

М. А. МОНАХОВА, З. Г. СТЕПЕ

КОЛХИЦИН И ЦЕНТРОМЕРНОЕ КОЛЬЦО

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 17 VII 1975)

Фигуры метафазной звезды, описанные в многочисленных исследованиях животных клеток (¹) в последнее время вновь привлекают внимание исследователей в связи с механизмами упорядоченной пространственной организации хромосом в клеточном цикле. Явление дезориентации хромосом в К-митозах послужило основанием для широко распространенного мнения о том, что микротрубки веретена играют решающую роль в поддержании пространственной сгруппированности метафазных хромосом (⁶).

Однако в ряде исследований с применением щадящих методик приготовления препаратов было показано, что целостность системы метафазной звезды определяется тем, что центромерные районы хромосом прочно ассоциированы между собой посредством фэльгенположительных нитей, которые при исследовании в световом и электронном микроскопе не отличимы от нитей хромосом (^{2-4, 9}). Система ассоциаций ориентированных центромерных районов хромосом получила название «центромерного кольца» (⁵).

Вопрос о природе межхромосомных ассоциаций, поддерживающих целостность центромерного кольца, остается еще дискуссионным; не исключена возможность, что она определяется не только фибриллами ДНП, но и мембранными элементами ядерной оболочки (⁵).

Целью настоящего исследования является изучение поведения системы центромерного кольца в колхицинированных митозах в световом и электронном микроскопе для выяснения относительной роли клеточного веретена и межхромосомных связей в поддержании целостности системы «центромерного кольца».

Материалом исследования служили сперматогонияльные клетки лабораторной мыши и *Chorthippus biguttules*, в которых ранее нами было описано центромерное кольцо (^{2, 3}).

Животным внутрибрюшинно вводили колхицин (0,02% на 0,6% NaCl) 20-граммовым мышам по 0,5 мл, двукратно с интервалом 1,5 часа, а *Chorthippus biguttules* по 0,2 мл. Мышей забивали через 2,5 часа, *Chorthippus biguttules* через 1, 2, 3, 6 часов после введения колхицина. Для световой микроскопии семенники фиксировали 96° спиртом и ледяной уксусной кислотой (3:1), окрашивали ацетоорсеином и по Фэльгену. Препараты готовили легким раздавливанием в 45% уксусной кислоте. Контрольным материалом служили ранее приведенные исследования неколхицинированных животных.

Электронно-микроскопические исследования проводили на сперматогониях мышей, обработанных колхицином. Материал подвергали двойной фиксации (4% забуференный глютаральдегид с дофиксацией 1% OsO₄) по стандартной методике и заливали в эпон. Контрастировали 2% уранил-ацетатом, приготовленным на 70° спирте и уксуснокислым свинцом. Срезы просматривали в микроскопе «Hitachi» 11-B.

Анализу подвергали метафазы сперматогоний и метафазы II мейоза, а также группировки хромосом анафазы II.

Как правило, при действии колхицином прежде всего обращает на себя внимание нарушение четкого периферического расположения хромосом в системе «центромерного кольца» в метафазе сперматогоний и метафазе II мейоза. На препаратах, приготовленных методом раздавливания, метафазные группировки хромосом вместо обычных концентрических прини-

мают вытянутую неправильную форму (рис. 1). Однако целостность системы в первые часы обработки колхицином сохраняется, заметны межхромосомные фельгенположительные фибриллы, соединяющие центромерные районы хромосом. При больших сроках воздействия колхицином можно наблюдать нарушение системы центромерного кольца и ее распад на микроассоциации по несколько хромосом или отдельные хромосомы (рис. 2, 3). Анафазные группировки в первый час воздействия колхицином

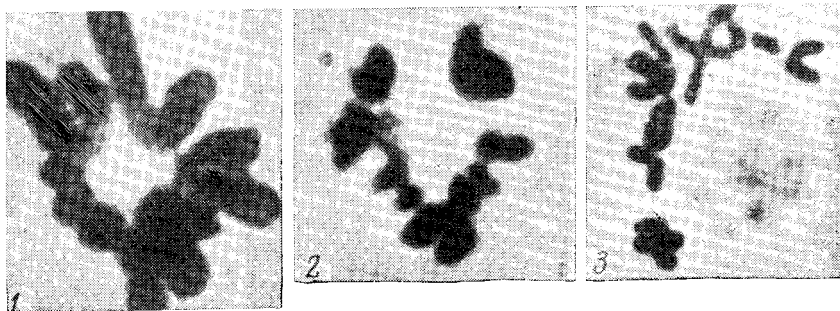


Рис. 1. Центромерное кольцо в половых клетках *Chorthippus biguttatus*. 1 — без обработки колхицином (метафаза II), 2 — обработка колхицином в течение 4 час., 3 — в течение 6 час. (распад метафазной пластинки на отдельные хромосомы)

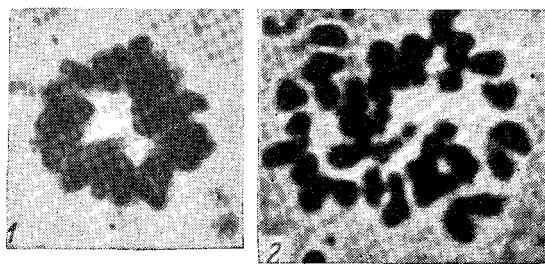


Рис. 2. Центромерное кольцо в сперматогониях мыши. 1 — без обработки колхицином; 2 — после трехчасовой обработки колхицином

в большинстве случаев сохраняют полярную сгруппированность хромосом и их концентрическое расположение с ориентацией центромерных районов в центр плоскости. Между отдельными центромерными районами удается разглядеть межхромосомные фибриллы (рис. 3, 1, 2).

Электронно-микроскопические исследования картин колхицинированных митозов не обнаруживают нарушения системы межцентромерных фибрилл «центромерного кольца»: хорошо видно, что сгруппированные центромерные районы метафазных хромосом связаны многочисленными пучками фибрилл, не отличимых от хромосомных. Интересно, что эта связь касается не только центромерных районов, но и отдельных интерстициальных участков хромосом. Микротрубочки веретена при этом оказываются дезориентированными (рис. 4).

Таким образом, в первые часы после воздействия колхицина часто наблюдается нарушение центрического расположения хромосом, однако целостность системы «центромерного кольца» сохраняется, более длительные сроки обработки колхицином приводят к фрагментации этой системы и ее распаду на микроассоциации и дезориентации хромосом.

На основании всего изложенного мы полагаем, что сгруппированность метафазных хромосом по окружности определяется главным образом целостностью цилиндрической системы микротрубочек клеточного веретена, которая в виде плотного каркаса проходит в центре метафазной пластин-

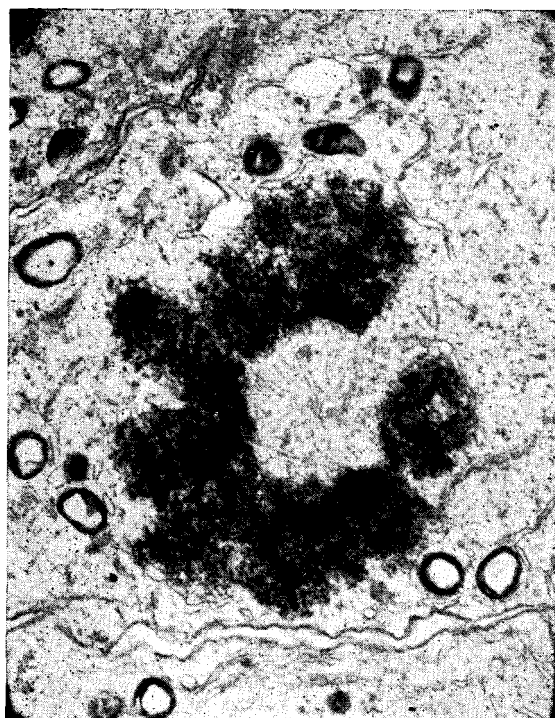


Рис. 4. Электронно-микроскопическое изображение фрагмента центромерного кольца в половых клетках мыши (сперматогонии). Обработка колхицином 3 часа. Двойное контрастирование, заливка в эпон. 15 000×

ки. Поэтому разрушение нитей веретена с помощью колхицина в первую очередь приводит к дезориентации фигуры типичной метафазной звезды хромосом. Разрушение веретена, вероятно, увеличивает лабильность системы «центромерного кольца», позволяя ей принимать различные конфигурации, а также делает ее более чувствительной к механическим воздействиям. Следствием этого является ее фрагментация на отдельные звенья. Отсюда следует, что колхициновый эффект, связанный с дезориентацией

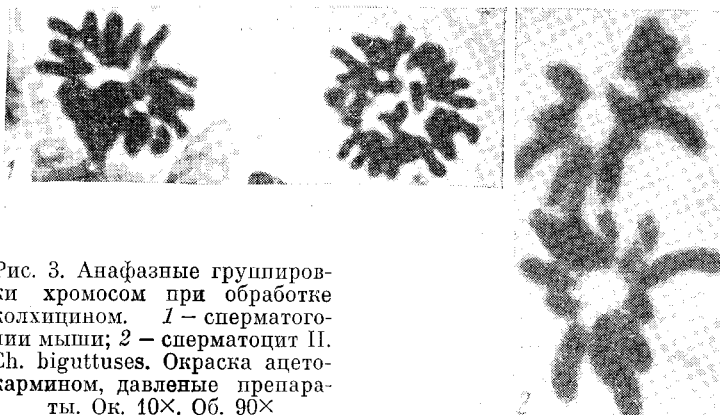


Рис. 3. Анафазные группировки хромосом при обработке колхицином. 1 — сперматогонии мыши; 2 — сперматокит II. *Ch. biguttatus*. Окраска ацетокарином, давленные препараты. Ок. 10×. Об. 90×

хромосом, будет определяться степенью развития веретена в момент обработки. Именно этим, вероятно, можно объяснить разнообразие описываемых картин К-митозов.

Анафазные группировки хромосом в большинстве случаев оказываются более устойчивыми к воздействию колхицина, что вероятно, связано с максимальной сгруппированностью хромосом и независимостью их пространственного расположения от веретена. Принимая во внимание, что в поддержании межхромосомных ассоциаций могут принимать участие не только фибриллы ДНП, но и «неоцентрические фибриллы», сходные по морфологии с микротрубочками веретена (⁷), а также мембранные элементы ядерной оболочки (⁸), при интерпретации результатов следует учитывать способность колхицина связываться не только с микротрубочками веретена, но и с другими мембранными компонентами клетки (¹⁰). В связи с этим нельзя исключить возможности, дезориентации хромосом в К-митозах за счет разрушения мембранных компонентов системы «центромерного кольца», приводящего к его фрагментации.

Таким образом, дезориентация хромосом в К-митозах в первые часы в большинстве случаев не сопровождается разрушением центромерных ассоциаций и, по-видимому, главным образом связана с разрушением веретена деления. Фрагментация центромерного кольца происходит при длительном воздействии колхицином и, вероятно, связана с увеличением его лабильности. Не исключена возможность, что на этих сроках происходит нарушение мембранных компонентов центромерного кольца.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
17 VII 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Э. Вильсон, В кн.: Клетка и ее роль в развитии наследственности, М.—Л., 1936, стр. 494. ² М. А. Монахова, ДАН, т. 213, 205 (1973). ³ М. А. Монахова, А. Н. Мосолов, З. Г. Степне, Матер. 1-ой научной конф. Тбилисс. гос. мед. ин-та по цитогенетике человека, 1974, стр. 16. ⁴ М. А. Монахова, З. Г. Степне, Цитология и генетика, № 9, 45 (1975). ⁵ А. Н. Мосолов, ДАН, т. 212, 483 (1973). ⁶ L. Avivi, M. Feldman, W. Bushuk, Genetics, v. 62, 745 (1969). ⁷ A. Bayer, Chromosoma, v. 25, 249 (1968). ⁸ D. E. Comings, T. A. Okada, Exp. Cell Res., v. 63, 62 (1970). ⁹ J. Du Praw, In: DNA and Chromosomes, N. Y., 1970, p. 186. ¹⁰ F. Wunderlich, H. G. Heumann, Cytobiologia, v. 1, 140 (1970).