

Л. В. ДАНИЛОВА

КИНЕТОХОР В СПЕРМАТОГЕНЕЗЕ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 21 XII 1971)

До настоящего времени считается общепризнанным, что хромосомы *Lepidoptera* обладают диффузным кинетохором⁽¹⁰⁾. Однако проведенное электронномикроскопическое изучение мейотического деления в сперматогенезе тутового шелкопряда показало, что в его хромосомах имеется структура, которая должна быть отнесена к типу локализованного кинетохора. Настоящая статья содержит описание ультраструктуры кинетохора на стадии метафазы второго деления созревания сперматоцита.

Для изучения брали семенники диплоидных гусениц самцов тутового шелкопряда в пятом возрасте. Фиксация проводилась 2,5% раствором глутаральдегида в фосфатном буфере в течение 1 часа, после чего семенники нарезались на кусочки и дофиксировались четырехокисью осмия в течение 1 часа, pH 7,2. Кусочки окрашивались 2% раствором уранилацетата в 70° спирте. После обезвоживания в спиртах восходящей концентрации кусочки заключались в араалдит. Ультратонкие срезы готовились при помощи стеклянных ножей на ультратоме LKB Producter 4801 A. Срезы контрастировались цитратом свинца и просматривались в электронном микроскопе JEM-7A.

На ультратонких экваториальных срезах, проходящих через плоскость второй метафазной пластинки, видно, что хромосомы располагаются в пространстве, имеющем очертания круга, в пределах которого часть из них лежит без видимой упорядоченности, тогда как другая часть явно образует ряды и цепи. В плане метафазной пластинки хромосомы расположены строго в плоскости самой пластинки, что хорошо видно на осевых продольных срезах через метафазное веретено. На полюсах в центриольной области располагается по одной центриоли, от которых отходит по одному жгутику. Возникновение последних у тутового шелкопряда происходит в профазе первого мейотического деления, когда на поверхности сперматоцита первого порядка отрастают четыре свободных жгутика. От центриолей веером расходятся микротрубочки в направлении метафазной пластинки, где их расположение приближается почти к параллельному. Среди микротрубочек можно выделить два главных типа, которые были описаны в мейозе и митозе других объектов. 1) Длинные (continuous) микротрубочки, идущие между полюсами. Они проходят через метафазную пластинку в пространстве между хромосомами. 2) Хромосомные или, точнее, кинетохорные микротрубочки, которые идут от полюсов и оканчиваются на поверхности хромосомы в определенном довольно ограниченном участке ее поверхности или в области кинетохора (рис. 1). У тутового шелкопряда, кажется, отсутствуют микротрубочки, которые проходят через вещество хромосом, как это случается у некоторых других объектов, описанных в литературе^(1, 3, 4, 6, 9). Кроме того у тутового шелкопряда наблюдались микротрубочки за пределами метафазной пластинки. Они располагаются среди митохондрий, которые вместе с мелкими пузырьками, появляющимися при разрушении ядерной оболочки, окружают кольцо фигуры деления. Эти микротрубочки тянутся между обоими полюсами (рис. 1 см. вкл. к стр. 470).

В литературе локализованный кинетохор списывается как овальная электронноплотная пластинка, лежащая на поверхности хромосомы и от-

деленная от нее более светлой зоной. На срезах кинетохор выглядит как короткий темный тяж, расположенный параллельно поверхности хромосомы (², ⁴, ⁶, ⁹). На поверхности митотической метафазной хромосомы находится пара сестринских кинетохоров, которые симметрично локализованы на обеих сторонах хромосомы, обращенных к противоположным полюсам. Хромосомный сегмент, лежащий между двумя сестринскими кинетохорами, назван кинетохорной областью (центромера). У тутового шелкопряда на ультратонких срезах кинетохор, как описано в большинстве работ других авторов, представляет собой также более или менее четко выраженный короткий темный тяж, лежащий параллельно поверхности хромосомы и отделенный от нее более светлой зоной. Темный тяж отличается от хромосомы меньшей плотностью и более тонкой фибриллярностью. Следует подчеркнуть, что кинетохор у тутового шелкопряда не отличается четкостью структуры, описанной в митотических хромосомах фибробластов, обработанных винбластинсульфатом (⁵), но очень сходен с кинетохорами, описанными у других объектов (², ⁴, ⁶, ⁹).

В хромосомах, которые располагаются в центре метафазной пластинки, кинетохорные микротрубочки веретена подходят под прямым углом к кинетохорам в виде небольшого пучка, состоящего на срезе из двух-четырех почти параллельно идущих микротрубочек. Центромерная или кинетохорная область хромосомы часто имеет меньший диаметр, чем плечи хромосомы, или, напротив, расширена. Для хромосом, расположенных на краю метафазной пластинки, Джокелайнен (⁴) выделил три морфологических состояния структурного комплекса, образованного двумя сестринскими кинетохорами, промежуточной между ними кинетохорной областью и связанными с ними кинетохорными фибриллами. Он нашел это ультратрунтурное разнообразие в пределах одной клетки и связывает его с функциональным состоянием расходящихся к полюсам хромосом. У тутового шелкопряда обнаружен один из подобных типов в хромосомах, лежащих на краю метафазной пластинки. Он характеризуется тем, что сестринские кинетохоры лежат параллельно друг другу, кинетохорная область слегка расширена. Микротрубочки веретена, подходящие к одному из сестринских кинетохоров, идут параллельно друг другу почти под прямым углом к поверхности кинетохора и хромосомы и только где-то вблизи центриольной области образуют дугу, подходя к центриоли, тогда как микротрубочки, направляющиеся ко второму кинетохору, идут под прямым углом к поверхности кинетохора и метафазной пластинки (рис. 1). Вполне вероятно, что степень наклона кинетохорных нитей веретена и степень сжатия центромерной области связаны с функциональным состоянием расходящихся к полюсам хромосом (хроматид).

Описанные особенности взаимоотношения микротрубочек веретена и хромосом относятся к метафазе второго мейотического деления, которое у тутового шелкопряда напоминает по своему характеру митоз. В настоящее время автор статьи еще не располагает достаточными сведениями об особенностях кинетохора хромосом первого мейотического деления. Однако имеющиеся в распоряжении данные показывают, что в первом делении созревания, которое у изучаемого объекта является редукционным, картина значительно отличается от описанной. Расходящиеся в анафазе к полюсам биваленты образуют длинные тонкие отростки — хиазмы. Эти тонкие заостряющиеся на концах отростки хроматина прилегают к микротрубочкам веретена или тянутся параллельно последним. Такие же особенности поведения бивалентов в первом редукционном делении были найдены у других объектов (⁶, ¹⁰). Структура диффузного кинетохора была описана электронномикроскопически у *Rhodnius prolixus* (³). В эпидермальных клетках *R. prolixus* диффузный кинетохор имеет на срезах вид плотного тяжа, который располагается вдоль значительной части поверхности хромосомы и отделен от нее светлым пространством. Диффузный кинетохор построен из такого же электроноплотного мате-

унала, что и локализованный кинетохор. Но, в отличие от последнего, диффузный занимает значительно большую часть поверхности хромосомы. Как известно, наличие диффузного кинетохора проявляется в том, что: 1) хромосомы двигаются к полюсам, сохраняя параллельность расположения, т. е. как если бы они прикреплялись к полюсам по всей длине или по большей ее части; 2) при разрывах хромосом оба фрагмента сохраняют способность прикрепляться к полюсам (⁷). У тутового шелкопряда кинетохорная область занимает лишь часть поверхности хромосомы, к которой в виде небольшого пучка подходят микротрубочки веретена. Структура кинетохора тутового шелкопряда чрезвычайно похожа на ту, которую исследователи описывают у других видов как тип локализованного кинетохора (^{2, 4, 6, 8, 9, 11}). Но вместе с тем у тутового шелкопряда хромосомы в мета- и анафазе представляют собой относительно короткие, толстые, практические округлые образования. Измерения размеров нескольких хромосом и их кинетохоров показывают, что диаметр кинетохора равен приблизительно 2500 Å, т. е. близок к размерам кинетохоров, описанных другими исследователями (⁴), и при этом он составляет приблизительно третью или четвертую часть поверхности хромосомы на сагиттальных срезах. Естественно, что при таких условиях он, сохраняя морфологическое сходство с локализованным кинетохором, будет проявлять себя подобно диффузному кинетохору, если при фрагментации хромосом попадает в каждый фрагмент по частице кинетохора.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
15 XII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. Behnke, A. Forer, *Com. Rend. Lab. Carlsberg*, **38**, 19, 437 (1966). ² B. R. Brinkley, E. Stubblefield et al., *J. Ultrastr. Res.*, **19**, 1, 1 (1967). ³ R. C. Buck, *J. Ultrastr. Res.*, **18**, 4, 489 (1967). ⁴ P. T. Jokelainen, *J. Ultrastr. Res.*, **19**, 1, 19 (1967). ⁵ A. Krishan, *J. Ultrastr. Res.*, **23**, 1, 134 (1968). ⁶ A. Krishan, R. C. Buck, *J. Ultrastr. Res.*, **13**, 5—6, 444 (1965). ⁷ D. Mazia, *Mitosis and the Physiology of Cell Division*, 1961. ⁸ B. R. Nebel, E. M. Coulon, **13**, 3, 272 (1962). ⁹ E. Robbins, H. K. Gonates, *J. Cell. Biol.*, **21**, 3, 429 (1964). ¹⁰ E. Suomalainen, *Hereditas*, **39**, 1, 88 (1953). ¹¹ R. Wettstein, J. R. Sotelo, *J. Ultrastr. Res.*, **13**, 3—4, 367 (1965).