



УДК 576.311:576.356

НОКОДАЗОЛ ПРИВОДИТ К ИНАКТИВАЦИИ ЦЕНТРОВ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК И ПОЯВЛЕНИЮ ОБЛАСТЕЙ ЛОКАЛЬНОЙ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК В К-МИТОЗЕ

И. Б. Алнева, И. А. Воробьев

Введение. При экспериментальной задержке клеток в митозе (К-митоз) судьба их может быть различна: возможна необратимая задержка клеток либо их выход из блока после удаления блокирующего агента. В последнем случае они могут делиться либо нормально (на две дочерние), либо аномально (на три-четыре).

Наиболее употребительными агентами для обратимой задержки клеток в митозе являются колхицин и его аналоги — колцемид и, в последнее время, нокодазол. Практически все работы, выполненные с использованием митостатиков колхицинового типа, посвящены изучению динамики восстановления митоза после блока либо просто описанию ультраструктуры К-митотических клеток при какой-либо одной концентрации яда. Известно, что эти вещества в минимальных митостатических концентрациях не вызывают полного разрушения митотического аппарата [1, 2]. В то же время, как показали наши предварительные исследования [3], судьба остановленных в К-митозе клеток зависит не столько от времени их задержки, сколько от концентрации митостатика. Вероятно, в зависимости от концентрации митостатического агента происходят различные изменения в митотическом аппарате остановленных в К-митозе клеток. Мы предположили [3], что расхождение центриолей в К-митозе является следствием полной деполимеризации окружающих центриоли микротрубочек (МТ) подобно тому, что происходит в нормальном клеточном цикле [4].

В настоящей работе мы предприняли электронно-микроскопическое исследование строения митотического аппарата К-митотических клеток в зависимости от концентрации нокодазола с целью проверки высказанной нами гипотезы.

Материалы и методы. Работу проводили на клетках перевиваемой культуры почки эмбриона свиньи (СПЭВ). Клетки культивировали на среде 199 с добавлением 10 % сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков (пенициллина и стрептомицина). Для экспериментов клетки высевали на покровные стекла в пенициллиновые флаконы. Маточный раствор нокодазола («Aldrich-Chemie», США, 1 мг/мл) приготавливали в диметилсульфоксиде. Через двое суток после посева нокодазол добавляли к клеткам в среду культивирования до конечных концентраций 0,02, 0,2 и 0,6 мкг/мл. Спустя 4—24 ч клетки экстрагировали в растворе, содержащем 1 % тритона X-100, 25 мМ фосфатный буфер (рН 6,8), 1 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭГТА, 4 % полиэтиленгликоля (молекулярная масса 1500). Обработку проводили 12—15 мин при 37 °С. Экстрагированные клетки фиксировали 1 %-ным раствором глutarового альдегида («Merck», ФРГ) на физиологическом фосфатном буфере 40—60 мин при комнатной температуре. Дальнейшая подготовка материала для электронной микроскопии была стандартной. Серийные срезы толщиной 0,07—0,1 мкм изготавливали на ультратоме ЛКВ-3, монтировали на покрытые формваровой подложкой бленды и окрашивали цитратом свинца по Рейнольд-



Рис. 1. К-митоз при действии 0,02 мкг/мл нокодазола: А — общий вид К-метафазы, Ц — центриоль, ув. 20000; Б — пучок кинетохорных МТ, К — кинетохор, ув. 50000; В — диплосома; стрелками обозначена надстроенная часть дочерней центриоли, ув. 60 000

Fig. 1. K-mitosis under the action of nocodazole (0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$): А — general view of K-metaphase, Ц — the centriole, 20000 x; Б — bundle of kinetochore microtubules (MT), К — kinetochore, 50 000 x; В — diplosome; arrows point to the enlarged part of the daughter centriole, 60 000x

су. Срезы просматривали и фотографировали на электронных микроскопах НУ-11В и НУ-12 при ускоряющем напряжении 75 кВ, а также на электронном микроскопе Н-700 при ускоряющем напряжении 150 кВ.

Результаты. Ультраструктура К-митотических клеток претерпевает закономерные изменения в зависимости от концентрации митостатика. При концентрации нокодазола 0,02 мкг/мл метафазная пластинка в целом сохраняется (рис. 1, А). Кинетохоры имеют обычный для мета-

фазы вид и расположение (рис. 1, *Б*). Пучки МТ от сестринских кинетохоров направлены к противоположным полюсам. Все МТ в таком К-митозе собраны в параллельные пучки. Одиночных МТ, либо отходящих от диплосом, либо свободно лежащих в цитоплазме, нет. Диплосомы, являющиеся полюсами митотической фигуры, располагаются с противоположных сторон от пластинки хромосом. По сравнению с нормальной метафазой диплосомы сближены. В 12 клетках, проанализированных на серийных срезах, материнская и дочерняя центриоли располагаются в диплосоме перпендикулярно друг другу. Размеры материнской центриоли нормальные, а дочерняя часто длиннее в 1,5—2 раза. Триплеты МТ в дистальной части удлинённых центриолей практически лишены матрикса и имеют меньшую по сравнению с остальной частью центриольного цилиндра электронную плотность (рис. 1, *В*).

При концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл метафазной пластинки не наблюдается. Хромосомы располагаются в виде одного или двух скоплений, тяготеющих к краю клетки (рис. 2, *А*). Каждое скопление хромосом окружено толстым слоем промежуточных филаментов. Веретено как целостная структура отсутствует. В К-митотических клетках видны одна или две звезды, состоящие из радиально расходящихся пучков МТ. В геометрическом центре звезд в половине случаев располагаются одна, две или четыре центриоли, в остальных случаях центриоли отсутствуют. Из 12 клеток, проанализированных на серийных срезах, в 6 клетках была одна звезда, в 6 других — две звезды. Из 6 клеток, имевших две звезды, в одной диплосомы располагались в центре каждой звезды; в трех клетках одна диплосома или одиночная центриоль располагались в одной звезде, а в другой центриоль не было; наконец, в двух клетках центриоли располагались в стороне от обеих звезд.

Пучки параллельных МТ при концентрации 0,2 мкг/мл с кинетохорами не связаны. Пучки могут оканчиваться как вблизи кинетохоров, так и вдали от них, но МТ никогда не подходят перпендикулярно к кинетохорной пластинке. Сами кинетохоры удлиняются в 1,5—2 раза и приобретают фибриллярную корону (рис. 2, *Б*). Сестринские кинетохоры сближаются, их пластинки вместо плоских становятся выпуклыми.

Структура и расположение центриолей в К-митотических клетках при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл варьируют в разных клетках. Из 11 изученных клеток в трех мы обнаружили хотя бы по одной одиночной центриоли. В остальных случаях центриоли сближены либо попарно, либо все четыре вместе. Нормальные диплосомы с взаимоперпендикулярным расположением материнской и дочерней центриолей в одной плоскости отсутствуют. Можно выделить три типа относительного расположения сближенных центриолей: а) две центриоли лежат в одной плоскости, и угол между ними составляет от 0° (параллельно лежащие центриоли) до 60°, либо от 120 до 150°; б) оси двух центриолей находятся в различных плоскостях, но перпендикулярны друг другу; в) оси центриолей находятся в различных плоскостях, и угол между ними отличается от 90°. Одна центриоль из пары часто длиннее в 2—2,5 раза по сравнению с нормой (рис. 2, *В*). Строение удлинённой центриоли здесь такое же, как и при концентрации нокодазола 0,02 мкг/мл. По аналогии с тем, что мы наблюдали при низкой концентрации можно полагать, что удлиняется дочерняя центриоль. Следует подчеркнуть, что в тех случаях, когда центриоли располагались вне звезды из МТ, они могли быть окружены гало, но при этом вокруг них совсем не было МТ, даже коротких.

При концентрации нокодазола 0,6 мкг/мл скопление хромосом, окруженное промежуточными филаментами, располагается примерно в центре клетки, реже — слегка асимметрично (рис. 3, *А*). Пучки МТ как внутри скопления хромосом, так и вокруг них отсутствуют. Кинетохоры имеют такой же вид, как и при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл. Средняя длина их возрастает примерно вдвое по сравнению



Рис. 2. К-митоз при действии 0,2 мкг/мл нокодазола: А — общий вид К-метафазы, в центре схождения МТ (указан стрелкой) центриолы отсутствуют, ув. 15000; Б — кинетохорный район, пучок МТ идет параллельно кинетохорной пластинке (стрелками указана фибриллярная корона кинетохора), ув. 32000; В — центриолы в центре схождения МТ, диплосомы нарушены, дочерние центриолы удлинены, ув. 50 000

Fig. 2. K-mitosis under the action of nocodazole (0.2 $\mu\text{g/ml}$): A — general view of K-metaphase, centrioles are absent in the microtubule convergence centre (arrow), 15 000 x; B — kinetochore region, bundle of MT bypasses parallel to the kinetochore plate (arrows point to the fibrillar kinetochore crown), 32 000 x, B — centrioles in the MT convergence centre; diplosomes are disturbed, daughter centrioles are elongated, 50 000 x

с пормой. Сестринские кинетохоры сближаются и могут сливаться друг с другом (рис. 3, Б).

Хромосомы в К-митотических клетках при концентрации нокодазола 0,6 мкг/мл собраны в единый конгломерат. Внутри скопления



Рис. 3. К-митоз при действии 0,6 мкг/мл нокодазола: А — общий вид К-метафазы, Я — ячейка с кинетохорами и короткими МТ; Ц — центриоль, ув. 15000; Б — слившиеся сестринские кинетохоры, ув. 35000; В, Г — два серийных среза через ячейку, К — кинетохоры, МТ — хаотично расположенные микротрубочки, ув. 50 000

Fig. 3. K-mitosis under the action of nocodazole (0.6 $\mu\text{g/ml}$): А — general view of K-metaphase, Я — the «slot» with kinetochores and randomly oriented short MT; Ц — centriole, 15 000 x; Б — fused sister kinetochores, 35 000 x, В, Г — serial sections of the «slot», К — kinetochores, МТ — randomly oriented microtubules 50 000 x

хромосом имеются многочисленные свободные от хроматина участки — ячейки. В ряде случаев кинетохоры хромосом, окружающих такую ячейку, смотрят внутрь. В результате ячейки оказываются в основном выстланными кинетохорными пластинками. Внутри таких ячеек беспло-

рядочно располагаются многочисленные короткие МТ (рис. 3, В, Г), не выходящие за пределы ячеек. Всего в одной клетке, как показал анализ серийных срезов, находится 5—8 ячеек с МТ. По отношению к кинетохорным пластинкам МТ ориентируются различным образом, но никогда не подходят перпендикулярно к их поверхности. Если на внутренней поверхности хромосом, ограничивающих ячейку, кинетохоров нет, то и МТ в ячейке отсутствуют.

Центриоли в К-митозах при концентрации нокодазола 0,6 мкг/мл могут быть окружены гало, но никогда не окружены МТ. В 14 из 16 изученных клеток мы обнаружили одну нормальную диплосому и пару разошедшихся центриолей. В диплосоме дочерняя центриоль в отличие

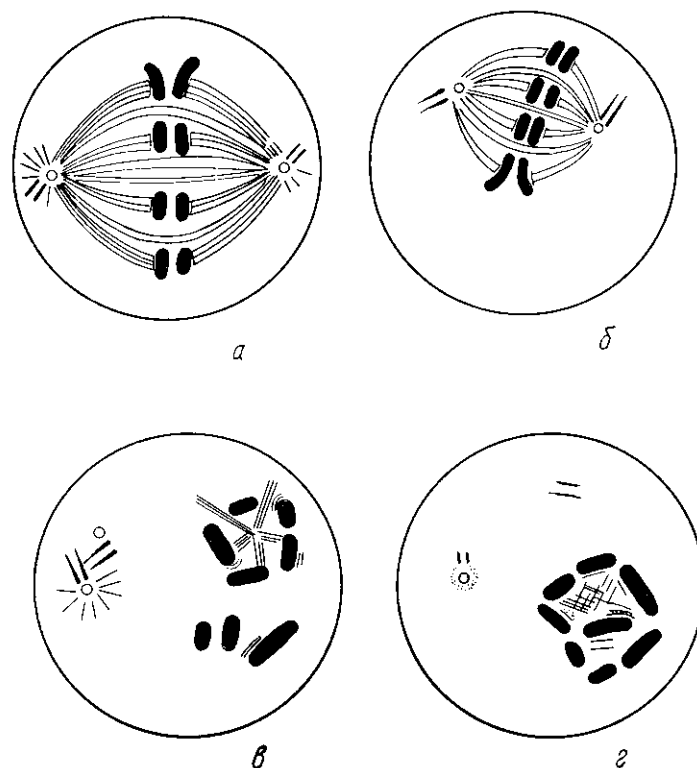


Рис. 4. Структура К-митотических клеток при действии различных концентраций нокодазола (схема): а — нормальная метафаза, б — К-метафаза при минимальной блокирующей концентрации; в — К-метафаза с перестроенным митотическим аппаратом; г — К-метафаза при высоких концентрациях митостатика

Fig. 4. Structure of K-mitotic cells under the action of nocodazole at different concentrations (scheme): а — normal metaphase, б — K-metaphase at minimal mitostatic concentrations of the drug; в — K-metaphase with the rebuilt mitotic apparatus; г — K-metaphase at high concentrations of the drug

от того, что наблюдалось при более низких концентрациях нокодазола, имела нормальную длину или была несколько укорочена (рис. 3, А). В двух клетках из 16 обе диплосомы распались, и все четыре центриоли располагались поодиночке. Одиночные центриоли всегда имели нормальную длину. Они могли располагаться как вне, так и внутри скопления хромосом. Диплосомы всегда лежали вне его, часто на большом расстоянии от хромосом.

Обсуждение. Структура митотического аппарата в К-митозе. Поскольку нокодазол ингибирует полимеризацию тубулина в МТ по тому же механизму, что и колцемид [5], то, используя его различные концентрации, мы могли наблюдать перестройку системы МТ в зависимости от разной степени ее сохранности. Оказалось, что в минимальной митостатической концентрации система МТ прак-

тически не отличается от таковой в нормальной метафазе: сохраняется веретено, лишь несколько меньших размеров. Аналогичная картина наблюдается и при действии колцемида в минимальных концентрациях [1]. При повышении концентрации нокодазола общее количество МТ в клетках уменьшается, и система МТ перестраивается. Образующиеся в К-митозе при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл МТ всегда собраны в пучки, которые никогда не оканчиваются на кинетохорах и часто не связаны с центриолями. Аналогичные картины расположения МТ наблюдаются при действии на клетки (в том числе и митотические) таксола — вещества, которое в противоположность нокодазолу стабилизирует МТ [6, 7]. При длительной инкубации клеток с таксомом в них возникают многочисленные пучки МТ, которые в дальнейшем организуются в звезды, причем звезды, как правило, не связаны с центриолями [8]. Более того, показано, что пучки МТ и даже звезды из них можно получить в определенных условиях *in vitro* [9, 10]. Таким образом, можно предположить, что система МТ, полимеризующихся в К-митотических клетках при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл, не связана непосредственно с центрами организации МТ.

При концентрации нокодазола 0,6 мкг/мл система МТ, образующихся в К-митозе, несколько не напоминает нормальный митотический аппарат. Вместо него появляются разрозненные локальные области, содержащие МТ. Аналогичные картины были описаны [11, 12] на ранних этапах восстановления митотического аппарата в К-митозах после удаления митостатиков.

Исходя из этого можно заключить, что при повышении концентрации митостатического агента колхицинового типа (колцеמיד, нокодазол) в образующихся К-митотических клетках сначала происходит уменьшение митотического веретена (рис. 4, а, б), затем остающиеся МТ собираются в пучки, которые уже не взаимодействуют с кинетохорами, а иногда и с центриолями (рис. 4, в); в дальнейшем образуются лишь хаотически расположенные короткие МТ вблизи кинетохоров (рис. 4, г). Наконец, при концентрации митостатика, в десятки раз превышающей минимальную, МТ в К-митозе вообще нет.

Поведение центриолей в К-митозе. В нашей предыдущей работе [3] было показано, что главным фактором, определяющим, разделится ли клетка после К-метафазного блока биполярным или мультиполярным митозом, является концентрация митостатика, а не время его действия. Было высказано предположение, что появление многополюсных фигур связано с распадом диплосом, который в свою очередь обуславливается деполимеризацией МТ, радиально расходящихся от центриолей. При этом естественно возникает вопрос: если две диплосомы распадаются, а затем каждая из центриолей способна формировать свой полюс, то почему так редко наблюдаются четырехполюсные митозы в клетках культуры ткани [13, 14] в отличие от дробящихся бластомеров морских ежей [15, 16]? Электронно-микроскопическое изучение распределения центриолей в трехполюсных митозах, выполненное недавно [14], показало, что в одну из дочерних клеток всегда отходят две центриоли (распределение 2 : 1 : 1, реже 2 : 2 : 0, но никогда 3 : 1 : 0 или 4 : 0 : 0). В настоящей работе мы обнаружили, что даже при длительной инкубации клеток при концентрации нокодазола 0,6 мкг/мл распадается лишь одна диплосома, а две — крайне редко. Поэтому можно предположить, что появление трехполюсных митозов в клетках культуры ткани после К-митоза обуславливается именно распадом одной из диплосом, и лишь в тех случаях, когда распадаются обе диплосомы в одной клетке, появляются четырехполюсные митозы.

Элонгация центриолей в нокодазоле. Известно, что умеренная концентрация колцемида стимулирует репликацию центриолей [2] и цилиогенез [17]. То есть колцеמיד в определенной концентрации стимулирует полимеризацию тубулинов на центриолях. Повидимому, рост дочерней центриоли, наблюдавшийся в наших опытах,

относится к той же категории явлений. Рост центриолей происходит в тех концентрациях нокодазола, когда вокруг центриолей способны полимеризоваться МТ. Когда же полимеризация МТ вокруг центриолей полностью подавлена, дочерняя центриоль не только удлиняется по сравнению с нормой, но часто не дорастает до нормальной длины. Видимо, при действии на клетки нокодазола контроль над элонгацией дочерних центриолей ослабевает. Это и приводит к тому, что дочерняя центриоль избыточно растет в условиях, когда МТ вокруг материнской центриоли растут, и досрочно прекращает свой рост, когда полимеризация МТ вокруг материнской центриоли подавлена.

Кинетохоры в К-митозе. Структура кинетохоров в К-митотических клетках описана в ряде работ [11, 18, 19]. Основное внимание в них уделялось появлению на внешней стороне кинетохора фибриллярной короны, а также изменению его формы — с плоской на полусферическую [19].

В настоящей работе помимо указанных изменений мы наблюдали еще три: а) увеличение в несколько раз площади кинетохорных дисков; б) смещение кинетохоров на одну сторону хромосомы и в) слияние сестринских кинетохоров. Все эти изменения происходят только в тех случаях, когда исчезают МТ, подходящие перпендикулярно к поверхности кинетохоров (в наших опытах — при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл и выше).

Недавно было показано, что при деполимеризации МТ нокодазолом на кинетохорах адсорбируется тубулин [20]. Вероятно, этим можно объяснить появление в К-митозе фибриллярной короны на кинетохорных дисках. Увеличение размеров кинетохорных дисков вряд ли связано с тубулином. Нам представляется, что это связано с перестройкой хромосом, очевидно, происходящей в К-митозе.

Центры организации МТ в К-митозе. В нормальном митозе в качестве центров организации МТ функционирует перичентриольный материал и, возможно, кинетохоры хромосом [21—23]. В К-митозе, как видно, происходит не просто деполимеризация МТ, но перестройка их системы. Очевидно, это связано с изменениями функционирования центров организации МТ. В настоящее время предполагается, что они содержат затравки для полимеризации МТ, а также защищают соответствующие концы МТ от деполимеризации, обеспечивая отчасти их стабилизацию [23—25]. Показано, что перичентриольный материал организует рост МТ плюс-концом от себя [26], а кинетохоры — минус-концом от себя [20]. Исходя из этого можно предположить, что при увеличении концентрации нокодазола, означающем для клетки увеличение критической концентрации полимеризации тубулина, будет наблюдаться сначала инактивация кинетохоров, а затем центриолей. Именно это мы и наблюдали при концентрации нокодазола 0,2 мкг/мл. Но в дальнейшем при инактивации центриолей в районе кинетохоров мы вновь наблюдали полимеризацию МТ. Характер расположения новых МТ резко отличается от того, что было в норме и напоминает полимеризацию МТ, происходившую вокруг центриолей в интерфазных клетках при действии колцемида [27]. В обоих случаях наблюдаются короткие, хаотично расположенные МТ, занимающие строго локальную область в клетке. Это означает, что в ответ на деполимеризацию МТ в клетках появляются области с повышенной концентрацией тубулинов, а также, вероятно, белков, ассоциированных с МТ. Беспорядочное расположение МТ указывает на то, что затравки для полимеризации не организованы в пространстве каким-либо закономерным образом. Аналогичное беспорядочное расположение МТ у кинетохоров отмечалось при восстановлении веретена после К-митоза [11]. Тот факт, что такое же расположение мы наблюдали в равновесных условиях (непосредственно под действием митостатика), указывает на функциональную перестройку кинетохоров: они теряют способность к закреплению МТ на своей поверхности. Поэтому функционирование кинетохоров как центров организации МТ, наблюдаемое в

процессе восстановления МТ после К-митоза, не отражает их роли в интактной клетке.

Таким образом, в К-митозе при повышении концентрации митостатического агента мы наблюдаем последовательную инактивацию центров организации МТ: сначала кинетохоров, а затем centrosом. Инактивация сопровождается их структурной перестройкой — кинетохоры приобретают фибриллярную корону и увеличиваются в размерах; centrosомы расходятся из диплосом.

NOCODAZOLE INACTIVATES MICROTUBULE ORGANIZING CENTRES AND INDUCES THE FORMATION OF LOCAL ZONES OF MICROTUBULE POLYMERIZATION IN K-MITOSIS

I. B. Alieva, I. A. Vorobjev

A. N. Belozersky Interfaculty Laboratory of Molecular Biology and Bioorganic Chemistry, Moscow State University, Moscow

Summary

Under the action of nocodazole at a concentration of 0.02 $\mu\text{g/ml}$ the mitotic spindle is preserved in PE cells. Nocodazole at a concentration of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ results in the appearance of microtubule (MT) convergence centres lacking the centrosomes and/or chromosomes. Bundles of MT bypass kinetochores, kinetochores become 1.5-3-times as long. At a nocodazole concentration of 0.02-0.2 $\mu\text{g/ml}$ the daughter centrosome becomes 1.5-2-fold as long.

Under the action of nocodazole at a concentration of 0.6 $\mu\text{g/ml}$ all chromosomes are packed in a slot-like structure. Kinetochores of several chromosomes surrounding one «slot» may be situated on their inner surfaces. Then short disorderly MT are observed in such a «slot». The centrosomes are not surrounded by MT. In each cell one diplosome (rarely both) disintegrate. It is supposed that the appearance of three- and tetrapolar mitoses in tissue culture cells is due to the disintegration of one or both diplosomes, respectively.

1. Kleinfeld R. G., Siskin J. E. Morphological and kinetic aspects of mitotic arrest by recovery from colcemid // *J. Cell. Biol.*—1966.—31, N 3.— P. 369—379.
2. Brinkley B. R., Stubblefield E., Hsu T. C. The effects of colcemid inhibition and reversal on the fine structure of the mitotic apparatus of Chinese hamster cells *in vitro* // *J. Ultrastruct. Res.*—1967.—19, N 1.— P. 1—18.
3. Алиева И. Б., Воробьев И. А. Изучение условий обратимости метафазного блока и индукции многополюсных митозов при действии нокодазола // *Цитология.*—1987.—29, № 5.— С. 560—567.
4. Vorobjev I. A., Chentsov Yu. S. Centrosomes in the cell cycle. 1. Epithelial cells // *J. Cell Biol.*—1982.—98, N 3.— P. 938—949.
5. The effects of methyl-[5-(2-thienylcarbonyl)-1H-benzimidazol-2-yl] carbamate, a new synthetic antitumoral drug interfering with microtubules on mammalian cells cultured *in vitro* / M. J. de Brabander, R. M. L. van de Veire, F. E. M. Aertis et al. // *Cancer Res.*—1976.—36, N 6.— P. 905—916.
6. Schiff P. B., Horwitz S. B. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1980.—77, N 6.— P. 1561—1565.
7. Taxol: a new probe for studying the structure and function of microtubules / S. B. Horwitz, J. Parness, P. B. Schiff, J. J. Manfredi // *CSHS Quant. Biol.*—1982.—46.— P. 219—226.
8. Brenner S., Brinkley B. R. Tubulin assembly sites and the organization of microtubule arrays in mammalian cells // *Ibid.*— P. 241—254.
9. Wiesenberger R. C., Cianci C. ATP-induced gelation-contraction of microtubules assembled *in vitro* // *J. Cell Biol.*—1984.—99, N 4.— P. 1527—1533.
10. Wiesenberger R. C., Allen R. D., Inoue S. ATP-dependent formation and motility of aster-like structures with isolated calf brain microtubule proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1986.—83, N 7.— P. 1728—1732.
11. Witt P. L., Ris H., Borisy G. G. Origin of kinetochore microtubules in Chinese hamster ovary cells // *Chromosoma.*—1980.—81, N 5.— P. 483—505.
12. The microtubule nucleating and organizing activity of kinetochores and centrosomes in living PtK₂-cells / M. de Brabander, G. Geuens, R. Nuydens et al. // *Microtubules and microtubule inhibitors* / Eds M. de Brabander, J. de Mey.— Amsterdam: Elsevier, 1980.— P. 255—276.
13. Быстревская В. Б., Онищенко Г. Е., Ченцов Ю. С. Динамика митотического цикла и аномалии митоза при действии 2-меркаптоэтанола на клетки культуры ткани СПЭВ // *Цитология.*—1981.—23, № 6.— С. 638—647.

14. Keryer G., Ris H., Borisy G. G. Centriole distribution during tripolar mitosis in Chinese hamster ovary cells // J. Cell Biol.—1984.—98, N 6.— P. 2222—2229.
15. Mazia D., Harris P. J., Bibring T. The multiplicity of mitotic centers and time-course of their duplication and separation // J. Biophys. and Biochem. Cytol.—1960.—7, N 1.— P. 1—20.
16. Studer G., Rieder C. L. Centriole number and the reproductive capacity of spindle poles // J. Cell Biol.—1985.—100, N 3.— P. 887—896.
17. Stubblefield E., Brinkley B. R. Cilia formation in Chinese hamster fibroblasts *in vitro* as a response to colcemid treatment // Ibid.—1966.—30, N 3.— P. 645—652.
18. Krishan A. Fine structure of the kinetochore in vinblastine sulfate-treated cells // J. Ultrastruct. Res.—1968.—23, N 3—4.— P. 124—143.
19. Alov I. A., Lyubskii S. L. Functional morphology of the kinetochore // Int. Rev. Cytol.—1977.— Suppl. 6.— P. 59—74.
20. Mitchison T. J., Kirschner M. W. Properties of the kinetochore *in vitro*. I. Microtubule nucleation and tubulin binding // J. Cell Biol.—1985.—101, N 3.— P. 755—765.
21. Brinkley B. R., Stubblefield E. Ultrastructure and interaction of the kinetochore and centriole in mitosis and meiosis // Advances in cell biology / Eds D. M. Prescott et al.— New York: Appellon-Century Crofts, 1970.— Vol. 1.— P. 119—185.
22. Peterson S. P., Berns M. W. The centriolar complex // Int. Rev. Cytol.—1980.—64.— P. 81—106.
23. Brinkley B. R. Microtubule organizing centers // Ann. Rev. Cell Biol.—1985.—1.— P. 145—172.
24. Kirschner M. W. Implications of treadmilling for the stability and polarity of actin and tubulin polymers *in vivo* // J. Cell Biol.—1980.—86, N 3.— P. 330—335.
25. Tucker J. B. Spatial organization of microtubule-organizing centers and microtubules // Ibid.—1984.—99, N 1.— P. 55—62.
26. Mitchison T., Kirschner M. W. Microtubule assembly nucleated by isolated centromeres // Nature.—1984.—312, N 5961.— P. 232—237.
27. Воробьев И. А., Ченцов Ю. С. Центриоли и микротрубочки в интерфазных клетках под действием коллемеида. Эффект, зависящий от концентрации и времени действия яда // Цитология.—1985.—27, № 10.— С. 1101—1105.

МГУ им. М. В. Ломоносова

Получено 05.08.86