

А. Б. ИОРДАНСКИЙ, Г. В. ДЕРЯГИН

**РАДИОАВТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХАРАКТЕРА
РАСХОЖДЕНИЯ СЕСТРИНСКИХ ХРОМАТИД В МИТОЗЕ
VICIA FABA**

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 28 VI 1972)

До появления радиоавтографического метода проблема случайности или неслучайности расхождения сестринских хроматид в митозе, естественно, не вставала. Не привлекала она внимания и долгое время после обнаружения сегрегации метки во втором делении после введения тимидина-Н³ ⁽¹⁾, ибо легко было заметить, что при наличии меченых и немеченых хроматид складывается ситуация, вполне аналогичная случайному расхождению гомологов в анафазе I мейоза. Поэтому сохранилось убеждение в совершенно случайном характере расхождения меченых и немеченых сестринских хроматид, что приводит к равномерному двухкратному «разбавлению» количества зерен серебра на ядро после каждого клеточного деления. Однако в 1966 г. Ларк с соавторами впервые опубликовал данные, говорящие в пользу того, что в культуре эмбриональных фибробластов мышей и в перевиваемой культуре ткани китайского хомячка меченые и немеченые сестринские хроматиды могут расходиться к полюсам неслучайно ⁽²⁾. В последующих публикациях были приведены новые факты в пользу неслучайного расхождения хроматид в митозе у *Vicia faba* ⁽³⁾, некоторых видов пшениц ^(3, 4), крысы и человека ⁽⁵⁾, а также в прорастающих конидиеспорах *Aspergillus nidulans* ⁽⁶⁾. В работах других авторов подобное явление не было обнаружено ⁽⁷⁻⁹⁾. Следует отметить, что в перечисленных работах имеются существенные методические недостатки, обусловленные подсчетом зерен серебра на сестринских хромосомных комплексах ^(2-6, 9) или же отсутствием правильного учета влияния сестринских межхроматидных обменов ⁽⁷⁾. Последнее исследование представляет для нас особенный интерес, поскольку выполнено на *Vicia faba*. Однако авторы с целью избежать влияния обменов в третьем делении после введения метки учитывали число меченых центромер и «кончиков» (tips) всех 12 хромосом *Vicia faba*. К сожалению, неопределенность размеров указанных частей хромосомы и странным образом равное числу центромер число «кончиков» не позволяют извлечь из указанной работы какой-либо достоверной информации. Поднятый Ларком вопрос еще не решен. Вместе с тем он представляет значительный биологический интерес, поскольку затрагивает проблему взаимной ориентации центромер сестринских хроматид относительно полюсов веретена деления ⁽¹⁰⁾.

Для исследования характера расхождения сестринских хроматид в митозе нами был проведен подсчет числа меченых (полностью или частично) хромосом в третьем делении после длительного введения тимидина-Н³ у *Vicia faba*. Условия эксперимента были описаны ранее ⁽¹¹⁾. Анализ хромосом производили на материале, зафиксированном через 36 (опыт 1) и 40 (опыт 2) час. после окончания введения метки. Закономерности распределения метки на хромосомах позволяли достоверно отличить клетки, вступившие в третье деление, от изредка встречающихся клеток, вступивших во второе деление ⁽¹²⁾.

Ожидалось, что в случае отсутствия обменов число меченых хромосом в третьем делении имеет биномиальное распределение со средней $p = 0,5$ ⁽¹³⁾. Наличие сестринских межхроматидных обменов во втором делении должно изменять параметр бинома до $p = (1 + c) / 2$, где c — доля хромосом с обменами во втором делении. При этом результаты наблюдения дают значения p и c . Последняя величина может быть сравнена с результатами ее независимого непосредственного определения ⁽¹⁴⁾. Экспериментальное распределение можно сравнить с биномиальным при той же средней. Неслучайность расхождения меченых и немеченых сестринских хроматид во втором делении должна привести к тому, что экспериментальное распределение клеток с разным числом меченых хромосом в третьем делении станет смесью двух биномиальных распределений равного объема со средними $p_1 = p + \Delta$ и $p_2 = p - \Delta$, где Δ — величина, зависящая от p и c ; $\Delta \leq 1 - p$.

Результаты подсчета числа меченых хромосом в третьем делении после введения радиоактивной метки приведены на рис. 1. При анализе учитывали только акроцентрические S-хромосомы, так как высокий процент обменов в М-хромосомах ⁽¹⁴⁾ требует выборки слишком большого объема при анализе этой пары.

Поскольку в двух опытах значения p несколько различаются (табл. 1), необходимо было проверить, вызваны ли эти различия возможным появлением в опыте 2 клеток, вступивших в четвертое деление, либо они могут быть объяснены случайными вариациями. Для этого было проведено сравнение двух эмпирических распределений методом χ^2 . Значение $\chi^2 = 3,37$ при $df = 7$ указывает на то, что полученные в двух опытах эмпирические распределения друг от друга достоверно не

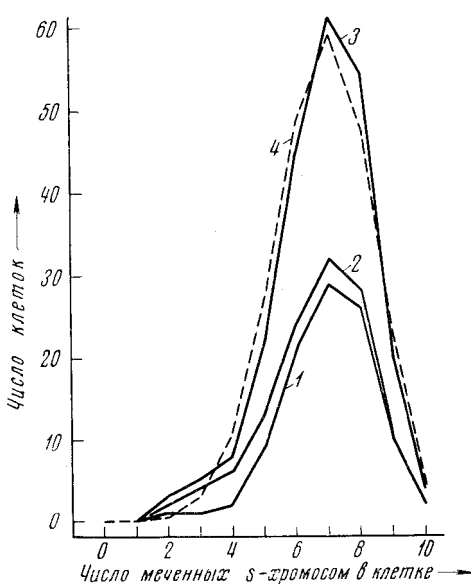


Рис. 1. Распределение частот клеток с различным числом меченых S-хромосом в 3-м делении после длительного введения тимидина-Н³. 1 — опыт 1, 2 — опыт 2, 3 — совокупность двух опытов, 4 — теоретическое распределение при $p = 0,681$

Таблица 1

Результаты сравнения экспериментальных распределений с теоретическими, рассчитанными для $p = 0,681$

	Опыт 1	Опыт 2	Суммарно по опытам 1 и 2		Опыт 1	Опыт 2	Суммарно по опытам 1 и 2
N	101	121	222	χ^2	3,90	10,56	11,26
p	0,698	0,667	0,681	df	7	7	7
c	0,386	0,334	0,362	P	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$

отличаются и, следовательно, могут быть объединены. В суммарном распределении $p = 0,681$, чему соответствует доля хромосом с обменами во втором делении $c = 0,362$.

Рассчитанная частота хромосом с обменами (36,2%) несколько отличается от определенной прямым методом частоты обменов (38,6%) ⁽¹⁴⁾, однако это различие недостоверно.

Все три экспериментальных распределения были сравнены с биномиальным при $p = 0,681$ и $s = 0,326$ (табл. 1). Это показало, что ни одно из них не отличается достоверно от ожидаемого при условии случайности расхождения сестринских хроматид.

Таким образом, при анализе характера распределения меченых хромосом в третьем делении после длительного введения тимидина- H^3 нам не удалось найти подтверждения гипотезы о неслучайном характере сегрегации меченых и немеченых сестринских хроматид во втором делении у *Vicia faba*. Это, конечно, не исключает принципиальной возможности неслучайного расхождения сестринских хроматид у других видов, особенно в тех случаях, когда имеет место соединение хромосом конец-в-конец.

Институт молекулярной биологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
16 VI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. H. Taylor, P. S. Woods, W. T. Hughes, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 43, 122 (1957). ² K. J. Lark, R. A. Consigli, H. C. Minocha, Science, 154, 1202 (1966). ³ K. J. Lark, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 58, 352 (1967). ⁴ K. J. Lark, Genetics, 62, 289 (1969). ⁵ J. H. Priest, R. H. Shikes, J. Cell Biol., 47, 99 (1970). ⁶ R. F. Rosenberger, M. Kessel, J. Bacteriol., 96, 1208 (1968). ⁷ J. A. Heddle, S. Wolff et al., Science, 158, 929 (1967). ⁸ A. Cuevas-Sosa, Nature, 218, 1059 (1968). ⁹ D. E. Comings, Chromosoma, 29, 428 (1970). ¹⁰ P. Luykx, Intern. Rev. Cytol., Suppl. 2 (1970). ¹¹ А. Б. Иорданский, ДАН, 158, 192 (1964). ¹² А. Б. Иорданский, Цитология, 7, 673 (1965). ¹³ E. P. Cronkite, S. W. Greenhouse et al., Nature, 189, 153 (1961). ¹⁴ А. Б. Иорданский, Цитология, 6, 738 (1964).