

ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННОГО ЛАМИНИНА НА КАРИОТИПИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ДВУХ КАРИОТИПИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ ИНДИЙСКОГО МУНТЖАКА

© Г. Г. Полянская, Т. С. Горячая, Г. П. Пинаев

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: poljansk@mail.cytspb.rssi.ru*

Исследована количественная и структурная кариотипическая изменчивость в «безмаркерной» клеточной линии фибробластов кожи индийского мунтжака (МТ) и в кариотипическом варианте этой линии МТ^Δ при культивировании клеток на поверхности, покрытой ламинином 2/4. Показано, что при культивировании клеточной линии МТ в среде с сывороткой на поверхности, покрытой ламинином, в течение 1, 2 и 3 сут при предварительной инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 или 1 ч характер распределения клеток по числу хромосом существенно изменяется по сравнению с контрольными вариантами. В контролях клетки культивировали на гидрофильной поверхности без ламининового субстрата. В обоих опытных вариантах изменение распределения клеток по числу хромосом происходит за счет значительного снижения частоты клеток с модалным числом хромосом и увеличения с меньшими числами хромосом; увеличивается количество новых дополнительных структурных вариантов кариотипа (СВК). Наблюдаемые изменения, по-видимому, связаны с нарушением правильной сегрегации хромосом и образованием новой, адаптивной, сбалансированной кариотипической структуры. При культивировании в этих же условиях кариотипического варианта МТ^Δ, отличающегося от МТ увеличенным количеством дицентриков (теломерных ассоциаций), характер распределения клеток по числу хромосом существенно не изменяется по сравнению с контрольными вариантами. При культивировании клеток линии МТ на поверхности, покрытой ламинином, 1, 2 и 3 сут при предварительной инкубации на этом субстрате в бессывороточной среде в течение 2.5 или 1 ч частота хромосомных aberrаций не увеличивается по сравнению с контрольными вариантами. Частота хромосомных aberrаций в клетках кариотипического варианта МТ^Δ в этих же условиях достоверно увеличивается по сравнению с контрольными вариантами только через 3 сут за счет увеличения частоты дицентриков. Полученные результаты подтверждают вывод о том, что дицентрики, подобно анеуплоидии, в «безмаркерных» линиях являются способом адаптации клеточной популяции к изменяющимся условиям среды. Обсуждаются возможные причины различий в количественной и структурной кариотипической изменчивости между клеточной линией МТ и ее кариотипическим вариантом МТ^Δ.

Ключевые слова: кариотипическая изменчивость, клеточная линия, белки внеклеточного матрикса, ламинин, структурный вариант кариотипа, хромосомные aberrации, дицентрики.

Известно, что для жизнедеятельности организма необходимо наличие сложных межтканевых и межклеточных взаимодействий на уровне генов и их продуктов. Известно, что клетки в тканях контактируют с сетью макромолекул, образующих внеклеточный матрикс. Матрикс способствует поддержанию многоклеточных структур и создает каркас, внутри которого клетки могут мигрировать и взаимодействовать друг с другом с помощью разных межклеточных соединений. По мере усложнения организации живых систем в процессе филогенеза животных развиваются их интегральные системы — нервная, гормональная и иммунная. Клеточные популяции в организме преимущественно имеют постоянный кариотип. Тем не менее в организме всегда присутствует кариотипическая изменчивость. Следует отметить, что для популяций соматических клеток *in vivo* частоты мутаций всех типов незначительны. Кариотипическая изменчивость в нормальных клеточных популяциях *in vivo* находится под

постоянным контролем интегральных систем организма и обусловлена межтканевыми и межклеточными взаимодействиями. Степень кариотипической изменчивости постоянно контролируется стабилизирующим отбором, смысл которого состоит в поддержании нормы над возможными нарушениями.

При переводе клеток в состояние *in vitro* значительно нарушаются условия их существования, и прежде всего исключается контроль со стороны систем организма. Основными типами клеточного взаимодействия в культуре становятся физический контакт между клетками и клеток с субстратом, а также химическая связь через метаболиты в ростовой среде. Эти взаимодействия объединяют клетки, составляющие клеточную популяцию *in vitro*, в единую автономную систему. Межклеточные контакты осуществляют как структурные, так и функциональные связи между клетками. Важным типом межклеточных соединений являются щелевые контакты, которые составля-

ют основу «метаболической кооперации» (Subak-Sharpe et al., 1966; Cox et al., 1972; Hooper, Subak-Sharpe, 1981).

Для образования постоянных клеточных линий и их длительного существования вне организма необходима адаптация клеточной линии к условиям *in vitro*. Процесс адаптации выражается, в частности, в определенных количественных и структурных изменениях кариотипа, в результате чего создается сбалансированная кариотипическая структура, обеспечивающая оптимальный генный баланс в клеточной популяции *in vitro* как целостной системе. Сбалансированная кариотипическая структура клеточной линии имеет следующие характеристики: 1) определенный набор маркерных хромосом («маркерные» линии) или соответствие кариотипу донора («безмаркерные» линии); 2) выраженная в большей или меньшей степени частота клеток с модальным числом хромосом; 3) определенная частота клеток с другими числами хромосом; 4) определенные пределы изменчивости по числу хромосом (Захаров и др., 1966; Мамаева и др., 1986; Филатов и др., 1988; Мамаева, 1996; Полянская, Вахтин, 2003). Клетки с выраженным числом хромосом имеют преобладающий структурный вариант кариотипа (СВК — число гомологичных хромосом каждого морфологического типа) и дополнительные СВК (Полянская и др., 1981; Полянская, 2000).

Клеточные популяции *in vitro* являются динамичными системами и, лишившись многоступенчатого организменного контроля, в значительной степени подвержены влиянию внешних факторов, которые способствуют усилению кариотипической изменчивости. Первопричиной всех наблюдаемых кариотипических изменений, безусловно, являются различные изменения в клеточном метаболизме, обусловленные нарушениями в проведении сигналов с поверхности клеток в ядро.

Так, например, известно, что большая часть видов микоплазм прикрепляется к мембране клетки хозяина, не проникая внутрь, и нарушает целостность мембраны, что вызывает нарушения функционирования мембранных рецепторов, способствующих возникновению цито- и генотоксических эффектов в клетке хозяина. Иногда, не прикрепляясь к мембране, а просто находясь в среде, микоплазмы также приводят к негативным эффектам в клетках (Борхсениус и др., 2002). Нами, как и многими другими исследователями, было показано существенное влияние микоплазменной контаминации на кариотипическую изменчивость в разных клеточных линиях (Полянская, Ефремова, 1992, 1993, 1996, 2000; Полянская и др., 1994, 1998, 2000). Показана важная роль сыворотки как одного из основных компонентов ростовой среды в характере кариотипической изменчивости разных клеточных линий (Исаенко и др., 1990; Полянская и др., 1993). О наличии связи между свойствами клеточной поверхности и кариотипической структурой свидетельствует ряд косвенных данных о влиянии смены способа культивирования клеток (статического, роллерного, суспензионного и монослойного) на структурные и количественные изменения кариотипа клеточной популяции (Nielsen, 1972; Семенова и др., 1984; Литвинчук и др., 1986; Царева и др., 1990; Amadori, Berneri, 1993).

Многочисленные экспериментальные данные делают очевидным наличие функциональной связи между взаимодействием белков внеклеточного матрикса (ВКМ) с рецепторами и кариотипической изменчивостью. Известно, что клетки растут на субстрате, покрытом ВКМ, состоящим из разных белков, синтезируемых самими клетками.

Белки ВКМ, взаимодействуя с локализованными на поверхности клеточной мембраны рецепторами, оказывают существенное влияние на важнейшие функции клеток — миграцию, форму, полярность, пролиферацию, дифференцировку и злокачественную трансформацию (Paranko et al., 1983; Freeman et al., 1991; Stallmach et al., 1994; McKeever et al., 1995; Basson et al., 1996; Blake et al., 1997; Ziober et al., 1999; Aframian et al., 2000; Are et al., 2001; Kiosses et al., 2001; Mitsumoto et al., 2001; Xu et al., 2001; Mostafavi-Pour et al., 2003; Amit et al., 2004; Ahmed et al., 2005; Klimanskaya et al., 2005; Kato et al., 2006; Koenig et al., 2006; Wang, Milner, 2006). Некоторые генетические синдромы, связанные с анеупloidией по некоторым хромосомам, способствуют нарушению синтеза ВКМ, приводя к спонтанным абортam (Belkin et al., 1985; Delvig et al., 1987; Brand-Sabery et al., 1994).

Исходя из перечисленных аспектов влияния белков ВКМ на клеточные процессы и учитывая отсутствие данных об их роли в кариотипической изменчивости, нами было начато исследование влияния разных субстратов, на которых культивируются клетки, на кариотипическую изменчивость клеточных линий. Мы получили результаты, демонстрирующие усиление количественной и структурной кариотипической изменчивости при культивировании клеток на поверхности, покрытой ламинином 2/4 или фибронектином, по сравнению с контролями, в которых клетки культивировали на поверхности, не покрытой белками ВКМ, что, безусловно, свидетельствует о наличии связи между взаимодействием белков ВКМ с рецепторами и стабильностью кариотипической структуры (Полянская и др., 2002, 2003а, 2003б, 2005, 2007).

Анализ полученных результатов поставил перед нами ряд вопросов. 1. Является ли причиной наблюдаемых кариотипических изменений предпочтительная первичная адгезия клеток с разными кариотипами на соответствующий субстрат или наблюдаемые эффекты связаны с длительностью экспозиции клеток на субстрате, в данном случае на ламинине 2/4, т. е. временем связывания соответствующих мембранных рецепторов с белком ВКМ? 2. Будут ли наблюдаться различия в характере кариотипических изменений в разных кариотипических (генетических) вариантах исследуемой «безмаркерной» линии фибробластов кожи индийского мунджака (МТ) при культивировании на ламинине 2/4? Решение этих вопросов представляет специальный интерес в связи со спецификой этих вариантов. Один вариант — это линия МТ, в которой модальное число хромосом равно 9, а второй — та же линия, но с существенным увеличением частоты клеток с дицентриками (теломерными ассоциациями). Необходимо подчеркнуть, что ранее на большом экспериментальном материале нами было показано, что «безмаркерные» клеточные популяции могут адаптироваться к условиям *in vitro* двумя способами: образованием дицентриков и стабилизацией определенных количественных характеристик (Полянская, 2000).

Материал и методика

Иммортализованная «безмаркерная» линия фибробластов кожи индийского мунджака (МТ) была получена из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН. Модальное число хромосом равно 9. Кариотип линии МТ отличается от кариотипа донора числом гомологичных хромосом, а именно: у

Таблица 1

Варианты культивирования клеток	
Вариант опыта	Условия культивирования
2.5Лам, 1Лам	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофобной поверхности, покрытой ламинином (подробности в тексте)
К _{общ.}	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофильной поверхности
К ₂	Клетки, постоянно культивировавшиеся в среде сывороткой на гидрофильной поверхности (используемой для рутинного культивирования клеток), при предварительной инкубации на этой поверхности в бессывороточной среде 2.5 ч (2.5К ₂) или 1 ч (1К ₂)
К ₁	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофобной поверхности (отличающейся от гидрофильной отсутствием заряда), при предварительной инкубации на этой поверхности в бессывороточной среде 1 ч

донора и соответственно у линии М, полученной из этого донора, число хромосом равно 7. Из линии МТ был спонтанно получен кариотипический вариант (МТ^а), характеризующийся большой частотой встречаемости дицентриков (теломерных ассоциаций). Клетки культивировали в среде F10 с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки.

Для анализа влияния белка ВКМ — ламинина 2/4 — на кариотипическую изменчивость в течение 1, 2 и 3 сут клетки из субмоноклона снимали с гидрофильной поверхности пластиковых чашек смесью 0.25%-ного трипсина с 0.02%-ным версеном (1 : 3), центрифугировали и помещали на покрывную ламинином гидрофобную поверхность в бессывороточную среду на 2.5 ч (вариант 2.5Лам) или на 1 ч (вариант 1Лам) для специфического связывания рецепторов клеточной поверхности с ламинином. Перед высевом клеток ламинин в концентрации 20 мкг/мл наносили на поверхность гидрофобных чашек, инкубировали 1 ч при 37 °С и промывали фосфатно-солевым буфером. Затем сливали не прикрепившиеся к поверхности клетки вместе с бессывороточной средой и добавляли среду с сывороткой, в которой продолжали культивировать клетки. Параллельно анализировали контрольные варианты, в которых клетки культивировали на гидрофильной и гидрофобной поверхностях без ламининового субстрата (табл. 1).

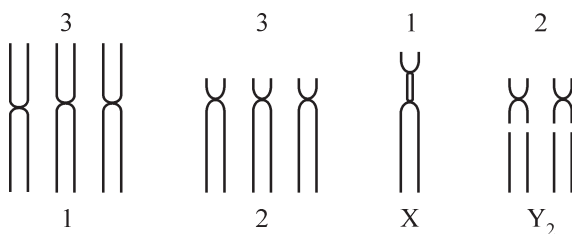


Рис. 1. Основной структурный вариант кариотипа (СВК) клеток линии МТ: 3 + 3 + 1 + 2.

Арабские цифры внизу — номера хромосом, латинские буквы — нomenclatura половых хромосом, арабские цифры сверху — число гомологичных хромосом одного морфологического типа, составляющих СВК.

Для получения препаратов метафазных хромосом за 4 ч до фиксации клеток в культуру вводили коллемеид (0.1 мкг/мл), снимали клетки с субстрата смесью трипсина и версена (1 : 3), проводили гипотоническую обработку смесью 0.075 М раствора КСl и 1%-ного раствора цитрата натрия (1 : 1) и фиксировали смесью метанола с ледяной уксусной кислотой (3 : 1). Хромосомы окрашивали водным раствором Гимза (1 : 50). Анализировали распределение клеток по числу хромосом. При изложении результатов приводятся формулы СВК (рис. 1), в которых указано число гомологичных хромосом каждого морфологического типа (Полянская, 1988). Хромосомные aberrации учитывали метафазным методом. Регистрировали количество и типы хромосомных aberrаций.

Результаты обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента и критерия χ^2 . Различия считали достоверными при вероятности нулевой гипотезы $P < 0.01$.

Результаты и обсуждение

Анализ количественной кариотипической изменчивости в клеточной линии МТ. Результаты по исследованию влияния ламининового субстрата на распределение клеток по числу хромосом при культивировании в течение 1, 2 и 3 сут представлены на рис. 2. Из рисунка следует, что в контрольных вариантах распределения клеток по числу хромосом совпадают (рис. 2, *в1—в3*, *г1*, *г2*, *д1*, *д3*). Оценка по критерию χ^2 показала, что $P > 0.05$. Частоты встречаемости клеток с модальным числом хромосом, равным 9, во всех вариантах достоверно не различаются между собой. В связи с отсутствием достоверных различий между контрольными вариантами, результаты опытных вариантов 2.5Лам и 1Лам мы будем сравнивать с объединенным контролем К (К₂ + К_{общ.}; см. табл. 1).

При культивировании клеток в течение 1, 2 и 3 сут на субстрате, покрытом ламинином, характер распределения клеток по числу хромосом существенно меняется, причем изменения имеют одинаковый характер при предварительной инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 или 1 ч. Так, наблюдаемые изменения общего характера распределения клеток по числу хромосом по сравнению с объединенным контролем имеют следующие параметры: через 1 сут $\chi^2 = 23.1$ и 19.2 соответственно, $P < 0.01$ (рис. 2, *а1—д1*); через 2 сут $\chi^2 = 33.6$ и 25.8 соответственно, $P < 0.01$ (рис. 2, *а2—г2*); через 3 сут $\chi^2 = 28.3$ и 15.8 соответственно, $P < 0.01$ (рис. 2, *а3—г3*, *д3*). В обоих опытных вариантах (2.5Лам и 1Лам) имеет место значительное снижение частоты клеток с модальным числом хромосом, равным 9, по сравнению с объединенным контролем (К). Так, ее значения равны: через 1 сут — $45.5 \pm 4.7\%$ (2.5Лам), $48.8 \pm 3.0\%$ (1Лам) и $62.0 \pm 2.3\%$ (К), $P < 0.01$; через 2 сут — $41.6 \pm 3.6\%$ (2.5Лам), $43.7 \pm 4.2\%$ (1Лам) и $62.4 \pm 2.8\%$ (К), $P < 0.01$; через 3 сут — $38.7 \pm 3.9\%$ (2.5Лам), $43.1 \pm 3.9\%$ (1Лам) и $58.2 \pm 2.7\%$ (К), $P < 0.01$. Наблюдаемое снижение клеток с модальным числом хромосом сопровождается существенным увеличением частоты клеток с меньшими числами хромосом. Сравнение частоты встречаемости клеток с 3—5 хромосомами в вариантах 2.5Лам и 1Лам показало отсутствие достоверных различий между ними ($P > 0.05$). Поэтому результаты двух опытных вариантов были объединены. Так, значения частот составляют: через 1 сут — 11.4 ± 1.6 (2.5Лам +

1Лам) и 4.8 ± 1.2 % (К); через 2 сут — 11.4 ± 1.8 (2.5Лам + 1Лам) и 3.9 ± 1.4 % (К); через 3 сут — 15.6 ± 2.0 (2.5Лам + 1Лам) и 6.0 ± 1.3 % (К); $P < 0.01$.

Культивирование клеток на гидрофобной поверхности (K_1) в течение 3 сут при предварительной инкубации на этом субстрате в бессывороточной среде в течение 1 ч не приводит к изменению распределения клеток по числу хромосом по сравнению с объединенным контролем ($\chi^2 = 4.4$, $P > 0.05$; рис. 2, $\epsilon 3$, $\delta 3$, $\epsilon 3$). Частота встречаемости клеток с модальным числом хромосом соответствует уровню контроля и составляет 57.5 ± 3.5 %. Ранее в многочисленных экспериментах было показано, что предварительная инкубация в бессывороточной среде в течение 2.5 ч также не изменяет указанные характеристики по сравнению с контролями (Полянская и др., 2002, 2003а, 2005, 2007).

Анализ распределения индивидуальных хромосом показал, что большинство клеток с модальным числом хромосом в опытных и контрольных вариантах имеют основной СВК 3 + 3 + 1 + 2 (рис. 1), встречающийся с одинаковой частотой (в опытных вариантах — 98.9 ± 0.5 , в контрольных — 98.5 ± 0.5 %). Приведены суммарные данные по всем опытным и контрольным вариантам, так как достоверных различий между отдельными вариантами не обнаружено. Следовательно, усиления гетерогенности в клетках с модальным числом хромосом при культивировании на ламинине в течение 3 сут по сравнению с контролем не происходит. В процессе культивирования на ламинине наблюдается появление новых типов дополнительных СВК. Так, через 2 сут число разных типов дополнительных СВК в клетках с 3—5 хромосомами в контроле равно 6, а в опыте — 22, через 3 сут в контроле — 10, а в опыте — 20. Полученные результаты по характеру количественной кариотипической изменчивости при инкубации клеток на ламинине в бессывороточной среде в течение 2.5 ч и дальнейшем культивировании в среде с сывороткой подтвердили данные, полученные ранее на линии М, фибробластов кожи индийского мунджака и кариотипическом варианте этой линии М' (Полянская и др., 2002). Существенно, что при инкубации в бессывороточной среде 1 и 2.5 ч наблюдается одинаковый результат; это означает отсутствие связи между полученным эффектом и длительностью инкубации в этих временных пределах, т. е. временем связывания соответствующих мембранных рецепторов с данным белком ВКМ. 1 ч взаимодействия белков ВКМ с поверхностными рецепторами уже достаточен, чтобы запустить процессы, нарушающие правильную сегрегацию хромосом. Асинхронность прохождения клеточными популяциями *in vitro* стадий клеточного цикла уже в первом митотическом делении позволяет выявить кариотипические изменения, которые неизменны в течение 3 сут. Ранее такие же изменения наблюдали в течение 14 сут. Причем снятие клеток с поверхности, покрытой ламинином, и дальнейшее культивирование их на гидрофильной поверхности в течение 2 сут не привели к восстановлению контрольного распределения клеток по числу хромосом (Полянская и др., 2002). Удлинение же срока культивирования до 5 сут восстанавливает контрольное распределение клеток по числу хромосом при использовании в качестве субстрата фибронектина (Полянская и др., 2005).

При культивировании клеток в течение 2.5 или 1 ч в бессывороточной среде наблюдали почти 100%-ное прикрепление клеток к иммобилизованному ламинину. Поэтому нам не удалось получить вариант клеток, не прикре-

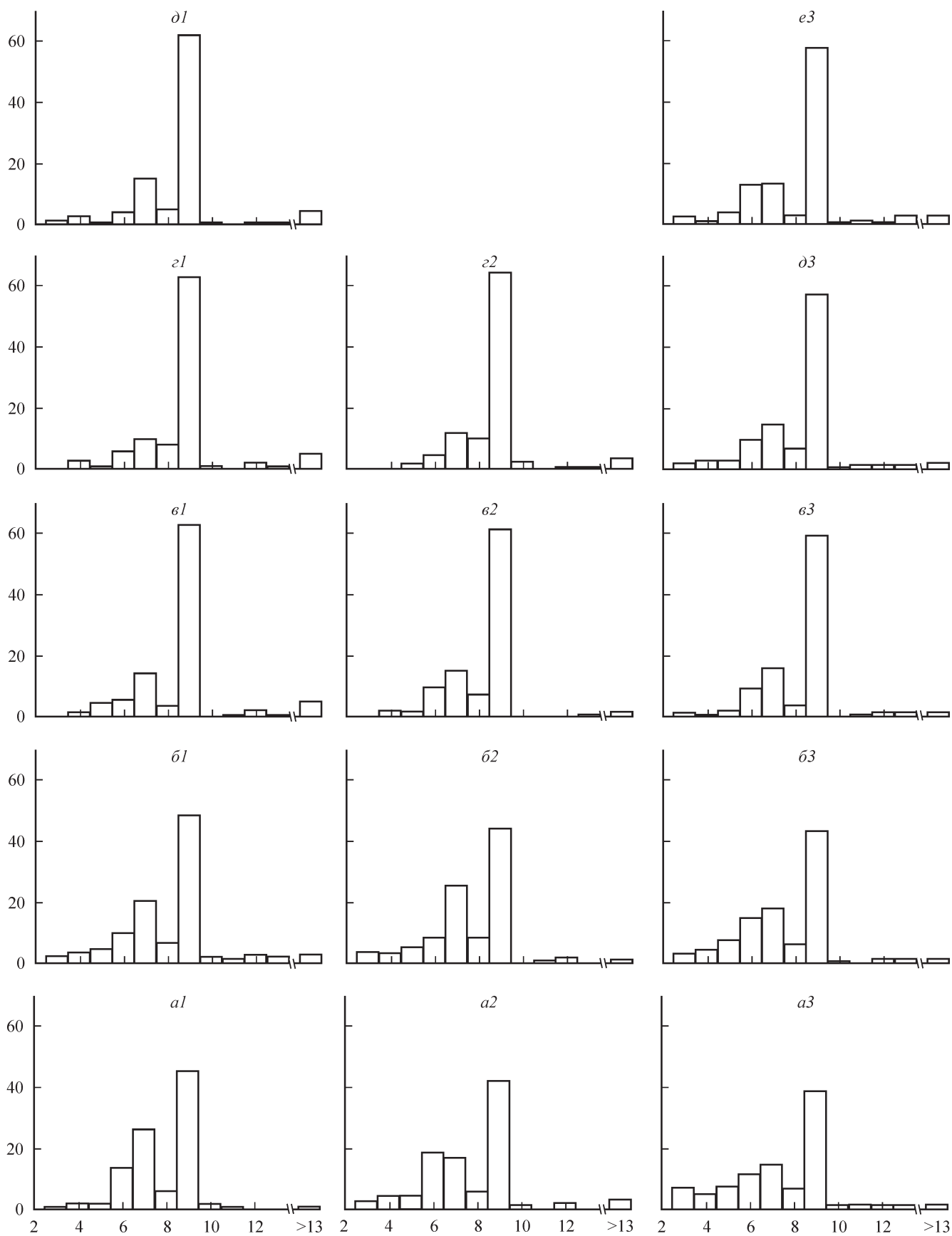
пившихся к субстрату, которые культивировались бы в дальнейшем на гидрофильной поверхности, а именно: получение в предыдущих исследованиях в этом варианте контрольного распределения клеток по числу хромосом являлось косвенным подтверждением точки зрения о предпочтительной адгезии клеток с определенными кариотипами на белковый субстрат (Полянская и др., 2002, 2003а, 2007). Возможно, что количество прикрепившихся клеток к субстрату зависит от физиологического состояния клеточной популяции. Поэтому полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют скорее в пользу предположения о запуске метаболических процессов, нарушающих правильную сегрегацию хромосом и способствующих образованию новой, адаптивной, сбалансированной кариотипической структуры. Ряд данных по исследованию функционального состояния микротрубочек косвенно свидетельствует о возможной связи между взаимодействием белков внеклеточного матрикса с рецепторами и стабильностью кариотипической структуры (Фрейдлин и др., 1988; Mooney et al., 1994; Rosette, Karin, 1995; Домнина и др., 1996; Zhou, Rabinovitch, 1998; Tang, Goldberg, 2000; Waterman-Storer et al., 2000; Putnam et al., 2001; Sablina et al., 2001).

Анализ количественной кариотипической изменчивости в кариотипическом варианте МТ^а. Результаты по исследованию влияния субстрата, покрытого ламинином, на распределение клеток по числу хромосом при культивировании в течение 1, 2 и 3 сут представлены на рис. 3. Из этих данных следует, что в контрольных вариантах (рис. 3, $\epsilon 1$ — $\epsilon 3$, $\epsilon 2$, $\delta 3$) распределения клеток по числу хромосом совпадают. Оценка по критерию χ^2 показала, что $P > 0.05$. Частоты встречаемости клеток с модальным числом хромосом, равным 9, во всех вариантах не различаются между собой. В связи с отсутствием достоверных различий между контрольными вариантами в МТ^а результаты опытных вариантов мы будем сравнивать с объединенным контролем.

При культивировании клеток в течение 1, 2 и 3 сут на субстрате, покрытом ламинином, характер распределения клеток по числу хромосом не меняется по сравнению с объединенным контролем при инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 и 1 ч: через 1 сут $\chi^2 = 5.6$ и 9.4 соответственно, $P > 0.05$ (рис. 3, $a 1$ — $a 1$); через 2 сут $\chi^2 = 5.2$ и 9.4 соответственно, $P > 0.05$ (рис. 3, $a 2$ — $a 2$); через 3 сут $\chi^2 = 7.4$ и 10.2 соответственно, $P > 0.05$ и 0.01 (рис. 3, $a 3$ — $a 3$, $\delta 3$). Частоты встречаемости клеток с модальным числом хромосом и клеток с меньшими числами хромосом не различаются между опытными и контрольными вариантами (рис. 3, $a 1$ — $a 3$, $b 1$ — $b 3$, $\epsilon 1$ — $\epsilon 3$, $\epsilon 2$, $\delta 3$).

Анализ распределения индивидуальных хромосом показал, что большинство клеток с модальным числом хромосом в опытных и контрольных вариантах имеет основной СВК 3 + 3 + 1 + 2 (рис. 1), встречающийся с одинаковой частотой (в опытных вариантах — 98.2 ± 0.6 , в контрольных — 97.8 ± 0.9 %). Приведены суммарные данные по всем опытным и контрольным вариантам, так как достоверных различий между отдельными вариантами не обнаружено. Таким образом, в отличие от линии МТ никаких изменений в характере количественной кариотипической изменчивости в кариотипическом варианте МТ^а не обнаружено.

Известно, что количественные кариотипические характеристики разных клеточных линий различаются по своей устойчивости к одним и тем же воздействиям. В ча-



стности, нами было установлено, что культивирование в течение нескольких суток на ламинине и фибронектине клеточной линии почки кенгуровой крысы NBL-3-11 не привело к изменению количественных характеристик по сравнению с контрольными вариантами, тогда как эти же условия привели к усилению количественной кариотипической изменчивости в линии NBL-3-17. Эти линии различаются между собой количеством гомологичных хромосом: NBL-3-17 — гипотриплоид, NBL-3-11 — гиподиплоид с моносомией по одной аутосоме (Полянская и др., 2003а, 2007). Ранее с использованием цитогенетических методов и полимеразной цепной реакции со случайными праймерами было показано, что кариотипы этих двух линий сходны по первичной структуре ДНК и различаются только по числу гомологичных хромосом (Полянская, 1988; Полянская и др., 2003а).

Исследуемые в настоящей работе линия MT и вариант MT^Δ также различаются между собой по кариотипической структуре, но характер различий иной, а именно: несмотря на одно и то же модальное число хромосом и одинаковые пределы изменчивости по числу хромосом, контрольные распределения в MT и MT^Δ достоверно различаются ($\chi^2 = 28.6$, $P < 0.01$) за счет существенного ($P < 0.01$) увеличения частоты клеток с 8 хромосомами в MT^Δ, связанного с наличием дицентриков (теломерных ассоциаций). Частота дицентриков в MT^Δ 15.0 ± 1.6 , а в MT — 1.9 ± 0.4 % ($P > 0.05$). Таким образом, между этими вариантами имеются существенные различия не только по количественным, но и по структурным характеристикам.

Анализ структурной кариотипической изменчивости в клеточной линии MT и кариотипическом варианте MД^Δ. Количественная и структурная кариотипические изменчивости взаимосвязаны между собой, являясь составляющими одного процесса — адаптации клеточных популяций к условиям *in vitro*. Основываясь на целостности процесса адаптации клеточных культур *in vitro*, мы провели исследование структурной кариотипической изменчивости в опытных и контрольных вариантах клеток MT и MT^Δ.

Из данных, представленных в табл. 2, следует, что никаких различий ни по общей частоте хромосомных aberrаций, ни по частоте дицентриков при культивировании в течение 3 сут при предварительной инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 и 1 ч нет. Эти результаты совпадают с ранее полученными на линии M и кариотипическом варианте M' фибробластов кожи индийского мунджака (Полянская и др., 2002). Иная картина имеет место в клетках кариотипического варианта MT^Δ. Так, при культивировании клеток в течение 1 и 2 сут на ламинине после инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 или 1 ч никаких изменений по общей частоте хромосомных aberrаций и по частоте дицентриков не обнаружено по сравнению с контролем. В опытных и контрольных ва-

риантах частота хромосомных aberrаций существенно выше, чем в клетках MT, в большой степени за счет увеличения частоты дицентриков (табл. 2). Доля дицентриков в общем количестве хромосомных aberrаций составляет около 70.0 % (22.4 % — частота хромосомных aberrаций всех типов по всем вариантам при культивировании в течение 1 и 2 сут и 15.3 % — средняя частота дицентриков в этих же вариантах). При культивировании на ламинине в течение 3 сут после предварительной инкубации в бессывороточной среде в течение 2.5 или 1 ч наблюдается достоверное повышение частоты дицентриков по сравнению с контрольным вариантом. Частота других типов хромосомных aberrаций не изменяется по сравнению с контролем. Так, в объединенном контрольном варианте (1—3 сут) эта частота составляет 5.4 ± 1.0 %, а в опытных вариантах (2.5Лам и 1Лам) при культивировании в течение 3 сут — 5.0 ± 1.2 %; $P > 0.05$. Доля дицентриков в общей частоте хромосомных aberrаций в этих вариантах составляет 85.0 %.

Эти результаты подтверждают ранее сделанный вывод о том, что при культивировании «безмаркерных» клеточных линий в разных условиях отсутствует постоянная взаимосвязь между дицентриками и другими типами хромосомных aberrаций. Повышение уровня дицентриков не влечет за собой повышения уровня других aberrаций. Показано также, что в образовании дицентриков участвуют определенные хромосомы и их сочетания (Полянская, 2000; Полянская, Вахтин, 2003; Полянская и др., 2003б, 2005, 2007). Подобный результат наблюдается и в настоящем исследовании. В связи с отсутствием принципиальных различий между всеми исследованными вариантами мы объединяем данные по частоте участия хромосом в образовании дицентриков: хромосома 2 — 86.5 %, хромосома X — 62.0, хромосома 1 — 48.0, хромосома Y₂ — 4.2, хромосома Y₁ — 0.0 %.

В табл. 3 представлены результаты по частоте встречаемости 7 сочетаний хромосом, наблюдаемых при образовании дицентриков в разных вариантах опыта. Из данных табл. 3 видно, что наиболее частым сочетанием хромосом является сочетание (2 + X), которое достоверно увеличивается в вариантах 2.5Лам и 1Лам при культивировании в течение 3 сут. Следует отметить, что появление дицентриков при культивировании «безмаркерных» линий — процесс спонтанный, т. е. не всегда контролируемый определенными условиями культивирования. Так, например, наблюдали появление значительного количества дицентриков при длительном культивировании клеточных линий почки кенгуровой крысы NBL-3-11 и NBL-3-17 (Levan, 1970; Полянская, Ефремова, 1996). В клеточных линиях фибробластов кожи индийского мунджака также иногда наблюдается всплеск количества дицентриков, который мы и обнаружили в кариотипическом варианте MT^Δ. Многолетние исследования свойств дицентриков позволили сделать вывод о том, что

Рис. 2. Распределение по числу хромосом клеток линии MT при культивировании на ламининовом субстрате в течение 1, 2 и 3 сут.

По горизонтали — число хромосом в клетке; по вертикали — частота встречаемости клеток, %. Клетки культивировали в течение 1 (a1—d1), 2 (a2—e2) и 3 (a3—e3) сут. a — клетки постоянно культивировали в среде с сывороткой на гидрофобной поверхности, покрытой ламинином, при предварительной инкубации в бессывороточной среде 2.5 ч (2.5Лам); б — клетки постоянно культивировали в среде с сывороткой на гидрофобной поверхности, покрытой ламинином, при предварительной инкубации в бессывороточной среде 1 ч (1Лам); в — клетки постоянно культивировали на гидрофильной поверхности (K_{общ.}); г — клетки постоянно культивировали на гидрофильной поверхности в среде с сывороткой при предварительной инкубации в бессывороточной среде 2.5 ч (2.5K₂); д — клетки постоянно культивировали на гидрофильной поверхности в среде с сывороткой при предварительной инкубации в бессывороточной среде 1 ч (K₂); e — клетки постоянно культивировали в среде с сывороткой на гидрофобной поверхности при предварительной инкубации в бессывороточной среде 1 ч (K₁).

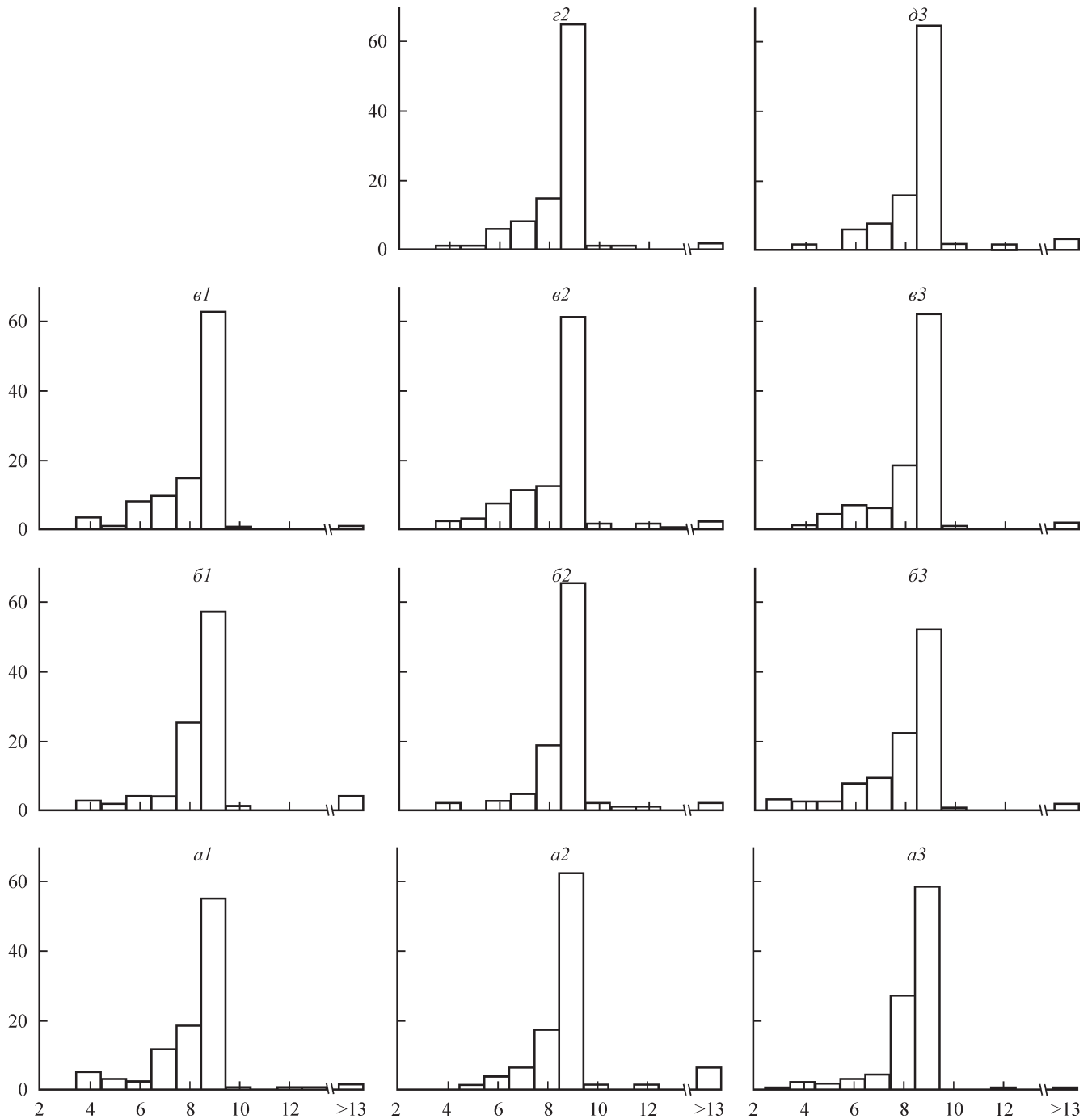


Рис. 3. Распределение по числу хромосом клеток в кариотипическом варианте MT^a при культивировании на ламининовом субстрате в течение 1, 2 и 3 сут.

По горизонтали — число хромосом в клетке; по вертикали — частота встречаемости клеток, %. Обозначения те же, что и на рис. 2.

их возникновение является ответом клеточной популяции на неблагоприятные, измененные условия культивирования. Дицентрики, подобно анеуплоидии, в «безмаркерных» линиях являются способом адаптации клеточной популяции к изменяющимся условиям *in vitro*, так как способствуют изменению генной экспрессии (Полянская, Вахтин, 2003). Наличие повышенного количества дицентриков в контрольных вариантах предотвратило усиление кариотипической изменчивости при культивировании клеточной популяции на необычном для нее субстрате в течение 2 сут. Через 3 сут, по-видимому, из-

менения, происходящие в клетках, усилились, и потребовался новый ответ популяции, который выразился в увеличении частоты дицентриков без увеличения числа других типов хромосомных aberrаций и усиления анеуплоидии, причем увеличилось количество именно того типа дицентриков, который преобладал в контрольных вариантах.

Таким образом, полученные результаты подтвердили точку зрения об адаптивной роли дицентриков. Они образованы преимущественно определенными хромосомами и могут варьировать по частоте встречаемости в зави-

Таблица 2

Влияние лиминина на частоту хромосомных aberrаций в клеточной линии МТ и в ее кариотипическом варианте МТ^А

Вариант опыта	Клеточная культура	Длительность культивирования, сут	Число проанализированных клеток	Частота хромосомных aberrаций всех типов, %, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Частота дицентриков без двойных фрагментов, %, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
2.5Лам	МТ	1	110	4.5 ± 2.0	1.8 ± 1.3
1Лам		1	280	2.1 ± 0.8	0.7 ± 0.5
К		1	435	4.5 ± 1.0	2.5 ± 0.7
2.5Лам		2	190	1.6 ± 0.9	1.0 ± 0.7
1Лам		2	135	1.4 ± 1.0	1.4 ± 1.0
К		2	290	3.8 ± 1.1	1.7 ± 0.8
2.5Лам		3	155	5.7 ± 1.9	2.6 ± 1.3
1Лам		3	160	3.1 ± 1.4	1.2 ± 0.9
К		3	325	1.8 ± 0.7	0.6 ± 0.4
К ₁	3	190	2.6 ± 1.2	0.5 ± 0.5	
2.5Лам	МТ ^А	1	120	27.5 ± 4.1	18.3 ± 3.5
1Лам		1	190	26.8 ± 3.2	17.9 ± 2.8
К		1	125	20.0 ± 3.6	15.2 ± 3.2
2.5Лам		2	80	20.0 ± 4.5	12.5 ± 3.7
1Лам		2	115	21.7 ± 3.8	14.9 ± 3.3
К		2	155	18.1 ± 3.1	13.0 ± 2.7
2.5Лам		3	160	34.4 ± 3.8 ^а	29.4 ± 3.6 ^а
1Лам		3	190	33.3 ± 3.4 ^а	28.0 ± 3.2 ^а
К		3	190	21.6 ± 3.0	15.3 ± 2.6

^а Достоверно отличается от значений в контролях ($P < 0.01$).

симости от условий культивирования. Предположение о том, что в процессе культивирования на ламининовом или фибронектиновом субстрате изменения в клеточном метаболизме могут прогрессировать, косвенно подтверждается данными о том, что усиление количественной кариотипической изменчивости в некоторых случаях обнаруживается или усиливается только через несколько суток после начала воздействия (Полянская и др., 2003а, 2005).

Полученные результаты свидетельствуют о существенных различиях в характере кариотипических изменений в разных кариотипических (генетических) вариантах исследуемой «безмаркерной» линии фибробластов кожи индийского мунтжака при культивировании на ламинине 2/4. Ранее также был показан разный характер количественной и структурной кариотипической изменчивости в

гиподиплоидной и гипотриплоидной линиях почки кенгуровой крысы при культивировании на ламинине и фибронектине (Полянская и др., 2003а, 2007). Таким образом, полученные данные подтверждают наличие зависимости характера кариотипических изменений при одном и том же воздействии от структуры кариотипа конкретной клеточной линии. Соответственно одно и то же воздействие может по-разному влиять и на другие свойства клеток разных линий.

Таблица 3

Частота сочетаний определенных хромосом, наблюдаемых при образовании дицентриков в кариотипическом варианте МТ^А

Вариант опыта	Число клеток	Частота сочетания хромосом						
		2 + X	1 + X	2 + 2	1 + 1	1 + 2	2 + Y ₂	X + Y ₂
К (1—3 сут)	470	4.5 ± 1.0	1.9 ± 0.6	1.5 ± 0.5	1.3 ± 0.5	0.7 ± 0.4	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1
2.5Лам+1Лам (1—2 сут)	500	5.2 ± 1.0	2.8 ± 0.7	2.0 ± 0.6	1.0 ± 0.4	2.2 ± 0.6	1.0 ± 0.4	0.0 ± 0.2
2.5Лам+1Лам (3 сут)	350	12.0 ± 1.7 ^а	4.0 ± 1.0	3.1 ± 0.9	1.1 ± 0.6	4.0 ± 1.0	0.6 ± 0.4	0.0 ± 0.3

^а Достоверно отличается от контрольных значений ($P < 0.01$).

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы поддержки ведущих научных школ (НШ-7852.2006.4).

Список литературы

- Борхсениус С. Н., Чернова О. А., Чернов В. М., Вонский М. С.* 2002. Микоплазмы. СПб.: Наука. 319 с.
- Домнина Л. В., Иванова О. Ю., Васильев Ю. М.* 1996. Влияние микротрубочек на морфологию монослоя фибробластов и его внеклеточный матрикс. *Цитология*. 38 (3) : 300—304.
- Захаров А. Ф., Какпакова Е. С., Егорова Н. А.* 1966. Взаимоотношение числовой и структурной изменчивости кариотипа в культивируемых клетках китайского хомячка. *Цитология*. 8 (2) : 193—201.
- Исаенко А. А., Немцов Ю. В., Царева А. А.* 1990. Исследование кариотипа клеток почки африканской зеленой марьшанки линии 4647, длительно культивируемых в средах с различными сыворотками. *Цитология*. 32 (7) : 736—740.
- Литвинчук Л. Ф., Мамаева С. Е., Ковтунович И. Г., Пинаев Г. П.* 1986. Кариотип постоянных клеточных линий. Изменчивость кариотипа М HeLa при статическом и роллерном способах культивирования. *Цитология*. 28 (1) : 56—61.
- Мамаева С. Е.* 1996. Закономерности кариотипической эволюции клеток в культуре. *Цитология*. 38 (8) : 787—814.
- Мамаева С. Е., Литвинчук Л. Ф., Пинаев Г. П.* 1986. Характеристика кариотипа постоянных клеточных линий. II. Изменчивость и сбалансированность хромосомного набора клеток М-HeLa. *Цитология*. 28 (2) : 193—203.
- Полянская Г. Г.* 1988. Кариотипическая характеристика клеточных сублиний почки кенгуровой крысы и фибробластов кожи индийского мунтжака. *Цитология*. 30 (6) : 732—738.
- Полянская Г. Г.* 2000. Закономерности кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных условиях. *Успехи соврем. биол.* 120 (6) : 529—539.
- Полянская Г. Г., Абрамян Д. С., Глебов О. К.* 1981. Кариотипическая структура клоновых популяций клеток китайского хомячка при длительном культивировании. *Цитология*. 23 (7) : 818—830.
- Полянская Г. Г., Вахтин Ю. Б.* 2003. The karyotypic structure of cell populations *in vitro* as integral system. *Цитология*. 45 (2) : 115—131.
- Полянская Г. Г., Горячая Т. С., Михайлова Н. А., Пинаев Г. П.* 2003а. Влияние ламинина на количественную кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология*. 45 (10) : 1038—1047.
- Полянская Г. Г., Горячая Т. С., Пинаев Г. П.* 2002. Влияние ламинина на кариотипическую изменчивость в клеточной линии фибробластов кожи индийского мунтжака. *Цитология*. 44 (5) : 491—498.
- Полянская Г. Г., Горячая Т. С., Пинаев Г. П.* 2003б. Влияние ламинина на структурную кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология*. 45 (10) : 1048—1053.
- Полянская Г. Г., Горячая Т. С., Пинаев Г. П.* 2005. Влияние иммортализованного фибронектина на кариотипическую изменчивость в клеточной сублинии фибробластов кожи индийского мунтжака. *Цитология*. 47 (10) : 925—932.
- Полянская Г. Г., Горячая Т. С., Пинаев Г. П.* 2007. Влияние иммобилизованного фибронектина на кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология*. 49 (3) : 319—228.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н.* 1992. Влияние микоплазменной контаминации на кариотипическую структуру клеточной линии индийского мунтжака. *Цитология*. 34 (3) : 82—88.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н.* 1993. Влияние микоплазменной контаминации и деконтаминации с помощью ципрофлоксацина на кариотипическую структуру клеточной линии легкого китайского хомячка V-79. *Цитология*. 35 (8) : 71—78.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н.* 1996. Влияние микоплазменной контаминации двух сублиний клеток почки кенгуровой крысы на кариотипическую структуру. *Цитология*. 38 (1) : 75—84.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н.* 2000. Влияние микоплазменной контаминации на кариотипическую изменчивость клеточной линии карциномы шейки матки человека М HeLa clone 11. *Цитология*. 42 (8) : 794—801.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н., Сакута Г. А.* 2000. Влияние микоплазменной контаминации клеточной линии легкого эмбриона человека MRC-5 на кариотипическую изменчивость. *Цитология*. 42 (2) : 190—195.
- Полянская Г. Г., Ефремова Т. Н., Эндер Н. В.* 1998. Влияние микоплазменной контаминации клеточной линии лейомиосаркомы человека SK-UT-1B на кариотипическую структуру. *Цитология*. 40 (1) : 23—30.
- Полянская Г. Г., Сизова Л. С., Ефремова Т. Н., Фридлянская И. И.* 1994. Цитогенетическое исследование линии клеток легкого китайского хомячка V-79, инфицированной микоплазмой *Mycoplasma arginini* и деконтаминированной с помощью ципрофлоксацина. *Цитология*. 36 (8) : 880—887.
- Полянская Г. Г., Сизова Л. С., Николаенко Н. С.* 1993. Кариотипическая характеристика линии фибробластов кожи индийского мунтжака при культивировании с разными сыворотками. *Цитология*. 35 (2) : 86—96.
- Семенов Е. Г., Хоменко А. В., Мамаева С. Е.* 1984. Изменение продолжительности клеточного цикла и кариотипа клеток L мыши при смене способа культивирования. *Цитология*. 26 (10) : 1156—1160.
- Филатов М. В., Котлованова С. И., Степанов С. И., Третьяков А. Н., Стрельцов П. Г., Дробченко Е. А.* 1988. Воспроизводимая нестабильность хромосом постоянной линии клеток китайского хомячка, выявляемая с помощью проточной цитометрии. *Цитология*. 30 (8) : 999—1007.
- Фрейдлин М. И., Соловьева Н. В., Кухаренко В. И., Дельвиц А. А.* 1988. Секрция 14С-проколлагена эмбриональными фибробластами человека с диплоидным и трисомным набором хромосом. *Вопр. мед. химии*. 34 (2) : 72—75.
- Царева А. А., Исаенко А. А., Урманова М. А., Юрченко М. Д., Балзовская Е. Г., Родионова М. О.* 1990. Исследование кариотипа клеток линии Vero, длительно культивируемых в монослое статическим и роллерным способами. *Цитология*. 32 (7) : 741—747.
- Aframian D. J., Cukierman E., Nikolovski J., Mooney D. J., Yamada K. M., Baum B. J.* 2000. The growth and morphological behavior of salivary epithelial cells on matrix protein-coated biodegradable substrata. *Tissue Eng.* 6 : 209—216.
- Ahmed N., Riley C., Rice G., Quinn M.* 2005. Role of integrin receptors for fibronectin, collagen and laminin in the regulation of ovarian carcinoma functions in response to a matrix microenvironment. *Clin. Exp. Metastasis*. 22 : 391—402.
- Amadori M., Berneri C.* 1993. Genotypic and phenotypic changes of BHK-21 cells grown in suspension cultures. *Cytotechnology*. 11 (Suppl 1) : S106—S108.
- Amit M., Shariki C., Margulets V., Itskovitz-Eldor J.* 2004. Feeder and serum free culture of human embryonic stem cells. *Biol. Reprod.* 70 : 837—845.
- Are A., Pinaev G., Burova E., Lindberg U.* 2001. Attachment of A431 cells on immobilized antibodies to the EgF receptor promotes cell spreading and reorganization of the microfilament system. *Cell Motil. Cytoskeleton*. 48 : 24—36.
- Basson M. D., Turowski G., Emenaker N. J.* 1996. Regulation of human (Caco-2) intestinal epithelial cell differentiation by extracellular matrix proteins. *Exp. Cell Res.* 225 : 301—305.
- Belkin V. M., Kukharensko V. I., Volodarskaia S. M., Grinberg K. N., Mazurov V. I.* 1985. Changes in fibronectin biosynthesis in human embryonal fibroblasts with trisomy for chromosomes 7 and 9. *Vopr. Med. Khim.* 31 : 125—130.
- Blake D. A., Yu H., Young D. L., Cardwell D. R.* 1997. Matrix stimulates the proliferation of human cornea endothelial cells in culture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38 : 1119—1129.

- Brand-Saberi B., Epperlein H. H., Ramonos G. E., Christ B. 1994. Distribution of extracellular matrix components in nucha skin from fetuses carrying trisomy 18 and trisomy 21. *Cell Tissue Res.* 277 : 465—475.
- Cox R. P., Krauss M. R., Balis M. E., Dancis J. 1972. Communication between normal and enzyme-deficient cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 74 : 251—268.
- Delvig A. A., Kukharensko V. I., Belkin V. M., Mazurov V. I., Grinberg K. N., Debov S. S. 1987. Collagen and fibronectin synthesis by trisomic fibroblasts from human spontaneous abortuses. *Mol. Gen. Genet.* 209 : 592—595.
- Freeman M. R., Song Y., Carson D. D., Guthrie P. D., Chung L. W. 1991. Extracellular matrix and androgen receptor expression associated with spontaneous transformation of rat prostate fibroblasts. *Cancer Res.* 51 : 1910—1916.
- Hooper M. L., Subak-Sharpe J. H. 1981. Metabolic cooperation between cells. *Int. Rev. Cytol.* 69 : 45—104.
- Kato K., Shiga K., Yamaguchi K., Hata K., Kobayashi T., Miyazaki K., Saijo S., Miyagi T. 2006. Plasma-membrane-associated sialidase (NEU3) differentially regulates integrin mediated cell proliferation through laminin- and fibronectin-derived signaling. *Biochem J.* 394. (Pt 3) : 647—656.
- Kiosses W. B., Hahn K. M., Giannelli G., Quaranta V. 2001. Characterization of morphological and cytoskeletal changes in MCF10A breast epithelial cells plated on laminin-5: comparison with breast cancer cell line NCF7. *Cell Commun. Adhes.* 8 : 29—44.
- Klimanskaya I., Chung Y., Meisner L., Johnson J., West M. D., Lanza R. 2005. Human embryonic stem cells derived without feeder cells. *Lancet.* 365 : 1636—1641.
- Koenig A., Mueller C., Hasel C., Adler G., Menke A. 2006. Collagen Type 1 induces disruption of E-Cadherin-mediated cell-cell contacts and promotes proliferation of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.* 66 : 4662—4671.
- Levan G. 1970. Contributions to the chromosomal characterization of the PTK1, rat-kangaroo cell line. *Hereditas.* 64 : 85—96.
- McKeever P. E., Varani J., Papadopoulos S. M., Wang M., McCoy J. P. 1995. Products of cells from gliomas. IX. Evidence that two fundamentally different mechanisms change extracellular matrix expression by gliomas. *J. Neurooncol.* 24 : 267—280.
- Mitumoto T., Nishimura T., Toda S., Okinami S., Oono S., Sugihara H. 2001. Combined effect of extracellular matrices and growth factors on bovine corneal endothelial cells in culture. *Jap. J. Ophthalmol.* 45 : 115—124.
- Mooney D. J., Hansen L. K., Langer R., Vacanti J. P., Ingber D. E. 1994. Extracellular matrix controls tubulin monomer levels in hepatocytes by regulating protein turnover. *Mol. Biol. Cell.* 5 : 1281—1288.
- Mostafavi-Pour Z., Askari J. A., Parkinson S. J., Parker P. J., Ng T. T. C., Humphries M. J. 2003. Integrin-specific signaling pathways controlling focal adhesion formation and cell migration. *J. Cell Biol.* 161 : 155—167.
- Nielsen K. 1972. The chromosomes of an *in vitro* derivative of an Ehrlich ascites tumor of the mouse during its adaptation from monolayer to suspension culture. *Hereditas.* 70 : 217—224.
- Paranko J., Pelliniemi L. J., Vaheri A., Foidart J. M., Lakka-la-Paranko T. 1983. Morphogenesis and fibronectin in sexual differentiation of rat embryonic gonads. *Differentiation.* 23 (Suppl.) : S72—S81.
- Putnam A. J., Schultz K., Mooney D. J. 2001. Control of microtubule assembly by extracellular matrix and externally applied strain. *Amer. J. Physiol.* 280 : C556—C564.
- Rosette C., Karin M. 1995. Cytoskeletal control of gene expression: depolymerization of microtubules activates NF-kappa B. *J. Cell. Biol.* 128 : 1111—1119.
- Sablina A. A., Chumakov P. M., Levine A. J., Kopnin B. P. 2001. p53 activation in response to microtubule disruption is mediated by integrin-Erk signaling. *Oncogene.* 20 : 899—909.
- Stallmach A., von Lampe B., Orzechowski H. D., Matthes H., Riecken E. O. 1994. Increased fibronectin-receptor expression in colon carcinoma-derived HT 29 cells decreases tumorigenicity in nude mice. *Gastroenterology.* 106 : 19—27.
- Subak-Sharpe H., Burk R. R., Pitts J. D. 1966. Metabolic cooperation by cell to cell transfer between genetically different mammalian cells in tissue culture. *Hereditas.* 21 : 342—343.
- Tang D., Goldberg D. J. 2000. Bundling of microtubules in the growth cone induced by laminin. *Mol. Cell Neurosci.* 15 : 303—313.
- Wang J., Milner R. 2006. Fibronectin promotes brain capillary endothelial cell survival and proliferation through alpha5beta1 and alpha5beta3 integrins via MAP kinase signaling. *J. Neurochem.* 96 : 148—159.
- Waterman-Storer C. M., Salmon W. C., Salmon E. D. 2000. Feedback interactions between cell-cell adherens junctions and cytoskeletal dynamics in newt lung epithelial cells. *Mol. Cell.* 11 : 2471—2483.
- Xu C., Inokuma M. S., Denham J., Golds K., Kundu P., Gold J. D., Carpenter M. K. 2001. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology.* 19 : 971—974.
- Zhou B., Rabinovitch M. 1998. Microtubule involvement in translation regulation of fibronectin expression by light chain 3 of microtubule-associated protein 1 in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 83 : 481—489.
- Ziobar B. L., Chen Y. Q., Ramos D. M., Waleh N., Kramer R. H. 1999. Expression of the $\alpha 7 \beta 1$ Laminin receptor suppresses melanoma growth and metastatic potential. *Cell Growth Differentiation.* : 479—490.

Поступила 4 VI 2008

THE INFLUENCE OF IMMOBILIZED LAMININ ON KARYOTYPIC VARIABILITY
IN TWO KARYOTYPIC DIFFERENT VARIANTS OF THE INDIAN MUNTJAC SKIN
FIBROBLAST CELL LINE

G. G. Poljanskaya, T. S. Goryachaya, G. P. Pinaev

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;
e-mail: poljansk@mail.cytspb.rssi.ru

The numerical and structural karyotypic variability has been investigated in the Indian muntjac skin fibroblasts «markerless» cell line MT and in its karyotypic variant MT²¹ cultivated on the laminin 2/4 coated surface. In cell line MT preincubated in serum free medium for 2.5 and 1 h and then cultivated on the laminin-coated surface in the serum-containing medium for 1, 2 and 3 days, the character of cell distribution for the chromosome number has changed. These changes involve a significant decrease in frequency of cells with modal number of chromosomes, and an increase in frequency of cells with lower chromosomal number. Some new additional structural variants of the karyotype (SVK) appeared. The observed alterations seem to be due to disturbances of

chromosome segregation and establishing a new advantageous balance karyotypic structure. The karyotypic variant MT^a distinguished from MT by the increased number of dicentrics (telomeric associations) and cultivated under the same conditions showed no change in the character of cell distribution for the chromosome number. In cell line MT, the frequency of chromosomal aberrations did not change relative to control variants. In karyotypic variant MT^a under the same conditions, the frequency of chromosomal aberrations significantly increases in 3 days mainly due to formation of dicentrics. These results confirm the conclusion that, similarly to aneuploidy, formation of dicentrics in «markerless» cell lines appears to be the way for cell population to adapt to unfavourable factors of the environment. Possible reasons for differences in the character of the numerical and structural karyotypic variability between cell line MT and its karyotypic variant MT^a are discussed.
