

О КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ АНЕУПЛОИДИЕЙ И
[ДРУГИМИ]* ЭФФЕКТАМИ ОБЛУЧЕНИЯ

Сообщение I. ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ

В. А. СЕМЕНОВА, В. А. МГЛИНЕЦ, Н. В. ГЛОТОВ

Институт медицинской радиологии АМН СССР, Обнинск

ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что регистрируемые в радиационно-генетических опытах частоты гиперпloidии не совпадают с радиационно-индуцированными частотами нерасхождения хромосом [1]. Часть поврежденных облучением X-хромосом элиминируется, что и приводит к искажению оценки частоты нерасхождения. В связи этим возник вопрос о возможной связи анеупloidии с различными другими эффектами облучения. Если возникновение хромосомных мутаций, рецессивных и доминантных леталей, а также других лучевых повреждений коррелирует с нерасхождением и потерей хромосом, то нет смысла изолированно рассматривать регистрируемые при облучении частоты анеупloidии, в частности, анализировать очень сложные кривые доза-эффект [2]. Кроме того, решение вопроса о корреляции анеупloidии с другими эффектами облучения может способствовать выяснению конкретных механизмов процессов лучевого нерасхождения и потери хромосом, оцениваемых пока лишь чисто формально на основании вероятностных соображений [1].

Настоящее первое сообщение серии посвящено описанию результатов опытов по изучению корреляции между радиационно-индуцированной анеупloidией по X-хромосоме и хромосомными мутациями, возникающими при облучении самок *Drosophila melanogaster*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

При решении поставленной задачи необходимо было на одних и тех же мухах: во-первых, отличить регулярное потомство от исключительного и, во-вторых, дать характеристику структуры облученных хромосом эупloidов и анеупloidов. При этом довольно трудно получить достаточный по объему материал ввиду очень низкой частоты появления гиперпloidов даже при высоких дозах облучения. Поставленная задача была решена путем последовательного применения двух методов: генетического, являющегося в данном случае методом экспресс-диагностики, а затем цитологического анализа политенных хромосом слюнных желез.

Облученные самки *D. melanogaster*, гомозиготные по uw , скрещивались с самцами, X-хромосома которых содержала гены y^+w^+ . В первом поколении на третьей личиночной стадии диагностировали самок XX и XXУ и самцов XY и XO.

Как известно, пол личинки легко определим. Самки XX имели генотип uw/y^+w^+ ; поэтому личиночные щетинки и ротовой аппарат у них были черными, а мальпигиевы каналцы — желтыми [3, 4]. Матроклинные самки XXУ имели генотип uw/uw ; поэтому личиночные щетинки и ротовой аппарат были коричневыми, а мальпигиевы каналцы бесцветными. Точно так же различали регулярных самцов XY (uw) и исключительных патроклинных самцов XO (y^+w^+).

В предварительных опытах по классификации личинок было выяснено, что частота опии боковой классификации при быстром просмотре большого материала невелика

* - авторская правка

ка, но ошибки все же возможны. Поэтому необходимо было так ставить скрещивания, чтобы при цитологическом анализе контролировать правильность классификации личинок, проведенной генетическим экспресс-методом. С этой целью в скрещивание были взяты самцы, имеющие инвертированную X-хромосому — $In(1)sc^7 + AM$ [4].

Хорошо известно, что самцы и самки цитологически легко отличаются друг от друга по толщине и интенсивности окраски X-хромосом. Легко можно было также отличить самок XX от самок ХХУ. На препаратах политепных хромосом самок XX всегда четко видна петля, обусловленная наличием гетерозиготных инверсий $In(1)sc^7 + AM$ в отцовской X-хромосоме. Самки ХХУ, несущие обе материнские X-хромосомы, такой петли не имеют. Регулярные самцы ХУ также отличимы цитологически от патеролинных самцов ХО. Инвертированная хромосома $In(1)sc^7 + AM$ у самцов ХО четко диагностируется даже в гемизиготном состоянии.

Двух- и трехдневных самок у w облучали γ -лучами Co^{60} (доза 4 кр, мощность дозы около 60 p/сек) и тотчас скрещивали с самцами $In(1)sc^7 \pm AM, sc^7$. Продолжительность яйцекладки — трое суток. Для цитологического анализа в первом поколении брали всех обнаруженных с помощью экспресс-метода самок ХХУ и самцов ХО, а также одновременно выборки из регулярного потомства XX и ХУ. У личинок в растворе Рингера для насекомых извлекали слюнные железы, из которых по обычной методике готовили давленные препараты политепных хромосом. Окраску производили уксуснокислым орсеином. На цитологических препаратах учитывали хромосомные мутации.

Всего было проведено шесть небольших по объему повторных опытов, давших сходные результаты. В работе приводятся суммарные данные.

Частоты хромосомных мутаций у личинок разных генотипов сравнивали с использованием преобразования Ф. Применяли также точный критерий Фишера [5].

Одновременно с выполнением этой работы были поставлены опыты по определению у самок у w спонтанных и радиационно-индуцированных (доза облучения 4 кр) частот нерасхождения и потери хромосом (метод расчета см. [6]) обычным образом на стадии имаго. Это было необходимо для общей характеристики культуры, поскольку ранее с ней работа не проводилась.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения спонтанных и радиационно-индуцированных (доза 4 кр) частот нерасхождения и потери хромосом при регистрации эффекта на стадии имаго приведены в табл. 1. Можно видеть, что они согласуются с ранее полученными данными для других линий дрозофилы [1]. Спонтанный фон анеуплоидии достаточно низок по сравнению с лучевым эффектом.

Таблица 1

Спонтанные и радиационно-индуцированные (4 кр) частоты нерасхождения и потери хромосом у самок у w

Вариант опыта	Регулярные		Исключительные		Нерасхождение X-хромосом, %	Потеря X-хромосом, %
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂		
Контроль	8720	7950	15	18	0,34	0,03
Облучение 4 кр	1550	1290	17	90	2,0	4,4

Таблица 2

Частота хромосомных мутаций у регулярного и исключительного по X-хромосоме потомства облученных самок дрозофилы

Генотип	Число личинок		Личинки с хромосомными мутациями, %
	общее	имеющих хромосомные мутации	
Регулярные самки ХХ	344	13	3,8
Регулярные самцы ХУ	399	15	3,8
Исключительные самки ХХУ	55	12	21,8
Исключительные самцы ХО	310	14	4,5

Результаты изучения частот хромосомных мутаций у регулярного и исключительного по X-хромосоме потомства на личиночной стадии приведены в табл. 2. Частоты хромосомных мутаций у регулярных самок и самцов равны 3,8%. Частота хромосомных мутаций у исключительных самцов (4,5%) не отличается статистически достоверно от этого значения ($P > 0,1$). Напротив, частота хромосомных мутаций у исключительных самок намного больше — 21,8% ($P \ll 0,001$).

Таблица 3

Хромосомные мутации, возникшие при облучении самок дрозофилы

Регулярные		Исключительные			
♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
In (2) 22D—42	In (2) 52A—58B	In (1) 2B—5C	In (2) 55F—60F	In (2) 23F—40D	
In (3) 67C—77	In (3) 63A—73E	In (1) 1A—3C	In (2) 23F—40D	In (2) 35B—57F	
In (3) 83D—94E	In (3) 65—70C	In (1) 4—17B+Df3	In (2) 35B—57F	In (2) 61C—64D	
In (3) 63F—75C	In (3) 88—97A	In (2) 22E—36F	In (2) 61C—64D	In (3) 92F—95C	
In (3) 82F—92D	In (3) 97A—100A	In (3) 61F—72F	In (3) 92F—95C	In (3) 94F—100F	
In (3) 64B—67E	In (3) 94A—87E	In (3) 88A—94A	In (3) 94F—100F	In (3) 85C—88B	
In (3) 87E—95A	In (3) 65A—95E	T (1; 3) 11A, 70E	In (3) 85C—88B	In (3) 83E—86A	
In (3) 92B—98C	T (2; 3) 27B, 92C	T (2; 3) 26E, 54D,	In (3) 83E—86A	In (3) 70C—75D	
In (3) 81—92A	T (2; 3) 27F, 66B	76C, 84F	In (3) 70C—75D	In (3) 62B—66A	
Dp (3; 3) 88D—100B	Dp (2; 2) 47B—48E	Dp (1; 1) 1A—3E	In (3) 62B—66A	Dp (2; 2) 42A—55E	
Dp (3; 1) 61A—80	Dp (3; 3) 66C—71E,	Dp (1; 1) 3A—11E	Dp (2; 2) 42A—55E		
	95C				
Df (3) 90C—91D	Dp (3; 2) 61C—64B,	Dp (3; 3) 87C—91A	Dp (3; 3) 62A—64B		
Tr (3) 92A—99A, 87B	60A	Df (1) 1C—1F	Dp (3; 2) 61A—63B,		
	Dp (2; f) 40—55B		21A		
	Dp (3; f) 69E—99A		Dp (2; 2) 27D—33A,		
	Dp (3; 3)*		50F		

* Разрывы не определены.

В табл. 3 приведены результаты цитологического анализа регулярного и исключительного потомства. Из общего числа обнаруженных хромосомных перестроек (55) наиболее часто встречаются парацентрические инверсии (30), далее — дупликации (15), транслокации (4), перичентрические инверсии (2), нехватки (3) и транспозиции (1). Подобное распределение типов хромосомных мутаций, возникших при облучении самок дрозофилы, значительно отличается от распределения их при облучении самцов. Известно, что при облучении самцов наиболее часто встречаются транслокации, затем парацентрические инверсии, перичентрические инверсии и очень редки дупликации и нехватки [7—9]. Кроме того, при облучении самок и самцов обнаруживаются значительные различия и в частоте хромосомных мутаций. Так, при облучении дозой 4 кр самок в нашем опыте обнаружено около 4% хромосомных мутаций (если учитывать лишь обычно анализируемое регулярное потомство), тогда как при облучении зрелых спермиев той же дозой было получено около 20—30% хромосомных мутаций [7, 8, 10, 11]. Генетическими методами подобные различия по частоте и типу хромосомных мутаций при облучении спермиев и ооцитов обнаружены Глассом [12].

В нашем опыте каких-либо различий в отношении распределения разных типов хромосомных мутаций у регулярного и исключительного потомства на имеющемся небольшом материале не обнаружено. Интересно другое. Из 13 хромосомных мутаций у регулярных самок ни одна не затраги-

вает X-хромосому, из 12 же мутаций у исключительных самок 7 связаны с изменением структуры X-хромосомы ($P \sim 0,002$). Следует, однако, иметь в виду, что у исключительных самок облучали обе X-хромосомы, в то время как у регулярных — одну.

Большая частота хромосомных мутаций у исключительных самок и более частая их связь с X-хромосомами позволяют сформулировать следующие представления об одном из механизмов радиационно-индуцированного нерасхождения хромосом. Хорошо известно, что линии дрозофилы, имеющие структурные перестройки хромосом, дают обычно повышенные частоты спонтанной анеуплоидии [13]. При использовании обычной методики изучения радиационно-индуцированной анеуплоидии облучаются виргинные самки, т. е. облучаются ооциты до начала мейотического распределения хромосом. Возникающие при этом хромосомные мутации, по-видимому, влияют на поведение хромосом уже в первых клеточных делениях, повышая частоту нерасхождения.

Ранее нами было показано [1], что наблюдаемая частота радиационно-индуцированного нерасхождения хромосом непосредственно не отражает влияния облучения на поведение хромосом в мейозе, так как возникающие хромосомные aberrации приводят к элиминации части X-хромосом и снижают тем самым частоту нерасхождения. В связи с этим в предложенной модели [1] истинная частота радиационно-индуцированного приращения характеризовалась членом β . На основании результатов настоящей работы можно заключить, что и β имеет в значительной степени «вторичную» природу. Возникновение aberrаций определенного типа, не приводящих к элиминации X-хромосом, но часто затрагивающих их, приводит к повышению вероятности нерасхождения хромосом. Этот вывод совпадает (в смысле интерпретации конечного эффекта) с ранее высказанным предположением Тихомировой о роли лучевого повреждения хромосом в их последующем распределении в мейозе [14].

Отсутствие различий между частотами хромосомных мутаций у регулярного потомства и самцов ХО указывает, по-видимому, на преобладающую роль сестринских и несестринских обменов в X-хромосомах в возникновении исключительных самцов [2,15].

Авторы выражают сердечную признательность М. Е. Лобашеву, И. Б. Паншину, Н. В. Тимофееву-Ресовскому, в беседах с которыми оформились идеи и методы этой работы.

ВЫВОДЫ

Частота хромосомных мутаций значительно выше у самок ХХУ, возникших вследствие нерасхождения хромосом при облучении, чем у всех других типов мух, включая исключительных самцов ХО. Отсюда следует, что возникновение хромосомных мутаций при облучении повышают вероятность нерасхождения хромосом.

Таблиц — 3, библиография — 15 назв.

Поступила в редакцию
7 июля 1969 г.

Литература

1. Н. В. Г л о т о в. Влияние генотипа на частоту радиационно-индуцированной анеуплоидии в оогенезе *Drosophila melanogaster*. Сообщение V. Гипотеза, объясняющая различие между кривыми доза — эффект. Генетика, 4, № 7, 24, 1968.
2. Н. T r a u t. The dose-dependence of X-chromosome loss and nondisjunction induced by X-rays in oocytes of *Drosophila melanogaster*. Mutation Res., 1, № 2, 157, 1964.

3. C. B. Bridges, K. S. Brehme. The mutants of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Publ., № 552, 1944.
4. D. L. Lindsley, E. H. Grell. Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Publ., № 627, 1968.
5. В. Ю. Урбах. Биометрические методы. М., «Наука», 1964.
6. Р. К. Закиев, Н. В. Глозов. Зависимость частоты радиационно-индуцированной анеуплоидии от длины хромосом у *Drosophila melanogaster*. Сообщение I. X-хромосомы и хромосомы четвертой пары. Генетика, 5, № 11, 99, 1969.
7. H. Baur. Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. 1. Bruchhäufigkeit — verteilung und-rekombination nach Speicheldrüsenuntersuchung. Chromosoma, 1, № 3, 343, 1939.
8. D. G. Catcheside. The effect of X-ray dosage upon the frequency of induced structural changes in the chromosomes of *Drosophila melanogaster*. J. Genetics, 36, 307, 1938.
9. P. C. Koller, I. H. S. Achmed. X-ray induced structural changes in the chromosomes of *Drosophila pseudoobscura*. J. Genetics, 41, № 9, 53, 1942.
10. H. Bauer, M. Demerec, B. P. Kaufman. X-ray induced chromosomal alterations in *Drosophila melanogaster*. Genetics, 23, № 6, 610, 1938.
11. Н. П. Дубинин, В. В. Хвостова, В. В. Мансурова. Хромосомные aberrации, летальные мутации и доза X-лучей. Докл. АН СССР, 31, № 4, 387, 1941.
12. B. Glass. A comparative study of induced mutation in the oocytes and spermatozoa of *Drosophila melanogaster*. I. Translocations and inversions. Genetics, 40, № 2, 252, 1955.
13. Н. П. Бочков, Н. В. Глозов. Анеуплоидия, возникающая в мейозе у животных и человека. Генетика, № 3, 171, 1967.
14. М. М. Тихомирова. О механизмах нерасхождения хромосом. В сб. Исследование по генетике, вып. 3. Изд. ЛГУ, 1967, стр. 62.
15. R. F. Grell, E. R. Munoz, W. F. Kirschbaum. Radiation-induced nondisjunction and loss of chromosomes in *Drosophila melanogaster* females. I. The effect of chromosome size. Mutation Res., № 3, 494, 1966.

ON CORRELATION BETWEEN ANEUPLOIDY AND OTHER EFFECTS OF IRRADIATION

I. CHROMOSOME MUTATIONS

V. A. SEMENOVA, V. A. MGLINETS, N. W. GLOTOFF

Institute of Medical Radiology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Obninsk

Summary

Females of *Drosophila melanogaster*, strain yw were gamma-irradiated and mated to In(1) sc⁷+AM, sc⁷ males. Females XX and XXY and males XY and XO were distinguished among F₁ larvae on the basis of differences in pigmentation (chaetae, oral apparatus, and Malpighian tubes). The correctness of this larval stage diagnosis was checked on cytological preparations of agiant chromosome in salivary glands, and then the frequencies of chromosome mutations were scored. The results were as follows: in XX females — 3,8%, XY males — 3,8%, XXY females — 21,8%, and XO males — 4,5%. None of the 13 chromosome mutations in XX females involved X-chromosome while 7 of 12 mutations in XXY females did. Thus, certain chromosome aberrations (which do not cause the elimination of X-chromosome, though often involving it) increase the probability of chromosome non-disjunction.