

тионину и *Asp. niger* R-1. Оно не сходно с K_m для фермента, выделенного из индуцированного штамма *Asp. niger*,—0,9 мМ [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Даутян М. А., Оганесян С. П. Биолог. ж. Армении, 26, 11, 1019, 1983.
2. Оганесян С. П., Даутян М. А. Биолог. ж. Армении, 36, 5, 367, 1983.
3. Frickeisen D. H., Brown G. W. J. Fish. Biol., 10, 457, 1977.
4. Kishore G., Valdyanathan G. S. India J. Biochem. Biophys., 13, 216, 1967.
5. Kawamoto S., Kobayashi M., Tanaka A., Fukui S. J. Ferment. Technol., 55, 13, 1977.
6. Nasu Satoshi, Wiks Frank D., Choison Robert K. Biochim et Biophys. Acta, 704, 2, 242, 1982.
7. Posenteld M., Letter G., Edward H. Can. J. Biochem., 55, 1, 66, 1977.
8. Porter David J. T., Bright Harold J. J. Biol. Chem., 251, 19, 6150, 1976.
9. Raunio R. P., D'ARi, Straus L., Jenkins W. T. J. Bact., 115, 2, 1973.

Поступило 11 XII 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 5, стр. 377—381, 1986

УДК 576.312.32/38

ВЛИЯНИЕ АКТИНОМИЦИНА-Д НА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНУЮ ОКРАШИВАЕМОСТЬ ХРОСОМОМ ЧЕЛОВЕКА

С. А. МИДЯН

НИИ акушерства и гинекологии им. Н. К. Крупской МЗ Армянской ССР

Аннотация — Получены препараты высокодифференцированных по длине хромосом на разных стадиях митоза при обработке культур лимфоцитов актиномицином-Д на стадии G_2 клеточного цикла. Количество G-положительных и G-отрицательных дисков на гаплоидный набор в прометафазе составило 720, на стадии зрелой метафазы — 310.

Անոտացիոն — Խոսքոված են շարքը դիֆերենցում պարունակող քրոմոսոմային պրե-պարատներ Տրիպոլի տարրեր ստացիաներում լիմֆոցիտների կուլտուրաները Գ-ստա-տիոնմիջինում մշակելիս բջջային ջրիկի G_2 ստադիայում: G-դրական և G-բացա-սական դրականի թիվը պրոմեթաֆազում հասնում է 720-ի, իսկ նստուն մեթաֆա-զում՝ 310-ի:

Abstract — Well-differentiated chromosome preparations have been obtained in different stages of mitosis during the treatment of lymphocytes cultures with actinomycin-D in G_2 stage of cellular cycle. The number of G-positive and G-negative bands observed per haploid set in prometaphase is 720, mid-metaphase-310.

Ключевые слова: актиномицин-Д, хромосомы человека, стадии клеточного цикла.

В цитогенетике человека в последнее время благодаря новым методи-ческим приемам наметился подход, открывающий большие перспекти-вы в области изучения хромосом человека. Это касается прежде все-го исследования хромосом в прометафазе и профазе митоза. Из-за

неполной конденсированности эти хромосомы в 1,5 и 2 раза длиннее хромосом в метафазе. Для получения достаточного для анализа количества прометафазных и профазных хромосом Юлис с соавт. [3] применили синхронизацию клеточной популяции на стадии G_1/S с помощью аметоптерика (метатрексата). Эффекту удлинения хромосом способствует ряд веществ, в том числе δ -бромдезоксигуанидин (БДУ) и актиномицин-D (АМД), блокирующих хромосомную конденсацию. Эти вещества дают синергический эффект с минимальным влиянием на митотический индекс и разрывы хромосом. Применение дифференциальной окраски профазных и прометафазных хромосом позволит получить важную информацию об их структуре, и благодаря высокой разрешающей способности станет возможным обнаружение микрохромосомных нарушений при врожденных пороках развития и неоплазиях.

Цель настоящего исследования заключалась в получении достаточного количества клеток на ранних стадиях митоза (профаза и прометафаза) путем блокирования хромосомной конденсации без предварительной синхронизации в культуре лимфоцитов человека, с использованием АМД.

Материал и методика. Лимфоциты от 5 практически здоровых лиц культивировали по общепринятому методу. АМД вводили в культуры за 2 ч до фиксации и конечной концентрации 5 мкг/мл. Продолжительность культивирования составила 72 ч. Колхицин (0,5 мкг/мл) вводили за 30 мин до фиксации культур. Гивотоническую обработку проводили 0,075 М раствором KCl при 37° в течение 10 мин. Далее суспензию с клетками тщательно ресуспендировали и фиксировали метанолово-уксусной кислотой (3:1) в течение 30 мин. В дальнейшем фиксатор меняли 6 раз (по 15 мин на каждую смену). Суспензию с клетками хранили при 4° в течение 12—24 ч, затем после последней смены фиксатора расканывали на обезжиренные предметные стекла (по 5 капель на стекло). Свежие препараты (2—7 дней) окрашивали 2%-ным раствором Гимзы с трипсином, приготовленным на фосфатном буфере (pH 6,8). Подсчет ядер и определение относительных длин хромосом проводили на фотоотпечатках [3, 4].

Результаты и обсуждение. В процессе конденсации хромосомы из деспирализованных хроматиновых нитей в профазе превращаются в высокоспирализованные структуры, наблюдающиеся в зрелой метафазе. Влияние АМД на соотношение различных стадий клеточного цикла представлено в таблице. Общее число проанализированных клеток составило 1519, из них 1066—не подвергнутых действию АМД и 453—обработанных. Митотический индекс в обработанных АМД культурах был значительно снижен. В необработанных культурах он составлял в среднем 14,8% против 6,0—в обработанных. Каждая митотическая фигура была соотнесена с одной из трех стадий: профазой, прометафазой или метафазой. Снижая митотический индекс, АМД в то же время влияет на количественное соотношение стадий митоза, увеличивая число профазных и прометафазных клеток во всех 5-ти культурах. При этом число профазных клеток возросло в 3—6 раз. Сходный эффект АМД описан в литературе при воздействии его на культуру фибробластов в концентрации 2 мкг/мл [5]. Анализ хромосомных aberrаций показал, что их частота под действием АМД незначительно повысилась, в пределах 0—3% (в контроле—0,5%). Aberrации были в основном представлены хроматидными разрывами. Снижение митотического индек-

Влияние АМД (5 мкг/мл) на соотношение стадий клеточного цикла в культуре лимфоцитов человека

Стадии	Культура лимфоцитов, %									
	-АМД	+АМД	-АМД	+АМД	-АМД	+АМД	-АМД	+АМД	-АМД	+АМД
Профаза	2,7**	5,4	4,8	14,8	0,0	13,4	1,0	8,4	0,0	14,2
Прометафаза	6,9	39,6	13,1	30,5	5,7	31,8	4,1	26,4	6,2	25,8
Метафаза	90,4	66,0	92,1	55,5	94,3	55,5	94,9	65,2	93,8	60,0
Общее число проанализированных клеток	219	56	209	72	212	167	214	111	212	114

ся, а также смещение спектра митотических клеток в сторону ранних его фаз можно, вероятно, объяснить тем, что АМД, являясь ингибитором белкового синтеза, препятствует конденсации хроматина и продлению клеток по циклу, что связано с преимущественным связыванием его с гуанином в G_2 фазе клеточного цикла. Сходный эффект проявляет также и БДУ, который, являясь аналогом тимидина, легко его замещает и, взаимодействуя с третичной структурой, также умеренно подавляет спирализацию хромосом.

Без предварительной синхронизации культур лимфоцитов, используя лишь кратковременную обработку их АМД, получены препараты хромосом, находящиеся на разных стадиях клеточного деления, от профазы до зрелой метафазы. Метафазные хромосомы, хотя и представляют собой сильно конденсированные структуры, однако содержат хорошо различимые диски (рис., б). Анализ профазных хромосом требует удовлетворительного их распределения и отсутствия многократных наложений. Прометафазные хромосомы являются промежуточными по длине и числу дисков (рис., а). Определение относительных длин хромосом на разных стадиях показало, что профазные и прометафазные хромосомы составляют 260 и 166% соответственно, по сравнению с таковыми на стадии зрелой метафазы. Длину последних принимали за 100%. В ряде случаев трудно соотнести те или иные митотические фигуры с традиционными стадиями митоза и поэтому более точную их оценку можно дать путем подсчета числа дисков на галлоидный набор. Количество дисков на пластинках, представленных на рис. (а, б), составило соответственно 720 и 310, что позволяет отнести их к прометафазе и метафазе. Это согласуется с данными Международной номенклатуры по хромосомам человека [2], согласно которой число дисков в зрелой и ранней метафазе, а также в прометафазе составляет в среднем 400, 500 и 850 соответственно.

На рис. (а) представлены в качестве примера 2-, 6 и 13-я хромосомы. Хромосомы слеза получены при воздействии АМД. Они содер-

жат на 25% больше дисков, чем хромосомы, представленные справа. Становится очевидным, что G-положительные и в некоторых случаях G-отрицательные диски в зрелых метафазах содержат хорошо различимые субдиски в прометафазе и особенно в профазе митоза. Можно



Рис. а. Прометафаза; б. Метафаза; в. Сравнение прометафазных и метафазных хромосом.

предположить, что в метафазе хромосомы сохраняют определенную структурно-функциональную дифференцированность по длине, присущую интерфазным и профазным хромосомам.

Таким образом, введение АМД в культуры лимфоцитов за 2 ч до фиксации расширяет спектр митотических фигур. Удлинение хромосом под действием АМД сопровождается повышением числа анализируемых дисков. Большая разрешающая способность дифференциально окрашенных профазных и прометафазных хромосом по сравнению с метафазой позволит с большей точностью идентифицировать перестройки хромосом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров А. Ф. Хромосомы человека. М., 1977.
2. ISCN, Cytogenet. and cell genet., 31, 1, 1981.
3. Janis J. J. et al. Chromosoma, 67, 293, 1978.
4. Janis J. J. et al. Hum. Genet., 49, 291, 1979.
5. Ju R. J. et al. Cytogenet. and cell Genet., 31, 111, 1981.

Поступило 4.1 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 5, стр. 381—384, 1986

УДК 615.9:612.6

ВЛИЯНИЕ ЦИАНУРАТА МЕЛАМИНА НА ХРОМОСОМНЫЙ АППАРАТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Э. А. БАБАЯН, С. Б. БАГРАМЯН, А. С. ПОГОСЯН, А. В. АЛЕКСАНДРЯН

НИИ общей гигиены и профзаболеваний МЗ Армянской ССР

Аннотация — Ингаляционная 4-месячная затравка белых крыс циануратом меламина в средней концентрации, $27,64 \pm 1,34$ мг/м³, вызывает резко выраженный, возрастающий по мере увеличения экспозиции мутагенный эффект. При снижении концентрации на один порядок достоверных изменений в хромосомном аппарате не наблюдается. Обсуждается вопрос зависимости мутагенного эффекта от концентрации и времени воздействия.

Անոտացիա — Յիսնաուրատ մելամինի $27,64 \pm 1,34$ մգ/մ³ խտության ինֆուզիոն ազդեցությունը սպիտակ ասնետների վրա 4 ամիս տևողությամբ ստացանում է խիստ արտահայտված, ազդեցության ժամանակամիջոցից կախված ուժեղացող մուտացիոն էֆեկտ: Յիսնաուրատ մելամինի խտության մի կարգով իջեցումը քրոմոսոմային ապարատի կոդմից հավաստի փոփոխություններ չի առաջացնում: Աշխատանքում քննարկվում է մուտացիոն էֆեկտի կախվածությունը նյութի ազդեցության խտությունից և ժամանակից:

Abstract — Inhalation four-month poisoning of white rats with cyanurate melamine in the mean concentrations $27,64 \pm 1,34$ mg/m³ cause sharply expressed mutagen effect, which is increasing with the lengthened exposition. When the concentration decreases on one order, the reliable changes in chromosome apparatus do not take place. The mutagen effect dependence on concentration and time of its action is discussed.

Ключевые слова: цианурат меламина, токсичность, мутагенность, абберрации хромосом.

Цианурат меламина, относящийся к гетероциклическим соединениям группы симм-триазинов, находит все более широкое применение в промышленности, что приводит к увеличению контингента людей, контактирующих с ним, и, в свою очередь, ставит вопрос о гигиеническом нормировании его применения. Токсикологическая экспертиза, на основании которой обосновывается указанное ограничение, проводится с учетом влияния также на функцию воспроизводства и хромосомный аппарат организмов.