

**A KROMOSZÓMA KONDENZÁLÓDÁS FOLYAMATÁNAK FLUORESzcENS TECHNIKÁN
ALAPULÓ DIGITÁLIS ANALÍZISE**

SZEPESSY EDIT, NAGY GÁBOR, BÁNFALVI GÁSPÁR*

Állatanatómiai és Élettani Tanszék, TTK, Debreceni Egyetem Debrecen, H-4010

SUMMARY

**DIGITAL ANALYSIS OF THE PROCESS OF CHROMOSOME CONDENSATION BASED ON
FLUORESCENT TECHNIQUE**

Eukaryotic DNA is organized at several structural levels. Among these levels we distinguish the primary structure (sequence of base pairs), the secondary level (double helix) and the nucleosomal organization which are well known. At higher level of structural organization the models are to some extent contradictory and poorly understood. Those investigations which have dealt with the quaternary chromosomal organization were restricted to metaphase chromosomes. The main reason of it is that chromosome condensation takes place inside the nucleus hidden behind the nuclear curtain placing limitations to morphological investigations. Here we describe a process which makes possible to investigate the dynamic process of chromosome condensation in CHO cells being in the interphase stage of the cell cycle allowing us to visualise intermediates of the chromosome condensation process.

Chromosomal structures have been analyzed by computer programmes and show a variety of transition forms from decondensed to gradually condensing chromosomes. In some cases the formation of individual chromosomes could be traced. Individual chromosomes will be further analysed by FISH technique.

BEVEZETÉS:

Az eukarióta DNS egy több strukturális szinten szerveződő molekula. A szerveződési szintek közül a primer (bázispárok sorrendje), a szekunder (kettős spirál), a nukleoszomális szerveződési szintek jól ismertek, az ennél magasabb szintekről alkotott elképzeléseink azonban már ellentmondásosak és jóval pontatlanabbak. Azok a kutatások, melyek a negyedleges kromoszómális szerkezet pontosabb megismerésére irányultak, jobbra csak a metafázisos kromoszómák vizsgálatára korlátozódtak. Ennek elsősorban az oka az, hogy a kromoszóma-kondenzálódás a sejtmagban, rejtve játszódik le, közvetlen morfológiai vizsgálata nehezen kivitelezhető.

Egy olyan eljárást mutattunk be, melynek alkalmazásával lehetővé válik a DNS kondenzálódás folyamatának dinamikus vizsgálata interfázisos sejtekben, és az így keletkezett kromoszóma intermedierek láthatóvá tétele.

EREDMÉNYEK:

A szinkronizálás során nyolc sejtfrakciót választottunk el, melyek közül az első frakciót nem értékeltük, mert nagy mennyiségű sejtörmelékkel, illetve a tenyésztőfolyadékból származó szennyeződést tartalmazott. A szinkronizálás kontrollját flow-cytometerrel ellenőriztük. A 2. frakció elsősorban G 1/G0 fázisban levő sejteket tartalmaz, melyek kromatinállománya még nagyrészt dekonzenzált, mikroszkóposan fátyol -, vagy felhőszerű képet ad.

*Corresponding author. Tel.: 36-52-316-666/2337; Fax: 36-52-316-925
E-mail address: bgaspar@delfin.klte.hu