

Abstracts

In der vorliegenden Arbeit wurden Zellen der Endometriumkarzinom-Linie EFE-184 und der Ovarialkarzinom-Linie EFO-27 im Verlauf der in vitro Kultivation durch FISH-Analysen karyotypisiert. Ziel der Untersuchung war die Charakterisierung von numerischen und strukturellen Chromosomen-Veränderungen während der Langzeit-Kultivation, deren Ergebnisse zu Aussagen über die genomische Stabilität der untersuchten Tumorzellen führen. Die FISH-Analysen wurden mit den Bänderungsmustern nach Giemsa-Färbung verglichen.

Die untersuchten Einzelzellen der Linie EFE-184 besaßen unterschiedliche Chromosomenzahlen. Das Spektrum der numerischen Aberrationen reichte von nahe-diploid bis zu über 150 Chromosomen pro Metaphase. Bei 5 der 8 untersuchten Subkulturen aus verschiedenen Kultivationspassagen (Kulturen A, B sowie F, G und H) fanden sich Chromosomenzahlen von 60-85 pro Metaphase. In den übrigen drei Kulturen C, D und E zeigte sich vermehrte Heterogenität der Chromosomenzahl pro Zelle. Die Bestimmung der Chromosomenzahl ist offenbar in starkem Maße von der jeweiligen Präparationstechnik abhängig. In gesonderten Experimenten wurden bei längerer Quellzeit vermehrt numerische Aberrationen unterhalb des Bereichs von 60 bis 85 Chromosomen pro Zelle gefunden, wahrscheinlich bedingt durch Chromosomen-Verlust beim Chromosomen-Spreitungsvorgang während der Präparation. Bei wiederholter Trypsinierung derselben Monolayer-Kultur ergab sich eine weitgehend ähnliche Verteilung der Chromosomenzahl pro Metaphase. Auch Zellen des Klons J-5 besaßen ein relativ breites Spektrum der Chromosomen-Verteilung im Bereich zwischen 60 und 85 pro Zelle, obwohl nach Klonierung und Hochzüchtung aus einer Einzelzelle dieselbe Chromosomenzahl in allen Tochterzellen zu erwarten wäre.

In eingehenden FISH-Analysen mit Painting-Sonden wurden die in vorhergehenden Untersuchungen durch G-Bänderung beschriebenen strukturellen Chromosomenaberrationen bei EFE-184 Zellen weitgehend bestätigt. Bei 7 von 9 beschriebenen Translokationen ließen sich die nach G-

Bänderung aufgefundenen Bruchpunkte durch Verwendung der jeweiligen FISH-Painting-Sonden reproduzieren. Den anhand der G-Bänderung bestimmten 6 Marker-Chromosomen mit Deletionen entsprachen 4 in den FISH-Analysen. Das in einer früheren Untersuchung als iso9q bestimmte Marker-Chromosom wurde in einer J-5 Metaphase gefunden, und zusätzlich stellte sich in der FISH-Analyse einer anderen J-5 Metaphase ein iso9p heraus. Eine andere Ausnahme war M7, das in der früheren Untersuchung nicht identifiziert werden konnte, und das in dieser Arbeit als del(9)(q21) bestimmt wurde. Weiterhin wurde das frühere Derivat von M7 (M7* = del M7) als del(9)(q21-qter) erkannt, das in den hier untersuchten Metaphasen mit einem unbekanntem Chromosomen-Fragment rekombiniert war. Als weitere Ausnahmen wurden zwei neue Marker-Chromosomen bei EFE-184 Zellen identifiziert: del(5) sowie t(9;?)(p24;?). Hinsichtlich der strukturellen Aberrationen ergaben sich keine auffallenden Unterschiede zwischen den parental EFE-184 Zellen und Klon J-5.

Die mit Zellen der Linie EFO-27 durchgeführten FISH-Analysen haben bestätigt, daß die in früheren Untersuchungen durch G-Bänderung (**Kunzmann & Hölzel, 1987**) bestimmten Marker-Chromosomen 1-3 in Zellen der Kultur-Passagen 82 und 89 tetrasom auftreten. Zwei der durch die G-Bänderung definierten Deletionen wurden in den FISH-Analysen ebenfalls gesehen (M1 und M3). In EFO-27 Zellen der Kulturpassage 82 wurde das X-Chromosomen-Fragment detektiert, das in Passage 179 der Zellkultivation bei den früheren Untersuchungen mit Chromosom 2 rekombiniert als Marker 2 bestimmt wurde. Das kürzere Fragment X(q12-pter) ließ sich in der FISH-Analyse dem Marker M1 zuordnen.

Die Ergebnisse der FISH-Analysen haben gezeigt, daß die mehr als 10 Jahre zuvor durchgeführten G-Bänderungen bis auf wenige Ausnahmen zur nahezu korrekten Identifizierung von Marker-Chromosomen bei beiden Zelllinien geführt hatten. Die vorliegende Arbeit stellt erneut die chromosomale Instabilität als wichtigen Parameter der Selektion von malignen Zellpopulationen heraus.