

ДЕЙСТВИЕ АЛКИЛИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ХРОМОСОМЫ *CREPIS CAPILLARIS* L.

Одно из центральных мест в теории мутаций занимает вопрос о времени действия химических мутагенов по отношению к фазам клеточного цикла. Подводя итоги на сегодняшний день, следует сказать, что большинство исследователей связывает действие таких веществ, как алкилирующие соединения, с фазой репликации ДНК. Сторонники теории потенциальных изменений говорят о реализации их в фазе синтеза. Авторы, придерживающиеся альтернативного мнения, утверждают, что химические мутагены за исключением «истинных радиомиметиков» в понимании А. Лавлеса [1], взаимодействуют с ДНК исключительно в период ее репликации.

За последние годы вопрос о времени действия химических мутагенов еще более заострился благодаря ряду появившихся исследований [2—6], ставящих под сомнение один из основных фактов, на который опирались сторонники обеих упомянутых гипотез. В этих исследованиях при действии алкилирующими мутагенами на предсинтетическую фазу клеточного цикла были получены aberrации хромосомного типа.

Одной из задач настоящей работы было определение спектра aberrаций хромосом при действии на сухие семена *C. capillaris* L., все клетки которых находятся в фазе G_1 [7, 8], нитрозометилмочевины и бифункционального иприта (HN2).

В отношении цитогенетической активности этой и других нитроалкилмочевин ранее имелись лишь данные о их способности вызывать перестройки хромосом. Изучение закономерностей мутагенного действия НММ представляло также интерес в связи с их высокой генетической активностью на высших и низших организмах, что нашло применение в мутационной селекции сельскохозяйственных растений и микроорганизмах, а также в связи с их противоопухолевой активностью.

Мутагенное действие иприта впервые было показано Ауэрбах и Робсоном [9, 10] на *Drosophilla melanogaster*.

В их опытах видимые мутации появились даже через десятки клеточных поколений, включая два оплодотворения.

Дарлингтон и Коллер [11] обнаружили, что иприт вызывает хромосомные aberrации в клетках пыльников *T. radescantia*.

Форд [12] при действии на корешки *V. faba* обнаружил хроматидные aberrации, которые появляются в течение 8—10 часов после обработки ипритом (HN2). Аналогичные данные на том же объекте получили Ивенс и Скотт (цит. по Lovelless), а также Ригер и Михаелис [13] при действии триэтиленмеламином и азотистым ипритом (HN2).

В наших опытах сухие семена *C. capillaris* обрабатывали в течение 2 часов $1,5 \cdot 10^{-2}$ М растворами НММ и $3 \cdot 10^{-4}$ М HN2. После обра-

ботки семян в течение 30 минут промывали водопроводной водой и ставили для проращивания в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную 0,01%-ным колхицином. Проращивали семена в термостате при 25°. Фиксацию проводили в уксуснокислом спирте (1:3).

Анализ хромосомных aberrаций проводили в первом митозе в метафазе на временных ацетокарминовых препаратах.

Данные по естественному мутированию хромосом в свежих семенах *S. capillaris* показывают, что уровень мутирования клеток урожая 1970 г. составлял 0,11%. Все перестройки хромосом, найденные в контрольном материале, были хроматидного типа.

При действии НММ и бифункционального иприта (HN2) на сухие семена *S. capillaris* была установлена высокая эффективность этих мутагенов в отношении индукции структурных мутаций хромосом. Данные табл. 1 показывают, что при действии НММ и бифункционального иприта (HN2) хроматидные aberrации составляют 95,2%. Примерно половина всех перестроек представлена изохроматидными делециями. Второе место по частоте встречаемости занимают хроматидные делеции, симметричные, асимметричные транслокации и межхроматидные обмены.

Таблица 1

Уровень мутирования клеток при действии нитрозометилмочевины (НММ) и азотистого иприта (HN2) на сухие семена *crepis capillaris* L. в %

Концентрация мутагена	Сроки фиксации от начала мутации	Число просмотренных метафаз	Метафазы с aberrациями	Количество aberrаций	Перестройки	
					хроматидные	хромосомные
Контроль	34—38	3508	0,11±0,05	0,11±0,05	4	—
НММ $1,6 \cdot 10^{-2}$	56—106	1200	38,7 ± 1,40	43,8 ± 1,44	95,2±0,94	1,2±0,45
HN2 $3 \cdot 10^{-4}$	38—74	2483	29,5 ± 0,89	33,2 ± 0,94	95,2±0,74	0,4±0,21

При действии обоих мутагенов отмечено появление перестроек хромосомного типа. В концентрации $1,5 \cdot 10^{-2}$ М НММ хромосомные aberrации (асимметричные и симметричные обмены) составляют 1,2%, а в концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ М HN2 хромосомные перестройки составляли 0,4%.

Учитывая, что в контроле при анализе 3508 метафаз не обнаружено хромосомных перестроек, следует признать, что они возникают в результате действия НММ и HN2 на хромосомы *S. capillaris* в фазе G_1 митотического цикла.

Таким образом, показано, что алкилирующие агенты—НММ и HN2, способны вызывать эффективные разрывы хромосом в результате взаимодействия с хромосомами еще до их репродукции. Возникновение значительного количества хроматидных перестроек, образующихся в фазе S-митотического цикла, имеет два объяснения:

1. Мутаген вступает в реакцию с предшественниками ДНК или другими метаболитами клетки и образует в этом случае вторичные мутагены, вызывающие разрывы в фазе S.

2. Мутаген непосредственно реагирует с хромосомами в фазе G_1 митотического цикла, в результате чего возникают потенциальные изменения, реализующиеся в истинные разрывы хромосом в момент их ауторепродукции.

Последнее представляется нам наиболее вероятным, ибо позволяет объяснить появление эффективных разрывов хромосом в фазе G_1 митотического цикла. Таким образом, данные наших экспериментов показывают, что алкилирующие агенты вызывают разрывы хромосом еще до их репродукции, и наличие большого количества хроматидных перестроек объясняется тем, что возникают потенциальные разрывы хромосом в фазе G_1 клеточного цикла, реализация которых происходит в фазе S-митотического цикла.

Из изложенного материала следует, что алкилирующие агенты способны вызывать разрывы хромосом независимо от синтеза ДНК и что первичные повреждения этих агентов вызывают появление потенциальных разрывов, реализация которых в истинные мутации связана с метаболизмом клетки.

Ռ. Ա. ԱԶԱՅԱՆ

ԱԿԱԼԻԱԿԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ
CREPIS CAPILLARIS L. ՔՐՈՄՈՍՈՄՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ ֆ ո լ ո լ ո լ

Փորձի տվյալները ցույց են տալիս, որ ալկալիական նյութերն անհիմա և են առաջացնելու բրոմոսուլֆոնատների կարվածքներ՝ անկախ ԳՆԹ-ի սինթեզի և այս նյութերի առաջնային փոփոխությունները առաջ են բերում պոտենցիալ կարվածքներ, որոնց տեսանելի մուտացիայի վերածվելը կապված է բջջի մետաբոլիզմի հետ:

R. A. AZATYAN

EFFECT OF ALCALIC SUBSTANCES ON CREPIS CAPILLARIS L.
CHROMOSOMES

Summary

The data obtained by the experiment have shown that alcalic substances are capable of inducing sections of chromosomes independently of the DNT synthesis, and the primary changes of these substances bring forth potential sections which can be turned into visible mutation in accordance with the metabolism of the cell.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Loveless A. Genetic and allied effects of alkylating agents. London, 1966.
2. Ramanna M. S., Natarajan A. T. Studies on the relative mutagenic efficiency of alkylating agents under different conditions of treatment Ind. J. Genetics. 25, 1, 24, 1965.
3. Rao R. N., Natarajan A. T., Mutagenicity of some alkyl methane sulfonates in barley. Mutat. Res., 2, № 2, 132, 1965.
4. Moutschen J., Degraeve M. N. Influence of thio inhibiting on the of ethylmethane sulphinate (EMS) on chromosomes. Experientia, XXI, 7, 200, 1965.

5. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. Доказательство поражения хромосом алкилирующими соединениями в предсинтетической фазе клеточного цикла. ДАН СССР, 174, № 6, 1223, 1967.
6. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. Новое в действии алкилирующих соединений на мутации хромосом. «Генетика», № 2, 3, 1968.
7. Sire M. W., Nilan P. A. The relation of oxygen posttreatment and heterochromatization to x-ray induced chromosome aberration frequencies in *crepis capillaris*. Genetics, 44, 124, 1959.
8. Немцева А. С. Последствие быстрых нейтронов в семенах *Crepis capillaris*. «Радиобиология», 5, 1, 126, 1965.
9. Auerbach C., Robson I. M. Production of mutations by Allyl isothiocyanate. „Nature“, 154, 81, 1944.
10. Auerbach C. Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh B. 62, 211, 1946.
11. Darlington C. D., Koller P. C. The chemical breakage of chromosomes. Heredity, 1, 187, 1947.
12. Ford C. E. Chromosome breakage in Nitrogen mustard treated *Vicia faba* Root-tip cells. Proc. VIII int. conf. genet. Hereditas, suppl., P. 570 (Abstract), 1949.
13. Rieger R., Michaelis A. On the Time Period During Which chemical induced chromatid Breaks are Available for Interaction. Exptl. cell Res. 31, 202, 1963.