

И. А. РАПОПОРТ

ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ФРАГМЕНТАЦИИ ХРОМОСОМ.

(Представлено академиком А. А. Рихтером 5 IX 1940)

При установлении различий в количестве хромосом у родственных родов и видов сравнительно-кариологическими исследованиями конца прошлого и начала настоящего столетия, особенно при наличии большего числа палочкообразных хромосом у одного вида и меньшего V-образных у другого вида, авторами постулировались процессы фрагментации и слияния хромосом. Фрагментация объясняла переход V-образной хромосомы в две палочкообразных, а слияние последних должно было объяснить обратный процесс, который мог привести к уменьшению суммы элементов на видовой идиограмме. Более точное исследование свойств хромосом, ставшее доступным в последние десятилетия и получившее особенно сильный толчок после применения коротковолновой радиации для изучения ядерных структур, когда в распоряжении цитологов оказалось неограниченное разнообразие хромосомных перестроек, привело к отрицанию этих спекулятивных выводов сравнительной кариологии о процессах простой фрагментации и fusion хромосом. Оно показало, что соединение двух палочкообразных хромосом концами не может повести к созданию нормальной, стабильной хромосомы, так как в подобной новой структуре будет два кинетических тельца (центромера) и она будет беспорядочно разрываться на два элемента во время расхождения хромосом к полюсам. Следовательно, после экспериментальной проверки механизм простого слияния хромосом был отвергнут и такое слияние не играло, по видимому, роли в эволюции хромосом. Те же новейшие исследования, однако, показали, что возможно соединение двух плеч разных или гомологичных палочкообразных хромосом в одно стойкое целое, если причиной соединения будет кроссинговер или транслокация, при которой только одно плечо внесет точку прикрепления нити веретена. Подобный новый элемент с одним центромером будет стабилен при расхождении хромосом во время митоза. Проблема перехода палочкообразных структур в V-образные нашла, таким образом, положительное решение после допущения иного, более сложного механизма. Уже детальное генетическое изучение расщепления генов в плечах хромосом у родственных видов⁽⁵⁾, а не только сравнение длины плеч, показало реальность подобных переходов.

По-другому сейчас решается проблема фрагментации. Полностью отрицается возможность образования за счет простого разрыва стойких, способных к неограниченной репродукции хромосом даже тем меньшинством авторов, которые принимают фрагментационный, а не кроссинговер-

ный генезис хромосомных aberrаций и вследствие этого допускают фрагментацию как переходящее состояние. Подобная оценка не лишена веских теоретических оснований, которые заключаются в следующем. Исследование нормальных хромосом и многочисленных разрывов, вызванных в эксперименте действием внешних факторов, вскрыло резкое различие между свойствами крайних конечных пунктов хромосомы (теломеров) и свежих разрывов хромосомной нити в каком-нибудь месте по ее длине. В то время как теломеры при соприкосновении не сливаются в один элемент, два обнаженных разрывом обломка одной или нескольких хромосом стремятся соединиться в одно целое местами обнажения*. Место слияния таких фрагментов по прочности и неподатливости к новым разрывам нисколько не уступает любому участку хромосомы, который не подвергался разъединению. Указанные свойства крайних конечных пунктов хромосомы, так же как, например, определенные отличия конечных групп высокомолекулярных соединений, зависят от особой их химической структуры, в отношении хромосом еще совершенно таинственной. Благодаря образованию спайки при наличии двух обнаженных «разрезов» дочерние хроматиды простого фрагмента хромосомы, появляющиеся при его делении, должны склеиваться между собой и такая хромосома будет разрушаться наступающим при этом удвоением кинетических телец. Цитологическим методом невозможно определить, является ли какой-нибудь фрагмент следствием простого разрыва или делеции, при которой выпал срединный блок, а теломер с большим или меньшим конечным блоком остался на своем месте. Это зависит от того, что теломер в отличие от кинетического тельца не удается дифференцировать на микроскопических препаратах. Генетическое исследование нехваток, которые рентгеновские лучи вызывают в половой хромосоме у самцов, показало, что все они являются не обломками, а именно делециями. На основании этих фактических данных и теоретических предпосылок современная оценка проблемы выражена Бауэром в 1940 г. следующим образом: «Ввиду этих наблюдений появление стойких хромосом с истинной терминальной нехваткой в высшей степени невероятно. В связи с приведенными выше соображениями против наличия терминальных инверсий и транслокаций следует сделать вывод, что и кажущиеся терминальные нехватки сохраняют свободный субтерминальный конец, т. е. являются делециями» (1). Такое же категорическое суждение по этому вопросу высказано в последних книгах Стертеванта и Бидла (2), Меллера (3), Дарлингтона, и правильность его не взята под сомнение.

Между тем исследование разрывов в избранной нами для изучения фрагментации структуре сцепленных половых хромосом дало результат, не согласующийся с подобным решением вопроса. Выбор сцепленных хромосом предметом анализа был обусловлен тем, что такая структура является единственно адекватной, поскольку при ее фрагментации сохраняется один из двух обломков, несущий центромер и часть другого плеча, а зигота, получившая такую хромосому, не гибнет от нарушения генного баланса. Между тем разрывы других хромосомных структур ведут к нарушению баланса и элиминации новых хромосом, не ввиду их нестойкости как таковых, а благодаря летальности создавшегося с их появлением баланса генов. Правильность фрагментационного толкования по сравнению с соперничающей на объяснение разрывов сцепленных хромосом кроссинговой концепцией явствует, например, из таких найденных нами фактов. 1) Разрывы сцепленных хромосом под влиянием X-лучей не связаны с кроссин-

* Совершенно еще не исследован и не поднимался вопрос, лишено ли специфичности это притяжение обломков или существует избирательность плюс—минус типа. В последнем случае воссоединение фрагментов в старом порядке должно намного превосходить по частоте создание новых комбинаций.

говером между сцепленными и Y-хромосомами, в отличие от спонтанных разрывов, которые, как показал ряд авторов (2, 4), связаны с кроссинговером. Сравнение частоты разрывов под влиянием X-лучей у особей, содержащих Y-хромосому, и у полученных при помощи специальной методики особей без Y-хромосомы (детали этого и последующих опытов будут изложены в основном сообщении) не обнаружило разницы. 2) Транслокационные отношения к разрыву XX, поскольку, при анализе большого числа разрывов из предыдущего эксперимента не были найдены транслокации. 3) Остающееся после отпадения гипотез о кроссинговере с Y- и другими хромосомами предположение о кроссинговерной петле внутри половых хромосом, с последующим образованием делеции, не подтверждается следующим опытом. При сравнении частоты разрывов в разные дни после облучения обнаружилось, что частые разрывы произошли в яйцах, отложенных через 48, 24 и даже 10 часов после воздействия, которые не могли находиться к моменту облучения на стадии профазы. Как известно, кроссинговер проходит на раннем отрезке созревания яйца, по крайней мере на шесть дней предшествующем его откладке. Однако все эти материалы, аргументирующие в пользу фрагментации, так же как и некоторые литературные данные, поддающиеся истолкованию в таком аспекте, не содержат прямого доказательства отсутствия на конце фрагментов, получающихся при разрыве сцепленного хромосом, небольшого блока с теломером.

Решающие данные по этому вопросу и, следовательно, по вопросу о фрагментации вообще может дать лишь генетический опыт, в котором путем анализа поведения генов, наиболее близких по локализации к теломерам, прослеживается судьба самих теломеров. Для подобного опыта представлялись наиболее удобными сцепленные половые хромосомы, каждая из которых будет отличаться генами, не дающими перекреста, локализованными на крайнем левом конце, желательно в районе нулевой морганиды. Однако не вполне удовлетворяет требованиям и эта структура, так как кроссинговер в сцепленных хромосомах будет постоянно переводить гены, которые маркируют теломеры, из гетерозиготного в гомозиготное состояние, что аннулирует все преимущества методики. Поэтому в сцепленные хромосомы необходимо еще ввести большую инверсию, подавляющую кроссинговер. Руководствуясь этими предпосылками, мы создали сцепленные хромосомы, одно из плеч которых содержало мутации *yellow* (с черными щетинками), *apricot*, *facet*, *forked*, а другое — мутации *yellow* (с желтыми щетинками) *Hairy wing*, не дающую кроссинговер с *yellow*, а также инверсию, известную как *CIB*, с леталью, свойственной этой инверсии, но без гена *Var*. Леталь должна была служить для исследования частоты и дальнейшей судьбы разрывов в лежащем за ней активном районе. Описываемая структура была создана путем кроссинговера с XYP^{Short*} . Она позволяет безошибочно различать фрагментацию от делеции. Самцы, персонифицирующие разрыв хромосомы, имеющий характер делеции, должны иметь фенотип *Hw*, так как теломер, маркированный этим геном, соединится с другим плечом, свободным от летали. Самцы, представляющие разрыв сцепленного хромосом, имеющий характер фрагментации, а не делеции, не могут иметь фенотипа *Hw*, так как будут лишены теломера, отмеченного последней мутацией. В случае делеционного механизма все самки с разъединившимися сцепленными хромосомами должны иметь фенотип *Hw*, в случае же механизма фрагментации лишь половина самок может иметь такой фенотип.

* В опытах по созданию сцепленных хромосом было установлено, что наличие XYP^{Short} в десятки раз понижает non-disjunction в линии с инверсией *CIB*. Этот факт должен найти место в объяснении причин нерасхождения в линиях с инверсиями.

В нескольких опытах, в которых самки с описанным строением сцепленных хромосом подвергались воздействию 2 000 час., среди последствий разрывов были найдены 69 самцов $y w^a f a f$ без Hw , 116 самок, гетерозиготных по Hw , и 128 самок, не имевших фенотипа Hw . Самцы с Hw не появились вовсе. Несколько меньшее количество самцов $y w^a f a f$ по сравнению с самками, которые в результате разрыва получили такой же фрагмент, зависит от сильного понижения жизнеспособности, вызванного совокупностью четырех мутаций. Полученные в этих экспериментах данные доказывают, что существует самостоятельный процесс элементарного разрыва или фрагментации, который может создать способные к репродукции хромосомы, поскольку самцы из указанных опытов, а также найденные при разрыве других линий сцепленных хромосом и имеющие, как теперь ясно, такую же структуру, — плодовиты.

Следовательно, феномен фрагментации должен быть добавлен к другим видам стойких хромосомных трансформаций. Фрагментация может быть, таким образом, причиной образования палочкообразных и J-образных хромосом из равноплечих, но в результате простого разрыва в клетке образуется только одна стабильная хромосома, другая будет лишена места прикрепления тянущей нити. При оценке роли фрагментации для эволюционных изменений числа хромосом трудность заключается, как видим, не в процессе появления стойких палочкообразных фрагментов, а в том, каким образом образуются две друг друга дополняющие группы сцепления из одной. Однако для растений и эта трудность не так велика, ввиду того, что они сохраняют плодовитость при гетеросомии.

В настоящем исследовании показано, таким образом, что способная к репродукции хромосома может образоваться в результате простой фрагментации, сопровождающейся потерей теломера. Вопрос о дальнейшей судьбе фрагментированных хромосом, о распределении разрывов в инертном и активном районах и другие будут рассмотрены в основном сообщении.

Институт экспериментальной биологии
Академии Наук СССР

Поступило
7 IX 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Bauer, ZS. Abstam. u. Vererb., 76, 309—322 (1940). ² B. P. Kaufmann, Proc. Nat. Ac. Sci., 19, 830—838 (1933). ³ H. J. Muller, The Bearings of Drosophila to Systematics, p. 209 (1939). ⁴ M. E. Neuhaus, ZS. Abstam. u. Vererb., 71, 265—275 (1936). ⁵ A. H. Sturtevant a. C. C. Tan, Journ. of Gen., 34, 415—432 (1937). ⁶ A. H. Sturtevant a. G. W. Beadle, Genetics, p. 79, Philadelphia (1939).