

Isolamento e caratterizzazione di mutanti *Top II* di *Drosophila*

Valentina Mengoli, Elisabetta Bucciarelli, Ramona Lattao, Roberto Piergentili, Silvia Bonaccorsi
Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare, Sapienza Università di Roma

Alcuni anni fa nel nostro laboratorio è stato identificato un gene, denominato *solofuso* (*suo*), specificato da due alleli (suo^1 e suo^2) che determinano sterilità maschile e gravi difetti nella segregazione dei cromosomi durante entrambe le divisioni meiotiche (Bucciarelli et al., J Cell Biol 160:993, 2003). Tale fenotipo ci ha fatto ipotizzare che questo gene potesse corrispondere al locus della Topoisomerasi II (*TopII*), che è compreso nella stessa regione politenica (37E) in cui mappa *suo*. Nel DNA dei mutanti *suo* però non è stato possibile identificare mutazioni all'interno della regione codificante del gene *TopII*, molto probabilmente a causa della natura ipomorfa dei due alleli, che quindi potrebbero presentare una mutazione nella regione regolativa del gene.

Per verificare la nostra ipotesi, ci siamo proposti di isolare alleli letali tardivi (e quindi presumibilmente portatori di una mutazione nella sequenza codificante del gene) al locus *suo*.

Attraverso uno *screening* citologico di circa 120 linee con mutazioni letali sul cromosoma 2 abbiamo effettivamente isolato un nuovo allele, denominato suo^3 , che in emizigosi provoca letalità al terzo stadio larvale, mentre in combinazione con ciascuno degli alleli sterili determina un fenotipo *uncoordinated-like* (adulti scarsamente vitali, sterili e con ridotta coordinazione del movimento). Abbiamo verificato che la mutazione suo^3 è dovuta ad una transizione G-A che provoca un'alterazione del sito di *splicing* al 5' del secondo introne della sequenza codificante del gene *TopII*, a conferma che gli alleli *suo* da noi isolati identificano questo locus. Abbiamo quindi utilizzato queste mutazioni per analizzare il ruolo di Top II in diversi tessuti di *Drosophila*, dimostrando che, oltre a provocare difetti di segregazione nelle cellule meiotiche maschili, esse determinano un forte fenotipo mitotico nei cervelli larvali. A seconda delle combinazioni alleliche prese in esame, la gravità del difetto mitotico osservato va da una parziale decondensazione dell'eterocromatina, accompagnata da anafasi difettive e frequenze variabili di riarrangiamenti cromosomici, fino alla virtuale assenza di cromosomi morfologicamente distinguibili. Inoltre, nei cromosomi politenici delle ghiandole salivari dei maschi mutanti *TopII* abbiamo osservato una specifica alterazione della morfologia del cromosoma X che stiamo attualmente caratterizzando.

Organizzazione molecolare del primo introne della CTP sintetasi

Roberto Piergentili, Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare, Sapienza Università di Roma

Il locus CG6854 è un sito genetico complesso che codifica per almeno tre trascritti: due isoforme della citidina sintetasi (che catalizza la trasformazione UTP → CTP essenziale per la biosintesi *de novo* dei nucleotidi) ed un fattore di trascrizione putativo. Caratteristica peculiare del locus è la presenza di due introni insolitamente lunghi, il primo dei quali si estende per circa 7,5 Kb. L'analisi mutazionale tramite mobilizzazione di elementi P ha dimostrato che questo introne è essenziale per la funzionalità del locus. Un approccio bioinformatico ha rivelato altre interessanti caratteristiche dell'introne, suggerendo possibili meccanismi di regolazione genica.