

responded to the point of maximal slope (Table I, Section A).

The inflammatory exudates ( $\mu\text{l/g}$ ) determined at various intervals after the injection of 0.4  $\mu\text{g}$  of 5-HT are reported in Table I, Section B. Significant differences existed among the inflammatory responses occurring at 30, 60, and 90 min, however, there were no differences among the inflammatory responses at the 90, 120, and 150 min intervals. The 60 min interval was selected for this assay.

Loss of activity from the blood takes place slowly following the intravenous injection of RISA. A reduction of radioactivity equivalent to  $6.50 \pm 2.19\%$  ( $N = 38$ ) occurred during the time elapsed between collection of the blood sample and removal of the hind limbs. Optimally, the blood should be collected simultaneously with removal of the limbs, 30 min after the injection of 5-HT; in which case the absolute values for plasma exudate would be correspondingly greater. However, based on the % reduction of inflammatory response relative to a control group, the index of protection afforded by antiphlogistic compounds would be unchanged. The parameters described were selected with consideration to the technical aspects of the assay involving large numbers of experimental subjects.

Sodium salicylate was selected as a model antiphlogistic agent to determine the efficacy of this method for the evaluation of non-hormonal anti-inflammatory compounds. Table II indicates the volume of plasma exudate and the % reduction in exudate obtained with 50 to 400 mg/kg of sodium salicylate administered orally, 5 h prior to the injection of 5-HT.

Significant reduction of plasma exudate was obtained with a dose of sodium salicylate as low as 50 mg/kg *per os*.

Larger doses resulted in correspondingly greater inhibition of the inflammatory response to 5-HT. Other investigators<sup>1-3</sup> have reported that doses of 500 to 600 mg/kg administered parenterally were required to produce a significant inhibition of 5-HT induced oedema in the rat.

Current investigations of the comparative activity of various types of potential anti-inflammatory compounds will be presented in a subsequent publication<sup>4</sup>.

**Zusammenfassung.** Nach Einspritzung von 5-Hydroxytryptamin in den einen Fuss einer Maus und physiologischer Salzlösung in den anderen, wurde die Radioaktivität beider Füsse verglichen. Mit radioaktivem Jod ( $I^{131}$ ) behandeltes Serumalbumin wurde dazu benutzt, den Umfang des Plasmaexsudates zu bestimmen. Das Ausmass der Hemmung der durch 5-HT induzierten Entzündung ist von der Dosis der physiologischen NaCl-Lösung abhängig.

E. E. VOGIN, G. V. ROSSI, G. D. CHASE, and A. OSOL

Department of Pharmacology and Department of Radiochemistry, Philadelphia College of Pharmacy and Science, Philadelphia (Penn. USA), October 30, 1961.

<sup>2</sup> G. UNGAR, S. KOBIN, and B. SEZESNY, Arch. int. Pharmacodyn. 123, 71 (1959).

<sup>3</sup> R. DOMENJOZ, Ann. N. Y. Acad. Sci. 86, 263 (1960).

<sup>4</sup> This study was supported in part by a grant from Sunkist Growers, Ontario (California).

those obtained in the dog<sup>1</sup> and *Uromastix acanthinurus*<sup>2</sup>, a more general importance should no doubt be attached to it.

**Zusammenfassung.** Methode für gleichzeitige Koloration von Heinz-Körperchen und Reticulocyten mit Neu-Methylenblau N in der Kröte *Bufo marinus*.

A. STOLK

Histological Laboratory, Free University, Amsterdam (The Netherlands), January 17, 1962.

<sup>1</sup> E. C. THOMPSON, Stain Technol. 36, 38 (1961).

<sup>2</sup> A. STOLK, Nature, in press (1962).

<sup>3</sup> G. BRECHER, Amer. J. clin. Path. 19, 895 (1949).

<sup>4</sup> R. HEINZ, Berl. klin. Wschr. 27, 47 (1890).

<sup>5</sup> S. H. WEBSTER, E. J. LILJEGREN, and D. J. ZIMMER, Stain Technol. 23, 97 (1948); J. Pharmacol. exp. Therap. 95, 201 (1949).

<sup>6</sup> S. S. SPICER and E. C. THOMPSON, J. industr. Hyg. Tox. 31, 206 (1949).

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Die Genomsonderung in den Mitosen der Rattenleber\*

Es ist allgemein bekannt, dass sich cytologische und morphologische Untersuchungen über Chromosomen-gestalt und deren Veränderung am günstigsten in sich

teilenden Zellen, also während des Mitoseablaufes, durchführen lassen. Als hierfür besonders geeignet erweist sich das Stadium der Metaphase, in dem die Chromosomen besonders stark kontrahiert und dadurch besonders deutlich sichtbar sind. Die Metaphasechromosomen zeichnen sich

\* Nach einem Vortrag, gehalten anlässlich des IV. Symposium histologicum internationale Lausanne (Suisse), 5.-8. September 1961.

ferner dadurch aus, dass sie alle in eine Ebene – in die Äquatorialebene der Spindel – eingeordnet sind, wobei die Centromeren der Chromosomen in der Längsachse der Spindel ausgerichtet werden, während die Chromosomen-schenkel nach beiden Seiten hinausragen (vgl. SCHRADER<sup>1</sup>, SWANSON<sup>2</sup>).

Während über den Strukturwandel sowie die Bewegung der Chromosomen während des Mitoseablaufes zahlreiche Untersuchungen vorliegen (BELAR<sup>3</sup>, DARLINGTON<sup>4</sup>, WASSELMANN<sup>5</sup>, OESTERGREN<sup>6</sup>, WADA<sup>7</sup>, BAJER<sup>8,9</sup> u.a.), ist über die Anordnung der Chromosomen in der Metaphase, das heisst über ihre gegenseitige räumliche Orientierung innerhalb der Äquatorialebene bzw. Metaphasenplatte nur wenig bekannt.

In Schnitt-, vor allem aber in Quetschpräparaten erscheinen die Chromosomen in den Metaphaseplatten unregelmässig durcheinandergelagert, so dass allgemein angenommen wird, dass die Chromosomen in der Äquatorialebene regellos angeordnet sind (SCHRADER<sup>1</sup>, SWANSON<sup>2</sup>), sofern es sich nicht um besondere Anordnungen wie zum Beispiel die für gewisse Dipteren typische somatische Paarung homologer Chromosomen (METZ<sup>10</sup>) handelt.

Bei einem tierischen Organ, der Rattenleber, deren Chromosomen und Chromosomenzahlen wir in mehreren Arbeiten genau untersucht haben (GLÄSS<sup>11-16</sup>), treten neben diesen typischen Metaphasen – in denen die Chromosomen also regellos in der Äquatorialebene angeordnet sind – in einem gewissen Prozentsatz auch Metaphasen auf, deren Chromosomen in zwei zahlenmässig gleich grosse, räumlich voneinander getrennt liegende Chromosomengruppen gesondert sind. Zunächst nahmen wir an, dass es sich hierbei um eine zufällige Sonderung handle. In günstigen Fällen konnten wir jedoch durch eine genaue Analyse der Einzelchromosomen in diploiden Metaphasen nachweisen, dass es sich hierbei um eine Sonderung in zwei komplette haploide Chromosomensätze handelte (GLÄSS<sup>11</sup>); wir bezeichneten daher diese spezielle Lagebesonderheit der Metaphasechromosomen als Genomsonderung (GLÄSS<sup>12-14</sup>). Gelegentlich lagen die beiden Genome in der Äquatorialebene so nahe beisammen, dass keine scharfe Trennung möglich war, diese Chromosomenanordnung wurde als latente Genomsonderung bezeichnet (GLÄSS<sup>17</sup>). Ferner fanden sich in der Rattenleber zahlreiche Metaphasen, die keine Sonderung erkennen liessen.

Es ist also auf dreierlei Weise möglich, die Chromosomen in der Äquatorialebene der Metaphase anzuordnen: keine Sonderung, das heisst regellose Anordnung, latente Genomsonderung, echte Genomsonderung. Da diese Anordnungen in Quetschpräparaten beobachtet wurden, haben wir zunächst in Modellversuchen festgestellt, welche Veränderungen durchs Quetschen selbst hervorgerufen werden können (GLÄSS<sup>18</sup>).

**I. Modellversuche.** Als Vorlage für unsere Modellversuche wählten wir die Chromosomen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana*, einer Liliacee mit  $2n = 8$  Chromosomen. Wir fertigten kleine Gelatinewürfel an und betteten in diese, den Chromosomen von *Bellevalia romana* entsprechend, jeweils 4 verschieden gefärbte Wollfadenpaare ein. Dabei wählten wir verschiedene Ausgangslagen, die sich durch die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene voneinander unterschieden.

Die drei wichtigsten Ausgangslagen sind in Figur 1 zusammengestellt. Die erste Ausgangslage enthält keine Sonderung. Die Chromosomen sind dabei so in der Äquatorialebene angeordnet, dass für eine Genomsonderung keine Symmetrieebene vorhanden ist, das heisst, wir können durch diese Chromosomenanordnung keine Ebene legen, die die 4 Chromosomen ABCD in einer Gruppe vereinigt. Die zweite Ausgangslage entspricht einer latenten

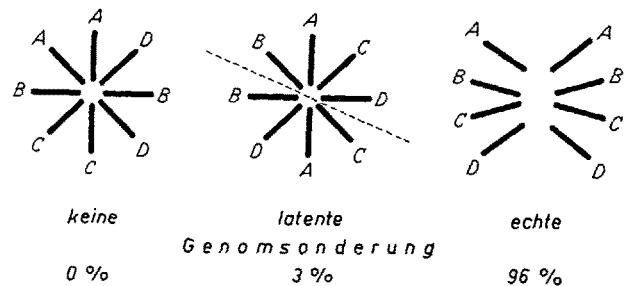


Fig. 1. Die Anordnung der Chromosomen im Modellversuch (nach GLÄSS 1961).

Genomsonderung, die gestrichelte Linie stellt die Trennungsline zwischen den beiden Genomen dar. Die dritte Ausgangslage weist eine echte Genomsonderung auf, die Sonderungsebene entspricht gleichzeitig der Symmetrieebene.

Wir fertigten insgesamt 2000 derartige Modelle an und quetschten diese aus den verschiedensten Richtungen (GLÄSS<sup>18</sup>).

Die Ergebnisse sind ebenfalls in der Figur 1 dargestellt. Ist keine Symmetrieebene für eine Genomsonderung vorhanden (Ausgangslage 1), dann kann durchs Quetschen – gleichgültig aus welcher Richtung – auch keine Genomsonderung zustandekommen. Liegt als Ausgangslage eine latente Genomsonderung vor (Ausgangslage 2), dann kann sich diese durchs Quetschen in 3% aller Fälle in eine echte Genomsonderung umwandeln; ist die Genomsonderung dagegen schon in der Ausgangslage real vorhanden (Nr. 3), dann bleibt sie auch nach dem Quetschen erhalten, und zwar in 96% aller Fälle.

Ob durchs Quetschen eine Genomsonderung zustande kommt, hängt demnach allein von der Anordnung der Chromosomen in der Ausgangslage ab. Eine Genomsonderung kann durchs Quetschen nur dann realisiert werden, wenn die gegenseitige Lagebeziehung der Chromosomen in der Ausgangslage eine Genomsonderung überhaupt zulässt. Es werden somit in unseren Quetschpräparaten in den meisten Fällen nur bereits vor dem Quetschen vorhandene Chromosomenanordnungen als Genomsonderung erfasst.

**II. Untersuchungen an *Bellevalia romana*.** Nach diesen Befunden in unseren Modellversuchen lag es auf der Hand, die Anordnung der Chromosomen in den Metaphasen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana* selbst zu prüfen (GLÄSS<sup>17</sup>). Im Gegensatz zu den Modellversuchen,

<sup>1</sup> FR. SCHRADER, *Mitose. Die Bewegung der Chromosomen bei der Zellteilung* (Verlag Franz Deuticke, Wien 1954).

<sup>2</sup> C. P. SWANSON, *Cytologie und Cytogenetik* (Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1960).

<sup>3</sup> K. BELAR, *Naturwiss.* 15, 725 (1927).

<sup>4</sup> C. D. DARLINGTON, *J. Genet.* 35, 239 (1937).

<sup>5</sup> F. WASSERMANN, *Arch. exp. Zellf.* 22, 238 (1939).

<sup>6</sup> F. OESTERGREN, *Heredit.* 35, 524 (1949).

<sup>7</sup> B. WADA, *Cytologia* 16, 1 (1950).

<sup>8</sup> A. BAJER, *Acta Soc. bot. poloniae* 23, 383 (1954).

<sup>9</sup> A. BAJER, *Exp. Cell Res.* 15, 370 (1958).

<sup>10</sup> C. W. METZ, *J. exp. Zool.* 21, 313 (1916).

<sup>11</sup> E. GLÄSS, *Chromosoma (Berl.)* 7, 655 (1956).

<sup>12</sup> E. GLÄSS, *Chromosoma (Berl.)* 8, 468 (1957).

<sup>13</sup> E. GLÄSS, *Naturwiss.* 44, 639 (1957).

<sup>14</sup> E. GLÄSS, *Chromosoma (Berl.)* 9, 269 (1958).

<sup>15</sup> E. GLÄSS, *Z. Krebsforsch.* 63, 294 (1960).

<sup>16</sup> E. GLÄSS, *Z. Krebsforsch.* 63, 362 (1960).

<sup>17</sup> E. GLÄSS, *Chromosoma (Berl.)* 12, 422 (1961).

<sup>18</sup> E. GLÄSS, *Chromosoma (Berl.)* 12, 410 (1961).

in denen wir ja die Ausgangslage, das heißt die gegenseitige Orientierung der Chromosomen in der Äquatorialebene vor dem Quetschen kennen, die Quetschrichtung selbst bestimmen und die Anordnung der Chromosomen nach dem Quetschen aus unseren Präparaten ablesen können, wissen wir in unseren jetzigen Versuchen nur über die Endlage, das heißt die Anordnung der Chromosomen nach dem Quetschen Bescheid.

Über die Anordnung der Chromosomen in den Quetschpräparaten orientiert Figur 2, in der zwei Mikrophotographien der Chromosomen von *Bellevalia romana* dargestellt sind. Figur 2a zeigt eine echte Sonderung in zwei zahlenmäßig gleich grossen Chromosomengruppen, in Figur 2b weisen die Chromosomen eine latente Genomsonderung auf, oben im Bild die vier Chromosomen ABCD eines haploiden Chromosomensatzes.

Für die Anordnung der Chromosomen in den Metaphasen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana* sind grundsätzlich 3 Möglichkeiten gegeben, die aus Tabelle I ersichtlich sind. Berechnen wir unter der Voraussetzung, dass sich die 4 mal 2 Chromosomen von *Bellevalia romana* zufällig gemäß kombinieren, rein statistisch die Erwartungswerte und vergleichen diese mit den beobachteten Werten, dann zeigt es sich, dass in allen Kombinationen die beobachteten Werte mit den erwarteten gut übereinstimmen. Dies bedeutet aber, dass sich die Chromosomen in der Äquatorialebene der Metaphasen von *Bellevalia romana* zufällig gemäß anordnen. Wäre dies nicht der Fall, dann müsste eine der drei möglichen Kombinationen weitaus häufiger als erwartet auftreten; wie die Ergebnisse in Tabelle I aber zeigen, trifft dies nicht zu.

Diese Aussagen über die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene der Metaphasen der Wurzelspitzen-

mitosen von *Bellevalia romana* sind möglich, da unsere Modellversuche ja gezeigt haben (GLÄSS<sup>18</sup>), dass gerade bei der Genomsonderung aus der Anordnung der Chromosomen in den Quetschpräparaten bindende Rückschlüsse auf die Chromosomenanordnung vor dem Quetschen gezogen werden dürfen.

**III. Die Genomsonderung in den Mitosen der Rattenleber.** Der diploide Chromosomensatz der Rattenleber enthält 42 Chromosomen. Bei einer derartig hohen Chromosomenzahl ist es verständlich, dass wir zunächst mit erheblichen methodischen Schwierigkeiten zu kämpfen hatten. Die vorliegenden Untersuchungen wurden bereits 1955 durchgeführt, zu einer Zeit, in der uns die Möglichkeit, Chromosomen in Gewebekultur zu untersuchen, noch nicht zur Verfügung stand. Es blieb uns daher dazumal nichts anderes übrig, als die Leber in kleine Stückchen zu zerschneiden, diese mit hypotonischen Lösungen vorzubehandeln und die einzelnen Stückchen zu quetschen. Unter diesen Bedingungen konnten wir in unseren Quetschpräparaten nur echte Sonderungen erfassen.

Wir haben insgesamt 2652 diploide Metaphasen mit  $2n = 42$  untersucht und darunter 478 Metaphasen mit einer Sonderung in zwei Chromosomengruppen gefunden, das sind 18%. Bei einer rein zahlenmäßigen Aufgliederung der 42 Chromosomen müssten 21 verschiedene Sonderungen, angefangen von 41:1, 40:2, 39:3 bis 21:21 auftreten. Nach statistischen Berechnungen wäre dabei die Sonderung in zahlenmäßig gleich grossen Chromosomengruppen, also in 21:21, in 9% der Zellen mit vorhandener Sonderung zu erwarten. In der Rattenleber finden wir aber in 95% der Zellen mit vorhandener Sonderung eine Gruppierung in 21:21. Dies bedeutet zunächst nur, dass – im Gegensatz zu den Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana* – in der Rattenleber sich die Chromosomenzahlen nicht frei kombinieren können. Ob dieser 21:21-Gruppierung eine Genomsonderung zugrunde liegt, kann erst durch eine exakte Identifizierung der Einzelchromosomen entschieden werden. Eine grosse Unterstützung hierbei waren für uns haploide Metaphasen mit  $n = 21$ , die in der Rattenleber in durchschnittlich 7% auftreten (MARQUARDT und GLÄSS<sup>19,20</sup>, GLÄSS<sup>15,16</sup>).

Über die Morphologie der Rattenleber-Chromosomen gibt Figur 3 Auskunft, in der haploide Chromosomensätze

Tab. I. Anordnung der Chromosomen in den Metaphasen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana*

	beobachtet	erwartet
Gesamtzahl	197	
Somatische Paarung, z. B. AABB + CCDD	10,4%	8,1%
Übergangsfälle, z. B. AABC + BCDD	64,7%	68,4%
Genomsonderung ABCD + ABCD	24,9%	23,5%

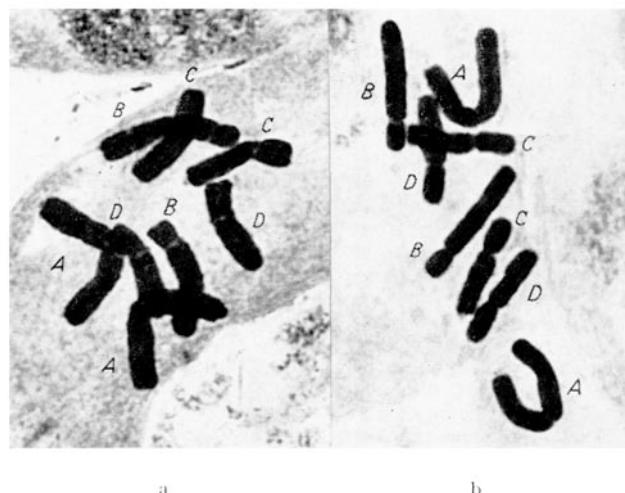


Fig. 2. Chromosomenanordnungen in zwei Metaphasen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana* (nach GLÄSS 1961). (a) Echte Sonderung in zwei zahlenmäßig gleich grossen Chromosomengruppen (AABB + CCDD); (b) latente Genomsonderung (ABCDABCD).

<sup>19</sup> H. MARQUARDT und E. GLÄSS, Chromosoma (Berl.) 8, 617 (1957).  
<sup>20</sup> H. MARQUARDT und E. GLÄSS, Naturwiss. 44, 640 (1957).

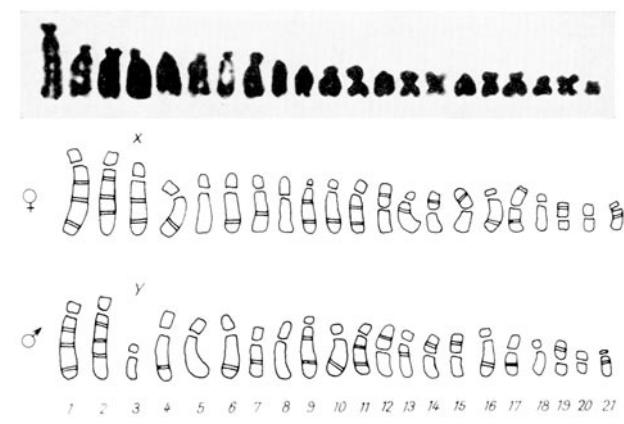


Fig. 3. Haploide ( $n = 21$ ) Chromosomensätze der Rattenleber (nach GLÄSS 1956). (a) Mikrophotographie. (b) Weiblicher Chromosomensatz mit differentiellen Segmenten. (c) Männlicher Chromosomensatz mit differentiellen Segmenten.

dargestellt sind. Durch geeignete Vorbehandlung gelang es uns, auf jedem Chromosom an identischer Stelle und in identischer Zahl differentielle Segmente auszulösen (GLÄSS<sup>11</sup>). Figur 3a zeigt die Mikrophotographie eines haploiden Chromosomensatzes der Rattenleber, auf Chromosom 1 und 2 sind die differentiellen Segmente deutlich sichtbar. In Figur 3b ist ein haploider weiblicher Chromosomensatz aufgezeichnet, die Querbänder entsprechen den differentiellen Segmenten. Figur 3c schliesslich stellt einen haploiden männlichen Chromosomensatz dar. Für die Festlegung der differentiellen Segmente haben wir insgesamt 8 männliche und 10 weibliche haploide Chromosomensätze der Rattenleber analysiert.

Auf Grund der genauen Kenntnis der Chromosomenmorphologie war es nun möglich, die 21:21-Sonderung näher anzugehen. Unter den 478 diploiden Metaphasen

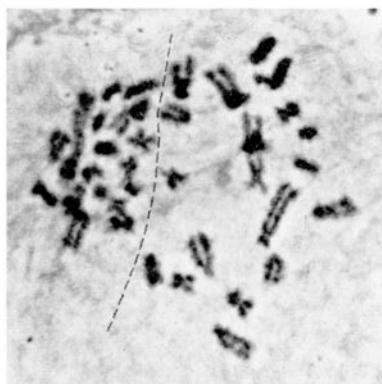


Fig. 4. Diploide Metaphase ( $2n = 42$ ) der Rattenleber mit Genomsonderung in 21:21 (nach GLÄSS 1956).

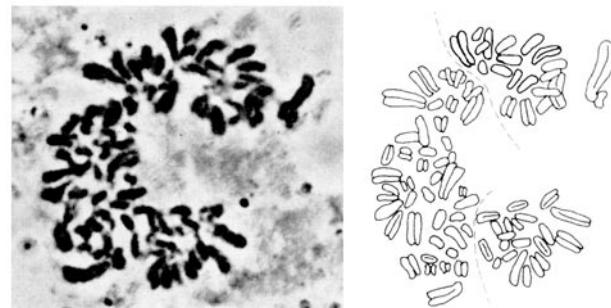


Fig. 5. Polyploide Metaphase ( $4n = 84$ ) der Rattenleber mit Genomsonderung in 42:21:21 (nach GLÄSS 1957).

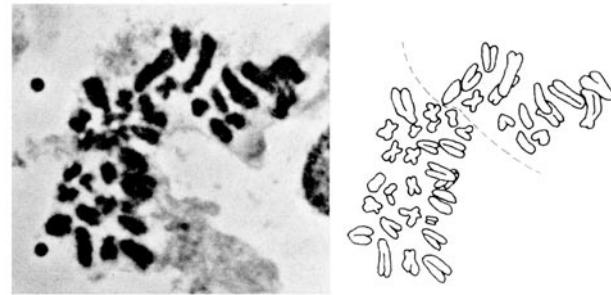


Fig. 6. Diploide Metaphase ( $2n = 42$ ) der Rattenleber mit Aneuploid-Sonderung in 27:15 (nach GLÄSS 1957).

mit einer Sonderung in 21:21 konnten wir in 16 Fällen exakt nachweisen, dass es sich bei den beiden räumlich voneinander getrennt liegenden Chromosomengruppen um zwei miteinander übereinstimmende Chromosomensätze handelte. Dies bedeutet, dass in den von uns festgestellten 21:21-Sonderungen wohl in den meisten Fällen eine Genomsonderung vorliegt.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen in den Metaphasen der Wurzelspitzenmitosen von *Bellevalia romana* findet in den Metaphasen der Rattenleber *keine* zufallsähnliche Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene statt, die Chromosomen der Rattenleber sind in einem bestimmten Prozentsatz zu kompletten Genomen vereinigt.

Die bisherigen Ausführungen befassten sich mit der Genomsonderung in diploiden Metaphasen, für die in Figur 4 ein typisches Beispiel angegeben ist. Die gestrichelte Linie in der Figur verdeutlicht die Trennung zwischen den beiden Genomen. Aus der Figur wird ferner ersichtlich, dass die beiden Chromosomensätze eines Kernes nicht immer denselben Kontraktionszustand besitzen, die Chromosomen des einen Genoms liegen wesentlich kompakter beisammen als die des anderen Genoms.

In polyploiden Metaphasen kann die Genomsonderung naturgemäß mehrere Formen annehmen (GLÄSS<sup>12,14</sup>). In tetraploiden Metaphasen mit  $4n = 84$  sind zum Beispiel folgende Formen möglich: 63:21, 42:42, 42:21:21, 21:21:21:21. In Figur 5 ist eine tetraploide Metaphase mit 84 Chromosomen dargestellt, gesondert nach 42:21:21, die Zeichnung verdeutlicht die einzelnen Gruppierungen.

Wir hätten diesen Genomsonderungen keine besondere Beachtung geschenkt, wenn wir nicht in einigen wenigen Fällen auch Sonderungen in aneuploide Chromosomengruppen gefunden hätten (GLÄSS<sup>14</sup>), die uns über das Phänomen der Genomsonderung zusätzlichen Aufschluss geben. In Figur 6 ist eine diploide Metaphase mit einer aneuploiden Sonderung dargestellt. Legt man die Trennungslinie so wie in der Zeichnung angegeben, dann erhalten wir eine Sonderung in 27:15, zieht man die Trennungslinie jedoch so, dass die rechts im Bild liegende kleinere Chromosomengruppe abgegliedert wird, dann lässt sich aus derselben Chromosomenanordnung genau so gut eine Sonderung in 33:9 ablesen. Das Besondere dieser Aneuploid-Sonderung liegt darin, dass wir die in diesen Sonderungen auftretenden Aneuploidzahlen, vor allem die Zahlen 27 und 33, real in den Mitosen der Rattenleber nachweisen können (GLÄSS<sup>13-16</sup>, MARQUARDT und GLÄSS<sup>20</sup>).

Tabelle II gibt uns Auskunft über den Zusammenhang zwischen Aneuploid-Sonderung und aneuploiden Kernen. Wie die erste Rubrik zeigt, kommt die Zahl 27 als Chromosomengruppe einer aneuploiden Sonderung in den verschiedensten Ploidiestufen vor. Unter insgesamt 303

Tab. II. Der Zusammenhang von Aneuploid-Sonderung und aneuploiden Kernen

Beobachtete Sonderung	Häufigkeit unter 303 aneuploiden Sonderungen	Aneuploide Chromosomenzahl	Häufigkeit unter 1198 aneuploiden Kernen
$2n = 27:15$	36		
$3n = 27:36$	11	27	118
$4n = 27:42:15$	9		
$5n = 27:42:36$	3		
$2n = 33:9$	24		
$3n = 33:30$	33	33	197
$4n = 33:21:30$	9		
$5n = 33:42:30$	5		

aneuploiden Sonderungen finden wir sie insgesamt 59mal. In der Rattenleber selbst treten Metaphasen mit 27 Chromosomen unter insgesamt 1498 aneuploiden Mitosen in 118 Fällen auf. Die Aneuploidzahl 33 findet sich 71mal in aneuploiden Sonderungen und erscheint 197mal in aneuploiden Kernen. Es muss hier erwähnt werden, dass in der Rattenleber kein wildes Durcheinanderstreuen der Aneuploidzahlen vorkommt, sondern dass trotz der Vielzahl der Möglichkeiten nur ganz bestimmte Aneuploidzahlen gehäuft auftreten (GLÄSS<sup>14-16</sup>, MARQUARDT und GLÄSS<sup>20</sup>). Nur diese bevorzugt auftretenden Aneuploidzahlen wie 27 oder 33 lassen sich aus Genomsonderungen ableiten.

Die Tatsache, dass zwischen Genomsonderung einerseits und den beobachteten Aneuploiden andererseits eine Übereinstimmung besteht, zeigt, dass in der Rattenleber – basierend auf der Genomsonderung – Vorgänge ablaufen, die zu einer Veränderung der Chromosomenzahl führen können.

Die einfachste Möglichkeit, die Chromosomenzahl zu verändern, bestünde in einer Abregulierung der Chromosomenzahl, wie sie durch *Amitosen* hervorgerufen werden könnte. Dass Amitosen in der Rattenleber vorkommen, ist allgemein bekannt (BENNIGHOFF<sup>21</sup>, STÄMMLER<sup>22</sup>, CLARA<sup>23</sup>, BRUES und MARBLE<sup>24</sup>, GRUNDMANN<sup>25</sup>, BUCHER<sup>26</sup> u.a.). In der in Figur 6 gezeigten diploiden Metaphase mit aneuploider Sonderung in 27:15 könnten durch eine Amitose die räumlich voneinander getrennt liegenden beiden Chromosomengruppen so auf die beiden Tochterkerne verteilt werden, dass zwei Tochterkerne mit neuen Chromosomenzahlen entstehen würden, der eine Tochterkern enthielte 27, der andere 15 Chromosomen. Wir hätten hier gleichzeitig ein schönes Beispiel für eine inäquale Amitose, die, in einem Kern mit Genomsonderung ablaufend, zur Bildung von Kernen mit aneuploiden Chromosomenzahlen führen könnte. Auf ähnliche Weise, durch inäquate und äquale amitotische Kerndurchschnürung, könnten aus diploiden und polyploiden Kernen, die eine Genomsonderung in irgend einer Form enthalten, neue Kerne mit geringerer Chromosomenzahl als dem Ausgangskern entstehen.

Für die gesetzmässig abregulierende Wirkung der Amitose spricht vor allem die Tatsache, dass in allen von uns untersuchten 45 Tieren eine ganze Anzahl von *haploiden* Kernen auftritt (MARQUARDT und GLÄSS<sup>19,20</sup>, GLÄSS<sup>15,16</sup>), die wohl nur durch eine Herabregulierung der Chromosomenzahl höherploider Kerne entstanden sein können.

Eine weitere Möglichkeit, die Chromosomenzahl abzuregulieren, könnte darin liegen, dass wir in der Rattenleber gelegentlich *multipolare Spindelbindungen* festgestellt haben (GLÄSS<sup>11</sup>, MARQUARDT und GLÄSS<sup>19</sup>). Nehmen wir als Beispiel eine diploide Metaphase mit einer aneuploiden Sonderung in 27:15, wie wir sie in der Rattenleber häufig antreffen. Würde nun in einer derartigen Mitose in der Anaphase eine tripolare Spindel auftreten, dann würden anstelle von zwei Tochterkernen mit je 42 Chromosomen drei Tochterkerne gebildet, ein Tochterkern enthielte die normale Chromosomenzahl 42 des Ausgangskernes, die beiden anderen Tochterkerne enthielten neue Chromosomenzahlen, der eine 27, der andere 15 Chromosomen. Auf dieselbe Weise würde aus einem polyploiden Kern, zum Beispiel einem tetraploiden ( $4n = 84$ ) mit Sonderung in 63:21 durch eine tripolare Spindel ein Tochterkern mit der ursprünglichen Chromosomenzahl 84 entstehen und zwei Tochterkerne mit neuen Chromosomenzahlen, ein triploider Kern mit 63 und ein haploider mit 21 Chromosomen.

Den Möglichkeiten, die Chromosomenzahl durch Abregulierung zu verändern, stehen Möglichkeiten einer Veränderung durch Aufregulierung gegenüber.

Aus einem aneuploiden Kern mit 27 Chromosomen könnte durch eine typische *Endomitose* ein Kern mit 54 Chromosomen zustandekommen, wie er in der Rattenleber besonders häufig aufgefunden wird (GLÄSS<sup>14,15</sup>).

Noch ein weiterer, aufregulierender Mechanismus wäre zu erwähnen. Es wäre theoretisch denkbar, dass in Kernen mit Genomsonderung *partielle Endomitosen* (GLÄSS<sup>12</sup>) ablaufen, wobei die Endomitose nur in einem, durch die Genomsonderung bereits abgegliederten Kernabschnitt vor sich gehen könnte, während im übrigen Teil des Kernes die Chromosomen ungeteilt bleiben würden. Aus einem diploiden Kern mit Sonderung in 27:15 könnte auf diese Weise, wenn die partielle Endomitose nur im Kernabschnitt mit 27 Chromosomen abläuft, zum Beispiel ein Kern mit 69 Chromosomen entstehen. Auch diese Chromosomenzahl findet sich relativ häufig in den Kernen der Rattenleber.

Wir haben vier Möglichkeiten gezeigt, wie mit Hilfe der Genomsonderung die Chromosomenzahl der Rattenleber verändert werden könnte. Zusammenfassend lässt sich folgendes sagen: Die Genomsonderung scheint die entscheidende Voraussetzung dafür zu sein, dass in diploiden und polyploiden Kernen Vorgänge ablaufen, die zu einer Veränderung der Chromosomenzahl führen können. Diese Veränderungen könnten einmal durch Herabregulierung der Chromosomenzahl durch Amitosen oder multipolare Spindelbindungen zustande kommen, die in Kernen mit Genomsonderung vor sich gehen. Genau dieselben Ergebnisse könnten aber auch durch Aufregulierung der Chromosomenzahl durch Endomitosen oder partielle Endomitosen erreicht werden.

Mit Hilfe der Genomsonderung haben wir im Gewebe höherer Säugetiere erstmals eine Vorstellung entwickeln können, die das Zustandekommen des für die Rattenleber komplexen Kern- bzw. Mitosemusters sowie die Variation seiner Ploidiegrade ermöglicht.

**Summary.** Model squashes with gelatine cubes containing 8 files like the chromosomes of *Bellevalia romana* ( $2n = 8$ ) showed the chromosomes only in groupings that correspond to the original position of metaphase chromosomes. The metaphase chromosomes in root tip cells of *Bellevalia romana* are arranged at random; there is neither somatic pairing nor genome segregation (= grouping of metaphase chromosomes into two complete chromosome sets). In contradiction to these results, the chromosomes in the regenerating liver cells ( $2n = 42$ ) show a certain percentage of grouping into complete genomes. It is concluded that in rat liver cells a mechanism exists which, starting with the genome segregation, may produce a change in chromosome number. Thus these same euploid or aneuploid chromosome numbers can be explained which are really observed in normal and treated rat liver. 4 possibilities of such mechanism are discussed.

E. GLÄSS

Forstbotanisches Institut der Universität Freiburg i. Br. (Deutschland), 16. Januar 1962.

<sup>21</sup> A. BENNIGHOFF, *Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitotischer Vorgänge* (S. B. Ges. Naturwiss. Marburg 1922), p. 45.

<sup>22</sup> O. STÄMMLER, Arch. klin. Chir. 153, 350 (1928).

<sup>23</sup> M. CLARA, Z. mikr.-anat. Forsch. 26, 45 (1931).

<sup>24</sup> J. M. BRUES und B. B. MARBLE, J. exp. Med. 65, 2 (1943).

<sup>25</sup> E. GRUNDMANN, Verh. Deutsch. Ges. Path. 38, Tagg. (1954), p. 362.

<sup>26</sup> O. BUCHER, Z. mikr.-anat. Forsch. 64, 100 (1958).