

ВЛИЯНИЕ X-ЛУЧЕЙ НА НЕРАСХОЖДЕНИЕ X-ХРОСОМ

М. М. Тихомирова

Значение выяснения природы действия ионизирующей радиации на клетку очевидно. Для решения этой проблемы используются разнообразные методы, в том числе и генетические, так как при наблюдении многих генетических явлений можно судить о процессах, которые происходят в клетке при облучении. Так, например, изучение первичного нерасхождения хромосом может быть использовано для решения ряда вопросов: действие радиации на различные структуры клетки, чувствительность разных стадий и состояний клеток, наличие следовых изменений и т. д. В частности, нас интересовало изучение последствий радиации на нерасхождение хромосом, регистрируемое генетическим методом.

Спонтанно нерасхождение хромосом возникает редко и колеблется в пределах от сотых долей до одного процента (Bridges, 1913; Safir, 1920; Stern, 1927; Anderson, 1929; Соколов, 1934; Lewis a. Gencarella, 1952 и др.). Частоту нерасхождения можно увеличить, применяя различные факторы: углекислый газ, уксусную кислоту, аценафтен, рентгеновые лучи и др. (Mayog, 1924; Лобашев, 1937; Цивил, 1946 и др.).

Изучение явления нерасхождения хромосом под влиянием различных факторов позволило предположить, что причинами его может быть следующее. Во-первых, нарушение синаптических свойств хромосом за счет приобретения ими «клейкости». Эта гипотеза была высказана Рапопортом в 1938 г. Она хорошо объясняла случаи одновременного нерасхождения нескольких пар хромосом после облучения. Во-вторых, нерасхождению хромосом может способствовать изменение вязкости плазмы. Так, уксусная кислота, хорошо проникающая в клетку и вызывающая желатинизацию плазмы, увеличивает частоту случаев нерасхождения хромосом, что было показано Лобашевым и Смирновым (Лобашев и Смирнов, 1934; Лобашев, 1937).

В 1934 г. Соколов применил специальную методику транслокации и на основании полученных данных им было высказано предположение, что нерасхождение хромосом может зависеть от свойств аппарата прикрепления нити веретена. Несомненно, большую роль в этом процессе играет наличие и состояние центромера.

Многочисленные цитологические исследования показывают, что радиация вызывает в клетке изменения, многие из которых могут приводить к нерасхождению хромосом (Alberti, Politzer, 1923, 1924; Стрелин, 1934, 1935; Левитский и Араратян, 1931; Бреславец, 1956 и др.). Действительно, x-лучи являются мощным фактором, увеличивающим часто-

ту встречаемости исключительных особей у дрозофилы в десятки и сотни раз. Впервые для этой цели x -лучи применены Мевором (Mavor, 1924). Дальнейшие исследования показали, что явление нерасхождения хромосом может использоваться при решении вопроса о природе действия радиации на клетку.

В настоящей работе, как уже указывалось, поставлена задача выяснить вопрос о наличии последствия радиации на расхождение хромосом. Материалом служила дрозофила дикого типа линии Кантон-С. Для обнаружения нерасхождения хромосом использовались самцы линии с двумя генами-маркерами: w и Var (белые и полосковидные глаза). Все исключительные самки подвергались генетическому анализу, а самцы проверялись на стерильность.

Облучение производилось рентгеновскими лучами без фильтра, дозами 1500 и 3000 r , мощностью облучения 300 $r/мин$. Для выявления потенциальных изменений или, как мы называли, последствий, применялась температура $+37^\circ$ в течение 8 ч через разные промежутки времени от момента облучения — 1, 24 и 48 ч. Облучению подвергались самки различных возрастных групп (на стадиях яйца, личинки, куколки, имаго). Спаривание производилось немедленно после окончания облучения или температурного воздействия, за исключением нескольких пар мух разного возраста, отмеченных в табл. 1. Эти варианты служили контролем и ставились для выяснения вопроса о том, происходят ли изменения в клетках после облучения. При облучении самок зиме частота встречаемости исключительных самок составила 3,59%, что превышает по сравнению со спонтанным процессом (0,02%) более, чем в сто раз (табл. 1).

Таблица 1

Частота первичного нерасхождения x -хромосом у дрозофилы при различных способах воздействия на самок имаго

Характер воздействия	Число самок в опыте	Число нормальных мух в F_1		Число исключительных мух в F_1			
		самок	самцов	число	%	число	%
Без воздействия	256	18 804	17 911	5	0,03 ± 0,010	1	0,02 ± 0,010
Облучение 3000 r , спаривание немедленное	293	9 654	8 668	12	0,12 ± 0,031	314	3,50 ± 0,192
То же через 9 ч	66	1 744	1 606	4	0,23 ± 0,114	65	3,89 ± 0,469
То же через 32 ч	61	3 155	2 777	11	0,35 ± 0,105	88	3,07 ± 0,322
То же через 56 ч	40	1 815	1 672	5	0,27 ± 0,121	58	3,35 ± 0,430
Температура 37°	182	11 438	9 731	0	0	11	0,11 ± 0,034
Облучение 3000 r + t 37° через 1 ч	313	2 958	2 352	10	0,34 ± 0,107	140	5,62 ± 0,460
То же через 24 ч	190	5 069	3 820	0	0	102	2,67 ± 0,257
То же через 48 ч	202	9 500	8 786	8	0,08 ± 0,030	321	3,65 ± 0,196

Из табл. 1 видно, что частота нерасхождения x -хромосом независима от времени, прошедшего от момента облучения до спаривания мух. По крайней мере в течение 56 ч сохраняются изменения, возникшие в момент облучения, и частота встречаемости исключительных особей в вариантах существенно не отличается друг от друга.

Для того чтобы проверить, возникают ли в момент облучения так называемые потенциальные изменения и как долго они сохраняются в клетке, после облучения в качестве выявляющего агента была применена температура 37°. Действие температуры на необлученных мух привело к незначительному увеличению числа исключительных в потомстве (от 0,02 до 0,11%). При действии же температуры через 1 ч после облучения частота нерасхождения достигла 5,62%, что значительно превосходит простую арифметическую сумму, получаемую при действии температуры и облучения, примененных порознь ($t = 4,0$).

Этот факт позволяет утверждать, что ионизирующее излучение, кроме непосредственного эффекта — нерасхождения хромосом, вызывает какие-то потенциальные изменения, которые реализуются при дополнительном действии высокой температуры. Иными словами, можно считать установленным явление последствия радиации на расхождение хромосом.

Температура, применяемая через разные промежутки времени после облучения, приводит к различным результатам. Так, при действии температуры через 24 и 48 ч после облучения частота нерасхождения хромосом не отличается существенно от таковой в группе, где мухи подвергались действию одних рентгеновых лучей. Это дает основание считать, что потенциальные изменения сохраняются в клетке в течение одного часа и восстанавливаются к исходному состоянию через 24—48 ч.

При облучении дрозидилы разных возрастных групп было выяснено, что влияние радиации на расхождение хромосом удается обнаружить только при облучении куколки в возрасте 160 ч и старше; до этого радиация на расхождение хромосом не влияет (табл. 2). Эти данные вполне согласуются с имеющимися в литературе (Любачев и Евтюшкин, 1937 и др.).

Таблица 2

Зависимость первичного нерасхождения X-хромосом от возраста облучаемых самок дрозофилы (доза 3000 p)

Возраст (в ч)	Число самок в опыте	Число нормальных мух в F_1		Число исключительных мух в F_1			
		самок	самцов	самок		самцов	
				число	%	число	%
Контроль (без облучения)	256	18 804	17 911	5	$0,03 \pm 0,010$	4	$0,02 \pm 0,010$
Яйцо (7 ± 4)	90	2 942	2 923	2	$0,07 \pm 0,048$	0	0
Личинка (63 ± 3)	61	3 420	3 381	3	$0,09 \pm 0,051$	4	$0,12 \pm 0,059$
(96—120 ч перед окукливанием)	181	5 749	5 873	6	$0,10 \pm 0,042$	1	$0,02 \pm 0,017$
Куколка (160 ± 3)	133	4 470	4 116	11	$0,25 \pm 0,074$	85	$2,06 \pm 0,221$
Имаго (240 ± 3)	143	5 460	5 343	11	$0,20 \pm 0,060$	123	$2,30 \pm 0,205$
(292 \pm 3)	113	3 079	2 947	7	$0,22 \pm 0,084$	111	$3,76 \pm 0,350$
(408 \pm 3)	96	3 879	3 939	5	$0,13 \pm 0,057$	99	$2,51 \pm 0,248$

Дополнительное действие температуры после облучения личинок также не увеличивает частоты появления исключительных мух (табл. 3). Для объяснения этого факта следует обратить внимание на то, что в онтогенезе дрозофилы только со стадии куколки в возрасте 150—160 ч начинается формирование ооцитов (Demegès, 1950), которые отличаются от предыдущих стадий тем, что претерпевают лишь мейотическое деление.

Таблица

Частота первичного нерасхождения x -хромосом у дрозофилы при различных способах воздействия на личинки

Характер воздействия	Число самок в опыте	Число нормальных мух в F_1		Число исключительных мух в F_1			
		самок	самцов	самок		самцов	
				число	%	число	%
Без воздействия	256	18 804	17 911	5	$0,03 \pm 0,010$	4	$0,02 \pm 0,010$
Температура 37°	421	29 269	29 091	5	$0,02 \pm 0,008$	8	$0,03 \pm 0,010$
Облучение 3000 r	181	5 749	5 873	6	$0,10 \pm 0,042$	1	$0,02 \pm 0,017$
То же + $t 37^\circ$	332	12 012	11 450	6	$0,05 \pm 0,020$	9	$0,08 \pm 0,026$
Облучение 1500 r	226	9 742	10 094	2	$0,02 \pm 0,014$	10	$0,10 \pm 0,030$
То же + $t 37^\circ$	703	36 500	36 358	13	$0,04 \pm 0,010$	52	$0,14 \pm 0,020$

С другой стороны, известно, что радиация вызывает в клетке разрывы хромосом и асимметрические обмены, в результате которых возникают дисцентрические хромосомы и ацентрические фрагменты, которые, как правило, элиминируются во время деления клетки (Lea, 1946). На основании сказанного можно сделать предположение, что в основе наблюдаемого генетически первичного нерасхождения хромосом при облучении лежит образование в клетке дисцентрических хромосом и их элиминация. Если это предположение верно, то при облучении личинок во время деления ооцитов дисцентрические хромосомы должны элиминироваться, а клетки гибнуть, и действие радиации генетическим методом не должно обнаруживаться. Результаты опыта подтверждают предположение.

Облученные ооциты, очевидно, способны давать жизнеспособные гаметы, но тогда при облучении куколок и имаго следует ожидать резкого увеличения частоты встречаемости в потомстве исключительных самцов по сравнению с числом исключительных самок. Действительно, во всех вариантах опытов при действии радиации число исключительных самцов возрастает в сотни раз, в то время как процент исключительных самок ни в одной группе достоверно не отличается от контроля.

Явление последствия может быть объяснено с точки зрения этой гипотезы тем, что во время радиации возникают не только истинные разрывы и обмены, но и так называемые потенциальные разрывы, которые восстанавливаются, если особь находится в нормальных условиях, и обнаруживаются, если после облучения действует дополнительно другой фактор, например температура $+37^\circ$. Причем, эти потенциальные изменения сохраняются в клетке в течение некоторого времени после облучения (не менее одного часа). Нечто подобное наблюдали Херсковиц и Абрахамсон (Herskowitz, Abrahamson, 1955). В их эксперименте с дрозофилой возникшие при облучении ооцитов разрывы сцепленных x -хромосом сохранялись только в первые четыре минуты после облучения и воссоединялись до оплодотворения.

Все перечисленное подтверждает высказанное предположение о механизме действия радиации на нерасхождение хромосом. Можно привести и другие гипотезы: при облучении происходит слипание хромосом. В случае облучения личинок, когда проходит длительный промежуток времени от момента облучения до мейоза, можно думать, что эти изменения успевают восстановиться, а поэтому не обнаруживаются. Можно

высказать, очевидно, и другие предположения, так что вопрос о механизме действия радиации на нерасхождение хромосом нельзя считать окончательно решенным. Факт же наличия последствия радиации на расхождение хромосом можно считать установленным.

ВЫВОДЫ

1. При облучении имаго частота первичного нерасхождения x -хромосом увеличивается в сотни раз по сравнению со спонтанным процессом (3,50% при облучении и 0,02% в контроле) и сохраняется на одном уровне в период после облучения имаго через 9, 32 и 56 ч.

2. При действии температуры $+37^\circ$ через 1 ч после облучения имаго частота нерасхождения хромосом составляет 5,62%, что значительно превосходит простую сумму, получаемую при действии температуры (0,11%) и облучения (3,50%), примененных порознь ($t=4,0$).

3. На основании анализа полученных результатов делается заключение, что ионизирующее излучение, кроме непосредственного эффекта — нерасхождения хромосом, вызывает какие-то потенциальные изменения, которые при дополнительном действии другого фактора (высокой температуры) могут так же реализоваться. Эти следовые эффекты названы последствием. Явление последствия наблюдается в клетке не менее одного часа после облучения.

4. Температурные воздействия, примененные через 24 и 48 ч после облучения, не увеличивают достоверно процент нерасхождения хромосом, т. е. последствия в этом случае наблюдать не удается. Очевидно, за это время происходит восстановление потенциальных изменений, возникших в клетке при облучении.

5. Облучение и последующее температурное воздействие на ранние стадии онтогенеза (яйцо, личинка) не увеличивает частоту нерасхождения хромосом по сравнению со спонтанным процессом.

EFFECT OF X-RAYS ON THE NON-DISJUNCTION OF X-CHROMOSOMES

M. M. Tikhomirova

The problem investigated and discussed in the work is whether the result of the action of the ionizing radiation amounts to the observed genetic effect or, alongside of this effect, certain other changes are induced potentially capable of producing the perceptible genetic effect after the application of some other supplementary factor. In other words whether the phenomenon conventionally designated by the author as the "after-effect" does exist or not.

The genetic effect recorded in this study was the frequency of the primary non-disjunction of x -chromosomes in *Drosophila*. The x -ray dosage was 3000 R. The supplementary factor used was high temperature ($+37^\circ$ C).

The results obtained are suggestive of the existence of the "after-effect".

ЛИТЕРАТУРА

- Бреславец Л. П. 1956. «Биофизика», 1, 7: 237—301.
Левитский Г. А. и А. Г. Араратян. 1931. Тр. прикл. ботаники, генетики и селекции, 27, 1: 265—303.
Лобашев М. Е. 1937. Тр. Ленингр. о-ва естествоисп., LXVI, 3: 345—377.
Лобашев М. Е. и Я. В. Евтюшкин. 1937. Тр. Ленингр. о-ва естествоисп., LXVI, 3: 377—388.

- Лобашев М. Е. и Ф. А. Смирнов. 1934. Докл. АН СССР, II, 5: 307—311.
Соколов Н. Н. 1934. Биол. ж., III, 4: 703—718.
Стрелин Г. С. 1934. Вестник рентгенол. и радиол., XIII, 1—2: 98—113.
Стрелин Г. С. 1935. Вестник рентгенол. и радиол., XV, 1: 7—16.
Рапопорт И. А. 1938. Биол. ж., 7, 3: 661—678.
Цивин М. О. 1946. Докл. АН СССР, 52, 4: 353—355.
Alberti W. u. G. Politzer. 1923. Arch. mikroskop. Anatomie u. Entwicklungsmechanik, 100, 1—4: 83—109.
Alberti W. u. G. Politzer. 1924. Arch. mikroskop. Anatomie u. Entwicklungsmechanik, 103, 1—3: 284—307.
Anderson E. G. 1929. Zs. ind. Abst. u. Vererbst., 51, 3: 397—441.
Bridges C. B. 1913. J. exper. zool., 15, 4: 587—606.
Demerec M. 1950. Biology of Drosophila, N. J.—London 632.
Herskowitz J. H., S. Abrahamson. 1955. Genetics, 40, 5: 574.
Lea D. E. 1946. Action of radiations on living cells. Cambridge Univ. Press, 402.
Lewis E. B., W. Gencarella. 1952. Genetics, 37: 600—601.
Mayor J. W. 1924. J. exper. zool., 39: 381—432.
Saffir S. R. 1920. Genetics, 5: 459—487.
Stern C. 1927. Zs. ind. Abst. u. Vererbst., 44: 188—231.