

KLASSISCHE UND
MOLEKULARE ZYTOGENETIK

Tagungsbericht

10. INTERNATIONALE TAGUNG
DER SEKTION ZYTOGENETIK
DER GESELLSCHAFT FÜR
ANTHROPOLOGIE UND HUMANGENETIK
HOMBURG/SAAR 17.-20. Juni 1987

Herausgeber
K.D. Zang
unter Mitarbeit von
N. Blin, G. Unteregger, und C. Wollenberg

Verzeichnis der Beiträge

- S. Adolph, C. Klett, P.G. Strauss, H. Hameister, Ulm und München 1
DIE PHYSIKALISCHE GENKARTE DES CHROMOSOMS 15 DER MAUS
- S. Adolph, C. Klett, B. Henglein, M. Lipp, G.W. Bornkamm, H. Hameister, Ulm, Freiburg und München 4
BRUCHPUNKTBESTIMMUNG IN VERSCHIEDENEN VARIANTEN t(2;8) TRANSLOKATIONEN DES BURKITT LYMPHOMS
- P.F. Ambros, I. Schratte, Wien 7
DIE VERWENDUNG VON NICHT-AUTORADIOGRAPHISCHEN IN SITU HYBRIDISIERUNGSMETHODEN IN DER TUMORZUTOGENETIK
- P.F. Ambros, D. Schweizer, Wien 10
NON-RADIOACTIVE IN SITU HYBRIDIZATION AND CHROMOSOME BANDING: METHODS AND APPLICATIONS
- J. Arnemann, S. Kahler, L.P. Berg, S. Jakubiczka, U. U. Sauermann, J.T. Epplen, J. Schmidtke, Göttingen und Freiburg 16
MOLECULAR STRUCTURE AND EVOLUTION OF A Yp DERIVED HUMAN COSMID CLONE cos 36
- G. Barbi, M. Djalali, M. Wolf, Ulm 20
MOSAIKE MIT AUSSCHLIEßLICH STRUKTURELLER CHROMOSOMEN-VERÄNDERUNG - ERFAHRUNGEN IM ZUTOGENETIK-ROUTINELABOR
- H.A. Baumann, U. Claussen, H. Drewitz, E. Greiner, G. Senger, R. Ulmer, F.W. Zahn, Erlangen 23
LANGZEITKULTIVIERUNG VON CHORIONZOTTEN MIT DEM ZIEL EINER SCHNELLEN KARYOTYPISIERUNG
- F. Beermann, E. Hummler, I. Hansmann, Göttingen 27
UNTERSUCHUNG EINES INJIZIERTEN C-MYC ONKOGENS IN TRANSGENEN MÄUSEN
- N. Blin, C. Welter, Homburg 28
A SECONDARY STRUCTURE CHANGES THE ELECTROPHORETIC MOBILITY OF A RESTRICTION FRAGMENT IN HUMAN MITOCHONDRIAL DNA
- U. Blochmann, G. Dudin, M. Hausmann, H.-J. Bühring, T. Cremer, C. Cremer, Heidelberg 32
IN SITU HYBRIDIZATION OF CHROMOSOMES WITH BIOTINYLATED DNA AFTER 1G SEDIMENTATION
- B. Boldyreff, A. Weith, J. Purmann, H. Winking, W. Traut, Lübeck 36
VARIABLE SEGMENTGRENZEN DER AMPLIFIKATIONSEINHEIT IN EINER KEIMBAHN HSR DER MAUS
- S. Borgmann, B. Eiben, I. Schübbe, I. Hansmann, Göttingen 37
HÄUFIGKEIT, ART UND HERKUNFT VON CHROMOSOMENANOMALIEN IN FRÜHEN SPONTANABORTEN
- E.M. Bühler, N.J. Malik, H. Brocas, G. Wassart, M. Alkan, Basel und Brüssel 38
EXCLUSION OF A TERMINAL 8q DELETION IN LANGER-GIEDION SYNDROME BY MOLECULAR GENETIC METHODS

J. Bullerdiek, S. Bartnitzke, K. Meyer, R. Chilla, W. Schloot, Bremen TUMORZYTOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN 35 PLEOMORPHEN ADENOMEN DER MENSCHLICHEN GLANDULA PAROTIS	42
J. Bullerdiek, S. Bartnitzke, Bremen DIE BEDEUTUNG VON STRUKTURELLEN CHROMOSOMENABERRATIONEN FÜR DIE ENTSTEHUNG VON PLEOMORPHEN ADENOMEN DER GLANDULA PAROTIS	46
H. Christiansen, F. Franke, N.M. Paulsen, F. Berthold, F. Lambert, Gießen und Köln CYTOGENETIC AND DNA STUDIES IN 22 PATIENTS WITH NEUROBLASTOMA OF DIFFERENT CLINICAL STAGES	50
I. Chudoba, J. Rüschoff, P. Kaiser, Tübingen und Marburg IMMUNHISTOCHEMISCHE UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ZELLEN DES CHORIONGEWEBES	53
U. Claussen, M. Hansmann, R. Terinde, Erlangen, Bonn und Ulm SCHNELLE KARYOTYPISIERUNG IN DER SPÄTSCHWANGERSCHAFT	58
W. Coerdt, J. Kyburg, H. Rehder, Lübeck DARSTELLUNG EMBRYOPATHOLOGISCHER UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH CVS UND AN FRÜHEN SPONTANABORTEN	62
B. Corell, B. Zoll, Göttingen UNTERSUCHUNG DER RFLP'S INNERHALB DES HA-RAS-GENS VON TUMORPATIENTEN UND KONTROLLPERSONEN	63
T. Cremer, P. Emmerich, P. Lichter, Heidelberg/New Haven GIBT ES EINE ZELLTYP-SPEZIFISCHE ANORDNUNG DER CHROMATINS IN SÄUGER-ZELLKERNEN? - ARGUMENTE VON UNGLÄUBIGEN, AGNOSTIKERN UND GLÄUBIGEN -	67
M. Digweed, K. Sperling, Berlin TEMPORARY CORRECTION OF DEFECTIVE DNA REPAIR PROCESSES AFTER MICROINJECTION OF FIBROBLASTS WITH mRNA FRACTIONS	72
M. Djalali, S. Adolph, P. Steinbach, H. Hameister, Ulm VERGLEICHENDE KARTIERUNG FRAGILER STELLEN BEI MENSCH UND MAUS	73
M. Dominguez-Steglich, G. Du Bois, P. Kaiser, Tübingen A CASE OF A "DE NOVO" ACCESSORY der(15) CHROMOSOME	77
G. Dudin, M. Hausmann, W. Renz, J. Aten, C. Cremer, Heidelberg und Amsterdam FLUORESCENCE HYBRIDIZATION OF ISOLATED METAPHASE CHROMOSOMES IN SUSPENSION FOR FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS	81
D. Eckart, H. Zankl, H.D. Hiersche, Kaiserslautern CYTOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN LANGZEITGEZÜCHTETEN BLASENMOLENZELLEN	85
B. Eiben, M. Leipoldt, I. Hansmann, Göttingen CHROMOSOMENANALYSE NACH CHORIONBIOPSIE IM II. UND III. TRIMENON	89

E. Fiedler, B. Müller, H. Zankl, Kaiserslautern A NEW METHOD FOR CYTOGENETIC STUDIES OF EPITHELIAL TUMOR CELLS IN PRIMARY CULTURE	91
W. Foerster, H.-M. Jung, F. Netz, Gießen DOWN-SYNDROM MIT ALOPEZIE UND TERMINALER CHROMOSOMEN- FUSION 46,XX,psu dic(21)ter rea(21q21q)	95
C. Fonatsch, LÜBECK TUMORZYTOGENETIK, WOZU?	98
U. Froster-Iskenius, D. Wilhelm, E. Schwinger, Lübeck EINFLUSS VON BrdU AUF DIE FRA(X)-EXPRESSION BEI HEMIZYGOTEN UND HETEROZYGOTEN PATIENTEN MIT MARKER-X- SYNDROM	99
E. Gebhart, S. Distler, Erlangen MIKRONUCLEUS- UND POLYPLOIDIERATEN IN TRANSFORMATIONS- EXPERIMENTEN AN MENSCHLICHEN FIBROBLASTENKULTUREN	102
E. Gebhart, J. Feldner, W. Schmidt, Erlangen CHROMOSOMENINSTABILITÄT UND MIKRONUCLEI IN MENSCHLICHEN CARCINOMZELLEN	106
G. Gillessen-Kaesbach, >. Schmidt, Essen INTERSTITIAL DELETION 7q	110
P. Goetz, E. Stejskalová, M. Weinreb, A. Petráková, J. Koutecký, Prag CYTOGENETIC ANALYSIS IN CHILDREN WITH NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS	111
G. Gradl, C. Fonatsch, G. Schwieder, T. Wagner, Lübeck REARRANGEMENT VON c-sis IN EINEM FALL VON CML MIT VARIANTER Ph'-TRANSLOKATION	112
U. Graeven, R. Becher, D. Kühn, C.G. Schmidt, Essen INVERSION 16 UND DELETION 16 BEI AKUTER MYELOMONOZYTÄRER LEUKÄMIE (FAB M4)	113
V. Greger, H.J. Barnert, W. Höpping, E. Passarge, B. Horsthemke, Essen CHARACTERIZATION OF CHROMOSOMAL MUTATIONS INVOLVED IN RETINOBLASTOMA	117
K. Gripp, B. Schlegelberger, W. Grote, Kiel STUDY OF RARE AND COMMON FRAGILE SITES IN COUPLES WITH RECURRENT SPONTANEOUS ABORTIONS	121
M. Guttenbach, T. Haaf, W. Feichtinger, C.R. Müller, M. Schmid, Würzburg NACHWEIS VON Y-HETEROCHROMATIN DURCH BERENIL-BEHANDLUNG VON ZELLKULTUREN UND IN SITU HYBRIDISIERUNG MIT Y-SPEZIFISCHEN DNA-PROBEN	125
T. Haaf, W. Feichtinger, G. Ott, M. Schmid, Würzburg AUTOSOMALE FRAGILE STELLEN IN DEN CHROMOSOMEN DES MENSCHEN UND ANDERER SÄUGETIERE	128
M. Habedank, Aachen MONOSOMIE 5p UND TRISOMIE 9p IN KOMBINATION BEI PATERNALER REZIPROKER TRANSLOKATION t(5;9)(p13;p13)	136

- J. Harbott, H. Riehm, F. Lampert, Gießen und Hannover 140
 CHROMOSOMALE ABERRATIONEN BEI AKUTEN LYMPHOBLASTISCHEN
 LEUKÄMIEN IM KINDESALTER
 - BEDEUTUNG FÜR DIAGNOSTIK UND PROGNOSE -
- W. Henn, A. van der Hout, H. Scheffer, G. Unteregger, 145
 H. Fischer, C.H.C.M. Buys, N. Blin, K.D. Zang, Homburg,
 Groningen und Heidelberg
 HIGH RESOLUTION ANALYSIS OF A MARKER CHROMOSOME FROM A
 GLIOBLASTOMA CELL LINE
- M. Hentemann, F. Beermann, E. Hummler, I.-D. Adler, 149
 I. Hansmann, Göttingen
 LETALITÄT VON TRIPLE X BEI DER MAUS
- M. Hentemann, D. Rating, I. Hansmann, Göttingen 150
 MOSAIK-TRISOMIE 14 BEI EINEM 2 JÄHRIGEN MÄDCHEN
- C. Höfers, I. Hansmann, Göttingen 151
 ZYTOGENETISCHE, IMMUNZYTOGENETISCHE UND MOLEKULARE
 CHARAKTERISIERUNG EINES MIKROCHROMOSOMS
- T.W.J. Hustinx, J.M.J.C. Scheres, J.H.M. Bollen, 152
 R.D.F.M. Taalman, R. van Eyk, C.M.R. Weemaes, Nijmegen,
 Hoogeveen und Sneek
 CLINICAL VARIABILITY IN FANCONI'S ANAEMIA: EXAMPLES OF
 THE EXTREMES
- G. Johannsen, Wetzlar 155
 EINE NEUE GENERATION VON BILDANALYSATOREN FÜR DIE
 MEDIZINISCHE ROUTINEDIAGNOSTIK
- W. Johannson, W. Grote, Kiel 160
 SEQUENTIELLE FÄRBUNG VON KNOCHENMARKMITOSEN ZUR
 ZYTOGENETISCHEN DIAGNOSTIK (NACH KNOCHENMARK-
 TRANSPLANTATION UND BEI LEUKOSEN)
- H. Karlic, Wien 162
 EINE EINFACHE ROUTINEMETHODE ZUR MORPHOLOGISCHEN UND
 ZYTOGENETISCHEN UNTERSUCHUNG VON UNBEFRUCHTETEN EIZELLEN
 IN EINEM IN-VITRO-FERTILISATIONSPROGRAMM
- H. Karlic, P. Ambros, J. Huber, W. Gebhart, Wien 166
 NACHWEIS DER LOKALISATION UND EXPRESSION VIRALER
 SEQUENZEN IN PARAFFINSCHNITTEN MITTELS IN-SITU-
 HYBRIDISIERUNG
- E. Kartzewski, E. Gebhart, Erlangen 168
 ANTICLASTOGENE WIRKUNG VON N-ACETYLCYSTEIN AN
 MENSCHLICHEN LYMPHOCYTEN IN VITRO
- K. Kausch, T. Bettecken, G.A. Danieli, T. Haaf, G. Meng, 172
 M. Schmid, C.R. Müller, Würzburg und Padua
 INTERSTITIELLE DELETION VON Xp21.1 BEI EINEM PATIENTEN
 MIT MUSKELDYSTROPHIE DUCHENNE

	XXI
K. Kausch, T. Haaf, J. Köhler, M. Schmid, Würzburg PARTIELLE TRISOMIE 8q24.2 -> qter und 15pter -> q14 ALS FOLGE EINER MATERNALEN CHROMOSOMEN-TRANSLOKATION: 46,XX,t(8;15)	175
M.A. Kim, R. Happle, H. Pullman, H. Traupe, Münster und Lüdenscheid ANGIOMA SERPIGINOSUM: NACHWEIS EINER FRAGILEN STELLE AUF CHROMOSOM 16q22	177
J. Koch, S. Kolvraa, N. Gregersen, K.B. Petersen, L. Bolund, Aarhus BIOTINYLATED DNA PROBES FOR HYBRIDIZATION ANALYSIS OF DNA ON MEMBRANES AND IN SITU	182
G. Kosztolányi, Pecs ISODICENTRIC CHROMOSOME 21 FORMED BY q TERMINAL FUSION OF THE TWO HOMOLOGUES: 46,XX,ter rea (21;21)(qter;qter)	186
A. Kress, H.-D. Probeck, U. Hillig, K.-P. Herberg, Marburg und Kassel GIBT ES FRAGILE STELLEN FÜR DAS RETT-SYNDROM (z.B. fra X p22)?	189
P.M. Kroisel, W. Rosenkranz, Graz G-BAND REPLIKATIONSMUSTER DURCH DIREKTE GIEMSAFÄRBUNG	190
R. Kunzmann, F. Hölzel, Hamburg ALTERATIONS OF CHROMOSOMAL ABERRATION PATTERNS IN OVARIAN CARCINOMA CELLS DURING LONG-TERM CULTIVATION	194
H. Lindinger, W. Mosgöller, G. Piehslinger, H.G. Schwarzacher, Wien NUCLEOLI MIT RESERVE-FUNKTION IN NICHT-AKTIVEN LYMPHOZYTEN	198
E. Meese, J. Fontaine, J. Maurer, G. Bastert, N. Blin, Homburg A SECOND erba2 ONCOGENE ON HUMAN CHROMOSOME 17?	202
K. Mehnert, P. Steinbach, W. Vogel, Ulm CHARACTERISIERUNG DES CHROMOSOMS 9 VON ELLOBIUS LUTESCENS	206
R. Metzdorf, E. Meese, E. Göttert, K.D. Zang, N. Blin, Homburg ANALYSIS OF CHROMOSOME 22 IN MENINGIOMA	210
K. Miller, Hannover PROLIFERATIONSKINETIK MITOGEN STIMULIERTER HOCHGEREINIGTER MENSCHLICHER B UND T LYMPHOCYTEN	214
P. Miny, S. Basaran, I.H. Pawlowitzki, J. Horst, W. Holzgreve, Münster CHROMOSOMENANALYSEN NACH TRANSABDOMINALEN PLAZENTA- PUNKTIONEN IM II. UND III. SCHWANGERSCHAFTSTRIMENON	218
G. Müller, W. Schempp, D. Hayman, Freiburg und Adelaide REPLIKATIONSSTUDIEN AN CHROMOSOMEN VON SMINTHOPSIS CRASSICAUDATA (MARSUPIALIA)	222

- M. Münke, U. Francke, New Haven 226
COMPARATIVE MAPPING OF THE HOMOCYSTINURIA GENE IN MAN AND MOUSE
- B. Pabst, I. Hansmann, Göttingen 227
DER EINFLUSS VON GONADOTROPINEN AUF DIE ENTSTEHUNG VON ANEUPLOIDIEN UND DIE KINETIK DER MEIOSE
- H.D. Probeck, H. Koepler, K.H. Pflueger, Marburg 228
KARYOTYPE VARIATION OF THREE PERMANENT HUMAN LEUKEMIA-CELL LINES PRODUCING IMMUNO-REACTIVE CALCITONIN (ihCT)
- J. Rademacher, C. Fonatsch, H.H. Kircher, 230
B. Brüggengjürgen, Lübeck und Hannover
CHROMOSOMALE ABERRATIONEN IN LYMPHOBLASTOIDEN ZELLINIEN (LCL's) VON MORBUS HODGKIN-PATIENTEN NACH ZYTOSTATIKA-BEHANDLUNG
- J. Ritterbach, J. Harbott, G. Schellong, F. Lampert, 231
Gießen und Münster
CHROMOSOMALE ABERRATIONEN BEI AKUTEN NICHT-LYMPHOBLASTISCHEN LEUKÄMIEN (ANLL) IM KINDESALTER
- A. Rodewald, U. Froster-Iskenius, E. Käß, U. Langenbeck, 235
A. Schinzel, A. Schmidt, E. Schwinger, P. Steinbach, H. Veenema, R. Wegner, A. Wirtz, H. Zankl, M. Zankl, Hamburg, Lübeck, Göttingen, Zürich, Essen, Leiden, Berlin, München, Kaiserslautern, Homburg
KARYOTYP-PHÄNOTYP-KORRELATION BEIM FRA-X-SYNDROM: ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER EXPRESSION DER FRA-X-STELLE UND DEM GRAD DER DERMATOGLYPHISCHEN SIGMATISIERUNG
- W. Rosenkranz, U. Pfeifer, Graz 239
PRAKTISCHE ERFAHRUNGEN MIT DEM METAPHASESUCHER MIAMED VON LEITZ
- B. Rudolph, F. Berthold, F. Lampert, Gießen und Köln 242
THERAPIE-INDUZIERTE CHROMOSOMENBRÜCHIGKEIT: ABERRATIONEN AM CHROMOSOM 1 BEI ZWEI KINDERN MIT NEUROBLASTOM
- M. Schardin, H.D. Hager, Heidelberg 246
IN SITU HYBRIDIZATION OF THE HUMAN SATELLITE III DNA FRAGMENT DESCRIBES A NEW HETEROMORPHISM OF CHROMOSOME 1
- W. Schempp, B. Weber, Freiburg 252
HOMOLOGIE DER GESCHLECHTSCHROMOSOMEN BEI HÖHEREN PRIMATEN
- G. Scherer, Freiburg 254
FEHLEN Y-SPEZIFISCHER DNA-SEQUENZEN BEI ECHTEM HERMAPHRODITISMUS MIT DEM KARYOTYP 46,XX
- D. Schindler, H. Seyschab, A. Schinzel, H. Hoehn, Würzburg 256
und Zürich
ANALYSIS OF LYMPHOCYTE ACTIVATION AND PROLIFERATION IN ATAXIA TELEANGIECTASIA BY BRDU/HOECHST FLOW CYTOMETRY
- A. Schinzel, Zürich 257
SPEZIFISCHE BEHINDERUNGS- UND VERHALTENSPROFILE BEI AUTOSOMALEN CHROMOSOMENABERRATIONEN

- B. Schlegelberger, W. Grote, Kiel 259
 A CASE OF ANGIOIMMUNOBLASTIC LYMPHADENOPATHY (AILD) WITH
 FOUR UNRELATED CLONES, INCLUDING ONE WITH AN INVERSION
 14(q11q32)
- B. Schlegelberger, E. Goedde-Salz, C. v. Schilling,
 A. Feller, W. Grote, Kiel 263
 PROGNOTISCHE BEDEUTUNG VON ZYTOGENETISCHEN BEFUNDEN BEI
 PRÄMALIGNEN ERKRANKUNGEN AM BEISPIEL DER
 ANGIOIMMUNOBLASTISCHEN LYMPHADENOPATHIE (AILD)
- E. Schlesinger, E. Gebhart, Erlangen 267
 PROLIFERATIONSKONTROLLE IN MENSCHLICHEN TUMORZELLINIEN
 UND FIBROBLASTENKULTUREN MITTELS VORZEITIGER
 CHROMOSOMENKONDENSATION (PCC)
- A. Schmidt, G. Gillessen-Kaesbach, Essen 271
 DUPLICATION 7p. A PROBLEM IN KARYOTYPE-PHENOTYPE
 CORRELATION
- S. Schnittger, C. Höfers, F. Beermann, P. Heidemann,
 I. Hansmann, Göttingen 273
 ZYTOGENETISCHE UND MOLEKULARGENETISCHE CHARAKTERISIERUNG
 EINER MONOSOMIE 20p
- B. Schwäger, G. Dudin, H. Zankl, C. Cremer, Kaiserslautern
 und Heidelberg 274
 A CYTOGENETIC METHOD TO ANALYSE CHROMOSOME FRACTIONS
 AFTER 1G-SEDIMENTATION
- H. Schwaiger, H. Weirich, M. Hirsch-Kauffmann,
 M. Schweiger, Innsbruck 278
 UNEXPECTED REPAIR DEFICIENCY OF BLEOMYCIN INDUCED
 LESIONS IN PRENATAL CELLS
- G. Schwanitz, K. Zerres, Bonn 281
 KLINISCHE VARIABILITÄT BEI GESCHWISTERN MIT GLEICHEN
 ERBLICHEN CHROMOSOMENSTÖRUNGEN
- D. Schweizer, M. Tohidast-Akrad, S. Strehl, O. Dann, Wien
 und Erlangen 285
 DIVERSE FLUORESCENT STAINING OF HUMAN HETEROCHROMATIN BY
 THE ISOMERIC DAPI DERIVATIVES D288/45 AND D288/48
- E. Schwinger, Lübeck 291
 CHROMOSOMENDIAGNOSTIK NACH CHORIONZOTTENPUNKTION
- H. Seidel, A. Wirtz, J. Murken, München 293
 ROBERTSON'SCHE DOPPELTRANSLOKATION IN DER D-GRUPPE:
 44,XX,t(13q14q)(13q15q)
- S. Singh, K. Voss, I. Willers, A. Koeppen, H.W. Goedde,
 Hamburg und Albany 294
 EXAMINATION OF CYTOGENETIC HYPERSENSITIVITY TO MUTAGENS
 IN CULTURED LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH FRIEDREICHS
 ATAXIA
- D. Smeets, A. Verhagen, T. Hustinx, Nijmegen 298
 FRAGILE SITE EXPRESSION WITHIN THE MEMBERS OF ONE FAMILY
- G. Speit, C. Lücke-Huhle, Ulm und Karlsruhe 302
 CHROMOSOMAL CHANGES ASSOCIATED WITH METHOTREXATE-INDUCED
 GENE AMPLIFICATION IN ATAXIA TELANGIECTASIA CELLS

- K. Sperling, A. Dörries, R. Plätke, E. Struck, M. Gänge,
R.-D. Wegner, Berlin 305
JANUAR 1987: HÄUFUNG VON TRISOMIE 21 FÄLLEN UNTER DEN
NEUGEBORENEN BERLINS
- K. Sperling, Berlin 307
GEMEINSCHAFTSSTUDIE ZUR SAISONALEN UND REGIONALEN
HÄUFIGKEIT PRÄNATAL DIAGNOSTIZIERTER CHROMOSOMEN-
ANOMALIEN FÜR DIE BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND EINSCHL.
BERLINS IM JAHRE 1986
- S. Stengel-Rutkowski, München 314
RISIKOABSCHÄTZUNG BEI 53 REZIPROKEN TRANSLOKATIONEN DER
DATENSAMMLUNG IM RAHMEN DES SCHWERPUNKTPROGRAMMS
"PRÄNATALE DIAGNOSE GENETISCH BEDINGTER DEFEKTE" DER
DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT
- C. Sutter, D. Kübler, H. Horn, M. Volm, Heidelberg 317
DOUBLE MINUTES (dmin) BEI ADRIAMYCIN-RESISTENTEN
HELA-ZELLEN
- G.J. te Meerman, C. Wollenberg, Groningen und Homburg 321
RECOVERY OF INTERCHROMOSOME DISTANCES WITH
MULTIDIMENSIONAL SCALING, A SIMULATION STUDY
- H. Tittelbach, S. Brüderlein, E. Gebhart, Erlangen 325
CLASTOGEN-, ANTICLASTOGEN- UND REPAIRINHIBITORAKTIVITÄT
AM INTERPHASECHROMATIN
- H. Tittelbach, E. Gebhart, H. Dietzfelbinger, Erlangen 329
und Fürth
TRISOMIE 8 UND ISOCHROMOSOM 17 IN DER CHRONISCHEN PHASE
EINER PH' + CML
- G. Unteregger, T.W.J. Hustinx, J.M.J.C. Scheres, Homburg 331
und Nijmegen
CHANGES IN THE NUCLEAR PROTEIN PATTERN IN FIBROBLASTS
FROM PATIENTS WITH PREMATURE CENTROMERE DIVISION (PCD)
- M. Westphal, M. Hänsel, R. Kunzmann, H.D. Herrmann, 335
F. Hölzel, Hamburg
CYTOGENETIC CHARACTERIZATION AND COMPARISON OF TWO CELL
LINES DERIVED FROM HUMAN GLIOSARCOMA AND GLIOBLASTOMA
- H. Winking, B. Boldyreff, A. Weith, W. Traut, Lübeck 339
MEIOTISCHES PAARUNGSVERHALTEN VON KEIMBAHN-HSRs DER MAUS
- C. Wollenberg, G.J. te Meerman, Homburg 340
RECOVERING SPATIAL INFORMATION FROM METAPHASE POSITIONS
OF HUMAN CHROMOSOMES, USING MULTIDIMENSIONAL SCALING
- K. Zerres, G. Schwanitz, M.-C. Völpel, J. Schaper, 344
R. Waldherr, Bonn, Regensburg und Heidelberg
ZYSTISCHE NIERENVERÄNDERUNGEN IM RAHMEN VON CHROMOSOMEN-
STÖRUNGEN

1) 1) 1) 2) 3)
U. BLOCHMANN, G. DUDIN, M. HAUSMANN, H. -J. BÜHRING, T. CREMER

1)
C. CREMER

1) Institute of Applied Physics I and 3) Institute of Anthropology and Human Genetics D-6900 Heidelberg, FRG 2) Medical University Clinic, FACS Laboratory D-7400 Tübingen, FRG

IN SITU HYBRIDIZATION OF CHROMOSOMES WITH BIOTINYLATED DNA AFTER 1G SEDIMENTATION

Summary

A suspension of isolated metaphase chromosomes from a Chinese hamster x human hybrid cell line was used for sedimentation at 1g. After 18 hours, 9 fractions, with 50 ml each, were collected and analysed in a flow sorter. Chromosomes from each fraction were dropped on a slide and fixed in alcohol. By in situ hybridization of the chromosomes with biotinylated human genomic DNA, the human chromosomes were identified, applying the alkaline phosphatase detection system.

The results show:

- 1.) The morphology of the chromosomes remained preserved after 1g sedimentation and in situ hybridization procedures.
- 2.) Identification of human chromosomes by in situ hybridization following 1g sedimentation is possible.

Materials and Methods

Metaphase chromosomes from the Chinese hamster x human hybrid cell line A1wbf2 were isolated according to a modified isolation procedure (Stöhr et al. 1982). The cells were arrested in mitosis with 0,17 ug/ml colcemid for 3 - 4 hours. The mitotic cells were harvested by shake off and pelleted by centrifugation (200 g for 15 min). The pellets were incubated for 10 min at 4 °C, resuspended in a hypotonic solution (10 mM Tris, 10 mM NaCl, 5 mM MgCl₂ at pH 7,5), and incubated for 20 min at room temperature. The cells were again centrifuged at 200 g for 15 min and resuspended in the isolation buffer. The chromosome isolation buffer contained 25 mM Tris (with acidic acid at pH 7,5), 750 mM hexylene glycol, 5 mM CaCl₂, 5 mM MgCl₂ and acetic acid (pH 3,2). The chromosomes were isolated by disrupting the membrane by sonication. Chromosome suspensions obtained from three to five different cultures were pooled and used for 1g sedimentation.

Before sedimentation the chromosome suspension was centrifuged and the chromosome pellet was resuspended in a sucrose buffer with 2 % citric acid, 5 mM CaCl₂ and 5 mM MgCl₂. 10⁷ to 10⁸ chromosomes were layered in a thin band on a two step sucrose gradient. The 800 ml sedimentation chamber (Collard et al. 1980; Brand, Wertheim FRG) was used for the experiment. After 18 hours of sedimentation at 4 °C, 50 ml fractions were collected and centrifuged at 600 g for 4 hours. Each pellet was resuspended in 500 ul of the hexylene glycol isolation buffer and stained with a DAPI solution (5 uM 4',6-Diamidino-

2-phenylindole 2 HCl) and analysed in a flow sorter (FACS IV, Becton Dickinson). The fluorescence light was excited by a krypton laser at 337 - 356 nm and 200 mW.

To identify the human chromosomes within the different fractions, in situ hybridization with biotinylated human genomic DNA was applied: An unstained aliquot of 5 ul of every fraction was dropped on a slide, air dried, washed in IB-buffer (50 mM KCl and 5 mM Hepes buffer at pH 8,0) (Trask et al. 1985) and dehydrated in alcohol.

The chromosomes were denatured (72 °C for 6 min) and hybridized (16 h at 37 °C). The hybridization mix contained 40 % deionized formamide, 2xSSC, 50 ng biotinylated DNA/slide. To visualize the biotin labelled DNA after in situ hybridization, the BRL (Bethesda Research Laboratories, 7514 Eggenstein, FRG) detection system with alkaline phosphatase was used. The slides were incubated for 30 min in a streptavidin solution (2 ug/ml in AP1-buffer (0,1 M Tris/HCl pH 7,5; 0,1 M NaCl, 2 mM MgCl₂, 0,05 % (v/v) Triton X-100), washed in AP1-buffer (three times each for 3 min), incubated in a poly (AP) solution (1 ug biotinylated polymer of alkaline phosphatase/ml AP1) for 30 min, washed (two times each for 3 min) in AP1-buffer and (three times each for 3 min) in AP3-buffer (0,1 M Tris/HCl pH 9,5; 0,1 M NaCl, 5 mM MgCl₂). The resulting streptavidin-poly (AP) complex with the biotinylated DNA sequences on the human chromosomes was stained by incubating the slides for 4 hours in the dark in a dye solution containing 0,33 mg nitro-blue tetrazolium (NBT)/ml AP3 and 0,17 mg 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP)/ml AP3 in a sealed polypropylene bag. The stock solution of NBT contained 75 mg NBT/ml dimethylformamide and that of BCIP 50 mg BCIP/ml dimethylformamide. A dark precipitate developed at the hybridized sequences. The reaction was stopped by rinsing the slides for 1 min with a solution of 1 % SDS and 50 mM EDTA.

Results

Metaphase chromosomes isolated from the Chinese hamster x human hybrid cell line A1wbf2 were allowed to sediment in a sucrose gradient for 18 hours at 4 °C. 50 ml fractions were collected and the relative amount of chromosomes in every fraction was determined by analysing in a flow sorter after DAPI staining (Fig. 1). Aliquots of every fraction were dropped on slides and fixed in alcohol. An in situ hybridization was carried out, to visualize the human chromosomes in the different fractions. The flow karyotype of the sample used for 1g sedimentation is shown in figure 1 upper left ("original sample"). This fluorescence intensity distribution was used to define several regions in the histogram. The content of all channels within this regions were added, and the relative number of particles (chromosomes) in these regions was determined in every fraction. This number was normalized to the number in the equivalent regions in the flow karyotype before sedimentation. The enrichment factors thus obtained, are given in table I. The maximum enrichment (7,19) of particles with a given fluorescence intensity is found in fraction 8. A distinc-

tion between human and hamster chromosomes in the flow distributions was not possible, however using in situ hybridization with biotinylated human genomic DNA, it was possible to visualize the human chromosomes within the original sample and in the different fractions (Fig. 2 and fig. 3). With this method, human chromosomes were detected in fraction 2 and 3.

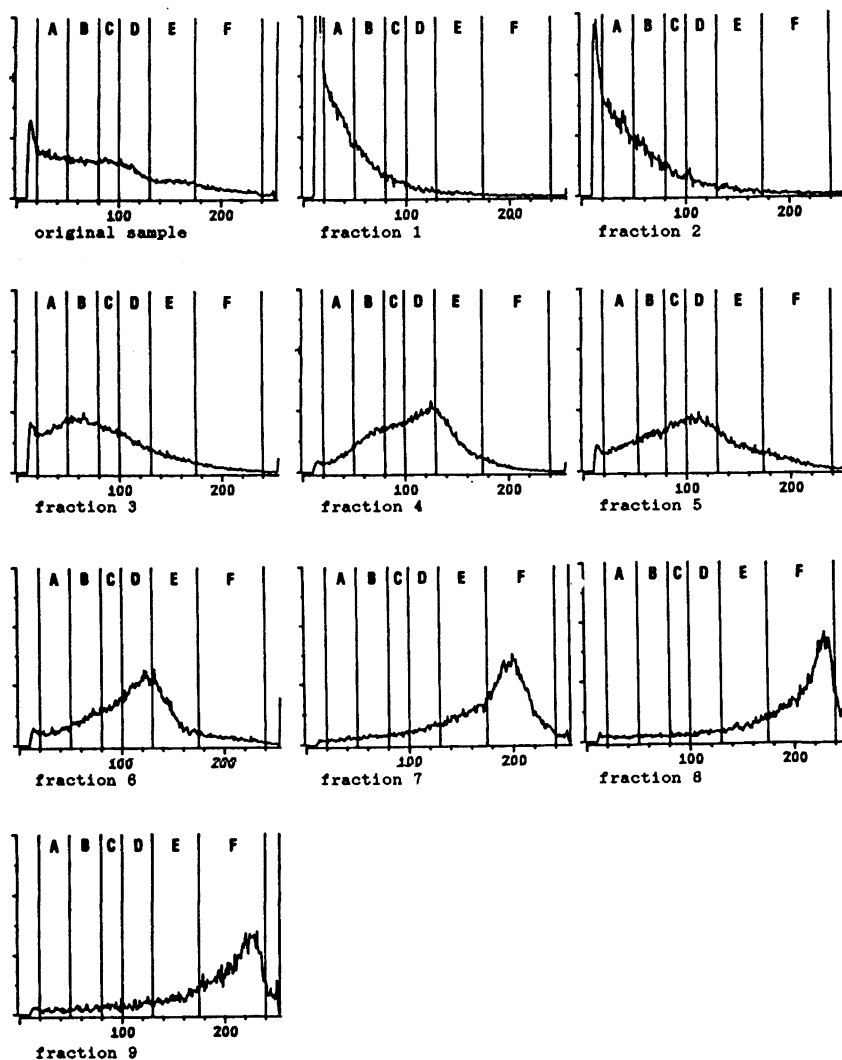


Fig. 1 Flow karyotypes of the Chinese hamster x human hybrid cell line A1wbf2 before and after 1g sedimentation in a sucrose gradient. Abszissa: Channel numbers (Logarithmic DAPI fluorescence intensity). Ordinate: Relative number of particles (chromosomes).

Region	Channel number	Original sample	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9
A	20 - 50	1,00	1,97	1,72	1,03	0,36	0,55	0,35	0,13	0,12	0,11
B	51 - 80	1,00	1,00	1,17	1,44	1,01	0,99	0,74	0,23	0,15	0,18
C	81 - 100	1,00	0,45	0,59	1,16	1,23	1,25	1,10	0,30	0,18	0,23
D	101 - 130	1,00	0,29	0,47	1,10	2,04	1,71	2,18	0,58	0,31	0,38
E	131 - 175	1,00	0,20	0,31	0,92	1,94	1,49	1,93	1,86	0,93	1,04
F	176 - 240	1,00	0,10	0,14	0,53	0,58	1,11	0,90	6,43	7,19	6,53

Table I Enrichment factors of the particles (chromosomes) in the different fractions (F 1 to F 9) after 1g sedimentation of chromosomes isolated from the Chinese hamster x human hybrid cell line A1wbf2.



Fig. 2 and 3 Chromosomes from the Chinese hamster-human hybrid cell line A1wbf2 hybridized with biotinylated human genomic DNA and visualized with the alkaline phosphatase detection system. The human chromosomes and the translocated parts of human chromosomes are darkly stained (arrows). Figure 2 shows the chromosomes of the original sample before sedimentation and figure 3, chromosomes of fraction 2, where Chinese hamster human translocation chromosomes are present (arrows).

This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft.

References

Collard JG, Tulp A, Stegeman J, Boezeman J, Bauer FW, Jongkind JF, Verkerk A: Separation of large quantities of Chinese hamster chromosomes by velocity sedimentation at unit gravity followed by sorting (FACS II).
Exp. Cell Res. (1980) 130: 217 - 227

Stöhr M, Hutter KJ, Frank M, Goerttler K: A reliable preparation of mono-dispersed chromosome suspensions for flow cytometry.
Histochemistry (1982) 74: 57 - 61

Trask B, van den Engh G, Landegent J, Jansen in de Wal N, van der Ploeg M: Detection of DNA sequences in nuclei in suspension by in situ hybridization and dual beam flow cytometry.
Science (1985) 230: 1401 - 1403