiák a felelősek. Láttuk azt is, hogy a különben nagyon jó életkilátású aneuploidiókból (21-es triszómia, 47, XXY, 47, XYY) minden félezer szülésre esik egy, igen súlyos társadalmi terhet jelentve. Az aneuploidiók létrejöttét pedig, amint a fentiekből kiderül, még nagyrészt kerülő úton nyert tényeken alapuló hipotézisekkel

magyarázzuk, fontosságukhoz képest sajnos igen keveset tudunk róluk. Egyike ez a közeljövő nagy citogenetikai feladatainak!

## 9. TÖRT-FORRT KROMOSZÓMÁK (KROMOSZÓMAABERRÁCIÓK)

A fajra jellemző kromoszómaszámot módosító genommutációktól eltérően, a *kromoszómaszerkezeti mutáció* (kromoszómaaberráció) a kromoszóma alakját és szerkezetét jellemzőit változtatja meg. Ez esetben nem teljes kromoszómák „adásvétele” folyik, hanem egy-egy kromoszómaszakasz elvész, áttevődik máshová a genomban, megkettőződik vagy „csak” megfordul. A legkisebb látható kromoszómadarabocskán is több tucat, esetleg több száz gén lehet, és az eukarióta genom felépítéséből következően mindükre szükség van, mégpedig az evolúció szabta helyen és génkörnyezetben.

### 9.1. A SUGÁRGENETIKA TANÍT

A kromoszómaaberrációk vizsgálatának jó 80 éve alatt, az ionizáló sugárzások hatásából tanultunk a legtöbbet. A századforduló előtt a nehezen kezelhető állati kromoszómák (Hertwigék tengerisün-, Boveri és van Beneden béléreg-, Sutton szöcske- vagy Apáthy és Gelei örvényféreg-kromoszómái) helyét mindinkább átveszik a növényi gyökerek és csírázó pollenszemcsék könnyen preparálható kromoszómái.

A századforduló már kopogtat, amikor — 1895-ben — Wilhelm Conrad Röntgen felfedezi az X-sugarat, Antoine Henry Becquerel — 1896-ban — az urán sugárzását és a Curie házaspár már fogalomként vezeti be a radioaktivitást. Amikor végül megnyílik a huszadik század kapuja, az atomkor sétál be rajta. Az atomkort jellemző ionizáló sugárzások biológiai hatását is hamar megismerik. Stevens — már 1896-ban — leírja a bőr sugárreakcióját, ugyanakkor, amikor maga Becquerel a zsebében hordott rádiumpreparátumtól szenved sugárégetést. Olyan megfigyeléssorozat indul el, amely logikusan el-

vezet a sugár okozta kromoszómakárosodásokig. Minden valószínűség szerint Koernicke — 1905-ben — volt az első e téren. Theodor Boveri Würzburgban már szisztematikusan figyeli az ionizáló sugárzás hatását a sejtosztódásra. E munkába — szerencsés módon — kolozsvári kutató is bekapcsolódhatott, Gelei József, aki Hertwiggel és Boverivel együtt dolgozott európai tanulmányútja során. Ime, hogyan ír erről professzorának, Apáthy Istvánnak 1913. szeptember 18-án Würzburgban keltezett levelében (Szabó 1976): „A kiváló szerencséhez, hogy rádiummal dolgozhassam, úgy jutottam, hogy Boveri kísérletek kivételére az Ascarison Röntgentől Münchenben 17 gr rádiumbromidot (3200 M. értékű) hosszabb időre kölcsönkaptam. Kísérleteinek eredményeiről egy pár nappal idejöttöm után demonstrációt tartott, és én ott ismerkedtem meg a rádiumsugarak sejtfiziológiai hatásával. Ez abból áll, hogy az ártalmas befolyást gyakorol a chromatinára, a sejttestet azonban alig bántja. Így rendelkezünk egy kísérleti eszközzel, mellyel éppúgy világot vethetünk az életben maradt sejttest képességeire, mint a sejt egészének a mag megbetegedése folytán változott működéseiből, a mag, illetőleg a chromatina élet-tani funkcióira. A rádiumkísérletek fejlődési, átörökléstani jelentőségeivel Hertwigék foglalkoznak Berlinben nagy energiával. Nekik három rádiumpreparátum és egy sokkal kedvezőbb hatású mezothorium áll rendelkezésükre. Boveri kísérletei a mitotikus figurák elváltozására irányultak a rádiumsugarak alatt. Ő elérte egyrészt a chromosomák teljes szétदारabolását, másfelől képtelenné tette a chromatin chromosomákká alakulni... Mikor Boveri a régi Dendrocoelum-készítményeimet végignézte és a rádiumkísérletekről kezdtünk beszélni, mind a kettőnknek egyszerre jött a gondolat, hogy az én állatom milyen kiváló kísérleti objekt volna. — Kísérleteim szerint a rádiumsugarak ártalmainak leginkább ellenállnak a conjugálódott kromoszómák, a diplotenfonalak...”

Körülbelül ugyanebben az időben Amerikában Hermann Joseph Muller, Morgan tanítványa, olyan tényezőt keresett, amellyel a Drosophila spontán mutációgyakoriságát fel lehetne szaporítani. 1926-ban végül röntgensugárzással 150-szeresére sikerült növelni a mutáns legyecskéek számát tenyésze-teiben. 1927-ben Berlinben, ahol e felfedezését az V. Nemzetközi Genetika Kongresszuson bejelenti, egy új tudomány születik: a *sugárgenetika*. Bár a sugárgenetika bölcsőringató-

jaként Muller neve vált közismertté (1946-ban Nobel-díjjal is jutalmazták), ne feledjük, hogy tőle függetlenül Gager és Blakeslee, Stadler, sőt Nadson és Filipcsenko is felfedezték az ionizáló sugárzás génmutáció-keltő hatását. Muller volt az első, aki kromoszómaaberrációt eszközként használt a genetikában: híres CIB és Muller 5 módszerei például crossing-over-gátló inverziókon alapulnak. Barbara McClintock követi a sorban, aki a kukoricacitogenetikában és -sugárgenetikában sok — elvi jelentőségében máig ható, sőt igazán csak most érzékelhető — felfedezés birtokosa (1983-as Nobel-díjas).

Kromoszómaaberráció-vizsgálat céljából először J. C. Mott-ram sugarazott növényi anyagot 1913-ban. A húszas évek elejére aztán nekilendül a *lóbab* (*Vicia faba*) sugárgenetikai karrierje. Több mintnegyed századon át uralta a lóbabgyökerecskékből preparálható 12 nagy kromoszóma az aberrációk irodalmát. Tudtommal a klasszikus *Vicia*-pionírok között Komuro 1922-ben, Jüngling 1923-ban, Pekarek 1927-ben, Ingber 1931-ben, Sax és Gray 1936-ban közölt először Vicián sugar okozta aberrációkra vonatkozó adatokat. A *Vicia*-diadalmenet még a második világháború után is tartott, sőt az ötvenes évek végére ért a csúcsra. Európában Evans, Kihlman, Revell, Taylor, Thoday, az újvilágban Wolff, Atwood, Luippold és persze Sax a legnevesebb zászlóvivői. El ne feledkezzünk az új-zélandi Otago Egyetem professzoráról, John Readről, aki Anglia—Amerika majd mindegyik „viciás csapatánál” megfordult, és akinek Angliában, Kanadában és az USA-ban egyaránt kiadott *Radiation Biology of Vicia* fabája alaptankönyv volt. Romániában Lazányi Endre, később Petre Raicu körül Kolozsvárt és Bukarestben tömörül egy-egy „viciás csapat”. Persze nemcsak a lóbab volt az egyetlen tesztnövény, mellette egy pletykafaj (*Tradescantia paludosa*), a hagyma (*Allium cepa*) és a kukorica (*Zea mays*) is fontos tudománytörténeti szerepet játszott. A Sax-tanítvány Carl P. Swanson a negyvenes években dolgozta ki a *Tradescantia* virágpor második meiotikus osztódásában a kromoszómavizsgálatot. A mesterséges táptalajon csírázó szűk átmérőjű pollencsírában, a kolchicinnal vagy acenafténnel blokkolt kromoszómák hely hiányában szépen sorban állnak, igen előnyös vizsgálati lehetőséget kínálva. Ahogy telt az idő, az emlős sejtenyészetek elterjedése aztán elcsábította a „lóbabosok” nagy részét (köztük e sorok szerény szerzőjét is).

A második világháború előtt a sugárbiológia-sugárgenetika érdekes, újdonságával vonzó kutatási terület volt. a Hiroshimára és Nagaszakira ledobott atombomba után viszont szomorú kötelességgé vált. A veszély tudata — no meg az USA-ban a lelkiismeret-furdalás is — megnyitotta a pénzforrások csapjait. El lehetett volna képzelni azelőtt, hogy a Russel házaspár például Oak Ridge-ben több millió egeret használjon fel a sugár okozta mutációsfrekvencia megállapítására?

A hatvanas évekre a citogenetikai módszerek fejlődése (5. fejezet) végre utat tört az emberi kromoszómák felé. Az edinburghi „kromoszómagyár“ Court Brown vezetése alatt a hatvanas évek végére kidolgozta az emberi kromoszómaaberrációk vizsgálatának módszertanát. Legfontosabb megállapításuk az volt, hogy a tenyészetben osztódásra „kényszerített“ kis limfocita igen hosszú életű, így alkalmas az évek során összegyűjtött sugármennyiség becslésére is. Az amerikai és japán kutatók meg tudták vizsgálni (sok évvel a katasztrófa után) az atombomba-támadás túlélőit, majd az ötvenes évek kísérleti robbantásainak áldozatait is. A sugárkezelt, szakmai besugárzott személyek, reaktorbalesetek áldozatait akkora adatmennyiséget biztosítottak, hogy lehetővé tették egy új biológiai sugárázsmérő, a *kromoszómadozimetria* elméleti és gyakorlati megalapozását, mely napjainkban a nukleáris energia mind szélesebb körű felhasználásával nyert igazi fontosságot.

A sugárgenetikai fronton túl, de azzal módszertanában összekapcsolódva alakult ki a *vegyi mutagenézis* kutatása. A világháború után vált ismertté, hogy Charlotte Auerbach 1941-ben és tőle függetlenül Oehlkers 1943-ban felfedezte a nitrogénmustár, illetve etiluretán mutációkeltő hatását. Hamarosan kiderült, hogy a mutagén vegyszerek jó része kromoszómatörő is, más szóval *klasztogén*.

A gyógyszer-, rovar- és gyomirtó-, műtrágya-, festék-, konzerválószer-, műanyagőzőn parancsolóan vonta maga után a klastzogén hatás szűrésének igényét, mely egyik legfontosabb ága lett modern világunk szomorú új tudományának, a *genotoxikológiának*.

A *klinikai citogenetika* elképesztő ritmusú fejlődésével szinte minden emberi kromoszómára leírtak aberrációs szindrómát (10. fejezet). A philadelphia kromoszóma felfedezésével létrejön az *onkológiai citogenetika* is, amely napjainkban éli talán legforradalmibb korszakát (14. fejezet).

Dús koronájú fává terebélyesedett tehát napjainkra a kromoszómaaberrációk kutatása, de a fa minden mai ága-boga egy törzsről, a sugárgenetikáéről sarjadt.

## 9.2. KROMOSZÓMAABERRÁCIÓ-ALAPTÍPUSOK

A strukturális kromoszómanutációk (kromoszómaaberrációk) alaptípusait minden tankönyv — a középiskolás is — felsorolja:

1. delécio és deficiencia,
2. duplikáció,
3. inverzió,
4. transzlokáció.

E négy alaptípust még a morgani érában a *Drosophila* crossing-over-térképének vizsgálatával, indirekt úton körvonalazták.

1. A *deficiencia* a kromoszóma végének elvesztését jelentette Bridges eredeti terminológiája szerint, *deléción* pedig Painter és Muller a kromoszóma egy köztes szakaszának elvesztését értette. Ma gyakoribb a *terminális* és *interkaláris delécio* elnevezés a két típusra. Ha a kieső kromoszómaszakasz végleg elvész, *részleges monoszómiáról* beszélünk, hiszen az illető kromoszómaszakasz csak a két homológ egyikén szerepel.

2. A *duplikáció* szintén a *Drosophila*-genetika, sőt szintén Bridges terminusa, a kromoszóma egy szakaszának megkettőződését jelenti. Az eredmény eukarióta genomszinten *részleges triszómia*, hiszen a két homológ kromoszóma egyike az illető szakaszt egyszer, a másik viszont kétszer tartalmazza.

3. Az *inverzió* elnevezést Sturtevant használta először. Egy kromoszómaszakasz 180°-os megfordulásának eredménye. Ha csak a két kromoszómakar valamelyikének egy része fordul meg, *paracentrikus* — centromert nem érintő — az inverzió. Ha az átforduló rész tartalmazza a centromert is — tehát mindkét karból egy-egy szakaszt —, *pericentrikus* az inverzió.

4. A *transzlokáció* Muller szerint egy kromoszómaszakasz „átszerelése” egy másik kromoszómára. Gyakorta *cserejellegű*, a két kromoszóma mintegy kicseréli egy-egy kromoszómarészletét, ezért *reciprok transzlokáció* a neve. Ha — ritkán — egy kromoszómaszakasz ugyanabban a kromoszómában épül be

máshová, ezt az intrakromoszomális transzlokációt *inszerció*-nak nevezzük. Az akrocentrikus kromoszómák összekapcsolódása centromerzónában (reciprok transzlokáció ez is) a *Robertson-transzlokáció* (vagy centrikus fúzió) nevet viseli. A reciprok transzlokációk a második generációban gyakran vezetnek részleges triszómiához.

Ha mikroszkópban vizsgáljuk a kromoszómákat, rövid időn belül nyilvánvalóvá válik, hogy sérüléseik három csoportba oszthatók:

1. kromoszóma típusú aberrációk,
2. kromatida típusú aberrációk és
3. szubkromatida típusú aberrációk.

1. A *kromoszóma típusú aberrációknál* mindkét kromatida azonos szinten sérül, egészen nyilvánvaló, hogy az aberráció még akkor létrejött, amikor a kromoszóma egyfonalas volt (a  $G_1$ -ben).

2. A *kromatida típusú aberrációk* jellemzője, hogy a kromatida mint egység vesz benne részt. Tehát csak az egyik kromatida deléciójáról, transzlokációjáról stb. van szó. Legtöbbször — de nem mindig — ez egyszerűen azért van így, mert a sérülés a kromoszómát kétfonalas állapotban ( $G_2$ -ben) éri.

3. A *szubkromatida típusú aberrációk* a kromatida kis részét érintik csak. Míg az előbb említett két nagy csoportnál a kromoszómakarok teljes átmérőjükben törnek-forrnak, a harmadik típusnál a kromatida inkább csak „beroped“ vagy úgy tűnik, mintha a kromatidák „összeragadnának“. Könnyebben megérthető a kromoszómaaberrációk osztályozása, ha megpróbáljuk tisztázni eredetüket.

### 9.3. KROMOSZÓMAABERRÁCIÓ-KÉPZŐDÉS:

REVELL KONTRA SAX

A kromoszómaaberrációk létrejöttének magyarázatára a genetika történetében két hipotézis viaskodott. Időben az első Sax nevéhez kötjük, pedig Stadler javasolta. Ahogy az V. Nemzetközi Genetika Kongresszus szenációja 1927-ben Muller beszámolója volt, amellyel a sugárgenetika alapkövét helyezte el, úgy a VI. kongresszuson 1931-ben a legnagyobb feltűnést Stadler „*törés—egyesülés*“ hipotézise keltette. A törés—egyesü-

lés elméletre 1938—41 között aztán Karl Sax adott klasszikus vértetést, így az ő neve maradt fenn a genetikusi köztudatban. Nem érdemtelenül, hiszen a Harvard néhai professzoráról azt szokták mondani, hogy mindenki, aki az USA-ban sugárgenetikával foglalkozik, vagy Sax-tanítvány, vagy Sax valamelyik tanítványának tanítványa.

Sax szerint a sugárzási energia abszorpciója *elsődleges*en törést okoz (breakage first: „először a törés” elméletének is szoktuk emlegetni). A kromoszómatöréssel keletkező kromoszómavégek sorsa háromféleképpen alakulhat:

1. A tört végek összeforrhatnak, visszaállítva az eredeti kromoszómaállapotot. E teljes „gyógyulásra” a *restitúció* (restitution) kifejezést használjuk, és Sax feltételezi, hogy az elsődleges törések több mint 90%-ának ez a szerencsés sorsa.

2. Hogyha időben és térben közel találhatók, a tört kromoszómavégek *újraegyesülhetnek* (rejoining) az eredetitől eltérő módon is, változatos ún. cseretípusú (exchange) aberrációkat képezve.

3. Végül fennáll a lehetőség, hogy az elsődleges törés törés is marad, az osztódáskor feldarabolódott kromoszómat találunk.

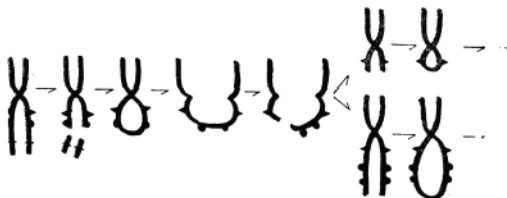
A „törés—egyesülés” hipotézis kialakításában nagy szerepe volt a „*céltábla*” vagy „*találat*” elméletnek, mely angolul a „target”, illetve „hit theory”, németül „Treffer Theorie” néven vált közzismertté. Dessauer fogalmazta meg elsőként 1922-ben, soka (Crowther, Altenburger, Holthuse, Timofeeff-Resnowsky, Rajewsky) munkálkodtak kibontakoztatásán, és végül a második világháború után Lea (1947) látta el a szükséges matematikai apparátussal.

A céltáblaelmélet szerint az ionizáló sugárzás úgy viselkedik, mintha egy gépfegyverből részecskék vagy fotonok sorozatát adnánk le. Az ionizálás (időben) egyenletes folyamat ugyan, de a találat térben véletlenszerű. Az elmélet feltételezi, hogy létezik egy meghatározott méretű sugárérzékeny sejtalkotórész vagy molekula (a céltábla!), amelyet el kell találni (hit) ahhoz, hogy a céltábla hordozóját semlegesítsük. Megfigyelték, hogy bizonyos sugárbiológiai jelenségek egyenesen arányosak a sugárdózissal, ezek kiváltására egy találat elegendő, mások dózishatásgörbéje exponenciális, két, ritkábban több találatot követelnek. Feltételezve, hogy az ionizáló sugárzás fotonjai vagy részecskéi egyenletes, de véletlenszerű

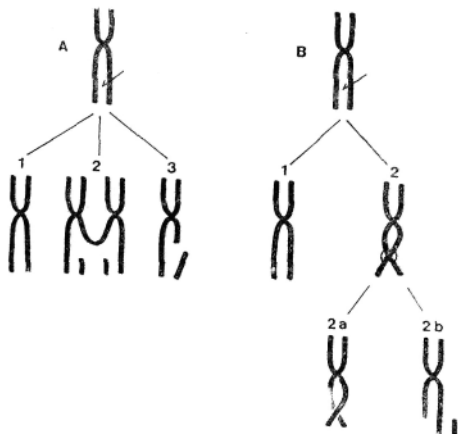


elosztásban érik a sejtet, lineáris dózishatásgörbe várható minden olyan aberrációtól, melynek létrehozatalához elég egy törés; másodfokú (exponenciális) görbe kell hogy leírja a két törést követelő aberrációk számának növekedését a dózissal és így tovább. A sugárgenetika tapasztalatai szerint másodfokú dinamikát követő aberrációk is lineáris dózishatás-összefüggést mutatnak, ha az ionizáló részecske energiája elég nagy ahhoz, hogy egyetlen „hjt“ több elsődleges törést okozzon.

Sax elmélete McClintocktól (1938) nyerté az első komoly kísérleti támaszt. Már Muller megfogalmazta a *telomerek meg tartásának* elvét, mely szerint a letört kromoszómavégek „ragadásak“ és lehetőleg visszaforrnak eredeti helyükre vagy egy másik tört felületre. McClintock azt is rögzítette, hogy ép telomerre nem tapadhat kromoszómadarab. Ha a telomerek „letörnek“, a „nyílt sebbel“ rendelkező testvér kromatidák egymással forrnak össze és centrikus kromatidagyűrű jön létre. A centromer hasadása után, az anafázisos vándorlással, a gyűrű szétnyílik és híd-ként feszül a két pólus között egészen addig, míg el nem szakad. Nos, ez a „szakadás“ nem történik föltétlenül az eredeti fúziós ponton, hanem bárhol bekövetkezhethet a híd mentén. Mivel homológ szekvenciájú kromatidák forrtak össze, ha a szakadás pontja eltolódik, az egyik félnél duplikáció-, a másíknál delécióként nyilvánul meg. Azonban a hídszakadással keletkező kromoszómavégek is ragadásak, így az osztódás után újabb testvérkromatida-fúzió jöhet létre, újabb gyűrűképződés... és az egész folyamat kezdődik előlről. Ez a híres „törés-fúzió-híd“ (breakage-reunion-



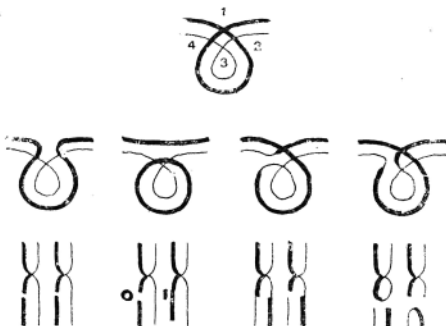
19. ábra. Barbara McClintock törés-fúzió-híd ciklusának vázlata.



20. ábra. A. A Sax-féle törés-egyesülés elmélet. A klasztogén hatás után a kromoszómasérülés (1) az eredeti állapotot visszaállítva gyógyul (restitúció), (2) hibásan egyesül más sérült kromoszómával (misrepair), (3) törésként stabilizálódik. B. A Revell-féle cserehipotézis egyszerűsített modellje. A klasztogén hatásra kiváltott elsődleges instabilitás az (1) az eredeti állapotot visszaállítva megszűnik (restitúció), (2) az átfedő kromatidaszakaszokon teljes (2a látszólag hibátlan) vagy részleges (2b) deléciót eredményező csere jön létre (Heddele és Bodycote 1970 nyomán).

bridge) ciklus, amelyet McClintock a kukorica triploid endospermiumában fedezett fel. Hasonlóan „tisza” formában azóta sem találták meg más objektumon. Ma már kétséges, hogy általánosítható lenne ez a ciklus, mert bár a hidak egy része valószínűleg elszakad, duplikációt-deléciót okozva, a sejtek zöme elpusztul a híd miatt, vagy poliploid lesz.

Stanley Revell, a londoni Chester Beatty kórház gene-



21. ábra. Kromatidaaberrációk a „Revell-hurok” különböző pontjain történő „cserek” eredményeként (Heddle, Bodycote 1970 nyomán).

Ákusa (1954) cserehipotézisével nagyot esobbantott a sugárbiológia akkortájt éppen ülepedőfélben lévő vizében, amikor „bedobta” tekintélyt nem tisztelő ellenhipotézisét, mely szerint nem a törés az elsődleges esemény az aberrációgenézisben. Helyette egy labilis sérülés történne először, mely általában a teljes gyógyulás felé tart, de nem a Sax-teória restitúciós módján, hanem egy olyan folyamattal, amely biokémiailag különbözne attól. Amennyiben a labilis sérülési pontok közel kerülnek egymáshoz, a meiotikus crossing-overhez hasonló csere jöhet létre a kromoszómafonalak között, aberrációt eredményezve. A hipotézis leglényegesebb eleme az, hogy Revell szerint a kromoszómák terminális deléciói — a letört kromoszómadarabok — is cserefolyamat eredményei. A törés másodlagos termék! Revell elméletét úgy képzelhetjük ma el, hogy a despiralizált interfázisos kromoszómafonal laza „kromoszómagubanca” rengeteg hurkot is alkot. E hurkok „nyakán”, ahol az egyik szál átlendül a másikon, a két szál egyszerre szenved el a sugár- vagy egyéb klasztogén hatást, és itt zajlik a

cserefolyamat. Ez a „Revell-hurok“ az elmélet legszelleme-  
sebb (és legvizuálisabb) eleme. Revell exkluzivizmusa zavaró  
volt viszont, mert sokszor nehezen elképzelhető, bonyolult  
módon magyarázta a Saxnál egyszerű aberrációképzést is.  
Egyesek híveivé szegődtek (Rieger, Michaelis 1967), de a ge-  
netikusok többsége cáfolta Revell hipotézisét (Lazányi 1968).

John Heddle és Judy Bodycote (1969) Kaliforniában  $^3\text{H}$ -ti-  
midinnel jelölték a DNS egyik láncát. X-sugárral váltották ki  
a töréseket, és azt figyelték, átmegy-e a jelölés egyik kroma-  
tidáról a másikra. Abból indultak ki, hogy Revell szerint a  
cserefolyamat lehet teljes vagy részleges is. A teljes csere  
például két testvér kromatida között normális körülmények  
között láthatatlan, mikroautoradiográfiával viszont kimutat-  
ható (11. fejezet). A részleges csere ugyancsak a két testvér  
kromatida között, kromatidadeléciót eredményez (20. ábra). A  
talált kromatidafragmentum tehát létrejöhetett úgy, hogy a)  
a sugárzás egyszerűen letörte a kromoszómavéget; b) az egyik  
kromatida végdarabja átment a másikra, onnan a megfelelő  
darab viszont szabad fragmentum maradt. Ha a radioaktív  
jelzéssel a fragmentum melletti testvér kromatida cserét mu-  
tat: „Revell-féle“ a deléció, ha nem, „Sax-féle“. Az első ered-  
mények azt mutatták, hogy tényleg kétféle kromatidadeléció  
van, bár a vártnál több volt a direkt törések száma „Sax-sti-  
lusban“. Mivel az autoradiográfia feloldóképessége kicsiny és  
a szerzők 1970-ben még kevesebb részleges cserén alapuló  
deléciót találtak, Bodycote a harlekinfestés egyik kidolgozójá-  
val, Sheldon Wolffal (1975, 11. fejezet) vizsgálta újra a kér-  
dést. Igen kevés részleges delécióra utaló deléciót találtak,  
túlnyomó többségük egyszerű törés volt.

A két elmélet vitáját követő gyakorló citogenetikus konk-  
lúziója: Karl Sax hipotézise mind a kísérleti eredmények,  
mind a kromoszómaaberrációk mikroszkópi képe alapján vi-  
zualizálásában logikus, Stanley Revell pedig jól példázza újból,  
hogy a biológiában a doktrínák sohasem merevek, mindig le-  
het alóluk kivétel. E kivételes módzatok egyikére „hurko-  
lódik“ — kevés konkrét adattal támogatva — Revell hipotézis-  
lasszója.

Az utóbbi években az aberrációképződés körüli vita mik-  
roszkópi szintről molekuláris szintre tevődött át.

#### 9.4. KROMOSZÓMAABERRÁCIÓ: A DNS KETTŐS LÁNCZAKADÁSA

Kiindulásul hadd idézzük fel a kromoszómafeleépítés néhány alapvető vonását (3. 6. fejezet):

1. A kromoszómaszerkezet egyfonalú, *uninémás*. A  $G_1$ -ben egyetlen DNS-molekula alkotja. Az S-fázisban a DNS-replikáció e molekulát megkettőzi, a  $G_2$ -es kromoszóma két molekulát tartalmaz, ezek lesznek a testvér kromatidák.

2. A kondenzált kromoszómában a kromoszómafonal látványlag „*kusza gubanca*” a valóságban *rendezett struktúrát* takar, amely nemcsak az eu- és heterokromatint különíti el, hanem megoldja a gének többé-kevésbé stabil lokalizálását is. A szerkezet rendezettségéről a C, Q, G, R stb. *sávmintázat* árulkodik.

3. A kromoszómában a DNS-molekula hisztonrögökre csavarodva, *nukleoszómaláncot* képez, mely többszörös kondenzálódási lépcsőben éri el azt, hogy a mitózisban 10 000-szer rövidebb, mint az interfázisban. Ezt a tömör struktúrát valószínűleg nem hiszton típusú fehérjék rögzítik. Mivel a hisztonok külön álló nukleoszómagokat alkotnak és a „kromoszóma-váz” (scaffold) műtermékjellegű, a *DNS az egyetlen folytonos szerkezeti elem* a kromoszómában.

A fentiekből kitűnik, hogy egyedül a DNS folytonosságának megszakadása vezethet a kromoszóma darabolódásához, tehát a *DNS-sérülés a fő kromoszómaaberráció-kiváltó ok*.

A klasztogének — a kromoszómaaberrációt okozó fizikai, kémiai és biológiai tényezők — által okozott DNS-sérülések palettája meglepően színes. Három nagy DNS-sérüléscsoport különíthető el (Natarajan, Obe 1983, Preston 1983):

a) nitrogénbázis-eltérések (BD = base damage),

b) egyszálas DNS-törések (SSB = single strand breakage),

c) kétszálas DNS-törések (DSB = double strand breakage).

a) A BD kategória igen sokféle módosulást, sérülést tömörít. Természetét a kémiai mutagenézisben gyakran pontosan ismerjük (pl. a vegyszer aminocsoportot távolít el vagy alkilcsoportot visz be valamelyik purin- vagy pirimidinbázisba. Más esetben nem ismerjük az eltérés pontos folyamatát,

de úgy tűnik, hogy minden klasztogén kivált nitrogénbázis-elváltozást is.

b) Az SSB csoport, a DNS kettős spirálját alkotó két cukorfoszfatlánc egyikének szakadását jelenti négy lehetséges pont valamelyikén. A sérüléssel átellenes lánc ép, a molekula folytonossága megmarad. Minden klasztogén okozhat egyszálas DNS-törést is.

c) A DSB a DNS-molekula folytonosságát szegi, a kettős spirál mindkét lánc elszakad. Létrejöhet két (öt bázispárnál nem nagyobb távolságra lévő) egyszálas törés „együttműködéséből” is. Azonos szinten kétszálas DNS-törést nem minden klasztogén képes okozni.

A klasztogének okozta DNS-sérülések közötti különbség kiindulópont lehet az aberrációhoz vezető kritikus sérülés üldözésében. E tekintetben két klasztogéncsoport különíthető el, az

I. S-independens,

II. S-dependens tényezőké (Bender és mtsai 1973, 1974, Obe és mtsai, 1982).

I. DSB-t okoznak az ionizáló sugárzások, a vegyi mutagének közül a sztreptonigrin, bleomicin, a metilézett oxipurinok stb. (Kihlman 1977). Közös tulajdonságuk, hogy a sejtciklus bármely pillanatában képesek kromoszómaaberrációt okozni. A  $G_1$ -ben kromoszóma típusú, a  $G_2$ -ben kromatida típusú aberrációk keletkeznek, és még a mitózis elején is kiválthatók szubkromatida-aberrációk ezekkel a klasztogénekkel. A  $G_1$ -ben okozott sérüléseket az S-fázis megkettőzi (így jönnek létre a mindkét kromatidát „befogó” kromoszóma típusú aberrációk), de a DNS-replikáció nem elengedhetetlenül szükséges az aberráció kiváltásához, hiszen a sejtciklus bármely szakaszában is éri a sejtet a klasztogén hatás, a kezelés utáni első mitózisban (!) már látható az aberráció. E klasztogének tehát S-independens csoportot alkotnak.

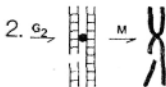
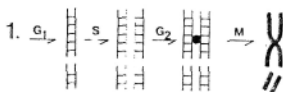
II. A többi klasztogén (ultraibolya sugárzás, alkiláló vegyszerek, vírusok, mikoplazmák stb.) közös jellemzője, hogy S-dependens tényezők. Az általuk kiváltott sérülés csak akkor materializálódik aberrációban, ha átmegy az S-fázison. Poszt-replikációs ( $G_2$ ) kezelés után, az első mitózisban még nem látható aberráció, de a következő sejtciklus (S-fázis) után már keletkezik — kromatida típusú (!) — aberráció. A kromoszóma-sérülések mintegy „előhívódnak” a replikációval, és látható

aberrációvá alakulnak. Evans és Scott (1969) misreplication-nak, hibás replikációnak nevezte ezt a folyamatot.

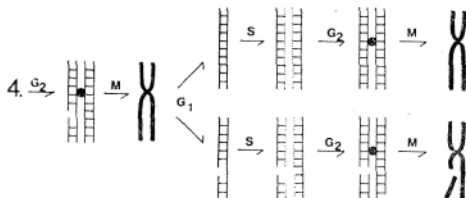
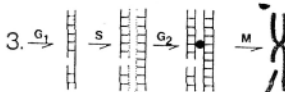
Jegyezzük meg: az *S-independent* és *S-dependens* klasztogének közötti különbség molekuláris szinten annyi, hogy csak az előbbieket képesek kétszálú DNS-törést kiváltani. Azt jelenti ez, hogy a kromoszómaaberráció feltétele a DSB? Úgy tűnik, igen. Közvetett bizonyíték erre az ionizáló sugárzások klasztogénitálásának összehasonlítása: a kis energiájú, ritkábban ionizáló sugárzás (pl. X és gamma) ugyanannyi BD-t és SSB-t okoz, de csak 10–20 egyszálú törésre esik egy kétszálú törés. A nagy energiájú, sűrűbben ionizáló sugárzások (pl. gyors neutron, alfa) ugyanannyi SSB-t és DSB-t okoznak (Preston 1983). Közvetlen bizonyítékot Natarajan és Zwanenburg (1982) szolgáltatottak. Az indiai származású, régebben Stockholmban, néhány éve a leideni Sylvius Laboratóriumban dolgozó Natarajan a *Neurospora crassa* nevű tömlősgombából kivont endonukleázzal kezelte röntgensugárzás vagy bleomicinadagolás után a sejtenyészeteket. Ez az enzim az egyszálú töréssel átellenes szálát is „elnyírja”, az SSB-t DSB-vé változtatja. Nos, a *Neurospora* endonukleáz kettes faktorral növeli a kromoszómaaberrációk számát. Neutronsugárzással ismételve meg a kísérletet (mely ugyanannyi SSB-t és DSB-t okoz), az enzim hatástalan. Legutóbb Natarajan és Obe (1984) még közvetlenebb bizonyítékot talált elénk: az ún. restrikciós endonukleázokkal kezelték a kínaihőrcsőg-sejteket. Ezek az enzimek annak köszönhetik hírüket, hogy „elvágnak” a DNS-t és ezzel a génszerkezet néven közismert *in vitro* génbevitelt teszik lehetővé. (Berg, Gilbert és Sanger 1980-ban pedig a Nobel-díjat köszönhetette nekik.) Nos, a restrikciós endonukleázok tulajdonképpen DSB-t okoznak, a szerzők pedig a hőrcsőgsejtekben a sugárzás által kiváltott ahhoz hasonló aberrációk tömegén álmélkodhattak.

El kell fogadnunk tehát, hogy a kromoszómaaberrációkhoz a DNS kétszálú törése szükséges, és ezzel magyarázatot találhatunk arra is, miért okoznak kromoszóma típusú aberrációt  $G_1$ -ben és kromatida típusút  $G_2$ -ben az *S-independent* klasztogének és miért csak kromatida típusút  $G_1$ -ben az *S-dependens* klasztogének. Az is magyarázatot nyer, hogy az *S-dependens* klasztogénekkel való  $G_2$ -es kezelés miért csak a második mitózisban ad aberrációt és akkor is kromatida típusút.

## S - indep.



## S - dep.



22. ábra. Az S-independens és S-dependens klasztogének hatásának összehasonlítása. 1. S-independens klasztogén  $G_1$ -ben kettős DNS-láncszakadást (DSB), majd az első mitózisban *kromoszóma típusú aberrációt* okoz. 2. S-independens klasztogén  $G_2$ -ben kettős DNS-láncszakadást (DSB), mitózisban *kromatida típusú aberrációt* idéz elő. 3. S-dependens klasztogén  $G_1$ -ben legfeljebb egyszálalás DNS-törést (SSB) okoz, az S-fázisban a sérülés megkettőződik, mitózisban pedig *kromatida típusú aberrációt* okoz. 4.  $G_2$ -ben az S-dependens klasztogén egyszálalás DNS-törést (SSB) okoz, az első mitózisban a kromoszóma épek tűnik, a második mitózisban vagy gyógyul a sérülés, vagy pedig *kromatida típusú aberrációt* eredményez.



Megemlítjük még, hogy Leenhouts és Chadwick, az EURATOM wageningeni (Hollandia) kutatói már 1973—74-ben kidolgoztak egy elméletet, amely szerint a DNS kettős lánc-törése a kritikus sérülés, amely egyaránt alapja nemcsak a kromoszómaaberrációk létrejöttének, hanem a sejt sugárhalálának is. A részleteiben sokat bírált — joggal, hiszen például feltételezik, hogy a tört végek ép telomerrel is alkotnak cse-reaberrációt — elmélet érdeme elsősorban az, hogy ráirányította a figyelmet a DSB-re és gyógyulási lehetőségeire.

Eddig főleg a gyógyulatlan DNS-sérülések sorsát boncolgattuk. Pedig mind a pro-, mind az eukarióták bámulatra méltó hatékonysággal javítják genetikai anyaguk sebeit. A *DNS-gyógyítási folyamatok* gyűjtőneve angolul *repair* és egész ármádiájuk ismeretes. Anélkül, hogy részletekbe bonyolódnánk, meg kell említenünk, hogy a nitrogénbázis-módosulókat a DNS egyik szálát „nyíró” enzimek veszik „kezelésbe”, és kiiktatják a sérült szakaszt. Ezután a polimerázok következnek, és az átellenes szálát mintául alkalmazva újraszintetizálják a sérült szakaszt (excision repair). Hasonló módon tűnik el az egyszálas DNS-törések zöme is (restitution). Hosszú ideig kérdéses volt, hogyan gyógyulnak — gyógyulnak-e egyáltalán — a kétszálas DNS-törések. Jelenleg igenlő a válasz és legalább három mechanizmusa ismeretes (Lehman, Stevens 1977).

A DSB-k kulcsszerepe mellett a kromoszómaaberrációk létrejöttében egy jelentős DNS-gyógyulási érv is szól. Az egyszálas törések gyógyulási ideje ti. 20 perc alatt majdnem 100%-os, míg a DNS kétszálas töréseinek és a kromoszómák töréseinek gyógyulási ideje ennél jóval hosszabb, órás nagyságrendű (Preston 1983).

Ismeretesek olyan betegségek, melyekben a kromoszómák törékenyebbek, mint az egészséges emberek kromoszómái (13. fejezet). Mindükben a repair-enzimek öröklött hiányossága okozza a gyakoribb kromoszómaaberrációkat.

A DNS-gyógyulási folyamatokat *mutagén szűrésre* is fel lehet használni. Sugárzó DNS-alapanyagot (pl. tríciumos timidint) juttatva a sejtbe, a sejtek radioaktivitása az S-fázison kívül a gyógyulási folyamatok mértékéről fog árulkodni, hiszen nincs repair DNS-szintézis nélkül. Rasmunsen és Painter (1964) írta le először az UDS (unscheduled DNA synthesis ==

programozatlan DNS-szintézis) néven ismert autoradiográfiára változtatot, mely jelenleg standard mutagénszűrési eljárás.

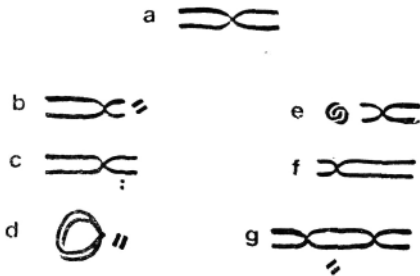
A fentiek alapján megállapítható, hogy a DNS kettős láncszakadása, illetve ennek tökéletlen gyógyulása felelős a kromoszómaaberrációkért. Ez azt is jelenti, hogy az *elsődleges törés*, tehát Sax hipotézise a legvalószínűbb általános jellegű magyarázat ma is a kromoszómaaberrációk keletkezésére.

A kötelező enzimjelenlét a kromoszómaaberrációk képződésében logikussá teszi azt is, hogy a folyamat *anyagcserefüggő*. A kromoszómaaberrációk képződése és gyógyulása is *energiáigényes* (pl. az energiatároló ATP-molekula segíti a gyógyulást). A szintetikus folyamatok „alapköveinek” készletének csökkenése, hiánya növeli a kromoszómaaberrációk számát (pl. a táptalaj folsavtartalmának növekedésével csökken az aberrációgyakoriság). A *sejtlégzés* akadályozása növeli a klasztogének hatékonyságát (Imreh 1973). A metabolizmus és kromoszómaaberráció kapcsolatát bizonyító példák száma ma már óriási, elég, ha megemlítjük, hogy a sugárvédő és sugárérzékenyítő vegyszerek zöme ilyen alapon hat. E kapcsolat felismerésének prioritása Wolff és Luippold (1955) nevéhez fűződik, nálunk pedig Lazányi Endre (1966, 1968) kutatta elsőként.

## 9.5. KROMOSZÓMA TÍPUSÚ ABERRÁCIÓK A METAFÁZISBAN

A  $G_1$ -es, kromoszóma típusú aberrációk leggyakrabban egyszerű törések, terminális deléciók. A letört végék *kettős fragmentumot* eredményeznek, ami párhuzamos kromoszómadarab-párként látható a mikroszkópban. Az interkaláris deléciók általában kisebbek és lekerekítettek. Legtöbbször két kis szabályos korongocskának néznek ki, mintha egy kettőspont keveredett volna a C-mitózisba. Ezek is kettős fragmentumként értékelhetők, de gyakran külön számláljuk őket „*minute*” (minit az ejtése) néven. A minute-ek izodiametrikusak, átmérőjük növényeken szinte törvényszerűen  $1\ \mu\text{m}$  (Savage 1975).

Ha egy kromoszóma mindkét karján törik, általában összeformálnak a sérült végék és *gyűrűkromoszóma* keletkezik (ring). Mivel a gyűrűkromoszóma tartalmazza a centromert, *centrikus gyűrű* (centric ring) a neve. Azt várhatnánk, hogy a letört végék 4 fragmentumot adnak, de a tapasztalat azt mu-



23. ábra. Kromoszóma típusú metafázisaberrációk: (a) ép kromoszóma, (b) kettős acentrikus fragmentum, (c) kettős intersticiális fragmentum, (minute), (d) centrikus gyűrűkromoszóma, acentrikus fragmentumpárral, (e) acentrikus gyűrű, (f) pericentrikus inverzió, (g) dicentrikus kromoszóma, acentrikus fragmentumpárral.

tatja, hogy ők is összeforrnak egymással, így a centrikus gyűrűt csak egy páros kromoszómafragmentum kíséri. A további osztódás során aztán ez a fragmentumpár is elvész, hiszen nem lévén centromerje, vándorlásképtelen az anafázisban. Ha a kettős törés egyetlen karon történik, a kieső szakasz (interkaláris deléció) két vége szintén gyűrűvé forr. Ez nem tartalmaz centromert, tehát acentrikus gyűrű (acentric ring). Ez ritkán elég nagy ahhoz, hogy központjában látható űr legyen. A minute-től azért lehet mégis jól megkülönböztetni, mert átmérője jóval meghaladja a kromatida-keresztmetszetet. A kromoszómakar telomeres fragmentuma „visszaforr” általában, ezért az acentrikus gyűrűt csak a legritkább esetben kíséri kettős fragmentum. Ez megmagyarázza azt is, miért a minute-eket tartjuk interkaláris deléciónak, és nem a kettős fragmentumokat. Azért, mert a hosszabb interkaláris deléció vagy gyűrűt képez, vagy helyben megfordul 180°-kal, inverziót eredményezve. Sávozatlan preparátumon a paracentrikus inverziót nincs mi elárulja, rejtve marad, de sávozással sem könnyű a felismerése. A pericentrikus inverziót viszont sokszor fel lehet

ismerni még sávozatlan preparátumon is, ha a két töréspont a centromertől egyenlőtlen távolságra van. Mikor ez a szakasz átfordul, teljesen váratlan, a kariotípusba be nem illő kromoszóma keletkezik. Ha a töréspontok egyenlő távolságra vannak a centromertől, a felismeréshez sávozás szükséges.

A kölcsönös transzlokációk „első ránézésre” ritkán vehetők észre hagyományos festéssel. Amennyiben az áthelyeződött kromoszómadarab igen nagy, néha fel lehet figyelni a feltűnően „megnyúlt” kromoszómákra és utána lehet keresni, hogy honnan hiányzik a megnyúlást okozó szegmentum. Sávozott preparátumban kisebb kromoszómaszakaszok transzlokációja is felismerhető. Ha a töréspontok a centromerzónába esnek, tulajdonképpen teljes kromoszómakarok cserélődnek a transzlokáció során. A felfedezőjéről *Robertson-féle transzlokáció*nak vagy *centrikus fúzió*nak nevezett aberráció akrocentrikus kromoszómák között történik, és ezek csak — a különben is igen kicsiny, sokszor alig látható — rövid karjukat vesztik el, míg a hosszú karok centrikus fúzióval metacentrikus vagy szubmetacentrikus kromoszómát eredményeznek. Olyan fajoknál, melyeknél csak akrocentrikusok alkotják a kromoszómaszerelvényt (pl. egérnél) vagy pedig döntő többségük akrocentrikus (pl. a szárvasmarhánál, ahol csak a gonoszómák nem azok), a robertsoni transzlokációval létrejött kromoszómák azonnal észrevehetők. A transzlokációk általában és a Robertson-féle különösen nagy szerepet játszottak az evolúcióban. Elég talán megemlítenem, hogy kínos rokonságunk, az emberszabású majmok (pl. a csimpánz) sávozatlan kariotípusa csak annyiban különbözik az emberétől, hogy a mi kettes kromoszómánk két akrocentrikus csimpánzkromoszóma robertsoni fúziója. A sávozás már több inverziót és más átrendeződést is feltár.

A transzlokációk aszimmetrikus típusánál nem a letört végek cserélnek gazdát, hanem a centromer tartalmazó kromoszómák forrnak össze. Így két centromeres, tehát *dicentrikus kromoszóma* jön létre, melyet — mint a centrikus gyűrűnél — nem 4, hanem csak 2 fragmentum kísér. Általában igen könnyen felismerhető aberrációtípus, de néha a két centromer közötti távolság annyira lecsökkenhet, hogy azonosítása komoly probléma. A Robertson-transzlokációk egy része tulajdonképpen dicentrikus, de a két centromer közvetlen szom-

széd. Léteznek — igazán különleges — *tri*-, *tetra*-, *penta*- vagy *policentrikus* kromoszómák is.

Az ionizáló sugárzások és egyéb klasztogének szűrésében gyakran csak a *dicentrikus*+*gyűrű* kategóriát veszik számításba mint mennyiségileg jól értékelhető aberrációkat.

A gyűrűket és dicentrikusokat kísérő fragmentumokról nem szabad megfeledkezni, egyrészt mert részei az aberráció-típusnak, így mennyiségi elemzéskor nem számoljuk őket külön, másrészt mert amennyiben nem találjuk a kísérő fragmentumokat, azt jelenti, hogy az aberrált sejt a klasztogén hatás utáni második mitózisban van, az acentrikus fragmentumok az előzőben elvesztek.

### 9.6. KROMATIDA TÍPUSÚ ABERRÁCIÓK A METAFÁZISBAN

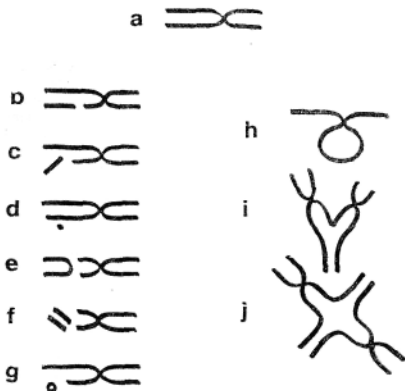
Az S-independens klasztogének csak a  $G_2$ -ben, az S-dependensek a  $G_1$ -ben is kromatida típusú aberrációt okoznak. Változatosabbak, mint a kromoszóma típusúak.

A kromatidán festődési hiányként, résként jelentkező ún. akromatikus szakaszok, a „gap”-ek külön fejezet (9.7.) tárgyai.

A kromatidatörés (break) az egyik leggyakoribb kromatidaaberráció. A letört kromatidadarab eltávolodik a kromoszómától és — ez fontos — többnyire szöget zár be a kromatida-tengellyel. A kromatidatörések zöme terminális deléció. Elektromikroszkóppal vizsgálva, a kromatidatörés tényleges folytonossági hiány, de néha kromoszómafonalak szelik át a fénymikroszkóppal üresnek látszó részt (Brinkley, Hittelman 1975). Növényi „squash”-preparátumoknál néha műtermék a kromatidatörés (Read 1959, Evans, Riordan 1975). Mivel a valódi törés felülete lekerekített, míg az artefaktumé éles, az értékelést ritkán „szennyezi” ez a hibaforrás.

Ha az interkaláris kromatidadeléció kisméretű, izodiametrikus „pöttyöt” eredményez metafázisban, ez a kromatida-„minute”.

Néha ugyanazon a szinten törhet el mindkét kromatida (valószínűleg egymáson átfekvő  $G_2$ -es fonalak „nyíródna” ez esetben) *izokromatida-törést* hozva létre. Bár összetéveszthetők a kettős fragmentumot adó  $G_1$ -es töréssel, alacsony előfordulási gyakoriságuk miatt ez a hibaforrás is csak elméleti. A valóságban a letört végek gyakran egyetlen fragmentummá



24. ábra. A főbb kromatida típusú metafázisaberrációk: (a) ép kromoszóma, (b) kromatidarás (gap), (c) kromatidatörés, (d) kromatida szintű intersticiális deléció (minute), (e) izokromatidatörés egyesült fragmentumokkal, (f) izokromatidatörés kettős fragmentummal, (g) kromatidagyűrű (acentrikus), (h) kromatidagyűrű (centrikus), (i) kromatidatranszlokáció (triradial), (j) kromatidatranszlokáció (quadriradial).

forrnak. Izokromatida-törés nyomán azonban a kromatidák centrális része is össze szokott forrni, *centrikus kromatidagyűrűt* képezve. A centromer osztódásakor ez a gyűrű kinyílik és anafázishídát alkot (9.3. fejezet). Az izokromatida törés *testvérkromatida-cserét* is eredményezhet, mely csak autoradiográfiával vagy harlekinfestéssel látható. Mivel döntő többségük nem izokromatida törésből származik, nem soroljuk őket a kromatidaaberrációk közé (11. fejezet).

Ugyanazon kromatida két karján a terminális deléciók is centrikus kromatidagyűrűvé záródnak, ez viszont a centromer osztódásával nem nyílik szét, az anafázisban is így vándorol.

Egyetlen kromoszómán belül is változatos lehet a *kromatidakarok közötti csereaberráció* (chromatid inter arm interchange). Itt lehet szerepe a cserehipotézisben megismert „Revell-huroknak”. Az egymáson átfekvő két-két kromatidakar négy keresztezési pontot hoz létre, és e pontokon a kromatidák közötti vagy kromatidán belüli teljes vagy részleges transzlokációk dicentrikus kromatidát, duplikációt, centrikus kromatidagyűrűt vagy akár pericentrikus inverziót is eredményezhetnek (Savage 1975). Ha a centromert tartalmazó hurok kicsiny, a centromer osztódása után *izokromoszóma* jöhet létre, tehát olyan kromoszóma, melynek két karja azonos gén-szekvenciát tartalmaz, de egymásnak tükörképeként. Ha egyetlen kromoszóma két kromatidája alkot „Revell-hurkot”, kromatida fragmentum (terminális deléció), izokromoszóma vagy acentrikus gyűrű jöhet létre — ezek mind *kromatidakaron belüli aberrációk* (Chromatid intra arm intrachanges).

Nagyobb interkaláris deléció *acentrikus kromatidagyűrűt* eredményez. Önálló, a kromatida-átmérőt meghaladó átmérőjű korongocska, közepén ür csak a legritkább esetben látható.

A kromatidák *interkromoszómális csereaberrációi* (chromatid interchanges) gyakoriak. Nagyrészt változatosságunknak köszönhető, hogy az aberrációszámlálás időt rabló munkája sohasem válik rutinná, mindig tartogat fantáziát lendítő meglepetést. Két szomszédos kromoszóma egyesült kromatidakarja a metafázisban kromatida szintű dicentrikusként látható, míg az aberrációban részt vevő két kromoszóma másik kromatidája szabad. E két kromoszóma térbeli elhelyezkedésétől függően az aberráció képe nagyon sokféle lehet. A törés és kromatida-egyesülés kiváltásakor a kromoszómakondenzáció már elég előrehaladott állapotban van, ezért a letört kromatidavégek nem távolodnak el (mint a kromoszóma típusú aberrációknál), hanem a szabad kromatidákhoz simulva követik azokat. A kromatidafragmentumok is össze szoktak forrni, így érdekes torz kereszt jön létre, a neve *quadriradial*. Magyarul talán kromoszómakeresztnek lehetne nevezni.

Ha egy kromoszóma izokromatid sérülése találkozik egy másik kromoszóma kromatida sérülésével, nem kereszt alakú képlet, hanem egy háromkarú alakzat keletkezik, neve *triradial*. Magyarul talán kromoszóma-háromágnak lehetne nevezni. A triradial két típusát különböztetjük meg: az egy- és a kétcentromeres triradialt. A *kétcentromeres triradial* a gya-

koribb, ilyenkor az egyik kromoszóma izokromatid töréspontjához a másik kromoszóma fragmentuma és tört karja kapcsolódik. Egy vagy két fragmentum kíséri. Az *egycentromeres triradiál* úgy jön létre, hogy az eltört kromatidába mintegy beékelődve harántirányban forr a másik kromoszóma izokromatid törésének két fragmentuma.

Két izokromatida-törés találkozása, bár ritka, tökéletesen utánozhatja a  $G_1$ -es aberrációkat. Centrikus gyűrű, dicentrikus kromoszóma jöhet létre, annyi különbséggel, hogy nem egy, hanem két páros fragmentum (tehát összesen négy) kíséri őket.

Ha kettőnél több kromoszóma kapcsolódik kromatida szintű csereaberrációba, a keletkező alakzatok minden képzeletet felülmúlnak. Néha nem is tudjuk megállapítani, hány kromoszóma vesz részt e *komplex csereaberrációkban* (complex interchange).

*Sokszoros aberráció* (shattering) nevet kapta a növényi preparátumokban gyakran látható, de emlőssejttenyészetekben sem ritka  $G_2$ -es aberrációözön, amelyet feltűnően sok kromatidatörés, gap, csereaberráció együttes jelentkezése tesz különlegessé.

A shattering még a szelídebb változat, mert néha úgy tűnik, mintha valami a teljes kromoszómakészletet „ripityára” törte volna. Vegyszer is okozhatja, de leggyakrabban a klasztogén vírusok (rubeola, herpes zoster, herpes simplex, sendai típusú parainfluenzavírusok) által kiváltott jelenség. Igali (1976) találóan *kromoszómaporításnak* nevezi ezt a *pulverizációként* ismert aberrációtípust. A kromoszómaporítás nem sorolható sem a  $G_1$ , sem a  $G_2$  aberrációk közé. Az S-fázis esetleg a  $G_2$  elején keletkezik, és a teljes kromoszómaszerelvény kis fragmentumokra esik szét (illetve csak ekkora darabokban kondenzálódik). Amennyiben a „porított” kromoszómák mellett ép mitotikus kromoszómák is láthatók, valószínűbb a *korai kromoszómakondenzáció* (PCC, 12.2. fejezet) jelensége.

## 9.7. KROMATIDARÉS: GAP

Míg az eddig felsorolt aberrációtípusokat a citogenetikussok egységesen értelmezik, a gapek körül éles a vita. Mi a gap? Még Karl Sax (1938) figyelt fel arra, hogy röntgenbe-



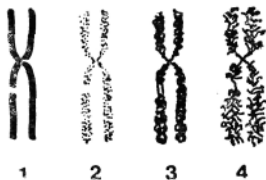
sugárzás után a *Tradescantia* pollencsira kromoszómáin apró, bevágásszerű, nem festődő sérülések (achromatic lesions) láthatók. Azt gyanította, hogy ezeket olyan kromoszómatorések okozhatják, amelyeknél a tört vég még nem szakadt el a kromatidától. A citogenetikusi zsargon rövidesen az angol gap (ejtsd gep, értsd rés, hiány, nyílás) kifejezést fogadta el. Találó fogalom, hiszen a mikroszkóp alatt úgy látszik, mintha a kromatida egy rövid szakasza hiányozna. Magyarul *kromatidatörésnek* kellene talán nevezni. Hasonlít a NOR-ként ismert másodlagos befűződéshez, és különösen anafázisban könnyen össze is téveszthető vele. Ritkábban mindkét kromatidán azonos elhelyezkedésben található, ez az *izokromatidagap*. Az eredeti Sax-féle elképzeléssel szemben, amely a kromatidarést valószínűsítő törésnek tekintette, az idők során tartották potenciális törésnek (Sparrow 1944), melyet az „aktivált állapotban lévő” kromoszómáriszen éppen a festődésképtelen szakaszok árulnak el (Jost 1951), és amely egy hosszabb-rövidebb „lappangási idő” (Sparrow 1944) elteltével valódi töréssé fog előlépni. Az S-dependens klasztogének — ma már tudjuk — tényleg így hatnak. Azt is feltételezték, hogy a gapek helye elárulja, melyek azok a pontok a kromoszómán, amelyek érzékenyebbek a mutagén tényezőkre, amelyek tehát gyakrabban törnek. E hipotézist Marquardt (1950) nevezte el a „törékeny pontok hipotézisének”. Jelenleg a humán kariotipusban is számon tartanak ilyen törékeny pontokat (fragile sites, 13. fejezet).

Revell (1959), a csereelmélet megfogalmazója szerint a kromatidarés nem törés, sőt nem is sérülés (!), csak „nem festődő szakasz” (achromatic region). Fő érve az, hogy a Vicián látható metafázisos kromoszómáriséseknek csak  $1/20$ — $1/100$ -a adott felismerhető kromoszómafragmentumokat a metafázist követő anafázisban. Ezzel Revell egy igen heves vitát indított, mely a hatvanas években kötetnyi dolgozatot ihletett, és amely még ma sem tekinthető végleg lezártnak. Revell véleményét sokan cáfolták, például a Bécsi Atomenergia Ügynökség (IAEA) 1966-os kerekasztal-értekezletén a résztvevők többsége. Szerintük a gapek reális aberrációk, hiszen frekvenciájuk lineárisan növekszik a sugárdózissal (egytalálatos görbe). A brookhaveni kutatóintézetben Alan Conger még tovább megy és háromszor annyi anafázisfragmentumot mutat ki, mint metafázisgapek. Lazányi (1968) megismételte Revell kísérletét, de nem a metafázisréseket számolta (a besugárzás utáni 2. órától a 14-ig), ha-

nem az anafázisfragmentumokat. Kiderült, hogy görbéje a Revellé fölé helyezhető és azzal párhuzamos lefutású. A következtetés egyszerű: mivel a metafázisgapek száma minden időpontban egyezik az anafázisfragmentumok számával, a gapek reális törések, amelyekről acentrikus fragmentumok válnak le és pusztulnak el az anafázisban vagy később. A réseket végleges sugárkárosodásnak kell tekinteni.

A számolásieltéréseket részben az is magyarázza, hogy nem mindenki értette ugyanazt a gapen. Jelenleg csak az a kromatidarés számítható ide, amelynek hossza nem nagyobb a kromatidaátmérőnél. Ennél nagyobbakat akkor is törésnek kell számolni, ha a disztális szakasz tengelye egybeesik a kromatidaéval. Azt is tapasztalni kellett, hogy a gapgyakoriság nem állandó, változhat akár ugyanazon személy különböző tenyészetekben, néha még akkor is, ha párhuzamos tenyészeteket indítottunk. Megfigyelték azt is, hogy a sejtenyészetben több a gap, ha a TC 199-es táptalajt és kevesebb, ha Ham F 10-esét használják. Amint a 13. fejezetben látni fogjuk, ez utóbbi tény szintén a kromatidarések reális törés volta mellett érvel (Brogger 1982). Saját megfigyeléseink is alátámasztják a kromatidarés értékelésének ambivalenciájára vonatkozó véleményeket. A pajzsmirigy túlműködés miatt radioaktív jóddal kezelték citogenetikai vizsgálatánál majdnem egy nagyságrenddel több rést találtunk, mint a kontrollcsoportnál (Imreh és mtsai 1976). A szakmai sugárterhelés ellenőrzésekor mind a radiológusoknál, mind az izotóppal dolgozóknál emelkedett gapértékeket figyeltünk meg (Imreh, Rădulescu 1977, Rădulescu és mtsai 1983). A spondylarthritis ankylopoietica miatt sugárkezelt betegekben viszont semmi eltérést sem találtunk a kontroll és besugárzott esetek között, amint a feltételezett sugárbaesetek kromoszómadozimetriájában sem hasznosíthattuk a gapszámolást (Imreh és Rădulescu 1980, Imreh és mtsai 1981). Ellenben vegyi mutagénekkel végzett vizsgálatainkban (króm, ciklofoszfamid, mitomicin-C stb.) emlősejtenyészetben és emberi limfocitában is magas gapgyakoriságot találtunk (Imreh 1982, Imreh és mtsai 1984).

Osztatja-e a kromatidarés körüli ködöt az elektronmikroszkóp? Scheid és Traut (1971) Münsterben SEM-mel két párhuzamos fonalat látott az akromatikus szakaszon. A bukaresti egyetemen Veronica Stoian és Petre Raicu (1974) még fénymikroszkóppal is látni vélték egy-két halványan festődő fo-



25. ábra. Kromatidarárés (gap) alkohol-ecetsavas rögzítés után (1, 2) és vízfelszínen szélesztés után (3, 4), fénymikroszkóppal (1, 3) és elektron-mikroszkóppal (2, 4) vizsgálva. A vízfelszínen fellazult fonalak átfélhetnek a résen (Brogger 1981 nyomán).

nalat a *Vicia*-kromoszómák aminouracil keltette gapjein. Anton Brogger (1971) figyelmeztet, hogy metanol-ecetsavas rögzítés után mind fény-, mind elektronmikroszkóppal valódi hiánynak tűnik a gap, míg vízfelszínen szélesztett — Du Praw-módszerrel preparált — kromoszómákon mindkét féle (!) mikroszkóppal csak fellazult fonalakat találunk, valódi folytonosság-hiányt nem. Végül a Texas Egyetem galvestoni intézetében egy olyan beágyazási módszert dolgoznak ki, mely lehetővé teszi a kromoszómák SEM-es és fáziskontraszt-mikroszkópos vizsgálatát is (Brinkley, Hittelman 1975), és kiderítik, hogy a kromatidarárés két kategóriába sorolható: 1. valódi genetikai anyaghíányt elárulók, tehát tényleges törések, és 2. csak a fonalak számának csökkenése és párhuzamos lefutása miatt gapnek tűnő szakaszok, a folytonosság megőrzésével.

Anton Brogger egy újabb cikkében (1982) azt tárgyalja, mennyire alkalmas a gap a genotoxikológiai (15. fejezet) felmérésekben. Rendhagyóan szerkesztett dolgozat ez, mivel a Cytogenetics and Cell Genetics szigorúan tudományos hangvételű szaklapban példátlan módon, alcímeit a szerző kétsoros (fűzfa)rímekbe szedte! Bár megismétli a kromatidarárés számlálásának minden nehézségét mind gyakorlati, mind elméleti szempontból, véleménye szerint:

„Score and ignore  
not any more“,

tehát komolyabban kell vennünk a gapértékelést. Fő érve e mellett az, hogy

„In workers around  
Gaps do abound“,

hiszen a citosztatikumokkal dolgozó ápolónőknél, a nikkel-finomítókban és PVC-vel dolgozóknál, a 8-metoxi-pszoralénnel kezeltéknél — tehát mutagén környezetben — a gap gyakoriság mindig növekszik.

Brogger (1982) azon a véleményen van (saját és sejtfúziós eredmények alapján), hogy kétféle kromatidaráis van: az első típus a *klasztogén gap*, ez DNS-sérülés eredménye, az elsődleges kondenzációt zavarja meg, valószínűleg egyszálas DNS-törés (SSB) következménye. Ez a típus a második mitózisban fragmentumot ad. A második típus a *turbagén gap*, ez nem DNS-sérülés következménye, hanem a másodlagos kromoszómakondenzációt meghatározó DNS-fehérje kapcsolat zavarása. Ez a típus nem eredményez kromoszómafragmentumot.

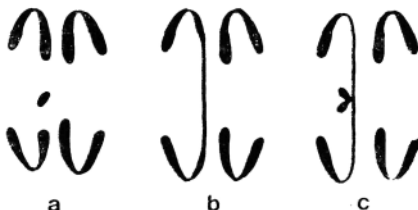
A citogenetikus célja az aberrációszámláláshoz az, hogy a genetikai károsodást pontosan felbecsülje. Végtelen hiba lenne — súlyos alábecsülést eredményezne sok esetben —, ha a kromatidaráisokat nem tekintenénk a mutagének-karcinogének jelenlétét jelző kromoszómaaberrációknak.

## 9.8. ANAFÁZISABERRÁCIÓK

A metafázis kromoszóma és kromatidatípusú aberrációinak szédlő változatossága után az anafázisban üdlő egyszerűség fogad. Az anafázisos vándorláskor a sejtpólusoknál kialakuló két kromoszómatömről között szabadon marad az interpoláris tér. E szabad területen jól felismerhető a húzófonálról lemaradt kromoszóma, kromoszómadarab vagy a két pólust összekötő hid.

### 9.8.1. Anafázisfragmentum

bármely aberrációból képződhet, amely szabad, centromer nélküli kromoszómadarab (ezért hívjuk acentrikusnak is) lét-rejőttével jár. Az *acentrikus fragmentum* „elárlulja magát“ az anafázisban, mert centromer hiányában nem vándorol, „ott ragad“ az interpoláris térben.



26. ábra. Anafázisaberrációk: (a) anafázisfragmentum, (b) anafázishíd, (c) oldalkáros híd (szubkromatida-aberráció).

A növények — különösen a gyökércsúcs-preparátumok — kiválóak az anafázisfragmentumok számlálására. A *Vicia*, *Tradescantia*, *Allium* viszonylag nagy kromoszómái szép laza anafázisokat alkotnak, és ami a legfontosabb, nagy számban, 10% felett van a mitózisok aránya a lóbabgyökércsúcsban, és ezek 8–16%-a anafázis (Imreh 1973). A lóbabpreparátumokon nem igen lehet összetéveszteni az acentrikusokat semmivel, egyedül a szatellitákat kell megismernie a mikroszkopizálónak. A *Vicia* két nagy szatellitahordozó kromoszómája (M) éppen hossza miatt „belógatja” szatellitáját az interpoláris térbe, és ez a széles nem festődő másodlagos befűződés miatt (NOR) összetéveszthető a fragmentummal. Kis gyakorlattal viszont megismerhető a szatellitaméret, és ezzel kizárható a hibaforrás. Tudnunk kell azt is, hogy nem „kerül elő” mindegyik meta-fázisfragmentum az anafázis interpoláris terében. Egy részük valószínűleg „belekeveredik, belegabalyodik” a vándorló leánykromoszómák csoportjába. Ezek ellenére meglepően biztos és reproduktilabilis indikátora a klasztogén hatásnak az acentrikus fragmentumok száma (Kihlman 1975). Ehhez csak egy feltételt kell szem előtt tartanunk: ténylegesen anafázist számláljunk, és ne telofázisokat is. Saját gyakorlatunkban az ún. ujjas anafázisokat számláltuk, amikor a két leánykromoszóma-csoport úgy távolodik egymástól, mintha két szétterpesztett ujjú kezünket távolítanánk, és mint kezünk ujjai, a leánykromoszómák is egyenként felismerhetők. Az anafázis végén már in-

kább öklöbe szorított kezekhez hasonlít a kép („öklös anafázisnak“ neveztük), és az interpoláris térben látható fragmentumokról nem mindig lehet megállapítani, hogy nem hidak elszakadásából származnak-e.

Az emlőscitogenetikában nem terjedt el az anafázisaberrációk számlálása, elsősorban azért, mert kolchicinos „mitózis-gyűjtés“ nélkül a mitotikus index (az osztódások százalékos aránya a sejtpopulációban) alacsony, és ezen belül az anafázisok aránya még kisebb. Bár több módszer ismeretes az anafázisok számának növelésére az alacsony koncentrációjú kolchicinos kezeléstől a sejtciklus változatos szinkronizációjáig, emlőrendszerben egyetlen laboratórium sem használja rutin-szerűen az anafázisaberráció-vizsgálatot.

### 9.3.2. Anafázishíd

képződhet minden olyan aberrációból, melynek során kromatida- vagy kromoszóma szintű egyesülés történik, és az anafázisban a két centromer ellentétes pólusok felé vándorol. Az anafázishíd (bridge) átível az interpoláris téren, és ezért könnyen észrevehető és számlálható.

A kromoszóma típusú metafázisaberrációk közül a dicentrikusok és gyűrűkromoszómák páros hidat alkotnak az anafázisban. A két leánykromoszóma nem feszül mindig párhuzamosan a két pólus között, hanem gyakran keresztezi egymást, vagy — a gyűrűből eredően — láncszemszerűen egymásba hurkolódik.

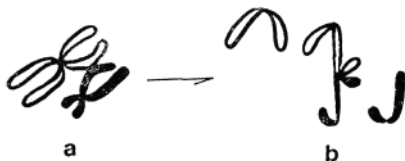
A kromatida típusú aberrációknál minden összeforrt testvér kromatida a centromerosztódás után híddá nyílik szét. Az anafázishíd megakadályozza az osztódás befejezését, vagy elszakad, és beindulhat a McClintock-féle törés—fúzió—híd ciklus (9.1. fejezet).

Az anafázishidak elektronmikroszkóp alatt hasonlónak tűnnek, mint a fénymikroszkópban, de a kifeszülő szakaszon a fonalak lefutása párhuzamos, és a híd néha kettős szerkezetűnek tűnik (Brinkley, Hittelman, 1975). A klasztogénekkel kiváltott hidak száma jóval kisebb, mint az acentrikus fragmentumoké; a röntgensugár például egy teljes nagyságrenddel kevesebb hidat okoz (Imreh 1973), mint fragmentumot.

### 9.8.3. Oldalkaros híd (szubkromatida aberrációk)

címző helyett másfél-két évtizede még félkromatid aberrációt írtam volna. E speciális aberrációtípust hosszú ideig úgy tekintették, mint a kromatida két alegysége (a félkromatidák) bizonyítékát (Rieger, Michaelis 1967). Ha — mint az mai tudásunk szerint bizonyos — a kromatida nem is áll két félkromatidából, azért még nem föltétlenül szükséges, hogy teljes átmérőjében kapcsolódjon aberrációba. Különösen nem, ha a kromoszómakondenzáció már előrehaladott, és a kromoszóma-fonál tekintélyes vastagságot ért el, a  $G_2$  és a profázis határán. Ilyenkor a többé-kevésbé rendezett „gubanc” egy részét érinti csak a sérülés, a kromatida folytonossága nem szakad meg, tehát fragmentum sem képződik. A szomszédos sérülések ellenben ekkor is egyesülhetnek. A szubkromatida szinten összeforrt kromatidák inkább úgy néznek ki, mintha összeragadtak volna egy ponton vagy egy rövid szakaszon, erről ismerhetők fel a metafázisban. Sokkal jellegzetesebb a kép, amikor a szubkromatida szinten összeforrt kromatidák az ellentétes pólusok felé vándorolnak. Híd képződik, amint az elvárható, de az egyesülési ponttól a telomer felé a két kromatidavég e hídra merőlegesen kapcsolódva árulkodik az aberráció típusáról. Az angol terminológia „side arm bridge”-nek nevezi — találónan —, magyarul talán *oldalkaros híd* lenne a megfelelő kifejezés.

Elektronmikroszkópban látható, hogy a szubkromatida hídakat alkotó kromatidák nemcsak összeakadnak, szétbomlóznak (mint azt többen feltételezték), hanem valódi a folytonosság a híd hosszán, csak az oldalkarok csatlakozásánál sűrűsödik a „gubanc” (Brinkley, Hittelman 1975).



27. ábra. Szubkromatida-aberráció a metafázisban (a) és anafázisban (b).

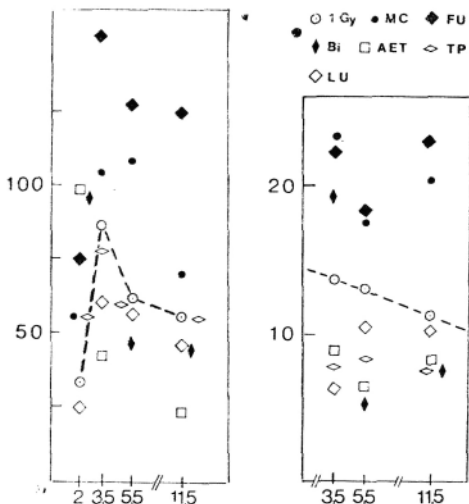
Erdekességként megemlítendő, hogy a sugárérzékenyítő mutagének (pl. fluoruracil, mitomicin C), melyek a DNS sérülései gyógyulásának is gátlói, megnövelik az oldalkaros hidak számát; míg a kromoszomális sugárvédők (pl. AET), melyek a többi aberráció gyakoriságát lecsökkentik, e típusnál nem jelentenek védelmet (Imreh 1973).

#### 9.8.4. Törés-újraegyesülés

dinamikájáról árulkodnak az anafázisaberrációk. A klasztogének törik a kromoszómát, a törések zöme nyomtalanul gyógyul, más — kis — része csereaberrációkban egyesül, vagy stabilizálódik a törésvég (21a. ábra). A látható egyesülési aberrációk tehát csak jelzői — mint a jéghegy látható csúsa — a szemünk elől rejtetten zajló folyamatoknak. A csereaberrációknak is csak egy kis része ad hidat az anafázisban, de áru-lói a háttérben folyó DNS-gyógyulási, kromoszomafonál-egye-sítési „erőfeszítéseknek“. Emeltem, hogy már az ötvenes években felismerték, hogy a kromoszómaaberráció-képződés metabolikus folyamatként értelmezhető, hiszen energia- és tápanyagfüggő. Ezért javasolta Lazányi Endre (1966, 1968), hogy az anafázisos fragmentumok és hidak arányát *BR-index* (breakage-reunion index, törés-újraegyesülési arány) néven mutagén tesztelésben úgy számláljuk, mint a törésvégek új-raegyesülési kapacitásának jelzőjét. Lazányi (1968) megfigyelte például, hogy a szulfoguanidin gátolja a gamma-sugár kel-tette törések újraegyesülését, növeli tehát a *BR-indexet*. Saját kísérleteink (Imreh és mtsai 1971, Imreh 1973, 1976) is bizo-nyítják, hogy a kromoszomális sugárszenzibilizálók növelik a *BR-indexet* (csökkentik az egyesülések viszonylagos gyakori-ságát, növelik a gyógyulatlan kromoszomatörések számát), míg a kromoszomális sugárvédők csökkentik a *BR-indexet* (növelik tehát az egyesülések számát) (28. ábra).

A növényi gyökök anafázisaberrációi igen pontos, gyors, és — ez nem mellékes: feltűnően olcsó! — tesztjei a mutagének-karcinogének hatásának. Ha „visszapörgetjük a sejtek-lust“, tehát a kezelés után bizonyos idővel rögzítjük a gyöke-reket, betekintést nyerünk a vizsgált klasztogének hatásmecha-nizmusába is: Viciánál pl. 2 órával a kezelés után oldalkaros hidakat számolhatunk (mitózis elején keltett aberrációkat); 3—5 órával a kezelés után  $G_2$ -es aberrációkat, 10—12 órával a kezelés után az *S*-fázisban; 16—19 órával a kezelés után  $G_1$ -





28 ábra. Az anafázisfragmentumok (bal oldali ábra) változása 2–11,5 órával és a BR-index (jobb oldali ábra) változása 3,5–11,5 órával 1 Gy X-sugárzás után. Sugárszenzibilizáló anyagok: MC = mitomicin C, FU = 5-fluoro-uracil, Bi = bizmut-szubsztrát; sugárvédő anyagok: AET = amino-etil-izotauronium, TP = triperidol, LU = luvatrén (Imreh 1973 nyomán).

ben keltett fragmentumokat és hidakat vizsgálhatunk. A BR-index kiszámítása még további információkkal is ellát a vizsgált mutagének természetére nézve. A növényi teszt objektív hátránya, hogy a szűrésre kerülő vegyület nem megy végig az emlősmetabolizmus „boszorkánykonyháján”. Tudjuk pl., hogy a máj enzimszisztema „metabolikusan aktiválhat”,

mutagénné alakíthat „ártatlan“ vegyszereket, de mutagéneket meg is foszthat genetikai veszélyességüktől. A növényi szűrőrendszerek szubjektív hátránya szintén fontos: még a szakemberek egy része sem veszi elég komolyan, „nem ijed meg“ annyira a lóbab gyökerén kimutatott mutagén hatástól, mintha ugyanazt pl. HeLa emberi sejteken demonstráljuk. Pedig a metabolikus aktiváció ez utóbbi esetben is elmaradhat, és az emlőssejttenyésztés ráadásul igen drága.

A potenciális mutagének szűrésében tehát a gyorstesztekkel kell kezdeni, és első lépésben igen alkalmasak a növények anafázisaberrációi. A második lépésre ma már energikusan jelentkezik egy másik gyorsteszt: a mikronukleusz kimutatásáé.

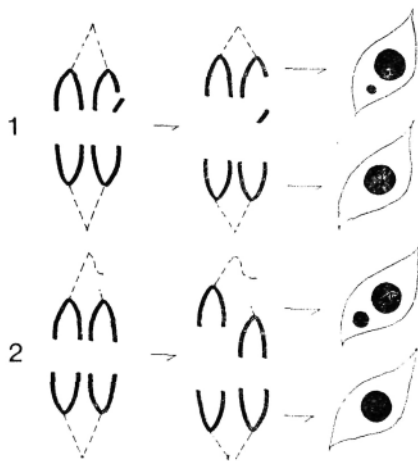
### 9.9. SEJTMAGTÖRPE: MIKRONUKLEUSZ

Sikerült terminus technicus ez: sejtmag = nukleusz, kicsiny: törpe sejtmag = mikronukleusz. A citoplazmában a sejtmag mellett látható, azzal azonos módon festődő gömböcskét, sejtmagkistestvért hívjuk így.

A mikronukleusz-kérdéssel először 1913-ban találkozunk. Mint azt a már többször említett Gelei-levelezésből tudjuk (Szabó 1976), Boveri laboratóriumában rádium-bromiddal sugározta örvényférgéit. 1913. július 5-én így számol be a rádiumsugaraknak az oociták érési osztódásaira gyakorolt hatásáról: „Kísérleteimből csakhamar kitűnt, hogy a bukettstádium párosodott chromosomái úgyszólván megtamadhatatlanok rádiumsugarakkal, a későbbi fázisokban azonban élettanilag úgy elgyöngülnek, hogy az iránytestek képzésére a centriólumokkal oszlási síkba állíthatnak föl ugyan, később azonban képtelenek a pronucleusok alkotására egyesülni, hanem minden egyes chromosoma, illetőleg chromosomatöredék külön-külön képez magot...“

Nos, ez a mondat megfelel annak, ahogy ma értelmezzük a mikronukleuszok létrejöttét: a kromoszómadarabok, melyek nem tartalmazznak centromert és ezért nem képesek vándorolni, az osztódás befejeztével külön sejtmagvacskát képeznek: mikronukleuszt (Szabó, Imreh, Rádulescu 1980).

A fentiekhez mai tudásunk csak annyit tehetett hozzá, hogy a mitotikus orsó sérüléseivel „elszabaduló“ teljes kro-



29. ábra. A mikronukleáció két lehetséges eredete: (1) kromoszómatörésekből származó vándorlásképtelen acentrikus fragmentumokból és (2) a mitotikus orsófoncsolódásával az anafázisos vándorlásból kimatadó teljes leánykromoszómákból.

moszómák is ottmaradhatnak az interpoláris térben és mikronukleusszá válhatnak. Érdekes módon e két módozat: a kromoszómafragmentáció és -orsóhiba szerepét a mikronukleációban csak mostanában bizonyították (Yamamoto, Kikuchi 1980, Valladaud-Barrier 1983), akik megmérték a mikronukleusz-átmérőt. A klasztogének kisebb, az orsómérgek nagyobb mikronukleuszokat okoztak.

A mutagének-karcinogének szűrésében egyik legfontosabb kérdés: okoznak-e kromoszómaaberrációt? Bár a választ

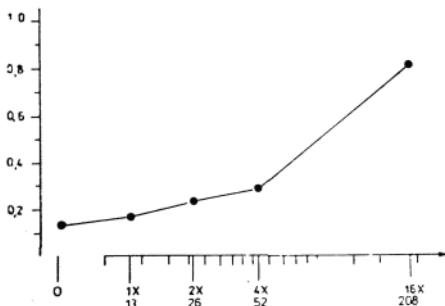
látszólag a metafázisaberrációk adhatnák meg legbiztosabban, nem szabad megfeledkeznünk róla, hogy ezek elemzése különleges felkészültséget követel, időt rabló és elég drága. Ezért fordult a hetvenes években a citogenetikusok figyelmé a mikronukleáció felé (lásd részletesen Imreh, Rădulescu 1980, Imreh 1983).

Ha *mikronukleusz-tesztet* mondunk, a tesztobjektum megjelölése nélkül, a genetikusok zöme a *csontvelő* mikronukleuszainak analizésére gondol. 1960-ban Fliedner egy sugárbal-eset orvosi kivizsgálásakor figyelt fel a mikronukleuszok meg-növekedett számára a csontvelőben. Boller és Schmid, majd Heddle és végül a zürichi Walter Schmid (1975) részletes be-számolója általánosan ismertté tette a csontvelőmikronukleusz-tesztet. Érdekessége e módszernek, hogy a vörösvértestben kö-veti a mikronukleuszokat. Hogy lehet kis sejtmag egy olyan képződményben, melyet éppen azért hívunk „testnek” és nem sejtnak, mert nincs nagy sejtmagja sem? A csontvelőben kép-ződő eritrociták utolsó osztódásuk befejeztével kilökik sejtmag-jukat. A kilökődési mechanizmus viszont nem érinti a mikro-nukleuszt! Ráadásul a fiatal eritrociták a sejtmag kilökődése után még könnyen fel is ismerhetők, mert kékesen festődnek, ugyanis nem tartalmaznak annyi hemoglobint, mint „érett” téglapiros testvéreik. Ezeket a másképp festődő vértesteket *polikromatikus eritrocitáknak* nevezik. Egy nagyon homogén sejtpopulációt lehet tehát e módszerrel vizsgálni, mely éppen különleges festődésével árulkodik arról, hogy az elmúlt 24 órában osztódáson ment át, és amelyben igen feltűnő, bárki által könnyen felismerhető a mikronukleusz. Kiváló in vivo módszer, melyben bármelyik kis laboratóriumi emlőst lehet használni, legelőnyösebben mégis talán az egeret. A csontvelő-mikronukleusz-teszt érzékenysége: egér > patkány > hőr-esög > ember (Goetz és mtsai 1975). Nem véletlen, hogy a stockholmi Wallenberg Laboratóriumban Dag Jensen és Claes Ramel 1980-ban már 143 vegyi anyag adatait elemmezve java-solja a mikronukleusz-tesztet mint rutinszerű módszert a mu-tagén-karcinogén szűrésben. Az Egyesült Államok Környezet-védelmi Ügynöksége (EPA = *Environmental Protection Agen-cy*) és az Európai Gazdasági Közösség Orvosi Termékeket Sza-badalmazó Bizottsága (CPMP = *Committee for Proprietary Me-dicinal Products*) csakúgy, mint a szocialista országok egész-ségügyi szervei a csontvelőmikronukleusz-tesztet besorolták az

új gyógyszerek, vegyszerek mutagén-karcinogén ellenőrzésében szükségelt tesztrendszerek közé. A módszer érzékenysége-  
nek bizonyítékaul elég talán megemlítenem, hogy egyik vizs-  
gálatunk során 26 mGy besugárzás hatását is ki tudtuk mu-  
tatni egércsontvelőben ezzel a teszttel (Imreh és mtsai 1978).  
Az eritrociták mikronukleuszait később fellelték a keringő vér  
preparátumaiban is, és pl. a vízszennyezés ellenőrzésére kidol-  
goztak egy gyors módszert a *halak* (törpe póc, *Umbra pygmaea*)  
vérének mikronukleusz-tesztelésével (Hoftman, Raat 1982).

Mivel a vegyi anyagok metabolizmusában a máj játssza a  
főszerepet, igen ígéretesnek tűnik a *májsejtek* (hepatociták)  
mikronukleusz-tesztje, melyet már embernél is alkalmaztak  
(Strom és mtsai 1982).

A torzszüléseltő (teratogén) és rákkeltő hatások vizsgá-  
latára Cole és mtsai (1981) *transzplacentális mikronukleusz-*  
*tesztje* a legalkalmasabb, amely az egérembrió májának, véré-  
nek mikronukleuszait elemzi, az anyaegér csontvelő-mikro-  
nukleációjával összehasonlítva.



30. ábra. Példa a mikronukleáció érzékenységére. A csípőfantomban pete-  
fészek-pozícióban besugárzott egerek csontvelőjében a hiszteroszalpingográfiában  
alkalmazott sugárdózis kétszerese (26 mGy) már szignifikánsan megnöveli a  
mikronukleusz-gyakoriságot (Imreh, Rădulescu 1978 nyomán).

A *limfocitatenyészetekben* 72 órával a tenyésztés megkezdése (a fitohemagglutinin adagolása) után már a második osztódássorozat zajlik, ezért e preparátumok is alkalmasak a mikronukleusz-számlálásra (Countryman, Heddle 1976, Imreh, Rădulescu 1980, 1983).

A *szomatikus sejttenyészetekben* is meglepően megbízható eredményeket ad a mikronukleusz-teszt, annak ellenére, hogy ezek a stabilizált tenyészetek kiegyensúlyozatlan kromoszómakészlete erősen megemeli a spontán mikronukleáció gyakoriságát az *in vivo* szinthez képest. Countryman és Heddle javaslatára (1976) csak a szabályos kerületű, a fő sejtmag átmérőjének 1/3-át meg nem haladó átmérőjű, a fő sejtmaggal azonosan vagy világosabban festődő mikronukleuszokat szabad számlálni. Nem számláljuk a fő sejtmag átmérőjénél távolabbi mikronukleuszokat (Imreh, Rădulescu 1978; Countrymanék 3—4-szeres sejtmagátmérőnek megfelelő távolságot „engedélyeznek”). Nem számoljuk a sejtmagot érintő mikronukleuszokat, sem azokat a sejteket, melyekben kettőnél több mikronukleusz található. A tenyészetekben a mikronukleuszok gyakorisága szoros kapcsolatban van a mitotikus aktivitással, hiszen a befejezett mitózisok nyomán keletkeznek. Mivel a klasztogének jó része mitózisgátló is, javasoltuk, hogy a mikronukleusz-frekvenciát számoljuk át egy közös mitotikus indexre (a mi gyakorlatunkban 5%-osra).

Stich és Rosin (1984) vancouveri kutatók javasolják a szájnyalkahártya sejteiben (szájfalkaparék), a légcső levált sejteiben (köpet), a húgycső és húgyhólyagsejtekben (vizeletüledék), méhnyaksejtekben (kenet), tehát különböző leváló, lehámló sejttípusokban a mikronukleuszszámlálást. Mivel a felsorolt hámsejtek közvetlen kapcsolatba kerülnek a különböző környezeti mutagénekkel-karcinogénekkal, e módszeresekor valószínűleg nagyon el fog terjedni a közeljövőben. A szerzők máris bizonyító erejű eredményeket sorakoztatnak fel, például a dohány- és bételrágók szájnyalkahártyájában feltűnően sok mikronukleuszt találtak.

Meg kell említenem még befejezésül, hogy a sejtmaghártya kitüremkedéseként, felhólyagosodásaként (nuclear bleb, Harris 1964) látható, általunk *csatolt mikronukleusznak* (attached micronucleus, Imreh 1979) nevezett sejtmagképződményeket is a klasztogén hatás váltja ki, a sugárdózis növekedésével gyorsodik számuk (Imreh 1979, 1984).

## 10. AZ EMBER VELESZÜLETETT KROMOSZÓMAABERRÁCIÓI

A „tört-forrt kromoszómák“ előző fejezetben megismert bármely típusa előfordulhat a csírasejtekben, vagy az embrió valamelyik korai osztódásakor is bekövetkezhet. Ha az aberráció ellenére a magzat életképes, aberrációhordozó csecsemő születik. A spontán vetélések mintegy felében strukturális kromoszómaaberrációt lehet találni, a kromoszóma-számmutációk mellett. Az összes újszülöttek 0,25%-a valamilyen strukturális kromoszómaaberráció hordozója. A kromoszómaaberrációs kariotípus jelölését a Chicagói Konferencia (1966), a Párizsi Konferencia (1971) és az ISCN (1978) szabályozta.

### 10.1. INVERZIÓ

A fenotípust nem vagy csak kissé befolyásoló aberráció. A sávmódszerek előtt csak azokat fedezték fel, amelyek elmozdították a centromert (nagy pericentrikus inverziók), de *paracentrikus inverzió*t azóta is keveset azonosítottak. Eva Therman (1980) például csak háromról tud. *Pericentrikus inverzió*t leggyakrabban a 2-es kromoszómán találtak, de a 6, 11, 12, 16, 17, 20—22. kromoszóma kivételével az összes többin leírták már ezt az aberrációt, még a kis Y-on is. Az ember evolúciójában lényeges szerepet játszhattak, mint azt a felsőrendű majmok és az ember kariotípusának összehasonlításakor talált nagyszámú inverzió bizonyítja (Seuánez 1979).

Meiózisban az inverzió, ha rövid szakaszt ölel fel, nem párosodik, ha hosszút, akkor hurkot alkotva párosodik. A hurok crossing-overre delécióhoz, duplikációhoz vezethet. Dicentrikus és acentrikus kromoszóma jöhet létre ugyanitt, hiszen a meiotikus hurokban a crossing-over tulajdonképpen „Revell-hurok“. Gyanítható egyébként, hogy Revell hipotézissarjasztó ötlete is onnan származott, hogy ismerte Muller inverziós *Drosophila*-mutánsainál ezt a meiotikus hurkot.

Több szerző furcsállja (Moorhead 1976, Therman 1980), hogy az inverziók viszonylag milyen ártalmatlanok fenotípusos megnyilvánulásukban, és hogy még sterilitást is ritkán

okoznak. Megjegyzendő azonban, hogy a pericentrikus inverzióhordozók egy része malformált és/vagy értelmi visszamaradott, ugyanakkor a fenotípusosan normálisak között is több ismételt spontán vetélés miatt került citogenetikushoz.

## 10.2. DELECIÓ

A kromoszóma legkisebb részének elvesztése is: deléció, a hiányzó genetikai anyag *részleges monoszómiát* okoz. Csak a leggyakoribbakat ismertetjük röviden.

### 10.2.1. Wolf-kór (4p monoszómia)

Félszáz esetet ismernek e Wolf és mtsai (1965) által még a sáv előtti időkből leírt szindrómából. Olyan B-deléciónak nevezték, mely nem (!) jár macskanyávogásos sírással. Kis fejű, kidülledő homlokú csecsemők. A széles nyergű, lapos, a homlok síkjában lefelé tartó orr miatt görög harci sisakhoz hasonlították az arcot (Grouchy, Turleau 1977). A szemrések vízszintesek, távolállók, belső szemzugi redővel. Nyúlajak és különösen a szájpadhasadék gyakori. A vázrendszer és a nemi fejlődés rendellenességei is gyakoriak.

### 10.2.2. Macskanyávogásos betegség (5p monoszómia)

Talán leghíresebb — a középiskolás tankönyvekbe is bekerült — deléciós szindróma. Lejeune és mtsai (1963) írták le „cri du chat”, tehát macskanyávogásos betegség néven, mert a gége fejletlensége miatt az újszülöttek sírása a macska hangjára emlékeztet. A kariotípusban jól látható az 5-ös kromoszóma rövid karjának nagy deléciója. A mi esetünknel majdnem az egész rövid kar hiányzott. A szindróma jellegzetességeiért, úgy tűnik, csak egy kis szakasz (az 5p14—15 sáv) hiánya a felelős. 1977-re 120 feletti volt a leírt esetek száma, és mivel sávotlan preparátumon is jól felismerhető, sok lehet a közöletlen egyedi eset is. Zömük új strukturális mutáció, egyötödük szülői transzlokáció öröklése, úgy tűnik, gyakrabban anyai ágról. A fenotípusban a már említett gége-rendellenesség mellett feltűnő arckoponya-elváltozással (kisfejség, távolálló szemek, szemzugi bőrredő, fejletlen állcsont) kell számolni. Vázrendszerük nem módosul súlyosabban, de fejlődésük üteme lassú és izomzatuk renyhe. Egy francia szerző rongybabának nevezte e



gyenge izomtónusú csecsemőket. Értelmi visszamaradottságuk súlyos, az IQ gyakran 20 alatti. A születéskori gyakoriságot Grouchy és Turleau (1977) 1/50 000-re becsüli, de Maximilian és Ionescu (1979) 1/3000-től 1/10 000-ig terjedő gyakoriságokról beszámoló dolgozatokat sorakoztat fel. Az esetek zömének túlélése jó.

### 10.2.3. Részleges 13q monoszómia

Lele és mtsai (1963) írják le a 13-as gyűrűkromoszóma körképéhez nagyon hasonló, és ezért egységesen *részleges 13q monoszómiaként* tárgyalt kórképet. Több mint 50 esetet ismerünk. A fenotípusra az orrnyereg hiánya miatt feltűnő „görög profil” és a nagyon gyakori négyujjúság (a hüvelykujj hiánya a kézközépcsonttal együtt). Az ujjak összenövését (szindaktiliát) is feljegyezték. A nem specifikus jelek közül a kisfejtűség, aszimmetrikus arc, távolálló szemek, belső szemzugredő, rejtettheréjtűség, a húgycső és végbél rendellenes nyílása szerepel az eseteleírásokban. Nagyon fontos a 13q monoszómia asszociációja a retinoblasztómával (a szem ideghártyájának daganatával), mert egy specifikus kromoszómaaberráció és a malignitás kapcsolatát demonstrálja (14. fejezet).

### 10.2.4. De Grouchy-kór (18p monoszómia)

Több mint 80 eset ismert e veleszületett genetikai betegségből (Grouchy és mtsai 1963, Olinici 1983). A De Grouchy-kórosok alacsony növésű értelmi fogyatékosok, jellegzetes terpesztett, kissé előredőlt testállással. Nem ritka a kisfejtűség, vízszintes szemrés belső szemzugi bőrredővel, lapos orrnyereg, rövid állcsont, amitől „pontyszáj” alakul ki, benne összevissza nőtt könnyen romló fogakkal. A fülek is alacsonyan ülnek. A rövid, nőknél gyakran csuklyásodó nyak és alacsony hajvonal a Turner-kórra emlékeztet (8. fejezet). Nem ritka a vázrendszer és a belső szervek fejlődési rendellenessége sem. Az értelmi visszamaradottság súlyos (IQ 50 körüli), és magatartászavarok bonyolítják. Az életkilátások enyhébb fenotípus mellett jók, 61 éves páciens is ismert. A kariotípusban a 18-as kromoszóma rövid karja majdnem teljesen hiányzik. Majd mindig új mutáció, néha azonban anyai mozaikosságból (46,XX/46,XX,18p-) vagy transzlokációból származik. Uchida és mtsai (1965) leírtak egy esetet, amikor De Grouchy-kóros anya szintén 18p monoszómiás gyermeket szült.

### 10.2.5. Anti-Edwards-kór (18q monoszómia)

Több mint 80 esetet ismernek az Edwards-kór (8-as triszómia) ellentétének tekinthető 8-as hosszúkar-delécióból is (De Grouchy és mtsai 1964, Czeizel, Osztovics, lásd Schuler 1977). Az általában fejletlen újszülött felhúzott lábakkal, kifelé fordított lábfejjel fekszik (békafekvés), izomzata renyhe. Az arckoponya fejlődési rendellenességei lehetővé teszik a klinikai diagnózist is (de Grouchy, Turleau 1977): gömbölyű koponya, mérsékelt kistestűséggel, a normális homlok alatt az arc középső emelete profilból benyomott, az állcsont viszont előreugró, a szemrések vízszintesek, a szemek mélyenülők és gyakran rendellenesek. Gyakori a halszáj és nyúlajak, de ritka a szájpadhasadék. A fülek nem túl alacsony ízesülésűek, nagyok és módosult kagylójuak, de nem hegyesek (ne feledjük, hogy az Edwards-kórra éppen a faunfűl volt a jellemző). A hallójáratok, sőt a belső fül fejlődésében is komoly zavarok lehetnek. A csontrendszer fejlődési rendellenességeit az ismert esetek felében kövölték. Az értelmi fejlődés zavara változó. A betegek negyedének IQ-ja 30 alatti. Ők talán az összes túlélő aberrációhordozó közül a legsúlyosabban érintettek, hiszen süketek, és vegetatív, ágyhoz kötött életre vannak kárhoztatva. A páciensek háromnegyedének helyzete jobb. Az anti-Edwardsosok 80%-a új deléció, a töréspontot a 18q212-re helyezik.

A fentebb ismertetetteken kívül még előfordul részleges 4q, 9p, 10p, 11q, 15q monoszómia, de mindegyikből alig néhány esetet közöltek eddig. A 9p deléció számít talán gyakoribbnak, tucat körüli esettel. A 21 és 22-es kromoszómadelécióit sokan leírták, de nehéz eldönteni, nem voltak-e transzlokációk.

Erdekes módon az emberi kromoszómaaberrációk között ritka az *interszticiális deléció*. Bár lehet, hogy a valóságban ez is transzlokáció, meg kell említenünk a *Prader-Willi-szindrómát*, a 15-ös kromoszóma hosszú karjának interszticiális delécióját. E kór nem specifikus kövérséggel, a glukóz rossz toleranciájával (néha cukorbetegségig fajulóan) jár. A fenotípusra szűk (oldalról összenyomott) homlok, mandula vágású szemek, rossz fogak, kis himbevessző, rejtettheréjűség, renyhe izomzat jellemző az állandó tünetként megfigyelt értelmi visszamaradottság mellett (az IQ átlaga 55).

Az X-kromoszóma rövid vagy hosszú karjának deléciója (46,XXp-; 46XXq-; 45X/46,XXp-; 45X/46,XXp-; 45,X/46,XXq-) egyaránt Turner-fenotípussal jár (8. fejezet). A Turner-kór 50%-a deléció következménye.

### 10.3. GYŰRŰKROMOSZÓMA

Mindkét végén eltört kromoszóma nagy valószínűséggel gyűrűvé forr. A letört végek elvesznek. A gyűrűkromoszóma osztódási és főleg meiotikus párosodási nehézségeket okoz. Nem csoda tehát, hogy az embernél ritka aberráció, melyet eddig az 1, 6, 9, 18, 21, 22-es autoszómákra és az X és Y-ra írtak le. Mivel genetikai anyagvesztéssel jár, a gyűrűszindrómák gyakran átfedik a deléciókat.

Esetleges transzlokációit leszámítva, az 1-es kromoszóma egyetlen túlélést biztosító aberrációja az *r(1)* szindróma. Nagyon kis születési súllyal, lényegtelen fejlődési rendellenességgel, kellemes személyiséggel társuló értelmi fogyatékossgal jellemzik (Gordon, Cooke 1964).

A néhány leírt *r(6)* hordozónál kisfejlődést, mérsékelt testi és szellemi visszamaradottságot és más nem specifikus genetikai jegyeket említenek.

Az *r(9)* szindróma és a *9p-* fenotípusos jegyci egybeesnek. A szűk homlok, a belső szervek jellegtelen elváltozásai és a súlyos értelmi visszamaradottság mellett egyetlen különleges tulajdonságuk van: a felső ajak feltűnően hosszú.

Az *r(18)* szindrómában a 18q- anti-Edwards-kórra utaló jegyei uralkodnak.

A G-csoportban Lejeune és mtsai (1969) találtak először gyűrűkromoszómát. A háromoldalas közleménynek 10 (!) szerzője van. Mivel a fenotípus a Down-kór ellentétének tűnt, a 21-es gyűrűjére gyanakodtak. A sávmódszerek már biztonságosan különböztetik meg az *r(21)* és *r(22)*-t.

A gonoszómák közül az *r(Y)* következményei igen enyhék, a Turner-kór azonban 50%-ban gyűrűkromoszómát rejt.

Mindenki joggal csodálkozhat azon, hogyan képes fennmaradni a zigóta gyűrűkromoszómája osztódások ezrein át. A klasztogénekkal kiváltott gyűrűk sejtenyészetekben ugyanis az első, de legfennebb néhány osztódás után eltűnnek. A testvérkromatida-csere (11. fejezet) léte még bonyolítja a képet,

hiszen véglegesen meg kellene gátolnia a gyűrűkromatidák szétválását, dupla gyűrűt vagy dicentrikust képezve. Úgy látszik, egyes kromoszómákon — ezek alkothatnak stabil gyűrűt — a testvér kromatidák közötti csere gyakorisága igen alacsony. Megjegyzem, a gyűrűkromoszóma-szindrómákban többször találtak dupla gyűrűs és gyűrű nélküli sejtvonalat. A legkülönlegesebb, hogy itt a monoszóm vonal is túlélt. Therman (1980) szerint a kettős gyűrű valamilyen módon kompenzálni képes a monoszóm sejtek génhiányát.

#### 10.4. TRANZLOKÁCIÓ

A veleszületett transzlokációk négy csoportba sorolhatók (Ács, lásd Schuler 1977):

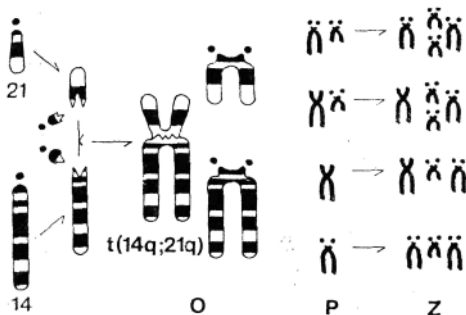
1. *belső transzlokáció*nál a kromoszómadarab az eredeti kromoszómán kerül más helyre (transzpozíció);

2. *testvértranszlokáció* esetén a kromoszómaszakasz homológ kromoszómára kerül át, azon nyilván *duplikációt okozva*;

3. *külső transzlokáció*kor a kromoszómaszakasz egyik kromoszómáról másik, nem homológ kromoszómára kerül át;

4. *kölcsönös transzlokáció*nál (reciprok t.) két nem homológ kromoszóma között egy-egy szakasz kölcsönösen kicserélődik. Különleges esete a Robertson-féle transzlokáció vagy centrikus fúzió (9. fejezet).

Amennyiben genetikai anyag nemvész el a genomból a transzlokáció során, az *kiegyensúlyozottnak* tekinthető, azokkal az aberrációkkal ellentétben, melyek genetikaianyag-vesztést (vagy -többletet) okoznak, és amelyek ezért kiegyensúlyozatlanok. A transzlokációk kiegyensúlyozott változata általában nem jár súlyos fenotípusos következménnyel, ellenben a csírasejtekbe a két partnerkromoszóma közül csak az egyik kerülhet. A zigóta kiegyensúlyozatlan lesz, vagy részleges monoszómiás, vagy részleges triszómiás. Persze fennáll az a lehetőség is, hogy mindkét transzlokációs partner ép homológja kerüljön a csírasejtbe; ekkor a transzlokációhordozó utódja normális kariotípusú lesz. E mechanizmus jelentősége a transzlokációs Down-kór felismerésében van (31. ábra), hiszen ilyenkor az esetek 38%-ában örökölt a transzlokációs kromoszóma. A Down-os újszülöttek között csak 0,15% a transzloká-



31. ábra. A 14-es és 21-es kromoszóma Robertson-féle transzlokációjával (centrikus fúzió) létrejött kromoszóma, a  $t(14q;21q)$  az oocitában (O). A meiózis után a petesejtben (P) a kromoszómák eloszlásának négy lehetősége van, majd a megtermékenyítés után a zigótában (Z) teljesen normális, 21-es triszómiás (Down-kóros), transzlokációhordozó normális és 21-es monoszómiás helyzet jöhet létre (felülről lefelé) (Nyhan 1983 nyomán).

ciós kromoszómaaberrációval születettek aránya (Szemere, lásd Schuler 1977).

Court Brown (1967) szerint a kiegyensúlyozott transzlokációnak nincs semmilyen fenotípusos következménye, újabban ezt sokan megkérdőjelezik, szerintük legalábbis termékenység-csökkenéssel kell számolni (Czeizel, Osztovcics, lásd Schuler 1977).

A kölcsönös transzlokáció öröklődésekor a részleges monoszómiák lehetőségét már felsoroltuk. Részleges triszómiát is majdnem mindegyik emberi kromoszómára leírtak, talán a 2-es, 16-os, 17-es, 18-as, 21-es és 22-es kivételével.

A *4p triszómia* (Wilson és mtsai 1970) több mint 20 esete ismert. Az orrcsontok fogyatékosága a legjellegzetesebb tünete, amitől már a csecsemőnek is „bokszolóorra” van. A nem specifikus jegyek mellett gyakori a dupla hüvelykujj vagy ál-

talában a polidaktilia. Ertelmi visszamaradottság és a fiúknál a nemi fejlődés hiányosságai gyakoriak.

A *részleges 4q triszómia* (Surana és mtsai 1972) tucat körüli esetét ismerik. De Grouchy és Turleau (1977) a faunfüleket és az igen kicsi pisze orrot emelik ki a nem specifikus jegyek mellett, melyek között természetesen szerepel az értelmi és testi fejlődés súlyos fogyatéka is.

Az *5p triszómia* (Lejeune és mtsai 1965) tucat körüli esete nem specifikus jegyekben bővelkedő körképet körvonalaz. Feltehetőbbek a nem távol, hanem igen közel álló szemek. Azért kerülnek citogenetikai vizsgálatra, mert a szűkebb családban macskanyávogásos betegséget (*5p-*) lelnek.

A *7q triszómia* 10 körüli esete ismert. A 7-es kromoszóma „hajlamos” különben a 14-es kromoszómával transzlokálódni, mind szomatikus sejt kultúrákban, mind pedig a törékeny kromoszómaszindrómákban (13. fejezet).

A *részleges triszómiák* leggyakorabbika a *9p triszómia*. Edwards és mtsai közlik az első esetet, Rethoré körvonalazza a szindrómát több mint 60 eset alapján. A kis páciensek nagy, mélyen ülő „riadt” szemei lepnek meg, a nem specifikus jegyek és súlyos értelmi fogyatéka várható tünetei mellett. Életkilátásaikról annyit lehet tudni, hogy 10-en érték meg a felnőttkort, közülük 9-nek utóda is volt (de Grouchy és Turleau 1977, Czeizel, Osztovcics, lásd Schuler 1977).

A *11q triszómia* (Tusques és mtsai 1972) 13 esetét ismerték 1976-ig. Szülői transzlokációból származó, súlyos kimenetelű — e kromoszóma betegség áldozatai általában az egy évet sem érik meg.

A *részleges 15q triszómia* a hosszú kar proximális szakaszát és a rövid kart is felölelő transzlokációból származik (Webb és mtsai 1971). Az 1976-ig megismert 14 eset alapján jó életkilátású, súlyosan értelmi fogyatékos ( $IQ=20$ ), de normális testi fejlődésű betegek (de Grouchy, Turleau 1977).

A *21q triszómia* fenotípusa épp olyan Down-kór (8. fejezet), mint amelyet a szabad 21-es triszómia okoz. Giraud és Matthey (1975) 4760 Down-szindrómás citogenetikai vizsgálatakor 4,8% Robertson-transzlokációt találtak. Megoszlásuk:  $t(Dq, 21q) = 54,2\%$ ,  $t(Gq, 21q) = 40,9\%$ , egyéb — 4,9%. A leggyakoribb transzlokációs partner a 14-es kromoszóma, ezt követi gyakoriságban a 13-as, majd a 15-ös. A transzlokációs Down-kóros azonosításakor a genetikai tanácsadás feltétele a

szülői kariotípus ismerete, mert az új kromoszómamutáció jóval ritkább, mint a valamelyik szülőtől örökölt transzlokációs kromoszóma. Ilyenkor a szülő (gyakrabban az anya) kiegyensúlyozott Robertson-transzlokáció hordozója, 45 kromoszómája van. Az első ilyen D/G transzlokációs esetet különben a Lejeune-féle francia iskola (Turpin és mtsai 1959) tagjai írták le.

Hook és Hamerton (Therman 1980) összegyűjtötte az összes elérhető irodalmi adatot az újszülöttek kromoszómavizsgálatáról (7. táblázat). E felmérés alapján a Robertson-féle centrikus fúzió gyakorisága 1/1000 élveszületés.

A gonoszomális transzlokációk fontossága sem elhanyagolható. Az X-kromoszóma transzlokációit mind autoszómákra, mind gonoszómákra gyakran közlik. Úgy tudjuk, hogy az X-kromoszóma a genom 5%-át tartalmazza. Ezért legkisebb szakaszúnak (mai módszerekkel sokszor észrevehetetlen) transzlokációja is súlyos következményekkel járhat. A Turner-fenotípus 20%-a izokromoszóma, és a sávmódszerek azt mutatják, hogy az előzetesen i(Xq)-nak tartott X-izokromoszómák tulajdonképpen két X-kromoszóma közötti transzlokáció eredményei. A Turner-kór 5%-a deléciós X-et tartalmaz, ezek jó része szülői transzlokációból származik. A látszólag 46, XX kariotípusú férfiaknál az X és Y közötti kölcsönös transzlokációt lehet gyanítani legalább az esetek egy részében. A férfi- és női pszeudohermafroditizmusban csakúgy, mint a tesztikuláris feminizációban is rejtőzhet a háttérben gonoszomális transzlokáció. Az autoszómára transzlokálódott X-kromoszómadarab nem heterokromatinizálódik, így a kiegyensúlyozott transzlokáció is kihat a fenotípusra. Az X-kromoszómára transzlokálódott autoszómafragmentum viszont inaktívvá válik (László, lásd Schuler 1977).

## 10.5. FONTOSAK-E AZ EMBERI KROMOSZÓMAABERRÁCIÓK?

— kérdezheti az olvasó, az egyes szindrómák viszonylagos ritkaságát látva. A struktúramutációk száma elméletileg végtelen. Szerencsére a gyakorlatban ez nincs épp így. Még az egészen szerény kis kromoszómaaberrációk is olyan súlyos következményekkel járnak, hogy erősen megkérdőjelezzük a hordozó életképességét, társadalmi beilleszkedését, termékenységét. Ezért nem nagyon kell félnünk a populációban való fel-

dúsulásuktól. Új kromoszómaaberrációt viszont ki tud váltani minden mutagén-karcinogén tényező (9. és 14. fejezet). Sajnos modern korunk csak szaporítja ezek számát, és velük a kromoszómaaberráció-szindrómák gyakorisága is növekedni fog. Jelenleg az összes élveszületettek között 1%-alatti a kromoszóma-mutációk gyakorisága, és ezek negyede-harmada strukturális kromoszóma-mutáció (7. táblázat). Ha Romániában csak 330 000 élveszüléssel számolunk (15%, *Anuarul Statistic RSR* 1982), még alulbecsülve is 3000 körüli kromoszóma-mutációs csecsemő születik évente, és ebből 1000 kromoszómaaberráció-hordozó. Nem szakmai elfogultság egyetlen citogenetikus részéről sem, ha a kromoszómavizsgálatok kiterjesztését szorgalmazza.

#### 7. táblázat

A kromoszóma-mutációk gyakorisága 56 952 újszülött citogenetikai vizsgálata alapján  
(Hook és Hamerton 1977 után)

KROMOSZÓMAMUTÁCIÓ	% GYAKORISÁG
gonoszóma-aneuploidiák (fiúk)	0,261
gonoszóma-aneuploidiák (lányok)	0,151
autoszóma-aneuploidiák	0,144
összes aneuploidiák:	0,556
kiegyensúlyozott Robertson-transzlokációk	0,090
kiegyensúlyozott transzlokációk	0,090
kiegyensúlyozatlan Robertson-transzlokációk	0,007
kiegyensúlyozatlan transzlokációk	0,012
egyéb kromoszómaaberrációk	0,055
összes aberrációk:	0,254

## II. HARLEKIN KROMOSZÓMA (A TESTVÉRKROMATIDA-CSERÉRŐL)

### III. A TESTVÉRKROMATIDA-CSERE NEM SZOMATIKUS CROSSING-OVER

A crossing-overként ismert folyamat a genetikai rekombináció egyik leghatásosabb mechanizmusa (2. fejezet). A meiózis profázisában az apai és anyai eredetű párosodott homológ kro-





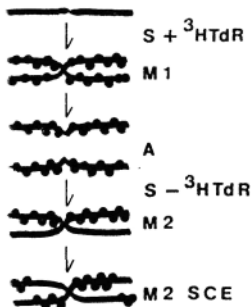
32. ábra. Differenciálisan festett kromoszóma és a testvérkromatida-cserét demonstráló *harlekin* kromoszóma.

moszómák kromatidáinak egy-egy szakasza a kiazmapontokon kölcsönösen kicserélődik. A Morgan-féle, *Drosophila*-iskola kutatásai azt bizonyítják, hogy a meiotikus crossing-over mindig két homológ kromoszóma kromatidái között történik. A harmincas évekre doktrínajellegűvé vált — elsősorban Court Stern munkásságának köszönhetően —, hogy a testi sejtekben nincsen (szomatikus) crossing-over. Barbara McClintock talált ugyan kivételt e tétel alól is, ennek ellenére mai adataink is amellett szólnak, hogy nincsen kölcsönös cserefolyamat a szomatikus sejtek kromoszómái között. Annál gyakoribb a csere a testi sejtek kromoszómáinak kromatidái között, ahol *testvérkromatida-cserének* (*sister chromatid exchange, SCE*) nevezjük. A testvér kromatidák közti cserék (mai ismereteink szerint) nem tekinthetők a genetikai rekombináció lényeges elemének, hiszen azonos információtartalmú kromatidaszakaszok intrakromoszomális kicserélődései. Hogyan lehet e cseréket megtalálni, hiszen a kromoszóma két kromatidája mind klaszszikus, mind sávmódszerrel azonos módon festődik?

## 11.2. MEGJELÖLI A KROMATIDÁT

Először Herbert J. Taylor és mtsai (1957) tudták megkülönböztetni a két kromatidát. Tríciummal jelzett sugárzó timidint építettek be *Vicia faba*-kromoszómába (2. és 6. fejezet). Mint tudjuk, a sejtciklus S-fázisában a DNS-replikáció úgy történik, hogy a molekula kettős spirálja száaira bomlik, és mindkét szál mintául (templát) szolgál az újabb DNS-szál szintéziséhez, amellyel együtt aztán új molekulát alkot. A DNS-replikációt éppen ezért nevezzük *szemikonzervatívnak*, hiszen fele részben megőrzi a régi molekulát. Nos, ha a két testvér kromatida DNS-ének egyik száa izotópot tartalmaz, ez ugyan látszik az autoradiográfián, de nem különbözteti meg a kromatidákat egymástól. Taylorék zseniális ötlete az volt, hogy egy sejtciklusban adagolták a jelzett timidint, de aztán kicserélték a táptalajt, és az izotópmentes második interfázist követő osztódásban végezték az autoradiográfiát. A második sejtciklusban a leánykromoszómává vált kromatida DNS-e újból száaira bomlik: egy jelzett és egy jelzetlenre. Ezek replikációja már olyan mitotikus kromoszómát eredményez, melynek egyik kromatidája egy jelzett és egy jelzetlen szálú, a másik kromatidája két jelzetlen szálú DNS-molekulát tartalmaz. E kromoszómát nukleáris emulzióval fedve, csak az egyik kromatida fölöött fognak megjelenni a mikroautoradiográfián az ezüstszemcsék, a „grain”-ek (33. ábra). A Herbert Taylor-féle 1957-es kísérlet, melyet itt leírtunk, az első kézzelfogható bizonyítéka volt a DNS szemikonzervatív replikációjának, amit Watson és Crick már 1953-as korszaknyitó cikkében lehetségesnek tartott. Továbbá egy régi vita végét is jelentette. Véglegesen bizonyította ugyanis, hogy a kromatida egyetlen folyamatos DNS-molekulából áll, a kromoszómaszerkezet *uninémás*, és a *polinémás* elképzelések hibásak.

Taylorék arra is felfigyeltek, hogy az izotópos jelzés, a „grain”-ek sora gyakran átmegy egyik kromatidáról a másikra, kicserélődnek egyes kromatidaszakaszok. A testvérkromatidacserék mikroautoradiográfiás vizsgálata során az is kiderült, hogy az UV-, X-sugárzás és néhány vegyszer megnöveli gyakoriságukat (Perry 1980). Bár csábító volt a lehetőség, mégsem válthatott e módszer mutagénszűrési tesztté, egyrészt mert kevesek számára elérhető, időrabló eljárás, másrészt azért, mert az ezüstszemcsék átmérője sajnos közel áll a kromatida-



33. ábra. Taylor eredeti kísérletének vázlata, amellyel a szemikonzervatív replikációt bizonyította. Az S-fázisban beépülő, tríciummal jelzett timidin ( $^3\text{HTdR}$ ) az első metafázisban (M1) mindkét kromatidán kimutatható a mikroautoradiográfiával. Az anafázisban (A) elváló leánykromoszómák, ha egy újabb S-fázison izotópmentesen mennek át, a második metafázisban (M2) csak az egyik kromatidán lesznek jelzettek, és ha időközben testvérkromatida-csere (SCE) történt, a jelölés azt is elárulja (Taylor, Woods, Hughes 1957 nyomán).

átmérőhöz, emiatt a mikroautoradiográfiás testvérkromatida-analízis hibalehetőségei nagyok, feloldóképessége kicsiny.

Az e patthelyzetből kimozdító első lépést Moszkvában tették 1972-ben. Zakharov és Egorina megfigyelték, hogy ha a hőröcsögsejteket két sejtcikluson át a timidinanalóg bróm-deoxi-uridinnal (BUdR, a DNS-be a timidin helyére beépülő molekula) kezelik, a két kromatida spiralizációja nem lesz mindig azonos, sőt egyikük néha halványabbra festődik. Később kiderült, hogy a jód-deoxi-uridin hasonló eredményt ad. A kromatida, melynek DNS-e mindkét szálában tartalmazza az analógot, halványabb festődésű. A Taylor-kísérlethez képest csak annyi volt a különbség, hogy ők az első sejtciklus után nem távolították el az analógot.

A második fontos lépés szintén a hetvenes évek elején az volt, hogy a citogenetika arzenáljába bevonult a Hoechst cég

33258-as flouorokrómjá (H33258 vagy bisbenzimid), mégpedig diadalmenetben (7. fejezet). Ez, mint tudjuk, elsősorban az AT-gazdag kromoszómaszakaszokat festette.

Összekapcsolható-e két lépés? Samuel Latt tette meg ezt a Harvard Egyetemen (1973). Két sejteikluson át kezelte BUdR-rel a sejteket, majd megfestette őket H33258-cal, és fluoreszcens mikroszkópba helyezte. A BUdR-t kétszálasan tartalmazó kromatida fluoreszcenciája jóval gyengébb volt, mint a BUdR-t csak egyszálasan tartalmazóé. Az erősebb izzás néha jól követhetően átment egyik kromatidáról a másikra. A fluoreszcenciás testvérkromatida-csere Latt-féle módszere már igen nagy feloldóképességű volt, de szépséghibájaként felrótták, hogy alkalmas UV-mikroszkópot és gyors mikroszkopizálót (vagy megfelelő mikrofényképezési lehetőségeket) követelt, hisz a H33258 fénye hamar elhalványult, épp mint a Q-sávoké.

Paul Perry és Sheldon Wolff végül skóciai és kaliforniai együttműködéssel „demokratizálta” a módszert 1974-ben. Rájöttek, hogy ha a BUdR-rel kezelt és H33258-cal festett kromoszóákat erősen megvilágítják, utána már a klasszikus Giemsa-festés is differenciáltan festi a két kromatidát. Ez az FPG (fluorescence plus Giemsa)-módszer már bármely citogenetikai laboratórium számára elérhető, így forradalmasította a mutagén-karcinogén anyagok szűrését. A kétféle módon festődő két kromatida és a festődés átmenete egyikről a másikra a kockásan öltözött paprikajanesit, a valamikori boházatok állandó szereplőjét, a harlekint asszociálta. Nem tudtam kideríteni, kinek az ötlete volt elsőként, de az biztos, mindannyian rögtön tudtuk, miről van szó, akik egyszer is láttunk egyik „lábán” világos kékesre, másikon piros-lilára festett kromoszómát, és velük kapcsolatban a „*harlekin festés*”; „*harlekin kromoszóma*”, sőt a módszerre a „*harlekinizáció*” kifejezést olvastuk. A hosszú, nehézkes testvérkromatida-csere, az angol eredetű betűszó, az SCE (sister chromatid exchange) helyett vidáman-találó terminus ez, nagyon remélem, így terjed el.

Figyeljük meg — nagyon jellemző a mai genetikára —, Zakharovék első bátortalan megfigyelése és a „végleges”, tömegmérétekben alkalmazható FPG-harlekinizáció között mindössze két év telt el! Arra pedig, hogy egy évtized alatt mennyire divatosá vált ez a módszer, hadd említsek egy személyes adatot: csak a szerzők által nekem küldött különnyomatokból 1974–84 között 184 példányos cikkgyűjteményem állt

össze, és ez a szám természetesen legfeljebb 30–40%-a még a „jó helyen“ (legrangosabb szakfolyóiratokban) megjelent dolgozatoknak is, a kis egyetemi, intézeti lapokban megjelenetek száma nagyságrenddel is több lehet.

### 11.3. A HARLEKINIZÁCIÓ NEM KROMOSZÓMAABERRÁCIÓ

Az ismert klasztogének jó része erősen harlekinizál. Mégsem véletlen, hogy új fejezetben tárgyaljuk a testvérkromatidacserét, nem a „tört-forrt“ kromoszómák között. Nagy a különbség mind spontán gyakoriságuk, mind mutagénekkel való kiválthatóságuk és főleg létrejöttük mechanizmusában.

#### 11.3.1. A spontán harlekinizáció,

ellentétben a szerkezeti kromoszóma mutációkkal minden külső beavatkozás nélkül is gyakori. Barbara McClintock régi (1938) és Brewen meg Peacock (1969) újabb adatai szerint a gyűrűkromoszómák viselkedését nyomozva sejtenként legalább 5 spontán SCE-t lehet találni az emberi limfocitákban. Azért szükséges ezt előrebocsátani, mert az autoradiográfiás kimutatáskor sugárzó — tehát klasztogén — timidint, az FPG-nél az ismert mutagén BUdR-t alkalmazzuk, tehát lehetnének ők is felelősek a „spontán“ harlekinizációért. Azok is — minden bizonnyal — egy részéért, hiszen ha mindkettő mennyiségét növeljük, nő a talált SCE-szám is. Ha ellenben csökkentjük dózisukat, a harlekinizáció gyakorisága csak bizonyos határig csökken, aztán már nem. Limfocitatenyésztésben pl. 34,45 a sejtenkénti SCE-átlag 150–200  $\mu\text{g/ml}$  BUdR-rel; 10,03 20–50  $\mu\text{g/ml}$ -rel; de 0,6–6,1  $\mu\text{g/ml}$ -rel is 10,65-ös átlagot kaptunk 14 szerző adatait összesítve (Imreh, Rádulescu 1979). Úgy tűnik, hogy a timinanalóg mennyiségének növelésével is tetőzik egy idő után az SCE-frekvencia (Kato 1977). A spontán gyakoriság ugyanakkor elég jól egyezik az emlősfajok relatív DNS-tartalmával és a metafázis-kromoszómák hosszával (Kato 1977).

Azokban az örökletes betegségekben, melyekre a spontán kromoszómatörékenységek és mutagén túlérzékenység a jellemző (13. fejezet), várható lehetne egy magasabb alapharlekinizáció is. E betegségcsoportból viszont csak a Bloom-szindrómában találtak több SCE-t. Ez azt is mutatja, hogy a kromoszómatörékenységek és harlekinizáció külön utakon jön létre.

Inkább elvi jelentőségű — az eredmény ugyanis előre látható volt — az indianapolisi Merlin G. Butler (1981) vizsgálata, melyben négy emberi rassz spontán harlekinizációs gyakoriságát hasonlítja össze. Semmi lényeges különbséget sem talált, a *Homo sapiens* e felmérés szerint is egységes faj. Evolúciós rokonaink, az emberszabású majmok közül a gorilla spontán SCE-gyakorisága és BUDR-érzékenysége a legnagyobb, de ő is elmarad az ember mögött (Barnet, Wallace 1982).

### 11.3.2. Az ionizáló sugárzás

hatásos kromoszómatörő, de gyenge harlekinizáló. A sugárdózis növelésével minden kromoszómaaberráció-típus gyakorisága folyamatosan nő, az SCE-gyakoriság viszont telítődési görbét mutat, egyes adatok szerint nem is túl nagy sugárdózis után. Bár a beépült izotópok, mint a  $^3\text{H}$  (Gibson, Prescott 1972) vagy a  $^{32}\text{P}$  (Imreh, Rădulescu 1977) béta-sugárzása vitathatatlanul megnöveli az SCE-gyakoriságot, „szabályos” dózishatás-görbét itt sem lehetett kapni.

Az X- és gamma-sugárzás adta a legellentmondóbb eredményeket. Még jóval az FPG-módszer előtt Marin és Prescott (1964) mikroradiográfiásan vizsgálta az 50 R X-sugárral kezelt kinaihőrcsőg-sejteket, és másfélszeres harlekinizációs gyakoriságot talált, viszont a sugárdózist hiába növelte, 200 R sem okozott több testvérekromatida-cserét. Már az FPG-módszerrel Perry és Evans (1975) szabályos dóziszfüggőséget tapasztalt. A görbe nem volt meredek, de nem is tetőzött. Míg 400 R 20-szorosra emelte a kromoszómaaberrációk számát, addig csak 1,3-szorosra az SCE-frekvenciát. A gamma-sugárzás sem túl hatékony, de követhető (Solomon, Bobrow 1975). Leonard (1983) több szerző adatait összesítve az embernél, cerkófnál és sertésnél kis emelkedést, a kecskénél semmit, a gorillánál egyenesen csökkenést észlel 2 Gy X-sugárzás után.

Az in vivo hatás is kérdéses. India nagy háttérsugárzásáról ismert tartományában, Keralában (Pohl-Rühling és Fischer (1983) 8,99 SCE-t talált, míg a kontrollszemélyeknél 8,08-at sejtenként. Gundy Sarolta és mtsai (1984) in vivo és in vitro is bizonyítottak a harlekinizáció emelkedését kis dózisu besugárzás után. Dózishatás-görbájük szintén kevésbé meredek és tetőzik is.

A G<sub>2</sub>-ben, amikor az ionizáló sugárzások a leghatékonyabb kromoszómatorörök (kromatidaaberráció-ozók), gyakorlatilag nem lehet testvérkromatida-cserét kiváltani. Ebben végre minden szerző egyetért.

### 11.3.3. A nem ionizáló sugárzások

közül az ultraibolya (UV) fény feltűnően hatékony harlekinizáló, de a BUdR-tartalmú kromoszómára a láthatóhoz közele, sőt a látható hullámhossztartomány is meglepően hatásos. Egyetlen feltételt kell mindig teljesíteni: S-fázis előtt vagy alatt érje a sugárzás a sejteket. Az UV-klasztogenezisben a leglényegesebb szerepet a timindimer elnevezésű, két szomszédos timint igen stabilan összekapcsoló kötés játssza. Ez sem lehet kulcsszerűs a testvérkromatida-csere kiváltásában, hiszen a xeroderma pigmentosum sejtekben (13. fejezet) nem gyakoribb az SCE, márpedig ezekből éppen a timindimerek gyógyítására „felkészült” enzimek hiányzanak. A koffein szintén a DNS-gyógyulás gátlója, mégsem elég hatékony az SCE-gyakoriság növelésében (Perry 1980, Latt 1981).

### 11.3.4. Vegyi mutagének-karcinogének

harlekinizáló szerepe vitathatatlan. Az alkilálószer (nitrogénmustár, quinacrinmustár, etil-nitrozourea, etil-metán-szulfonát, mitomicin-C, trenimon stb.), a DNS-hez kötődő festékek (H33258, daunorubicin), a bázisanalógok (BUdR, JUdR) és a mutagének egész ármádiája (pl. az alkohol metabolitja az acetaldehid), de az összes karcinogén (metil-kolantrén), sőt az orsóméreg vinblasztin és vinkrisztin is növeli az SCE-gyakoriságot. A harlekinizáció „sikere” a genetikusok között nem ezzel magyarázható, hiszen már előtte is ismertünk tucatnyi mutagén-szűrési lehetőséget. Az SCE azért „tud többet”, mert olyan kis vegyszer-koncentrációk is kiváltják, melyek sem kromoszómaaberrációt, sem túlélésbeli különbséget nem okoznak a sejtekben. Erre még Samuel Latt figyelt fel 1974-ben. A harlekinizáció tehát a vegyi mutagenesis eddig legérzékenyebb gyors tesztjének ígérkezik. Nemcsak érzékenysége nagy, hanem feloldóképessége is, hiszen pl. Krepinsky és mtsai (1979) egy sejtben 300 testvérkromatida-cserét is számoltak etil-metán-szulfonátos kezelés után Bloom-kóros beteg limfocitáiban.

A vegyi SCE-indukció és mutációkiváltás párhuzamosan halad, amint azt Carrano és mtsai (1978), illetve Raskó és mtsai

(1979) is bizonyították. Az *SCE-~~okozó~~ vegyszerek mutagének, és fordítva, a vegyi mutagének SCE-t okoznak!*

A harlekinizáló vegyszerek által okozott DNS-sérülések változatossága elképesztő. Bár távolról sem ismerjük minde-  
nikük hatásmechanizmusát, jó részükről tudjuk, hogy megha-  
tározott vegyi módosulást okoznak és e módosulások megha-  
tározott módon gyógyulnak.

A 9. fejezetben említett *S-dependens* mutagének stabil kö-  
téseket hoznak létre a DNS-en belül, az UV okozta timindi-  
merhez hasonlóan, és mint a timin-dimert, e kötéseket is exci-  
ziós enzimekkel kell eltávolítani ahhoz, hogy gyógyulhassanak.

Az *S-independentens* vegyszerek a DNS-molekula folytonossá-  
gát is képesek megszakítani, ezért hosszabb, bonyolultabb gyó-  
gyulási folyamatot igényelnek. A dologban csak az a szomorú,  
hogy bár mindkét vegyi mutagéntípus hatásos harlekinizáló,  
kevés adat erősíti az SCE és a gyógyulási folyamatok kapcsola-  
tát. Pedig kezdetben sokan úgy érezték, hogy a harlekinizá-  
ció tulajdonképpen a DNS-repair szintjét eláruló mutagén szű-  
rőmódszer (Evans 1977, Stetka 1979, Painter 1980).

Érzékeny és nagy feloldóképességű módszer tehát az SCE  
kimutatása, hibájául azt lehetett felróni, hogy csak *in vitro*  
működött, hiszen két sejtcikluson át BUdR-t kellett adagolni  
a tenyészetbe. Ezért azok a vegyszerek, melyek csak a szer-  
vezetben alakulnak mutagén~~né~~ (*metabolikusan aktiválódó mu-  
tagének*), nem harlekinizáltak (pl. dietil-nitrozamid, ciklofosz-  
famid). Először úgy hidalták át e hiányosságot, hogy a bakte-  
riális mutagenézisben (Ames-teszt) kidolgozott májkivonatos  
(S-9 Mix a neve) *in vitro* metabolikus aktivációt vezették be az  
SCE-analízisbe. Azután rájöttek arra is, hogy megoldható a  
testvérkromatida-csere kimutatása *in vivo* is. Folyamatosan  
kell bevinni a BUdR-t a szervezetbe, hogy amint az első ada-  
got brómtalanítja az anyagszere, már készenlétben álljon az  
újabb adag. Ezt ismételt befecskendezéssel, intravénás infúzió-  
val, BUdR-tablettákkal, sőt bőr alá ültethető, kis áteresztő to-  
kocskákkal is sikerült megoldani (Vogel, Bauknecht 1976). Az  
*in vivo* és *in vitro* módszerek határán van az állatok test-  
üregébe helyezett diffúziós kamrák alkalmazása, mely kam-  
rákban emlős sejtenyészet található.

Az *in vivo* és *in vitro* adatok különbözőségét saját mun-  
kánkban is megfigyelhettük. Az ismert mutagén-karcinogén  
krómvegyületnek kitett dolgozók fehérvérsejtjeiben kromoszó-



maaberrációkat találtunk, de SCE-frekvencianövekedést nem, nyilván mert a króm a limfociták S-fázisában (a laboratóriumi tenyészetben) nem volt jelen, és az SCE-re a limfocita genetikai anyagnak nincs „memóriája”, mint a kromoszómaaberrációkra. Amikor in vitro adagoltuk a krómot a sejtenyészetekhez, a harlekinizációs görbe meredeken emelkedett (Imreh, Rádulescu 1982).

Láttuk előzőleg, hogy a kromoszómaaberrációt kiváltó kúlcssérülés a DNS kettős láncszakadása (DSB). A DSB-okozó S-independens klasztogének (sugárzás, bleomicin, sztreptonigrin stb.) gyatra harlekinizálók. Az S-dependens klasztogének viszont kiváló harlekinizálók. Így abban a furcsa helyzetben vagyunk, hogy bár nagy általánosságban kijelenthetjük, hogy a vegyi mutagenézisben az SCE-rendszer érzékenyebb, mint a kromoszómaaberrációké, mégis, ha a mutagén teszteléskor az SCE-aktivitás negatív, tovább kell lépnünk, és meg kell vizsgálni a kromoszómaaberrációkat is, mert nem lehetetlen, hogy találunk belőlük jócskán. Ha ellenben pozitív harlekinizációt figyeltünk meg, eddigi tapasztalataink alapján úgy tűnik, biztosra vehetjük, hogy ugyanaz lesz az eredmény a kromoszómaaberrációk terén is.

A harlekinizáció még egy jó tulajdonságát kell szembehelyeznünk a kromoszómaaberrációkkal: ez utóbbiak spontán gyakorisága igen alacsony 0,03—0,05/sejt, míg az SCE-é 6—12/sejt. Ebből következően 20—25 sejt vizsgálatával az SCE-gyakoriság duplázódása biztosan kimutatható, a kromoszómaaberrációk duplázódásának statisztikailag érvényes kimutatásához viszont sejtek százait kell vizsgálnunk.

A harlekinizáció érzékenysége néha lehet hátrány is. Így például a módszer érzékeny még a dohányzásból a szervezetbe jutó mutagénekre is, annyira, hogy ezek állandó „alapzajként” zavarhatják a szűrés eredményét. Különbben a *cigarettafüst-sűrítménnyel* végzett kísérletek ismerete el kellene hogy riasztassa a legmegátalkodottabb nikotinrabot is. Ez (szokásos rövidítése a CSC a *cigarette smoke condensate*-ből) klasztogén a növények gyökerében, mutációt okoz a baktériumokban, élesztő- és tömlőgombákban, ecetmuslicák és emlőssejtek tenyészetében. Erős in vitro harlekinizáló. Gátolja a DNS gyógyulását, növeli az abnormis spermiumok számát egerekben. Rákosan transzformálja (14. fejezet) az in vitro tenyésztett emlőssejteket. Szoros kapcsolatban áll a tüdőrákkal, és erős teratogén

(torzszüléskiváltó) tényező (Marini 1983). In vivo több szerző úgy találta, hogy a dohányosok és nem dohányzók limfocitáiban az SCE-gyakoriság azonos. Bo Lambert (1978) viszont nemcsak szignifikáns különbséget talált a két csoportban, hanem a napi 10-nél kevesebb és több cigarettát szívók is elkülönültek vizsgálataiban. Bár teljes egyetértésről szó sincs, eredményeit több szerző megerősítette (Marini 1983). Egy dolog biztos: aki jelenleg környezeti mutagén-karcinogén szűrésére vállalkozik, annak nemcsak hogy fel kell tüntetnie a dohányosokat és nem dohányzókat a vizsgált csoportban, hanem azok a kontroll- (mutagén hatásnak ki nem tett) csoportban is azonos arányban kell hogy szerepeljenek.

### **11.3.5. Hol és hogyan jön létre a harlekinizáció?**

Mai tudásunkkal nehéz — ha nem lehetetlen — válaszolni e kérdésre.

Első felére támpontunk, hogy úgy tűnik, a heterokromatin és eukromatin találkozási pontján valamivel nagyobb az SCE-gyakoriság. A kromatidatranszlokációk töréspontján is találtak testvérkromatida-cserét (Perry 1980, Latt 1981). Lin és Wertenleki (1982) Los Angelesben egyenesen a BUDR-szenzibilis töréspontot (1q22—1q23, 13. fejezet) vizsgálták az 1-es kinnai hőrség-kromoszómán. Q-sávzással lokalizálták a töréspontot, majd harlekin festést alkalmaztak. Nemcsak az derült ki, hogy a kromatidatörések e ponton a Revell-modell szerint jönnek létre, hanem az egybeesések hiányából arra is következtetni lehet — mint ez sejthető volt —, hogy a kromoszómaaberrációk és a harlekinizáció különböző folyamatok eredményei.

Foglaljuk össze, miért nem közeli rokona az SCE a kromoszómaaberrációnak:

1. mert spontán gyakorisága igen nagy;
2. mert az ionizáló sugárzás és általában az S- independens kromoszómátörök rossz harlekinizálók, míg az S-dependensek kiválóak;
3. mert G<sub>2</sub>-ben nem lehet harlekinizálni;
4. mert nem elég szoros a kapcsolat a DNS-gyógyulás (repair) és a harlekinizáció között.

Mindez azt mutatja, hogy a kromoszómaaberrációk kulsérülése, a kettős láncszakadás (9.4. fejezet) nem játszik lényeges szerepet az SCE létrejöttében. Az S-dependens klasztogé-

nek hatása azt mutatja, hogy az egyszálas DNS-sérülések szerepe az S-fázisban döntő fontosságú lehet a harlekinizálódásban. A nagy SCE-gyakoriság ugyanakkor azt is sugallja, hogy olyan kis sérülések is okoznak testvérkromatida-cserét, melyek semmi esetre sem fejlődhetnek kromoszómaaberrációvá.

Ha az érvek meg is győznek arról, hogy a harlekinizáció nem közeli rokona a kromoszómaaberrációnak, a megcserélődés mikéntjére még mindig nem adtunk magyarázatot, és a rendelkezésünkre álló modellek sem segítenek rajtunk (Evans 1977, Stetka 1979, Painter 1980). Abban mindegyikük meggyezik, hogy ha a DNS két szálát és a nitrogénbázisokat összekötő hidrogénhidat egy rugalmas létraszerkezetnek képzeljük, akkor elég e létrát egy ponton megcsavarni, és a két szál máris felcserélődött. Amikor e két szál az S-fázisban vilaszzerűen szétnyílik, e ponttól tova megcserélt szálakon szintetizálódik. E csere spontánul is előfordul, és a mutagén-karcinogének jelenléte felszaporítja. Ez ugyan leegyszerűsített modell, de hogy nincs túl messze a valóságtól, az bizonyítja, hogy az új DNS-szál mindig a régi külső felén szintetizálódik, amint azt Latt (1981) már észrevette az endoreduplikált kromoszómákon (2. fejezet). Ezeken ugyanis a két régi timin tartalmú (sötétre festődő) kromatida mindig egymás mellett belül található. A DNS két szála felcserélődésének konkrét molekuláris mechanizmusa viszont egyelőre a kromoszóma titka.

## 12. ÖSSZEOLVADT SEJTEK

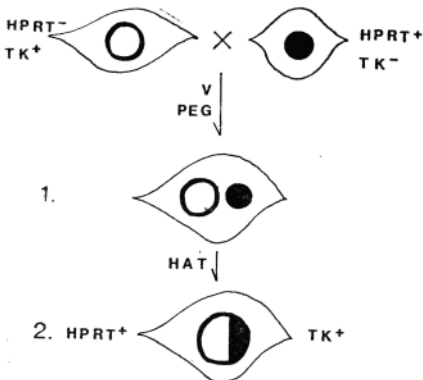
Két sejt összeolvadásában, *fúziójában* biológusszemnek nincs semmi ördöngösség. Ivaros szaporodás sejtfúzió nélkül elképzelhetetlen. Az viszont, a megtermékenyítéstől eltekintve, a sejtelmélet alapelve, hogy a sejtek között a sejthártya szigorú határ, mely — egyebek mellett — gátja a két sejt genetikai anyaga összeolvadásának is. Ezért az izom- és csontrendszer sokmagvú sejtjei a specializálódás rendkívüli kivételeinek számítnak.

12.1. HA EGY SEJTBEN „ELIDŐZ, A TIGRIS ÉS A SZELID ŐZ”.  
(A SEJTHIBRIDIZÁCIÓRÓL)

Ringertz és Savage (1976) szerint valószínűleg a többmagvú sejtek megfigyelése vezette Johannes Müllert még a XIX. század elején a felismeréshez, hogy a szomatikus sejtek is képesek fuzionálni. Hsu (1979) szerint Warren H. Lewis már 1920 körül megfigyelte a tenyésztett sejtek összeolvadását. Ennek ellenére a szomatikus sejtek spontán fúzióját csak 1960-ban fedezi fel újra Barski, Sorieul és Cornefert, két egérsarkóma-sejtvonal között. Ez az első túlélő, szaporodó *szomatikus sejt-hibrid*. Röviddel Georges Barski után Boris Ephrussi két faj sejtjeinek hibridizációját figyelte meg kevert tenyészetben. Ez a jelenség igen ritka, de a két dolgozat keltette közfigyelem ráirányult egy két évvel régebbi jelzésre. Y. Okada (1958) számolt be arról, hogy Ehrlich-féle ráksejteket UV-sugárral előlt Sendai-virussal sikerrel fuzionált. Ez a mesterséges fúziós lehetőség aztán a sejt-hibridizációt a sejtbiológia szinte minden területén „divatba” hozta.

Ma már szomatikus sejteket összeolvasztani egyáltalán nem nehéz, több vírus és vegyszer (pl. polietilén-glikol) képes úgy módosítani a sejthártyát, hogy az a két szomszédos sejt érintkezési felületén felbomlik és a sejtek anyaga összeolvad. Két- vagy többmagvú sejt keletkezik (*di-* vagy *polikarion*). Ha eredetére nézve azonos faj vagy sejtvonal fuzionál, *homokarion*ról, ha különböző faj vagy sejtvonal, *heterokarion*ról beszélünk. A homo- vagy heterokarion túlélési esélyei nem nagyok. Ha viszont képes osztódni, az első osztódással összeolvadnak a sejtmaganyagok is, és létrejön a *szinkarion* (egymagvú, sejt-fúzióból származó sejt). Ha a szinkarion további osztódásokat is megél és kolóniát képes alkotni, akkor már *hibrid sejtek* alkotta szomatikus sejtvonallal kísérletezhetünk.

Hogyan lehet a hibrid sejteket kiválogatni a két sejtpopuláció keverékéből? John Littlefieldtől (1964) származik a mindmáig leghatékonyabb szelekciós módszer. Ő két enzimhiányos mutáns sejtvonalat fuzionált és tartott olyan táptalajban, amelyben éppen enzimhiányuk miatt egyik sejt sem volt képes önállóan szaporodni. Amint a két sejt összeolvadt, a hibrid sejtben a két genom kiegészítette egymást, megkerült mind a két enzim (egyik sejt „hozta” az egyiket, másik a másikat), és a „gyilkos” táptalajon is vígan megélt (34. ábra).



34. ábra. Enzimhiányos ( $HPRT$  = hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz,  $TK$  = timidilátkináz) mutáns sejtvonalak vírus (V) vagy polietilén-glikol (PEG) kiváltotta fúziójával heterokarion (1) képződik. A szelekciós táptalajban (HAT = hipoxantin, aminopterin és timidin tartalmú táptalaj, melyben csak  $HPRT^+$ - és  $TK^+$ -sejtek élnek meg) az első osztódás után a sejtmagok összeolvadnak, szinkarion (2) jön létre.

Harris és Watkins (1965) és tőlük függetlenül Okada és Murayama (1965) Sendai-vírusos fúzióval létrehozták az első fajok közötti mesterséges hibrid sejtet (egér x ember). Mary Weiss és Boris Ephrussi (1966) bebizonyította, hogy az egér x patkány hibridben mindkét genom aktív maradhat, és fajspecifikus enzimeket termel. Ha eddig módszertani érdekességeket leltároztunk, ez már genetikatörténeti jelentőségű felfedezés. És nem az egyetlen. A kutatók hamar rájöttek, hogy a hibrid sejt genomja nem stabil. Kromoszómáról kromoszómára fokozatosan elvész az egyik fúziós partner. 1967-ben Mary Weiss és Howard Green felfedezte, hogy az egér x ember hibrid sejtéből csak az emberi kromoszómák vesznek el osztódás-

ról osztódásra. Húsz sejtgeneráció után a sejthibrid már csak 1—3, szerencsés esetben egy emberi kromoszómát tartalmaz. A kromoszómavesztés nem minden hibrid sejtből azonos mértékű, így sohasem az eredeti hibridet, hanem egyetlen hibrid sejt klónját kell elemezni. Igen nehéz, nagy felkészültséget — sőt nem kis szerencsét is — igénylő munka ez, de ha sikerül egyetlen emberi kromoszómát tartalmazó klónt azonosítani, az abban talált emberi enzim egész biztosan az illető kromoszómán lokalizálható gén terméke. Megnyílt az út a hibrid sejtek alkalmazása felé a humán *géntérképezésben* (Raskó 1977).

Oxfordban (Henry Harris laboratóriumában) és Stockholmban (George Klein laboratóriumában) a hatvanas évek végén malignus és benignus sejteket hibridizálnak. A rákos tulajdonság a hibrid sejtből elvész, de a kromoszómák folyamatos vesztésével adott pillanatban újra megjelenik. Ezzel a sejthibridizáció bevonul a *rákkutatásba* (14. fejezet).

A szilárd sejtfaltól megfosztott tenyésztethető növényi sejtek, az ún. *protoplasztok* fúzióját már a II. világháború előtt megoldják (Michel 1937), de senki sem figyel fel rá az emlős szomatikus sejtek hibridizációjának felfedezéséig. 1972-ben Peter Carlson és mtsai felnévelik a fajok közötti hibridsejtből származó első növényt, melyet fuzionált protoplasztokból nyertek. A sejthibridizációt besorozzák a *növénynevelés* „fegyvernemei” közé is.

A sejthibridizálás egyik legérdekesebb és ugyanakkor leggyakorlatibb eredménye az *immunológiai* hasznosítás. A folyamatosan tenyésztő ráksejtek (mielóma) és az immun „memóriával” megáldott limfociták hibridjei (*hibridóma*) megtartják a limfocita specifikusantitest-termelő képességét. Ha még a fúzió előtt kiváztottunk egy bizonyos immunválaszt, a hibridsejt felszaporításával az ellenanyag (*monoklonális antigén*) kivonható. Köhler és Milstein 1975-ben közölték az első sikeres monoklonális antigéntermelő hibridóma előállítását, és ma már csak az USA-ban sok száz millió dollárért forgalmazzák őket az „immunológiai piacon” (Cezar Milstein, Georges Köhler és Neils Yerne 1984-es Nobel-díjasok). Hasonló módszerrel az interferontermelés, különböző enzimek és más bioaktív anyagok termelése is ipari szintre emelhető. A rák elleni harcban is sokat lehet várni a módszertől, hiszen amennyiben sikerül az egyedi ráksejt monoklonális ellenanyagát előállítani vagy azt rákellenes gyógyszerrel (citosztatikummal) összekapcsolni, vég-

re „célzottá“ válhat a rákterápia. A hibridóma tulajdonságai is változnak a kromoszómavesztés előrehaladtával. A citogenetika tehát ezen az ígéretes területen — ahol az alap kutatás nem is aprópénzre váltása már megtörtént — igen fontos szerepet játszik.

1976-ban egymástól függetlenül három kutatócsoport, Harold Smith brookhaveni, Cocking és Lucy angliai és Dudits Dénes szegedi (Lima de Faria oslói professzorral együttműködő) munkacsoportja növényi és állati eredetű szomatikus sejtek fúziójával létrehozta az első *interregnum sejthibrideket*. Erre már észbe kap a sajtó is, és boldog féltelenséggel találgatja a jövőt, melyben disznó futkározna hátán kukoricával és a paradicsom gyökerén teremne a burgonyagumó. Mint ahogy a különböző ismert állatok kombinálásával alkotott mitológiai szörnyek is csak gyermek számára félelmetesek, éppúgy gyermeketeg dolog azt várni, hogy a növények vagy állatok paraszexuális hibridizációja olyan új fajokat hoz létre, amelyek gazdasági szerepe meghaladja a növény- és állatnemesítés hagyományos lehetőségeit. Nem is ez a kutatás azonnali célja. Előszörban az emberi genetikai anyagot, saját genomunkat (!) szeretnénk jobban megismerni e módszerrel. Ez nem jelenti azt, hogy a fúziós módszereknek nem lehet szerepe a nemesítésben. Ez a szerep viszont természetesen nem a teljes genomok összeolvasztását, hanem kromoszómadarabok átültetését jelentheti, ami a módszert a *génsebészethez* közelíti.

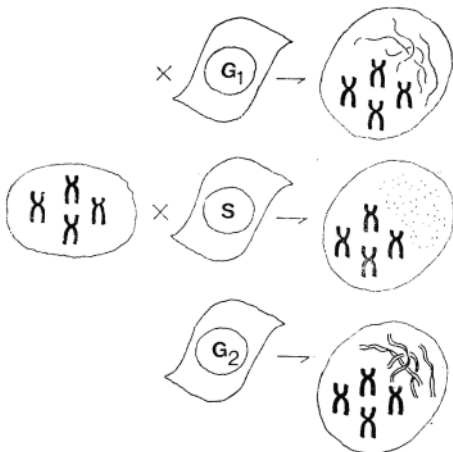
Ezzel visszakanyarodtunk a citogenetika szerepéhez a sejthibridizációban. Mint említettem, a sejthibridek kromoszómakészlete nem stabil. Az ember x egér, ember x kínai-hőrcsög, ember x aranyhőrcsög hibridekből az emberi kromoszómák vesznek el fokozatosan, de az ember x patkány vagy ember x szünnyog (!) hibridsejtből a patkány, illetve a szünnyog-kromoszómák (Zepp és mtsai 1971). E sejtek citogenetikai elemzése egyike a legfontosabb és ugyanakkor legnehezebb feladatoknak. A mikroautoradiográfia nehézkes, a sávfestés pedig szintén nehezen sikerül egyszerre mindkét partneren, hiszen jeleztük (7. fejezet), mennyire egyéníteni kell e módszert. Nos, legalább az olyan sejthibridekben, melyek egyik szülővonal a egér eredetű, a Hoechst 33258 (7, 11. fejezet) azon tulajdonsága, hogy az egérkromoszómák centromerjének kondenzációját gátolja, nagyon jó megkülönböztetési lehetőséget kínál (Kim, Grzeschik 1974, Imreh és mtsai 1976).

Nagyon sokat kell még megtudnunk a sejthibridek segítségével a sejtosztódásról is, hiszen alig elképzelhető mai tudásunkkal, hogyan képes együtt-egyszerre működni pl. a csirke és kengurupatkány mitotikus apparátusa a sejthibridben. Nyilván „nehézségeik“ vannak, és ez lehet egyik fő oka az egyik fél kromoszómái fokozatos elvesztésének is. A sejtosztódás szabályzásának tisztázása nemcsak elméleti tudásunkat öregbítene, hanem közelebb hozná a rák természetének megismerését is (14. fejezet).

## 12.2. LÁTNI A KROMOSZÓMÁT, AMIKOR „NINCS IS” (A PCC-RŐL)

T. C. Hsu (1979) nagyon kedvesen számol be a felfedezés hátteréről, hogyan kerültek össze Theodore Puck professzor (a modern szomatikus sejtgenetika egyik pionírja) laboratóriumában Denverben a Lexingtonból érkező Potu N. Rao és a Harris professzor oxfordi laboratóriumából érkező Robert T. Johnson, és hogyan került szóba kávézás közben, hogy mi történne, ha a sejtciklus különböző fázisaiban levő sejteket fuzionálnának. Ami klubhangulatú agytornának indult, az utóbbi évtized egyik legérdekesebb megfigyeléséhez vezetett, a *korai kromoszómakondenzáció*hoz (Johnson, Rao 1970). Szokásos rövidítése PCC (magyaros laborzsargonban: „pécécé“, az angol „premature chromosome condensation“-ból). Sajnos nem találtam a harlekinizációhoz hasonlóan frappáns elnevezést (11. fejezet) a PCC-re, a magyar megfelelőt, a korai kromoszómakondenzációt KKK-ra rövidíteni pedig fölösleges zavart keltené. Maradjunk jobb híján a PCC mellett, mely sem többet, sem kevesebbet nem jelent, mint azt, hogy megjelenik a kromoszóma, „amikor nincs“, tehát az interfázisban. Hogyan? Úgy, hogy mitózisban levő sejttel fuzionálva, az interfázisos kromatinban kiváltható a kondenzáció, és a többé-kevésbé homogén festődésű sejtmagkorong helyett kromoszómafonalak jelennek meg. A jelenség természetes úton is előfordul, Nichols *pulverizáció*ként, Ohara „*prophasing*“-ként, vírus okozta kromoszómaelváltozásként írta le. Az is. A vírus azonban nem a kromoszómát porítja, sem magát a kondenzációt nem okozza, hanem fuzionálja a sejteket. Ha az egyik fúziós partner mitózisos, a másik interfázisos, PCC az eredmény. Johnsonék ér-





35. ábra. Mítózisos sejtek fúziója  $G_1$ , S-, illetve  $G_2$ -sejtekkel az illető fázisokra jellegzetes korai kromoszómakondenzációt (PCC) okoz (Ringertz, Savage 1981 nyomán).

deme — az általuk javasolt terminus használatának „jogalapja” —, hogy felismerték e folyamat valódi természetét.

$G_1$ -es sejtekben PCC-vel egyfonalas képletek jelennek meg: a  $G_1$  elején a fonalak tömör szerkezetűek, spiralizáltak, középen lazák, igen megnyúltak, végükön pedig még vékonyabbak és „gap”-ek által szaggatottak.

S-fázisban a PCC porított (pulverizált) hatást kelt, legtöbbször halványan festődő kromatin-„ködben” lebegnek pontszerű vagy rövid fonalkaszerű kromoszómadarabok. Mikroautoradiográfiával magyarázatra lel e kép. A jelzett timidin

ezüstszemcséi ugyanis mintegy összeköttetést teremtenek a látható fragmentumok között, és elárulják, hogy a DNS-szintézis éppen ezeken a teljesen dekondezálta — ezért fénymikroszkóppal láthatatlan — szakaszokon folyik (Ringertz, Savage 1976).

G<sub>2</sub>-ben a PCC legfontosabb jellemzője, hogy kétfonális kromszómák figyelhetők meg. A két kromatidának megfelelő fonálpár a G<sub>2</sub> elején még igen megnyúlt és résekkel tarkított, a G<sub>2</sub> mitózis felé közeledtével mind rövidebbek a kromszómák, és mindinkább hasonlítanak az eddig megismertekhez.

A korai kromoszómakondenzáció bármennyire is érdekes, tulajdonképpen csak azt erősítette meg, amit a kromoszóma kondenzációs ciklusáról eddig is tudtunk (2, 3. fejezet), de a látvány bizonyítékával.

Mi okozza a kromoszómák interfázisos kondenzációját? Nyilvánvaló, hogy egy olyan tényező, mely a mitotikus sejten megvan, az interfázisosból hiányzik. Japán kutatók kiderítették, hogy ez a tényező a mitózis előtt 15—45 perccel szintetizálódó fehérjetermészetű anyag. Nem fajspecifikus, hiszen fajok közötti PCC is könnyen okozható. Spermin, putreszcin, magnézium jelenléte növeli a PCC-arányt. Fuzionáló — tehát PCC-okozó — vírus a varicella, herpesz, rózsahimlő, nyúlhimlő, mumpsz, Newcastle, az egész parainfluenza-víruscsalád (köztük a Sendai), Rous-szarkómavírus, Visna-madárbronchitisz-vírus, és a sort még lehetne folytatni. E vírusokra majdnem mindegyik emlősfajnak van membránreceptora. A mi gyakorlatunkban veleszületett rendellenességek miatt laboratóriumunkba küldött újszülött limfocitatenyészetében találtunk elképesztő számú PCC-t, a kis beteg néhány napon belül parainfluenza-vírus okozta tüdőgyulladásban elpusztult. A virális fúzió és a PCC felfedezése óta kérdésessé vált, van-e valódi klasztogén hatása e vírusoknak. A PCC-t bizonyosan nem a vírus okozza (csak a fúziót), hiszen elsősorban inaktivált vírust használunk (általában UV-vel besugarazottat), másodszorban pedig a fúziót ki lehet váltani vegyszerekkel is (polietilén-glikollal, dimetil-szulfoxiddal, lizolecitinnel, kalciumgazdag sóoldattal), és a PCC képe változatlan.

Ismert a korai kromoszóma-kondenzáció fordítottja is, a *korai sejtmagképződés*. Néha ugyanis a mitotikus sejt fúziója az interfázisos sejttel nem okoz PCC-t, ehelyett sejtmagbár-

tya jön létre a mitotikus kromoszómák körül, és ezek a telofázis végének megfelelően sejtmaggá kondenzálódnak. Ezt „telophasing“ néven a japán Ikeuchi (1971) Avery Sandberg laboratóriumában a PCC-től függetlenül megfigyelte. A telophasing gyakoribb az olyan sejtfúziókban, ahol több interfázisos sejtmag kerül egyetlen mitózissal közös sejthártya alá, (polikarion). A késői  $G_2$ -s sejtek a leghatékonyabb telofázis-  
okozók (Ringertz, Savage 1976).

A PCC felfedezésének jelentősége elsősorban abban rejlik, hogy általában a sejtciklus és konkrétan az interfázisos kromatin vizsgálatára kiváló új módszert kínál.

A klasztogenezisben is új korszakot nyit a PCC-módszer. Az előző fejezetekben láttuk, hogy a mitózisban látható kromoszómaaberrációk a DNS sérülésének és gyógyulásának következményei. Azt is hangsúlyoztuk, hogy a sérülések döntő többsége nyom nélkül gyógyul. Mivel a PCC azonnal a sérülés után képes megjeleníteni a kromoszómát, a gyógyulási folyamatok jó részét ki tudja kapcsolni. Elsőként Waldren és Johnson végeztek X- és UV-besugárzási kísérleteket, és jóval több  $G_2$ -es törést, rést és cserét találtak, mint a mitózisban. Az UV-sugárzás  $G_1$ -ben nem okozott töréseket, megerősítve az S-dependens klasztogénekről tudottakat (9. fejezet). PCC-vel olyan sejtek is vizsgálhatók, melyek sérülései annyira súlyosak, hogy el sem jutnának a mitózisig. Hittelman és Rao (1974) vizsgálták először a vegyi mutagéneket PCC-vel. Újból bebizonyosodott, hogy érzékenyebb módszer, mint a kromoszómaaberráció-analízis. Különösen érdekes a PCC perspektívája a klasztogén hatást befolyásoló (érzékenyítő, védő) vegyszerek esetén.

Walter Hittelman (1983) a rákdiagnosztikában is nagy jövőt jósol a PCC-nak. Ugyanis a rákosan transzformálódott sejtek késői  $G_1$ -ben gyülekeznek, míg a normális sejtek a  $G_1$  elején. (Ez utóbbi a Lajtha László angolai kutató által még 1963-ban  $G_0$ -nak nevezett állapot.) A rákos sejt, úgy látszik, „nem veszi észre“ a  $G_1$  eleji ( $G_1$ -ás) megállót. Rákos szövetben tehát több lesz a késői  $G_1$ -es PCC. Hittelmanék azt is megfigyelték, hogy a fehérvérűségben szenvedők csontvelősejtjei a késői  $G_1$  különböző szakaszaiban találhatók, diagnosztikus lehetőséget kínálva mind a malignitás mértékének, mind a kezelés hatékonyságának ellenőrzésére. A citosztatikumokkal le-

fojtott leukémia újrafellobbanását is előre jelezhetőnek tartják a  $G_1$ -PCC analízissel.

Nagyon lényeges újdonság a PCC lehetőségei között, hogy olyan szövetek kromoszómáit is meg lehet e módszerrel jelezni, amelyek nem osztódnak, tehát a kromoszómaanalízis előtt eddig zárt területnek számítottak. Ezek között talán a legnagyobb örökléstani fontossággal a csírasejtek kromoszóma-vizsgálata bírna. Bár még messze van a rutineljárástól, de már sikerült ló- és szarvasmarha-spermatozoidák fúziója mitotikus sejtekkel és a kromoszómák megjelenítése. Azért is érdekes ez, mert párhuzamosan kidolgoztak egy módszert (Rudak és mtsai 1978), mely a természetes folyamaton alapul: az emberi spermatozoidák hőcsöpgtésejttel fuzionálnak. A spermatozoidában az első osztódásra készülődőben újból megjelennek a kromoszómák, és ezeket preparálni és vizsgálni lehet. 1984-ig 40 férfi 2000 spermiummitózisát elemezték abban a néhány laboratóriumban, ahol sikerült ezt a — távolról sem könnyű — módszert bevezetni. Verseny van tehát kialakulóban a PCC és a *fertilizációs fúzió* lehetőségei között. Hogy e verseny tétje nem elhanyagolható, ahhoz elég emlékeztetnem arra, hogy a spontán vetélések 50%-a kromoszóma-mutáció áldozata (Boué és mtsai 1978), és ezek valamivel kevesebb mint fele apai eredetű.

### 13. TÖRÉKENY KROMOSZÓMÁK

Öröklési anyagunk konzervatív, módosulásai, mutációi súlyos-ritka események. Ha 100 sejtben 1—2 kromoszómaaberrációnál többet találunk, rögtön klasztogén hatásra gyanakszunk, és nem ok nélkül. Az emberi patológiának vannak különleges esetei, amikor a szerkezeti kromoszóma-mutációk beletartoznak a kórképbe. Két csoportot alkotnak:

1. specifikus *törékeny pont* (fragile site) jelenléte meghatározott kromoszómán;
2. nem specifikus *kromoszóma-törékenységgel* jellemezhető örökletes betegségek (chromosome breakage syndromes).

### 13.1. TÖRÉKENY PONT

Már a sugárgenetika hőskorában sokan kérdezték: véletlenszerűen és bárhol törik-e a kromoszóma? Mivel a sugár okozta ionizáció eloszlása véletlenszerű, a genom mindegyik kromoszómáján a hosszúság függvényében megfelelő mennyiségű törést kellene találni. A gaterslebeni keletnémet genetikai központ kutatói, Rigomar Rieger és Arnd Michaelis figyeltek fel arra, hogy a Vicia faba kromoszómáin az X-sugár kevesebb törést okoz a telomer zónában, ugyanakkor a heterokromatikus szakaszokban mintha több törés lenne. Vegyi mutagénnel (etil-alkohollal) viszont 5–10-szer annyi törést találtak a hetero-, mint az eukromatinban (részletesebben lásd Rieger, Michaelis 1967, Lazányi 1970). A sugárzás emberi citogenetikájának edinburghi élcsapata is több törést talált a heterokromatikus szakaszokon. Ugyanők 30 évvel a sugárkezelés után sem találtak jellemzően lokalizálható aberrációkat egy-egy kromoszómán (Buckton 1983). A kezeletlen kromoszómák és a vegyi klasztogenezis összevetésével időközben kiderült, hogy egyes emberi kromoszómák szerkezeti jellemzője (!) az, hogy hosszú vagy rövid karjuk bizonyos helyén kromatidarás (gap), sőt gyakran -törés figyelhető meg. E *törékeny pontokat* az ausztráliai Grant Sutherland (1983) a következőképpen jellemzi:

1. változatos szélességű izokromatid rés (gap) jelenléte;
2. mind az egyén, mind utódai kromoszómáin a kar meghatározott pontján látható;
3. kodomináns mendeli öröklésmenetet mutat;
4. a törékeny pontot hordozó kromoszóma fokozottabb gyakorisággal képez aberrációkat (acentrikus fragmentum, de-lécio, triradial stb.).

Az emberi kariotípusban 1983-ig 11 kromoszómán 16 törékeny pontot azonosítottak (42. ábra). Ezek közül a legnagyobb klinikai és társadalmi fontosságú a

#### 13.1.1. törékeny X-kromoszómaszindróma

Herbert Lubs 1968-ban 4400 kiskorú és 600 szülő citogenetikai szűrése során találta azt a — genetikatörténeti jelentőségű — fiút, aki egy új tünetegyüttes leírását tette lehetővé:

a törékeny X-kromoszómaszindrómát, szokásos rövidítésben a *fra-X*-et.

Lubs betege családi előfordulású, férfiágon öröklődő értelmi fogyatékos volt, a Martin és Bell (1943) által leírt és nevüket viselő szindrómakörbe tartozott. Ma inkább *XLMR-szindrómaként* ismerik, az „X linked mental retardation”-ból rövidítve. Lubs betegének különlegessége az volt, hogy X-kromoszómájának vége gyakran letört, és kis páros kromoszómadarbként volt látható a közelében.

A 70-es évek közepétől lavinaszerűen zúdulnak a *fra-X*-el foglalkozó dolgozatok, 1983-ban a kérdés specialistái már külön konferenciát rendeztek Bethesdában (Opitz, Sutherland 1984). A *fra-X*-es betegek heréi gyakran feltűnően nagyok (a fehér rassz átlagos 18-25 cc-s térfogatát meghaladóak), nagyfejük, kidülledő homlokkal, lapátfülekkel, és sápadt szemrehártyával. Alkarukat általában nem tudják kifelé forgatni (szupináció). IQ-juk 50 körüli. A szindróma második leírója J. A. Escalante São Paulo-i egyetemi hallgató volt. A kórkép sokan — a prioritás ismeretének hiányában — Escalante-kórnak is nevezik, ami egy brazil diáknak akkor is nagy dolog, ha nem teljesen jogos. A *fra-X* azért érdemel különleges figyelmet, mert a legújabb adatok szerint egyáltalán nem ritka. Kromoszómális alapon a Down-kór után a *fra-X* okozhatja a legtöbb értelmi fogyatékossgot! Különböző szerzők adatai szerint 2—9 *fra-X*-et lehet számítani 10 000 élve született fiúra (Sutherland 1982, Opitz, Sutherland 1984). Életkilátásaik még a Down-kórosokénál is jobbak. Miért fedezték fel ilyen későn e szindrómát? Azért, mert a humán citogenetika első „mézeshetei” során (6. fejezet) a preparátumok meglehetősen gyatrák voltak, mire pedig feljavultak, addigra Parkerék korai 199-es táptalaját mindenütt felváltották a sokkal „jobb” tápfoldadékok (RPMI 1640, Ham F—10, és F—12-je stb.), melyek többek között *folsavban* is gazdagok. Amint szinte véletlenül kiderült (Sutherland 1969), az X-kromoszóma törékenysége csak *folsav* hiányában jelentkezik, vissza kell tehát térni a Parker 199-hez, vagy pedig *folsav*antagonista vegyszereket (pl. metothrexat, Aktinomicin D) kell adagolni a táptalajhoz. A legdöbbenetesebb az egészben az, hogy W. Ted Brown kezdeményezése nyomán többen elkezdtek *folsav*preparátumokkal kezelni a *fra-X*-eseket, sőt a többi értelmi fogyatékoszt is, még-

pedig állítólag eredményesen! Dániában Margaretta Mikkelsen citogenetikus tanácsára a fra-X heterozigóta anyák már a terhesség alatt is kapnak folsavat.

### 13.1.2. Az autoszomális törékeny pontok

összesítésére Sutherland és mtsai (1983) vállalkoztak. Az örökletesen törékeny folsavérzékeny pontok a következők: 2q11, 2q13, 6p23, 7p11, 8q22, 9p21, 9q32, 10q23, 11q13, 11q23, 12q13, 16p12, 20p11. Az Xq27 (vagyis a fra-X) a gonoszomális törékeny pont. A folsav- és timidin-metabolizmus methotrexáttal is gátolható, de például a 16-, 17-es kromoszómán a netropszin, a disztamicin A, a Hoechst 33258, a BCdR váltja ki a fragilitást, a 10-esen és 16-oson a BUdR, az X-en a metionin és a FUDR. A FUDR és FCdR (fluoruracildezoxiribozid és fluorcitozindezoxiribozid) a 2q13, 6p23, 7p11, 8q22, 9q32, 11q13, 11q23 és 12q13 töréspontok fragilitását váltja ki. Sutherlandék (1982) 869 értelmi fogyatékos között 16 fra-X-et és 7 autoszomális fragilitást találtak, párhuzamosan 2215 újszülöttnél 4 autoszomális töréspontot, de egyetlen fra-X-et sem. 9 esetben társult az autoszomális és gonoszomális törékenységgel.

Egyesek szerint a fra-X vírusos eredetű (Opitz, Sutherland 1984). A mikronukleusz-gyakoriság a fra-X-es sejtenyészetekben megnövekszik folsavhiányos táptalajon, de a töréspont nélküli egyéneké is magasabb ilyen körülmények között (Beek és mtsai 1983).

### 13.2. TÖRÉKENYKROMOSZÓMA-SZINDRÓMÁK

James German (1969), a New York-i vérközpont kutatója gyűjtötte „törékeny-kromoszóma-szindrómák” néven egy csokorba a három akkor ismert ritka autoszomális recesszív örökletes betegséget: az *ataxia telangiectasiát* (AT), a *Bloom-szindrómát* (BS) és a *Fanconi-anémiát* (FA). Azóta e három mellé még két további sorolható: a *Werner-szindróma* (WS) és a *Nijmegen törékenységi szindróma* (NBS) (Taalman és mtsai 1983). Közös jellemzőik:

1. a betegek kezeletlen limfocitatenyésztésében nagyszámú „spontán” kromoszómaaberráció található;
2. nagy valószínűséggel kapcsolódnak rosszindulatú folyamatok (fehérvérűség, daganat);

3. a betegek kromoszomálisan túlérzékenyek különböző mutagén-karcinogén tényezőkre.

E betegségesoporthoz sok szempontból közel álló és sokszor velük együtt tárgyalt kór a *xeroderma pigmentosum* (XP), mely szintén mutagén-hiperszenzibilis és szintén elrákosodik, de a spontán kromoszómaaberráció-gyakorisága normális.

Ritkaságukhoz képest elképesztő dolgozatözön foglalkozik e betegségekkel. A nagy érdeklődést az magyarázza, hogy az alapkutatói, gyakorló orvosi fantáziát és ambíciót egyaránt ingerlik: konkrét jelzései ugyanis a genetikai defektus és a rák kapcsolatának. A bőrgyógyászok *genodermatózis* gyűjtőnéven „ragadják” hatáskörükbe e betegségeket arra hivatkozva, hogy mindenikük örökletes bőrelváltozással jár; az immunológusok az *immundeficiencia-szindrómák* közé sorolják őket, hisz e betegek fertőzéssel szembeni ellenállóképessége csökkent; de — anélkül, hogy hazabeszélnék — a citogenetikusok formálnak rájuk jogot a legspecifikusabb jellemzővel: a *kromoszómaszerkezeti instabilitás* révén (German, 1977, Arlett, Lehman 1978, Heddle és mtsai 1983).

### 13.2.1. Az ataxia telangiectasia (AT)

vagy Louis—Barr-szindróma kisagyi eredetű mozgáskoordínáció-hiánnyal (cerebelláris ataxia), fokozatos idegrendszeri degenerációval, a felületi erek állandó tágulatával (telangiectasia, mely a szem kötőhártyáján, majd az arcon, felül és végtagokon is feltűnik), a kicsiny vagy hiányzó csecsemőmirigy miatt csökkent ellenállóképességgel és a belső elválasztású mirigyek általános fejletlenségével jellemezhető. Születéskori gyakorisága különböző szerzők szerint 1/40 000 és 1/36 000 közé tehető (Arlett, Lehman 1968, Paterson, Smith 1979). Gyakorisága a marokkói eredetű izraeli zsidó közösségben a legnagyobb. Hús évnél többet ritkán élnek a fokozott fertőzési veszély miatt. A velük egykorúakhoz képest 1200-szoros a rákos megbetegedés esélye (Hodgkin- és nem Hodgkin-típusú limfómák, akut leukémiák, bél- és petefészek-daganatok).

Daganatos AT-szindróma kezelése során fedezte fel Goff (1967) a betegek fokozott sugárérzékenységet. Az AT-sejtek letalitása fokozott bleomicin-, etil-nitrozourea-, etil-metán-szulfonát- és acinomicin D-kezelés után is.



Spontán génmutációk gyakoriságuk normális. Spontán SCE-gyakoriságuk és a mutagén kezelésre adott harlekinizációs válasz is normális. A spontán kromoszómaaberrációk viszont feltűnően gyakoriak. Ionizáló sugárzás-, bleomicin-, diepoxi-butan-kezelésre különlegesen nagyszámú aberráció található az AT-sejtekben. Az X-sugár  $G_1$ -ben is sok kromatida típusú aberrációt okoz, míg a normális sejtekben a  $G_1$ -ben csak kromoszóma típusú aberráció kelthető. Ez azt mutatja, hogy az egyszálas DNS-törések (SSB) is fennmaradnak gyógyulatlanul, (Heddle és mtsai 1983). A kromoszóma típusú aberrációk gyakorisága is abnormisan magas besugárzás után, tehát a kétszálas DNS-törések gyógyulása szintén gátolt.

### 13.2.2. A Bloom-szindróma (BS)

alacsony születési súllyal, növekedésbeni visszamaradással (legfeljebb 150 cm-ek), telangiectasiás bőrpirosodással (az arcon ez lepkeszerű foltot ad), jellegzetes formájú hosszú keskeny arccal, napfényérzékenységgel, rossz immunválasszal jellemezhető. Ritka betegség, gyakoribb az ukrainai eredetű (ún. askenázi) zsidó populációban. Korai halálozásukat fertőzések és a fokozott rákveszély (1/8, Therman 1980) okozza. Akut fehérvérűség, szarkóma, emésztőrendszeri daganatok a leggyakoribbak.

A BS-sejtek fokozottan érzékenyek UV-sugárzásra, mitomicin C- és etil-metán-szulfonát-kezelésre.

Spontán mutációk rátájuk feltűnően magas. Spontán SCE-gyakoriságuk elképesztő, a normális 6–12 helyett 90/sejt. Ez már nem is harlekinizáció, hanem kicsiny pöttyök sakktáblaszerű váltakozása a két kromatidán (Chaganti és mtsai 1977). Hiperérzékenyek a 4-nitroquinolin-oxid, mitomicin C, etil-nitrozourea és etil-metán-szulfonát harlekinizáló hatására.

Spontán kromoszómatörékenyséjük nagyszámú kromatidarást (gap), törést és transzlokációt eredményez. A betegsége diagnosztikus értékű a quadriradialok feltűnően nagy száma (German 1977).

Ionizáló sugárzás és az etil-metán-szulfonát is a normálist sokszorosan felülmúló aberrációmennyiséget vált ki (Heddle és mtsai 1983).

### 13.2.3. A Fanconi-anémia (FA)

fejlődésbeni visszamaradottsággal, singscontrövidséggel, a hüvelykujj gyakori hiányával, vesemalformációkkal, súlyos csontvelőműködési zavarokkal és ezáltal kiváltott általános vérszegénységgel, a bőr barnás elszíneződésével jellemezhető. Már gyerekkori halálozásuk is magas a vérszegénység és az igen gyakori fehérvérűség miatt.

A FA-sejtek fokozottan érzékenyek ionizáló sugárzásra, mitomicin C-re, nitrogénmustárra, metoxipszoralénre és etil-metán-szulfonátra.

Spontán génmutációs gyakoriságuk normális. Spontán SCE-gyakoriságuk ugyancsak normális, csak a nitrogénmustár- és a kombinált metoxipszoralén és ultraibolyasugár-kezelés vált ki fokozott harlekinizációt a normális sejtekhez képest.

Spontán kromoszómaaberráció-gyakoriságuk nagy, erre Schröder és mtsai még 1969-ben felfigyeltek. A kromoszómátörések G<sub>2</sub>-es típusúak és főleg quadriradiálok. Kromoszómátörékenyséjük túlérzékeny egész sor mutagénre: UV-, ionizáló sugár, mitomicin C, nitrogénmustár, metoxipszoralén-UV, diepoxibután, etil-metán-szulfonát, kloramfenikol, koffein, ciklofoszfamid stb. (Heddle és mtsai 1983). Sasaki és Tonomura (1973) szerint a keresztkötések (cross-link) gyógyulása a legnehézkesebb a FÁ-sok sérült DNS-ében. Saját esetünk (Imreh és mtsai 1984) törpenövés, négyujjúsággal és fokozott kromoszómális sugárérzékenységgel jellemezhető.

### 13.2.4. A xeroderma pigmentosum (XP)

rassztól függetlenül igen nagyfokú fényérzékenységgel jellemzett. A napsugárnak kitett bőrfelület kipirul, kifekélyesedik és hamarosan elrákosodik, 30 év alatti halálozást okozva. Mint az előző három, a XP is autoszomális recesszív génmutáció okozta örökletes betegség, mely az UV-sugár keltette DNS-bázisváltozás egy fajtája (a timin dimer gyógyítására képtelen) (Cleaver 1969). Hiányzik az az enzim, mely a sérült szakasz kivágásáért és/vagy a hibás rész újraszintetizálásáért felelős. A XP is ritka betegség, születéskori gyakorisága 1/250 000 (Arlett, Lehman 1979).

A XP-sejtek túlérzékenyek UV- és X-sugárzásra, 4-nitroquinolin-oxidra, aflatoxin B-re, mitomicin C-re, formaldehidre és még több mutagén-karcinogénre.

Spontán mutációs rátájuk normális. Spontán SCE-gyakoriságuk szintén normálisnak tekinthető, de harlekinizációjuk túlérzékeny az UV-, 4-nitro-quinolin-oxid-, nitrogénmustár- és etil-metán-szulfonát-kezelésre.

Spontán kromoszómatörékenységek nincsenek az XP-ban. Kromoszómák hiperszenzibilisek viszont UV-sugárzásra, 4-nitro-quinolin-oxidra, aflatoxin B-re, mitomicin C-re stb. (Heddle és mtsai 1983)

### 13.2.5. A kromoszómainstabilitás és a rák

kapcsolata indokolja a fenti szindrómák részletesebb ismertetését. Mint a következő fejezetben látni fogjuk, a rák genetikai betegségeként is értelmezhető. Ebben az értelmezésben igen nagy jelentősége van a kromoszómainstabilitás és recesszív génmutációk kapcsolatának. Hadd foglaljuk össze e négy szindróma főbb jellemzőit:

1. a spontán mutációs ráta normális (a BS kivételével);
2. a spontán SCE-gyakoriság normális (a BS kivételével);
3. a spontán kromoszómaaberráció-gyakoriság nagy (az XP kivételével);

4. mutagén-karcinogén tényezőkre mindegyik hiperérzékeny, bár nem mind ugyanazokra;

5. mutagén-karcinogén kezelésre mindegyik fokozott kromoszómaaberráció-gyakorisággal válaszol;

6. mindegyik nagy valószínűséggel rákosan degenerálódik.

Adott tehát bizonyos ellentmondás a génmutációs érzékenység, a harlekinizációs érzékenység (melyről a 11. fejezetben láttuk, hogy nem áll azonos alapon a kromoszómaaberrációkkal) normalitása és a kromoszóma instabilitása, az aberrációs hiperszenzibilitás között. Ha e disszonanciához még hozzáfűzzük azt is, hogy újabban ismerünk néhány olyan rákkeltőt, mely kromoszóma-mutációt okoz, de génmutációt nem (pl. a dietil-sztilbésztről Barrett szerint; Heddle és mtsai 1983), óhatatlanul gyanakodni kezdünk, vajon nem játszanak-e fontosabb szerepet a rákkeltésben a kromoszóma-mutációk, mint a génmutációk?

## 14. A KROMOSZÓMA ÉS A RÁK

Őrizkednünk kell a rákkutató mindenkorai szakmai kockázatától: az általánosítási hajlamtól.  
George Klein, 1981.

Miután mottóul korunk egyik élvonalbeli rákkutató csoportja vezetőjének (Karolinska Intézet, Stockholm) figyelmeztetését tűztem az olvasó — és magam — elé, rögtön meg is kell szegnem, mert szerintem — és nyilván nem vagyok egyedül — általánosítva kijelenthető, hogy a *rák genetikai betegség*. Genetikai betegség volta összekapcsolja az orvosok számára igen különböző szarkómát és leukémiát, meningiómát és malignus melanómát. De — vetheti ellen bárki — néhány, különben igen érdekes „családi” rákesettől eltekintve a rák nem öröklődik. Tényleg nem öröklődik apáról fiúra, de igenis öröklődik sejtről sejtre. Sejtjeink mindenike öröklési anyagunk kontrollja alatt áll, csak akkor és ott szaporodik, ha arra szükség van a megfelelő életfolyamatban, és azonnal abbahagyja osztódásait, mihelyt arra genetikai „parancsot” kap. Ha egyetlen sejt rosszindulatúvá (malignussá) válik, elszakitja a génszabályozás béklyóit, és a szövetkörnyezetre, anyagcsere-„érdekekre” fittyet hányva osztódni kezd. „Rosszindulatú voltát”, malignitását örökíti minden sejtutódjára, rákos klónt, majd ráksejtpopulációt hoz létre. Osztódik-osztódik feltartóztathatatlanul és vakon tovább, míg a gazdaszervezet és ezzel önmaga halálát nem okozza.

A rák tehát a sejtosztódás genetikai szabályzásának és ellenőrzésének elfajulása, mely állandó és anarchikus sejtburjánzáshoz vezet. Következésképpen csak az egészséges sejtek „osztódásgenetikája” ismeretében fogjuk megérteni, „mi romlott el” a rákos sejtben. Ez a magyarázata annak, hogy az indokolatlanul lenéző szólásmondást, mely szerint: „többen élnek meg a rákból — értsd rákkutatásból —, mint ahányan meghalnak benne”, még tóditani is lehet azzal, hogy a rákkutatók jó része soha nem is lát rákos beteget. Ez így törvényszerű, és nem előzmények nélküli.

A rák és kromoszóma kapcsolatát először megsejtő Theodor Boveri sem emberi daganatot vizsgált, hanem tengerisünpetebarázdálódást. E ráktól távol álló kísérletek nyomán 1914-ben könyvet írt *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren* címmel, melyben határozottan kijelentette: 1. a rákos folya-

matban genetikailag módosult kromoszómákat kell találnunk, 2. ha megváltoztatjuk a kromoszómaösszetételt, rák keletkezik. Ezzel Boveri a *somatikus mutáció* elméletének elindítójává és 70 éve a rákkutatás ihletőjévé vált. Azt, hogy a lényegét mennyire zseniálisan sejtette meg, csak napjainkban tudjuk igazán felmérni.

A hisztológusok már Boveri előtt megfigyelték a kromoszómákat a daganatok metszeteiben (Sandberg 1979). E téren Arnold lehetett az első (5. fejezet) 1879-ben, 1890-ben Hansemann már tételelesen közli, hogy minden karcinómában aszimmetrikusak a mitózisok, ami szerinte aneuploidiahoz, majd rákhoz vezet. Kortársai hevesen bírálták, ezért halála előtt visszavonta állítását. Anders (1932) az első citológus, aki összehasonlította a tumorsejteket az egészségesekkel, a primer daganatot az áttétellel. A kromoszómaszám változásait figyelte meg, emellett atipikus mitózisokat, ragadós kromoszómákat is látott. Véggkövetkeztetése Boverivel szemben: a rákban a kromoszóma-rendellenességek nem okai annak, hanem következményei. Csak az utóbbi néhány év felfedezései cáfolták e vélelményt. A harmincas-negyvenes években Koller végzett átfogó rákcitológiai munkát. Összegező művében (Koller 1947) a tumormitózisok zavarait strukturális kromoszómaaberrációkra, számanomaliákra és orsóserülésekre osztotta. Mivel azt látta, hogy a tumor minden kromoszómasérülés ellenére tovább nő, arra a meggyőződésre jutott, hogy a rákos elfajulás okát a citoplazmában kell keresni, és ezért Boveri hipotézise hibás. A negyvenes-ötvenes években igen fellendítette a rákkutatást a laboratóriumi állatok (egér, patkány) hasüregi folyadékában tenyésztő rákos sejtek (aszцитesz) vizsgálata, amit a század elején még Ehrlich kezdeményezett, és az említett időszakban Yoshida (patkányon) és Klein (egéren) úttörő munkája rutinmódszerré fejlesztett. Az in vitro sejtenyésztés előretörése is sokat segített a rák citológusainak. Mint a humán citogenetikában általában, a rákéban is a hatvanas évek hozták a minőségi előrelépés lehetőségét. Amint a módszerek megengedték, azonnal fel is fedezték az első specifikus kromoszómaaberrációt, mely igen gyakori a krónikus mieloid leukémiások csontveléjében. Ez egy igen kicsi G-csoportos kromoszóma, melyet edinburghi kutatók felfedezői, Nowell és Hungerford (1960) otthonáról *Philadelphia-kromoszómának* (jelölése Ph<sup>1</sup>) nevezték. A modern onkológiai citogenetika kezdőakkordja volt a Ph<sup>1</sup> felfedezése, me-

lyet kezdetben 21-es, majd 22-es hosszúkar-deléciónak tartottak, ami azt sejtette, hogy rövidesen minden rosszindulatú folyamatban megtaláljuk azt a specifikus kromoszómát, mely diagnosztikus jele (markere) a kórnak.

#### 14.1. A „KROMOSZÓMAMARKER”-VADÁSZAT

kezdeti eredményei nem nagyon biztattak. Ténylegesen találtak minden malignus daganatban és a vérképzés rosszindulatú folyamataiban is aneuploidiót és kromoszómaaberrációt (8, 9, 10. táblázat). Találtak markert is, nem egyet, de ezek csak a tumороk klonális (egy sejtől kiinduló) eredete mellett tanúskodtak, nem kötötték össze az egyes eseteket. Úgy tűnt, hogy a fehérvérűségén kívül tulajdonképpen nincs sok értelme az onkológiai citogenetikai vizsgálatnak.

A „zebrakromoszómák” kora a hetvenes évekkel (7. fejezet) végre gyökeres változást hozott. Először természetesen a Ph<sup>1</sup> természetét tisztázták. Janet Rowley (1973) chicagói citogenetikus megállapította, hogy a deléció 22-es kromoszóma letört darabja nem vész el, hanem transzlokálódik a 9-es kromoszómára. Később kiderült, hogy több más kromoszómára is átke-rülhet. A 22-es kromoszóma aberrációit egy agydaganatban, a meningeómában is megtalálták (Mark, 1972), de azóta monoszómiát, deléciót és a 8-as kromoszómára való transzlokációt is jeleztek.

#### 8. táblázat

**Jellegzetes (nem véletlenszerű) aneuploidiók az ember malignus betegségeiben**  
(Rowley 1983, Yunis 1983, Sandberg 1984 után)

---

-5	akut nonlimfoid leukémia
+6	akut limfoid leukémia
-7	akut nonlimfoid leukémia
+7	vastagbél-adenokarcinóma
+8	akut nonlimfoid leukémia
+12	leukémiák, különösen az idült limfoid leukémia, limfómák, here-szemínóma
+21	akut limfoid leukémia
-22	meningeóma (agydaganat)
±3, -5, -7, ±12, ±17	másodlagos leukémiák

---

### 9. táblázat

**Jellegzetes (nem véletlenszerű) kromoszómaaberrációk az ember malignus betegségeiben**

(Yunis 1983, Klein 1983, Sandberg 1984 után)

1 p-	malignus melanóma, neuroblasztóma, méhrák
i (1q)	méhrák
1 q+	emlőrák
3 p-	tüdőrák, másodlagos leukémia
5 q-	másodlagos leukémia, akut nonlimfoid leukémia, méhnyakrák
6 q-	limfóma, akut limfoid leukémia, malignus melanóma
i (6p)	malignus melanóma
7 q-	másodlagos leukémia, akut nonlimfoid leukémia, hólyagrák
8 p-	hólyagrák
9 p-	hólyagrák, akut limfoid leukémia
11 p-	Wilms vesedaganat
11 q-	akut nonlimfoid leukémia, méhnyakrák
i (12 p)	hereszeminóma
12 p-	hereszeminóma
12 q-	másodlagos leukémia, vastagbél adenokarcinóma
13 q-	retinoblasztóma
14 q+	limfóma, akut limfoid leukémia, idült limfoid leukémia
i (16q)	hólyagrák
i (17q)	idült mieloid leukémia
20 q-	polycythaemia vera (vörösvértest-túltengés)
21 q-	preleukémia, akut nonlimfoid leukémia
22 q-	idült mieloid leukémia, meningeóma (agydaganat)

### 10. táblázat

**Jellegzetes (nem véletlenszerű) transzlokációk az ember malignus betegségeiben**

(Rowley 1983, Yunis 1983, Sandberg 1984 után)

t(9;22)(q34;q11) = Ph <sup>1</sup>	idült mieloid leukémia, akut leukémiák
t(8;21)(q22;q22)	akut mieloid leukémia
t(8;22)(q22;q22)	Burkitt-limfóma, meningeóma (agydaganat)
t(4;11)(q21;q23)	akut limfoid leukémia
t(8;14)(q23;q32)	akut limfoid leukémia, limfómák
t(15;17)(q24;q21)	akut promieloid leukémia
t(11;C)(q21-23;C)	akut nonlimfoid leukémia
t(3;8)(p25;q21)	fültömirigy-daganat
t(6;14)(q21;q24)	petefészekrák
t(9;11)(p21;q23)	akut monoblasztos leukémia
t(11;21)(q22;q21)	akut nonlimfoid leukémia, más csontvelő-sejtburjánzások
t(6;12)(q15;p13)	promieloid leukémia
t(6;9)(p23;q24)	akut nonlimfoid leukémia
t(15;18)	hólyagrák

Manolov és Manolova már 1971-ben leírta a 14-es kromoszóma hosszú karján egy többsávos megjelenését a Burkitt-limfómában. A szem ideghártyadaganatában (retinoblasztóma) még hamarabb, már 1969-ben jelezte Allerdice, hogy a 13-as kromoszóma hosszú karja hiányos. Kiderült, hogy ez a delécio veleszületett, öröklődő és mindmáig az egyetlen olyan ismert eset a *Homo sapiens*nél, amikor egy specifikus kromoszóma-aberráció nem a testi sejtek mutációja, hanem prezigotikusan már fennáll és daganatra való hajlamot örökít (Castarelli 1982).

A markervadászat eseményeit még hosszan lehetne sorolni. Térnyerőbb azonban a mellékelt táblázatokon követni a máig megismert főbb aneuploidákat és kromoszómaaberrációkat az ember rosszindulatú betegségeiben.

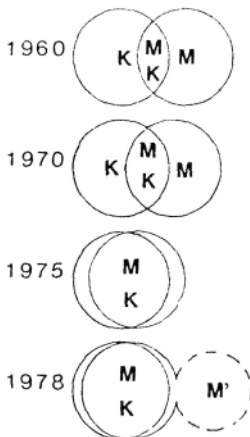
#### 14.2. A RÁKKELTŐK

és a *mutagének* kezdetben teljesen külön kategóriát alkottak. 1960-ban még alig néhány anyagról tudtuk, hogy egyszerre mutagén és karcinogén is, leszámítva a fizikai tényezőket (sugárzások), melyek kettős hatását először tisztázták. A vegyi rákkeltők helyzete is megváltozott azóta (36. ábra). Ma már oda jutottunk, hogy amint „tetten érnek” egy újabb mutagén vegyszert, szinte automatikusan rákkeltéssel is „vádolják”. Ha jelenleg még van is néhány kivétel, tehát olyan mutagén, mely nem bizonyított karcinogén (pl. a bázisanalógok), a fordított eset kivétel nélküli szabályszerűség: *minden rákkeltő mutagén tényező is*.

A mutagének két csoportra oszthatók: génmutáció- és kromoszóma-mutáció-kiváltókra, ez utóbbiak között minket leginkább a kromoszómatörők (a klasztogének) szerepe érdekel. A rákkeltők klasztogén volta az utóbbi időben annyira egyértelművé vált, hogy az előzőekben ismertetett kromoszóma-mutációt és testvérkromatida-cserét kimutató tesztrendszerek ma már a karcinogén hatás előrejelzésének is hatékony eszközei (Nagao és mtsai 1978, Hollstein és mtsai 1979, Preston és mtsai 1981, Ramel 1983).

Mai szemmel tehát a környezeti mutagének és karcinogének közös ellenfélnek számítanak, melyek mutációt okozhatnak a csírasejtekben, és ezzel a populációban az örökletes betegségek számát szaporítják, ugyanakkor mutációt okozhatnak a





36. ábra. A karcinogénekről (K) és mutagénekről (M) szerzett ismereteink evolúciója 1960-78 között. Napjainkra minden ismert karcinogén mutagén volta bizonyított és a mutagének zöme is karcinogénnek bizonyult, egy csoportjuk (M') még a rákkutatás tárgya (Nagao, Sugimura, Matsushima 1978 után).

testi sejtekben, és ezzel rosszindulatúvá változtathatják őket, az egyed rákos megbetegedését váltva ki (Nagao és mtsai 1978).

Az összes rákos eset 90%-ért környezetünk rákkeltő tényezőit lehet felelőssé tenni (Boice Fraumeni 1984)!

Az *ionizáló sugárzás* a legismertebb rákkeltő. Mindenki hallott a hiroshimai túlélők fokozott leukémiakockázatáról (1/60 az átlagos 1/2880 helyett, Miller 1967). Tudjuk, hogy a spondylarthritis sugárkezelése után megtízszereződött a fehérvérűség (Skóciában), és még hosszan sorolhatnánk az adatokat arról, hogy a nagyobb dózisú besugárzás vagy a beépült sugárzó izo-

tópok milyen vérképzőszervi vagy daganatos folyamatok elindítói (Boice, Fraumeni 1984). Jelenünk nagy vitájának tárgya az, hogy van-e és milyen mérvű az igen kis dózisu sugárzások rákkeltő hatása. A kis dózisok ugyanis orvosi és szakmai sugárterhelésből igen nagy tömegeket érintenek az atomkorban. Általában véve kicsit igazságtalanok is vagyunk a sugárzással. Mivel többet tudunk biológiai-genetikai hatásáról, mint talán az összes többi mutagén-karcinogénról együttvéve, és mivel joggal rettegünk az atomháborútól, gyakran félünk olyan kicsiny és egyértelműleg javunkat szolgáló sugárzásoktól is (radioaktív jódos pajzsmirigyzvizsgálat, röntgenátvilágítás), melyek genetikai és rákkeltő kockázata bizonyosan kisebb, mint a napi 10–20 cigarettáé vagy akár a nyugodt lélekkel fogyasztott agyonfüstölt oldalasoké.

Hadd soroljak fel a teljesség igénye nélkül néhányat környezetünk leghétköznapiabb rákkeltőiből (Nagao és mtsai 1978, Ames 1982, Sorsa, Vainio 1982).

A sütés-főzés során megégő-megbarnuló fehérjék mutagének és karcinogének. A sült táplálék barnulásakor, a cukrok karamellizációjával mutagének-karcinogének keletkeznek, például még a pirított kenyér megégett felületén is. Régebb ismert volt, hogy a sütés felgyorsítja a zsírok, olajok avasodási folyamatát, és így mutagén-karcinogének keletkeznek. A növényi táplálékban is rengeteg a toxikus, mutagén-karcinogén vegyi anyag. Nincs botorabb elképzelés, mint azt hinni, a növényi extraktumok azért a legelőnyösebbek, mert „természetesek”, és így, „ha nem használnak, legalább biztosan nem is ártanak”. A „természetes” eredetű gyógyszereket éppúgy kell ellenőrizni mutagenicitás, rákkeltés és torzszüléskiváltás szempontjából, mint bármelyik szintetikus gyógyszert. Néhány példa a talán kevésbé közismertek közül: a hagymából, páfrányból *kvercetin* vonható ki, de a *flavonoidok* népes családja igen sok növényben megtalálható. A citromfélék és a bergamottkörte héjának *illóolajai* fényaktivációs mutagének, növelik az UV-sugár keltette DNS-sérülések számát, a kozmetikai szerekből ki is tiltották őket. (És a narancslikőrből?) A romló burgonyából több torzszülésokozó glikoalkalojda vonható ki, pl. a *szolanin*. A cikászdióban a *cikazin*, a Petorites japonicusból származó japán ételízesítők vagy az Agaricus bisporus csiperkegombafaj ízanyagai egyaránt rákkeltők. Sok növény tartalmaz *kinonokat*, *szafrolt*, melyek egy része bizonyítottan mutagén. A kakaópor 2% teo-

bromint tartalmaz, a tea kevesebbet, de koffeint a tea és kávé egyaránt, és mindkét anyag gátolja a DNS-sérülések gyógyulását. A kutyatejfélek *forboléstarterek*et tartalmaznak, melyek egyes kínai teakeverékekben nyelőcső- és gégerákot okoznak. Az égetett mutagén-karcinogén termékek beszívott mennyisége a „kétszomagos“ dohányzónál 500 mg körüli. A kávé nagy mennyiségű égetett terméket tartalmaz, és egy csésze csak a biztosan mutagén összetevőkből is 250 mg-t tartalmaz a koffein mellett. A kávézást petefészek- és hasnyálmirigyrákkal kapcsolják össze. Mindennapi tudatos gyengeségeink közül a kávé és a cigaretta után nem feledkezhetünk meg az alkoholról sem. Hadd idézzem Günter Obe és Hansjürgen Ristowot (1979), ezúttal szó szerint: „Az alkohol emberben mutagén, rákkeltő és torzszülést kiváltó. Az etil-alkohol első metabolitja az acetaldehid útján válik mutagénné. Ezt bizonyítja, hogy az acetaldehid kromoszómaaberrációt, testvérkromatída-cserét és a DNS-szálak között keresztkötést okoz. A metil-alkohol, sok italféle szennyezője szintén metabolitja, a formaldehid útján mutagén. Ezenfelül több indirekt út vezet az alkohol okozta mutációhoz.“

Az élelmiszer-adalékok, ízesítők, édesítők, a kozmetikai szerek (formalintartalmú izzadásgátlóktól a hajfestékekig), de a gyom- és rovarirtók között is több mutagén-karcinogén vegyületet találtak (Imreh 1983).

A rákellenes gyógyszerek egy része maga is rákkeltő, másodlagos malignitást okozhat. Más gyógyszerről is feljegyeztek ilyen veszélyt: az arzén bőrrákot, a kloramfenikol, ciklofoszfamid fehérvérűséget, az imuran retikuloszarkómát, a fenacetin vesekarcinómát okozhat.

A gyermekruhák gyűlékonyságának csökkentésére használt *tris* (2,3-dibrom-propil) foszfátról kiderült, hogy mutagén és karcinogén, ezért az USA-ban be is tiltották.

Ipari környezetben az *epoxidok*, *etilén-iminek*, a *benzén*, *benzidin*, *vinilklorid* mutagén-karcinogén volta éppúgy közismert, mint az *azbeszt*, *kadmium*, *nikkel* és *króm* egyes vegyületei. Nem maradhat még e vázlatos felsorolásból sem ki a legtriviálisabb példa: a nagyvárosi „smog“ koncentrátuma rákkeltő. Vannak szinte egyetemes mutagén-karcinogének is, mint a *nitrozaminok*, melyek az iparban, táplálékban, rovarirtóban, benzinben, dohányfüstben egyaránt megtalálhatók.

## 11. táblázat

Gyakran vizsgált rákkeltő és mutagén anyagok. A Holstein és mtsai (1979) által összeállított eredeti táblázat, melyből az alábbi kivonatot közöljük, 24 tesztrendszer és 72 vegyszeri elemet (o = hiányzó adat)

[illegible]

<i>nitrozaminok</i>												
dimetil-nitrozamin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>gombatoxinok</i>												
<i>és antibiotikumok</i>												
aflatoxin B <sub>1</sub>	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
mitomicin C	+	0	—	0	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>heterociklusos</i>												
<i>vegyületek</i>												
tri:etilén-melamin (TEM)	+	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+
tren <sub>1</sub> ,non	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+
<i>fémek</i>												
króm <sup>1</sup>	+	0	+	0	0	0	0 <sup>1</sup>	0	0 <sup>1</sup>	0 <sup>1</sup>	+	+

(<sup>1</sup>a króm hat vegyértékű sói in vitro SCE, in vitro és in vivo kromoszómaaberrációra egyaránt pozitív eredményt adnak Imreh, Rădulescu 1982).

*Ames teszt:* Salmonella bakteriális génmutációs teszt; CHO — HPRT: kínai hörcsög sejtenyészet génmutációs tesztje; UDS: DNS gyógyulási folyamatokat (repair) kimutató teszt; BHK *transz.*: hörcsög embrió-sejtenyészet transzformációs tesztje; *Drosophila rec. let.*: az *ecetmuslica* recesszív letális mutációit kimutató teszt; *Egér spot*: génmutációs teszt; SCE: harlekinizáció; *kr. ab.*: kromoszómaaberráció; *m. t.*: mikronukleusz teszt.

Egyoldalú lenne a kép, ha nem vennénk számításba, hogy a szervezet a mutációt és rákot okozó sérüléseket egyaránt hatékonyan gyógyítja. Az utóbbi időben több ún. *antikarcinogént*, rákvédő vegyi tényezőt fednek fel szervezetünkben és táplálékunkban.

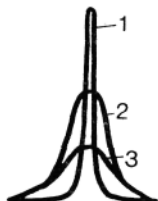
Majdnem minden rákkeltő anyag *elektronéhes* oxidálószer, tehát a természetes antioxidánsok gátolják hatásukat. A szervezet sok enziméről tudjuk, hogy oxidációellenes, tehát bizonyos mértékig rákellenesnek tekinthető. Az *E-vitamin* (tokoferol) az egyik legfontosabb természetes antikarcinogén. A béta-karotén a természetes zsírok oxidációját gátolja, és nemcsak a sárgarépa, hanem majd minden növény tartalmazza. A *szelén* az egyik legfontosabb rákellenes mikroelem. A *glutathion* szintén tartalmazza mindennapi táplálékunk; az aflatoxinok ellen tűnik különlegesen eredményesnek. A *C-vitamin*ról tudjuk, hogy oxidációellenes, Nobel-díjas felfedezője, Szent-Györgyi Albert éppen e tulajdonságánál fogva azonosította. A másik Nobel-díjas, Linus Pauling a legszenvedélyesebb szószólója a C-vitamin rákellenes hatásának, és úgy tűnik, bizonyítékai is vannak (Ames 1982). A *húgysav*, a vésravó, a nyál stb. állandó alkotórésze, szintén hatásos oxidációgátló. Ames (1982) szerint a rákos megbetegedések földrajzi elterjedésének magyarázatakor éppúgy számításba kell vennünk a környezeti mutagének-karcinogének jelenlétét, mint az antikarcinogénét.

A mutagén-karcinogén tényezők ugyanakkor kromoszómaaberráció-okozók (klasztogének) is. Ez nem lenne meglepő. Elég különben, ha a mellékelt táblázaton a rákos transzformáció, a mutációs tesztek és a kromoszomális tesztek kapcsolatát követjük. A rákos folyamatokban megfigyelt specifikus kromoszómaaberrációk léte viszont kissé megzavarta a képet. Aki mesterségesen „töri” a kromoszómát sugárzással vagy vegyi klastzogénnel, nehezen fogadja el a nem véletlenszerű kromoszómatorékenységet, még akkor is, ha tud az örökletesen törékeny „forró” pontokról (13. fejezet). Mint Yunis (1983) beszámol róla, az 5-, 7- és 8-as kromoszóma sérülései feltűnően gyakoriak mutagén-karcinogén hatás alatt álló és e hatásra megbetegedett (fehérvérűség) emberek között. Golomb és mtsai pl. 256 akut nonlimfocitikus leukémiás betegből 133-ban találtak kromoszómaaberrációkat, és ezek közül 64 (37%) a 7- és 5-ös kromoszóma delécióját és/vagy 8-as triszómiát hordozott.

A mutagénekkel kapcsolatban nem lévő betegeknél ezek az aberrációk csak 11%-ban jelentek meg. A legközvetlenebb adatok a laboratóriumi állatok kísérleti rákjából származnak. Egérleukémiában megfigyelték a 15-ös kromoszóma triszómiáját, függetlenül attól, hogy a fehérvérűséget karcinogén vírussal, X-sugárral vagy vegyi rákkeltővel okozták (Klein 1981).

### 14.3. TRANSZFORMÁCIÓ

a neve annak a jelenségnek, melynek során a normális sejt rákossá alakul. In vitro sejtenyésztésben a transzformáció legfeltűnőbb árulója az, hogy a sejtek egyszerre képessé válnak egymás hegyén-hátán, több rétegben és összevissza növekedni a tenyészedény alján (criss-cross növekedés). A normális sejtek rendezetten, egy rétegben növekednek, és csak addig, amíg mozaikszerűen egymáshoz nem simulnak, mert abban a pillanatban a *kontakgtátlás* leállítja szaporodásukat. A transzformációval nemcsak a kontakgtátlás szűnik meg, hanem a sejt-hartya, a sejtszervecskéik, a sejtanyagcsere szintjén is számos változás történik. Témánkhoz hűen, számunkra a legfontosabb, hogy a transzformált sejtek tenyésztésében előbb-utóbb a kromoszómamutációk sokaságát találjuk: poliploidiót, aneuploidiót és markerjellegű kromoszómaaberrációkat. Ebben megegyeznek



37. ábra. Az egészséges testi sejtek túlnyomó többsége diploid kromoszóma-számú (1); az elsődleges rosszindulatú daganatokban gyakori az aneuploidia (2) és az áttétben (metasztázisban) nagyon általánossá válik (3) (Sandberg 1984 nyomán).

mind az in vitro transzformáció amerikai „maestrói“, di Paolo és Pienta, mind európai kollégáik, például Francis Wiener Stockholmban és Leo Sachs Izraelben. Joseph di Paolo kolozsvári tanítványa, Corneliu Olinici (1978) — az egyetlen romániai rákcitogenetikai kötet szerzője — is hasonló eredményeket ért el Bethesdában. Mint már említettem (12. fejezet), Henry Harris oxfordi és George Klein stockholmi professzor közös „csapata“ azt is bizonyította, hogy a malignus fenotípust hibridben az egészséges sejt elnyomja. A hibridsejtre jellemző fokozatos kromoszómavesztés során a malignitás újból visszatér. A csapat citogenetikusai Francis Wienerrel az élen többször azonosították a „felelős“ kromoszómát. Legmalignusabb hibridjeikben a 15-ös egérkromoszóma nemcsak triszómiásan, hanem pentas-, sőt hexaszómiásan is fellelhető. A markerjellegű transzlokációk is igen gyakoriak az in vitro transzformált sejtekben. Az egérleukémia sejtjeiben főleg a 15-ös kromoszóma és a 6-os kromoszóma transzlokációi feltűnnek (Klein 1981).

A fentiekből az a helyes következtetés, hogy a transzformáció, végső soron a rák *egyszerűen kromoszómamutáció eredménye?*

Nem valószínűtlen, ha csak az adatok egyoldalú csoportosítása nem vezetett félre bennünket.

Hiszen nem említettem az *immunológiai, immungenetikai* tényezők szerepét, pedig a rákosan transzformált sejt egyik legjellemzőbb — számunkra legszerencsétlenebb — tulajdonsága, hogy bár „semmi keresnivalója“ ott, ahol burjánzik, a szervezet mégsem tartja idegennek, és nem harcol ellene megfélelően. Létezik egy távlatilag reményt keltőbb hipotézis is, amely szerint mégsem vagyunk oly védtelenek immunológiaiilag, és az állandóan „elő-előkerülő“ rákos sejteket az egészséges szervezet rendre legyűri.

Eppen csak megemlítettem a „*családi rák*“ eseteit, pedig Sandberg (1980) szerint 40 ráktípusban jegyeztek fel családi előfordulást, és Therman (1980) egy olyan dolgozatot is idéz, amelyben egy család 88 tagjából 20 vastagbél- vagy méhnyakban szenvedett. Ha az egypetéjű ikrek egyike rákos folyamat áldozata, 1/5 az esély arra, hogy ikerpárja sem mentesül (Miller 1967).

A genomok rokonsága és a rák kapcsolata elvezet az eddig szintén említetlenül maradt *génmutációk* szerepéig. Kétszáz körülí azon mendeli öröklésmenetű genetikai betegségek száma,



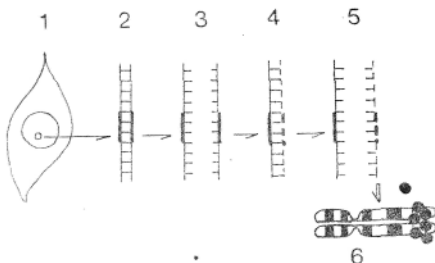
melyek fokozott rákkockázattal járnak. E szám mellett eltörpül mindazoknak a kromoszómaaneuploidiáknak (Down-kór, Klinefelter-kór; 8. fejezet), mind azoknak a veleszületett kromoszómaaberrációknak (13q monoszómia, 10. fejezet), mind pedig azoknak a kromoszómastabilitási szindrómáknak (AT, BS, FA, XP, 13. fejezet) a mennyisége, melyek szintén fokozott malignitásvesztést jelentenek.

Végül nem említettem azt sem, hogy milyen nagy segítséget jelentenek a rákkutatónak azok a beltenyészett egértörzsek, melyek majd minden tagja leukémiás vagy emlődagangatos lesz. A háziállatoknak is vannak olyan malignus betegségei, melyek a szarvasmarhák, lovak, kutyák között szinte járványszerűen terjednek. Pedig ezek az esetek éltették a *rák vírusos eredetét* valló hipotéziseket. Az utóbbi időben e téren nemcsak az elméletek gátszakadása következett be, hanem az így nyílt résen újból a kromoszóma felé sodródunk.

#### 14.4. A RÁKVÍRUSTÓL AZ ONKOGENIC ÉS AZ ONKOGENTÓL A KROMOSZÓMAIG

megtett út a rákkutatás háromnegyed századán át húzódik. Bár az ő munkája sem előzmények nélküli, Peyton Rous személyisége egyedülálló abban, hogy a modern biológia egyik területe hozzá — egyetlen kutató munkásságára — vezethető vissza. Klein (1983) felhívja a figyelmünket, hogy Rous 1911-ben nemcsak egy csirkében rákkeltő vírust izolált (a ma RSV = Rous sarcoma vírus nevűt), hanem ezután legalább egy fél-tucatot, és azt is bizonyította, hogy a vírusok nemcsak általában rákkozók, hanem fenotípusosan jól elkülöníthető ráktípusokat váltanak ki. Hitetlenkedő évtizedek után Ludwik Gross fedezte fel az első emlősrákkeltő vírust 1951-ben. Rous érdemeit csak 1968-ban ismerte el díjazásra méltónak a Nobel-díj-kiosztó bizottság. A ma már több tucatra rúgó rákkeltő vírus távol áll e kötet témájától, néhány éve még nem is láttam volna értelmét említésüknek. A virális és sejtonkogének és ezek kromoszómális lokalizációjának felfedezése viszont kényszerít rövid tárgyalásukra.

Mind a vírusfertőzés, mind a virális transzformáció alapja a vírus öröklésianyag beépülése a gazdaszervezetbe. A DNS-vírusok ezt közvetlenül, az RNS-vírusok pedig reverz transz-

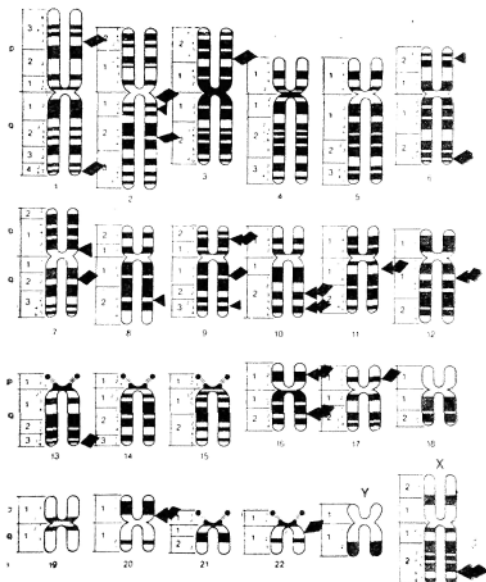


38. ábra. Az *in situ* hibridizáció menete az onkogének kromoszómára lokalizálásaért. Bármely állatfaj onkogénhordozó sejtjéből (1) kivont DNS-t (2) denaturációja (3) után radioaktív nukleinsavval hibridizálják (4), majd újabb denaturáció után a kromoszóma DNS-sel *in situ* hibridizálják. Az autoradiográfia elárulja az onkogén helyét a kromoszómán (6).

kriptázokkal DNS-re fordítás után tehetik meg. A gazdaszervezet „sajátjának” ismeri el a vírus öröklési anyagát, és saját génszabályzása is beleszól, megnyilvánulnak-e vagy sem a virális gének. Bár a vírusgenom eleve kevés génből áll (van olyan, mely összesen 4-ből), megállapították, hogy egyetlenegy is elég a rákos transzformációhoz: ez a *virális onkogén*. Ma már körülbelül negyedszáz virális onkogént ismerünk, például a *v-ras* egy patkány-(rat) szarkómaonkogén; a *v-Abl* Abelson-leukémia vírus-onkogén egerben; a *v-src* csirke (chicken) Rous-szarkómaonkogén; a *v-fes* macska-(feline) szarkómaonkogén és így tovább. 1983-ra az akkor ismert 18 RNS-vírus onkogénből 16-nak találták meg különböző gerinces genomokban a megfelelőjét, „normális” homológját. Figyelem! Nem rákos szövetben vagy rosszindulatú csontvelősejtben találták őket, hanem leghétköznapiabb, egészséges testi sejtekben. Részei tehát az én és a kedves olvasó genetikai anyagának egyaránt. Ezek az onkogén homológok a *sejtonkogének* (c=celluláris előbetűvel jelzettek). A fentebb említett virális onkogének sejtbeni megfelelői tehát a *c-ras*, *c-Abl*, *c-src*, *c-fes*.

Sejtjeinkben való jelenlétükre két magyarázat képzelhető el. Első lehetőség, hogy a „vírus felejtette ott“ valamelyik ősünk (minden mai gerinces, sőt úgy tűnik, minden mai kétoldaltú szimmetriával rendelkező állat őse) genomjában az onkogén nukleinsav-szekvenciát. Második lehetőség pedig az, hogy az onkogén ősi alkotóeleme, „normális génje“ öröklési anyagunknak, és a vírusgenomhoz mintegy véletlenül ragadt oda. Nos, attól a pillanattól, hogy tudjuk: sejtjeinkben ott rejtőzködnek az onkogének, kimutatásuk kromoszómaszinten már csak technikai kérdéssé vált, még ha nem is a legkönnyebbek közül. Az *in situ* nukleinsav-hibridizáció módszere tette lehetővé végül (7. fejezet). A módszer lényege, hogy az onkogént tartalmazó radioaktív nukleinsav egy szálát párosítják „in situ“, tehát helyben a kromoszómapreparátumon a kromoszóma DNS-ével. Csak a homológ szakaszok párosodnak (hibridizálnak), ezzel viszont mikroautoradiográfiásan el is árulják helyüket a kromoszómán. A *c-myc* (csirke-mielocitóma) onkogént például az ember 8-as (Neel és mtsai 1982), az egér 5-ös (Dalla-Favera 1982) és a patkány 7-es kromoszómáján (Sümei és mtsai 1983) is megtalálták. Mivel közben az emberi kromoszómák *géntérképének* (minden egyes gén kromoszómális lokalizációjának) elkészítése is gőzerővel folyik, az onkogének helyzete sok mindent tisztázni fog a közeljövőben a rákos folyamattal kapcsolatban.

Ami viszont már most tisztázódott, nem kis meglepetést keltett: az onkogének helye a kromoszómán jól egyezik a malignus folyamatok marker kromoszómáinak aberrációs helyeivel (14. 1. fejezet). Ne álljunk meg ennél az egybeesésnél. Már Yunis (1983) felhívja figyelmünket, hogy legalább három esetben egymásra helyezhető a rákos és örökletes törékenységi pontok helye. Amikor viszont egymásra helyeztem Sutherland (1983) spontán törékenységi pontjait a Yunis (1983) és Sandberg (1984) által közölt malignitási törékenységi pontokkal, a 9q21, a 10q23 és 25, a 12q13, a 16p12 és q22, a 20p11 és az Xq27 esetében is egybeesést találtam, tehát összesen 8-at. Konklúzióink egy lehet csupán: a törékenységi pontok helye az onkogének otthléte miatt, vagy attól függetlenül, a kromoszómaaberrációra és rákos megbetegedésre való fokozott hajlamot árulja el.



39. ábra. Az ember kromoszómáinak sávidiagramja a Párizsi Konferencia (1971) adatai szerint. A háromszögek az örökletes törékenységi pontokat, a rombuszok a malignus folyamatokban található jellegzetes töréspontokat jelzik (Sutherland 1979, 1982, Rowley 1983, Yunis 1983 és Sandberg 1984 adatai alapján).

#### 14.5. KROMOSZÓMAMUTÁCIÓK, „UGRÁLÓ GÉNEK” ÉS A RÁK

Gyűjtsük csokorba a fentiek alapján azokat a tényeket, amelyek azt jelzik, hogy a kromoszómamutációnak szerepe van a malignitásban:

1. Az ember rosszindulatú megbetegedéseiben *kromoszómamutációk* találhatók; a *marker* jellegű aneuploidiak, részleges aneuploidiak és transzlokációk *klonális* eredet mellett tanúskodnak.

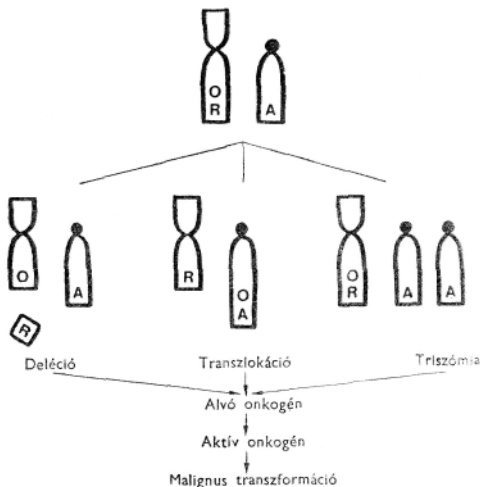
2. A *rákkeltő* tényezők mutagének és majd mindig *klasztogének*.

3. Az *in vitro* *transzformáció* is heteroploidizációval, sőt gyakran *marker* jellegű kromoszómamutációkkal jár, a *sejthibridek* *malignitása* is kromoszómához kötött.

4. Az aneuploidia (pl. Down-, Klinefelter-kór), a delécio (pl. 13 q-), az instabilitás (AT, BS, FA, XP) *emberi kromoszómaszindrómái* fokozott rákkockázattal járnak.

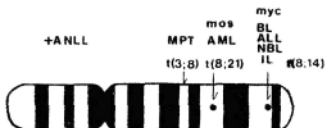
5. Az *örökletes törékenységi pontok*, a *malignitás törékenységi pontjai* és az *onkogének kromoszomális lokalizációja* gyakran *egybeesik*.

Marad a kérdés: hogyan? Hogyan játszhatnak szerepet ennyi tényező által létrehozott, de mégis a genom egy-egy „gyűjtőpontján” sűrűsödő kromoszómamutációk a rák genézisében? Szerepük nyilván nem kromoszóma-, hanem génszintű. Mégpedig olyan gének szabályzásának megváltoztatásával, melyek a sejtosztódást ellenőrzik. Nagyon sok adat áll rendelkezésünkre e téren — részletezésük meghaladja e kötet célját és terjedelmét —, de kevés az általánosítható. Valószínű azonban, hogy a malignus folyamat elindítása — az onkogén megnyilvánulása — génszintű gátlás és serkentés eredője. Ezért nem elképzelhetetlen, hogy a kromoszómadelécio kiiktatja azt a gátló genetikai elemet (represszort), mely inaktív — alvó — állapotban tartotta az onkogént. Nem elképzelhetetlen, hogy a *trisómia* a géndózist úgy módosítja, hogy az onkogén megnövekedett mennyiségét már nem tudja gátolni a represszor, illetve a serkentő (aktivátor) mennyisége nő meg annyira, hogy dacolhat a represszióval. És végül nem elképzelhetetlen, hogy a *transzlokáció* az aktivátort az onkogén mellé helyezi, elválasztva a represszortól és felébresztve Csipkerózsika-álmából (40. ábra).



40. ábra. A malignus transzformáció egy lehetséges hipotézise, mely szerint a kromoszóma-mutációk hozzájárulnak a *represszor* (R) által inaktívált *onkogén* (O) *aktívátor* (A) hatása alá kerüléséhez.

Különösen a legutolsó, a transzlokációs elképzelés gyűjtja fel napjaink genetikusanak fantáziáját. Azét, aki a nyolcvanas években volt kénytelen végleg rádöbbenni, hogy a stabilan lokalizált gének örökléstanának világa a múlté. Hiszen mindenfelől mozgékony, ugráló genetikai elemekről tudósítanak. A mikrobiális genetikusok *mutátor fág*ról, mely hol itt, hol ott inaktíválja a baktériumgéneket, vagy a *transzpozon*ról, mely antibiotikum-rezisztenssé változtatja őket. A *Drosophilák* a



11. ábra. A 8-as kromoszóma sávdigramja az onkogének (mos, myc) lokalizációjával (fekete pont) és a jellegzetes malignitási töréspontok feltüntetésével (nyílak) különböző malignus megbetegedésekben. ANLL: akut nonlimfoid leukémia, melyben gyakori a 8-as triszómia, MPT: tüdőmirigy-daganat, jellegzetes t(3;8) transzlokációs törésponttal; AML: akut mieloid leukémia, jellegzetes t(8;21) transzlokációs törésponttal; BL, NBL, IL: különböző limfómák és ALL: akut limfoid leukémia, jellegzetes t(8;14) transzlokációs törésponttal.

## 12. táblázat

Példák az onkogének kromoszomális lokalizációjára és a marker jellegű kromoszómaátvitelük kapcsolatára különböző malignus folyamatokban (Rowley 1983 és Yunis 1983 után)

ONKOGEN	Származás	Marker jellegű kromoszómaátvitel emberi malignitásban	Egybeeső töréspont és celluláris onkogén lokalizáció	Előfordulás emberi malignitásban <sup>1</sup>
myb	csírke, mieloblasztóma	+6, 6q—, t(6;14)	6q21	ALL, Ly, OV
myc	csírke, mielocitóma	+8, t(8;14)	8q22	BL, AML, ANLL, MPD
src	csírke, Rous-szarkóma	20q—	20q11	
mos	egér, Moloney-szarkóma	+8, t(8;21)	8q22	BL, AML, ANLL, CML
abl	egér, Abelson-leukémia	t(9;22)	9q34	
ras <sup>H</sup>	patkány, Harvey-szarkóma	11p—	11p13	W
ras <sup>K</sup>	patkány, Kirsten-szarkóma	+12, i(12)	12p	CLL, SE
fes	macska, szarkóma	t(15;17)	15q24	APL
sis	majom, szarkóma	t(8;22), t(9;22)	22q11	CML, BL, ME

<sup>1</sup> ALL: akut limfoid leukémia, AML: akut mieloid leukémia, ANLL: akut nonlimfoid leukémia, APL: akut promielocitás leukémia, BL: Burkitt-limfóma, CLL: idült limfoid leukémia, CML: idült mieloid leukémia, LY: limfóma, ME: melanóma, MPD: a csontvelő mieloid elfajulása, OV: petefészekrák, SE: here-szemínóma, W: Wilms-vesedaganat

mozgékony *P*-elemekkel már gőnésebészeti munkát végeztek. Pedig nem új az elv. Századunk nyolcvanas éveinek szemléletváltást követelő felfedezése saját nyolcvanas éveiben (1983-ban) — harminc évet késve — juttatta Nobel-díjhoz Barbara McClintock genetikus, aki a kukoricamagvak és -levelek pigmentációját tanulmányozva 1938 körül sejtette meg először és 1951-ben bizonyította a kukorica Ds—Ac-rendszerében az „ugráló gének” (jumping genes) létét. Mégpedig egy olyan rendszerben, ahol az egyik mobilis genetikai elem (Ds = disszociátor) *kromoszómatorékenységet* vált ki, a másik mobilis elem (Ac = aktivátor) jelenlétében. Az ISI (Institute of Scientific Information) kimutatása szerint 1951—84 között McClintock e cikkét 335-ször, egyéb dolgozatait több mint 3000-szer idézték a rangosabb szakfolyóiratokban.

Az eukarióta kromoszómaszerkezet egyetemességének (3. fejezet) ismeretében talán nem is olyan erőltetett, ha a kukorica Ds—Ac-rendszere és az emberi malignitás kiváltása közötti lehetséges analógiát nem tekintjük véletlennek. Még akkor sem, ha közben nem feledjük a fejezet mottójának figyelmeztetését.

## 15. KROMOSZÓMAVIZSGÁLÓI STRATÉGIA (UTÓSZÓ HELYETT)

Tudatában annak, hogy a kromoszómával kapcsolatos kérdések igen kis hányadát sikerült megosztanom az olvasóval, ugyanakkor optimistán remélve, hogy figyelmét a kromoszóma iránt sikerült felkeltenem, e kötet végén szeretném, ha röviden a kromoszóma vizsgálat javallatát, korszerű lehetőségeit és jövőjét is áttekintenénk.

### 15.1. MIKOR KELL(ENE) KARIOTIPIZÁLUNK?

1. *Többszörös veleszületett fejlődési rendellenességgel* világra jötteknél. A hangsúly a többszörös fogalmán van. A kromoszóma mutációk, amint a 8. és 10. fejezetben kiderült, álta-



lános zavart is okoznak a csont-izomrendszer, belső szervek, idegrendszer és nemi szervek fejlődésében. Az arckoponyánem specifikus jegyeinek fel kell keltetniük a kromoszómamutáció gyanúját (csapott vagy dülledt homlok, távol álló szemek, belső szemzugi redő, süppedt orrnyereg, alacsonyan ízesülő, rendellenes formájú fülek, állcsont-rendellenességek stb.).

2. A nemi szervek veleszületett fejlődési rendellenességei (kétséges nemi hovatartozás, rejtett vagy fejletlen herék, különlegesen nagy herék, rendellenes hímvessző, a húgycső hibásan elhelyezkedő nyílása, megnövekedett csikló stb.) önmagukban is kromoszómavizsgálatot javallhatnak, de gyakran együtt járnak az 1. pontban felsoroltakkal. A havi ciklus hiányában és a férfi és női sterilitás kivizsgálásában is segíthet a citogenetikusan az orvosnak (8.3. fejezet).

3. Az értelmi fogyatékoság régebben csak akkor szükségelt kromoszómaanalízist, ha az 1. és/vagy 2. pontban felsoroltakkal együtt jelentkezett (pl. Down-gyanús fenotípus).

### 13. táblázat

A kromoszómamutációk aránya (%) intézeti értelmi fogyatékosok között (Hook 1983 után)

Down-kór	Autoszomális kromoszóma-mutáció	Kiegyensúlyozott transzlokáció	Gonoszomális kromoszóma-mutáció	Összesen
9,5	0,9	0,3	0,8	11,5

A 13. fejezetben ismertetett törékeny X-kromoszóma gyanúja miatt napjainkra a javallat köre bővült.

4. *Ismétlődő spontán vetélés* (különösen ha azonos terhességi szakaszban történik) és *ismételten halva született csecsemő* sokszor akkor is kromoszómavizsgálatot kér, ha a magzatok nem malformáltak. Lehetőség szerint mind az abortumot, mind pedig a két szülőt meg kell vizsgálni, és a következő terhességnél prenatálisan a magzati sejtek kromoszómáit is.

#### 14. táblázat

Kromoszómautációk spontán vetélésekben  
(Hook 1983 után)

Terhességi hét	5—7	8—11	12—15	16—19	20—27	Átlag
Rendellenes kariotípus (%)	17,5	50,6	47,0	32,8	10,7	39,9

5. *Családi előfordulású veleszületett rendellenességeknél* vagy már diagnosztizált kromoszómautáció esetén, ha az előző gyermeknél, illetve a szűkebb családban ilyen lelet ismert, a kromoszómavizsgálat a helyes *genetikai tanácsadás* feltetele.

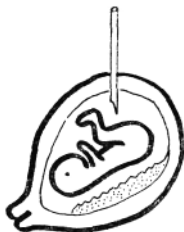
6. *Rákos megbetegedések* bizonyos formáiban és különösen a fehérvérűség krónikus eseteiben (14. fejezet) a kromoszómavizsgálat prognosztikus értékű lehet az onkológus számára. Mivel szomatikus mutációt keresünk, lehetőség szerint magából a kiindulási sejtpopulációból kell végezni a kromoszómaanalízist.

7. Kromoszómaaberráció-szűrést kell végezni azoknál a személyeknél, akik szakmai, orvosi vagy baleseti forrásból nagyobb *mutagén-karcinogén* terhelésnek voltak kitéve (9, 11, 14. fejezet). A limfocitatenyésztés mellett a mutagén-karcinogén tényezővel közvetlenül érintkező szövetek mikronukleusztesztje is ajánlatos.

Bár a citogenetikai laboratóriumok viszonylag kis száma a fenti feladatsort sem könnyíti meg, szükséges lenne, hogy a genetikai tanácsadás indokolt esetben a méhen belüli kromoszómavizsgálatok gyakorlatán alapuljon.

#### 15.2. KROMOSZÓMAVIZSGÁLAT SZÜLETÉS ELŐTT

A méhen belüli genetikai vizsgálatot (prenatális diagnosztika) az a felismerés tette lehetővé, hogy a terhesség 12—16 hetében a magzatvízből már le lehet szívni bizonyos mennyiséget. Az eljárás neve: *amniocentézis*. Paul Rijs és Fritz Fusch a koppenhágai egyetemen már 1955-ben jelezték, hogy a magzatvízből (a benne található sejtekből) megállapítható a magzat neme és vércsoportja (Fuchs 1980). Később fokozatosan



42. ábra. Az ultrahangos ellenőrzés mellett végzett magzatvízvétel (amniocentézis) nem sérti meg sem a magzatot, sem a méhlepényt.

kidolgozták a magzatvíz biokémiai elemzésének módszereit, majd a magzati sejtek tenyésztését és kromoszómaanalízisét is. Jelenleg a terhesség 14–15. hetét tartják magzatvízvételre legalkalmasabbnak, mivel ekkor mennyisége 200 ml körül van, tehát 10–20 ml minden veszély nélkül eltávolítható. A beavatkozást vékony tűvel a hasfalon keresztül végzik ultrahangos (ekográfus) ellenőrzés mellett, tehát a magzat vagy méhlepény megsértését kizárva. 1976-ig 8 nyugati ország 46 központjában végzett 6121 születés előtti kromoszómavizsgálat alapján a magzati halálozás 1,4% (Galjaard 1976). A cseh, szlovák, magyar és keletnémet kutatók szerint sem növekszik a vetélési gyakoriság a spontán szint fölé. E veszélytelenségben legnagyobb szerepe az ultrahangos vizsgálatnak van, mely önállóan is igen fontos diagnosztikai eljárás. A módszer csak a 70-es években indult igazi, robbanásszerű fejlődésnek (Emery 1973, Milunsky 1973, Papp 1980). A fejlődés ütemére jellemző, hogy tudtommal az egy laboratóriumban elemzett első 500 esetről 1974-ben számolt be Aubrey Milunsky (a Harvard Egyetem kórházából), öt követte Ferguson-Smith (1976), Knörr (1976), majd Philip és Bang (1977). Romániában 1977-ben Kolozsvárt sikerültek az első kísérleti jelleggel indított tenyésztések. 1978-ban Lillian Hsu és mtsai (Mount Sinai kórház) közlik az első 1000-es szériát, 1979-ben Golbus (San Francisco

Egyetemi Kórház) már 3000 magzati kromoszómavizsgálatról számol be, és a sor gyarapszik azóta is.

Maximilian, Duca-Marinescu (1977) és Czeizel (1981) adatait figyelembe véve, a magzatvíz sejtleinek kromoszómavizsgálatát mindig el kellene végezni 2%-os kromoszóma mutációs kockázat felett; 4%-os kockázatnál a javallat abszolút. El lehet végezni a magzatvíz sejtleinek kromoszóma vizsgálatát a terhesség alatti vírusfertőzés és mutagén expozíció miatt is.

#### 15. táblázat

A születés előtti kromoszóma vizsgálat abszolút javallata  
Zárójelben a kockázat (Czeizel 1981 után)

- 
1. a magzat nemének meghatározásáért, ha az anya X-hez kötött súlyos ártalmat okozó, recesszív mutáns gént hordoz (fiúk 50%)
  2. ha a terhes triszómiás Down-kóros
  3. ha a terhes kiegyensúlyozott t(D;21) hordozó (10%)
  4. ha a terhes 40 év feletti (5–11%)
  5. ha az apa vagy anya t(21;22) vagy egyéb kiegyensúlyozott transzlokációt hordoz (5–15%)
- 

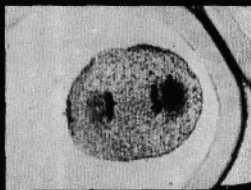
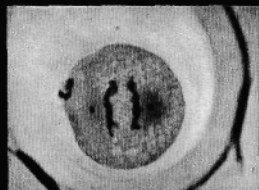
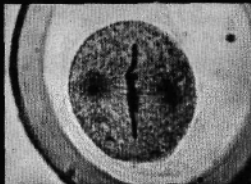
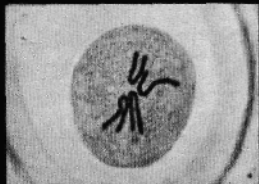
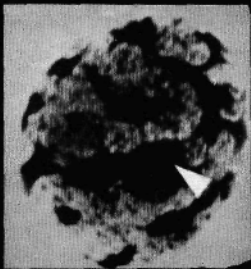
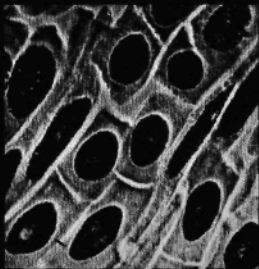
#### 15.3. A KÖRNYEZETI MUTAGÉNEK-KARCINOGÉNEK

Fejlett társadalmak naponta mintegy 60 000 vegyszert használnak. Zömük emberkéz műve (Sorsa és mtsai 1982). Az utóbbi évtizedben a kötelező toxikológiai vizsgálatnak, amit minden emberi használatra alkalmas új vegyület, gyógyszer esetében el kell végezni, nélkülözhetetlen része a mutagén szűrés. A farmakológusok el is nevezték *genotoxikológiának* ezt a vizsgálati területet. Bármely vegyület mutagénnek minősül, amennyiben valamely szinten módosítja az öröklési anyagot. A környezetünkben lévő ilyen hatású anyagok nemcsak az utódgenerációk egészségét veszélyeztetik, hanem, a mutáció és malignitás szoros kapcsolata miatt, a jelenlegi népességét is. A citogenetikus, bármennyire elfogult is a kromoszóma vizsgálat fontosságát tekintve, mégsem tarthatja azt egyedüli szűrési módszernek. A tesztelés végig kell hogy menjen a genetikai apparátus minden szerveződési szintjén. Ehhez egész „tesztütegre“ van szükség (Igali 1977). Első lépésben meg

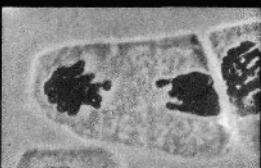
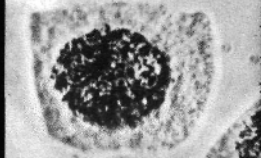
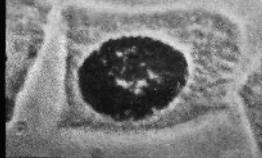
kell vizsgálni, van-e kölcsönhatás a DNS és a vizsgált vegyület között. A DNS sérüléseit direkt módszerekkel is lehet mérni, de indirekt úton, a gyógyulásán keresztül is. Ez utóbbira több alkalmas mikrobiális teszt (Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Proteus mirabilis) áll rendelkezésünkre, de emlős sejtenyészetekben is jól követhető. A harlekinizáció (SCE) növekedése is a DNS és a vizsgált vegyszer kölcsönhatását jelzi, a mutagén-karcinogén hatás érzékeny jelzője. A génmutációk kimutatására ma az Ames-teszt a legnépszerűbb, mely a Salmonella gyors tesztje. A metabolikus aktivációt a mikrobiális mutagenézisben patkánymáj kivonat biztosítja. Az élesztőgombák (Saccharomycesek) és az emlős szomatikus sejtenyészetek is jó és elég gyors eredményt adnak, no meg ne feledkezzünk még az „öreg” ecetmuslicáról (Drosophila), mely alaposan kidolgozott módszerek tucatját kínálja e célra. Az egér-, spot-teszt<sup>2</sup> végtelenül előnyös (bár nem gyors és olcsó) emlős génmutációs tesztrendszer. Kromoszómaszinten a gyors teszt lehetőségét a mikronukleusz ajánlja, a kromoszómaaberrációk vizsgálata in vivo vagy in vitro már időigényesebb. Növények, laboratóriumi állatok, szomatikus sejtenyészetek, emberi limfocitakultúrák a kromoszómaaberrációk vizsgálatának a módszertani lehetőségei. A csírasejtek kromoszómaaberrációit árulja el az egér dominánsletál-tesztje. A rákkeltő hatást mindegyik módszer indirekt úton jelzi, az emlőssejtek in vitro transzformációs tesztjei direkt módszerek. A genetikai szűrés feltételeit szigorúan meg kell tervezni, ha azt akarjuk, hogy adataink megbízhatóak legyenek. A tesztrendszerként használt (mikroorganizmus, növény, állat, sejt) genetikailag homogén, stabil törzs kell hogy legyen. Negatív kontrollcsoport elemzése biztosítja a mutációs alapszint ismeretét, pozitív kontrollcsoporttal (jól ismert mutagén vegyszer) ellenőrizzük a módszer érzékenységét. Nem elég egy koncentrációban vizsgálni a kiválasztott vegyszert. Általában a féltétális dózist és annak több (minimum 2–3) kisebb koncentrációját vizsgáljuk. Meg kell állapítani azt a legmagasabb koncentrációt is, amely még hatástalan. A mutagének tesztelési stratégiájában és az eredmények értékelésében az Európai Környezeti Mutagén Társaság (EEMS, European Environmental Mutagen Society) és a Román Egészségügyminisztérium dokumentumai a mérvadóak.

#### 15.4. A JÖVŐ

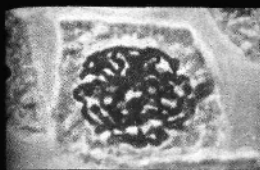
A kromoszómakutató vágyálma, hogy létezzen kapacitás minden feladat elvégzésére, mely mai gyakorlati és elméleti tudása szerint ráróható. Vágyalom marad a helyes kifejezés mindaddig, míg a kromoszómavizsgálat ilyen időt rabló marad és kisszámú magas képzettségű szakember végzi. Ezért mutat a jövő felé minden gyorsmódszer, mely a mutagén-karcinogén tesztelést egyszerűsíti, és teszi szinte bárki által gyorsan elvégezhetővé, mint például a mikronukleuszteszt. A kariotipizálás fejlődése jelenleg még a bonyolódás felé halad, a 320-tól a 2000 sáv felé. A molekuláris biológiai módszerek és a töréspontok analízise jelentik a közeljövő új útjait a klinikai citogenetikában. Sok kutatóközpont dolgozik — többen nem is eredménytelenül — a kromoszómapreparálás automatizálásán és számítógépes értékelésén. A korszerű számítógépes képelemzés — ha nem is olcsón — megoldja mind a sávozott kromoszómák azonosítását, mind a mutációt szenvedettek felismerését. Amit nem tud utánozni, az a preparáló citogenetikus rátermettsége, érzéke. A rákos megbetegedések kromoszómavizsgálatában a mikronukleáció, a korai kromoszómakondenzáció, a mikronukleáris PCC, a harlekinizáció nemcsak a rákkeltők felismerésében fog mind több szóhoz jutni, hanem már a közeljövőben a gyógyszeres kezelés eredményességének és a prognózis becslésének is hatékony mérőeszközzé válik. A prenatális diagnosztika és ezen belül a magzati kromoszómavizsgálat a korszerű genetikai tanácsadás és terhesgondozás rendszerében fog különleges eljárásból mindennapi módszerré szelídülni. Végül, talán nem is a távoli jövőben, el kell jutnunk oda, hogy a kromoszómavizsgálat éppolyan rutinszerűvé váljék, mint a vérszámolás vagy vizeletanalízis. Naiv profécia? Mielőtt szakmai elfoglaltságból fakadó fantáziálásomon szórakozna a kedves olvasó, lapozzon vissza e kötet elejére: harmincegynéhány éve azt sem tudtuk, hány kromoszómánk van. És lapozzon erre felé, és láthatja, hogy három évtized alatt már önálló tudományágakkal rendelkező fává cseperedett a kromoszómakutatás, a citogenetika. Meggyőződésem, hogy e fa még csemetekorban van. Még csak ezután fogja törzsét izmosítani, koronáját lombosítani. Hadd higgyek benne, hogy nem az atomháborús dekadencia, hanem a földgolyó életét, a *Homo sapiens* egészségét bölcsen szolgáló korban élünk.



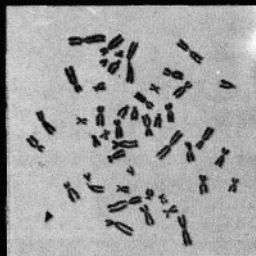
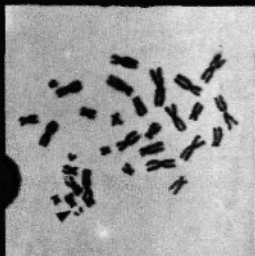
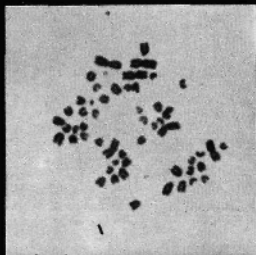
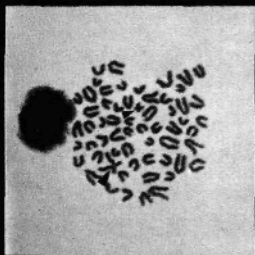
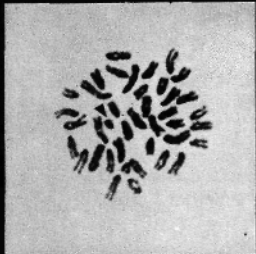
1  
2  
3  
4  
5  
6



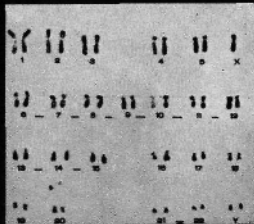
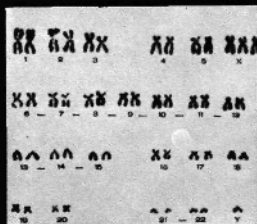
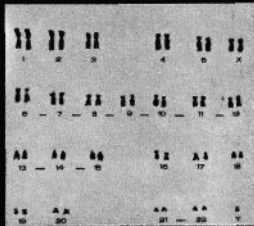
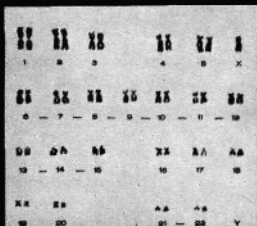
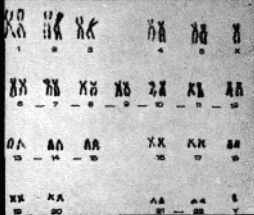
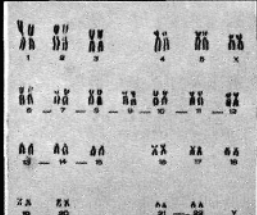




1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
13	14	15	16

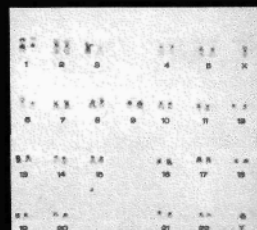
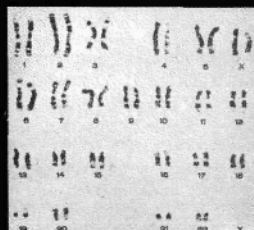
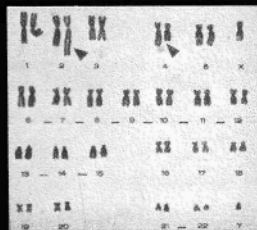
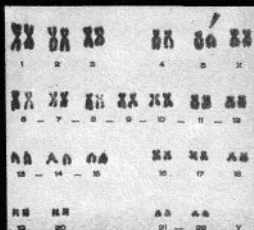
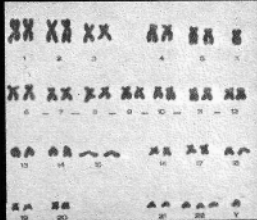
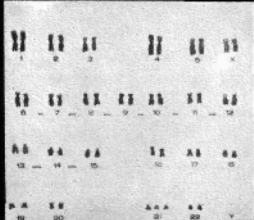


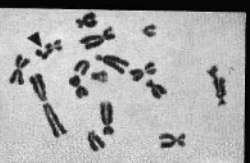
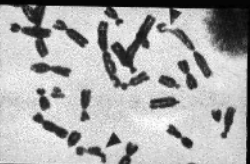
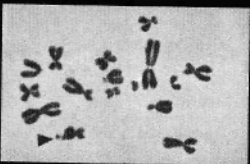
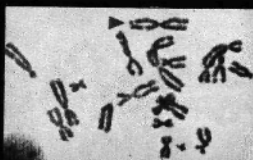
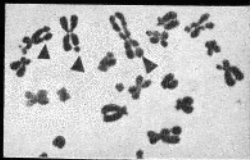
IV  
1 2  
3 4  
5 6



V

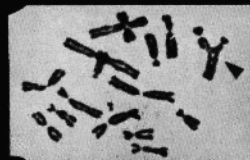
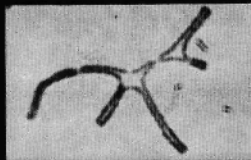
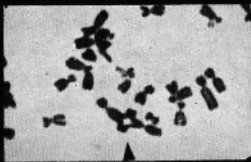
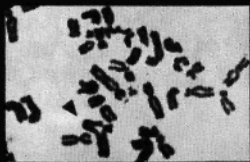
1	2
3	4
5	6





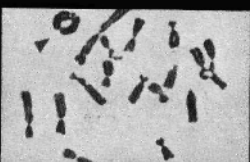
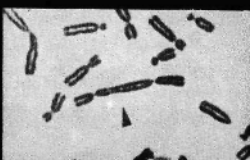
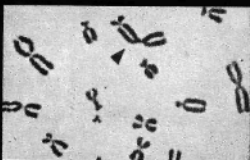
VII

1	2
3	4
5	6
7	8



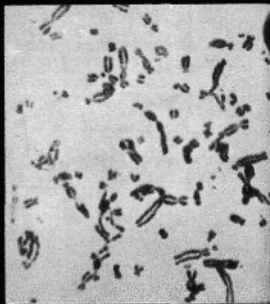
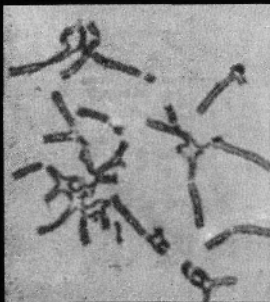
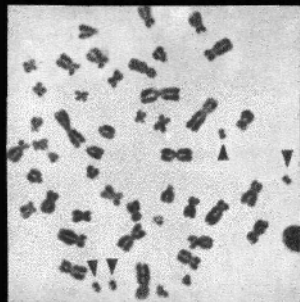
VIII

1	2
3	4
5	6
7	8

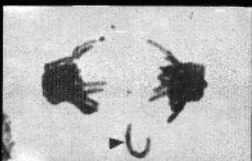
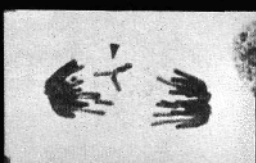
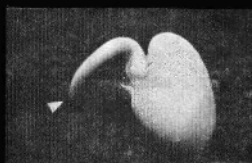


IX

1	2
3	4
5	6
7	8

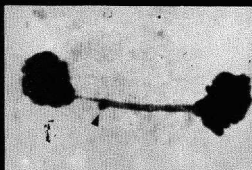
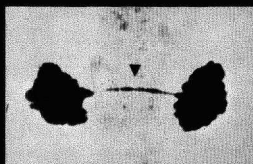
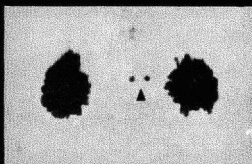
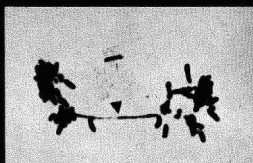
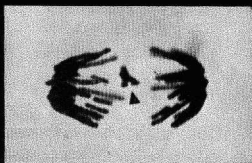






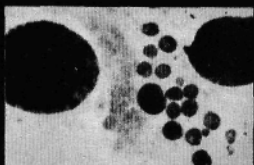
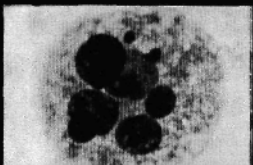
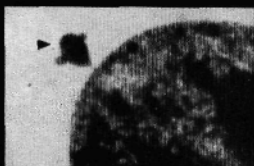
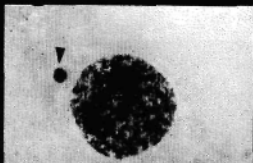
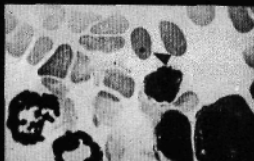
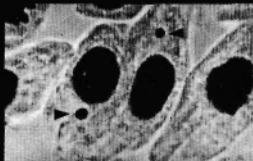
XI

1	2
3	4
5	6
7	8



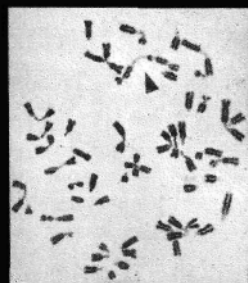
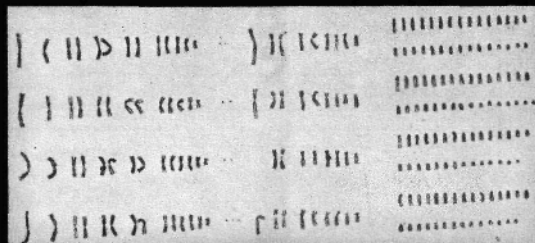
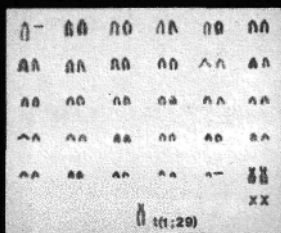
XII

1	2
3	4
5	6
7	8



XIII

1	2
3	4
5	6
7	8

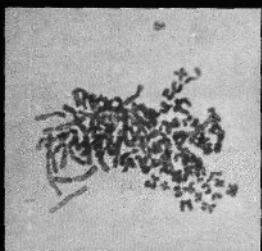
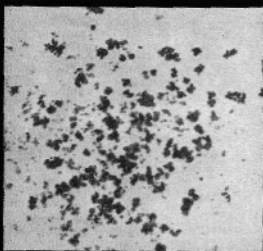
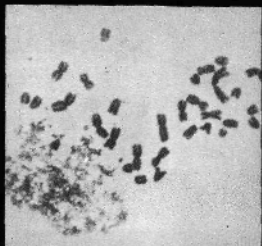
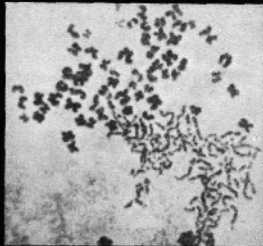


XIV

1/2

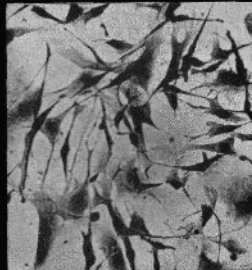
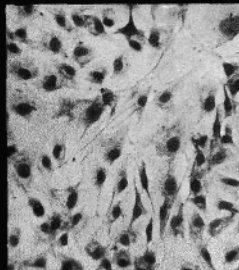
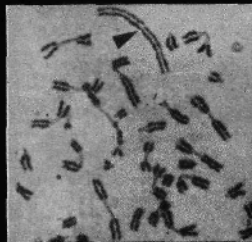
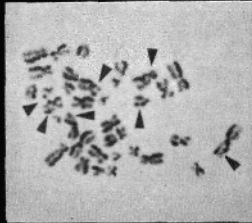
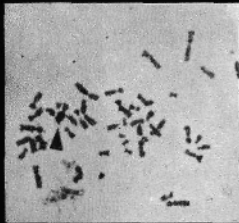
3

5



XV

1	2
3	4
5	6
7	8



XVI

1	2
3	4
5	6
7	8

## A MIKROSZKÓPI FELVÉTELEK JEGYZÉKE

### I. tábla

1. Téglalap alakú sejtek mozaikja, sötétén festődő sejtmagokkal a lóbab (Vicia faba) gyökércsúcsában. Jellegzetes eukarióta szövet (Fenlgen-festés, fáziskontraszt-mikroszkóp).
2. Dombos sejtmag  $A_1$ HT egérszejttenyészethől. Az ovális sejtmagban világos az eukromatin, sötétén festődő a heterokromatin. A nyílal jelzett szürke folt a sejtmagvacska vagy nukleolusz (Hochst-33258 előkezelés, Giemsa-festés).
3. A lóbélféreg (Ascaris megalocephala) oocita részlete csak négy kromoszómával.
4. Metafázisos lemezen elhelyezkedő kromoszómák az osztódó Ascaris oocitában. Látható a diaszter egy-egy centriólummal, és közöttük felsejlik a mitotikus orsó.
5. Anafázis Ascaris oocitában. A leánykromoszómák eltávolodott csoportjai fölött különösen élesen látszik a két centriólum.
6. Telofázis Ascaris oocitában. A kromoszómák tömörödőben, a centriólum feloszlóban. A 3, 4, 5 és 6. képet a kolozsvári Tudományegyetem 1910 körül. Apáthy-féle ezüst-nitrátos módszerrel festett preparátumáról készítettük. Apáthy István professzor vagy tanársegéde, Gelei József munkája.

### II - III. tábla

1. A mitózis „filmjének” kezdetekor a sejtben tömör sejtmag látható.
2. *Interfázis.* A Fenlgen-festést fáziskontraszt-mikroszkópia egészíti ki, ezért látható a citoplazma is.
3. *Interfázis,* de az előző felvételtől eltérően a fellazult szerkezetű, meguagyobbított sejtmag a mitózis kezdetét jelzi.
4. *Profázis eleje.* A sejtmag a kromoszómák fonálgombolyagává alakul.
5. *Profázis.* A fonálgombolyag önálló kromoszómákra szakadozik, de elhelyezkedésük még őrzi a sejtmag gömbalakját.
6. *Prometafázis.* A profázis végén, metafázis elején tovább rövidült kromoszómák a sejt közepe felé húzódnak, és már felismerhetően kettős szerkezetűek, párhuzamos kromatidákból állanak.
7. *Metafázis.* A kromoszómák centromerjükkel az ekvatoriális síkra rendeződnek.
8. *Metafázis.* A kromoszómák tovább tömörödnek, és elhelyezkednek az ekvatoriális síkban.
9. *Metafázis vége.* A maximálisan rövidült kromoszómák kromatidái távolodnak egymástól, az ekvatoriális síkban a centromerek osztódása elkezdődött.
10. *Korai anafázis.* Megindul a szétvált kromatidák (most már leánykromoszómák) vándorlása a pólusok irányába, a mitotikus orsó húzófonalai mentén.
11. *Korai anafázis.* A leánykromoszómák vándorlása folytatódik, de végeik még érintkeznek.
12. *Anafázis.* A leánykromoszómák centromerei a pólusoknál „gyülekeznek”. A még egyenként is látható kromoszómavégek már nem érintkeznek, köztük kialakul az interpoláris tér.
13. *Késői anafázis.* A leánykromoszómák „gyülekezése” a pólusoknál folytatódik. A kromoszómavégek már alig ismerhetők fel.

13. *Telo fácis*. A pólusoknál összeolvadnak az igen tömör szerkezetű kromoszómák, egyenként már *semmiképp sem* láthatók.

14. *Telo fácis vége*. A leánysejtmagok újraszerveződésével a kromoszómaszerkezet is fellazul.

15. A sejtmag osztódása (kariokinezis) befejeződött. Megkezdődik az új sejtfalak kialakulása, a *citokinezis*, mellyel már kettéoszlik a citoplazma is.

16. *Interfácis*. A mitotikus sejtosztódás végeztével a kiindulási egy helyett két új teljes értékű leánysejtet láthatunk.

#### IV. tábla

1. Balkáni gerle (*Streptopelia decaocto*) kromoszómái C-mitózisban.  $2n = 78 - 80$ . A nagy (makro-) kromoszómákat sok kis (mikro-) kromoszóma kíséri.

2. A háziégér (*Mus musculus*) csak akrocentrikusokból álló kromoszómakészlete.  $2n = 40$ . Csontvelőből készült direktpreparátum. A nyíl az Y-kromoszómát jelzi.

3. Szarvasmarha (*Bos taurus*) bikájának akrocentrikus autoszómái mellett csak a gonoszómák szubmetacentrikusak. A nagyobb nyíllal jelzett az X-, a kisebb az Y-kromoszóma. Limfocitatenyészet.

4. Juh (*Ovis aries*):  $2n = 54$ . A három pár nagy metacentrikus valószínűleg Robertson-féle transzlokációval jött létre. Csontvelő 3 órás tenyésztése.

5. Amerikai nyérc (*Mustela vison*):  $2n = 30$ . A nyíl egy szatellitahordozó kromoszómát jelez. Csontvelő-preparátum.

6. Rímber (*Homo sapiens*):  $2n = 46$ . Ebből a mitózishól készült az V. tábla első kariotípusa. Limfocitatenyészet.

#### V. tábla

1. Normális női kariotípus: 46, XX. A limfocitatenyészetből preparált, homogén Giemsa-festésű kromoszómák megkülönböztetése a C (6–12 és X), D (13–15) és G (21, 22, Y) csoportban nem biztonságos.

2. Normális férfi kariotípus: 46, XY.

3. X-monoszómiás (Turner-kóros) lány kariotípusa: 45, X.

4. Klinefelter-kóros fiú kariotípusa: 47, XXY.

5. Három X-kromoszómás Klinefelter-kóros kariotípusa: 48, XXXY.

6. Dupla Y-os férfi kariotípusa: 47, XYY.

#### VI. tábla

1. 21-es triszómiás (Down-kóros) lány kariotípusa: 47, XX, + 21.

2. Ritka kariotípus, 22-es triszómia: 47, XY, + 22.

3. Az 5-ös kromoszóma rövid karjának deléciójával született, macskanyávogásos betegségben (cri-du-chat szindróma) szenvedő csecsemő kariotípusa: 46, XX, 5p-.

4. Kölesönös transzlokáció, szakmai besugárzott radiológus limfocitatenyésztésében. Valószínűleg 46, XY, t (2q +, 4p-).

5. G-sávozott kariotípus: 46, XX. Lipsol-kezelés a Giemsa-festés előtt.

6. C-sávozott kariotípus. Különösen az 1, 9, 13 és 16-os kromoszóma centromerzonájára erős festésű. Az Y-kromoszóma hosszú karja festődik e módszerrel. Savas és bárium-hidroxidos, majd meleg sóoldatos kezelés a Giemsa-festés előtt.



## VII. tábla

Metafázisaberrációk (X-sugárral kezelt CHO kínaihörség-sejtenyészet).

1. „Gap”-ek (kromatidárek). A nyílak balról jobbra izokromatidárest, kromatidárest és többszörös kromatidárest jeleznek.
2. Két „gap” egy kromoszómán, nem izokromatida helyzetben.
- 3, 4, 5, 6, 7. Kromatidatörések.
8. Kromatida szintű transzlokáció: triradiál (kétecentromeres).

## VIII. tábla

1. Triradiál (egycentromeres), HeLa-sejten.
- 2, 3, 4, 5. Quadriradiálok (a 2. HeLa-, a többi CHO-sejten).
6. Pentaradiálnak nevezhető ritka aberráció (CHO).
- 7, 8. Szubkromatida szintű metafázisaberrációk (CHO).

## IX tábla

- 1, 2, 3, 4. Dicentrikus kromoszómák.
5. Tricentrikus kromoszóma.
6. Gyűrűkromoszóma. Kromatidárest, kettős fragmentum és egy érdekes quadriradiál látható még a felvételen.
7. Gyűrűkromoszóma (tricentrikus). Mellette több kromatidárest és egy kromatidatörés.
8. Pentacentrikus gyűrűkromoszóma. A képen még kettős „minute” is látható.

## X. tábla

1. Négy pár kettős fragmentum (minute) krómmal kezelt humán sejtenyészetben (HeLa).
2. Az S-fázis végén ultraholva (UV) sugárzással kezelt szinkronizált kínaihörség-sejtenyészetben sokszoros kromatida típusú csereaberráció látható.
3. A bisbenzimid (Hoechst-33258) klasztogén hatású is. A nyíl 7 centromeres (heptacentrikus) kromoszómát jelez.
4. Sokszoros kromoszómaaberráció röntgensugárral és erős redukáló hatású klasztogénnel (MAPS) kezelt aranyhörség-sejten (BHK).

## XI. tábla

1. Csirázó lóhal (Vicia faba). A sugárzással és mutagénnel kezelt gyökéresűcs sejteiben az anafázisok elemzése kiváló klasztogén tesztelési módszer.
2. Az interpoláris térben jól számlálhatók a letört kromoszómafragmentumok. Penlgen-festésű „squash” preparátum.
3. Fragmentumnak tűnhet (hibásan!) a Vicia M-kromoszómájának szatellitája.
4. A szatellita méretének megismerésével már kizárható a tévedés lehetősége.
5. Teljes leánykromoszóma az interpoláris térben, mellette pontszerű „minute” fragmentumok.
6. Egyszerű anafázishíd.
7. Kettős híd és kettős fragmentum. G<sub>1</sub>-ben kiváltott aberrációkat jeleznek.
8. Korai anafázisban a „gap” (kromatidárest) is megfigyelhető. Fragmentum nincs ebben az anafázisban sem (1), csak szatelliták láthatók.

## XII. tábla

1. A profázis elején kiváltott szubkromatidaberrációból származó anafázishíd (Vicia).
2. Jellegzetes, átellenes fragmentumokkal rendelkező oldalkaros híd (szubkromatidaberráció, Vicia).
3. Emlős sejtenyészet (egérembrió) oldalkaros hídja (szubkromatidaberráció).
5. Emberi eredetű sejtenyészetben (HeLa) is számlálhatók az anafázis-telofázis fragmentumok.
6. Egyszerű híd (HeLa).
7. Kettős híd, melynek egyik szála elszakad (HeLa).
8. Hídokkal összekötött hálós, tetrapoláris anafázis rákos sejtben (tüdőrákos beteg pleurális effúziója).

## XIII. tábla

1. Mikronukleuszok a lóbal (Vicia faba) gyökérsócsának sejtjeiben.
2. Mikronukleusz a sejtmgak nélküli polikromatikus vörös vértsejtben, egér esontvelőkeuetében.
3. Mikronukleusz humán limfocitatenyészetben.
4. Mikronukleusz emlős szomatikus sejtenyészetben (HeLa).
- 5, 6. A sejtmgához kapcsolódó (csatolt vagy apoptotikus) mikronukleuszok száma is mutagen — dóziszfüggő sejtenyészetben ( $A_4$ HT).
7. HeLa-sejtmgak polimikronukleációja hosszabb idejű nagyinyonású nitrogénprotoxid kezelés után.
8.  $A_4$ HT sejtmgak polimikronukleációja többnapos bisbenzimid (Hoechst 33258) kezelés nyomán.

## XIV. tábla

1. Akrocentrikus asszociáció (satellita asszociáció) két G és egy J csoportbeli kromoszóma között, humán limfocitatenyészetben.
2. Robertson-féle transzlokáció (centrikus fúzió), román piros-tarka tehén limfocitatenyészetben. A fenotípust nem, a termékenységet viszont jelentősen befolyásoló kromoszómanmutáció, mely sajnos nem is ritka.
3. A szomatikus sejtenyészetek stabilizációja során a transzlokációk és különösen a Robertson-féle centrikus fúziók nagyon gyakoriak. A felvételen négy kario-típus látható egér eredetű  $A_4$ HT sejtenyészetből. Csak a jobb oldali, kettős sorokba rendezett akrocentrikusok emlékeztetnek az egér kromoszómáira. Jellegzetes a többcentromeres marker kromoszóma (a sor elején) és a 2–3 pontszerű kromoszóma jelenléte.
4. A bisbenzimid (Hoechst 33258) az  $A_4$ HT és más egér eredetű sejtenyészetben gátolja a centromerkörnyék kondenzációját. Különlges, fonalas centromerű kromoszómák jönnek létre. Figyelfemre méltó a nyíllal jelzett marker kromoszóma szerkezete.
5. A Hoechst 33258, valószínűleg a kinetochor gátlásával okoz gyakran endoreduplikációt ( $A_4$ HT).
6. A centromer zóna heterokromatinjának csak kis része vesz részt a Hoechst 33258 hatására létrejött centromerikus fonalban, jó része továbbra is heterokromatikus blokkot alkot a fonal két végénél. Meleg sóoldatos G-sávozás ( $A_4$ HT).

#### XV. tábla

1. Korai kromoszómakondenzáció (PCC = premature chromosome condensation), nagynyomású nitrogén-protoxiddal szinkronizált mitotikus HeLa-sejtek és interfázisos HeLa-sejtek polietilénlikolos fúziójával. A képen  $G_1$ -PCC, egyszálú, résekkal tarkított kromoszómaszálakkal.
2. Korai S-PCC (HeLa  $\times$  HeLa). Az interfázisos sejtmag ködös képletté módosul.
3. Jellegzetes S-PCC (HeLa  $\times$  HeLa). A klasztogén, fuzionáló vírusok által kiváltott kromoszómaporítás (pulverizáció) képével azonos.
4.  $G_2$ -PCC (HeLa  $\times$  HeLa), tulajdonképpen a profázis korai kiváltása.
5. Mikronukleáris PCC, Hoechst 33258-cal kezelt  $A_9$ HT sejtenyészetben. A mikronukleusz kromoszómaanyaga „lemaradt” a sejteklushan, még csak késői S-PCC állapotú.
6. Mikronukleáris PCC Hoechst 33258-cal kezelt  $A_9$ HT sejtenyészetben. A már interfázisos sejtmag mellett a mikronukleusz késői  $G_2$ -PCC állapotú.

#### XVI. tábla

1. Triciummal ( $^3H$ ) jelzett radioaktív timidin (TdR) beépítése az S-fázis végén humán limfocitanyészetben. A késve replikáló kromoszómaszakaszok és különösen a nyíllal jelzett heterokromatikus X-kromoszóma fölött láthatók radioaktivitást eláruló ezüstszemcsék.
2. Differenciáltan festett kromatidájú kromoszómák testvérkromatida-cserékkel (harlekinizáció, SCE = sister chromatid exchange).
3. Tripszinémészttel G-sávozott sejthibrid mitózisa, kínaihörség-(CHO-K<sub>1</sub>) és egér-(A<sub>9</sub>HT) sejtek között. A nyílak a hőrségkromoszómákat jelzik (Sendai-vírusfúzió).
4. Hoechst 33258 előkezeléssel az előbbi sejthibridben az egérkromoszómákat elárulja a fonális centromer. A nyíl a kondenzált (de az előkezelés hatására már osztott) centromerű kínaihörség-kromoszómát jelzi.
5. Egy rétegben, rendezetten növekvő sejtkolónia szíriai hörség (*Mesocricetus auratus*) embriótenyészetében.
6. Ugyanaz a tenyészet 9 napos benzo(a)pirén-kezelés után rákosan transzformált kolóniákat tartalmaz. A sejtmorfológia megváltozik, a sejtek kontakt gátlásukat veszítve egymás fölé és rendezetlen (criss-cross) módon növekednek.

## IRODALOM

- AGUTTER P. S., RICHARDSON J. C. W., Nuclear nonchromatin proteinaceous structures: their role in the organisation and function of the interphase nucleus, *J. Cell. Sci.*, 1980, 395—435.
- ALFJ O. S., CHANG R., AZEN, S. P., Evidence for genetic control of nondisjunction in man, *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, 32, 477—483.
- ALLERDICE P. W., DAVIS J. C., MILLER O. J., KLINGER H. P., WARBURTON D., MILLER D. A., ALLEN F. J. Jr., ABRAMS C.A.L., McGIVRAY E., The 13q syndrome, *Am. J. Hum. Genet.*, 1969, 21, 499—512.
- AMES B. N., Carcinogens and anticarcinogens, in M. Sorsa, H. Vainio, (ed), *Mutagens in our Environment*, Alan R. Liss Inc N. Y., 1982, 3—19.
- ANDERSON T. F., Techniques for the preservation of three-dimensional structures in preparing specimens for electron microscope, *Tr. N. Y. Acad. Sci.*, 1951, 13, 130—133.
- ANDRES A. H., Zellstudien an Menschenkrebs, Der Chromosomale Bestand in Primärtumor und in der Metastase, *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 1932, 16, 88—122.
- ARLETT C. F., LEHMAN A. R., Human disorders showing increased sensitivity to the induction of genetic damage, *Ann. Rev. Genet.* 1978, 12, 95—115.
- ARNOLD J., Beobachtungen über Kernteilungen in der Zellen der Geschwülste, *Wircnows Arch. Path. Anat.*, 1879, 78, 279—301.
- ARRIGHI F. E., HSU T. C., Localisation of heterochromatin in human chromosomes, *Cytogenetics*, 1971, 10, 81—86.
- AUERBACH Ch., *Mutation Research. Problems, Results and Perspectives* Chapman and Hall, London, 1976.
- BACK F., The variable condition of euchromatin and heterochromatin, *Int. Rev. Cytol.*, 1976, 45, 25—54.
- BAJER A. S., Interaction of microtubules and the mechanism of chromosome movement (zipper hypothesis), *Cytobios*, 1973, 8, 139—160.
- BAK A. S. BAK P., ZEUTHEN J., Higher level organisation in chromosomes, *J. Theor. Biol.*, 1979, 76, 205—217.
- BARLOW P., The influence of inactive chromosomes on human development, *Hum. Genet.*, 1973, 17, 105—136.
- BARNET R. I., WALLACE J. A., 5-bromodeoxyuridine induced sister chromatid exchanges in primate lymphocytes, *Experientia*, 1982, 38, 542—543.
- BARR M. L., BERTRAM E. G., A morphological distinction between the neurons of the male and female and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis, *Nature*, 1949, 163, 676—677.
- BARSKI G., SORIEUL S., CORNEFERT, F., Production dans les cultures in vitro de deux souches cellulaires an association de cellules de caractere „hybride“, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 1960, 251, 1825—1827.

- BAUER W. R., CRICK F. H., Supercoiled DNA, *Scientific American*, 1980, 7, 100—113.
- BEEK B., JACKY P. B., SUTHERLAND G. R., Heritable fragile sites and micronucleus formation, *Ann. Génét.*, 1983, 26, 5—9.
- BENDER M. A., GRIGGS H. G., WALKER P. L., Mechanisms of chromosome aberration production I. Aberration production by ultraviolet light, *Mutat. Res.*, 1973, 20, 387—402.
- BLOOM A. D., Induced chromosomal aberrations in man, in *Advances in Human Genetics* (ed. H. Harris & K. Hirschhorn) Plenum Press, New York, 1972, 99—102.
- BENDER M. A., GRIGGS H. G., BEDFORD J. S., Mechanisms of chromosomal aberration production III. Chemicals and ionizing radiation, *Mutat. Res.*, 1974, 23, 197—212.
- BOBROW J., Acridine orange and the investigation of chromosome banding, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1973, 38, 435—440.
- BOBROW M., MADAN K., The effects of various banding procedures on human chromosomes studied with acridine orange, *Cytogenet. Cell. Genet.*, 1973, 12, 145—146.
- BOER P. de, TATES A. D., Radiation induced nondisjunction, in *Radiation Induced Chromosome Damage in Man*, Alan R. Liss Inc. N. Y., 1983, 299—325.
- BOICE J. D., FRAUMENI J. F., *Radiation Carcinogenesis: Epidemiology and Biological Significance*, Raven Press, N. Y., 1984.
- BOSTOCK C. I., SUMNER A. T., *The Eukaryotic Chromosome*, North Holland Publ. Co. Amsterdam, 1978.
- BOUE J., BOUE A., LAZAR P., Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions, *Teratology*, 1975, 12, 11—26.
- BOVERI Th., *Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren*, Gustav Fischer Verlag Jena, 1914.
- BRADBURY J. T., BUNGE R. G., BOCCABELLA R. A., Chromatin in Klinefelter's syndrome, *J. Clin. Endoc. Metab.*, 1956, 16, 689—693.
- BREWEN J. A., PEACOCK W. J., The effect of tritiated thymidine on sister chromatid exchange in a ring chromosome, *Mutat. Res.*, 1969, 7, 433—440.
- BRINKLEY B. R., HITTELMAN W. N., Ultrastructure of mammalian chromosome aberrations, *Int. Rev. Cytol.*, 1975, 42, 49—98.
- BROGGER A., Apparently spontaneous chromosome damage in human leukocytes and the nature of chromosome gaps, *Hum. Genet.*, 1971, 13, 1—14.
- BROGGER A., The chromatid gap — a useful parameter in genotoxicology —? *Cytogenet. Cell Genet.*, 1982, 33, 14—19.
- BROWN S. W., *Textbook of Cyto genetics*, C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1972.
- BUCKTON K., Chromosome aberrations in patients treated with X-irradiation for ankylosing spondylitis, in *Radiation Induced Chromosome Damage in Man* (ed. T. Ishihara, M. S. Sasaki), Alan R. Liss Inc., 1983, 491—512.
- BUTLER M. G., Sister chromatid exchanges in 4 human races, *Mutat. Res.*, 1981, 91, 377—379.

CARLSON P. S., SMITH H. H., DEARING R. D., Parasexual interspecific plant hybridisation, *Proc Natl. Acad. Sci., US*, 1972, 69, 2292—2294.

CAROTHERS A. D., FRACKIEWITZ A., DE MEY R., COLLYER S., POLANI P. E., OSZTOVICS M., HORVATH K., PAPP Z., MAY H. M., FERGUSON-SMITH M. A., A collaborative study of the aetiology of Turner syndrome, *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, 43, 355—368.

CARR D. H., BARR M. L., PLUNKETT E. R., An XXXX sex chromosome complex in two mentally defective females, *Canad. Med. Ass. J.*, 1961, 81, 131—138.

CARR D. H., BARR M. L., PLUNKETT E. R., GRUMBACH M. M., MORISHIMA A., CHU E., H. Y., An XXXY sex chromosome complex in Klinefelter subjects with duplicated sex chromatin., *J. Clin Endoc. Metab.*, 1961, 21, 491—505.

CARR D. H., GEDEON M., Population cytogenetics of human abortuses, in *Population Cytogenetics* (ed. E. B. Hook, I. H. Porter), Acad. Press, New York, 1977, 1—9.

CARRANO A. V., THOMPSON L. H., LINDL P. A., MINKLER J. L., Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis, *Nature*, 1978, 271, 551—553.

CASPERSSON T., FARBER S., FOLEY G. E., KUDYNOWSKI J., MODEST E. J., SIMONSON E., WAGH U., ZECH L., Chemical differentiation along metaphase chromosomes, *Exp. Cell Res.*, 1968, 49, 219—222.

CASPERSSON T., ZECH L., JOHANSSON C., MODEST E. J., Identification of human chromosomes by DNA binding fluorescing agents, *Chromosoma*, 1970, 30, 215—227.

CASTARELLI C., Cancer and chromosomes — a review, *Rev. Brasil Genet.*, 1982, 5, 595—618.

CHAGANTI R. S. K., SCHONBERG S., GERMAN J., A manyfold increase in sister chromatid exchanges in Bloom syndrome lymphocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1974, 71, 4508—4512.

CHICAGO CONFERENCE: Standardisation in human cytogenetics, *Birth Defects: Original article series 1966 II*, The National Foundation New York.

CHRUSTSCHOFF G. K., ANDRES A. H., ILJINA-KAKUJEW A. W. I., Kulturen von Blutleukozyten als Methode zum Studium der menschlichen Karyotypus, *Anat. Anz.*, 1931, 73, 159—168.

CHRUSTSCHOFF G. K. (assisted by E. A. BERLIN), Cytological investigations on cultures of normal human blood, *J. Genet.*, 1935, 31, 243—261.

COLE R. J., TAYLOR N., COLE J., ARLETT C. F., Short term tests for transplacentally active carcinogens I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts, *Mutat. Res.*, 1981, 80, 141—154.

COMINGS D. E., OKADA T. A., Mechanisms of chromosome banding VI. Whole mount electron microscopy of banded metaphase chromosomes and a comparison with pachytene chromosomes, *Exptl. Cell Res.*, 1975, 93, 267—274.

- COMINGS D. E., Structure of mammalian chromosomes, in *Physiology and Genetics of Reproduction*, ed. E. M. Coutinho, F. Fuchs, Plenum Publ., New York, 1975, 19—27.
- COMINGS D. E., Arrangement of chromatin in the nucleus, *Hum. Genet.*, 1980, 53, 131—143.
- COUNTRYMAN P. I., HEDDLE J. A., The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes, *Mutat. Res.*, 1976, 41, 321—332.
- COURT BROWN W. M., *Human Population Cytogenetics*, North Holland Publ. Co. Amsterdam, 1967.
- CZEIZEL E., DENES J., SZABO L., *Veleszületett rendellenességek*, Medicina Kiad., Budapest, 1973.
- CZEIZEL E., *Az emberi öröklődés*, Gondolat Kiad., Budapest, 1976.
- CZEIZEL E., *Genetika és társadalom*, Magvető Kiad., Budapest, 1979.
- CZEIZEL E., *Genetikai tanácsadás*, Medicina Kiad., Budapest, 1981.
- DALES S., Concerning the universality of a microtubule antigen in animal cells, *J. Cell. Biol.*, 1972, 52, 748—754.
- DARLINGTON C. D., LA COUR I., F., Nucleic acid starvation of chromosomes in *Trillium*, *J. Genet.*, 1940, 40, 185—213.
- DAVIDSON R. L., CRUZ F. de la (ed), *Somatic Cell Hybridisation*, Raven Press, New York, 1974.
- DENVER CONFERENCE: A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes, *Lancet*, 1960, i, 1063—1065.
- DIETZ R., *Bau und Funktion des Spindelapparates*, Naturwissenschaften, 1969, 56, 237—248.
- DRETS M. E., SHAW M. W., Specific banding patterns of human chromosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1971, 68, 2073—2077.
- DUDITS D., RASKÓ I., HADLACZKY GY., LIMA DE FARIA A., Fusion of human cells with carrot protoplasts induced by polyethylene glycol, *Hereditas*, 1976, 82, 121—124.
- DUPRAW E. J., Evidence for a „folded fibre” organisation in human chromosomes, *Nature*, 1966, 209, 577.
- DUPRAW E. J., BAHR G. F., The arrangement of DNA in human chromosomes as investigated by quantitative electron microscopy, *Acta Cytol.*, 1969, 13, 188—192.
- DUPRAW E. J., Quantitative constraints, in the arrangement of human DNA, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, 38, 87—99.
- DUSTIN P., *Microtubules*, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1978.
- DUTRILLAUX B., LEJEUNE J., Sur le nouvelle technique d'analyse du caryotype humain, *C. R. Acad. Sci., Paris*, 1971, 272, 2638—2640.
- DUTRILLAUX B., Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T, *Chromosoma*, 1973, 41, 395—402.
- DUTRILLAUX B., COVIC M., Etude de facteurs influençant la denaturation thermique ménagée des chromosomes, *Exptl. Cell Res.*, 1974, 85, 143—153.
- EDWARDS J. H., HARNDEN D. G., CAMERON A. H., CROSSE V. M., WOLFF O. H., A new trisomic syndrome, *Lancet*, 1960, i, 787—790.

EMERY A. E. H. (ed), Antenatal Diagnosis of Genetic Disease, Churchill Livingstone Co., 1973.

EVANS H. J., SCOTT D., The induction of chromosome aberrations by nitrogen mustard and its dependence on DNA synthesis, *Proc. Roy. Soc. Biol.*, 1969, 173, 491—512.

EVANS H. J., BUCKLAND R. A., PARDUE M. L., Location of the genes coding for 18 S and 28 S ribosomal RNA in the human genome, *Chromosoma*, 1974, 48, 405—415.

EVANS H. J., RIORDAN M. L., Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests, *Mutat. Res.*, 1975, 31, 135—148.

EVANS H. J., Human cytogenetics: molecular aspects, in: *Human Genetics*, ed. S. Armendares, R. Lisker, Excerpta Medica, 1977, 82—97.

EVANS H. J., What are sister chromatid exchanges?, in: *Chromosomes Today* (ed. A. De la Chapelle, M. Sorsa) Elsevier, North Holland Publ. 1977, 6, 315—326.

EVANS H. J., BUCKTON K. E., HAMILTON G. E., CAROTHERS A., Radiation induced chromosome aberrations in nuclear dockyard workers, *Nature*, 1979, 277, 531—534.

FEINGOLD M., ATKINS L., A case of trisomy 9, *J. Med. Genet.*, 1973, 10, 184—187.

FEKETE GY., A chromosomák elektronmikroszkópos vizsgálata, in: *A humán chromosoma aberrációk jelentősége a klinikumban* (ed. Schuller D), Akad. Kiad., Budapest, 1977, 54—69.

FELSENFELD G., Chromatin, *Nature*, 1978, 271, 115—122.

FERGUSON-SMITH M. A., HANDMAKER S. D., Observations on the satellited human chromosomes, *Lancet*, 1961, ii, 638—640.

FERGUSON-SMITH M. A., PAGE B. M., Pachytene analysis in human reciprocal (10:11) translocation, *J. Med. Genet.*, 1973, 10, 283—286.

FERGUSON-SMITH M. A., Prospective data on risk of Down syndrome in relation to maternal age, *Lancet*, 1976, 2, 252—262.

FINCH J. T., LUTTER L. C., RHODES D., BROWN R. S., RUSH-TON B., LEWITT M., KLUG A., Structure of nucleosome core particles of chromatin, *Nature*, 1977, 269, 29—36.

FLEISCHMANN T., GUSTAVSSON T., HAKANSSON C. H., Computer display of the chromosomal fluorescence pattern, *Heredites*, 1971, 68, 325—342.

FLEMING W., *Zellsubstanz, Kern und Zellteilung*, Vogel Verlag Leipzig, 1882.

FORD C. E., JONES K. W., POLANI P. E., ALMEIDA J. C. de, BRIGGS J., A sex chromosomal anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner syndrome), *Lancet*, 1969, i, 711—713.

FRACCARO M., LINDSTEN J., A child with 49 chromosomes, *Lancet*, 1960, ii, 1303.

FUCHS F., Genetic amniocentesis, *Scientific American*, 1980, 242, 37—43.

FUNAKI K., MATSUI S., SASAKI M., Location of nucleolar organisers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique, *Chromosoma*, 1975, 49, 357—370.



GAIJAARD H., European experience with prenatal diagnosis of congenital disease: a survey of 6121 cases, *Cytogenet. Cell Genet.*, 1976, 16, 453—467.

GALL J. G., PARDUE M. L., Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations, *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1969, 63, 378—383.

GAVRILĂ I., DABALA J., Descifrind tainele eredității, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.

GEORMĂNEANU M., Patologie indusă prenatal, Ed. Medicală, București, 1978.

GERMAN J., Chromosome breakage syndromes, *Birth Defects*, 1969, 5, 117—131.

GERMAN J., The association of chromosome instability, defective DNA repair and cancer in some rare human genetic diseases, in *Human Genetics* (ed. S. Armendares, R. Lisker) *Excerpta Medica*, 1977, 64—68.

GIBSON D. A., PRESCOTT D. M., Induction of sister chromatid exchanges in chromosomes of rat kangaroo cells by tritium incorporated into DNA, *Exptl. Cell. Res.*, 1972, 74, 397—402.

GIRAUD F., MATTEY J. F., Aspects épidémiologiques de la trisomie 21, *J. Génét. Hum.*, 1975, 23, 1—30.

GOETZ P., SRAM R. J., DOHNÁLOVA J., Relationship between experimental results in mammals and man I. Cytogenetic analysis of bone marrow injury induced by a single dose of cyclophosphamide, *Mutat. Res.*, 1975, 31, 247—254.

GOLOMB H. M., BAHR G. F., Analysis of an isolated metaphase plate by quantitative electron microscopy, *Exptl. Cell. Res.*, 1971, 68, 65—72.

GOODPASTURE C., BLOOM S., Visualisation of nucleolar organisers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique, *Chromosoma*, 1975, 49, 357—370.

GORDON R. R., COOKE P., Ring 1 chromosome and microcephalic dwarfism, *Lancet*, 1964, ii, 1212—1213.

GROUCHY J. de, ROYER P., SALMON C., LAMY M., Deletion partielle des bras longs du chromosome 18, *Pathol. Biol.*, 1964, 12, 579—582.

GROUCHY J. de, TURLEAU C., LÉONARD C., Etude en fluorescence d'une trisomie C mosaïque probablement 8: 46,XY/47,XY+8, *Ann. Génét.*, 1971, 14, 69—72.

GROUCHY J. de, TURLEAU C., *Atlas of Human Chromosomes*, Wiley Med. Publ., New York, 1977.

GRUMBACH M. M., BLANC W. A., ENGE E. T., Sex chromatin pattern in seminiferous tubule dysgenesis and other testicular disorders: relationship to true hermaphroditism and to Klinefelter's syndrome, with a review of gonadal ontogenesis, *J. Clin. Endocrin.*, 1957, 17 suppl.

GUZDEV A. D., REZNIK N. A., Evidence for the unipennity of eukaryotic chromatids, *Chromosoma*, 1981, 82, 1—8.

GUNDY S., VARGA L., BENDER M. A., Sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes exposed to ionizing radiation in vivo and in vitro, *Radiat. Res.*, 1984, 100, 47—54.

GUNTHER E., *Grundriss der Genetik*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1971.

HADLACZKY G., SUMNER A. T., ROSS A., Protein depleted chromosomes I., II., *Chromosoma*, 1981, 81, 537—555, 557—567.

HADLACZKY G., PRAZNOVSZKY T., BISZTRAY G., Structure of isolated protein depleted chromosomes of plants, *Chromosoma*, 1982, 86, 643—689.

HADLACZKY G., PRAZNOVSZKY T., BISZTRAY G., DUDITS D., Mass isolation of plant chromosomes and nuclei, *Planta*, 1983, 157, 273—285.

HANNAH A., Localisation and function of heterochromatin in *Drosophila melanogaster*, *Adv. Genet.*, 1951, 4, 87—127.

HARDEN D. G., The relationship between induced chromosome aberrations and chromosome abnormality in tumour cells, in: Armen-dares S., Lisker R. (ed), *Human Genetics*, Excerpta Medica Publ., 1977, 356—366.

HARRIS M., *Cell Culture and Somatic Variation*, Holt, Rinehard and Winston, 1964.

HARRIS H., WITKINS J. F., Hybrid cells derived from mouse and man: artificial, heterokaryons of mammalian cells from different species, *Nature*, 1965, 205, 640—646.

HEARST J. E., BOTCHAN M., The eukaryotic chromosomes, *Ann. Rev. Biochem.*, 1970, 39, 151—182.

HEDDLE J. A., BODYCOTE D. J., On the formation of chromosomal aberrations, *Mutat. Res.*, 1970, 9, 117—126.

HEDDLE J. A., KREPINSKY A. B., MARSHALL R. R., Cellular sensitivity to mutagens and carcinogens in the chromosome breakage and other cancerprone syndromes, in: *Chromosome Mutation and Neoplasia*, Alan R. Liss Inc., 1983, 203—234.

HEITZ E., *Das Heterochromatin der Moose I.*, *Pringsheims Jahrb. Wiss. Bot.*, 1923, 69, 762—818.

HENDERSON A. S., Cytological hybridisation to mammalian chromosomes, *Int. Rev. Cytol.*, 1982, 76, 1—41.

HEWISH D. R., BURGOYNE L. A., Chromatin sub-structure. The digestion of chromatin DNA at regularly spaced sites by a nuclear deoxyribonuclease, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1973, 52, 504—510.

HILLWIG I., GROPP A., Staining of constitutive heterochromatin in mammalian chromosomes with a new fluorochrome, *Exptl. Cell Res.*, 1972, 75, 122—126.

HILLWIG I., GROPP A., Decondensation of constitutive heterochromatin in L cell chromosomes by a benzimidazol compound („33258 Hoechst“), *Exptl. Cell Res.*, 1973, 81, 474—476.

HITTELMAN W. N., RAO P. N., Premature chromosome condensation II; The nature of chromosome gaps produced by alkylating agents and ultraviolet light, *Mutat. Res.*, 1974, 23, 259—266.

HITTELMAN W. N., Premature chromosome condensation in the diagnosis of malignancies, in: *Premature Chromosome Condensation* (ed. W. Hittelman, P. Rao), Acad. Press., 1983.

HOOFMAN R. N., RAAT W. K., Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern

- mundminnow *Umbra pygmaea* by ethylmethane sulphonate, *Mutat. Res.*, 1982, 104, 147—152.
- HOLM G., BAJER A., Cine micrographic studies on mitotic spiralisation cycle, *Hereditas*, 1966, 54, 356—375.
- HOLMQUIST G. P., COMINGS D. E., Histones and G banding of chromosomes, 1976, 193, 599—602.
- HOLLSTEIN M., McCANN Y., ANGELOSANTO F. A., NICHOLS W. W., Short term tests for carcinogens and mutagens, *Mutat. Res.*, 1979, 65, 133—266.
- HOOK E. B., HAMERTON J. L., The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborn studies — differences between studies — results by sex and by severity of phenotypic involvement, in: *Population Cytogenetics* (ed. E. B. Hook, I. M. Porter) Acad. Press, New York, 1977, 63—79.
- HOWARD A., PELC S. R., Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage, *Heredity*, 1953, 6, 261—274.
- HSU T. C., POMERAT C. M., Mammalian chromosomes in vitro II. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture, *J. Hered.*, 1953, 44, 23—29.
- HSU T. C., BENIRSCHKE K., *An Atlas of Mammalian Chromosomes I—X*, Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1967.
- HSU T. C., Longitudinal differentiation of chromosomes, *Ann. Rev. Genet.*, 1974, 7, 153—175.
- HSU T. C., PATHAK S., SHAFER D. A., Induction of chromosome crossbanding by treating cells with chemical agents before fixation, *Exptl. Cell Res.* 1973, 79, 484—487.
- HSU T. C., Human and Mammalian Cytogenetics. An Historical Perspective, Springer Verlag, New York—Heidelberg—Berlin, 1979.
- HUBERMAN J. A., Structure of chromosome fibers and chromosomes, *Ann Rev. Biochem.*, 1973, 355—378.
- HUGHES A., Some effects of abnormal tonicity on dividing cells in chick tissue cultures, *Q. J. micr. Sci.*, 1952, 93, 207—219.
- HUNGERFORD D. A., Leucocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl, *Stain Technol.*, 1965, 40/6, 333—338.
- HUNGERFORD D. A., Some early studies of human chromosomes, 1979—1953, *Cytogenet. Cell Genet.*, 1978, 20, 1—11.
- HURGOIU V., IMREH Ș., Trisomie 22, *Pediatrics*, 1983, 32, 181—185.
- IGALJ S., Választás vagy véletlen, *Natura*, Budapest, 1976.
- IGALJ S., Környezeti mutagenézis, in: *A biológia aktuális problémái* (ed. Csaba Gy.) 1977, 11, 143—237.
- IMREH Ș., ÚRAY Z., HOLAN T., LAZÁNYI A., Radioprotective effectiveness of Luvatrene on the X-ray induced chromosome breakage-reunion proces in *Vicia faba*, *Studia Biophys.*, Berlin, 1971, 29, 205—210.
- IMREH Ș., Contribuții la studiul procesului radioindus de rup-tură reunire cromozomial prin substanțe radioprotectoare și radiosensibilizatoare, Teză de doctorat, Acad. R.S.R., Fil. Cluj, 1973.

IMREH Șt., MILCUTIA M., IMREH P., Efectul cromozomal tardiv al tratamentului cu doze medii de radioiod al hipertiroidismului, *Radiologia*, 1976, 15/3, 229—236.

IMREH Șt., RASKÓ I., HADLACZKY Gy., Identification of the mouse chromosomes in rodent somatic cell hybrids, *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, 1976, 27/1, 71—74.

IMREH Șt., Chromosomal radiosensitisation by bismuth in *Vicia faba*, *Radiobiol. Radiother.*, Berlin, 1976, 5, 607—610.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Estimarea riscului genetic în iradierea medicală și posibilitățile de investigare, în: *Probleme de Radiobiologie și Medicină Nucleară* (ed. D. Rădulescu), Acad. R.S.R., Fil. Cluj, 1977, 141—154.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., COVALCIC M., FAZAKAS E., RADU F., VALEANU A., Efectul citogenetic al iradierii diagnostice I. Histerosalpingografia, *Radiologia*, 1978, 14/7, 301—312.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Schimburi între cromatide surori (SCE). Efectul radiofosforului, *Clujul Medical*, 1979, 52/2, 143—148.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Dozimetria cromozomială în iradieri accidentale, *Radiologia*, 1980, 18, 151—160.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., KOVÁCS M., COSTEA D., Efectul cromozomal tardiv și problema controlului citogenetic în radioterapia spondilăritei anchilopoietice, *Radiologia*, 1981, 19, 61—66.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Cytogenetic effects of chromium in vivo and in vitro, *Mutat. Res.*, 1982, 97, 192—193.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Micronuclei in mutagenicity testing of drugs (review). *Proc. of 6th CMEA symposium on Drug Toxicity*, Cluj-Napoca, 1—2. Sept. 1983, 61—77.

IMREH I., Micronucleus: a historical review, *Symp. Perspectives in Medical Genetics*, 4—8. Júl. 1983, Szeged, Hungary.

IMREH Șt., URAY Z., RĂDULESCU D., Anticlastogenic effect of Leucotrofina?, 1984, közlés alatt.

IMREH Șt., RĂDULESCU D., Radiobiologie, radiogenetică; în: *Radiologie Medicală* (ed. D. Rădulescu) I—II, IMF Cluj, 1983, 18—24.

IMREH Șt., BOLOGA-CAMPEANU M., RĂDULESCU D., GOZARIU L., Gonosomal aneuploidy syndromes and micronucleation, *Clujul Medical*, 1984, 57, 41—43.

IMREH Sz. I., Huhogunk vajon? Kérde egy genetikus, *TETT*, 1983, 3, 18—24.

IMREH Șt., FAZAKAS E., RĂDULESCU D., Sindrom Fanconi diagnosticat citogenetic, 1985, közlés alatt.

IKEUCHI T., SANBE M., WEINFELD H., SANDBERG A. A., Induction of nuclear envelopes around metaphase chromosomes after fusion with interphase cells, *J. Cell Biol.*, 1971, 51, 104—115.

ISCN—1978, An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, *Cytogenet. Cell Genet.*, 1978, 21/6, 310—409.

ISHIHARA T., KUMATORI T., Cytogenetic studies on fishermen exposed to fall-out radiation in 1954, în: *Human Radiation Cytogenetics* (ed. H. J. Evans, V. M. Court Brown, A. S. McLean), North Holland Co. Amsterdam, 1967, 144—165.

- JACOBS P. A., STRONG J. A., A case of human intersexuality having a possible XXY sex determining mechanism, *Nature*, 1959, 183, 302.
- JACOBS P. A., BRUNTON M., MELVILLE M. M., BRITTAIN R. P., McCLEMMONT W. F., Aggressive behaviour, mental subnormality and the XYY male, *Nature*, 1965, 208, 1351—1352.
- JACOBS P. A., BAIKIE A. G., COURT BROWN W. N., MAC GREGOR T. N., MAC LEAN N., HARNDEN D. G., Evidence for the existence of the human superfemale, *Lancet* 1969, ii, 423—425.
- JENSSEN D., RAMEL C., The micronucleus test as a part of a short term mutagenicity test program, for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested, *Mutat. Res.*, 1980, 75, 191—202.
- JOHN B., LEWIS K. R., Somatic cell division, in: *Oxford Biology Readers* (ed. J. J. Head, O. E. Lowenstein), Oxford Univ. Press, 1972.
- JOHNSON, R. T., RAO P. N., Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei, *Nature*, 1970, 226, 717—722.
- KATO H., YOSHIDA T. H., Banding patterns of chinese-hamster chromosomes revealed by new techniques, *Chromosoma*, 1972, 36, 272—280.
- KATO H., Spontaneous and induced sister chromatid exchanges as revealed by the BUdR-labeling method, *Int. Rev. Cytol.*, 1977, 49, 55—93.
- KERENYI T., HIRSCHORN K., Prenatal cytogenetic diagnosis: first 1000 successful cases, *Am. J. Med. Genet.*, 1978, 2, 365—383.
- KESAREE N., WOOLEY P. V., A phenotypic female with 49 chromosomes presumably XXXXX, *J. Pédiat.*, 1963, 63, 1099—1103.
- KIHLMAN B. A., Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations, *Mutat. Res.*, 1975, 31, 401—412.
- KIM M. A., GRZESCHIK K. H., A method for discriminating murine and human chromosomes in somatic cell hybrids, *Exptl. Cell Res.*, 1974, 88, 406—410.
- KIRSCH-VOLDERS M., HENS L., ASHLEY T., VERSHAEEVE I., SUSANNE C., Comparison of chromosome associations in human lymphocytes arrested by colcemid, nocodazole or cycloheximide, *Canad. J. Genet. Cytol.*, 1983, 25/3, 304—311.
- KLEIN G., Development of a spectrum of ascites tumors, *Exptl. Cell Res.*, 1951, 2, 291—294.
- KLEIN G., Comparative studies of mouse tumors with respect to their capacity of growth as „ascites tumors“ and their average nucleic acid content per cell, *Exptl. Cell Res.*, 1951, 2, 518—573.
- KLEIN G., The role of gene dosage and genetic transpositions in carcinogenesis, *Nature*, 1981, 294, 313—318.
- KLEIN G., Viruses and Cancer, preprint, 1983.
- KLEINSCHMIDT A. K., LANG D., PLESCHER C., HELLMAN W., HASS J., ZAHN R. K., HAGEDORN A., Über die intrazelluläre formation von Bakterien DNS, *Z. Naturforsch.*, 1961, 16 B, 730—739.
- KLINEFELTER H. F., REIFENSTEIN E. C., ALBRIGHT F., Syndrome characterised by gynecomastia, aspermatogenesis without aleydism and increased excretion of follicle stimulating hormone, *J. Clin. Endocr.*, 1942, 2, 615—627.

1. KOLLER P. C., Abnormal mitosis in tumors, *Br. J. Cancer*, 1947, 1, 38—47.
- KORF B. R., SCHUH B. E., SALVEN M. J., WARBURTON D., MILLER O. J., The role of trypsin in the pre-treatment of chromosomes for Giemsa banding, *Hum. Genet.*, 1976, 31, 27—33.
- KORNBERG R. D., Chromatin structure: repeating unit of histones and DNA, *Science*, 1974, 184, 868—871.
- KORNBERG R. D., Thomas J. O., An octamer of histones in chromatin and free in solution, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1975, 72/7, 2626—2630.
- KORNBERG R. D., KLUG A., The nucleosome, *Scientific American*, 1981, 2, 48—60.
- KREPINSKY A. B., HEDDLE J. A., GERMAN J., Sensitivity of Bloom-syndrome lymphocytes to ethylmethanesulphonate, *Hum. Genet.*, 1979, 50, 151—156.
- KUCHERLAPATI R. S., HILLWIG I., GROPP A., RUDDLE F. H., Mammalian chromosome identification in interspecific hybrid cells using „Hoechst 33258“, *Humangenetik*, 1975, 27, 9—14.
- LA CHAPPELLE A., HORTLING H., NIEMI M., WENNSTRÖM J., XX sex chromosomes in a human male. First case. *Acta med. Scand.*, 1964, 412, 25—38.
- LAEMMLI U. K., CHENG S. M., ADOLPHI D. W., PAULSON J. R., BROWN J. A., BRAUMBACH W. R., Metaphase chromosome structure: role of nonhistone proteins, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1977, 42, 351—360.
- LAJTHA L. G., On the concept of the cell cycle, *J. Cell Comp. Physiol.*, 1963, 62, 143—145.
- LAMBERT B., LINDBLAD A., NORDENSKJÖLD M., WERELJUS B., Increased frequency of sister chromatid exchanges in cigarette smokers, *Hereditas*, 1978, 88, 147—149.
- LATT S. A., Microfluorimetric analysis of DNA synthesis in human metaphase chromosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1973, 70, 3395—3399.
- LATT S. A., Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by Mitomycin C, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1974, 71, 3162—3166.
- LATT S. A., Localisation of sister chromatid exchanges in human chromosomes, *Science*, 1974, 185, 74—76.
- LATT S. A., Sister chromatid exchange formation, *Ann. Rev. Genet.*, 1981, 15, 11—55.
- LAWLER S. D., REEVES B. R., Chromosome studies in man: past achievements and recent advances, *J. Clin. Pathol.*, 1976, 29, 569—582.
- LAZANYI A., Über die biologische Wirkung von Sulfonamiden, *Biol. Zbl.*, 1965, 84, 9—23.
- LAZANYI A., The effect of sulphoquinidine in Co-gamma-irradiated G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> cells on the incompleteness of exchanges and the question of gaps in *Vicia faba* L., *Mutat. Res.*, 1968, 6, 67—79.
- LAZANYI A., Aberații cromozomale induse de radiații ionizante, in: *Radiobiologia* (ed. N. Racoveanu), Ed. Știință, București, 1970, 222—245.
- LAZANYI A., Atörökés és evolúció, *Kritérium*, Bukarest, 1982.

LEA D. E., *Actions of Radiations on Living Cells*, Cambridge Univ. Press, London, 1962.

LEENHOUTS H. P., CHADWICK K. H., Radiation induced DNA double strand breaks and chromosome aberrations, *Theor. Appl. Genet.*, 1974, 44, 167—172.

LEHMAN A. R., STEVENS S., The production and repair of double strand breaks in cells from normal humans and from patients with ataxia telangiectasia, *Biochem. Biophys. Acta*, 1977, 474, 49—60.

LEJEUNE J., GAUTIER M., TURPIN R., Les chromosomes humains en culture de tissus, *C. R. Acad. Sci.*, 1959, 248, 602—603.

LEJEUNE J., GAUTIER M., TURPIN R., Etude des chromosomes somatiques de neuf enfant mongoliens, *Compt. Rend.*, 1959, 248, 1721—1722.

LEJEUNE J., LAFOURCADE J., BERGER R., VIALATTE J., BOESWILLWALD M., TURPIN R., Trois cas de deletion partielle du bras court d'un chromosome 5, *C. R. Acad. Sci.*, 1963, 257, 3098—3102.

LEJEUNE J., BERGER R., RETHORE M. O., JEROME H., THIEFFRY S., AICARDI J., BROYER M., LAFOURCADE J., CRUVEILLER J., TURPIN R., Monosomie partielle pour un petit acrocentrique, *C. R. Acad. Sci.*, 1964, 16, 265—266.

LEJEUNE J., LAFOURCADE J., BERGER R., RETHORE M. O., Maladie du cri du chat et sa réciproque, *Ann. Genet.*, 1965, 8, 11—15.

LELE K. P., PENROSE L. S., STALLARD H. B., Chromosome deletion in a case of retinoblastoma, *Am. J. Hum. Genet.*, 1963, 27, 171—174.

LI J. G., OSGOOD E. E., A method for the rapid separation of leucocytes and nucleated erythrocytes from blood or marrow with a phytohemagglutinin from red beans (*Phaseolus vulgaris*), *Blood*, 1949, 4, 640—675.

LIN M. S., LATT S., DAVIDSON R. L., Identification of human and mouse chromosomes in human-mouse hybrids by centromere fluorescence, *Exptl. Cell Res.*, 1974, 87, 429—433.

LEONARD A., Cytogenetic effects of ionizing radiations in somatic cells from experimental mammals and extrapolation to man, in: *Radiation Induced Chromosome Damage in Man* (ed. T. Ishihara, M. S. Sasaki) Alan R. Liss, N. Y., 1983, 561—583.

LERNJA R. Di, Analisi delle associazioni nei cromosomi acrocentrici umani, *ATTI*, 1980, 26, 127—130.

LIEM S. L., DENTON T. E., CHENG K. M., Distribution patterns of satellite associations in human lymphocytes relative to age and sex, *Clin. Genet.*, 1977, 12, 104—110.

LILLEY D. M. J., PARDON, J. F., Structure and function of chromatin, *Ann. Rev. Genet.*, 1979, 13, 197—233.

LIN M. S., WERTELECKI W., Evidence that sister chromatid exchanges and chromatid breaks are two independent events, *Chromosoma*, 1982, 85, 413—419.

LITTLEFIELD J. W., Selection of hibrids from matings of fibroblasts in vitro and their presumed recombinants, *Science*, 1964, 145, 709—710.

LONDON CONFERENCE on the Normal Karyotype, *Cytogenetics*, 1963, 2, 264—268.

- LUBS H. A., A marker X chromosome, *Am. J. Hum. Genet.*, 1969, 21, 231—244.
- LUNDSTEEN C., PHILIP J., GRANUM E., Quantitative analysis of 6985 digitized trypsin G-banded human metaphase chromosomes, *Clin. Genet.*, 1980, 18, 355—370.
- LYON M. F., Gene action in the X-chromosome of the mouse, *Nature*, 1961, 190, 372—373.
- MAC LEAN N., MITCHEL J. M., HARNDEN G. D., WILLIAMS J., JACOBS P. A., BUCKTON K. E., BAIKIE A. G., COURT BROWN W. M., McBRIDE J., STRONG J. A., CLOSE H. G., JONES D. C., A survey of sex chromosome abnormalities among 4514 mental defectives, *Lancet*, i, 293.
- MAIO J. J., SCHILDKRAUT C. L., in: *Methods in Cell Physiology* (ed. D. M. Prescott) 1966, 2, 113—130.
- MAKINO S., NISHIMURA I., Water pretreatment squash technique: a new and simple practical method for the chromosome study of animals, *Stain Technol.*, 1952, 27, 1—7.
- MANOLOV G., MANOLOVA Y., A marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas, *Nature*, 1972, 237, 33—34.
- MARIN G., PRESCOTT D. M., The frequency of sister chromatid exchanges following exposure to varying doses of  $H^3$  thymidine or X rays, *J. Cell Biol.* 1964, 21, 159—167.
- MARINI D. M. de, Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate, *Mutat. Res.*, 1983, 114, 59—83.
- MARK J., Chromosomal characteristics of secondary brain tumors, *Eur. J. Cancer*, 1972, 8, 399—407.
- MARQUARDT H., Neuere Auffassungen über einige probleme aus der Pathologie der Kernteilung, *Naturwissenschaften*, 1950, 37, 416—424.
- MARQUARDT H., Natürliche und künstliche Erbänderungen, Hamburg, 1957.
- MARSDEN M. P. F., LAEMMLI U. K., Metaphase chromosome structure: evidence for a radial loop model, *Cell*, 1979, 17, 849—858.
- MARTIN J. P., BELL J., A pedigree of mental defect showing sex linkage, *J. Neur. Psychiatr.*, 1943, 6, 154—157.
- MATSUI S. J., SASAKI M., Differential staining of nucleolus organisers in mammalian chromosomes, *Nature*, 1973, 246, 148—150.
- MAXIMILIAN C., DUCA-MARINESCU D., Sfaturi genetice. Ed. Serisul Românesc, Craiova, 1977.
- MAXIMILIAN C., IONESCU B., Citogenetică medicală umană, Ed. Acad. R.S.R., 1978.
- MAXIMILIAN C., Genetica umană, Ed. Științ. Encicloped., București, 1982.
- McCLINTOCK B., A cytological and genetical study of triploid maize, *Genetics*, 1929, 14, 180—222.
- McCLINTOCK B., The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behaviour of ring shaped chromosomes, *Genetics*, 1938, 23, 315—376.
- McCLINTOCK B., Chromosome organisation and genic expression, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1951, 16, 13—47.
- McINTOSH J. R., HEPLER P.-K., VAN WIE D. G., Model for mitosis, *Nature*, 1969, 224, 659—663.



MEHES K., Non-random centromere division: a mechanism of non-disjunction causing aneuploidy, *Hum. Hered.*, 1978, 28, 255—260.

MICHEL W., Über die experimentelle Fusion pflanzlicher Protoplasten, *Arch. Expl. Zellforsch.*, 1937, 20, 230—252.

MIKKAELSEN M., POULSEN H., GRINSTED J., LANGE A., Non-disjunction in trisomy 21. Study of chromosomal heteromorphism in 110 families, *Ann. Hum. Genet.*, 1980, 44, 17—28.

MILLER O. L., BEATTY B. R., Portrait of a gene, *J. Cell Physiol.*, Suppl. 1, 1969, 74, 225—230.

MILLER R. W., Persons with exceptionally high risk of leukemia, *Cancer Res.*, 1967, 27, 2420—2423.

MILLER D. A., ERLANGER B. F., Immunochemical probes of human chromosome organization, *Pathobiology Ann.* (ed. H. L. Iochim), Appleton, New York, 1975.

MILUNSKY A., The prenatal diagnosis of hereditary disorders, Charles C. Thomas Ed., Springfield, 1973.

MOISIER H. D., SCOTT L. W., Sexually deviant behavior in Klinefelter's syndrome, *J. Pediatr.*, 1960, 57, 479—483.

MOORE K. L., The Sex Chromatin, W. B. Saunders Co., Philadelphia, London, 1966.

MOORHEAD P. S., NOWELL P. C., MELMANN W. J., BATTIPS D. M., HUNGERFORD D. A., Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood, *Exptl. Cell Res.*, 1960, 20, 613—616.

MOORHEAD P. S., A closer look at chromosomal inversions, *Am. J. Hum. Genet.*, 1976, 28, 294—296.

MORISHIMA A., GRUMBACH M. M., TAYLOR J. H., Asynchronous duplication of human chromosomes and the origin of sex chromatin, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1962, 48, 756—763.

MOUTSCHEN J., Fine structure of chromosomes as revealed by fluorescence analysis, *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 1976, 31, 39—66.

MULDAL S., OCKEY C. H., The „double“ male: a new chromosome constitution in Klinefelter syndrome, *Lancet*, 1960, ii, 492.

MURKEN J. D., BAUCHINGER I., PALITZCH D., PFEIFFER H., SUSCHKE J., HAENDLE H., Trisomie D2 bei einem 2 1/2 jähriger Mädchen (47, XX, 14+), *Humangenetik*, 1970, 10, 254—268.

MULLER H. J., The problem of genic modification, Fifth Int. Genetics Congress Berlin, Z. Ind. Abst. Vererb. Lehre, 1927, I., 234—260.

NAGAO M., SHIGIMURA T., MATSUSHIMA T., Environmental mutagens and carcinogens, *Ann. Rev. Genet.*, 1978, 12, 117—159.

NATARAJAN A. T., OBE G., DNA repair and chromosome aberrations, in: Radiation Induced Chromosome Damage in Man (ed. T. Ishihara, M. S. Sasaki), Alan R. Liss Inc. New York, 1983, 127—140.

NATARAJAN A. T., ZWANENBURG T. S. B., Mechanism for chromosomal aberrations in mammalian cells, *Mutat. Res.*, 1982, 95, 1—6.

NATARAJAN A. T., OBE G., Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations III., *Restriction endonucleases*, *Chromosoma*, 1984, 90, 120—127.

NIEKERK W. A. Van, Chromosomes and the gynecologist, *Am. J. Obst. Gynec.*, 1978, 130/8, 862—875.

NIELSEN J., JOHNSEN S. C., SORENSSEN K., Follow up 10 years later of 34 Klinefelter males with karyotype 47, XXY and 16 hypogonadal males with karyotype 46, XY, *Psychol. Med.*, 1980, 10, 345—352.

NILSSON C., HANSSON A., NILSSON G., Influence of thyroid hormones on satellite association in man and the origin of chromosome abnormalities, *Hereditas*, 1975, 80, 157—160.

NOWELL P. C., Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes, *Cancer Res.*, 1960, 20, 462—467.

NOWELL P. C., HUNGERFORD D. A., Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1969, 25, 85—109.

OBE G., NATARAJAN A. T., PALITTI F., Role of DNA double-strand breaks in the formation of radiation induced chromosomal aberrations, in: *Progress in Mutation Research* (ed. A. T. Natarajan), Elsevier Biomed. Press, Amsterdam, 1982.

OBE G., RISTOW H., Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol, *Mutat. Res.*, 1979, 65, 229—259.

OHNO S., *Sex Chromosomes and Sex-linked Genes*, Springer Verlag, Heidelberg, 1967.

OKADA Y., MURAYAMA F., Multinucleated giant cell formation by fusion between cells of two different strains, *Exptl. Cell Res.*, 1966, 44, 527—551.

OKADA S., *Radiation Biochemistry*, vol. 1. Cells, Acad. Press, New York, London, 1970.

OKADA T. A., COMINGS D. E. A search for protein cores in chromosomes: is the scaffold an artifact? *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, 32, 814—832.

OLINICI C. D., *Cromozomii în cancer*, Ed. Medicală, București, 1978.

OLINICI C. D., *Citogenetica clinică*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1983.

OLINS A. L., OLINS D. E., Spheroid chromatin units (V bodies), *Science*, 1974, 183, 330—332.

OPITZ J. M., SUTHERLAND G., Conference Report: International Workshop on the fragile X and X-linked Mental Retardation, *Am. J. Med. Genet.*, 1984, 17, 5—94.

OSZTOVICS M., Nemi kromatinok, in: *A human chromosomal aberrations significance in a clinicum* (ed. Schuler D.), Akadémiai Kiad., Budapest, 1977, 73—82.

OSZTOVICS M., IVADY G., A case of 22-trisomy mosaic, *Acta Paed. Acad. Sci. Hung.*, 1977, 18, 197—200.

PAINTER R. B., A replication model for sister chromatid exchanges, *Mutat. Res.*, 1980, 70, 337—341.

PAINTER T. S., The Y-chromosome in mammals, *Science*, 1921, 53, 503—504.

PAPP Z., *A genetikai betegségek prénatális diagnosztikája*, Medicina, Budapest, 1980.

PARDUE M. L., GALL J. G., Chromosomal localisation of mouse satellite DNA, *Science*, 1970, 168, 1356—1358.

PARIS CONFERENCE 1971: Standardisation in human cytogenetics, *Cytogenetics*, 1972, 11, 313—362.

- PATERSON, M. C., SMITH P. J., Ataxia telangiectasia. *Ann. Rev. Genet.*, 1979, 13, 291—318.
- PAUL J., *Cell and Tissue Culture*, Churchill Livingstone Ed., Edinburgh, London, 1972.
- PÁTAU K., SMITH D. W., THERMAN E. M., INHORN S. L., WAGNER H. P., Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome, *Lancet*, 1960, i, 790—793.
- PÁTAU K., The identification of individual chromosomes, especially in man, *Am. J. Hum. Genet.*, 1960, 12, 250—276.
- PÁTAU K., Identification of chromosomes, in: *Human Chromosome Methodology* (ed. J. J. Yunis), Acad. Press, New York, 1965, 155—186.
- PEARSON P. L., BOBROW M., Definitive evidence for the short arm of the Y chromosome associating with the X chromosome during meiosis in the human male, *Nature*, 1970, 226, 959—961.
- PENROSE L. S. — idézi J. L. Hamerton az ISCN—1971 előszavában, *Cytogenet. Cell Genet.*, 1978, 21/6, 314.
- PERRY P., WOLFF Sh., New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids, *Nature*, 1974, 251, 156—158.
- PERRY P., EVANS H. J., Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange, *Nature*, 1975, 255, 121—124.
- PERRY P. E., Chemical mutagens and sister chromatid exchange, in: *Chemical Mutagens Vol. 6.* (ed. F. J. de Serres, A. Hollaender), Plenum Publ. Co., 1980, 1—39.
- PHILIP J., LUNDSTEN C., OWEN D., HIRSCHHORN K., The frequency of chromosome aberrations in tall men with special reference to 47, XYY and 47, XXY, *Am. J. Hum. Genet.*, 1976, 28, 404—411.
- PHILIP J., BANG J., Early prenatal chromosome analysis of 604 fetuses, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1977, 56, 239—241.
- POHL-RÜHLING J., FISCHER P., Chromosome aberrations in inhabitants of areas with elevated natural radioactivity, in: *Radiation Induced Chromosome Damage in Man* (ed. T. Ishihara, M. S. Sasaki, Alan R. Liss Inc., 1983, 527—560.
- POLANI P. E., Turner's syndrome and allied conditions, *Brit. Med. Bull.*, 1961, 17, 200—205.
- POWLEDGE T. M., FLETCHER J., Guidelines for the ethical, social and legal issues in prenatal diagnosis, *N. Engl. J. Med.*, 1979, 300, 169—172.
- PRESTON R. J., AU W., BENDER M. A., CARRANO A. V., HEDDLER J. A., McFEE, A. F., WOLF SH., WASSOM J. S., Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assays: a report of the US EPA's Gene Tox Program, *Mutat. Res.*, 1981, 87, 143—148.
- PRESTON R. J., Radiation damage to DNA and its repair in the formation of chromosome aberrations, in: *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man* (T. Ishihara, M. S. Sasaki), Alan R. Liss Inc., 1983, 111—125.
- PRITCHARD M., Klinefelter's syndrome and behaviour, *Lancet*, 1964, i, 762—763.

PUCK T. T., Cellular culture applied to human genetics, in: *Methodology in Human Genetics* (ed. W. J. Burdette), Holden-Day Inc. San Francisco, 1982, 260—283.

PUNNETT, H. H. KISTENMACHER M. L., TORO-SOLA M. M., KOHN G., Quinacrine fluorescence and Giemsa banding in trisomy 22., *Theor. Appl. Genet.*, 1973, 43, 134—138.

RABL K. Über Zellteilung, Morph. Jb. Leipzig, 1985, 10, 214—243.

RABOCH J., SIPOVÁ J., The mental level in 47 cases of „true Klinefelter's syndrome", *Acta Endocrin.*, 1961, 36, 404—408.

RADULESCU D., IMREH ȘT., VĂLEANU A., KOVACS M., COVALCIC M., FAZAKAS E., SFRÂNGEU S., Dozimetria cromozomală în iradierea profesională, in: *Progrese în științele medicale* (ed. I. Baci), Cluj-Napoca, 1983.

RAICU P., ANGHEL I., STOIAN V., DUMA D., TAISESCU E., BADEA E., GREGORIAN L., *Genetica — metode de laborator*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1983.

RAMEL C., Advantages and problems with short-term mutagenicity tests for the assesment of mutagenic and carcinogenic risk, *Env. Health Perspect.*, 1983, 47, 153—159.

RAPOSA T., NATARAJAN A. T., CRONBERG I., Identification of Ph<sup>1</sup> chromosome and associated translocation in chronic myelogenous leukemia by Hoechst 33258., *J. Nat. Cancer Inst.*, 1974, 52, 1935, 1938.

RASKÓ I., BURG K., DALLMAN L., Temporal sequence of mutation for 6-thioguanine resistance in synchronised chinese hamster cells, *Theor. Appl. Genet.*, 1976, 48, 157—162.

RASKÓ I., Human chromosoma térképezés, in: *A human chromosoma-aberrációk jelentősége a klinikumban* (ed. Schuler D.), Akad. Kiad., Budapest, 1977, 94—109.

RASKÓ I., RETFALVI T., BURG K., DALLMANN L., Gene mutation and sister chromatid exchange in chinese hamster cells, *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, 1979, 30/4, 355—361.

RASMUSSEN R. E., PAINTER R. B., Evidence for repair of ultraviolet damaged deoxyribonucleic acid in cultured mammalian cells, *Nature*, 1964, 203, 1360—1362.

READ J., *Radiation Biology of Vicia Faba in Relation to the General Problem*, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1959.

RETHORE M. O., COUTURIER I., CARPENTIER S., FERRAND J., LEJEUNE J., Mosaic trisomy 14 in a malformed child, *Ann. Génét.*, 1975, 18, 71—74.

REVELL S. H. The accurate estimation of chromatid breakage and its relevance to a new interpretation of chromatid aberrations induced by ionizing radiations: a short history, *Adv. Rad. Biol.*, 1974, 4, 367—416.

RIEGER R., MICHAELIS A., *Chromosomenmutationen*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1967.

RIEGER R., MICHAELIS A., GREEN M. M., *Glossary of Genetics and Cytogenetics*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1976.

RINGERTZ N. R., SAVAGE R. E., *Cell Hybrids*, Acad. Press, 1976.

RIS H., Chromosome structure, in: *Chemical Basis of Heredity* (ed. W. D. McElroy, B. Glass), Johns Hopkins Press, Baltimore, 1957, 23—62.

ROBBINS J. H., KRAEMER K. H., LUTZNER M. A., FESTOFF B. W., COON H. G., Xeroderma pigmentosum. An inherited disease with sun sensitivity, multiple cutaneous neoplasms and abnormal DNA repair, *Ann. Intern. Med.*, 1974, 80, 221-248.

RODMAN T. C., Human chromosome banding by Feulgen stain aids in localizing classes of chromatin, *Science*, 1974, 184, 171-178.

ROTHFELS K. H., SIMINOVICH L., An air drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro, *Stain Technol.*, 1958, 33, 73-77.

ROWLEY J. D., A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining, *Nature*, 1973, 243, 290-293.

ROWLEY J. D., Chromosomes in Malignancies, in: *Human Genetics* (ed. S. Armendares, R. Lisker), Excerpta Medica Publ., New York, 1977, 70-81.

ROWLEY J., Human oncogene locations and chromosome aberrations, *Nature*, 1983, 301, 290-291.

RUDAK E., JACOBS P. A., YANAGIMACHI R., Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa, *Nature*, 1978, 274, 911-913.

SANDBERG, A. A., KOEPF G. F., ISHIHARA T., HAUSCHKA T. S., An XYY human male, *Lancet*, 1961, ii, 488-489.

SANDBERG, A. A., Before 1956: Some historical background to the study of chromosomes in human cancer and leukemia, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1979, 1, 87-94.

SANDBERG A. A., The chromosomeas in Human Cancer and Leukemia, Elsevier, North Holland Publ., 1980.

SANDBERG A. A., Chromosomal alterations associated with neoplasia, *Transplant. Proc.*, 1984, 16, 366-369.

SANDE J. H., LIN C. C., JORGENSEN K. F., Reverse banding of chromosomes produced by a cytosine specific DNA binding antibiotic: Olivomycin, *Science*, 1977, 195, 400-402.

SASAKI M. S., TONOMURA A., A high susceptibility of Fanconi's anemia to chromosome breakage by DNA cross-linking agents, *Cancer Res.*, 1973, 33, 1829-1836.

SAVAGE J. R. K., Classification and relationships of induced chromosomal structural changes, *J. Med. Genet.*, 1975, 12, 103-122.

SAX K., Chromosome aberrations induced by X rays, *Genetics*, 1938, 23, 494-516.

SCHMID W., TRAUT H., Visualisation by scanning electron microscopy of achromatic lesions (gaps) induced by X rays in chromosomes of *Vicia faba*, *Mutat. Res.*, 1971, 11, 253-255.

SCHMID W., CARNES J. D., Autoradiography of human chromosomes, in: *Human Chromosome Methodology* (ed. J. J. Yunis), Acad. Press, New York, 1965, 91.

SCHMID W., The micronucleus test, *Mutat. Res.*, 1975, 31, 9-15.

SCHÖNEICH, J., SRAM R. J., BOGAJEWSKI J., Recommendations for the mutagenicity testing of new pharmaceuticals, EEMS Workshop on Mutagenicity testing, Veszprém, Hungary, 1981.

SCHOPF J. W., OEHLER D. Z., How old are the eukaryotes, *Science*, 1976, 193, 47-49.

- SCHROEDER T. M., ANSCHUTZ F., KNOPP A., Spontane Chromosomenaberrationen bei familiärer Panmyelopathie, *Hum. Genet.*, 1964, 1, 194—196.
- SCHULER D., A human chromosoma-aberrációk jelentősége a klinikumban, *Akad. Kiad.*, Budapest, 1977.
- SCHWEIZER D., R-banding produced by DNase digestion of chromomycin stained chromosomes, *Chromosoma*, 1974, 64, 117—124.
- SELLYEI M., A kromoszómák morfológiája, in: *A biológia aktuális problémái* 8. (ed. Csaba Gy.), *Medicina Kiad.*, Budapest, 1976, 179—225.
- SEGUIN E., *Le traitement moral*, *Hygiène et l'éducation des idiots*, Baillière Ed., Paris, 1846.
- SEUANEZ H., *The Phylogeny of Human Chromosomes*, Springer Verlag, 1979.
- SKOVBY F., Nomenclature: additional chromosome bands, *Clin. Genet.*, 1975, 7, 21—28.
- SMITH D. V., PÁTAU K., THERMAN E., INHORN S. L., A new autosomal trisomy syndrome, *J. Pediat.*, 1960, 57, 338—345.
- SMITH D. W., PÁTAU K., THERMAN E., INHORN S. L., The no. 18 trisomy syndrome, *J. Pediat.*, 1962, 60, 513—523.
- SPARROW A. H., X-ray sensitivity changes in meiotic chromosomes and the nucleic acid cycle, *Proc. Nat. Acad. Sci. Us*, 1944, 36, 147—155.
- STETKA D. G. Jr., Further analysis of the replication bypass model for sister chromatid exchange, *Hum. Genet.*, 1979, 49, 63—69.
- SOLOMON E., BOBROW M., Sister chromatid exchanges. A sensitive assay of reagents damaging human chromosomes, *Mutat. Res.*, 1975, 30, 273—278.
- SORSA M., VAINIO H. (ed.), *Mutagens in our Environment*, proc. 12th EEMS Conference 1982, Espoo Finland, Alan R. Liss Inc. N. Y., 1982.
- SORSA M., HEMMIKI K., VAINIO H., Biologic monitoring of exposure to chemical mutagens in the occupational environment, *Terat. Carcinogen. Mutagen.*, 1982, 2, 137—150.
- SRIVASTAVA P. K., LUCAS F. V., Evolution of human cytogenetics: an encyclopedic assay, *J. Genet. Hum.*, 1976, 24/3, 235—246.
- STADLER L. J., On the genetic nature of induced mutations in plants, *Proc. 6th Int. Congr. Genet.*, 1932, 277—294.
- STICH H. F., ROSIN M. P., Micronuclei in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer intervention, *Cancer Lett.*, 1984, 22, 241—253.
- STOIAN V., RAICU P., Morphological characteristics and the nature of gaps (achromatic lesions) induced by 4-aminouracil in chromosomes of *Vicia faba*, *Mutat. Res.*, 1975, 28, 217—220.
- STROM S. C., JIRTLE R. L., JONES R. S., NOVICKI D. L., ROSENBERG M. R., NOVOTNY A., IRONS G., McLAIN J., MICHALOPOULOS G., Isolation, culture and transplantation of human hepatocytes, *J. Nat. Cancer Inst.*, 1982, 68, 771—778.
- STUBBLEFIELD E., WRAY W., Architecture of the Chinese hamster metaphase chromosome, *Chromosoma*, 1971, 32, 262—294.
- SWANSON C. P., *Cytology and Cytogenetics*, Macmillan and Co. Ltd, London, 1963.

- SUMNER A. T., EVANS H. J., BUCKLAND R. A., New technique for distinguishing between human chromosomes, *Nature New Biol.*, 1971, 232, 31—32.
- SURANA R. B., CONEN P. E., Partial trisomy 4 resulting from 4/18 reciprocal translocation, *Ann. Génét.*, 1972, 15, 191—193.
- SUTHERLAND G. R., Heritable fragile sites on human chromosomes I, Factors affecting expression in lymphocyte culture, *Am. J. Hum. Genet.*, 1979, 31, 125—135.
- SUTHERLAND G. R., The fragile X chromosome, *Int. Rev. Cytol.*, 1982, 81, 107—143.
- SUTKA J., *Citogenetika, Mezőgazd. Kiad.*, Budapest, 1980.
- SZABÓ T. E. A., *A genetika évszázada, Kritérium, Bukarest, 1976.*
- SZABÓ T. A., IMREH ST., RĂDULESCU D., Some data regarding the beginnings of radiogenetics, *Proc. 16th Int. Congr. History of Science Bucharest, 1981, 401.*
- SZABÓ A., *Alkalmazott biológia a termesztett növények fejlődéstudományában, Ceres Kiad., Bukarest, 1983.*
- TAALMAN R. D. F. M., JASPERS N. G. J., SCHERES J. M. J. C., WIT J. de, HUSTINX T. W. J., Hypersensitivity to ionizing radiation in vitro in a new chromosomal breakage syndrome, the Nijmegen Breakage Syndrome, *Mutat. Res.*, 1983, 112, 23—32.
- TANTRAVAHU R., MILLER D. A., MILLER O. J., Ag-staining of nucleolus organiser regions of chromosomes after Q-, C-, G-, or R-banding procedures, *Cytogenet. Cell Genet.*, 1977, 18, 364—369.
- TAYLOR J. H., The time and mode of duplication of chromosomes, *Am. Nat.*, 1957, 91, 209—222.
- TAYLOR J. H., WOODS P. S., HUGHES W. L., The organisation and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labeled thymidine, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1957, 43, 122—128.
- TIERMAN E., *Human Chromosomes, Springer Verlag, Heidelberg, New York, Berlin, 1980.*
- THOMA F., KOLLER Th., KLUG A., Involvement of histone H<sub>1</sub> in the organisation of nucleosome and the salt dependent superstructures of chromatin, *J. Cell Biol.*, 1979, 83, 403—427.
- TJIO J. H., LEVAN A., The chromosome number of man, *Hereditas*, 1956, 42, 1—6.
- TÖRÖ L., Szövettenyésztés, in: *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei IV.* (ed. Kovács A.), Akad. Kiad., Budapest, 1958, 199—416.
- TUMBA A., Le phenotype XXXXY, *Essentialia*, 1975, 12, 11—15.
- TUMBA A., Les facteurs etiopathogenetiques possibles des aberrations chromosomiques sexuelles humaines, *Essentialia*, 1977, 14, 1—5.
- TURNER H. H., A syndrome of infantilism, congenital webbed neck and cubitus valgus, *Endocrinology*, 1938, 23, 566—574.
- TURPIN R., LEJEUNE J., LAFOURCADE J., GOUTIER M., Aberrations chromosomiques et maladies humaines. La polydyspondyle à 45 chromosomes, *C. R. Acad. Sci.*, 1959, 248, 3636—3639.
- TURPIN R., CARATZALU A., Remarques sur les ascendants et les collatéraux des sujets atteints de mongolism, *Presse Med.*, 1934, 59, 1186.

TUSQUES J., GRISLAIN J. R., ANDRE M. J., MAINARD R., RI-  
VAL J. M., CAUDAL J. L., Trisomie partielle 11q identifié grace a l'etu-  
de en „denaturation menagée“, par la chaleur de la translocation équi-  
librée paternelle, Ann. Génét., 1972, 15, 167—172.

UNSCEAR 1979, Report of the United Nations Scientific Committee  
on the Effects of Atomic Radiation, Suppl.

VALLADAUD-BARRIER D., Un test d'induction de micronoyau  
sur *Allium sativum*, differentiation de substances clastogenes et mito-  
clastiques, Mutat. Res., 1983, 119, 55—58.

VIDA G., (ed.) Az élővilág evolúciója, I., Natura Kiad., Budapest,  
1982.

VIG B. K., Sequence of centromere separation: occurrence possible  
significance and control, Cancer Genet. Cytogenet., 1983, 8, 294—  
297.

VOGEL W., BAUKNECHT, T., Differential chromatid staining by  
in vivo treatment as a mutagenicity test system, Nature, 1976, 260,  
448—449.

VOGEL F., MOTULSKY A. G., Human Genetics, Springer Verlag,  
1979.

VOICULEȚ N., NICULESCU-DUVĂZ I., Mecanisme moleculare ale  
cancerogenezei, Oncologia, București, 1982, 21, 193—208.

WALDREN C. A., JOHNSON R. T., Analysis of interphase chro-  
mosome damage by means of premature chromosome condensation af-  
ter X- and ultraviolet irradiation. Proc. Natl. Acad. Sci. US, 1974, 71,  
1137—1141.

WANG H. C., FEDOROFF S., Banding in human chromosomes  
treated with trypsin, Nature, 1972, 235, 52—53.

WATSON J. D., CRICK F. H. C., A structure for deoxyribose  
nucleic acid, reprint from Nature 25 April 1953, in: Nature 1967, 224,  
470—471.

WATSON J. D., Molecular Biology of the Gene, 2nd Ed., W. A.  
Benjamin Inc., New York, 1970; Biologia moleculară a genei, Ed. Știin-  
țifică și Pedagogică, 1978; A gén molekuláris biológiája, Medicina Kiad.,  
Budapest, 1980.

WEBB G. C., GARSON O. M., ROBSON M. K., PITT D. B., A par-  
tial D-trisomy normal mosaic female, J. Med. Genet., 1971, 8, 522—527.

WEISS M. C., EPHRUSSI B., Studies of interspecific (rat x mouse)  
somatic hybrids II. Lactate dehydrogenase and glucuronidase, Gene-  
tics, 1966, 54, 1111—1122.

WEISS M. C., GREEN H., Human-mouse hybrid cell lines con-  
taining partial complements of human chromosomes and functioning  
human genes, Proc. Natl. Acad. Sci. US., 1967, 58, 1104—1111.

WHO Working Group Fetal diagnosis of hereditary diseases, Bull.  
WHO, 1984, 62/3, 345—355.

WILSON M. G., TOWNER W., COFFIN G. S., FORSMAN L., In-  
herited pericentric inversion of chromosome no. 4., Am. J. Hum. Ge-  
net., 1970, 22, 679—689.

WITKIN H. A., MEELNICK S.A., SCHULSINGER F., BAKKEL-  
STRÖM E., CHRISTIANSEN K. O., GOODENOUGH D. R., HIRSCH-  
HORN K., LUNDSTEEN C., OWEN D. R., PHILIP J., RUBIN D. B.,



STOCKING M., Criminality in XYY and XXY men, *Science*, 1976, 193, 547—555.

WOLF U., PORSCHE R., BAITSCH H., REINWEIN M., Deletion of short arms of a B chromosome without „eri du chat“ syndrome, *Lancet*, 1965, i, 769.

WOLFF Sh., Radiation Induced Chromosome Aberrations, Cambridge Univ. Press, New York, London, 1963.

WOLFF Sh., BODYCOTE J., Te induction of chromatid deletions in accord with the breakage-and-reunion hypothesis, *Mutat. Res.*, 1975, 29, 85—91.

WOLFF Sh., Sister chromatid exchange, *Ann. Rev. Genet.*, 1977, 11, 183—201.

WRAY W., STUBBLEFIELD E., A new method for the rapid isolation of chromosomes, mitotic apparatus or nuclei from mammalian fibroblasts at near neutral pH., *Exptl. Cell Res.*, 1970, 59, 469—478.

WURSTER D. H., BENIRSCHKE K., Indian muntjak, *Muntiacus muntjak*: a deer with low diploid number, *Science*, 1970, 168, 1364—1366.

ZAKHAROV A. F., EGOLINA N. A., Differential spiralisation along mammalian mitotic chromosomes I. BUdR-revealed differentiation in Chinese hamster chromosomes, *Chromosoma*, 1972, 38, 341—365.

ZANKL H., MAYER C., ZANG K. D., Association frequency and silver staining of nucleolus organising regions in hyperthyroid patients, *Hum. Genet.*, 1980, 54, 111—114.

ZECH L., Investigation of metaphase chromosomes with DNA-binding fluorochromes, *Exptl. Cell Res.*, 1969, 58, 463—

ZEPP H. D., CONOVER J. H., HIRSCHHORN K., HODES H. L., Human-mosquito somatic cell hybrids induced by ultraviolet inactivated Sendai virus, *Nature New Biol.*, 1971, 229, 119—121.

XU, X., WU M., Electron microscopy of G-banded human mitotic chromosomes, *Chromosoma*, 1983, 88, 237—240.

YAMAMOTO K. I., KIKUCHI Y., A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons, *Mutat. Res.*, 1980, 71, 127—131.

YAMASAKI N., Differentielle Färbung der somatischen Metaphasechromosomen von *Cypridium debile*, *Chromosoma*, 1956, 7, 620—626.

YOSHIDA T., The Yoshida sarcoma, an ascites tumor, *Gann*, 1949, 40, 1—21.

YOST H. T., The frequency of X-ray induced chromosome aberrations in *Tradescantia* as modified by near infrared radiation, *Genetics*, 1951, 36, 176—184.

YUNIS J. J., YASMINEH W. G., Heterochromatin, satellite DNA and cell function, *Science*, 1971, 174, 1200—1209.

YUNIS J. J., High resolution of human chromosomes, *Science*, 1976, 191, 1268—1270.

YUNIS J. J., BAHR G. F., Chromatin fiber organisation of human interphase and prophase chromosomes, *Exptl. Cell Res.*, 1979, 122, 63—72.

YUNIS J. J., Chromosomes and cancer: new nomenclature and future directions, *Human pathology*, 1981, 12, 494—503.

YUNIS J. J., The chromosomal basis of human neoplasia, *Science*, 1983, 221, 227—236.

## TÁRGYMUTATÓ

- acentrikus fragmentum 41, 182, 183, 223  
 akrocentrikus asszociáció 150, 152  
 akromatikus apparátus 26  
 aktivátor 247, 248, 250  
 alapfonál 115, 116  
 alapkromoszómaszám 121  
 allopoliploid 118  
 alsáv (sub-band) 94  
 Ames-teszt 210, 255  
 amfidiploid 122  
 amniocentézis 253, 254  
 anafázis 39, 43  
 anafázisaberráció 182—188  
 anafázisfragmentum 182  
 anafázishid 184  
 anafázisos lemaradás (lagging) 146  
 aneuploidia 119, 122, 145, 152, 202, 232, 241  
     autoszóma ~ 202  
     gonoszóma ~ 202  
 anti-Edwards-kór 196  
 antikarcinogén 240  
 ASG módszer 103  
 aszter 29, 32, 38  
 ataxia telangiectasia (AT) 225, 226—227  
 autopoliploid 118  
 autoradiográfia 23  
 autoszóma 61
- Barr-testecske 11, 86, 87—90, 131, 133—134, 141  
 BD (base damage, nitrogénbázis elváltozás) 167—168  
 bisbenzimid (Hoechst 33258) 97—98, 99, 206, 217, 225  
 bivalens 33  
 Bloom-szindróma (BS) 207, 209, 225, 229  
 BR-index 186—187
- centrális dogma 9  
 centrikus fúzió 174  
 centrikus kromatidagyűrű 176, 177  
 centriólum 28, 29, 32, 39

centromer 29, 41, 150  
  diffúz ~ 42  
centromerindex (c, i) 62, 79  
centromer-osztódás 147, 151—152,  
  154  
centroszféra 28, 29  
centroszóma 29, 32  
céltabla elmélet 162  
Chicagói Konferencia 80  
citofluorometria 95, 109  
citogenetikus 35  
citokinezis 31  
citosztatikum 36  
„cri du chat”-betegség 194—195  
„criss-cross”-növekedés 241  
crossing-over 33, 34, 193, 202, 203  
  szomatikus ~ 202  
C-tumor 36

csereaberráció 186  
  interkromoszomális ~ 177  
  komplex ~ 178  
cserehipotézis 165  
csírasejtek kromoszómavizsgálata  
  222

daltonizmus 149  
deficiencia 160  
delécio 160, 193, 194—197, 223  
  interkaláris ~ 160, 196  
  terminális ~ 160  
Denveri Konferencia 78—80  
diakinézis 33, 34  
dikarion 214  
diploid 32, 118  
diplotén 33, 34  
diszóm 122, 146  
DNS (dezoxiribonukleinsav) 8, 9,  
  11  
  kapcsoló (linker) ~ 19  
DNS-denaturálás 100—102, 105  
DNS-gyógyítási folyamatok (re-  
  pair) 171, 212  
DNS-renaturálás 100  
DNS-replikáció 25  
DNS—RNS hibridizáció 100, 244,  
  245  
dominánsletél-teszt 256

Down-kór 90, 126—129, 153, 243  
DSB (double strand breakage,  
kétszálas DNS-törés) 167—169,  
211  
duplikáció 160, 177, 193, 198

Edwards-kór 90, 152  
egyszálas DNS-törés (SSB) 167—  
169  
egyszálas (uninémás) modell 48  
ekvacionális sejtosztódás 26  
ekvatoriális lemez 29, 66  
elektronmikroszkóp 16, 181  
  pásztázó ~ (SEM) 17, 114, 181  
  transzmissziós ~ (TEM) 16, 17,  
  44, 114  
elsődleges befűződés 41  
endomitózis 31, 118  
endopoliploidia 31, 118  
endoreduplikáció 213  
eukarióta 7—8  
eukromatin 9, 10, 83, 84—87, 117,  
  223

fakultatív heterokromatin 86, 117  
Fanconi-anémia (FA) 225, 228  
fitohemagglutinin 73, 75, 76  
fluoreszcens mikroszkóp 10, 91,  
fluoreszcencia 91  
fluorokróm 91, 95—99  
„folded fibre” modell 48  
foszlatás 57  
FPG-módszer 206  
fra-X-szindróma 224  
F-testecske 97

gametofita 118  
„gap” (kromatidarcs) 175, 178—  
  182, 223  
  izokromatida ~ 179, 223  
  klasztogén ~ 182  
  turbagén ~ 182  
gélelektroforézis 14  
géndózis kompenzáció 131  
genetikai nem 88  
genetikai tanácsadás 253, 257  
genodermatózis 226  
genom 118  
genommutáció 118  
  autoszomális ~ 122—130  
  gonoszomális ~ 130—145

genotoxikológia 254  
 génszbészet 169, 217, 250  
 géntérkép 147, 216, 245  
 G<sub>1</sub>-fázis 22, 24, 167  
 G<sub>2</sub>-fázis 22, 24, 167  
 glutation redukáz gén 124  
 gonadális diszgenézis 139  
 gonoszóma 61  
 G6PD gén 88, 89, 149  
 gyűrűkromoszóma 172, 197—198  
     acentrikus ~ 172  
     centrikus ~ 172, 178  
 haploid 32, 86, 118—129  
 harlekinizáció (SCE) 202—213,  
     227—229, 255, 257  
 Harnden-szabály 88  
 Hela sejtörzs 72  
 hermafroditizmus 88, 130, 139  
 herton 8, 10, 54—55  
 heterokarion 214, 215  
 heterokromatin 10, 83, 84—87,  
     102, 116—117, 151, 223  
     fakultatív ~ 86, 87  
     konstitutív ~ 86, 117  
 heteropiknózis 10  
 heteroszóma 61  
 hexaploid 118  
 hexaszóma 242  
 hibridóma 216  
 hibridsejt 214, 242  
 hipotóniás kezelés 66, 67—70, 73,  
     154  
 hiszton 8, 10, 54—55  
 hiszton dimer 15  
 hiszton tetramer 15  
 hiszton oktamer 15, 16, 17  
 Hoechst 33258 (bisbenzimid) 97—  
     98, 99, 206, 217, 225  
 homokarion 214  
 húzófonalak 28, 30, 38  
 idiogram 62, 63, 79  
 immundeficiencia szindróma 226  
 immunofluoreszcencia 37  
 inszerció 161  
 interfázis 22, 24—25, 151  
 interkinczis 34  
 interpoláris tér 182  
 interszexualitás 139

inverzió 160, 173, 193—194  
     paracentrikus  $\sim$  160, 173, 193  
     pericentrikus  $\sim$  160, 173, 177, 193, 194  
 izokromatidarés (gap) 179, 223  
 izokromatida törés 175  
 izokromoszóma 177, 201  
  
 kar arány 62, 79  
 kariogram 61  
 kariokinézis 31  
 kariomitózis 25  
 kariotípus 41, 60—63, 79, 80—82  
 kettős spirál 14  
 késve replikálás 85  
 kétszálás DNS-törések (DSB) 167—169  
 klazma 33, 147  
 kinetochor 29, 41  
 klasztogén 73, 155, 167, 168, 178, 184, 221, 222, 234  
     S-dependens  $\sim$  168, 170, 175, 179, 210—212  
     S-independens  $\sim$  168, 170, 175, 210—212  
 klasztogén vírus 178  
 Klinefelter-kór 88, 90, 134—137, 149, 153, 243  
 klinikai citogenetika 159  
 klón 89, 230, 232, 247  
 kolchicinozás 35—37, 66, 67, 73  
 kontaktgátlás 241  
 korai kromoszómakondenzáció (PCC) 178, 218—222  
 korai sejtmagképződés 220  
 központi szemcse (core particle)  
 kritikus ponton szárítás módszere 47  
 kromatida 27, 41, 43  
     fél  $\sim$  45, 185  
 kromatidagyűrű 176  
     acentrikus  $\sim$  177  
     centrikus  $\sim$  176, 177  
 kromatidakaron belüli aberrációk 177  
 kromatidakarok közötti aberrációk 177  
 kromatida „minute” 175  
 kromatidarés (gap) 178—182, 223  
 kromatida típusú aberráció 161, 168, 169, 170

kromatidatörés 175  
 kromatida transzlokáció 212  
 kromatin 8, 10—21  
   férfi nemi ~ 88, 97  
   női nemi ~ 87, 88, 97  
   szex ~ 87  
 kromocentrum 85, 117  
 kromomer 33, 103, 115, 116  
 kromoszóma 5, 7, 25  
   acentrikus ~ 41  
   akrocentrikus ~ 42, 43  
   dicentrikus ~ 41, 174, 178, 190  
   holocentrikus ~ 42  
   homológ ~ 33, 34, 60, 91, 146, 151, 160  
   ivari ~ 61, 65  
   leány ~ 30, 32, 43  
   marker ~ 232—234, 241, 247  
   metacentrikus ~ 42, 43  
   óriás ~ 11, 45, 85  
   pentacentrikus ~ 175  
   Philadelphia ~ (Ph1) 159, 231  
   policentrikus ~ 41, 175  
   SAT ~ 44  
   szex ~ 61  
   szubmetacentrikus ~ 42, 43  
   telocentrikus ~ 42, 43  
   tetracentrikus ~ 175  
   tricentrikus ~ 175  
 kromoszómaaberráció 73, 156—188, 256  
   spontán ~ 225—229  
 kromoszómaciklus 27, 30  
 kromoszómadozimetria 159  
 kromoszómafragmentum 172, 173  
 kromoszóma határjelző (landmark) 94  
 kromoszómahossz 41, 82  
 kromoszómakar 42, 43  
 kromoszómaporítás 178  
 kromoszóma preparálás 77  
 kromoszóma relatív hossz 61, 79  
 kromoszómasávvezetés 73, 90—114  
 kromoszómaszám 40, 41, 56—60, 64—66  
 kromoszómarégió 94  
 kromoszóma típusú aberráció 161  
 kromoszómatörékenységi 222—229, 250  
 kromoszómaszál (scaffold) 51—55, 167

kromoszomális sugárszenzibilizálók 186, 187  
kromoszomális sugárvédők 186, 187

„lagging” 146  
„landmark” (kr. határjelző) 94  
leánysejt 31  
leánysejtmag 31  
leptotén 33  
limfocitatenyészet 73, 74—78  
Londoni Konferencia 80  
Louis Barr-szindróma (AT) 226  
L-sejttörzs 73  
Lyon-hipotézis 89, 90, 131

macskanyavogásos betegség 194—195  
magas feloldóképességű sávozás 113, 115  
magfehérjék 9  
magorsóciklus 27, 29  
magzati kromoszómavizsgálat 73  
magzatvízvétele (amniocentézis) 254  
majombarázda 125, 127  
makrokultúra 76  
másodlagos befűződés 43  
méhen belüli genetikai vizsgálat 253—255  
meiózis 26, 32—35, 146, 154  
meleglevegős preparálás 74  
metabolikus aktiváció 187, 210, 256  
metafázis 29  
mikroautoradiográfia 11, 21—24, 73, 83—84, 204, 205,  
mikrokultúra 76  
mikronukleusz 132, 146, 188—192, 255  
    csatolt ~ 193  
mikronukleusz teszt 190—192, 255—256  
    csontvelő ~ 190  
    hal ~ 191  
    limfocita ~ 192  
    májsejt ~ 191  
    sejttenyészet ~ 192  
    transzplacentális ~ 191  
mikrotubulus 37, 38  
„minute” 172



mitogén 76  
 mitotikus orsó 29, 32  
 mitózis 26—32, 146  
     C- ~ 35—37, 40, 41, 61, 67  
 mobilis genetikai elem 250  
 monoklonális ellenanyag 216  
 monoszómia 122, 130, 131, 146, 232  
     részleges ~ 160, 194, 198  
     4 p ~ (Wolf-kór) ~ 194  
     5 p ~ (cri du chat-szindróma) 194—195  
     13 q ~ 195  
     18 p ~ (de Grouchy-kór) 195  
     18 q ~ (anti-Edwards-kór) 196  
     21-es ~ 130  
 morfológiai index (M) 62  
 mozaicizmus 118, 132, 146  
 mutáció 85  
     gén ~ 229, 234, 242  
     kromoszóma ~ 229, 234, 241, 242, 247  
     kromoszómaszám ~ (genom) 118  
     kromoszómaszerkezeti ~ 156—256  
     recesszív gén ~ 225—229  
     szomatikus ~ 231  
 mutagén 153  
     fizikai ~ 147, 153—154, 234—236  
     kémiai ~ 147, 154—155, 234—241  
     S-dependens ~ 168—170, 175—179, 210, 211, 212  
     S-independens ~ 168, 170, 175, 210, 211, 212  
 mutagén-karcinogén 202, 209—212, 252, 254—255  
 mutagén környezet 181  
 mutagén szűrés 171, 188—192, 182—188  
 mutátor fűg 248  
  
 nemi kromatin 87—90  
 neutronszerzés módszere 18  
 Nijmegen törékenységi szindróma (NBS) 225  
 nitrogénbázis elváltozás (BD) 167—168

nondisjunctio 146, 147—150, 152, 154  
     meiotikus ~ 146  
     mitotikus ~ 146  
 NOR (nukleolusz szervező szakasz) 43, 44, 150, 154, 179, 183  
 nukleáris mágneses rezonancia (NMR) 18  
 nukleinsav éheztetés módszere 91  
 nukleolusz 28, 150, 154  
 nukleoszóma 11, 12, 18—20, 49, 51, 115, 167  
 nulliszóm 122, 131, 146  
 „nu” testecskék 17  
  
 oldalkaros híd 185  
 onkogén 243—245, 247, 248  
     sejt ~ 244  
     virális ~ 244  
 onkológiai citogenetika 159  
  
 p (a rövid kromoszómakar) 43, 44, 93  
 Párizsi Kongresszus 163  
 Patau-kór 90  
 pachitén 33, 115  
 PCC (premature chromosome condensation, korai kromoszómakondenzáció) 178, 218—222, 257  
 pentaploid 118, 120  
 pentaszóma 133—134, 242  
 polikarion 214, 221  
 polinémus modell 45, 204  
 poliploidia 118, 119, 120—122, 241  
 poliploid sor 121  
 politénia 31  
 Prader—Willi-szindróma 196  
 prenatális diagnosztika 97, 252—254, 256  
 profázis 27  
 programozatlan DNS szintézis (UDS) 171  
 prokarióta 7  
 prometafázis 29  
 protamin 9  
 protoplaszt 216  
 „puff” 11  
 pulverizáció 178, 218  
  
 q (a hosszú kromoszómakar) 43, 44, 93

quinacrin 91  
quadriradial 177, 223

radioaktív izotóp 23  
radiográfia 23  
rákkeltő tényezők 234—241, 247  
rákos transzformáció 221, 240  
redukcionális sejtosztódás 26  
régió (kromoszómaregió) 94  
relatív kromoszómahossz 61, 79  
replikamódszer 45  
represszor 247, 248  
restitúció 162, 164  
Revell-hipotézis 161—167  
Revell-hurok 166, 177, 193  
RNS (ribonukleinsav) 8  
röntgendiffrakció 12—13

Sax-hipotézis 161—167  
sáv (kromoszómasáv) 93—95  
    állandó (konstans) ~ 117  
    C- ~ 92, 94, 99—102  
    F- ~ 92, 111  
    G- ~ 92, 94, 103—109  
    G—11- ~ 111  
    N- ~ 92, 111  
    Q- ~ 92, 94, 95—99, 103, 115—116  
    R- ~ 92, 94, 98, 110, 111, 115—116  
    T- ~ 110  
    változó (fluktuáló) ~ 117  
sávdiaagram (sávidiagram) 94, 249  
„scaffold” (kromoszómaváz) 54—55  
SCE (sister chromatid exchange, testvérkromatida-csere) 202—213, 238, 255  
sejtciklus 21—23  
sejtfúzió 213  
sejthibridizáció 214—218, 247  
    interregnum ~ 217  
sejtmagvacska 28, 29, 150  
sejtmagváz 10  
sejtosztódás 21—24  
sejtpólus 29, 30  
sejtszinkronizálás 112, 184  
sejtenyésztés 66, 70—72, 73  
S-fázis 22, 24, 167  
sporofita 120

sokfibrillumos (polinémás) modell 45  
 sokszoros aberráció 178  
 spot-teszt 138, 255  
 „squash”-módszer 57, 175  
 SSB (single strand breakage, egy-  
 szálas DNS-törések) 167—169,  
 227  
 sugárbiológia 156, 159, 162, 165  
 sugárgenetika 156, 157, 158  
 sugárirányú hurkok modellje 54,  
 55  
 sugárzás (ionizáló) 153, 156—159,  
 208—209, 235—236  
 sugárzás (nem ionizáló) 209  
 szatellita 43, 44, 183  
 szatellita asszociáció 147 149—151  
 számfelező sejtosztódás 26  
 számtartó sejtosztódás 26  
 szemikonzervatív replikáció 25,  
 45, 83, 204, 205  
 szexkromatin 86, 87—90  
 szexvizsgálat 86  
 szinapszis 147  
 szinkarion 214, 215  
 szolenoid 31, 49, 51, 115  
 szövettenyésztés 70—72  
 szubkromatida típusú aberráció  
 161  
 szupernő 88  
 superspirálosodás 14  
 szuperszolenoid 49, 50 51,  
  
 találatelmélet 162  
 telofázis 31  
 telomer 42, 92, 110, 150, 223  
 telomer együttállás 151  
 telomerek megtartásának cíve  
 163  
 testvérkromatida 27, 29  
 testvérkromatida-csere (SCE) 166,  
 176, 197, 202—213  
 testikuláris feminizáció 139  
 tetraploid 118  
 tetraszómia 133  
 timin dimer 209, 228  
 törékeny kromoszómaszindrómák  
 225—229  
 törékeny pont 222—229, 246, 247  
   autoszomális ~ 225  
   gonoszomális ~ 225

törékeny X-kromoszómaszindróma 223—225  
 törés-egyesülés hipotézis 161—164  
 törés-fúzió-híd ciklus 163, 184  
 töréspont 179, 212, 246  
 transzpozíció 198  
 transzformáció 238, 241—243, 247, 248  
 transzlokáció 160, 177, 194, 198—201, 202, 247  
     kiegyensúlyozott ~ 198, 202  
     kölesönös ~ 174, 198  
     reciprok ~ 160  
     Robertson-féle ~ 148, 161, 174, 198, 199, 200, 201, 202  
 transzpozon 248  
 triploid 118, 119, 120, 121, 122  
     allo ~ 121  
     auto ~ 121  
 triradial 177, 223  
     kétcentromeres ~ 177  
     egycentromeres ~ 177, 178  
 triszómia 122, 132—133, 146, 242, 247, 248  
     3-as ~ 123, 124  
     9-es ~ 124  
     13-as ~ (Patau-kór) 90, 124, 125  
     14-es ~ 125  
     18-as ~ (Edwards-kór) 90, 152  
     21-es ~ (Down-kór) 126—129, 152  
     22-es ~ 129—130  
     részleges ~ 160, 193—200  
     4 p ~ 199  
     4 q ~ 200  
     5 p ~ 200  
     7 q ~ 200  
     11 q ~ 200  
     15 q ~ 200  
     21 q ~ 200  
 tubulin 37—39  
 Turner-kór 90, 131, 149, 153, 195, 197, 201  
  
 UDS (unscheduled DNS synthesis, programozatlan DNS szintézis) 171 238  
 ugráló gének 48, 247, 250  
 uninémás modell 48, 167, 204

vegyi mutagén 154, 159  
veleszületett rendellenesség 250,  
252

vetélés 252

vízfelszínen szélesztés módszere  
47, 181

Werner-szindróma 225

Wolf-kór 194

zigóta 119, 120

zigotén 33

xeroderma pigmentosum (XP)  
209, 226 228—229

Xg-vércsoport 149

X-izokromoszóma 201

X-kromatin 87, 88, 97

XLMR-szindróma 224

X-monoszómia (Turner-kór) 90,  
131, 132, 149, 153, 195, 197, 201  
XXX-gonoszómaösszetétel 88, 90,  
132—133  
XXXX-gonoszómaösszetétel 133  
XXXXX-gonoszómaösszetétel  
133—134  
XXY-gonoszómaösszetétel 88, 90,  
134—137  
XXXY-gonoszómaösszetétel 137—  
138  
XXXXY-gonoszómaösszetétel 138  
XYY-gonoszómaösszetétel 90,  
139—145  
XXYY-gonoszómaösszetétel 139—  
145

Y-kromatin 88, 97

# CUPRINS

Prefață . . . . .	5
<b>1. Nucleul celular . . . . .</b>	<b>5</b>
1.1. Materialul nuclear . . . . .	8
1.1.1. Proteine nucleare . . . . .	9
1.1.2. Conglomerate nucleare . . . . .	10
1.2. Povestea nucleozomului . . . . .	12
1.2.1. Difracția razelor X . . . . .	12
1.2.2. „Foarfecile“ enzimatic . . . . .	13
1.2.3. Electroforeza în gel . . . . .	14
1.2.4. Superspirala . . . . .	14
1.2.5. Octamerul . . . . .	16
1.2.6. Microscopul electronic . . . . .	16
1.2.7. Șiragul de mărgel . . . . .	17
1.2.8. Structura fină a nucleozomului . . . . .	18
1.2.9. Histona $H_1$ . . . . .	20
<b>2. Ciclul celular . . . . .</b>	<b>21</b>
2.1. Microautoradiografia . . . . .	22
2.2. Interfaza . . . . .	24
2.3. Diviziunea celulară . . . . .	25
2.4. Mitoza . . . . .	26
2.4.1. Profaza . . . . .	27
2.4.2. Metafaza . . . . .	29
2.4.3. Anafaza . . . . .	30
2.4.4. Telofaza . . . . .	31
2.4.5. Excepții . . . . .	31
2.5. Meioza . . . . .	32
2.6. Guta și C-mitoza . . . . .	35
2.7. Microtubulii și migrarea cromozomilor . . . . .	37
<b>3. Dezasamblarea cromozomului . . . . .</b>	<b>39</b>
3.1. Cromozomul cel frumos (sub microscopul optic) . . . . .	40
3.2. Încălcitură dezordonată? (cromozomul sub microscopul electronic) . . . . .	44
3.3. Cromozomul este de 10 000 de ori mai scurt decât molecula de ADN pe care înglobează . . . . .	49
3.4. Scheletul cromozomal pe șafod? . . . . .	51



<b>4. Sistematică cromozomală</b>	56
4.1. Cîți cromozomi?	56
4.2. Cariotipul	60
<b>5. Istoria cromozomilor umani</b>	64
5.1. Epoca eroică: cîți cromozomi avem?	64
5.1.1. Despre colchicinizare	67
5.1.2. Tratatamentul hipotonic	67
5.1.3. Cultura celulară	70
5.1.4. Avem 46 de cromozomi!	72
5.2. Prima decadă a citogeneticii moderne: 1960—1970	74
5.2.1. Cultura celulelor sangvine	74
5.2.2. Conferințe de cariotipizare	78
5.2.3. Cariotipul uman	80
<b>6. Cea „veritabilă” și cea „diferită” (povestea eu- și heterocromatinei)</b>	83
6.1. Cromozomi radianți	83
6.2. Cromatina veritabilă și cea diferită	84
6.3. Cromatina sexuală	87
<b>7. A doua decadă: cromozomul în „haină de ocaș”</b>	90
7.1. Bandă?	93
7.2. Benzi fluorescente: (stele pe cerul de noapte)	95
7.3. Benzi-C: mesajul bilblit?	99
7.4. Benzi-G: cromomerul mitotic?	103
7.5. Benzi-R: o lume inversată	110
7.6. Celelalte benzi	110
7.7. Multe benzi, cite gene?	111
7.8. Structura cromozomului cu „dungi de zebra”	114
<b>8. Mai mulți sau mai puțini cromozomi (mutațiile de genom)</b>	118
8.1. Mutatia de genom	118
8.1.1. Haploidia	118
8.1.2. Poliploidia	120
8.1.3. Aneuploidia	122
8.2. Mutatiile genomice autozomale ale omului	122
8.2.1. Trisomia 8	123
8.2.2. Trisomia 9	124
8.2.3. Trisomia 13 (sindromul Patau)	124

8.2.4. Trisomia 14 . . . . .	125
8.2.5. Trisomia 18 (sindromul Edwards) . . . . .	125
8.2.6. Trisomia 21 (sindromul Down) . . . . .	126
8.2.7. Trisomia 22 . . . . .	129
8.2.8. Monosomia 21 . . . . .	130
8.3. Mutațiile genomice gonozomale ale omului . . . . .	130
8.3.1. Monosomia X (sindromul Turner) . . . . .	131
8.3.2. 47, XXX, trisomia X (nu-i superfemele) . . . . .	132
8.3.3. 48, XXXX, tetrasomia X . . . . .	133
8.3.4. 49, XXXXX, pentasomia X . . . . .	133
8.3.5. 47, XXY (sindromul Klinefelter) . . . . .	134
8.3.6. Sindromul 48, XXXY . . . . .	137
8.3.7. Sindromul 49, XXXXY . . . . .	138
8.3.8. 46, XX — bărbat avînd cariotip de femeie . . . . .	138
8.3.9. 46, XY — femeie avînd cariotip de bărbat . . . . .	139
8.3.10. Băiat sau fată? . . . . .	139
8.3.11. 47, XYY și 48, XXYY — nu-s superbărbați și nu-s ucigași . . . . .	139
8.4. Originea mutațiilor genomice umane . . . . .	145
8.4.1. Factori genetici . . . . .	147
8.4.2. Vîrsta părinților . . . . .	148
8.4.3. Asociații satelitare . . . . .	149
8.4.4. Ordinea diviziunilor centromerice . . . . .	151
8.4.5. Alterarea echilibrului hormonal . . . . .	152
8.4.6. Mutageni fizici și chimici . . . . .	153
 9. Cromozomul rupt și sudat (aberațiile cromozomale)	156
9.1. Radiogenetica ne învață . . . . .	156
9.2. Categoriile de bază ale aberațiilor cromozomale . . . . .	160
9.3. Geneza aberațiilor cromozomale: Revell contra Sax . . . . .	161
9.4. Aberația cromozomală: ruperea bicatenară a ADN . . . . .	167
9.5. Aberații de tip cromozomal în metafază . . . . .	172
9.6. Aberații de tip cromatidic în metafază . . . . .	175
9.7. Breșă cromatidiană: gap . . . . .	178
9.8. Aberațiile anafazice . . . . .	182
9.8.1. Fragmentul anafazic . . . . .	182
9.8.2. Punte anafazică . . . . .	184
9.8.3. Punte cu fragmente atașate (aberații subcromati- dice) . . . . .	185
9.8.4. Rupere-reunire . . . . .	186
9.9. Pitic nuclear: micronucleu . . . . .	188

<b>10. Aberațiile cromozomale congenitale ale omului</b>	<b>193</b>
10.1. Inversia	193
10.2. Deleția	194
10.2.1. Sindromul Wolf (monosomia 4 p)	194
10.2.2. Sindromul „cri du chat” (monosomia 5 p)	194
10.2.3. Monosomia parțială 13 q	195
10.2.4. Sindromul de Grouchy (monosomia 18 p)	195
10.2.5. Sindromul anti-Edwards (monosomia 18 q)	196
10.3. Cromozomul inelar	197
10.4. Translocația	198
10.5. Sînt importante aberațiile cromozomale umane?	201
<b>11. Cromozomul arlechin (schimb între cromatide surori)</b>	<b>202</b>
11.1. Schimbul între cromatide surori nu este un crossing-over somatic	202
11.2. Marcarea cromatidei	204
11.3. Arlechinizarea nu este aberație cromozomală	207
11.3.1. Arlechinizarea spontană	207
11.3.2. Radiațiile ionizante	208
11.3.3. Radiațiile neionizante	209
11.3.4. Mutageni-cancerigeni chimici	209
11.3.5. Geneza arlechinizării: unde și cum?	212
<b>12. Celule contopite</b>	<b>213</b>
12.1. Tigru și căprioara în aceeași celulă (despre hibridizarea celulară)	214
12.2. Vizualizarea cromozomului cînd „nici nu există” (despre PCC)	218
<b>13. Cromozomi fragili</b>	<b>222</b>
13.1. Puncte fragile	223
13.1.1. Sindromul de cromozom-X-fragil	223
13.1.2. Puncte fragile autozomale	225
13.2. Sindroame de fragilitate cromozomală	225
13.2.1. Ataxia telangiectasia (AT)	226
13.2.2. Sindromul Bloom (BS)	227
13.2.3. Anemia Fanconi (FA)	228
13.2.4. Xeroderma pigmentosum (XP)	228
13.2.5. Instabilitatea cromozomală și cancerul	229

<b>14. Cromozomul și cancerul . . . . .</b>	<b>230</b>
14.1. Vinătoare după „cromozomi marker“ . . . . .	232
14.2. Agenți cancerigeni . . . . .	234
14.3. Transformarea . . . . .	241
14.4. De la virusul tumoral la oncogen și de la oncogen la cromozom . . . . .	243
14.5. Mutații cromozomale „gene sălătătoare“ și cancerul . . . . .	247
 <b>15. Strategia analizei cromozomale (în loc de epilog)</b>	<b>250</b>
15.1. Cînd trebuie (ar trebui) să cariotipizăm? . . . . .	250
15.2. Analiza cromozomală prenatală . . . . .	252
15.3. Mutagenii-carcinogenii mediului ambiant . . . . .	254
15.4. Viitorul . . . . .	256
 Microfotografii . . . . .	257
Bibliografie . . . . .	262
Index tematic . . . . .	284

# CONTENTS

Preface . . . . .	5
<b>1. Nucleus in a cell . . . . .</b>	<b>7</b>
1.1. The chromatin . . . . .	8
1.1.1. Nuclear proteins . . . . .	9
1.1.2. Clods in the nucleus . . . . .	10
1.2. The "story" of nucleosome . . . . .	12
1.2.1. X-ray diffraction . . . . .	12
1.2.2. The enzymatic „scissor“ . . . . .	13
1.2.3. Gel electrophoresis . . . . .	14
1.2.4. The superhelix . . . . .	14
1.2.5. The octamer . . . . .	16
1.2.6. Electron microscopy . . . . .	16
1.2.7. String of beads . . . . .	17
1.2.8. The fine structure of the nucleosome . . . . .	18
1.2.9. Histone H <sub>1</sub> . . . . .	20
<b>2. The cell cycle . . . . .</b>	<b>21</b>
2.1. Microautoradiography . . . . .	22
2.2. The interphase . . . . .	24
2.3. Cell division . . . . .	25
2.4. Mitosis . . . . .	26
2.4.1. Prophase . . . . .	27
2.4.2. Metaphase . . . . .	29
2.4.3. Anaphase . . . . .	30
2.4.4. Telophase . . . . .	31
2.4.5. Mitotic exceptions . . . . .	31
2.5. Meiosis . . . . .	32
2.6. The C-mitosis and the gout . . . . .	35
2.7. The microtubules and the chromosome migration . . . . .	37
<b>3. Let's disassemble the chromosome . . . . .</b>	<b>39</b>
3.1. The beautiful chromosome (under light microscope) . . . . .	40
3.2. Tangled folding? (the chromosome under electron microscope) . . . . .	44
3.3. The chromosome is 10 000 times shorter than the length of the DNA molecule it contains . . . . .	49
3.4. Chromosome scaffold on the gallows? . . . . .	51

<b>4. Chromosome-systematics</b>	56
4.1. How many chromosomes?	56
<b>4.2. Karyotype</b>	60
<b>5. The history of our chromosomes</b>	64
5.1. Heroic era: how many chromosomes we have?	64
5.1.1. On the colchicisation	67
5.1.2. The hypotonic treatment	67
5.1.3. The cell culture	70
5.1.4. We have 46 chromosomes!	72
5.2. The first decade of modern cytogenetics: 1960—1970.	74
5.2.1. Blood culture	74
5.2.2. Conferences on karyotype	78
5.2.3. The human karyotype	80
<b>6. The „genuine“ and the „different“ (the history of eu- and heterochromatin)</b>	83
6.1. Radiant chromosomes	83
6.2. Genuine and different chromatin	84
6.3. Sex chromatin	87
<b>7. The second decade: the chromosome in jailbird's suit</b>	90
7.1. Band?	93
7.2. Fluorescence bands (stars on the night sky)	95
7.3. C-band: stammering message?	99
7.4. G-band: mitotic chromomere?	103
7.5. R-band: reverted world	110
7.6. The other bands	110
7.7. Many bands, how many genes?	111
7.8. The structure of the zebra-like chromosome	114
<b>8. More or fewer chromosomes (genome mutations)</b>	118
8.1. Genome mutation	118
8.1.1. Haploidy	118
8.1.2. Poliploidy	120
8.1.3. Aneuploidy	122
8.2. Autosomal genome mutations in man	122
8.2.1. 8 trisomy	123
8.2.2. 9 trisomy	124
8.2.3. 13 trisomy (Patau's syndrome)	124

8.2.4. 14 trisomy . . . . .	125
8.2.5. 18 trisomy (Edwards' syndrome) . . . . .	125
8.2.6. 21 trisomy (Down's syndrome) . . . . .	126
8.2.7. 22 trisomy . . . . .	129
8.2.8. 21 monosomy . . . . .	130
8.3. Gonosomal genome mutations in man . . . . .	130
8.3.1. X monosomy (Turner's syndrome) . . . . .	131
8.3.2. 47, XXX, X trisomy (not superfemale) . . . . .	132
8.3.3. 48, XXXX, X tetrasomy . . . . .	133
8.3.4. 49, XXXXX, X pentasomy . . . . .	133
8.3.5. 47, XXY (Klinefelter's syndrome) . . . . .	134
8.3.6. 48, XXXY syndrome . . . . .	137
8.3.7. 49, XXXXY syndrome . . . . .	138
8.3.8. 46, XX — man with female's karyotype . . . . .	138
8.3.9. 46, XY — female with man's karyotype . . . . .	139
8.3.10. Boy or girl? . . . . .	139
8.3.11. 47, XYY and 48, XXYY — not supermales and not killers . . . . .	139
8.4. The origin of human genome mutations . . . . .	143
8.4.1. Genetic factors . . . . .	147
8.4.2. The age of parents . . . . .	148
8.4.3. Satellite associations . . . . .	149
8.4.4. The pattern of centromere division . . . . .	151
8.4.5. Hormonal disturbances . . . . .	152
8.4.6. Physical and chemical mutagens . . . . .	153
 9. Chromosome breaks and rearrangements . . . . .	 156
9.1. Lessons of radiogenetics . . . . .	156
9.2. Basic types of chromosome aberrations . . . . .	160
9.3. The genesis of chromosome aberrations: Revell versus Sax . . . . .	161
9.4. The chromosome aberration: double strand breakage of DNA . . . . .	167
9.5. Chromosome type aberrations in metaphase . . . . .	172
9.6. Chromatid type aberrations in metaphase . . . . .	175
9.7. Breach in the chromatid: gap . . . . .	178
9.8. Anaphase aberrations . . . . .	182
9.8.1. Anaphase fragment . . . . .	182
9.8.2. Anaphase bridge . . . . .	184
9.8.3. Side-arm bridge (subchromatid aberrations) . . . . .	185
9.8.4. Breakage-reunion . . . . .	186

<b>9.9. Dwarffish nucleus; micronucleus</b>	<b>186</b>
<b>10. Congenital chromosome aberrations in man</b>	<b>193</b>
10.1. Inversion	193
10.2. Deletion	194
10.2.1. Wolf's syndrome (4p monosomy)	194
10.2.2. Cri du chat syndrome (5p monosomy)	194
10.2.3. Partial 13q monosomy	195
10.2.4. De Grouchy's syndrome (18p monosomy)	195
10.2.5. Anti Edwards' syndrome (18q monosomy)	196
10.3. Ring chromosome	197
10.4. Translocation	198
10.5 Human chromosome aberrations; are they really important?	201
<b>11. Harlequin chromosome (sister chromatid exchange)</b>	<b>202</b>
11.1. The sister chromatid exchange is not a somatic crossing-over	202
11.2. To mark the chromatid	204
11.3. Harlequinisation is not a chromosome aberration	207
11.3.1. Spontane harlequinisation	207
11.3.2. Ionising radiations	208
11.3.3. Non ionising radiations	209
11.3.4. Chemical mutagens-carcinogens	209
11.3.5. The genesis of harlequinisation; where and how?	212
<b>12. Melted cells</b>	<b>213</b>
12.1. Tiger and fawn together in one cell (on cell hybridization)	214
12.2. To see the chromosome when "it does not exist" (on the PCC)	218
<b>13. Fragile chromosomes</b>	<b>222</b>
13.1. Break points, fragile sites	223
13.1.1. Fragile X chromosome syndrome	223
13.1.2. Autosomal fragile sites	225
13.2. Fragile chromosome syndromes	225
13.2.1. Ataxia-telangiectasia (AT)	226
13.2.2. Bloom's syndrome (BS)	227
13.2.3. Fanconi anemia (FA)	228
13.2.4. Xeroderma pigmentosum (XP)	228



13.2.5. The chromosome instability and cancer . . .	229
<b>14. Chromosomes and cancer . . . . .</b>	<b>230</b>
14.1. Hunt for a chromosome marker . . . . .	232
14.2. Carcinogens . . . . .	234
14.3. Transformation . . . . .	241
14.4. From tumor viruses to oncogenes; from oncogenes to chromosomes . . . . .	243
14.5. Chromosome mutations, „jumping genes“ and cancer . . . . .	247
<b>15. The strategy of chromosome analysis (instead of an epilogue) . . . . .</b>	<b>250</b>
15.1. When do we have to (or ought to) analyse the chromosomes? . . . . .	250
15.2. Prenatal chromosome diagnosis . . . . .	252
15.3. Environmental mutagens-carcinogens . . . . .	254
15.4. The future . . . . .	256
Microphotographs . . . . .	257
References . . . . .	262
Index . . . . .	284

# TARTALOM

Előszó . . . . .	5
<b>1. Mag a sejtben . . . . .</b>	<b>7</b>
1.1. Sejtmaganyag . . . . .	8
1.1.1. Magfehérjék . . . . .	9
1.1.2. Rögök a sejtmagban . . . . .	10
1.2. A nukleoszóma-„sztori” . . . . .	12
1.2.1. A röntgendiffrakció . . . . .	12
1.2.2. Enzimuálló . . . . .	13
1.2.3. „Gélelő” . . . . .	14
1.2.4. A szuperhélix . . . . .	14
1.2.5. Az oktamer . . . . .	16
1.2.6. Az elektronmikroszkóp . . . . .	16
1.2.7. A gyöngysor . . . . .	17
1.2.8. A nukleoszóma finomszerkezete . . . . .	18
1.2.9. A H <sub>1</sub> hiszton . . . . .	20
<b>2. A sejt életeiklusa . . . . .</b>	<b>21</b>
2.1. Mikroautoradiográfia . . . . .	22
2.2. Interfázis . . . . .	24
2.3. Sejtosztódás . . . . .	25
2.4. Mitózis . . . . .	26
2.4.1. Profázis . . . . .	27
2.4.2. Metafázis . . . . .	29
2.4.3. Anafázis . . . . .	30
2.4.4. Telofázis . . . . .	31
2.4.5. Kivételek . . . . .	31
2.5. Meiózis . . . . .	32
2.6. Kószvény és C-mitózis . . . . .	35
2.7. Mikrotubulusok és kromoszómaavándorlás . . . . .	37
<b>3. Szereljük szét a kromoszómát! . . . . .</b>	<b>39</b>
3.1. A szép kromoszóma (a fénymikroszkóp alatt) . . . . .	40
3.2. Kusza gubanc? (Kromoszóma az elektronmikroszkóp alatt) . . . . .	44
3.3. A kromoszóma 10 000-szer rövidebb, mint az általa tartalmazott DNS-molekula . . . . .	49
3.4. Kromoszómaváz a bitón? . . . . .	51
<b>4. Kromoszóma-rendszertan . . . . .</b>	<b>56</b>
4.1. Hány kromoszóma . . . . .	56
4.2. Kariotípus . . . . .	60
<b>5. Kromoszómáink históriája . . . . .</b>	<b>64</b>
5.1. Hőskor: hány kromoszómánk van? . . . . .	64
5.1.1. A kolchicinozásról . . . . .	67
5.1.2. A hipotóniás kezelés . . . . .	67

5.1.3. A sejtenyésztés . . . . .	70
5.1.4. Negyvenhat kromoszómánk van! . . . . .	72
5.2. A modern citogenetika első évtizede: 1960–1970. . . . .	74
5.2.1. Vértényészet . . . . .	74
5.2.2. Kariotipizáló konferenciák . . . . .	78
5.2.3. Az ember kariotípusa . . . . .	80
<b>6. A „valódi” és a „más” (az eu- és a heterokromatin története) . . . . .</b>	<b>83</b>
6.1. Sugárzó kromoszómák . . . . .	83
6.2. Valódi és más kromatin . . . . .	84
6.3. Nemi kromatin . . . . .	87
<b>7. A második évtized: kromoszóma rabruhában . . . . .</b>	<b>90</b>
7.1. Sáv? . . . . .	93
7.2. Fluoreszcens sávok (csillagok az éjszakában) . . . . .	95
7.3. C-sáv: dadogó örökletes információ? . . . . .	99
7.4. G-sáv: mitotikus kromomer? . . . . .	103
7.5. R-sáv: fordított világ . . . . .	110
7.6. A többi sáv. . . . .	110
7.7. Sok sáv, hány gén? . . . . .	111
7.8. Zebra-kromoszómaszerkezet . . . . .	114
<b>8. Több-kevesebb kromoszóma (genommutációk) . . . . .</b>	<b>118</b>
8.1. Genommutáció . . . . .	118
8.1.1. Haploidia . . . . .	118
8.1.2. Poliploidia. . . . .	120
8.1.3. Aneuploidia . . . . .	122
8.2. Az ember autoszomális genommutációi . . . . .	122
8.2.1. 8-as triszómia . . . . .	123
8.2.2. 9-es triszómia . . . . .	124
8.2.3. 13-as triszómia (Patau-kór) . . . . .	124
8.2.4. 14-es triszómia. . . . .	125
8.2.5. 18-as triszómia (Edwards-kór) . . . . .	125
8.2.6. 21-es triszómia (Down-kór) . . . . .	126
8.2.7. 22-es triszómia . . . . .	129
8.2.8. 21-es monoszómia . . . . .	130
8.3. Az ember gonoszomális genommutációi . . . . .	130
8.3.1. X-monoszómia (Turner-kór) . . . . .	131
8.3.2. 47, XXX, X-triszómia (nem szupernő) . . . . .	132
8.3.3. 48, XXXX, X-tetraszómia . . . . .	133
8.3.4. 49, XXXXX, X-pentaszómia . . . . .	133
8.3.5. 47, XXY (Klinefelter-kór) . . . . .	134
8.3.6. 48, XXXY-szindróma . . . . .	137
8.3.7. 49, XXXXY-szindróma . . . . .	138
8.3.8. 46, XX – női kariotípusú férfi . . . . .	138
8.3.9. 46, XY – férfi kariotípusú nő . . . . .	139
8.3.10. Fiú vagy lány? . . . . .	139
8.3.11. 47, XYY és 48, XXYY – nem szuperférfi és nem gyilkos . . . . .	139
8.4. Az emberi genommutációk eredete . . . . .	145

8.4.1. A genetikai tényezők . . . . .	147
8.4.2. A szülői életkor . . . . .	148
8.4.3. A szatellita-asszociációk . . . . .	149
8.4.4. A centromerosztódási menetrend . . . . .	151
8.4.5. A hormonháztartási zavarok . . . . .	152
8.4.6. A fizikai-kémiai mutagének . . . . .	153
<b>9. Tört-fortt kromoszómák (kromoszómaaberrációk) . . . . .</b>	<b>156</b>
9.1. A sugárgenetika tanít . . . . .	156
9.2. Kromoszómaaberráció-alaptípusok . . . . .	160
9.3. Kromoszómaaberráció-képződés: Revell kontra Sax . . . . .	161
9.4. A kromoszómaaberráció: a DNS kettős láncszakadása . . . . .	167
9.5. Kromoszóma típusú aberrációk a metafázisban . . . . .	172
9.6. Kromatida típusú aberrációk a metafázisban . . . . .	175
9.7. Kromatidaris: gap . . . . .	178
9.8. Anafázisaberrációk . . . . .	182
9.8.1. Anafázisfragmentum . . . . .	182
9.8.2. Anafázishíd . . . . .	184
9.8.3. Oldalkaros híd (szubkromatida aberrációk) . . . . .	185
9.8.4. Törés-újraegyesülés . . . . .	186
9.9. Sejtmagtörpe: mikronukleusz . . . . .	188
<b>10. Az ember veleszületett kromoszómaaberrációi . . . . .</b>	<b>193</b>
10.1. Inverzió . . . . .	193
10.2. Deléció . . . . .	194
10.2.1. Wolf-kór (4p monoszómia) . . . . .	194
10.2.2. Macskanyávogásos betegség (5p monoszómia) . . . . .	194
10.2.3. Részleges 13q monoszómia . . . . .	195
10.2.4. De Grouchy-kór (18p monoszómia) . . . . .	195
10.2.5. Anti-Edwards-kór (18q monoszómia) . . . . .	196
10.3. Gyűrűkromoszóma . . . . .	197
10.4. Transzlokáció . . . . .	198
10.5. Fontosak-e az emberi kromoszómaaberrációk? . . . . .	201
<b>11. Harlekin kromoszóma (testvérkromatida-csere) . . . . .</b>	<b>202</b>
11.1. A testvérkromatida-csere nem szomatikus crossing-over . . . . .	202
11.2. Megjelölni a kromatidát . . . . .	204
11.3. A harlekinizáció nem kromoszómaaberráció . . . . .	207
11.3.1. A spontán harlekinizáció . . . . .	207
11.3.2. Az ionizáló sugárzás . . . . .	208
11.3.3. A nem ionizáló sugárzások . . . . .	209
11.3.4. Vegyi mutagének-karcinogének . . . . .	209
11.3.5. Hol és hogyan jön létre a harlekinizáció? . . . . .	212
<b>12. Összeolvasztott sejtek . . . . .</b>	<b>213</b>
12.1. Ha egy sejtben „elidőz a tigris és a szelíd őz” (a sejt-hibridizációról) . . . . .	214
12.2. Látni a kromoszómát, amikor „nincs is” (a FCC-ről) . . . . .	218

<b>13. Törékeny kromoszómák</b>	<b>222</b>
13.1. Törékeny pont	223
13.1.1. Törékeny X-kromoszómaszindróma	223
13.1.2. Az autoszomális törékeny pontok	225
13.2. Törékenykromoszóma-szindrómák	225
13.2.1. Az ataxia telangiectasia (AT)	226
13.2.2. A Bloom-szindróma (BS)	227
13.2.3. A Fanconi-anémia (FA)	228
13.2.4. A xeroderma pigmentosum (XP)	228
13.2.5. A kromoszómainstabilitás és a rák	229
<b>14. A kromoszóma és a rák</b>	<b>230</b>
14.1. A „kromoszóma marker”-vadászat	232
14.2. A rákkeltők	234
14.3. Transzformáció	241
14.4. A rákvírustól az onkogénig és az onkogéntől a kromoszómáig	243
14.5. Kromoszóma mutációk, „ugráló gének” és a rák	247
<b>15. Kromoszóma vizsgálati stratégia (utószó helyett)</b>	<b>250</b>
15.1. Mikor kell(ene) kariotipizálnunk?	250
15.2. Kromoszóma vizsgálat születés előtt	252
15.3. A környezeti mutagének-karcinogének	254
15.4. A jövő	256
A mikroszkópi felvételek jegyzéke	257
Irodalom	262
Tárgymutató	284
Cuprins	291
Contents	296

963 281 9h2 X

Megjelent a Magyar Népköztársaság  
és Románia Szocialista Köztársaság  
közös könyvkiadási megállapodása keretében

A könyv szerkesztője: Molnár Gusztáv

Műszaki szerkesztő: Bálint Lajos

A megjelenés éve: 1986. Alak: 61×86/16

Papír: 70 g-os fementes

Kiadól ívek száma: 10,368

Nyomdai ívek száma: 19 + 16 melléklet

Tizedes osztályozás nagy könyvtárak számára:

894—511—4, kis könyvtárak számára: 894.511

Tiparul executat sub comanda nr. 15/1986

la ÎNTRPRENDEREA POLIGRAFICĂ CLUJ

Municipiul Cluj-Napoca

B-dul Lenin nr. 146

Republica Socialistă România

