

Diss. ETH Nr. 6608

ZYTOFLUOROMETRISCHE UNTERSUCHUNG DNA-SPEZIFISCHER
FLUORESZENZFARBSTOFFE AN CHROMOSOMEN DES MENSCHEN

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines Doktors
der Naturwissenschaften der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von
Hauser-Urfer Ingrid Helen
Dipl. Natw. ETH
geboren am 12.2.1949
von Gossau ZH

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. Fritz Ruch, Referent
Prof. Dr. Werner Schmid, Korreferent

Mai 1980

6. ZUSAMMENFASSUNG

Aus Modellversuchen ist bekannt, dass die Fluoreszenz der Farbstoffe Mithramycin, DAPI, Hoechst 33'258 und Quinacrine mustard quantitativ vom Basengehalt der DNA abhängt. Ob ein solcher Zusammenhang auch im Kern und im Chromosom besteht und ob möglicherweise Proteine, Sequenzen und z.B. seltene Basen die Bindung dieser Farbstoffe zusätzlich begünstigen, wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht.

Chromosomen des menschlichen Karyotyps, die durch einen Anteil sat-DNA vom 60:40 Basenpaarverhältnis abweichen, wurden mit diesen vier Farbstoffen gefärbt und zytofluorometrisch untersucht und das Ergebnis mit den, durch Integration erhaltenen DNA-Zahlen der menschlichen Chromosomen, verglichen. Aus den erhaltenen Daten konnten Rückschlüsse gezogen werden über den Bindungsmechanismus dieser Farbstoffe an das Chromosom.

Anhand der zytofluorometrisch erhaltenen Daten war es möglich die Basenpaaranteile in den untersuchten Chromosomen zu berechnen. Mehr spekulativer Art war die Berechnung der sat-DNA Anteile in den einzelnen Chromosomen.

Die Resultate aus dieser Arbeit zeigen, dass die Fluoreszenz der Farbstoffe Quinacrine mustard, Hoechst 33'258, DAPI und Mithramycin auch im Zellkern und im Chromosom quantitativ vom Basengehalt der DNA abhängt. Somit wurde mit dieser Arbeit eine Grundlage geschaffen für weitere quantitative Untersuchungen dieser Art. Als nächster Schritt wäre es interessant, jene seltenen Fälle zu untersuchen, wo extrem starke Marker Unterschiede in der Basenpaarzusammensetzung mit grösserer Deutlichkeit hervortreten lassen müssten. Auch könnte für Fragestellungen zur Basenzusammensetzung von Chromosomen und chromosomenähnlichen Stücken, die zytofluorometrische Untersuchungsmethode als sinnvolle Ergänzung zu technisch weit aufwendigeren Methoden, angewandt werden.

6. ABSTRACT

It is known from model experiments that the fluorescence of the fluorochromes Mithramycin, DAPI, Quinacrine mustard and Hoechst 33'258 depend quantitatively on the base content of DNA. Whether this correlation is true also for nuclei and chromosomes was uncertain. Possibly proteins, sequences and, for example, rare bases also favour the binding of these fluorochromes

In this work those chromosomes of the human karyotype, which contain sat-DNA and for this reason, differ from the 60:40 ratio of the base pairs, were stained with the four above mentioned fluorochromes and cytofluorometrically analysed. The results were compared with the amounts of DNA of the human chromosomes, obtained by integration. From this data conclusions could be drawn concerning the binding mechanisms of these fluorochromes to the chromosomes.

On the basis of the fluorometrical data, it was possible to calculate the amounts of the two base pairs AT and GC in the chromosomes analysed. The calculation of the amount of sat-DNA in the chromosomes is somewhat speculative.

The results of this work show, that the fluorescence of the stains Quinacrine mustard, Hoechst 33'258, DAPI and Mithramycin also depend on the base content in the nucleus and in the chromosomes.

Thus a basis has been formed that allows further quantitative analyses. As a next step it would be of interest to examine those rare cases of human chromosomes that contain extremely prominent markers. Such markers are supposed to have a significant difference in base composition compared with the main band DNA.

Further analyses of base composition in chromosomes and chromosome-like fragments with this cytofluorometric method would be a useful supplement to other, much more ambitious methods.