

Rat의 DNA Polymerase β cDNA가 도입된 Transgenic *Drosophila*의 체세포 돌연변이 유발에 관한 연구

최영현, 유미애*, 이원호
부산대학교 생물학과, 분자생물학과*
(95. 5. 16. 접수)

Hypersensitivity of Somatic Mutations and Mitotic Recombinations Induced by Mutagens in Transgenic *Drosophila* bearing Rat DNA Polymerase β

Yung-Hyun Choi, Mi-Ae Yoo* and Won-Ho Lee

Department of Biology and Molecular Biology*, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

ABSTRACT : The effects of DNA polymerase β on the somatic chromosome mutations and mitotic recombinations were investigated using the transgenic *Drosophila* bearing chimeric gene consisting of a promoter region of *Drosophila* actin 5C gene and rat DNA polymerase β . For detecting the somatic chromosome mutations and mitotic recombinations, the heterozygous (*mwh*+) strains possessing or lacking transgene pol β were used.

The spontaneous frequency of small *mwh* spots, due to deletion or nondisjunction etc., in the non-transgenic *w* strain and the transgenic p[pol β]-130 strain was 0.351 and 0.606, respectively. The spontaneous frequency (0.063) of large *mwh* spots, arises mostly from somatic recombination between the centromere and the locus *mwh*, in the transgenic p[pol β]-130 strain was about three times higher than that (0.021) of the non-transgenic *w* strain. The mutant clone frequencies of small and large *mwh* spots induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and ethyl methanesulfonate in the transformant p[pol β]-130 were higher than those in the host strain *w*. The present results suggest that rat DNA polymerase β participate at least in the somatic chromosome mutations and mitotic recombination processes.

Key words : DNA polymerase β , somatic chromosome mutations, transgenic *Drosophila*

서 론

진핵생물의 DNA polymerase β 는 단일 polypeptide로 구성되어 있으며, 포유동물에서 분자량이 약 40 kD 정도로 DNA polymerases 중에서 가장 적고 여러 포유동물 조직에 골고루 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Kornberg, 1992). DNA polymerase β 는 개체의 여러 발생단계 동안 증식 또는 비증식 중인 세포에 모두 비교적 적은 양으로 존재하고 세포주기 동안 약간의 양적변화가 있으며(Chiu and Baril, 1975; Kornberg, 1992), 그의 효소학적 특성과 세포분화 후에도 존재한다는 점

등으로 DNA repair, 특히 excision repair에 관여할 것으로 알려져 왔다(Kornberg 1992; Wang *et al.*, 1992). 그리고 Hirose *et al.*(1989)과 Nowak *et al.*(1990) 등에 의해 mouse와 rat 등의 생식세포내 감수분열과정 동안 발현의 양적변화 해석에서 DNA polymerase β 가 DNA recombination에 관여할 가능성이 있을 것으로 추정되어지고 있다. 특히 Kornberg(1992)는 DNA-damaging agents의 처리농도에 따라 polymerase β 의 전사량도 증가되었다고 하여 돌연변이 유발과도 밀접한 관계를 가질 수 있음을 시사한 바 있다.

한편 분자생물학의 발전과 더불어 특정 유전자의 기능해석

을 위한 model system으로 유전자 조작이 비교적 용이하고, 풍부한 유전학적, 발생학적 및 분자생물학적 연구의 축적뿐만 아니라 P element에 의한 transgenic fly의 제작법이 확립되어 있으며(Karess, 1985), DNA repair(Baker *et al.*, 1978; Smith *et al.*, 1980; Vogel *et al.*, 1985)와 DNA recombination(Garcia-Bellido and Dapena, 1974; Becker, 1976; Graf *et al.*, 1984)에 관한 돌연변이체가 많이 알려져 있는 *Drosophila*를 이용한 transgenic fly의 제작에 관한 연구가 많은 분야에서 성공적인 진전을 보이고 있다(Klemenz *et al.*, 1987; Sprenger *et al.*, 1993; Tsuda *et al.*, 1993; Yoo *et al.*, 1994a,b). 특히 Yoo *et al.*(1994a,b)은 *Drosophila*에 rat의 DNA polymerase β cDNA가 도입된 transgenic fly를 만들어 DNA polymerase β 의 기능해석을 개체 수준에서 시도한 바 있다. 이를 위하여 *Drosophila*의 actin 5C 유전자의 promoter에 rat의 DNA polymerase β cDNA를 연결시킨 chimeric 유전자를 도입한 transgenic *Drosophila* 4계통을 얻은 결과, 도입된 DNA polymerase β 가 transgenic 개체에서 모두 발현되었고, 그 산물은 DNA polymerase β 로서의 활성도 가지고 있음을 *in situ* hybridization으로 확인하였으며, DNA repair와 염색체 재조환에 미치는 DNA polymerase β 의 영향을 보고한 바 있다(Yoo *et al.*, 1994a).

본 실험에서는 포유동물의 DNA polymerase β 의 기능 해석을 위한 일환으로, Yoo *et al.*(1994a)에 의해 제작된 transgenic *Drosophila*를 이용하여 돌연변이원에 의한 염색체 돌연변이 유발과 체세포 염색체 재조환에 미치는 DNA polymerase β 의 영향을 정상계통과 비교하여 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험을 위한 transgenic fly는 Yoo *et al.*(1994a)에 의해 제작된 rat의 DNA polymerase β cDNA가 도입된 *w* p[pol β]-130 계통이었으며, 그의 non-transgenic 계통의 *w* 및 *w*; *mwh* 계통을 사용하였다. Rat의 DNA polymerase β 발현을 위해 사용된 vector의 제작을 위해서는, *Drosophila*의 유전자 중에서 강력한 promoter를 가진 것으로 알려져 있는 actin 5C 유전자를 사용하여 5'측 DNA 단편(-2600 - +77bp)과 3'측 poly A signal 부분을 P element vector pW8에 cloning하여 발현형 vector pW8-Actex-1을 만든 다음, 여기에 rat의 DNA polymerase β cDNA를 삽입하여 pW8-Actex-1-pol β 를 만들었다(Fig. 1). 이 발현 vector를 P element-mediated transformation 방법으로 transgenic 계통을 얻고자 수정란에 microinjection 하였으며, 그 중 얻어진 4 계통에서 X 염색체에 polymerase β 가 삽입된 *w* p[pol

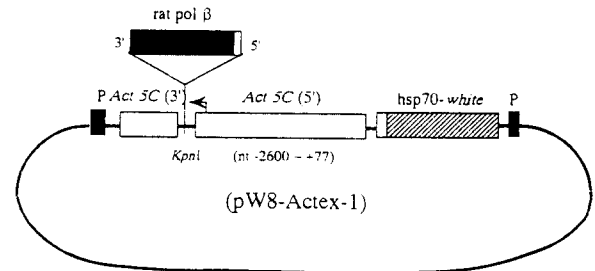


Fig. 1. Construction of pW8-Actex-1-pol- β . Rat DNA polymerase β cDNA was inserted into the unique *KpnI* site of pW8-Actex-1. This vector was constructed by insertion of the enhancer-promoter element and poly A signal sequences from actin 5C gene of *Drosophila melanogaster* into pW8 (Yoo *et al.*, 1994a).

β]-130 계통을 본 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발원으로는 alkylating agents에 속하는 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, Aldrich Chem. Co., USA) 및 ethyl methanesulfonate(EMS, Sigma Chem. Co., USA)를 사용하였으며, 이들을 유전독성효과가 없는 범위 농도의 dimethyl sulfoxide(Sigma Chem. Co., USA)에 녹이거나 증류수에 희석하여 사용하였다.

2. 실험 방법

2.1 Heterozygous(*mwh*/+) 유충의 준비

Non-transgenic 계통의 *w*; *mwh*/+ 유충을 얻기 위하여 미교배의 *w* 계통 암컷과(*w/w*; +/+)과 *mwh* 계통의 수컷(*w/Y*; *mwh/mwh*)을 교배시켰으며, rat의 DNA polymerase β 가 발현하는 transgenic인 p[*w**; pol β]; *mwh*/+ 유충을 얻기 위해서는 transgenic 계통 *w* p[pol β]-130의 암컷(p[*w**; pol β]; +/+)과 *mwh*의 수컷과의 교배를 실시하였다(Yoo *et al.*, 1994b).

2.2 돌연변이 유발 빈도 조사

MNNG 및 EMS의 처리를 위해 상기의 방법으로 얻은 transgenic p[pol β]-130 계통과 non-transgenic *w* 계통의 3령기 이형접합체(*mwh*/+) 유충들(72 ± 4 hr)을 모아 MNNG 및 EMS 희석액이 든 사육병에 넣어 4시간 동안 암실하에 두었다. 4시간 동안 alkylating agents에 노출된 유충들을 배지가 든 사육병으로 옮겨 우화할 때까지 25°C 암실에서 사육하였다. 이때 얻어진 성체들의 날개 표면상에서 조사될 수 있는 변이 세포군의 종류는 small *mwh* spot과 large *mwh* spot이다(Graf *et al.*, 1984).

결 과

*Drosophila*의 체세포 돌연변이 및 체세포 염색체 재조환에 미치는 DNA polymerase β 의 영향을 알아보기 위하여 표지 유전자로 *mwh*를 가진 계통을 사용하였으며, rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic p[pol β]-130 계통과 non-transgenic *w* 계통의 3령기 heterozygous 유충(*mwh/+*)에 두 종류의 alkylating agents MNNG와 EMS를 처리한 결과는 Table 1 및 2와 같다. 여기서 mutant spots의 크기는 2ⁿ에 상응하는 값으로서 세포분열 수에 따른 크기로, n은 세포 분열의 횟수를 의미하며, 이러한 mutant clone의 비교로서 날개 원기 세포에 염색체 재조환이 일어난 시기를 상대적으로 비교해 볼 수 있다(Becker, 1976; Haynie and Brynat, 1977). Table 1의 MNNG에 의한 transgenic 계통과 non-transgenic 계통에서 나타난 *mwh* spot의 크기별 분포도는 Choi *et al.*(1992)의 결과와 유사하였으며, EMS 처리에서도 이와 유사한 경향성을 보여주었다.

Table 1 및 2에서 1개 또는 2개의 *mwh* 세포로 구성된 small *mwh* spot은 염색체상의 결실이나 불분리 등에 의한 경우이고, *mwh*가 3개 이상으로 구성된 large *mwh* spot은 체세포 염색체 재조환에 의한 경우이다. 먼저 small *mwh* spot의 경우 non-

transgenic *w* 계통의 대조군이 약 0.351인데 비하여 transgenic p[pol β]-130 계통은 약 2배 정도 높은 0.606으로 나타났다(Fig. 2 및 3). 두 계통 모두에서 MNNG 및 EMS의 처리 농도 증가에 따라 변이 유발 빈도도 증가되었는데, 1.0 mg/ml와 2.0 mg/ml의 MNNG 처리군에서 non-transgenic *w* 계통은 0.573 및 0.938 정도였으나, rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic p[pol β]-130 계통에서는 이보다 약 2.5배(1.443) 및 1.9배(1.750) 높게 나타났다. EMS의 처리군에서도 조사된 두 농도에서 이와 비슷하게 transgenic p[pol β]-130 계통이 non-transgenic *w* 계통보다 평균 2배 이상 높은 빈도를 보였다.

대조군에서 체세포 염색체 재조환에 의한 large *mwh* spot 유발의 경우에서도 transgenic p[pol β]-130 계통은 non-transgenic *w* 계통(0.021)에 비하여 약 3배(0.063) 이상 높게 나왔으며, MNNG 처리군의 경우 조사된 3가지 실험군에서 모두 transgenic 계통이 약 3배 이상 높은 빈도를 보였다(Fig. 2 및 3). 0.175%와 0.25%의 EMS 처리군의 경우에서도 rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic 계통에서 역시 각각 1.41배 및 1.7배 높은 염색체 재조환 빈도를 보여주었다. 그리고 최소한 한개 이상의 mutant spot을 가지는 날개의 빈도도 전체적으로 non-transgenic *w* 계통에서보다 transgenic p[pol β]-130 계통이 매우 높았음을 알 수 있었다.

Table 1. Frequency distributions of mutant clones of *mwh* spots on the wings of a non-transgenic *w* strain and a transgenic pol β strain induced by treatment with MNNG at the third instar larval stage

Exposure dose (mg/ml)	Frequency per wing(number) of <i>mwh</i> spots in clones with cell numbers of									No. of wings scored
	1	2	3-4	5-8	9-16	17-32	33-64	65-128	129-	
<i>w</i> strain*										
Control	0.212 (91)	0.140 (60)	0.014 (6)	0.005 (2)	0.002 (1)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	429
1.0	0.308 (36)	0.265 (31)	0.162 (19)	0.094 (11)	0.162 (19)	0.094 (11)	0.043 (5)	0.060 (7)	0.060 (7)	117
1.5	0.33 (48)	0.278 (40)	0.181 (26)	0.118 (17)	0.132 (19)	0.167 (24)	0.111 (16)	0.097 (14)	0.056 (8)	144
2.0	0.411 (60)	0.527 (77)	0.274 (40)	0.185 (27)	0.158 (23)	0.151 (22)	0.089 (13)	0.055 (8)	0.082 (12)	146
pol β strain**										
control	0.376 (186)	0.230 (114)	0.030 (15)	0.010 (5)	0.012 (6)	0.002 (1)	0.004 (2)	0.002 (1)	0.002 (1)	495
1.0	0.880 (139)	0.563 (89)	0.431 (68)	0.348 (55)	0.310 (49)	0.177 (28)	0.127 (20)	0.203 (32)	0.051 (8)	158
1.5	0.745 (129)	0.895 (153)	0.456 (78)	0.772 (132)	0.404 (69)	0.333 (57)	0.140 (24)	0.070 (12)	0.053 (9)	171
2.0	0.803 (61)	0.947 (72)	0.763 (58)	0.658 (50)	0.434 (33)	0.329 (25)	0.303 (23)	0.145 (11)	0.026 (2)	76

*; Non-transgenic flies with genotypes [*w/w* ; *mwh/+*]

**; Transgenic pol β flies with genotypes [pol β/w ; *mwh/+*] or [pol β/Y ; *mwh/+*]

Table 2. Frequency distributions of mutant clones of *mwh* spots on the wings of a non-transgenic *w* strain and a transgenic *pol β* strain induced by treatment with EMS at the third instar larval stage

Exposure dose (%)	Frequency per wing(number) of <i>mwh</i> spots in clones with cell numbers of wings									No. of wings scored
	1	2	3-4	5-8	9-16	17-32	33-64	65-128	129-	
<i>w</i> strain*										
Control	0.212 (91)	0.140 (60)	0.014 (6)	0.005 (2)	0.002 (1)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	429
0.175	0.361 (44)	0.328 (40)	0.254 (31)	0.279 (31)	0.230 (28)	0.271 (33)	0.156 (19)	0.098 (12)	0.033 (4)	122
0.25	0.451 (51)	0.557 (63)	0.240 (27)	0.425 (48)	0.248 (28)	0.150 (17)	0.240 (27)	0.195 (22)	0.113 (10)	113
<i>pol β</i> strain**										
Control	0.376 (186)	0.230 (114)	0.303 (15)	0.010 (5)	0.012 (6)	0.002 (1)	0.004 (2)	0.002 (1)	0.002 (1)	495
0.175	0.653 (81)	0.492 (61)	0.468 (58)	0.468 (58)	0.347 (43)	0.266 (33)	0.169 (21)	0.081 (10)	0.048 (6)	124
0.25	1.041 (127)	0.877 (107)	0.631 (77)	0.598 (73)	0.566 (69)	0.320 (39)	0.393 (48)	0.107 (13)	0.074 (9)	122

* and ** ; see Table 1

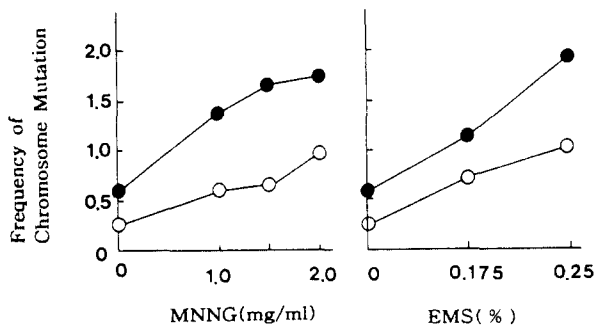


Fig. 2. The frequency of the somatic chromosome mutation induced by MNNG and EMS. The frequency is expressed as small *mwh* spots/wings scored. ○; Non-transgenic flies, ●; Transgenic β flies.

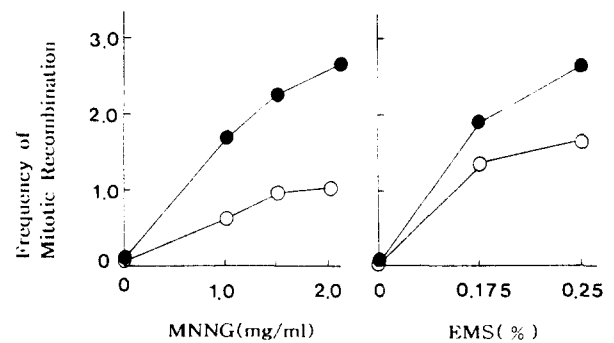


Fig. 3. The frequency of the mitotic recombination induced by MNNG and EMS. The frequency is expressed as large *mwh* spots/wings scored. ○; Non-transgenic flies, ●; Transgenic β flies.

고 찰

진핵생물에 있어서 DNA polymerase β는 단일 polypeptide로 구성되어 있으며, 포유동물에서는 분자량이 약 40 kD 정도이다(Kornberg, 1992), 포유동물의 polymerase β와 효소학적 특징이 거의 유사한 *Drosophila*의 경우는 이보다 약 2배인 110 kD 정도이다(Sakaguchi and Boyd, 1985). 여러 선행 연구의 결과 DNA polymerase β는 DNA repair, 특히 excision repair와 DNA recombination에 관여할 가능성이 있을 것으로 추정되어지고 있으나 아직 정확한 기작은 밝혀진 바 없다(Hirose *et al.*, 1989; Nowak *et al.*, 1989; Kornberg, 1992;

Wang *et al.*, 1992). 본 실험에서는 포유동물의 DNA polymerase β의 기능 해석을 위한 일환으로, rat의 DNA polymerase β가 도입된 transgenic *Drosophila*의 염색체 돌연변이 유발과 체세포 염색체 재조합 형성의 정도를 정상 계통과 비교하여 보았다.

결과에서 알 수 있듯이 rat의 DNA polymerase β가 도입된 transgenic [pol β]-130 계통은 대조군에서나 돌연변이원이 처리된 실험군 모두에서 non-transgenic 계통에 비하여 변이 유발에 고감수성을 보여 주었는데, 체세포 돌연변이에 의하여 정상 세포로부터 종양 세포가 생겨날 수 있다는 Boveri의 암에 있

어서의 체세포 돌연변이설이나 암 발생 초기 단계에서 체세포 염색체 재조환의 역할이 크다는 Miller와 Miller의 견해 (Biswas, 1990) 등을 고려해 볼 때, 특히 체세포 염색체 재조환에 의한 mutant clone의 비율이 증가되었음에 더 큰 의미를 둘 수 있다.

본 실험의 결과는 Yoo *et al.*(1994a,b) 및 Choi(1995)에 의한 다양한 변이 유발원들을 처리한 경우와 동일한 양상이었으며, rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic *Drosophila*는 생식세포 염색체 재조환 생성도 정상 계통에 비하여 높게 나타남이 보고된 바 있다. 그리고 DNA repair에 미치는 rat DNA polymerase β 의 영향을 알아보기 위하여 transgenic 계통과 repair 정상인 non-transgenic 계통의 MMS, MMC 및 UV 등의 killing effect에 대한 감수성을 비교하였으나 두 계통 사이에 큰 차이가 없었다(Yoo *et al.*, 1994a). 또한 excision repair와 post-replication repair가 전혀되지 않는 DNA repair 이중 결손 돌연변이체 계통과 여기에 rat DNA polymerase β 를 삽입하여 만든 transgenic 계통과의 감수성 비교에서도 유의적인 차이점을 발견하지 못하였다(Yoo *et al.*, 1994a). Kornberg(1992)는 DNA-damaging agents의 처리 농도에 따라 polymerase β 의 전사량도 증가되었다고 한 바 있으므로, 본 실험의 결과는 rat의 DNA polymerase β 가 최소한 체세포 돌연변이 유발이나 염색체 재조환 형성에 어느 정도 관여하고 있음을 시사하여 준다.

최근 Shimizu *et al.*(1993)과 Leem *et al.*(1994) 등에 의한 yeast에서 분리된 DNA polymerase IV가 생화학적인 성질로 보아 포유동물의 DNA polymerase β 와 아주 유사하다는 점과, 이 polymerase IV가 결손된 돌연변이체에서 DNA 이중 나선의 break가 높은 빈도로 유발된다는 점으로 미루어 DNA polymerase IV가 DNA break의 repair에 크게 관여한다고 하였다. 따라서 포유동물의 DNA polymerase β 는 그 자체가 체세포 염색체 재조환을 높게 유도할 것으로 추정할 수도 있으며, *Drosophila*의 polymerase β 와 포유동물의 polymerase β 의 분자량에서 매우 큰 차이가 난다는 점(Sakaguchi and Boyd, 1985) 등을 고려하면, *Drosophila*의 DNA polymerase β 의 작용이 새롭게 삽입된 rat의 DNA polymerase β 에 의해 억제되었다고 할 수도 있다. 즉 rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic 계통이 *Drosophila*의 DNA polymerase β 가 결손된 돌연변이체로서 작용할 수도 있음을 의미하며, 이는 rat의 DNA polymerase β 가 삽입된 transgenic 계통에서 염색체상의 결실 등에 의한 small *mwh* spot이 고빈도로 유발되었다는 점을 잘 지지하여 준다.

REFERENCES

1. Baker, B.S., A.T.C. Carpenter, and P. Ripoll, (1978): The utilization during mitotic cell divisions of loci controlling meiotic recombination and disjunction in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*. **90**: 531-578.
2. Becker, H.J., (1976): Mitotic recombination. In: *The Genetics and Biology of Drosophila*, Vol. 1C(M. Ashburner and E. Novitski, editors). Academic Press, New York, pp.1019-1087.
3. Biswas, D., (1990): Chemical carcinogens and oncogenes. In: *Biochemistry of Chemical Carcinogenesis*(R.C. Garner and J. Hradec, editors). Plenum Press, New York, pp. 125-134.
4. Chiu, R.W. and E.F. Baril, (1975): Nuclear DNA polymerases and the HeLa cell cycle, *J. Bio. Chem.* **250**: 7951-7957.
5. Choi, Y.H., M.A. Yoo, and W.H. Lee, (1992): Somatic mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine detected as *Drosophila* somatic gene and chromosome mutation assaying systems, *Kor. J. Genet.* **14**: 189-202.
6. Choi, Y.H., (1995): Studies on the principle and application of *Drosophila* somatic mutation assaying systems for environmental mutagens. Ph.D. thesis, Pusan Nat'l Univ., Korea.
7. Garcia-Bellido, A. and J. Merriam, (1974): Induction, detection, and characterization of cell differentiation mutations in *Drosophila*, *Mol. Gen. Genet.* **128**: 117-130.
8. Graf, U., F.E. Würzler, A.J. Katz, H. Frei, H. Joun, C.B. Hall, and P.G. Kale, (1984): Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, *Environ. Mutag.* **6**: 153-188.
9. Haynei, J.L. and P.J. Bryant, (1977): The effects of X-rays on the proliferation dynamics of cells in the imaginal wing disc of *Drosophila melanogaster*, *Wilhelm Roux's Arch. Biol.* **183**: 85-100.
10. Hirose, F., Y. Hotta, M. Yamaguchi, and A. Matsukage, (1989): Difference in the expression level of DNA polymerase β among mouse tissue; High expression in the pachytene spermatocyte, *Exp. Cell Res.* **181**: 169-180.
11. Karess, R.E., (1985): P element mediated germ line transformation of *Drosophila*. In: *Molecular Cloning*, Vol. 2 (D.M. Glover, editor) IRL Press, Oxford, pp.121-141.
12. Klemenz, R., U. Weber, and W.J. Gehring, (1987): The white as a marker in a new P-element vector for gene transfer in *Drosophila*, *Nucleic Acids Res.* **15**: 3947-3959.
13. Kornberg, A., (1992): *DNA Replication*, 2nd ed., W.H. Freeman Co., New York.
14. Leem, S.H., P.A. Ropp, and A. Sugino, (1994): The yeast *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase IV: Possible involvement in double strand break DNA repair, *Nucleic Acids Res.* **22**: 3001-3017.
15. Nowak, R., M. Woszczyński, and J.A. Siedlecki, (1990): Changes in the DNA polymerase β gene expression during development of lung, brain and testis suggest an involvement of the enzyme in DNA recombination, *Exp.*

- Cell Res.* **191**: 51-56.
16. Sakaguchi, K. and J.B. Boyd, (1985): Purification and characterization of a DNA polymerase β from *Drosophila*, *J. Biol. Chem.* **260**: 10406-10411.
 17. Shimizu, K., C. Santocanale, P.A. Ropp, M.P. Longhess, P. Plevani, G. Lucchini, and A. Sugino, (1993): Purification and characterization of a new DNA polymerase from budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*: A probable homolog of mammalian DNA polymerase β , *J. Biol. Chem.* **268**: 27148-27153.
 18. Smith, P.D., R.D. Snyder, and R.L. Dusenbery, (1980): Isolation and characterization of repair-deficient mutants of *Drosophila melanogaster*. In: DNA Repair and Mutagenesis in Eukaryotes (W.M. Generoso *et al.*, editors) Plenum Press, New York, pp.175-188.
 19. Sprenger, F., M.M. Trosclair, and D.K. Morrison, (1993): Biochemical analysis of torso and D-raf during *Drosophila* embryogenesis: Implications for terminal signal transduction, *Mol. Cell. Biol.* **13**: 1163-1172.
 20. Tsuda, L., Y.H. Inoue, M.A. Yoo, M. Mizuno, M. Hata, Y.M. Lim, T. Adachi-Yamada, H. Ryo, Y. Masamune, and Y. Nishida, (1993): A protein kinase similar to MAP kinase activator acts downstream of the raf kinase in *Drosophila*, *Cell* **72**: 407-414.
 21. Vogel, E.W., R.L. Dusenbery, and P.D. Smith, (1985): The relationship between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in higher eukaryotes system. IV. The effects of the excision-defective *mei-9* and *mus(2)* mutants on alkylation induced genetic damage in *Drosophila*, *Mutation Res.* **149**: 193-207.
 22. Wang, L., U. Patel, L. Ghosh, and S. Banerjee, (1992): DNA polymerase β mutations in human colorectal cancer, *Chromosoma* **98**: 81-85.
 23. Yoo, M.A., W.H. Lee, H.Y. Ha, J.R. Ryu, M. Yamaguchi, K. Fujikawa, A. Matsukage, S. Kondo, and Y. Nishida, (1994a): Effects of DNA polymerase β gene over-expressed in transgenic *Drosophila* on DNA repair and recombination, *Japan. J. Genet.* **69**: 21-33.
 24. Yoo, M.A., J.R. Ryu, H.Y. Ha, and W.H. Lee, (1994b): Studies on the function of polymerase β using transgenic *Drosophila*, *Kor. J. Genet.* **69**: 21-33.