

МОДИФИКАЦИЯ ПЕРЕСТРОЕК ХРОМОСОМ АДЕНОЗИНДЕЗОКСИ-
 СИРИБОЗИДОМ, ИНДУЦИРОВАННЫХ АЗОТИСТЫМ
 ИПРИТОМ В КЛЕТКАХ CREPIS CAPILLARIS

А. З. ВОСКАНЯН

Выявлены некоторые особенности мутагенного и модифицирующего эффекта аденозиндезоксисирибозида (АДР). В стадии G_1 АДР неэффективен, в стадии S обладал наибольшей эффективностью как мутаген и модификатор химического мутагенеза. Обработка в стадии G_2 после воздействия азотистым ипритом способствовала снижению числа изолюкусных разрывов с соединениями и увеличению таковых без соединений.

Одним из путей всестороннего исследования процессов, происходящих в клетке, в частности в хромосоме, является изучение комбинированного действия мутагенов или модификаторов [1, 2]. В качестве модификаторов могут служить ингибиторы синтеза ДНК, которые повышают мутагенный эффект.

В настоящей работе в качестве мутагена использован бифункциональный азотистый иприт (HN_2) — алкилирующий агент с небольшим периодом полураспада в водной среде.

Цель данной работы заключалась в изучении специфики модифицирующего эффекта ингибитора синтеза ДНК дезоксиаденозина (АДР) в различных фазах митотического цикла клетки.

Материал и методика. Эксперименты проведены на *C. capillaris*, продолжительность G_1 , S и G_2 фаз в клетках корешков которого установлена ранее [3].

В первом варианте опыта семена замачивались $3 \cdot 10^{-4}$ М HN_2 в течение двух часов, затем промывались и часть их подвергалась воздействию $2 \cdot 10^{-3}$ М АДР в течение двух часов, т. е. клетки обрабатывались в фазе G_1 . Далее семена промывались и помещались в термостат (26°). Для изучения воздействия АДР на клетки в фазе S их обрабатывали АДР через 20 час. от начала замачивания в HN_2 , а в фазе G_2 — через 24 часа.

Во втором варианте опыта проростки в течение часа обрабатывались $3 \cdot 10^{-4}$ М HN_2 в фазе S через 20 час. от начала замачивания в отстойной воде. После промывания переносились в $3 \cdot 10^{-4}$ М раствор АДР в фазе G_2 . Время нахождения проростков в фазах S и G_2 — 2 часа.

Фиксацию проводили через 26 час. от начала замачивания в спиртукусной кислоте (Э:1). Препараты анализировались в стадии метафазы.

Схемы экспериментов представлены на рис. 1 и 2.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных табл. 1, при кратковременном воздействии АДР на клетки мутагенный эффект на хромосомы в фазе G_1 отсутствует. При воздействии в фазе S АДР приводит к множественной фрагментации и в некоторых случаях даже к пульве-

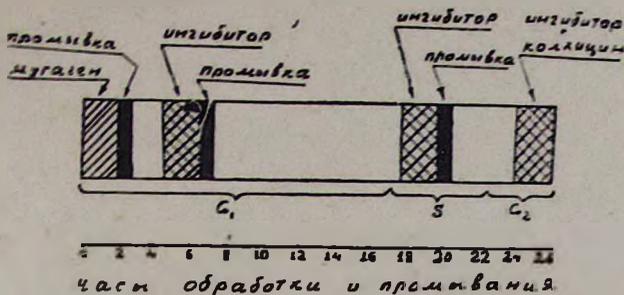


Рис. 1. Схема опыта по изучению модифицирующего эффекта дезоксиаденозина в фазах G_1 , S и G_2 при действии азотистого иприта в фазе G_1 .

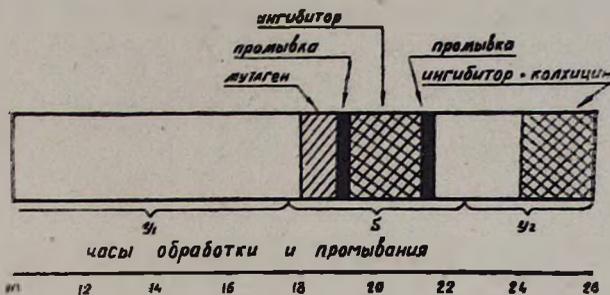


Рис. 2. Схема опыта по изучению модифицирующего эффекта дезоксиаденозина в фазах S и G_2 при действии азотистого иприта в фазе S.

ризации хромосом. Он индуцирует в основном появление хроматидных делений и изолюкусных разрывов без соединения фрагментов. В фазе G_2 индуцирует такие же перестройки, но здесь он менее эффективен.

При обработке семян азотистым ипритом в фазе G_1 с последующей модификацией АДР в S и G_2 наблюдается почти та же картина. Сенсибилизирующий эффект его был четким в фазе S, отсутствовал в G_1 и почти не обнаруживался в G_2 .

Значительный интерес представляют данные, касающиеся модификации мутагенного эффекта в фазах S и G_2 (табл. 2).

АДР подавляет образование перестроек с соединениями (Upd, UpNUd, UdNUp), но значительно увеличивает общий выход хромосомных нарушений. Здесь следует отметить, что при обработке HN_2 в фазе S он обладает наибольшей эффективностью. Это, по-видимому, обусловлено близостью моментов воздействия на клетку HN_2 и АДР в стадии S.

Из данных литературы известно, что дезоксиинуклеозидтрифосфаты являются предшественниками репаративного синтеза [4], следовательно, нарушение их синтеза должно привести прежде всего к подавлению репаративного синтеза ДНК.

АДР был активен в S-фазе, что можно объяснить торможением репаративного синтеза при продолжающемся репликативном синтезе. Прохождение процесса репликации через поврежденный участок, со-

Таблица 1

Перестройки хромосом, возникающие при обработке азотистым ипритом клеток в фазе G₁ с последующей модификацией АДР (2·10⁻³ М) в G₁-, S- и G₂-фазах

Варианты опыта	Число изученных метафаз	Число клеток с перестройками, %	Число перестроек на 100 клеток			
			хроматидные разрывы	изолюкусные разрывы с соединениями и транслокациями	изолюкусные разрывы без соединений концов	общее число перестроек
HN ₂ в G ₁	537	12,5±1,47	9,6±1,26	3,0±0,7	2,2±0,63	15,3±1,4
HN ₂ + АДР в G ₁	300	15,7±2,1	11,0±1,8	2,7±0,8	2,7±0,9	16,6±2,2
HN ₂ + АДР в S	201	29,5±3,3	34,5±3,2	3,5±0,9	5,5±1,7	34,5±3,6
HN ₂ + АДР в G ₂	300	15,3±2,1	11,0±1,8	1,0±0,6	5,6±1,3	16,6±2,2
— АДР в G ₁	1200	0,2±0,2	0,2±0,2	0	0	0,2±0,3
— АДР в S	335	7,1±1,3	5,4±1,2	0,3±0,3	2,3±0,8	7,9±1,4
— АДР в G ₂	830	5,9±0,8	2,9±0,6	0,7±0,4	2,9±0,6	6,4±0,9
Контроль	2197	0,02±0,01	0,02±0,01	0	0	0,02±0,01

Таблица 2

Перестройки хромосом, возникающие при обработке азотистым ипритом клеток в фазе S с последующей модификацией АДР (2·10⁻³ М) в S- и G₂-фазах

Варианты опыта	Число изученных метафаз	Число клеток с перестройками, %	Число перестроек на 100 клеток			
			хроматидные разрывы	изолюкусные разрывы с соединениями и транслокациями	изолюкусные разрывы без соединений концов	общее число перестроек
HN ₂ в S	320	9,6±1,65	6,2±1,36	2,5±0,2	0,62±0,1	10,3±1,7
HN ₂ + АДР в S	290	18,3±2,27	18,3±2,3	0	2,7±0,3	23,7±2,7
HN ₂ + АДР в G ₂	230	13,8±2,28	10,4±2,02	0	2,6±0,11	15,2±2,36
— АДР в S	338	7,3±1,3	5,2±1,3	0,1±0,1	1,9±0,7	7,8±1,7
— АДР в G ₂	828	6,0±0,8	2,7±0,7	0,7±0,2	2,8±0,7	6,3±0,9
Контроль	1608	0,5±0,02	0,4±0,3	0	0,06	0,5±0,03

держаний брешь, создает разрыв в обеих нитях комплементарных цепочек ДНК.

Действие АДР в фазе G_2 после обработки HN_2 в фазах G_1 и S проявляется в основном в увеличении числа неслившихся фрагментов. Объяснить это можно с позиции гипотезы обмена [5, 6], предполагающей слияние на базе гибридизации ступенчатых концов ДНК и прохождения кроссинговерного синтеза ДНК, сшивающего объединенные фрагменты. Присутствие АДР в фазе G_2 в момент реализации перестроек механизмом обменного характера должно привести к подавлению кроссинговерного синтеза ДНК и к фрагментации хромосом, которая наблюдается в наших исследованиях.

Таким образом, АДР в S- и G_2 -фазах митотического цикла вызывает фрагментацию хромосом, в G_1 не эффективен. В G_2 он менее эффективен, чем в S. В фазе G_2 АДР приводит к появлению хроматидных и изолюкусных разрывов без соединения фрагментов, что является результатом подавления кроссинговерного синтеза ДНК при сестринских межхроматидных обменах. А большое количество aberrаций типа фрагментов в фазе S возникает в результате торможения репаративного синтеза ДНК.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 3.II 1978 г.

CREPIS CAPILLARIS-ի ԲՋԻՋՆԵՐՈՒՄ ԱԶՈՏԱՅԻՆ
ԻՊԵՐԻՏՈՎ ՄԱԿԱԾՎԱԾ ՔՐՈՄՈՍՈՄՄԱՅԻՆ ԽԱՔԱՐՈՒՄՆԵՐԻ
ՄՈՒԿՆԻԿԱՅԻԱՆ ԱԴԵՆՈՋԻՆԵԶՕՔՍԻՌԻԲՈՋԻՏԻՎ

Ա. Չ. ՈՍԿԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրված է HN_2 էֆեկտի մոդիֆիկացիան ԴՆԹ սինթեզի արգելակիչ՝ ադենոզինդեզօքսիտիբոզիդով *Crepis capillaris*-ի քրոմոսոմների վրա:

Պարզվել է, որ ԱԴՐ ադոզեցուծյամբ առաջանում են քրոմոսոմային խաթարումներ բջջի միտոտիկ ցիկլի S և G_2 -փուլերում:

Խաթարումները արտահայտվում են քրոմատիդների բազմակի անդամահատումով և փոշիացմամբ: Սակայն, նշենք, որ G_2 -փուլում ոչ-միացյալ ախպի իդոքրոմատիդային խաթարումները մյուս տիպերի համեմատությամբ ավելի շատ են:

MODIFICATION OF CHROMOSOME ABERRATIONS
BY ADENOSINE-DESOXYRIBOSIDE, INDUCED BY NITROGENOUS
YPERITE IN CREPIS CAPILLARIS CELLS

A. Z. VOSKANIAN

The modifications of the effect of HN_2 in *Crepis capillaris* by AdR, an inhibitor of DNA synthesis, have been studied. AdR was found to produce breaks in S and G_2 phases of cells' mitotic cycle. Numerous

fragmentations and pulverisations of chromatides take place at these phases. The isolocus breaks without fragment unions were more in the phase G_r than in other types.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Taylor J. H., Haut W. F., Tung J. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 48, 190, 1962.
2. Jacob N. F., Neu R. L., Gardner L. J. Mutat. Res., 7, 2, 251, 1969.
3. Митрофанов Ю. А., Котомина И. Ф. Генетика, 6, 3, 18, 1970.
4. Kronberg D., Kihlman B. A. Hereditas. 71, 101, 1972.
5. Митрофанов Ю. А., Котомина И. Ф. Радиобиология, 9, 277, 1969.
6. Митрофанов Ю. А., Селюкова (Отраднава) В. В., Вослания А. З. Генетика, 8, 1, 1971.