

Spontane und induzierte Quadriradialbildungen an Schweinechromosomen in Lymphozytenkulturen

Spontaneous and induced quadriradial figures on swinechromosomes in lymphocyte cultures

M. Förster

Lehrstuhl für Tierzucht der Technischen Universität München, D-8050 Freising-Weihenstephan (Bundesrepublik Deutschland), 11. Dezember 1978

Summary. In chromosome preparations from swine lymphocyte cultures, quadriradial figures and homolog associations were seen only of chromosome 10 and at a low frequency. The frequency of quadriradial figures was substantially increased by mitomycin C treatment, whereby 26.2% of the quadriradials were formed from the same chromosome pair with the number 10.

Bei einigen Primatenarten wurden verschiedentlich spontane Chromosomenveränderungen gefunden¹, die als Quadriradiale bezeichnet und im Zusammenhang mit mitotischem Crossing over diskutiert werden. Am chromosomal Material des Menschen konnten mehrmals unabhängig voneinander mitotische Austauschereignisse in Form von Quadriradialbildungen beobachtet werden^{2,3,4,5}. Nach Shaw und Cohen⁶ werden die Formen der mitotischen Quadriradialbildung in 5 Klassen eingeteilt, wobei als Einordnungskriterien die Austauschsymmetrie, die Lage der beiden Zentromerpositionen und die Beteiligung homologer Chromosomen eine Rolle spielen.

Material und Methode. Aus je 2 Lymphozytenkulturen von 8 männlichen Schweinen wurden mittels üblicher Chromosomenpräparation circa 100 Metaphasen je Kultur, insgesamt 1656 Metaphasenplatten photographisch ausgewertet. An diesem Material wurde die spontane Quadriradialbildung beobachtet.

Zur Induktion solcher Chromosomenaustauschvorgänge wurden von weiteren 6 männlichen Schweinen je zwei Lymphozytenkulturen angesetzt. Nach 48 h wurde jeweils einer Kultur/Tier dieser letztgenannten Gruppe 0,1 µg Mitomycin-C/ml Kulturflüssigkeit zugegeben. Die andere Kultur dient als Kontrolle. Nach weiteren 22 h wurde Colcemid für 2 h zugegeben und daraufhin eine Chromosomenpräparation in üblicher Weise durchgeführt. Von jeder dieser Kulturen wurden 50 Metaphasen, also insgesamt 600 photographisch analysiert.

Ergebnis und Diskussion. In der Gruppe der 8 untersuchten Tiere fanden sich unter den 1656 Metaphasenplatten 22 ungewöhnliche Chromosomenanordnungen. Es handelt sich dabei um 14 Assoziationen offensichtlich homologer Chromosomen, um 3 Klasse-I- und 5 Klasse-II-Quadriradiale (Tabelle). Auffallend dabei ist, dass diese Chromosomenanordnungen in dieser Versuchsreihe nur ein ganz bestimmtes Chromosomenpaar betreffen. Es handelt sich dabei um das Chromosomenpaar 10 des normalen Schweinekaryotyps⁷ (Figur 1). Dieses Chromosomenpaar findet sich mit gleicher Morphologie auch im Karyotyp des europäischen Wildschweines. Die Morphologie dieser beiden metazentrischen Chromosomen ist durch einen deutlichen achromatischen Abschnitt im Zentromerbereich unverwechselbar gekennzeichnet. Mit Hilfe dieser auffallenden Morphologieeigenschaften kann mit einem einfachen Giemsafärbeverfahren ohne Schwierigkeit festgestellt werden, dass die oben erwähnten Homologenassoziationen und Quadriradialbildungen wirklich das Chromosomenpaar 10 im Schweinekaryotyp betreffen. Dabei handelt es sich offensichtlich um spontane Ereignisse im Mitosezyklus dieser Schweinelymphozyten im In-vitro-Kultursystem. Durch die Applikation von Mitomycin-C in der 2. Versuchsgruppe wurde versucht, Quadriradialbildungen chemisch zu induzieren. Hier wird ein Vergleich zwischen der Kontrolle und der Behandlungsgruppe angestellt. Bei den 300 Metaphasen der Kontrolle zeigten sich 3 Klasse-I-Quadriradiale, wovon eines durch das markerähnliche

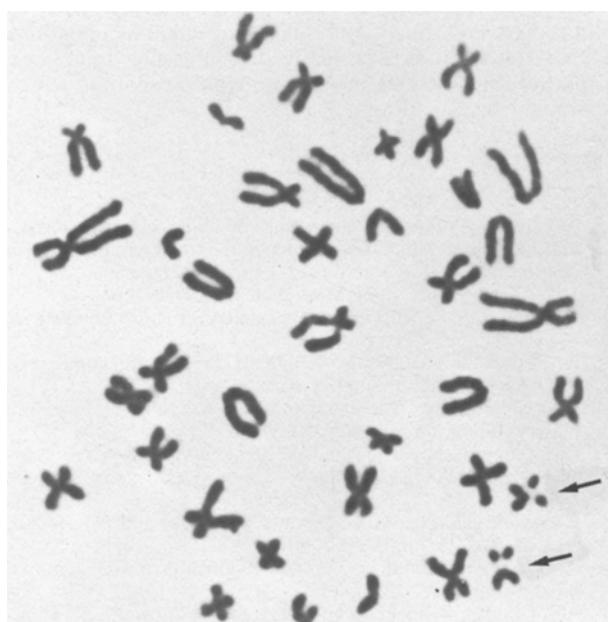


Fig. 1. Schweinechromosomen mit deutlich erkennbarem Chromosom No 10.

Spontane und mitomycin-C-induzierte Homologenassoziationen und Quadriradialbildungen an Schweinechromosomen

| | Spontan | Induziert 0,1 µg M-C/ml Kontrolle | |
|--------------------------------------|---------|--------------------------------------|-----|
| Metaphasezahl | 1656 | 300 | 300 |
| Homologenassoziation | 14 | | |
| Klasse-I-Quadriradiale | 3 | 37 | 3 |
| Klasse-II-Quadriradiale | 5 | 32 | 0 |
| davon Ereignisse mit Chromosom 10 | 22 | 19 | 1 |

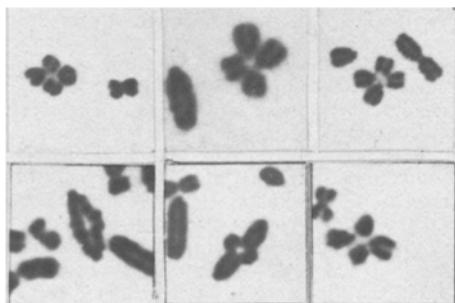


Fig. 2. Beispiele für Quadriradialbildungen an Schweinechromosomen.

Chromosomenpaar 10 gebildet wurde. In der Gruppe von Kulturen, die mit Mitomycin C behandelt wurde, fanden sich 37 Klasse-I- und 32 Klasse-II-Quadriradiale. Von diesen 69 Quadriradialfiguren wurden 19 vom Chromosomenpaar 10 gebildet (Tabelle). Das bedeutet, dass 26,2% dieser mit Mitomycin-C induzierten Quadriradiale nur 1 bestimmtes Chromosomenpaar betreffen.

Die Quadriradialbildungen und Homologenassoziationen der 1656 Metaphasen der ersten Versuchsreihe und die 3 Figuren in den 300 Metaphasen der Kontrollgruppe dürften als spontane Ereignisse innerhalb dieses In-vitro-Kultursystems zu betrachten sein, die eine gerade noch erkennbare Frequenz zeigen, nämlich 25 Ereignisse in 1956 Metaphasen. Mit Mitomycin-C wurde die Frequenz der Quadriradialbildungen in Schweinelymphozytenkulturen wesentlich erhöht. In 300 Metaphasen finden sich 69 solcher Figuren. Aus diesen Ergebnissen ist unschwer abzuleiten, dass das Chromosomenpaar 10 des Schweines mit seinem grossen achromatischen Bereich eine Disposition für solche Austauschereignisse hat. Ähnliche Dispositionen für chromosomal Austauschereignisse in der Mitose wurden für bestimmte Humanchromosomen beschrieben^{6,8,9}. Nach einem Bruch in homologen Abschnitten von Nichtschwesterchromatiden treten 3 Reunionsfiguren auf⁶. Es handelt sich dabei um die völlige Restitution dieser Chromatiden und um Klasse-I- und Klasse-II-Quadriradiale. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer dieser Figurtypen sollte gleich gross sein. Da Restitutionsfiguren in der Metaphase nicht erkennbar sind, verbleiben nur Quadriradialfiguren der Klasse I und II als zytologisch sichtbare Austauschereignisse zwischen homologen Nichtschwesterchromatidabschnitten. Sowohl in der Reihe der ersten 1656 Metaphasen kann in den 3 Klasse-I- und 5 Klasse-II-Quadriradialen, als auch in der Reihe der

Mitomycin-C-induzierten 37 Klasse-I- und 32 Klasse-II-Typen annähernd ein 1:1-Verhältnis gesehen werden, das auf einen mitotischen Materialaustausch an Homologen hindeutet. Eine Erklärungsmöglichkeit dafür bietet mitotisches Crossing over, wie es mehrfach beschrieben wurde^{10,11}. Demnach könnten die beschriebenen Quadriradialbildungen als mitotische Chiasmata verstanden werden, wie das für ähnliche Situationen an Human- und Primatenchromosomen in Betracht gezogen wird^{1,12}. Zu dieser Interpretationsmöglichkeit würden die Berichte über erhöhtes Vorkommen von mitotischem Crossing over im zentromerischen Heterochromatinbereich von *Drosophila melanogaster*^{10,13,14} nahtlos in Einklang zu bringen sein. Der heterochromatische zentromerale Bereich des Chromosoms 10 beim Schwein könnte in dieser Weise als eventuelle Ursache für die erkennbare Disposition dieses Schweinechromosoms für Quadriradialbildungen gewertet werden.

- 1 J. Egozcue, Genetics 60, 771 (1968).
- 2 J. German, Science 144, 298 (1964).
- 3 K. Patau and E. Therma, Genetics 61, 545 (1969).
- 4 E. M. Kuhn, Chromosoma 57, 1 (1976).
- 5 T. M. Schroeder and J. German, Humangenetik 25, 299 (1974).
- 6 M. M. Shaw and M. M. Cohen, Genetics 51, 181 (1965).
- 7 K. H. Hansen, Ann. Génét. Sél. Anim. 9, 517 (1977).
- 8 J. German, L. P. Crippa and D. Bloom, Chromosoma 48, 361 (1974).
- 9 E. Therma and E. Meyer-Kuhn, Cytogenet. Cell Genet. 17, 254 (1976).
- 10 C. Stern, Genetics 21, 625 (1936).
- 11 H. Grüneberg, Genet. Res. 7, 58 (1966).
- 12 T. M. Schroeder and J. German, Humangenetik 25, 299 (1974).
- 13 G. E. Brosseau, J. exptl Zool. 136, 567 (1957).
- 14 K. H. Walen, Genetics 49, 905 (1964).

Genetic polymorphisms and intrauterine development. Evidence of decreased heterozygosity in light-for-dates human newborn babies

E. Bottini, F. Gloria-Bottini, P. Lucarelli, A. Polzonetti, F. Santoro and A. Varveri*

Dept. of Genetics and Computer Center, University of Camerino, I-62032 Camerino (Italy), and Center of Evolutionary Genetics of CNR and 'Bambino Gesù' Hospital for Sick Children, Rome (Italy), 9 February 1979

Summary. In 2 independent samples of low-birth-weight infants the proportion of females and homozygotes for a series of polymorphic systems was higher in light-for-dates than in preterm babies. The observation seems to give support to the hypothesis that homozygosity for 'normal' polymorphisms may decrease in general intrauterine growth rate. Since it is known that survival rate is strongly related to birth weight, a correlation between growth retardation and homozygosity may have a major role in the maintenance of such polymorphisms.

It has been suggested that enzyme polymorphisms have a regulatory function on metabolism, and that heterozygotes may have a selective advantage since they could modulate reaction rate in order to compensate for variation in biochemical conditions¹. The hypothesis has also been put forward that even if the allozymes of a locus were function-

ally identical, heterozygotes for dissimilar sequences of transcription-initiating sensors should be advantaged since their mean time of activation is lower than that of homozygotes².

Considering that most of enzymatic systems are activated during intrauterine development when body growth is very

Table 1. Distribution (%) of sex, blood groups and enzyme phenotypes in the sample from Rome (PT, preterm; LFD, light-for-dates)

| Sex | Rh(D) | | | | | | | | ADA | | | | | | | | No. of infants | |
|--------|-------|------|------|-----|---------|------------------|------------------|------|------|-----|------|------|------|-----|------|------|----------------|----|
| | Fe- | ABO | | | negati- | PGM ₁ | ACP ₁ | | | ADA | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| males | A | B | AB | O | ve | 1 | 2-1 | 2 | A | B | BA | CB | CA | 1 | 2-1 | 2 | | |
| PT | 59.6 | 41.8 | 10.9 | - | 47.3 | 3.6 | 50.0 | 42.3 | 7.7 | - | 61.8 | 27.3 | 9.1 | 1.8 | 92.2 | 7.8 | - | 57 |
| LFD | 69.4 | 25.0 | 16.7 | 2.8 | 55.6 | 22.2 | 52.8 | 30.6 | 16.7 | 9.1 | 60.6 | 27.3 | 3.0 | - | 90.3 | 9.7 | - | 36 |
| Adults | 49.1 | 41.7 | 8.6 | 3.0 | 46.7 | 16.0 | 51.3 | 39.9 | 8.8 | 8.6 | 43.9 | 31.7 | 12.2 | 3.4 | 82.5 | 17.2 | 0.3 | |

Significance of the difference in proportions of females and of (detectable) homozygotes for blood groups and enzyme polymorphisms (ADA 2 has been excluded). Wilcoxon test; one tail probability. LFD vs PT: p < 0.02.