

Polytäanchromosomen-Präparation

Benötigte Materialien:

- *Drosophila melanogaster* Larven (Stadium 3)
- Objektträger und Deckgläschen
- 45%ige Essigsäure
- Orcein-Essigsäure-Färbelösung (2%ig in 45%iger Essigsäure)
- Pinzetten
- Mikroskop, Stereomikroskop

Durchführung:

- Sammeln Sie mit einer Federstahlpinzette oder einem Pinsel möglichst große Larven von der Gefäßwand ab und überführen Sie diese in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß.
- Stellen Sie das geschlossene Reaktionsgefäß für 15 min auf Eis (dieser Schritt dient der Betäubung der Larven) - oder tauchen die Larve für 1 Sekunde in ein 60 °C Wasserbad.
- Greifen Sie nun mit einer feinen Pinzette die Larve etwa mittig und überführen Sie sie in einen Tropfen PBS, den Sie zuvor auf einen Objektträger gegeben haben. Die Präparation der Speicheldrüsen erfolgt im PBS-Puffer !
- Greifen Sie mit einer zweiten Pinzette die Mundwerkzeuge der Larve und ziehen Sie diese aus dem Gewebe heraus. Dieser Schritt sollte mit Hilfe eines Stereomikroskops durchgeführt werden, da es wichtig ist, an den Mundwerkzeugen und nicht an dem umgebenden Gewebe zu ziehen. Die Speicheldrüsen werden bei dieser Präparationstechnik gemeinsam mit den Mundwerkzeugen aus der Larve entfernt.
- Legen Sie die Speicheldrüsen im Anschluss soweit wie möglich frei und entfernen Sie überschüssige Gewebe, bzw. Fettanhängsel. Ihr Präparat darf niemals austrocknen.
- Transferieren Sie nun die Speicheldrüsen für 10 min in einen Tropfen Orcein-Essigsäure. Achten Sie darauf, dass die Gewebe während dieser Zeit nicht austrocknen.
- Orcein-Essigsäure absaugen und durch 45%ige Essigsäure ersetzen.
- Anschließend decken Sie den Tropfen mit einem Deckgläschen ab. Legen Sie einen Streifen Zellstoff quer über Ihr Präparat. Klopfen Sie nun vorsichtig, z.B. mit einem Radiergummi eines Bleistifts, vorsichtig auf das Deckgläschen um die Riesenchromosomen möglichst gut zu entfalten. Scherbewegungen vermeiden. Kontrollieren Sie das Ergebnis im Mikroskop. Erneutes Klopfen, falls nötig.
- Anschließend legen Sie den Objektträger auf Papier und bedecken Ihr Präparat ebenso mit einem Streifen Papier. Drücken Sie nun sehr fest mit dem Daumen auf das Deckgläschen unter dem Papierstreifen. Hierbei darf das Deckgläschen weder verschoben noch zerbrochen werden.
- Fertig

Das Ergebnis der Präparation wird mit Hilfe eines Mikroskops überprüft.