

И. А. АЛОВ, М. Е. АСПИЗ, М. Р. КРАСНОКУТСКАЯ

## ИЗМЕНЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОГО РЕЖИМА ПОСЛЕ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ПУРОМИЦИНОМ

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 18 XI 1970)

Митотический аппарат формируется не только путем агрегации предсуществующих в интерфазной клетке макромолекул<sup>(5)</sup>, но и путем синтеза белков *de novo*<sup>(1, 2, 4, 9)</sup>. Цитохимические исследования показали, что в яйцах *Cyclops strenuus* материал митотического аппарата синтезируется в препрофазе<sup>(10)</sup>. В связи с этим следует ожидать, что блокада синтеза белков в препрофазе приведет к нарушению течения митоза, обусловленного отсутствием митотического аппарата. Однако изучение влияния специфических ингибиторов белкового синтеза (пурамицин, циклогексимид) на течение митоза дали пока неоднозначные результаты. В большинстве исследований отмечали, что нарушение синтеза белков в интерфазе приводит лишь к задержке вступления клеток в митоз<sup>(3, 6, 8, 12)</sup>. Результаты этих наблюдений связаны, вероятно, с тем, что эксперименты проводили обычно на несинхронизированных объектах, а введение ингибитора не всегда совпадало с периодом синтеза белков митотического аппарата.

В нашей лаборатории было обнаружено, что белки митотического аппарата в культуре фибробластов китайского хомячка синтезируются в периоде  $G_2$  интерфазы. В связи с этим мы решили вновь проверить влияние блокады синтеза белков митотического аппарата на течение митоза путем введения пурамицина в  $G_2$ -периоде.

Опыты проводили на синхронизированной культуре фибробластов китайского хомячка линии 451. Синхронизация культур осуществлялась по методу<sup>(11)</sup> путем введения колцемида (0,03 мкг/мл), снятия клеток встряхиванием, центрифугирования и повторного посева метафазных клеток (по 50—60 тысяч клеток на 1 мл среды 199). Пурамицин (10 мкг/мл) вводили в синхронизованную культуру в течение всего периода  $G_2$  (3 часа), либо только в первую или во вторую половину этого периода. Каждая группа опытов, помимо общего контроля (исходный фон митотического режима), имела свой контроль (соответствующая по времени смена культуральной среды без ингибитора). Культуры фиксировали 96° спиртом и окрашивали гематоксилином Караччи. Митотический режим определяли в первом и втором митозе после воздействия пурамицином. Каждый вариант опыта включал по 5—10 культур. Всего было поставлено 5 повторных экспериментов. Полученные данные подвергались статистической обработке по Фишеру — Стьюденту.

Результаты опытов показали (рис. 1), что блокада синтеза белков в первом митозе после воздействия пурамицином вызывала преимущественно уменьшение митотической активности и снижение относительного числа профаз, свидетельствующих о задержке вступления клеток в деление. Лишь в отдельных опытах в первом митозе наблюдали незначительное увеличение патологических митозов, связанных с повреждением митотического аппарата. Учитывая, что в препрофазе синтезируются не только материал митотического аппарата, но и белки, идущие на удвоение массы цитоплазмы, можно предполагать, что задержка вступления клеток в митоз в этих опытах связана с нарушением синтеза цитоплазматических белков.

Иные изменения митотического режима отмечали во втором митозе после воздействия пуромицином. Во втором митозе после блокады синтеза белков в периоде  $G_2$  преобладающим эффектом была небольшая задержка деления на стадии метафазы и резкое увеличение числа патологических митозов, представленных главным образом рассеиванием хромосом в метафазе. Последнее, как известно, возникает при отсутствии или полной

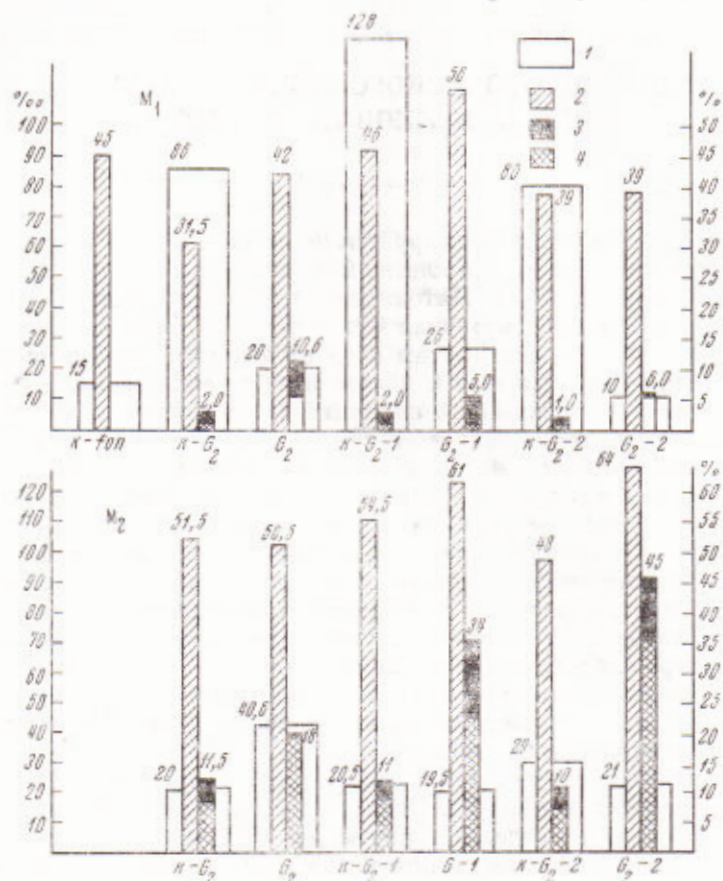


Рис. 1. Изменение митотического режима при воздействии пуромицином на  $G_2$ -период интерфазы в первом ( $M_1$ ) и во втором ( $M_2$ ) митозах. 1 — митотическая активность (%), 2 — относительное число метафаз, 3 — общее количество патологических митозов, 4 — метафазы с рассеянными хромосомами (% к митотической активности). Действие на весь период ( $G_2$ ), на первую половину периода ( $G_2-1$ ), на вторую половину ( $G_2-2$ ). Исходный контроль (K-фон), контроли к соответствующим группам опыта (K-G<sub>2</sub>, K-G<sub>2</sub>-1, K-G<sub>2</sub>-2)

деорганизации митотического аппарата. Интенсивность изменений митотического режима зависела от времени введения пуромицина. Наиболее значительные изменения наблюдали после воздействия ингибитора на весь период  $G_2$ , либо только на его вторую половину.

Результаты этих опытов позволяют полагать, что белки, синтезированные в периоде  $G_2$ , идут не только на удвоение массы цитоплазмы, но и на формирование митотического аппарата; причем для последнего они, вероятно, используются не в ближайшем митозе, а преимущественно в следующем за ним клеточном цикле. Лишь в этом смысле (во всяком случае для данного объекта) можно говорить о запасном фонде белков «предшественников» (12), которые синтезируются перед каждым делением,

но используются, главным образом, во втором митозе после завершения синтетических процессов.

Научно-исследовательский институт  
морфологии человека  
Москва

Поступило  
9 XI 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Th. Bibring, G. H. Cousineau, *Nature*, **21**, 4960, 805 (1964). <sup>2</sup> P. R. Gross, G. H. Cousineau, *J. Cell. Biol.*, **19**, 1, 260 (1963). <sup>3</sup> F. Legros, J. Brachet, *J. Embriol. and Exp. Morphol.*, **13**, 2, 195 (1965). <sup>4</sup> J. Mangan, T. Miki-Noumura, P. R. Gross, *Science*, **147**, 1575 (1965). <sup>5</sup> D. Mazia, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **9**, 335 (1955). <sup>6</sup> G. C. Mueller, *Exp. Cell Res., Suppl.*, **9**, 144 (1963). <sup>7</sup> R. L. Nen, L. Z. Carneiro, L. J. Gardner, *Nature*, **211**, 5051, 881 (1966). <sup>8</sup> R. C. Rustad, B. R. Burchill, *Radiation Res.*, **29**, 2, 203 (1966). <sup>9</sup> D. W. Stafford, R. M. Iverson, *Science*, **143**, 3606, 580 (1964). <sup>10</sup> H. F. Stich, J. McIntyre, *Exp. Cell Res.*, **14**, 3, 635 (1958). <sup>11</sup> E. Stubblefield, R. Klevecz, *Exp. Cell Res.*, **40**, 3, 660 (1965). <sup>12</sup> R. S. Verbin, E. Farber, *J. Cell. Biol.*, **35**, 3, 649 (1967). <sup>13</sup> H. A. Went, D. Mazia, In: *Micromolec. Complex*, N. Y., 1964, p. 161.