

Ю. С. ЧЕНЦОВ, В. Ю. ПОЛЯКОВ, В. И. ВАСИН

УЛЬТРАСТРУКТУРА МИТОТИЧЕСКИХ ХРОСОМ НА ТОТАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТАХ ЭНДОСПЕРМА ТЮЛЬПАНА

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 31 VIII 1972)

Проблема общей структурной организации хромосом до сих пор не находит решения. С одной стороны, существует масса исследований, выполненных главным образом с помощью светооптических методов, о субхроматидной организации митотических хромосом (⁶, ⁸, ¹⁰); с другой стороны, есть ряд электронномикроскопических наблюдений выделенных хромосом (⁷), не подтверждающих эти представления. Однако выявить субхроматидную структуру хромосом с помощью электронного микроскопа легко удается при изучении ультратонких срезов (²⁻⁵, ⁹). В предыдущем нашем сообщении на основании изучения ультратонких срезов делящихся клеток самых различных видов растений, а также на основании реконструкции хромосом по серийным срезам был сделан вывод о том, что митотическая хромосома построена из нескольких (более одной) параллельно расположенных и спирализованных субхроматидных элементов (хромонем), образующих полную цилиндрическую структуру хромосомы, где хроматиновый материал расположен по периферии. Поперечные сечения таких хромосом, как при специальной окраске их ацетокармином, так и при обычных методах электронномикроскопического исследования, имеют вид кольцевидных структур. Другой особенностью хромосомной организации, как отмечалось, является замкнутость теломерных участков (²). Эти наблюдения дали возможность создать гипотетическую модель строения митотической хромосомы (рис. 1). В этой модели не все еще является ясным и доказанным, однако она позволяет ставить определенные вопросы и отвечать на них.

Предложенная модель находится в резком несоответствии с наблюдениями над ультраструктурой выделенных хромосом. Так, по наблюдениям ряда авторов (⁷), в составе митотической хромосомы, кроме элементарных фибрилл (200–250 Å), не встречается структур более высокого порядка, таких как субхроматиды или хромонемы, и не наблюдается признаков спиральной укладки каких-либо хромосомных элементов. На наш взгляд, это может объясняться тем, что выделение митотических хромосом в гипотонических растворах без стабилизации их структуры обязательно должно приводить к набуханию хромосом и к резким изменениям их организации. Чтобы избежать этого нами был предложен метод приготовления относительно толстых (около 1–3 μ) срезов с объектов, заключенных в водорастворимые среды. Суть метода заключается в следующем: объекты после фиксации смесью глицеронового альдегида с формалином отмываются водой и переносятся в смесь сахарозы с поливинилпирролидоном; после затверждения этой смеси с заключенными в нее образцами из блоков на ультрамикротоме готовятся толстые (1–3 μ) срезы, которые затем переносятся на каплю воды; при этом заключающая среда полностью растворяется, а структуры, попавшие в срез, распластываются на поверхности мениска воды. Для изучения структуры хромосом нами был использован незрелый эндосперм тюльпана (*Tulipa turkestanica*), который характеризуется большим числом зонально расположенных митозов (¹), что позволяет на одном срезе получить большое число делящихся ядер на раз-

личных стадиях митоза*. Так как толщина хромосом тюльпана меньше толщины среза, то в полученные препараты часто попадают участки или целые хромосомы по всей их толщине, что позволяет изучить их общую структурную организацию в электронном микроскопе, подобно тому, как это делается с выделенными хромосомами. По существу, в нашем случае мы также имеем дело с выделенными хромосомами, но фиксированными *in situ*. Исследование таких тотальных препаратов хромосом проводилось в электронном микроскопе фирмы «Хитачи» NU-12 при ускоряющем напряжении 100 кв. В таких препаратах хорошо выявляются все мембранные компоненты клеток, микротрубочки, рибосомы и пр., а также хромосомы на любой из стадий митоза.

Изучение таких тотальных препаратов делящихся клеток тюльпана в электронном микроскопе позволило подтвердить ранее полученные данные о тонкой организации хромосом. В данном случае на всех фазах митоза, начиная с ранней профазы, в составе хроматид выявляются структуры более низкого порядка, толщиной около 0,3 м, соответствующие субхроматидам или хромонемам. Особое внимание обращалось на строение хромосом в метафазе или анафазе, так как при обычной методике ультратонких срезов субхроматидное строение хромосом на этих стадиях маскируется экстрахромосомным материалом матрикса⁽⁴⁾. На рис. 2 А

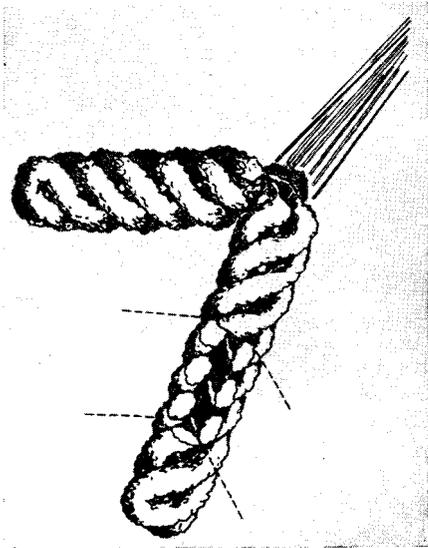


Рис. 1

представлен общий вид хромосом клетки на стадии поздней анафазы, где видны поперечные и продольные сечения хромосом. На поперечных сечениях хромосомы на этих препаратах имеют вид кольчатых структур (*n*), а на продольных сечениях (*np*) в составе хромосом видны субхроматидные единицы (*x.n*). На ряде срезов отчетливо видна периодичность в расположении этих субхроматидных единиц в составе хромосомы, что может говорить о спиральном типе их укладки (рис. 2 Б — Ж). Особенно четко такая периодичность выявляется на срезах с поверхности хромосом (рис. 2 Ж). В некоторых случаях, вероятно, когда просматривается вся или большая часть толщины хромосомы, видны более сложные картины, соответствующие проекции параллельно спирализованных субхроматид в составе хромосомы (рис. 2 Б, Г, Д, Е). При этом видны пересекающиеся под определенным углом субхроматиды, что можно объяснить взаимным наложением проекций субхроматид в толще хромосомы.

Таким образом, при изучении тотальных препаратов хромосом после предварительной их фиксации удалось получить факты, полностью подтверждающие данные предыдущей работы⁽²⁾, и новые данные, говорящие в пользу предложенной гипотезы о строении митотической хромосомы. В настоящем случае на хромосомах тюльпанов мы также наблюдали кольчатые структуры при поперечных сечениях хромосом, видели субхроматидные элементы и спиральный тип их укладки в составе хромосом. Наблюдавшиеся в ряде случаев пересечения хромонемных нитей (рис. 2 Г, Д) соответствуют тем картинам, которые можно получить, просматривая на просвет предложенную модель хромосомы (рис. 1).

* Авторы глубоко признательны Г. Ф. Петровой, предложившей этот объект.

Конечно, приведенных выше наблюдений еще недостаточно, чтобы полностью подтвердить данную модель. Одним из основных вопросов, возникающих при анализе этой хромосомной модели, является вопрос о числе субхроматид в составе хромосомы. Ответить на этот вопрос, как нам представляется, поможет анализ организации теломерных участков хромосом, а также реконструкция строения хромосомы с помощью метода оптической дифракции. Другой, не менее важной задачей является выяснение вопроса о структурной организации субхроматиды (хромонемы). Используемый в данной работе метод уже позволяет вплотную подойти к этому вопросу.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
3 VII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. Ф. Петрова, Бот. журн., **11**, 1622 (1970). ² В. Ю. Поляков, В. И. Васин, Ю. С. Ченцов, Цитология, **11**, 1477 (1969). ³ В. Ю. Поляков, Ю. С. Ченцов, Цитология, **11**, 1079 (1969). ⁴ Ю. С. Ченцов, В. Ю. Поляков, ДАН, **182**, 205 (1968). ⁵ Ю. С. Ченцов, В. Ю. Поляков, ДАН, **189**, 185 (1969). ⁶ A. Bajet, Chromosoma, **17**, 291 (1965). ⁷ E. S. Du Praw, Nature, **209**, 577 (1966). ⁸ V. R. Nebel, Rad. Res., Suppl. **1**, 431 (1959). ⁹ E. Sparvoli, H. Gay, B. P. Kaufmann, Chromosoma, **16**, 415 (1965). ¹⁰ I. E. Trosko, S. Wolff, J. Cell. Biol., **26**, 125 (1965).

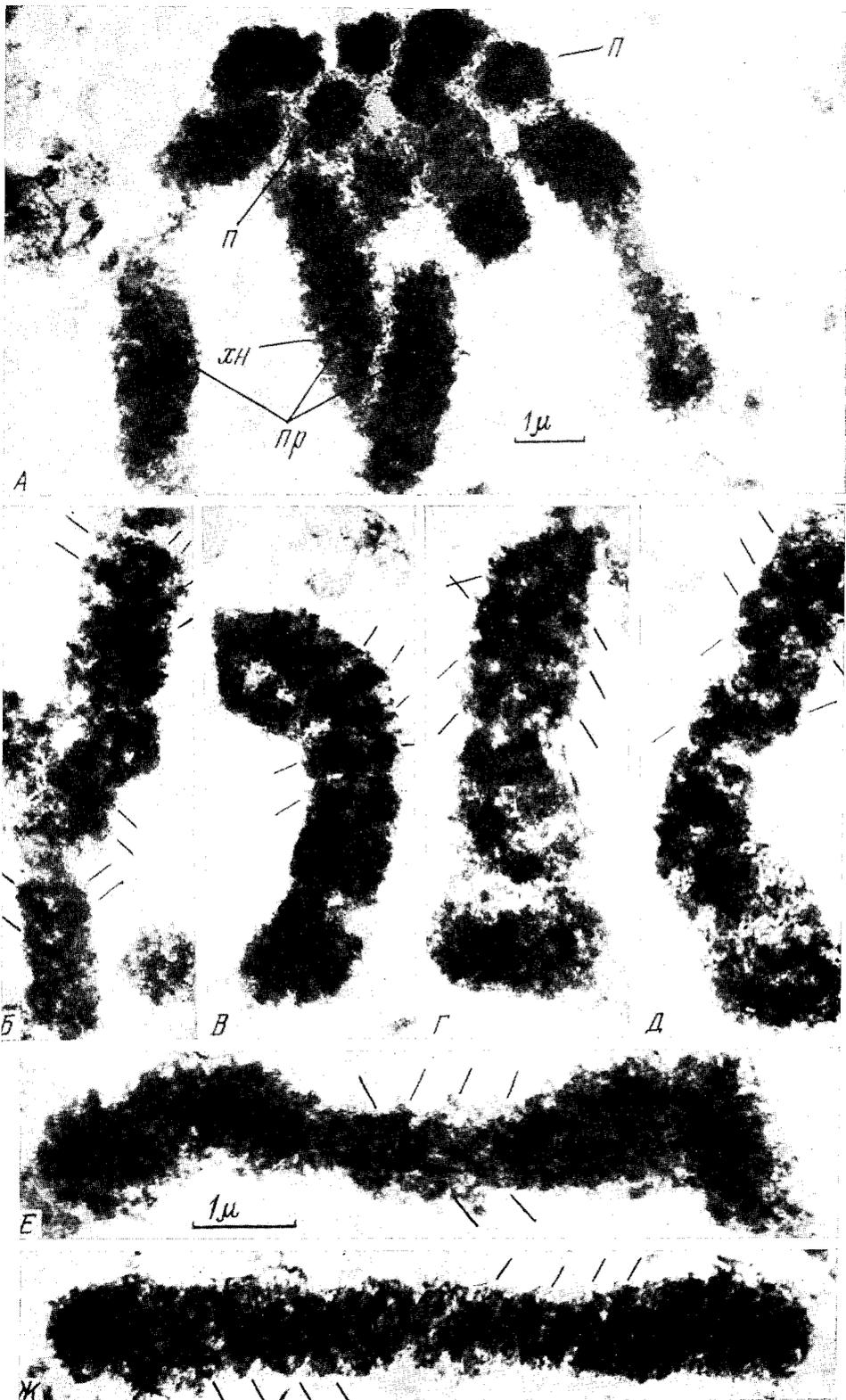


Рис. 2

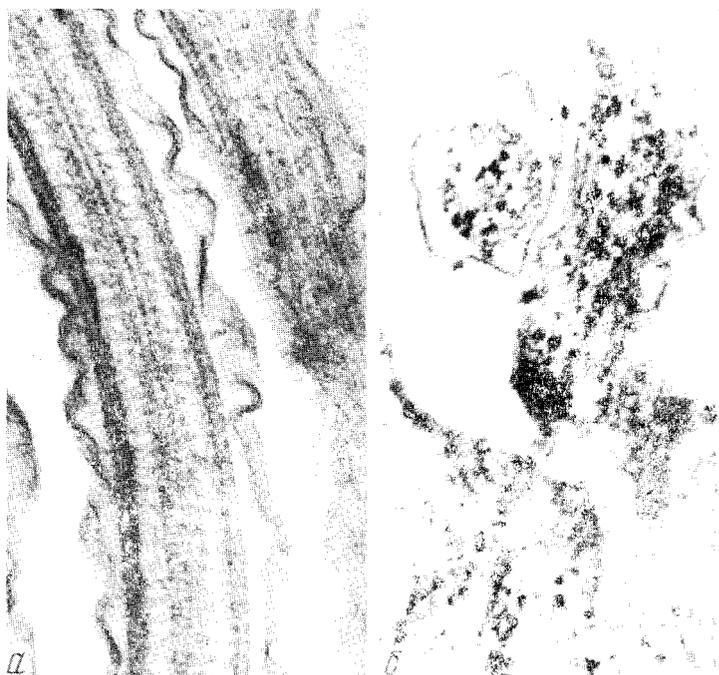


Рис. 1. Реснички *Tetrahymena pyriformis*, предфиксированные глутаровым альдегидом. Продольный срез. *a* — в инкубационной среде ионы Mg. Четко видна вся структура реснички и отложение мельчайших черных точек цепочками вдоль структур фибрилл. По наружным краям центральных фибрилл, особенно в верхнем правом углу средней реснички, видны тонкие связи центральных фибрилл со вторичными фибриллами. *b* — в инкубационной среде ионы Ca. В матрице черные конгломераты — отложение фосфата свинца на месте вышедших из структур макромолекул АТФазы. Слабо просвечивают контуры фибрилл. УЭМ-7А. 90 000×

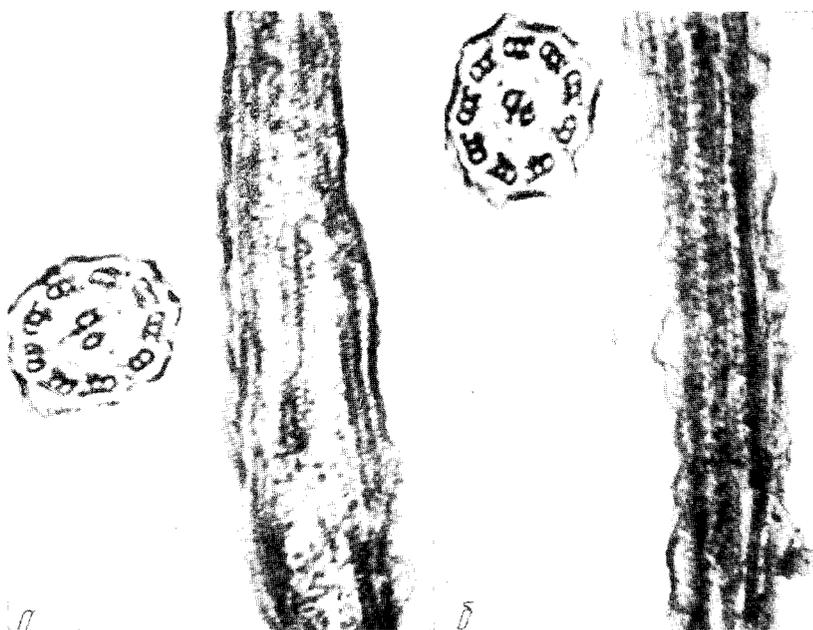


Рис. 2. Реснички, не фиксированные глутаровым альдегидом. *a* — полностью выявляется Са-АТФаза. Вся структура стенок фибрилл и оболочки реснички состоит из Са-АТФазы. *b* — выявление Mg-АТФазы в тех же местах, что и на рис. 1. Рядом поперечный срез через ресничку, видны отложения фосфата свинца по всем контурам субъединиц и оболочке. УЭМ-7А. 90 000×