

# Chromosomen- praktikum

Herausgegeben von Friedhelm Göldenboth

Bearbeitet von R. Camenzind, F. Göldenboth, W. Schmid,  
H. Stein, H. Tichy, K. Wöhrmann



Thieme

# Chromosomen- praktikum

Herausgegeben von Friedhelm Göltenboth

Bearbeitet von

René Camenzind, Friedhelm Göltenboth, Werner Schmid  
Hans Stein, Herbert Tichy, Klaus Wöhrmann

105 Abbildungen, 5 Tabellen



Georg Thieme Verlag Stuttgart 1978

**CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek**

**Chromosomenpraktikum** / hrsg. von Friedhelm  
Göltenboth. Bearb. von René Camenzind . . . –  
Stuttgart : Thieme, 1978.

ISBN 3-13-557901-8

NE: Göltenboth, Friedhelm [Hrsg.]; Camenzind,  
René [Mitarb.]

Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden *nicht* besonders kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann also nicht geschlossen werden, daß es sich um einen freien Warennamen handele.

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Photokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

© 1978 Georg Thieme Verlag, Herdweg 63, Postfach 732, D-7000 Stuttgart 1

Printed in Germany – Satz und Druck: Allgäuer Zeitungsverlag GmbH, Kempten

Gesetzt auf Linotronic

ISBN: 3 13 557901-8

5 4 3 2 1 0

## Der Ursprung des Lebens

Biogenetik ein Forschungsgebiet heutiger Naturwissenschaft

2., überarbeitete Auflage

Von Prof. Dr. R. W. Kaplan, Frankfurt

1978. X, 318 Seiten

50 Abbildungen, 11 Tabellen

〈flexibles Taschenbuch〉 DM 14,80

ISBN 3 13 484802 3

---

## Allgemeine Genetik

Von Prof. Dr. W. Gottschalk, Bonn  
Zeichnungen von W. Irmer und  
Mitarbeitern, Bonn

1978. VII, 364 Seiten

141 Abbildungen, 7 Tabellen

〈flexibles Taschenbuch〉 DM 16,80

ISBN 3 13 508901 0

---

## Biophysik

Eine Einführung für Biologen, Mediziner  
und Physiker

Von Prof. Dr. W. Laskowski, Berlin

Prof. Dr. W. Pohlit, Frankfurt

Band I

Struktur, Energie

Information und Bausteine  
lebender Systeme

1974. XII, 242 Seiten

98 Abbildungen, 21 Tabellen

〈flexibles Taschenbuch〉 DM 12,80

ISBN 3 13 502401 6

Band II

Funktionsweisen lebender  
Systeme

Physikalische Hilfsmittel  
der Biologie

1974. VIII, 270 Seiten

97 Abbildungen, 16 Tabellen

〈flexibles Taschenbuch〉 DM 12,80

ISBN 3 13 502501 2



Georg Thieme Verlag Stuttgart

## Herausgeber

Göltenboth, Friedhelm, Dr., Universitas Kristen dan IKIP, Satya Wacana,  
Department of Biology, Salatiga/Central Java, Indonesien

## Mitarbeiter

Camenzind, René, Dr., Entomologisches Institut, Eidgenössische Technische Hochschule-Zentrum, CH-8092 Zürich

Göltenboth, Friedhelm, Dr., Universitas Kristen dan IKIP, Satya Wacana,  
Department of Biology, Salatiga/Central Java, Indonesien

Schmid, Werner, Prof. Dr. med., Abteilung für Medizinische Genetik,  
Universitätskinderklinik, Steinwiesstr. 75, CH-8032 Zürich

Stein, Hans, Priv.-Doz. Dr., Max-Planck-Institut für Biologie, Spemannstr. 34, 7400 Tübingen

Tichy, Herbert, Dr., Max-Planck-Institut für Biologie, Spemannstr. 34,  
7400 Tübingen

Wöhrmann, Klaus, Prof. Dr., Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Populationsgenetik, Auf der Morgenstelle 28, 7400 Tübingen

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung und Vorwort (F. Göldenboth).</b>	<b>1</b>
1.1	Leitfaden zur Benutzung des Buches	3
1.2	Reihenfolge für die praktische Durchführung	4
1.3	Reihenfolge für die theoretische Orientierung	5
1.4	Teile, die sich für allgemein biologische Praktika anbieten	5
<b>2</b>	<b>Versuchsobjekte und deren Beschaffungsmöglichkeiten (F. Göldenboth, R. Camenzind, W. Schmid, H. Stein, H. Tichy, K. Wöhrmann).</b>	<b>7</b>
2.1	Objekte für Mitoseuntersuchungen	7
2.2	Untersuchungen zur Chromosomenstruktur	8
2.3	Struktur- und Funktionsanalysen von Chromosomen auf molekularer Grundlage	8
2.4	Chromosomen des Menschen	8
2.5	Untersuchungen von Meiosestadien	9
2.6	Chromosomenkinetik	9
2.7	Genaktivität	9
2.8	Genkartierung	10
2.9	Chromosomenmutationen	11
<b>3</b>	<b>Präparative Hilfsmittel (F. Göldenboth, R. Camenzind, W. Schmid, H. Stein, H. Tichy, K. Wöhrmann)</b>	<b>13</b>
3.1	Mitose	13
3.2	Chromosomenstrukturprobleme	15
3.3	Struktur- und Funktionsanalysen von Chromosomen auf molekularer Grundlage	18
3.4	Chromosomen des Menschen	21
3.5	Meiose	25
3.6	Chromosomenkinetik	26
3.7	Genaktivität	27
3.8	Genkartierung	29
<b>4</b>	<b>Versuchsanleitungen und Auswertungen</b>	<b>31</b>
4.1	Mitose (F. Göldenboth)	31
4.1.1	Präparation mitotischer Zellen der Wurzelspitze von <i>Allium cepa</i>	37
4.1.2	Auswertung der Mitosepräparate und Erläuterungen zur Mitose	41
4.1.3	Präparation von Chromosomen aus den Hodenzellen des Strudelwurms <i>Mesostoma ehrenbergi</i>	43
4.1.4	Auswertung der Hodenquetschpräparate von <i>Mesostoma ehrenbergi</i>	45
4.2	Chromosomenstrukturprobleme (F. Göldenboth)	48
4.2.1	Kältebehandlung der Chromosomen von <i>Mesostoma ehrenbergi</i>	55
4.2.2	Hydrolysebehandlung der Chromosomen von <i>Mesostoma ehrenbergi</i>	56
4.2.3	Behandlung von Chromosomen mit Colchizin	58

4.2.4	Lebendbeobachtung, Quellung und Spreitung der Chromosomen von <i>Mesostoma ehrenbergi</i> . . . . .	62
4.2.5	Autoradiographische Untersuchungen zur Chromosomenstruktur . . . . .	67
4.3	Struktur- und Funktionsanalysen von Chromosomen auf molekularer Grundlage (H. Stein) . . . . .	73
4.3.1	RNA-Synthese mit DNA-abhängiger RNA-Polymerase ( <i>Escherichia coli</i> ) an DNA (Kalbsthymus) in vitro . . . . .	78
4.3.2	Isolierung von Leberzellen – Nachweis verschiedenartiger RNA-Polymeraseaktivitäten . . . . .	81
4.3.3	In-vitro-RNA-Synthese in Nukleolen und Nachweis der $\alpha$ -Amanitin-resistenten („nukleolären“) RNA-Polymerase . . . . .	85
4.4	Chromosomen der Menschen (W. Schmid) . . . . .	87
4.4.1	Präparation mitotischer Chromosomen des Menschen . . . . .	89
4.4.2	Karyotypanalyse konventionell gefärbter Chromosomen . . . . .	92
4.4.3	Giemsa-Bänderung (G-Bänderung) . . . . .	97
4.4.4	Quinacrin-Fluorochromierung (Q-Bänderung) . . . . .	98
4.4.5	Heterochromatinfärbung (C-Bänderung) . . . . .	101
4.4.6	Acridin-Orange-Färbung (R-Bänderung) . . . . .	102
4.4.7	X-Chromatinnachweis in Mundschleimhautabstrichen und Zellen der Haarwurzel . . . . .	105
4.4.8	Y-Chromatinnachweis in Interphasekernen durch Fluorochromierung . . . . .	110
4.4.9	Chromosomen- und Chromatidentypaberrationen beim Menschen . . . . .	112
4.4.10	Karyotypanalyse und Nomenklatur gebänderter Chromosomen, autosomale Chromosomenanomalien beim Menschen . . . . .	119
4.4.11	Untersuchung des Schwesterchromatidenaustausches mit 5-Bromdesoxyuridin (BUDR) und Hoechst 33 258 . . . . .	127
4.5	Meiose (F. Göldenboth) . . . . .	130
4.5.1	Hodenquetschpräparate von <i>Chorthippus parallelus</i> (Feldheuschrecke) . . . . .	138
4.5.2	Quetschpräparate von Pollenmutterzellen aus Antheren von <i>Lilium tigrinum</i> . . . . .	141
4.6	Chromosomenkinetik (R. Camenzind) . . . . .	148
4.6.1	Lebendbeobachtungen unter normal-physiologischen Bedingungen . . . . .	149
4.6.2	Experimente an den Spermatocyten . . . . .	152
4.6.3	Auswertung und Zusatzinformation . . . . .	153
4.7	Genaktivität (H. Tichy) . . . . .	155
4.7.1	Riesenchromosomen aus Speicheldrüsen von Chironomidenlarven . . . . .	164
4.7.2	Riesenchromosomen aus Speicheldrüsen von Drosophilalarven . . . . .	168
4.7.3	Nachweis von RNA in Riesenchromosomen . . . . .	169
4.7.4	Induktion von Puffs bei <i>Drosophila hydei</i> . . . . .	174
4.7.5	Lampenbürstenchromosomen aus Oocyten von <i>Triturus</i> . . . . .	177
4.7.6	Lampenbürstenchromosomen aus Spermatocyten von <i>Drosophila hydei</i> . . . . .	180
4.8	Genkartierung (K. Wöhrmann) . . . . .	181
4.8.1	Bestimmung der Koppelungsgruppe . . . . .	186

4.8.2	Genkartierung geschlechtsgekoppelter Gene bei <i>Drosophila melanogaster</i> mit Hilfe der Dreipunktmethode . . . . .	187
4.9	Chromosomenmutationen (F. Göldenboth) . . . . .	190
4.9.1	Chromosomen- und Chromatidbrüche bei <i>Vicia faba</i> (Pferdebohne) . . . . .	191
4.9.2	Durch Röntgenstrahlen induzierte Mutationen bei Riesenchromosomen von Chironomus . . . . .	194
4.9.3	Mikrokerntest am Knochenmarkausstrich von Säugern (W. Schmid) . . . . .	199
	<b>Literatur</b> . . . . .	204
	<b>Sachverzeichnis</b> . . . . .	209

# 1 Einleitung und Vorwort

In den letzten Jahrzehnten hat man auf vielen Gebieten der Grundlagenforschung den Chromosomen steigende Beachtung geschenkt.

Die Chromosomenforschung entsprang Untersuchungen an ganzen Organismen, Geweben und Zellen, und diesem Arbeitsfeld entnahm sie ihre grundlegenden Methoden und Begriffe. Die Chromosomen von Pflanze, Tier und Mensch nehmen in Wachstum, Vermehrung, Differenzierung und Vererbung eine entscheidende Rolle ein. Dabei sind die wesentlichen Bestandteile aller Chromosomen Makromoleküle aus Nukleoproteiden, die ein definierbares Element, die Desoxyribonukleinsäure oder DNA, in ihrer Struktur enthalten. Dieses Molekül ist mit Sicherheit in allen Chromosomen aller Organismen immer aus denselben vier Nukleotiden zusammengesetzt. Verschieden sind lediglich Anordnung und Mengenverhältnisse dieser Nukleotide.

Beim Studium der Chromosomen sind drei Hauptziele von Bedeutung: Erstens sind die Chromosomen als chemische Gebilde zu verstehen, die sich nach besonderen Gesetzen verhalten. Diese Gesetzmäßigkeiten sind gleichzeitig von entscheidender Bedeutung für die Fortpflanzung der Zelle. Zum zweiten müssen wir die Chromosomen als die steuernden Organe des Zellenlebens erkennen und drittens als Träger der Gene betrachten. Als solche unterliegen sie den Gesetzen der Vererbung.

Die Grundlage der zunehmenden theoretischen Erkenntnisse über Bau und Funktion der Chromosomen sind oftmals die Fortschritte der Untersuchungstechniken. Viele der wirkungsvollsten Methoden sind äußerst einfach und seit Jahrzehnten in Gebrauch. Andere sind soweit verfeinert, daß sie eine Untersuchung einzelner Details im Zusammenhang mit chromosomenspezifischen Fragen zulassen.

In diesem neun Einheiten umfassenden Chromosomenpraktikum (Kapitel 4) sind sowohl die effektivsten einfachen Untersuchungstechniken als auch einige komplexere Methoden der Chromosomenuntersuchung aufgeführt. Die Auswahl an Organismen, Methoden und Themen geschah nach methodisch-didaktischen Gesichtspunkten. Eine Vollständigkeit im Sinne einer Methodensammlung wurde dabei nicht angestrebt. Es bestehen daher sicherlich noch Lücken, die jedoch der angestrebten Vorstellung, dem Studenten einen Weg des experimentellen Erarbeitens von chromosomenspezifischen Inhalten zu vermitteln, nicht abträglich sind.

Für die Untersuchung der äußeren Chromosomengestalt und damit die Identifizierbarkeit einzelner Chromosomen eignet sich in besonderem Maße die Metaphase der Mitose. Die Untersuchung der mitotischen

Vorgänge in somatischen Zellen ist Gegenstand der ersten Praktikumseinheit. Um die Fragestellungen zur Chromosomenstruktur von Eukaryonten zu erarbeiten, schließt sich daran der Abschnitt „Chromosomenstrukturprobleme“ an. Einige der grundlegenden Versuche, die Struktur des Eukaryontenchromosoms zu erkennen, sind hier aufgezeigt, und dabei wird gleichzeitig der Versuch gemacht, die Schwierigkeiten zu veranschaulichen, die mit dieser Problematik verbunden sind.

Mit der raschen Entwicklung der Molekularbiologie vertiefte sich im letzten Jahrzehnt das Wissen über die molekulare Organisation der Kernbestandteile und der molekularen Interaktionen zwischen Zellstrukturen. Versuche, die komplexen molekularbiologischen Vorgänge bei der Replikation und Transkription genetischer Information zu verstehen, sind in der dritten Praktikumseinheit zusammengestellt. Die methodischen Möglichkeiten zur Untersuchung der Chromosomen des Menschen werden in umfassender Weise im vierten Abschnitt des Praktikums erarbeitet.

Keimzellen werden durch meiotische Teilungsvorgänge produziert. Dabei wird die Zahl der Chromosomen halbiert, und nach teilweiser Rekombination der Gene enthält jedes Spermium oder Ei einen haploiden Satz an Chromosomen. Das Verhalten der Chromosomen während der Meiose und die Darstellung der meiosespezifischen Rekombinationvorgänge ist Praktikumsinhalt des fünften Teiles.

Die eindrucksvollen Bewegungsabläufe in der lebenden Zelle während der Meiose sowie die Umwelteinflüsse auf diese Vorgänge behandelt der Abschnitt „Chromosomenkinetik“.

Die Chromosomen der meisten Pflanzen und Tiere erreichen infolge ihres hohen DNA-Gehalts Dimensionen, die sie den lichtmikroskopischen Untersuchungen zugänglich machen, und zwar nicht alleine was ihre äußere Gestalt betrifft, sondern auch in Hinsicht auf ihre Gliederung in Phasen physiologischer Aktivität. Sofern sich ein Aufbau aus Chromomeren sichtbar machen läßt, ist die Möglichkeit gegeben, die Aktivität der Chromosomen direkt, also ohne den Umweg über die Genetik, zu betrachten. Zwei besonders günstige Sonderformen von Chromosomen, die „Riesenchromosomen“ und die „Lampenbürstenchromosomen“, bieten dabei ausgezeichnete Untersuchungsvoraussetzungen.

Beide Chromosomentypen sind extrem groß und zeigen in seltener Klarheit eine Gliederung in viele Chromomeren pro Chromosom. Dieser Zustand der Chromosomen stellt ein Charakteristikum in genaktiven Zellkernen dar. Die im siebten Praktikumsabschnitt dargestellten Versuche zur Genaktivität von Chromosomen basieren auf dem Auftreten von polytären Riesenchromosomen in den Speicheldrüsenzellen von Mücken- und Fliegenlarven sowie den Lampenbürstenchromosomen in Oocyten von Amphibien und Spermatocyten von *Drosophila*. Die gute Sichtbarkeit des Chromomerenbaues der Lampenbürstenchromosomen beruht dabei auf der außerordentlichen Streckung der Chromosomen.

Die achte Einheit des Praktikums befaßt sich mit der Genkartierung an

einem der bedeutendsten Objekte der Genetik, der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*. Die das Praktikum abschließende Einheit „Chromosomenmutationen“ zeigt einen Ausschnitt der Möglichkeiten chromosomenverändernder Einflüsse auf. Neben der Behandlung strahlen-induzierter Mutationen an Wurzelspitzenchromosomen von *Vicia faba* und an Riesenchromosomen aus den Speicheldrüsenzellen von Mückenlarven sind chemisch induzierte Mutationen an Knochenmarkszellen Untersuchungsgegenstand.

Im Rahmen des vorliegenden Praktikums ist es nicht möglich, alle chromosomenspezifischen Begriffe zu erklären. Eine gewisse Vertrautheit mit den allgemein-biologischen Grundbegriffen wird daher als notwendig erachtet. Um dem Studenten der Biologie und Medizin sowie denjenigen, die als Lehrende Fragen auf der Ebene der Chromosomen erarbeiten sollen, dies zu erleichtern, wurde jedem Praktikumsabschnitt eine in den Fragenkreis einführende Einleitung vorangestellt. Dieser folgt ein technischer Teil, dessen Ergebnisse in einem abschließenden Abschnitt ausgewertet werden, wobei versucht wurde, jeweils einen allgemein-cytogenetischen Hauptaspekt mit in die Auswertung zu integrieren. Mein Dank gilt all denen, die durch ihre Mitarbeit und die kritische Durchsicht der Manuskripte für das Gelingen dieses Praktikums entscheidend beigetragen haben. Dem Verlag und seinen Mitarbeitern an dieser renommierten Taschenbuchreihe möchte ich für ihr Verständnis und stetes Entgegenkommen danken.

## 1.1 Leitfaden zur Benutzung des Buches

Das Buch ist in vier Kapitel gegliedert. Die Einleitung führt in die Fragenkreise der einzelnen Praktikumsabschnitte ein und gibt daneben Hinweise für die praktische Durchführung und theoretische Orientierung über die Sachinhalte des Praktikums.

In Kapitel 2 sind die Versuchsobjekte und deren Beschaffungsmöglichkeiten kurz erläutert. Beigegeben sind, soweit notwendig, Zuchtanleitungen.

Alle notwendigen präparativen Hilfsmittel für die jeweiligen Versuche sind in Kapitel 3 zusammengestellt. Die Lösungen und Reagenzien sind mit Buchstaben gekennzeichnet, so daß im eigentlichen Versuchsteil nicht immer wieder der gesamte Ansatz für die jeweiligen Fixier-, Färb- oder sonstigen Mittel aufgeführt zu werden braucht.

Das Kapitel 4 besteht aus der Gesamtheit der Praktikumsversuche, wobei jeder Unterabschnitt eine Versuchseinheit umfaßt.

Die Untergliederung der Kapitel 2–4 erfolgt nach Praktikumeinheiten, so daß sich z. B. Abschnitt 2.1, 3.1 und 4.1 aufeinander beziehen.

## 1.2 Reihenfolge für die praktische Durchführung

Die in den Abschnitten 4.1–4.9 gegebene Stufenfolge des Gesamtpraktikums ist in sechs thematisch enger zusammenhängende Einheiten unterteilbar.

1. *Einheit*: Die Versuche 4.1–4.3 führen von einfachen Präparationen mitotischer Chromosomen über die Betrachtung mehr spezieller Probleme der Chromosomenstruktur zur Darstellung einiger molekularbiologisch-biochemischer Aspekte der Chromosomenfunktionalität.

2. *Einheit*: In den Versuchen des Abschnitts 4.4 werden die Chromosomen des Menschen und die Auswirkungen pathologischer Veränderungen auf Genom- und Chromosomenebene erarbeitet, wobei die angewandten Techniken zur Charakterisierung von Chromosomen und Chromosomenabschnitten eine besondere Stellung einnehmen.

3. *Einheit*: Das Verhalten und die Morphologie der Chromosomen während der Keimzellenreifung ist Gegenstand der Abschnitte 4.5 und 4.6. Die Untersuchungen erfolgen dabei sowohl an fixierten als auch an lebenden Zellen.

4. *Einheit*: Die Darstellung der Genaktivität an Riesenchromosomen und Lampenbürstenchromosomen umfaßt Abschnitt 4.7.

5. *Einheit*: Der Bezug zwischen genetischen und morphologischen Befunden zur Genlokalisierung an Riesenchromosomen von *Drosophila* wird in Abschnitt 4.8 hergestellt.

6. *Einheit*: Die in Abschnitt 4.9 behandelten Chromosomenmutationen veranschaulichen die morphologische Ausprägung von Mutationsereignissen an *Vicia-faba*-Chromosomen, Riesenchromosomen und Knochenmarkszellen.

Da sowohl die Präparationstechniken als auch die Vorarbeiten für die einzelnen Abschnitte unterschiedliche Aufwendigkeitsgrade besitzen, erscheint es sinnvoll, den Gang von einfachen Präparationen zu komplizierteren Erarbeitungstechniken mehrfach zu gehen.

So stehen neben relativ unkomplizierten Methoden wie Quetschpräparation von Wurzelspitzenzellen, Hodenzellen und Speicheldrüsenzellen (4.1, 4.5 und 4.7) präparatorisch und vorbereitungsmäßig komplexere Einheiten. Dazu gehören die Versuche zur Chromosomenstruktur (4.2), molekularbiologische Struktur- und Funktionsanalysen (4.3), Chromosomenkinetik (4.6) und Chromosomenmutation (4.9). Dazu kommen die Abschnitte 4.4 (Chromosomen des Menschen) und 4.8 (Genkartierung), die für eine relative Gesamtschau unerlässlich erscheinen.

Es empfiehlt sich, dem Praktikumsgang als Ganzes zu folgen. Weiter individueller Gestaltungsspielraum ist jedoch durch die Untergliederung der einzelnen Kapitel gegeben, was sowohl in Hinsicht auf die unterschiedlichen apparativen als auch sachimmanenten Notwendigkeiten von Bedeutung sein kann.

### 1.3 Reihenfolge für die theoretische Orientierung

Für eine rein theoretische Orientierung empfehlen sich die Einführungen zu den jeweiligen Praktikumsabschnitten, daneben die an die Versuchsanleitungen anschließenden Auswertungsteile. Dabei ist von der Sache und dem Anliegen dieses Buches her vorgegeben, daß diese Orientierung ein Lehrbuch nicht ersetzen, wohl aber in einigen Fällen ergänzen kann. Es wurde nämlich versucht, Wissen, das in vielen Einzelpublikationen verstreut vorliegt, einzubeziehen und zu erläutern.

In Abschnitt 4.1 wird über den Verlauf der Mitose bei pflanzlichen und tierischen Zellen informiert, während Abschnitt 4.2 die Problematik der Chromosomenstrukturforschung anhand einiger wesentlicher Ansätze aufzeigt.

Fragen zur biochemischen Funktionalität von Chromosomen werden in Abschnitt 4.3 angeschnitten.

Dem Zusammenhang zwischen dem Chromosomenkomplement des Menschen und der phänotypischen Auswirkung von Störungen innerhalb dieses Gefüges ist Abschnitt 4.4 gewidmet. Mit Fragen des Verhaltens von Chromosomen während der meiotischen Teilungsvorgänge sowie der Problematik der Spindelformation und Chromosomenwanderung innerhalb der Zelle befassen sich die Abschnitte 4.5 und 4.6.

Das morphologische Bild von Chromosomen in genetisch aktivem Zustand ist Gegenstand der Erörterungen in Abschnitt 4.7, während der Bezug zwischen Genort und Chromosomenort in Abschnitt 4.8 erarbeitet wird.

Der abschließende Abschnitt 4.9 befaßt sich mit den Ergebnissen, die nach Einwirkung von Röntgenstrahlen oder mutagenen Chemikalien an Chromosomen und Zellkernen sichtbar werden.

Insgesamt gesehen ist hier der Versuch unternommen worden, einschlägige Untersuchungsmethoden aufzuzeigen, die bei der Erforschung der Chromosomen höherer Organismen derzeit angewandt werden.

### 1.4 Teile, die sich für allgemein biologische Praktika anbieten

Da es heutzutage weitgehend eine Selbstverständlichkeit ist, daß im Rahmen von allgemein-biologischen und medizinischen Praktika an entsprechenden Stellen cytogenetische Fragen behandelt werden, die jedoch nicht den Rahmen dieser Art von Praktika überziehen dürfen, sei hier auf die Teile hingewiesen, die ohne weiteres in solche Praktika eingefügt werden können.

Für diese Art von Praktika sind besonders zu empfehlen: die Abschnitte 4.1 (Mitose), 4.4 (Chromosomen des Menschen), 4.5 (Meiose) sowie 4.8 (Genkartierung).

Diese Abschnitte behandeln jeweils in sich abgerundete Informationseinheiten und befassen sich mit jeweils fundamentalem Lehrstoff der Cytogenetik und Humangenetik.

## 2 Versuchsobjekte und deren Beschaffungsmöglichkeiten

### 2.1 Objekte für Mitoseuntersuchungen

#### 2.1.1 *Allium cepa* (Küchenzwiebel)

Die Beschaffung stellt keine Schwierigkeit dar. Die Gewinnung der 2–3 mm langen Wurzelspitzen erfolgt nach Anzucht der Zwiebel auf einem Hyazinthen- oder Becherglas. Der „Zwiebelkuchen“ sitzt dabei knapp über einer Wasserfläche, ohne benetzt zu werden.

#### 2.1.2 *Mesostoma ehrenbergi* (Strudelwurm)

In Altwasserarmen von Flüssen und eutrophen Seen kann *Mesostoma ehrenbergi* während der Sommermonate gefangen werden. Da jedoch diese natürliche Bezugsquelle oft nicht die Gewähr für eine kontinuierliche Lieferung bietet, sei hier darauf verwiesen, daß in vielen zoologischen Instituten *Mesostoma ehrenbergi* zu Praktikumszwecken gehalten wird.

Beschränkter Bezug von Dauereiermaterial ist durch Dr. U. Heitkamp, II. Zoologisches Institut der Universität Göttingen, 34 Göttingen, Berliner Str. 20, möglich.

**Zuchtansatz:** In Plastikschaalen oder großen Boverischaalen (500 ml) in einem abgeschatteten Winkel Tiere aus dem Dauereiermaterial schlüpfen lassen. Pro Schale etwa 20–30 Tiere. Gut geeignet für die Zucht ist kalkarmes Wasser oder Kunstwasser folgender Zusammensetzung:

In 1000 ml Aqua dest. werden nacheinander folgende Substanzen gelöst: 3,5 g NaCl, 2,7 g  $\text{CaCl}_2$  (vorher in einem Teil des Gesamtwassers separat lösen), 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3,0 g  $\text{MgSO}_4$ , 0,5 g  $\text{NaHCO}_3$ , 1 ml 1%ige  $\text{FeCl}_3$ -Lösung. Einregulieren auf pH 5,5.

Diese Stammlösung kann längere Zeit im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Das gebrauchsfertige Zuchtwasser setzt sich aus 10 ml Stammlösung in 1000 ml Aqua dest. suspendiert zusammen. Das Zuchtwasser muß jeweils wöchentlich frisch angesetzt werden. Als Futter dienen Wasserflöhe.

Ab dem 12.–14. Lebenstag sind die lateral am Körperlängsrand gelegenen Hoden der Tiere für eine Präparation geeignet. Jeweils einige Tiere sollten weitergezüchtet werden. Nach etwa 50 Tagen erhält man auf diese Weise pro Tier ca. 8–10 rotbraune Dauereier. Aus diesen kann die nächste Generation gezüchtet werden, da die Dauereier in Zuchtwasser von 4°C im Kühlschrank jahrelang aufbewahrt werden können.

## 2.2 Untersuchungen zur Chromosomenstruktur

Da sich an den Chromosomen von *Mesostoma ehrenbergi* viele Befunde zur Problematik der Chromosomenstruktur untersuchen lassen, wird auch in diesem Kapitel auf dieses Objekt zurückgegriffen (s. 2.1.2).

## 2.3 Struktur- und Funktionsanalysen von Chromosomen auf molekularer Grundlage

### 2.3.1 Kalbsthymus-DNA, Ribonukleinsäure aus Hefe, E.-coli-RNA-Polymerase sowie ATP, CTP, GTP und UTP

Bezugsquelle: Fa. Boehringer, Mannheim. Aufbewahrung der Kalbsthymus-DNA bei 4°C, E.-coli-RNA-Polymerase bei -70°C, ATP, CTP, GTP und UTP bei -20°C.

### 2.3.2 Leberzellkerne von weißen Mäusen

Die Beschaffung von weißen Mäusen stellt keine Schwierigkeit dar.

### 2.3.3 Nukleoli aus Leberzellkernen von weißen Mäusen

Zur Beschaffung s. 2.3.2.

## 2.4 Chromosomen des Menschen

Notwendige Voraussetzung ist der Ansatz eines Blutkulturmediums oder die Beschaffung des Chromosomenbestecks der Behringwerke AG, Marburg/Lahn.

*Chromosomenbesteck:* Es besteht aus 1 Fläschchen Kulturmedium, 1 Ampulle Arrestierflüssigkeit (0,04%iges Colcemid), 1 Sterillanzette, 1 Glasschneider. Aufbewahrung bei 4°C.

*Blutkulturmedium:* Es besteht aus 100 ml Eagle's Basal Medium (EMB), Bezugsquelle: Difco Laboratories, Detroit, Michigan USA. Dazu kommen 20 ml humanes AB-Mischserum, Bezugsquelle: Blutspendezentralen. In 20-ml-Portionen einfrieren.

Ferner: 2 ml Phythämagglutinin P (PHA), Bezugsquelle: Difco Laboratories, Detroit, Michigan USA. Die Trockenampulle zu 5 ml wird in 5 ml sterilem Aqua bidest. gelöst; danach zehnfach verdünnt mit sterilem Aqua bidest. und in Gebrauchsportionen von 2 ml in Stechampullen tiefgefroren.

Benötigt werden weiterhin 2 ml Liquemin (Roche), Bezugsquelle: Hoffmann-La Roche AG, Grenzach. In Ampullen zu je 5 ml beziehbar.

Dazu kommt 1 ml Antibiotic-Antimycotic Mixture, Bezugsquelle: GIBCO, New York 14072, Stanley Road 3775, USA. Diese Substanz ist in Flaschen zu 100 ml beziehbar und enthält Penicillin, Streptomycin und Fungizone.

Gebraucht wird ferner 0,5–1 ml Natriumkarbonat 10%ig, Bezugsquelle: Difco Laboratories, Detroit, Michigan USA. Die Lösung ist unter dem Namen TC Bicarbonate Solution 10% beziehbar.

Gut geeignet für die Blutzellenzucht sind Röhrchen von 16×150 mm, Bezugsquelle: Falcon tissue culture tube Nr. 3026 durch Bacton-Dickson GmbH, Heidelberg, Postfach.

## 2.5 Untersuchungen von Meiosestadien

### 2.5.1 Hodenzellen von *Chorthippus parallelus* (Feldheuschrecke)

Chorthippusarten sind auf Wiesen und Parkgrasflächen zu finden. Fangzeit der mittelgroßen Feldheuschreckenmännchen: Ende August–Anfang September.

### 2.5.2 Antherenzellen von *Lilium tigrinum* (Tigerlilie)

In Gärtnereien und Blumengeschäften sind diese Pflanzen erhältlich. Es ist dabei darauf zu achten, daß genügend Knospen an den Pflanzen sind.

## 2.6 Chromosomenkinetik

Zur Beschaffung von *Chorthippus*-, *Stenobothrus*-, *Prophus*- und *Oedipoda*arten s. 2.5.1.

Die Imagines, die für eine Spermatocytenpräparation in Frage kommen, treten etwa von Juni bis Ende September auf. Die Tiere sind in großen Gläsern oder Insektenkäfigen mit frischem Gras einige Tage züchtbar.

## 2.7 Genaktivität

### 2.7.1 Präparation von Riesenchromosomen aus Speicheldrüsen von Chironomidenlarven

Die als „rote Mückenlarven“ bezeichneten Tiere (Abb. 1) finden sich vor allem im Schlamm und Sediment stehender Gewässer. Selbst in kleinsten

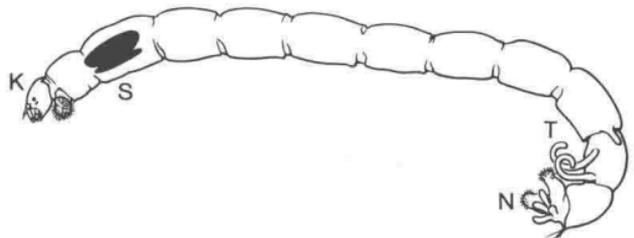


Abb. 1 Chironomuslarve. Die Speicheldrüse (S) in Lage und Form ist schwarz eingezeichnet. Kopfkapsel (K), Nachschieber (N) und die Tubuli (T) erleichtern die Lagebestimmung. Länge der Larven je nach Art 12–25 mm.