რუსუდან ხუხუნაიშვილი

მოლეკულური ბიოლოგია

სახელმძღვანელო

გამომცემლობა
„ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“
ბათუმი – 2015

UDC(უაკ) 577.2
ხ-986

აღიარებულია სახელმძღვანელოდ ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის აკადემიური საბჭოს მიერ (დადგენილება №148, 11.12.2013)

წიგნში განხილულია მოლეკულური ბიოლოგიის ფუნდამენტური საკითხები. წარმოდგენილია ინფორმაცია ნუკლეინის მჟავებისა და ცილების სტრუქტურული ორგანიზაციისა და ფუნქციების, ვირუსული, პრო- და ევკარიოტული გენომების, უჯრედული ორგანელების გენომების, მობილური გენეტიკური ელემენტების შესახებ. დეტალურადაა განხილული დნმ-ის რეპლიკაციის, რეპარაციის, რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმები; გენის ექსპრესიის (ტრანსკრიფცია, პროცესინგი, ტრანსლაცია) რეგულაციის მექანიზმები; უჯრედული ციკლის რეგულაციისა და უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის მოლეკულური მექანიზმები.

წიგნში დასმული ყველა საკითხი ილუსტრირებულია შესაბამისი სქემებითა და ექსპერიმენტების ამსახველი სურათებით.

სახელმძღვანელო განკუთვნილია ბიოლოგიური და სამედიცინო სპეციალობის ბაკალავრების, მაგისტრანტებისა და დოქტორანტებისათვის, ამასთანავე, გარკვეულ დახმარებას გაუწევს შესაბამისი პროფილის მკვლევრებსა და პედაგოგებს.

რედაქტორები: საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტისა და
საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის პროფესორი
გურამ ტყემალაძე
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის
პროფესორი ქეთევან დოლიძე

რეცენზენტები: ემერიტუსი, პროფესორი ანზორ დიასამიძე
თსუ-ს ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის
უჯრედული და მოლეკულური ბიოლოგიის კათედრის გამგე,
პროფ. ნანა კოტრიკაძე
ბსუ-ს მცენარეთა ფიტოპათოლოგიის ინსტიტუტის მცენარეთა
დაავადებების მონიტორინგის, დიაგნოსტიკისა და მოლეკულური
ბიოლოგიის განყოფილების უფროსი, მთავარი
მეცნიერ-თანამშრომელი გალინა მეფარიშვილი

ISBN 978-9941-434-84-6
© „ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“ – 2015

სარჩევი

წინასიტყვაობა 10

შესავალი 14

თ ა ვ ი 1. უჯრედი, როგორც სასიცოცხლო პროცესების მოლეკულური რეგულაციის ელემენტარული სტრუქტურული ერთეული 20
უჯრედული ციკლი 21
უჯრედული ციკლის რეგულაცია 25
უჯრედული ციკლის საკონტროლო წერტილები 27

თ ა ვ ი 2. სასიცოცხლო პროცესების მოლეკულური რეგულაციის მთავარი ბიომოლეკულები 28
2.1. ცილები 28
ცილის ამინომჟავური შედგენილობა 29
ცილის სტრუქტურული არქიტექტურა 33
ცილის პირველადი სტრუქტურა 34
ცილის მეორეული სტრუქტურა 36
ცილის მესამეული სტრუქტურა. ფოლდინგი 38
ცილის მეოთხეული სტრუქტურა 44
2.2. დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა (დნმ) 45
დნმ-ის ქიმიური ორგანიზაცია 45
დნმ-ის მოლეკულური ორგანიზაცია 49
დნმ-ის პოლიმორფიზმი 54
დნმ-ის ფორმები და სუპერსპირალიზაცია 57
დნმ-ის დენატურაცია და რენატურაცია 60
დნმ -ის ჰიბრიდიზაცია 64
დნმ-ის გენეტიკური ფუნქციის ექსპერიმენტული მტკიცებულებები 66
2.3. რიბონუკლეინის მჟავა (რნმ) 71
რნმ-ის სტრუქტურაული ორგანიზაცია 72
რნმ-ის მოლეკულების ტიპები 75
რიბოზიმები 83

თ ა ვ ი 3. გენომის სტრუქტურა და ორგანიზაცია 86
3.1.გენომიკა 86
3.2. ვირუსული გენომი 87
3.3. პროკარიოტული გენომი 92
3.4. ევკარიოტული გენომი 96
სატელიტური დნმ 100
გენომის დისპერგირებული გამეორებები 102
3.5. ევკარიოტული გენომის ქრომოსომური ორგანიზაცია 104
ქრომატინის სტრუქტურა 104
ევქრომატინი და ჰეტეროქრომატინი 109
ქრომოსომების ზოგადი მორფოლოგია 111
3.6. უჯრედის ორგანელების გენომი 115
მიტოქონდრიების გენომი 116
ქლოროპლასტების გენომი 122
3.7. მობილური გენეტიკური ელემენტები 123
პროკარიოტული გენომის მობილური გენეტიკური ელემენტები 126
ევკარიოტული გენომის მობილური გენეტიკური ელემენტები 127

თ ა ვ ი 4. გენის სტრუქტურული ორგანიზაცია 129
4.1. გენის ცნების ევოლუცია 129
4.2. გენების კლასიფიკაცია 133
4.3. პროკარიოტული გენების სტრუქტურული ორგანიზაცია 134
4.4. ევკარიოტული გენების სტრუქტურული ორგანიზაცია 136
უნიკალური გენები და მულტიგენური ოჯახები 136
სტრუქტურული გენები 137
გენის წყვეტილი აღნაგობა 138
ცილა-მაკოდირებელი გენები 143
ჰისტონების მაკოდირებელი გენები 145
რიბოსომური და სატრანსპორტო რნმ-ის მაკოდირებელი გენები 147
ფსევდოგენები 149

თ ა ვ ი 5. გენეტიკური პროცესების მოლეკულური მექანიზმები 150
5.1. გენომის მდგრადობა და კვლავგანახლება 150
რეპლიკაცია 150
რეპლიკაციის ნახევრადკონსერვატიული ბუნების მექანიზმი 152
რეპლიკონი, როგორც რეპლიკაციის ერთეული 156
რეპლიკაციის ქიმიური საფუძვლები 157
პროკარიოტული გენომის რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმები და ფერმენტული აპარატი 158
დნმ-ის სუპერსპირალის რელაქსაცია 159
რეპლიკაციის საწყისი საიტი 161
დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურის გახსნა და რეპლიკაციური ჩანგლის ფორმირება 163
დესპირალიზებული უბნების გახსნილ მდგომარეობაში შენარჩუნება 164
დნმ-ის რეპლიკაციის ინიციაცია 165
დნმ-ის ჯაჭვების ელონგაცია 166
რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომების კორექცია 169
რეპლიკაციის ტერმინაცია 169
რეპლიკაცია და უჯრედული ციკლი 169
წრიული დნმ-ის რეპლიკაცია 171
ევკარიოტული გენომის რეპლიკაციის თავისებურებები 174
რეპლიკაციის ტერმინაციის თავისებურებები ევკარიოტებში 178
5.2. დნმ-ის დაზიანებები და მათი აღდგენის მოლეკულური მექანიზმები 182
გენეტიკური მასალაში მუტაციების აღმოცენების მოლეკულური საფუძვლები 184
5.3. რეპარაცია 192
რეპარაციის მოლეკულური მექანიზმები 192
პირდაპირი რეპარაცია 193
ექსციზიური რეპარაცია 195
კლინიკური კავშირები 208
5.4. რეკომბინაცია 211
ჰომოლოგიური რეკომბინაცია 212

ჰოლიდეის მოდელი 214
შოსტაკის (ორჯაჭვიანი წყვეტის და რეპარაციის) მოდელი 217
ჰომოლოგიური რეკომბინაციის ფერმენტები 219
არაჰომოლოგიური რეკომბინაცია 222
საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია 223
ტრანსპოზიცია 227
არალეგიტიმური რეკომბინაცია 232
რეკომბინაციის ბიოლოგიური მნიშვნელობა 234
კლინიკური კავშირები 235
5.5. გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაცია 237
მოლეკულური ბიოლოგიის ცენტრალური დოგმა 237
5.6. გენის ექსპრესიის მოლეკულური მექანიზმები 239
მ-რნმ-ის ბიოსინთეზი - ტრანსკრიფცია 239
რნმ-პოლიმერაზა - ტრანსკრიფციული ფერმენტი 244
ტრანსკრიფციის რეგულატორული თანამიმდევრობები 248
ტრანსკრიფციის მოლეკულური მექანიზმები ბაქტერიებში 250
ტრანსკრიფციის მოლეკულური მექანიზმები ევკარიოტებში 259
კლინიკური კავშირები 264
5.7. რნმ-ის პროცესინგი 265
მესენჯერული რნმ-ის პროცესინგის მოლეკულური მექანიზმები 266
მ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის ბოლოების მოდიფიკაცია 269
სპლაისინგი 274
თვითსპლაისინგი 282
სპლაისინგის საიტის ამოცნობის მოლეკულური მექანიზმები 283
ალტერნატიული სპლაისინგი 285
რედაქტირება 289
რიბოსომური რნმ-ის პროცესინგის მოლეკულური მექანიზმები 292
სატრანსპორტო რნმ-ის პროცესინგი 294
მ-რნმ-ის ტრანსპორტირება 296
კლინიკური კავშირები 298
5.8. ტრანსლაცია 300
გენეტიკური კოდი 301
გენეტიკური კოდის ცხრილი 306

ტრანსლაციის მოლეკულური კომპონენტები 312
ტრანსლაციის მოლეკულური მექანიზმები 324
ამინომჟავების აქტივაცია 325
ინიციაცია 328
რიბოსომის დაკავშირება მ-რნმ-თან და მისი განთავსება მ-რნმ-ის საინიციაციო კოდონში 329
საინიციაციო ამინომჟავათა დატვირთული ტ-რნმ-ის განთავსება რიბოსომის აქტიურ უბანში 332
ტრანსლაციის ინიციაციის დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები 334
ელონგაცია 337
ელონგაციის ცილოვანი ფაქტორები 339
ტერმინაცია 344
ტერმინაციის ცილოვანი ფაქტორები 345
ტრანსლაციის პროცესის ენერგეტიკული უზრუნველყოფა 346
ცილების მომწიფება 347
პოსტრანსლაციური გარდაქმნები 348
პოლიპეპტიდების გადატანა დანიშნულების ადგილზე 350

თ ა ვ ი 6. გენის ექსპრესიის რეგულაცია 352
6.1. გენის ექსპრესიის რეგულაცია პროკარიოტებში 352
ინდუქცია და რეპრესია 352
პროკარიოტული ოპერონის ორგანიზაცია და ფუნქციონირების რეგულაცია 354
გენების აქტივობის რეგულაცია ბაქტერიების ფაგებით ინდუქციის დროს 365
6.2. გენის ექსპრესიის რეგულაცია ევკარიოტებში 369
რეგულაციური ელემენტები, ტრანსკრიფციის ფაქტორები და სტრუქტურული გენები 371
ევკარიოტული გენების პრომოტორი 371
გამაძლიერებლები, შემასუსტებლები და იზოლატორები 373
ტრანსკრიფციის ფაქტორები 374
ტრანსკრიფციის ფაქტორების სტრუქტურული მოტივები 375
გენის ექსპრესიის პოსტტრანსკრიფციული რეგულაცია 377

დნმ-ის მეთილირება და მისი როლი გენის ექსპრესიის რეგულაციაში 378
ქრომატინის კონფორმაციული ცვლილებები და გენების ექსპრესია 379
რნმ-ის ინტერფერენცია 382
ინტერფერენციის მოვლენის აღმოჩენის ისტორია 382
რნმ-ის ინტერფერენციის მოლეკულური მექანიზმები 384
რნმ-ის ინტერფერენციის გამოყენების პერსპექტივები გენომიკასა და ბიომედიცინაში 388
სისხლმბადი ღეროვანი უჯრედების მოდიფიკაცია 391
რნმ-ის ინტერფერენციით მიღწეული შედეგების გამოყენების შესაძლებლობები ონკოლოგიურ თერაპიაში 392

თ ა ვ ი 7. უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი 394
ნეკროზი 394
აპოპტოზი 394
აპოპტოზის მოლეკულური მექანიზმები 400
აპოპტოზის მნიშვნელობა შიდსისა და სხვა ინფექციურ დაავადებათა განვითარებაში 408
აპოპტოზის ბიოლოგიური მნიშვნელობა 409

თ ა ვ ი 8. მოლეკულური ბიოლოგიის კვლევის ზოგიერთი თანამედროვე მეთოდი 411
რესტრიქციული ენდონუკლეაზები 411
დნმ-ლიგაზები 413
გელ-ელექტროფორეზი 414
ჰიბრიდიზაცია დნმ-ზონდებით 416
საუზერნ-ბლოტინგი 416
ნოზერნ-ბლოტინგი 418
დნმ-ის კლონირება 418
რეკომბინანტული დნმ-ის გადატანა ვექტორებით 419
პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია 421
დნმ-ის სექვენირება 425
In vitro მუტაგენეზი 430

გენის ექსპრესიის შესწავლა: დნმ მიკროჩიპები 432

თ ა ვ ი. 9. გენეტიკური ინჟინერია და ბიოტექნოლოგია 434
მცენარეთა ბიოტექნოლოგია 441
ცხოველთა ბიოტექნოლოგია 445
მიკროორგანიზმების ბიოტექნოლოგია 447
გენური თერაპია 448
თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის პრობლემები და ეთიკური ასპექტები 452

შემოკლებანი 455

გამოყენებული ლიტერატურა 483

წინასიტყვაობა

ნახევარ საუკუნეზე ოდნავ მეტი გავიდა მას შემდეგ, *ჯეიმს უოტსონისა და ფრენსის კრიკის* მიერ გაშიფრულ იქნა თანამედროვეობის ყველაზე ცნობილი და პოპულარული მოლეკულის - დნმ-ის სტრუქტურა. მე-20 საუკუნის უმნიშვნელოვანეს მეცნიერულ მიღწევად აღიარებულმა ამ აღმოჩენამ მძლავრი ბიძგი მისცა მოლეკულური ბიოლოგიის, როგორც ერთ-ერთი ყველაზე თანამედროვე და სწრაფად განვითარებადი ბიოლოგიური დარგის, ჩამოყალიბებას. ამჟამად, დნმ-ტექნოლოგიები ისე სწრაფად ვითარდება, რომ არა მარტო სასიცოცხლო პროცესების საწყის, ელემენტარულ, მოლეკულურ სტრუქტურებსა და ნატიფ მექანიზმებში წვდომის საშუალებას იძლევა, არამედ მისი მიღწევები მედიცინასა და სახალხო მეურნეობის სხვადასხვა დარგში პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივებსაც სახავს. მოლეკულური ბიოლოგიის კვლევის თანამედროვე მეთოდები საფუძვლად დაედო გენური ინჟინერიისა და ბიოტექნოლოგიის ჩამოყალიბებას, რომელიც 21-ე საუკუნის მეცნიერულ-ტექნიკური პროგრესის ძირითად მაგისტრალად არის მიჩნეული.

გასაგებია, რომ დარგის კვალიფიციური სპეციალისტების ჩამოყალიბება შეუძლებელია მოლეკულური ბიოლოგიის ცოდნის გარეშე. მსოფლიოს უნივერსიტეტების ბიოლოგიური და სამედიცინო პროფილის საგანმანათლებლო პროგრამებში მოლეკულური ბიოლოგია საკმაოდ დიდი მოცულობის ძირითად სასწავლო კურსს წარმოადგენს. მოლეკულური ბიოლოგია შეტანილია ბევრი პედაგოგიური და სასოფლო-სამეურნეო პროფილის უმაღლესი სასწავლებლის საგანმანათლებლო პროგრამებში. სამწუხაროდ, ქართველი სტუდენტები მოლეკულური ბიოლოგიის არც ორიგინალური და არც ნათარგმნი სახელმძღვანელოებით განებივრებულნი არ არიან. სწორედ ეს დაედო საფუძვლად აღნიშნული სახელმძღვანელოს შექმნის მცდელობას.

მოლეკულური ბიოლოგიის სწავლების მრავალწლიანი გამოცდილებით, სტუდენტებისათვის მიწოდებული სალექციო მასალა მუდმივ გადა-

ხედვასა და განახლებას მოითხოვს. ვინაიდან დარგის ახალი სამეცნიერო მიღწევების საფუძველზე სულ უფრო იხვეწება წარმოდგენები სასიცოცხლო პროცესების მოლეკულური მექანიზმების შესახებ, ზოგჯერ, თითქოს დადგენილი დოგმების სრული გადაფასებაც კი ხდება. უმაღლესი სასწავლებლების გამოცდილი პედაგოგები აღიარებენ, რომ ძალიან რთულია, თვალყური მიადევნო მოლეკულური ბიოლოგიის უახლეს ზღვა ინფორმაციას, რომელიც, ხშირად, „ჟურნალისტური ჰიპერბოლის“, ან, უბრალოდ, სარეკლამო კამპანიის სახეს ატარებს. ამდენად, სახელმძღვანელოს შედგენისას გათვალისწინებულ იქნა მოლეკულური ბიოლოგიის ძირითადი ფუნდამენტური საკითხები და თანამედროვე, მეცნიერულად აღიარებული ფაქტები. სახელმძღვანელოში არ შეგვიტანია საკითხები, რომლებიც სხვა ბიოლოგიური დისციპლინების - ბიოქიმიის, გენეტიკის, უჯრედული ბიოლოგიისა და იმუნოლოგიის შესწავლისას განიხილება, ან წარმოდგენილი არის მხოლოდ მოლეკულური პროცესების არსში წვდომისათვის აუცილებელი მოცულობით. მეორე მხრივ, სახელმძღვანელოში დეტალურადაა განხილული უჯრედის მთავარი ბიომოლეკულების - ნუკლეინის მჟავებისა და ცილების სტრუქტურული ორგანიზაცია და ფუნქციონირების თავისებურებები; სხვადასხვა ორგანიზაციული დონის ცოცხალი სისტემების გენომების ორგანიზაცია და ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმები; უჯრედში მიმდინარე გენეტიკური პროცესების - რეპლიკაციის, რეპარაციის, რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმები; გენის ექსპრესიის (ტრანსკრიფცია, პროცესინგი, ტრანსლაცია) და რეგულაციის მოლეკულური მექანიზმები. ყოველი თემა წარმოდგენილია კლინიკურ კორელაციებში. თითოეული მაგალითი აღწერს კონკრეტული დაავადების მოლეკულურ-გენეტიკურ საფუძველს და ამ დაავადების დროს მიმდინარე პათოლოგიურ ბიოქიმიურ პროცესებს.

სახელმძღვანელოში შეტანილია ინფორმაცია მოლეკულური ბიოლოგიის უახლესი აღმოჩენების - რნმ-ინტერფერენციისა და ტელომერაზების ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმების შესახებ. ცალკე თავი ეძღვნება მოლეკულური ბიოლოგიის კვლევის ყველაზე თანამედროვე მეთოდების მოკლე აღწერას; გენეტიკური ინჟინერიისა და ბიოტექნოლოგიის ნაწილში წარმოდგენილია ტრანსგენური მცენარეების,

ცხოველების, მიკროორგანიზმების ბიოტექნოლოგიის, გენური ინჟინერიისა და გენური თერაპიის მიღწევები, პრობლემები და განვითარების პერსპექტივების თანამედროვე მდგომარეობა.

სახელმძღვანელოს შედგენისას ძირითად ლიტერატურულ წყაროდ გამოყენებულ იქნა მოლეკულურ ბიოლოგიაში ოქროს სტანდარტად აღიარებული სახელმძღვანელოები: *ბრიუს ალბერტსისა და თანაავტორების* „უჯრედის მოლეკულური ბიოლოგია“ და მოლეკულური ბიოლოგიის მეტრის, *ჯეიმს უოტსონის* მიერ შედგენილი „გენის მოლეკულური ბიოლოგია“. ასევე, მოლეკულური ბიოლოგიისა და მისი მომიჯნავე დარგების (ბიოქიმია, გენეტიკა) ქართული და უცხოენოვანი სახელმძღვანელოები, მონოგრაფიები და უახლესი სამეცნიერო სტატიები, რომელთა ნაწილი მითითებულია გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალში, წიგნის ბოლოს.

მსურს აღვნიშნო პროფესორ ანზორ დიასამიძის განსაკუთრებული წვლილი სახელმძღვანელოს შექმნაში. უნდა ვაღიარო, რომ ფაქტობრივად, მისი წახალისებითა და მხარდაჭერით შევძელი ამ უაღრესად საპასუხისმგებლო საქმესთან შეჭიდება. მისი შენიშვნები და ნააზრევი ზოგიერთ შემთხვევაში თითქმის უცვლელად არის მიღებული და შეტანილი წინამდებარე ნაშრომში.

დიდად ვემადლიერები დახმარებისა და მხარდაჭერისთვის აკადემიკოს თენგიზ ბერიძეს და პროფესორ ნანა კოტრიკაძეს.

მადლობას ვუხდი წიგნის რედაქტორებს – პროფესორ ქეთევან დოლიძესა და პროფესორ გურამ ტყემალაძეს მათ მიერ გაწეული სკრუპულოზური შრომისა და საქმიანი შენიშვნებისათვის. განსაკუთრებით ფასდაუდებელია ბატონი გურამის რჩევები და მითითებები, რომელთა გათვალისწინებით შესაძლებელი გახდა მოლეკულურ ბიოლოგიაში ზოგჯერ უცვლელად გადმოტანილი უცხოენოვანი ტერმინოლოგიის გაქართულება. ეს უთუოდ გაუადვილებს მკითხველს ნაშრომში წარმოდგენილი მასალის აღქმასა და გაგებას.

მადლობა პროფესორ დავით ბარათაშვილსა და ასოც. პროფესორ მარინა ნაგერვაძეს – ცალკეული თავების სრულყოფაში გაწეული დახმარებისათვის; ჩემს ახალგაზრდა კოლეგებს: ირაკლი ფარულავას, სოფიკო

ცქვიტინიძეს და ირინა ნაკაშიძეს - წიგნის ილუსტრაციებისა და სქემების მომზადებაში გაწეული შრომისა და სხვა ტექნიკური დახმარებისათვის.

მადლიერებას გამოვხატავ ბსუ-ს საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ადმინისტრაციისა და ბიოლოგიის დეპარტამენტის თანამშრომლების, ჩემი კოლეგების მიმართ – კეთილგანწყობისა და მორალური მხარდაჭერისათვის.

დაბოლოს, არ შემიძლია არ გავიხსენო და პატივი არ მივაგო ადამიანებს, რომელთაც დიდი წვლილი მიუძღვით ჩემს პროფესიულ არჩევანსა და პროფესიონალად ჩამოყალიბებაში – პროფესორ შოთა გოლიაძეს და ჩემს სამეცნიერო ხელმძღვანელებს – აკადემიკოს ვასილი კონარევს და პროფესორ ელლი ეგგის.

ვიმედოვნებ, რომ „მოლეკულური ბიოლოგიის“ წინამდებარე სახელმძღვანელო დახმარებას გაუწევს ბიოლოგიური და სამედიცინო პროფილის ქართულენოვან სტუდენტებს მოლეკულური ბიოლოგიის სასწავლო კურსის შესწავლაში. არ გამოვრიცხავ, რომ სახელმძღვანელო სასარგებლო აღმოჩნდეს ახალგაზრდა მკვლევრებისა და ბიოსამედიცინო პროფილის სპეციალისტებისთვისაც.

ავტორი მადლიერებით მიიღებს და გაითვალისწინებს ყველა საქმიან შენიშვნასა და კრიტიკას.

რუსუდან ხუხუნაიშვილი

შესავალი

სამყაროს უნიკალურ ფენომენს - სიცოცხლეს - სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სხვადასხვა დარგი განსხვავებულ ორგანიზაციულ დონეებზე, სხვადასხვა ასპექტში განიხილავს და შეისწავლის. მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში მეცნიერების დარგების - ბიოლოგიის, ქიმიის, ფიზიკის, მათემატიკის - მეთოდების გამოყენებით შესაძლებელი გახდა, სიცოცხლის ელემენტარული სტრუქტურულ-ფუნქციური ერთეულის - უჯრედის მიკროსამყაროში შეჭრა, რის შედეგადაც ჩამოყალიბდა ბიოლოგიის ახალი დარგი - მოლეკულური ბიოლოგია, რომელიც ცოცხალი მატერიის ელემენტარულ სტრუქტურებს და მათში მიმდინარე სასიცოცხლო პროცესებს მოლეკულურ დონეზე შეისწავლის.

არსებობს განსხვავებული მონაცემები იმის შესახებ, თუ ვის სახელს უკავშირდება თავად ტერმინის შემოტანა. მეცნიერთა დიდი ნაწილი მიიჩნევს, რომ ტერმინი "მოლეკულურ ბიოლოგია" ფრენსის კრიკმა დაამკვიდრა. ის იუმორით ამბობდა, რომ მობეზრდა ახსნა იმისა, რომ არის მეცნიერი, რომელიც მუშაობს კრისტალოგრაფიის, ბიოქიმიის, ბიოფიზიკის და გენეტიკის მომიჯნავე საკითხებზე და თავი მოლეკულურ ბიოლოგად გამოაცხადა. მეორე ნაწილი თვლის, რომ ტერმინი მოლეკულური ბიოლოგია პირველად უილიამ ასტბერიმ გამოიყენა 1946 წელს. მესამენი ამტკიცებენ, რომ სახელწოდება „მოლეკულური ბიოლოგია" პირველად როკფელერის ფონდის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა განყოფილების ხელმძღვანელმა უორენ უივერმა გამოიყენა, რომელიც 1938 წელს წერდა: „იქ, სადაც ქიმია და ფიზიკა კვეთს ბიოლოგიას, წარმოიშობა მეცნიერების ახალი დარგი - მოლეკულური ბიოლოგია, რომელიც თანდათან ხდის ფარდას ცოცხალი უჯრედის მრავალ საიდუმლოებას".

აღიარებულია, რომ მოლეკულური ბიოლოგია ორი ბიოლოგიური დარგის - ბიოქიმიისა და გენეტიკის საზღვარზე ჩამოყალიბდა. ცნობილი ამერიკელი ბიოქიმიკოსი ერვინ ჩარგაფი მას „არალეგალურ" ბიოქიმიასაც კი უწოდებდა.

მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარებას სწორედ ამ ორი მიმართულების სამეცნიერო მიღწევები დაედო საფუძვლად. ერთი სკოლა ბიოქი-

მიის პრობლემების გადასაჭრელად აქტიურად იყენებდა კვლევის ფიზიკურ და ქიმიურ მეთოდებს. ამ პერიოდში დაიწყო რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის გამოყენება ბიოლოგიური მაკრომოლეკულების - ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების შესწავლის მიზნით. მეცნიერთა მეორე სკოლა კვლევებს ატარებდა გენეტიკური პროცესების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლის მიმართულებით. ისინი ექსპერიმენტებს ძირითადად ბაქტერიებსა და ვირუსებზე ატარებდნენ. ეს სამეცნიერო მიმართულება ცნობილია „ფაგური სკოლის“ სახელწოდებით. სწორედ ამ სკოლის წარმომადგენლების მიერ იქნა დამტკიცებული, რომ ცოცხალი ორგანიზმების გენეტიკურ მასალას დნმ-ის მოლეკულები წარმოადგენს.

ამ სამეცნიერო მიმართულებების მიღწევებზე დაყრდნობით შესაძლებელი გახდა დნმ-ის ორმაგი სპირალის სტრუქტურის დადგენა. ჩვენი დროის ამ „ყველაზე ცნობილი ბიოლოგიური მოლეკულის“ სტრუქტურა 1953 წელს ბიოლოგ უილიამ უოტსონისა (ფაგური სკოლა) და ბიოფიზიკოს ფრენსის კრიკის მიერ იქნა გაშიფრული. სწორედ ეს შესანიშნავი აღმოჩენა დაედო საფუძვლად მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევების ძირითად მიმართულებებს. ამ პერიოდიდან მოლეკულური ბიოლოგია აღიარებულია საბუნებისმეტყველო მიმართულების ერთ-ერთ ყველაზე პრიორიტეტულ და სწრაფად განვითარებად მეცნიერებად.

მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარების ისტორიას პირობითად ოთხ ძირითად ეტაპად ყოფენ:

1. პირველი რომანტიკული პერიოდი - 1938-1944 წწ.

ამ პერიოდის ფუნდამენტურ კვლევებად ითვლება *მაქს დელბრიუკისა (Max Delbrück)* და სალვადორ ლურიას *(Salvador Luria)* გამოკვლევები ფაგების რეპროდუქციის შესახებ. ამავე პერიოდში (1940 წ.) *ჯორჯ ბიდლისა და ედუარდ ტატუმის (George Beadle , Edward Tatum)* მიერ ჩამოყალიბებულ იქნა ჰიპოთეზა - „ერთი გენი - ერთი ფერმენტი“, თუმცა გენის ფიზიკური და ქიმიური ბუნება ჯერ კიდევ არ იყო შესწავლილი.

2. მეორე რომანტიკული პერიოდი - 1944-1953 წწ.

ამ პერიოდში *ოსვალდ ეივერის, კოლინ მაკ-ლეოდის და მაკლინ მაკკარტის (Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty)* მიერ

დამტკიცებულ იქნა დნმ-ის გენეტიკური ფუნქცია (1944 წ.), ხოლო *ფრენსის კრიკმა და ჯეიმს უოტსონმა (Francis Crick , James Watson)* 1953 წელს შექმნეს დნმ-ის სტრუქტურული მოდელი.

3. დოგმატური პერიოდი 1953-1962 წწ.

ფრენსის კრიკის მიერ ჩამოყალიბებულ იქნა მოლეკულური ბიოლოგიის ძირითადი დოგმა: დნმ → რნმ → ცილა, რომელიც ცოცხალ უჯრედში გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის ძირითადი გზის სქემატურ ასახვას წარმოადგენს.

1961 წელს *ანდრე ლვოვის, ფრანსუა ჟაკობისა და ჟაკ მონოს (André Lwoff, François Jacob. Jacques Monod)* მიერ დაგენილ იქნა ფერმენტის სინთეზის გენეტიკური რეგულაციის ძირითადი მექანიზმები.

1962 წელს *მარშალ ნირენბერგმა, ჰენრიხ მათეიმ და სევერო ოჩოამ (Marshall Nirenberg, Heinrich Matthaei, Severo Ochoa)* გაშიფრეს გენეტიკური კოდი.

4. აკადემიური პერიოდი 1962 წლიდან დღემდე.

1974 წლიდან აქვე გამოყოფენ გენური ინჟინერიის პერიოდს.

მოლეკულური ბიოლოგია განვითარება განსაკუთრებით ინტენსიურად მე-20 საუკუნის 70-იანი წლებიდან დაიწყო. დეტალურად იქნა შესწავლილი დნმ-ის ავტორეპროდუქციის (რეპლიკაცია), რნმ-ის ბიოსინთეზისა (ტრასკრიფცია) და ცილის ბიოსინთეზის (ტრანსლაცია) მოლეკულური მექანიზმები. 1970 წელს *ჰოვარდ თემინის, დევიდ ბალტიმორისა და რენატო დულბეკოს (Howard Temin, David Baltimore, Renato Dulbecco)* მიერ აღმოჩენილ იქნა უკუტრანსკრიფციის მოვლენა და ფერმენტი უკუტრანსკრიფტაზა. შესაბამისად, მოლეკულური ბიოლოგიის ძირითად დოგმაში:

დნმ ⟶ რნმ ⟶ ცილა

ნაწილობრივი ცვლილებები შევიდა.

დნმ ⟷ რნმ ⟶ ცილა

ამ სქემის თანახმად, რნმ-ის მატრიცაზეც შესაძლებელია დნმ-ის სინთეზი განხორციელდეს.

ამავე პერიოდში დაიხვეწა წარმოდგენები მოლეკულური პროცესების წარმმართველი ცილოვანი მოლეკულების (ფერმენტები, რეგულატორული ცილები) სტრუქტურისა და ფუნქციების შესახებ.

ამრიგად, შეიქმნა თეორიული საფუძველი მოლეკულური ბიოლოგიის პრაქტიკული დარგების განვითარებისათვის. 1972 წელს *პოლ ბერგმა, ჰერბერტ ბოიერმა და სტენლი კოენმა (Paul Berg, Herbert Boyer , Stanley Cohen)* შეიმუშავეს გენეტიკური მასალის მოლეკულური კლონირების ტექნოლოგიები. სწორედ მაშინ იქნა მიღებული პირველი რეკომბინანტული დნმ. ამ გენიალური ექსპერიმენტებით საფუძველი ჩაეყარა მოლეკულური ბიოლოგიის ახალ მიმართულებას - გენეტიკურ ინჟინერიას.

70-იანი წლების ბოლოსა და 80-იანი წლების დასაწყისში მოლეკულურ ბიოლოგიაში განხორციელდა რამდენიმე დიდი აღმოჩენა: 1978 წელს *ფილიპ შარპის (Phillip Sharp)* მიერ დადგენილ იქნა რნმ-ის სპლაისინგის მოლეკულური მექანიზმები, ხოლო *თომას ჩეკის (Thomas Cech)* ლაბორატორიაში 1982 წელს აღმოჩენილ იქნა რნმ-ის კატალიზური ფუნქცია და ავტოსპლაისინგის მოვლენა

1977 წელს *ფრედერიკ სენგერმა (Frederick Sanger),* ხოლო მისგან დამოუკიდებლად *ალან მაქსამმა* და *უოლტერ გილბერტმა (Allan Maxam, Walter Gilbert)* შეიმუშავეს დნმ-ის პირველადი სტრუქტურის გაშიფვრის, ე.წ. სექვენირების მეთოდი. ეს მეთოდი იმდენად სწრაფი და მოსახერხებელი აღმოჩნდა, რომ მალევე პოვა ფართო გამოყენება. დნმ-ის სექვენირების მეთოდმა საფუძველი ჩაუყარა მოლეკულური გენეტიკის ახალი მიმართულებების - გენომიკისა და პროტეომიკის განვითარებას. ჩამოყალიბდა ახალი დარგი - ბიოინფორმატიკა, რომელიც სულ უფრო აქტიურად გამოიყენება ისეთი ბიოლოგიური საკითხების გადასაწყვეტად, როგორიცაა: ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის სტატისტიკური ანალიზი; ბიოპოლიმერების (დნმ, რნმ, ცილა) ფუნქციის განსაზღვრა ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის საფუძველზე; მოლეკულური ევოლუციის თეორია და სისტემატიკა და სხვ.

1987 წელს *კერი მიულისის (Kary Mullis)* მიერ დამუშავებული იქნა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდი. ამ მეთოდის გამოყენებით წარმოებს დნმ-ის მოლეკულების რაოდენობის გაზრდა

ხსნარში და შესაძლებელი ხდება საანალიზოდ მისი გამოყენება. სადღეისოდ პჯრ-ის მეთოდი ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს საშუალებას წარმოადგენს ვირუსული დაავადებების, გენების შესწავლის, პიროვნების გენეტიკური ტიპირების, ნათესაობის დადგენისა და სხვა პრაქტიკული საკითხების გადასაწყვეტად.

1998 წელს *კრეიგ მელლოუსა* და *ენდრიუ ფაიერის (Craig Mello, Andrew Fire)* მიერ აღმოჩენილ იქნა რნმ-ინტერფერენციის მოვლენა, რომელიც საშუალებას იძლევა, მცირე, ორჯაჭვიანი რნმ-ის მეშვეობით გენის ექსპრესიის მიზანმიმართული ჩახშობა განხორციელდეს. თანამედროვე მოლეკულური ბიოლოგიისთვის ამ აღმოჩენას უდიდესი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. სამეცნიერო ექსპერიმენტებში ინტერფერენციული რნმ-ის მოლეკულების გამოყენებით შესაძლებელი გახდა გენის აქტივობის ჩახშობის მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა. ეს საშუალებას იძლევა, ინტერფერენციის მოვლენა პერსპექტივაში გამოყენებულ იქნეს ვირუსული, სიმსივნური თუ მეტაბოლიტური დაავადებების მკურნალობისათვის.

1999-2001 წწ. მეცნიერთა რამდენიმე ჯგუფის მიერ დეტალურად იქნა შესწავლილი ბაქტერიული რიბოსომების სტრუქტურა.

2009 წელს *ელიზაბეთ ბლეკბერნს, კეროლ გრეიდერს და ჯეკ შოსტაკს (Elizabeth Blackburn, Carol Greider , Jack Szostak)* ნობელის პრემია მიენიჭათ ტელომერების სტრუქტურისა და ტელომერაზების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების გაშიფვრისთვის. მათ მიერ დადგენილ იქნა, რომ ფერმენტი ტელომერაზა იცავს და აღადგენს ქრომოსომის ბოლოებს (ტელომერებს). მისი აქტივობა განსაკუთრებით მაღალია სიმსივნურ უჯრედებში. მიიჩნევენ, რომ ტელომერაზების მაინჰიბირებელი პრეპარატების გამოყენება პერსპექტიული მიმართულებაა სიმსივნური დაავადებების წინააღმდეგ ბრძოლის საქმეში.

ზემოთ ჩამოთვლილი მიღწევებისა და ახალი ტექნოლოგიების შემუშავების კვალდაკვალ, სულ უფრო ფართოვდება თეორიული და პრაქტიკული ამოცანების ნუსხა, რომელთა გადაწყვეტა სამომავლოდ მოლეკულური ბიოლოგიის სფეროში მომუშავე მკვლევართა საქმეა. ესენია: სხვადასხვა ცოცხალი ორგანიზმების გენომების გაშიფვრა; გენების ბიოლოგიური ბანკების შექმნა; გენომური დაქტილოსკოპია; გენეტიკური პას-

პორტების შექმნა; ცოცხალი სამყაროს ევოლუციისა და ბიომრავალფეროვნების მოლეკულურ საფუძვლებში წვდომა; განვითარებისა და დაბერების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა; გენეტიკური და ვირუსული დაავადებების დიაგნოსტიკისა და მკურნალობის მეთოდების შემუშავება; საკვები პროდუქტებისა და ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა წარმოების ახალი ტექნოლოგიების შექმნა და სხვ.

ჩამოთვლილი ამოცანების გადაწყვეტის მიზნით, მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში ფუნქციონირებს მოლეკულური ბიოლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრები და ლაბორატორიები. აღნიშნულიდან გამომდინარე, 21-ე საუკუნე სამართლიანად ითვლება მოლეკულური ბიოლოგიისა და ტექნოლოგიების საუკუნედ.

თავი 1. უჯრედი, როგორც სასიცოცხლო პროცესების მოლეკულური რეგულაციის ელემენტარული სტრუქტურული ერთეული

სიცოცხლის წარმოშობის აღიარებული თეორიების თანახმად, სიცოცხლე დედამიწაზე აბიოგენურად, ქიმიური ნივთიერებების ევოლუციის გზით შეიქმნა. დაახლოებით სამნახევარი მილიარდი წლის წინ, დედამიწის წარმოშობისა და გეოლოგიური განვითარების კვალდაკვალ, შესაძლებელი გახდა მარტივი ორგანული ნაერთების ჩამოყალიბება ისეთი მარტივი ქიმიური ელემენტებისაგან, როგორიცაა: ნახშირბადი, წყალბადი, ჟანგბადი, აზოტი, გოგირდი და ფოსფორი. შემდეგ ეტაპზე კი მათი კომბინაციის, დისპერსიისა და რეკომბინაციის გზით შეიქმნა უფრო რთული ორგანული ნაერთები, მათ შორის - თვითრეპლიცირებადი მოლეკულები. ზოგიერთი თვითრეპლიცირებადი მოლეკულის შემდგომი ევოლუციური განვითარების შედეგად, მიღებულ იქნა სამგანზომილებიანი სტრუქტურა - უჯრედი. უჯრედი გარედან მემბრანით შემოისაზღვრა და შეიძინა შინაგანი გარემოს გაკონტროლების უნარი. სიცოცხლის ეს ფორმა თანდათან უფრო კომპლექსური გახდა. მათ დაიწყეს გარემოდან შეთვისებული საკვებით მიღებული ენერგიის გამოყენება უჯრედში მიმდინარე ქიმიური პროცესებისათვის, შეიძინეს რეპლიკაციის პროცესების რეგულაციის უნარი. სიცოცხლის უჯრედული ფორმის შემდგომი ცვლილებებისა და განვითარების შედეგად, ცოცხალ უჯრედებში მოხდა ბირთვის ფორმირება. ასეთი სტრუქტურა ცოცხალი სისტემის უფრო მაღალ ორგანიზაციულ ფორმას წამოადგენდა.

დედამიწის ევოლუციური განვითარების თანამედროვე ეტაპზე ცოცხალი ორგანიზმები უაღრესად დიდი მრავალფეროვნებით არის წარმოდგენილი. მეცნიერული გათვლებით, სამყაროს ბიომრავალფეროვნება დაახლოებით 100 მლნ-მდე განსხვავებული ორგანიზაციული დონის სახეობისაგან შედგება. ცოცხალი ორგანიზმები სახლობენ დედამიწის ზედაპირზე, წყალში. ისინი ნაპოვნია ექსტრემალურ გარემო პირობებშიც - ოკეანის დიდ სიღრმეებში, ყინულოვან საფარში, დედამიწის ქერქში - ასეულობით კილომეტრის სიღრმეზე, ვულკანურ ქანებში.

ცოცხალი სამყაროს ორგანიზაციული მრავალფეროვნების მიუხედავად, ყველა მათგანისათვის დამახასიათებელ საერთო თვისებას წარმო-

ადგენს მემკვიდრეობითი ინფორმაციის ავტორეპროდუქციის უნარი. მშობლისეული ორგანიზმები ევოლუციურად განპირობებული მექანიზმის მეშვეობით უზრუნველყოფს თავისივე მსგავსი შთამომავლობის კვლავწარმოქმნას. გენეტიკური ინფორმაციის თაობებში გადაცემის უნარი ცოცხალი სამყაროს ერთ-ერთ ძირითად, უნიკალურ მახასიათებელს წარმოადგენს.

ამ პროცესების წარმართვისათვის ორგანიზმი იყენებს თავისუფალ ენერგიას. ამ დროს მიმდინარე რთული ქიმიური გარდაქმნები ორგანიზმის გენეტიკური სტრუქტურით რეგულირდება.

ევოლუციური განვითარების პროცესში უჯრედმა განიცადა სტრუქტურული და ფუნქციური სრულყოფა. იგი გადაიქცა სიცოცხლის სტრუქტურულ, ფუნქციურ, გამრავლებისა და განვითარების ერთეულად.

ევოლუციური განვითარების შემდეგ ეტაპზე მოხდა მრავალუჯრედიანი ცოცხალი სისტემების ფორმირება. ეს კი დაკავშირებული იყო უჯრედის სტრუქტურულ და ფუნქციურ სპეციალიზაციასთან და უჯრედშორისი სასიცოცხლო კავშირების სრულყოფასთან. ევოლუციის პროცესში შეიქმნა უფრო მაღალი დონის ცოცხალი სისტემა - ორგანიზმი.

ცოცხალ სისტემას მიეცა უფრო ძლიერი გენეტიკური ინდივიდუალობის გამოვლენის, მემკვდრეობითი ცვალებადობის ახალი შესაძლებლობების (კომბინაციური და რეკომბინაციული) შეძენის და, შესაბამისად, ადაპტური თავისებურებების სრულყოფის საშუალება. ამ პროცესებთან კი დაკავშირებული იყო სიცოცხლის მრავალფეროვნების ზრდა, სასიცოცხლო პროცესების ინტენსიფიკაცია და დედამიწაზე ცოცხლის გავრცელების შესაძლებლობების ამაღლება.

უჯრედული ციკლი

სიცოცხლის ერთ-ერთ მნიშვნელოვანი თვისების - ბიოლოგიური სისტემების თვითწარმოქმნის საფუძველს უჯრედის გაყოფის უნარი წარმოადგენს. „უჯრედის გაყოფის უნარზე დამოკიდებულია არა მარტო მემკვიდრეობითობის მოვლენა, არამედ თვით სიცოცხლის უწყვეტობა“, - ედმუნდ ვილსონის ეს გამონათქვამი კარგად ასახავს უჯრედის გაყოფის ბიოლოგიურ მნიშვნელობას.

უჯრედის გაყოფიდან გაყოფამდე პერიოდი ცნობილია უჯრედული ციკლის სახელწოდებით. უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობა დამოკი-

დებულია გაყოფადი უჯრედების თავისებურებებზე. უჯრედების გაყოფის უნარი, ტემპები და დროც გენეტიკურადაა დეტერმინირებული. ამიტომ ეს პროცესები ექვემდებარება მკაცრ კონტროლს. ადრეული ემბრიოგენეზის სტადიაზე უჯრედები გაცილებით ხშირად იყოფა, ხოლო ზრდასრულ ორგანიზმში თანდათან კარგავს ამ უნარს.

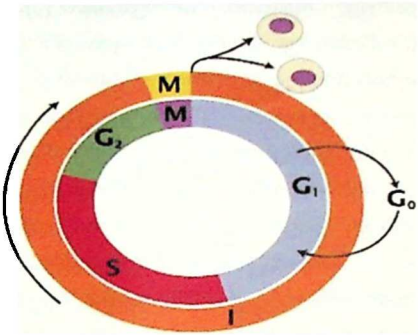
ევკარიოტული უჯრედების უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობა გაცილებით მეტია, ვიდრე პროკარიოტული უჯრედების. მაგალითად, ბაქტერიული უჯრედის გაყოფიდან გაყოფამდე პერიოდი 20-30 წთ-ს შეადგენს, უმარტივესი ევკარიოტების - ქალამანას უჯრედული ციკლი 10-20 სთ-ს, მრავალუჯრედიანი ევკარიოტებისა - დაახლოებით 24 სთ-ს.

უმაღლეს ხერხემლიანთა ზოგიერთ უჯრედს გაყოფის უნარი საერთოდ არ გააჩნია. ასეთებია, ძირითადად, სპეციალიზებული, დიფერენცირებული უჯრედები. მაგალითად, ცენტრალური ნერვული სისტემის და თვალის ბროლის უჯრედები. მეორე მხრივ, ორგანიზმში არსებობს მუდმივად გაყოფადი უჯრედები - კანის ეპითელიუმის, ძვლის ტვინის სისხლმბადი უჯრედები, ელენთის უჯრედები და ა. შ. მსგავს თვისებას ამჟღავნებს მცენარეული ორგანიზმების ზოგიერთი, მაგალითად, კამბიუმის უჯრედები. ზოგიერთი (ფილტვების, ღვიძლისა და თირკმლების) უჯრედი ნორმალური ცხოველქმედების პირობებში არ იყოფა, მაგრამ ამ უნარს იძენს ორგანოებისა და ქსოვილების რეპარაციული რეგენერაციის საპასუხოდ.

ნებისმიერი ორგანიზაციული დონის უჯრედი გაყოფის პროცესს მომზადებული ხვდება. მოსამზადებელ ეტაპზე განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი დნმ-ის სინთეზია.

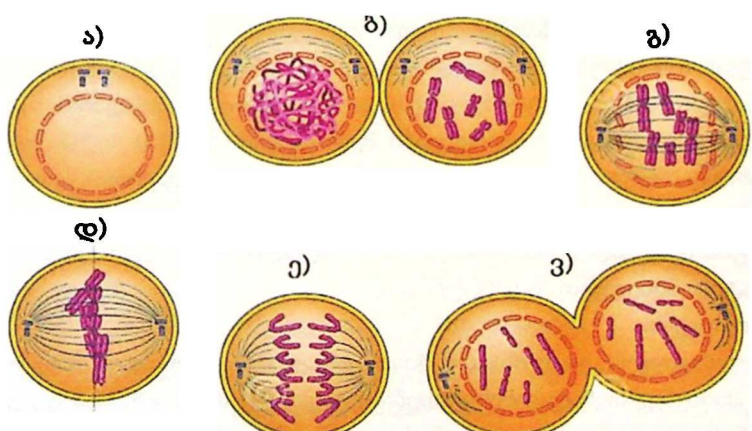
უჯრედული გაყოფის არსს გაორმაგებული გენეტიკური მასალის შვილისეულ უჯრედებში თანაბრად გადანაწილება წარმოადგენს. ცხადია, გაყოფიდან გაყოფამდე მონაკვეთში უნდა არსებობდეს დნმ-ის სინთეზის პერიოდი. ეს მოსაზრება დადასტურებულ იქნა რადიოავტოგრაფირების მეთოდით.

ევკაროტული უჯრედების უჯრედული ციკლი ოთხ ფაზად იყოფა: საკუთრივ მიტოზი (M), წინასინთეზური (G_1), სინთეზური (S) და პოსტსინთეზური (G_2). სიმბოლო G (gap) ინტერვალს ნიშნავს (სურ. 1.1). პერიოდს ორ მიტოზს შორის ინტერფაზა ეწოდება.



სურ. 1.1. უჯრედული ციკლის სქემა (Kornberg and Baker, 1992)

ინტერფაზაში გამოყოფენ დნმ-ის სინთეზის (S) ფაზას, მიტოზის დამთავრებისა და დნმ-ის სინთეზის დაწყებამდე პერიოდს - G_1 ფაზას, როდესაც უჯრედშიგა სინთეზური პროცესები ამზადებენ გენეტიკურ მასალას გაორმაგებისთვის და დნმ-ის სინთეზის დამთავრებისა და მიტოზის დაწყებამდე პერიოდს - G_2 ფაზას, რომლის დროსაც დნმ-ის რეპლიკაციის კონტროლი და დაშვებული შეცდომების გასწორება ხდება.



სურ. 1.2. უჯრედის მიტოზური გაყოფა.
ა) ინტერფაზა; ბ) პროფაზა; გ) პრომეტაფაზა; დ) მიტოზი; ე) ანაფაზა; ვ) ტელოფაზა

მიტოზის დაწყებისთანავე, მის პირველ ფაზაში - *პროფაზაში* გენეტიკურ მასალას აქვს ქრომატიდურ-ქრომოსომური ორგანიზაცია. ქრომატინული სტრუქტურები სპირალიზაციის შედეგად ერთი ცენტრომერით გაერთიანებული, იდენტური ორი სუბერთეულის - ქრომატიდების სახით ყალიბდება. სპირალიზაციისა და კონდენსაციის შედეგად, ქრომატინული სტრუქტურები მოკლდება და მსხვილდება, რის გამოც უკეთ შესამჩნევნია მიკროსკოპში (სურ.1.2-ბ,გ). ქრება ბირთვაკი, ბირთვის გარსი, ყალიბდება გაყოფის აპარატი - *ქრომატინული თითისტარი.* მომდევნო ფაზაში - *მეტაფაზაში* (სურ. 2.2-დ). ქრომოსომები იწყებს მოწესრიგებულ გადაადგილებას ეკვატორულ სიბრტყეში, სადაც ისე ლაგდებიან, რომ ყოველ ქრომოსომას ცენტრომერის უბანში ემაგრება ორივე პოლუსიდან გამოსული თითისტარის ძაფები. *ანაფაზაში* იწყება ქრომოსომების გახლეჩა ცენტრომერის უბანში, მათი განზიდვა და გადაადგილება პოლუსებისაკენ (სურ. 1.2-ე). ასე რომ, ქრომატიდები დამოუკიდებელ ქრომოსომებად იქცევა. *ტელოფაზა,* როგორც ბოლო ფაზა, ხასიათდება პროფაზის საწინააღმდეგო პროცესებით, კერძოდ - ქრომოსომები განიცდის დეკონდენსაციასა და დესპირალიზაციას, რის შედეგადაც გრძელდება და წვრილდება, აღდგება ბირთვის ბადისებრი სტრუქტურა. გაჩნდება ბირთვაკები, აღდგება ბირთვის გარსი, ქრება გაყოფის თითისტარა, რაც უჯრედის ცენტრის ჩამოყალიბებით მთავრდება. (სურ. 1.2-ვ). ამით სრულდება კარიოკინეზი. ციტოპლაზმის ორგანოიდები შვილისეულ უჯრედებში შემთხვევით, მაგრამ მეტ-ნაკლებად თანაბრად ნაწილდება *ციტოკინეზის* - ციტოპლაზმის გაყოფის დროს.

მთელი ამ პროცესების არსი იმაში მდგომარეობს, რომ მიტოზური გაყოფის შედეგად წარმოქმნილი შვილისეული უჯრედები გენეტიკური აპარატის მიხედვით იდენტურია და დედა უჯრედის ზუსტ ასლებს წარმოადგენს.

უჯრედული ციკლისა და მისი ცალკეული პერიოდის ხანგრძლივობა მნიშვნელოვნად განსხვავდება სხვადასხვა ორგანიზმისა და ერთი ორგანიზმის სხვადასხვა ორგანოს უჯრედებში. მაგალითად, თაგვების რქოვანას ეპითელიუმის უჯრედების მიტოზური ციკლი დაახლოებით 72 სთ-ს გრძელდება, სისხლმბადი უჯრედებისა - 24 სთ-ს. ზოგიერთი

ევკარიოტული ორგანიზმის უჯრედული ციკლი საკმაოდ ხანმოკლეა. მაგალითად, რიგი საფუვრისთვის ის შეადგენს 1,5 სთ-ს.

მზარდ ევკარიოტულ ორგანიზმებში ყოველთვის არის უჯრედები, რომლებშიც უჯრედული ციკლის ფაზები სტაბილურია და მათ შორის რეგულარული მონაცვლეობა - $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M$ - არ შეინიშნება. ასეთ უჯრედებს G_0 პერიოდის უჯრედებს უწოდებენ. ეს უჯრედები მიეკუთვნება ე. წ. „მოსვენებული" უჯრედებს ანუ უჯრედებს, რომელთაც დაკარგული აქვს გაყოფის უნარი. ზოგიერთ ქსოვილში ასეთი უჯრედები საკმაოდ ხანგრძლივად არსებობენ. უმეტესად, ეს დაკავშირებულია უჯრედების დიფერენციაციასა და სპეციალიზაციასთან. საჭიროების შემთხვევაში მათ შეუძლიათ, კვლავ შევიდნენ უჯრედულ ციკლში. მაგალითად, ღვიძლის უჯრედების უმეტესობა G_0 ფაზაში იმყოფება. მათში არ ხდება დნმ-ის სინთეზი და ისინი არ იყოფა. ღვიძლის გარკვეული ნაწილის მოკვეთის შემთხვევაში, უჯრედების დიდი ნაწილი იწყებს მიტოზისთვის მზადებას - შედის G_1 პერიოდში, იწყებს დნმ-ის სინთეზს და აღიდგენს მიტოზური გაყოფის უნარს. სხვა უჯრედები, აღწევენ რა ტერმინალურ დიფერენცირებას, აღარ იყოფა. მაგალითად, ნეირობლასტები (ემბრიონული ნერვული უჯრედები), გაივლიან რა უჯრედული გაყოფის რამდენიმე ციკლს, კარგავენ გაყოფის უნარს, დიფერენცირდებიან, ყალიბდებიან ნეირონებად და ამ მდგომარეობაში რჩებიან სიცოცხლის ბოლომდე.

აღსანიშნავია, რომ ზრდასრული მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების დიდი ნაწილი სწორედ G_0 ფაზაში იმყოფება. ამ ფაზიდან უჯრედის გამოყვანა ხორციელდება ცილების რთული სისტემის - ციკლინების მეშვეობით.

უჯრედული ციკლის რეგულაცია

უჯრედული ციკლის მამოძრავებელ ძალას ციკლინდამოკიდებული კინაზები (ინგლ. Ciklin dependent kinase - Cdk) წარმოადგენს. უჯრედის უნარი, დიდხანს იმყოფებოდეს G_0 ფაზაში, იმაზე მიუთითებს, რომ უჯრედი სპეციალური მექანიზმის მეშვეობით არეგულირებს, გამოვიდეს უჯრედული ციკლიდან, თუ განაგრძოს ის. ციკლინდამოკიდებული კინაზა (Cdk) უჯრედული ციკლის ფაზების ცვლაზე პასუხისმგებელი

რეგულატორული ცილოვანი მოლეკულაა, რომელიც უჯრედული ციკლის ერთგვარ საათს წარმოადგენს.

ნებისმიერი ციკლინდამოკიდებული კინაზა მხოლოდ ერთი სუბერთეულისგან შედგება, რომელიც არააქტიური მოლეკულაა. მის გააქტიურებას სპეციალური ცილები - ციკლინები ემსახურება. უჯრედში რამდენიმე სხვადასხვა ციკლინი გვხვდება. ცალკეული კინაზის აქტივაცია მიიღწევა სპეციფიკურ ციკლინთან ასოციაციის შედეგად. ყველა ციკლინს Cdk-თან დასაკავშირებლად აქვს საერთო, 100-150 ამინომჟავური ნაშთისაგან შემდგარი ე. წ. ციკლინური თანამიმდევრობა. წარმოიქმნება ციკლინ-Cdk კომპლექსი. სხვადასხვა ციკლინისა და Cdk მოლეკულებისაგან შემდგარი კომპლექსები უჯრედული ციკლის მკაცრად განსაზღვრული ფაზის გაკონტროლებაში მონაწილეობს.

ამჟამად იდენტიფიცირებულია სულ რვა ინდივიდუალური ციკლინდამოკიდებული კინაზა (Cdk1- Cdk8). მათი ნაწილი უჯრედული ციკლის რეგულაციაში მონაწილეობას არ იღებს. ყველა Cdk-მოლეკულისთვის დამახასიათებელია პოლიპეპტიდური ჯაჭვების მაღალი სტრუქტურული ჰომოლოგია. კინაზების ფუნქციონირების სპეციფიკურობას მათ სტრუქტურაში ციკლინების დამაკავშირებელი უნიკალური საიტების არსებობა განსაზღვრავს.

Cdk1- Cdk6 -კინაზები ციკლინებთან ასოცირების შემდეგ უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზის არეგულირებენ:

- Cdk1 ასოცირდება A- და B-ციკლინთან და G_2 ფაზის M ფაზაში გადასვლას უზრუნველყოფს;
- Cdk2 უკავშირდება A- , E- , D_2- и D_3- ციკლინებს და G_1 ფაზის S ფაზაში გადავლას არეგულირებს;
- Cdk3-ს შეუძლია, ციკლინების სხვადასხვა ფორმას დაუკავშირდეს. მათი ფუნქცია ბოლომდე გარკვეული არ არის. არსებობს მოსაზრება, რომ შესაძლებელია, Cdk2-ის მსგავსად, G_1 ფაზის S ფაზაში გადასვლაში მონაწილეობდეს;
- Cdk5-ს ფუნქციის შესახებ მონაცემები ძალიან განსხვავებულია და არც მათი ფუნქციაა სრულად შესწავლილი;

- Cdk4 და Cdk6 ძირითადად D-ციკლინებთან წარმოქმნიან ფუნქციურ კომპლექსებს და უჯრედის G_1 ფაზიდან S ფაზაში გადასვლის პროცესებს არეგულირებს.

უჯრედული ციკლის განსაზღვრულ ფაზაში ციკლინდამოკიდებული კინაზების აქტივობა ციკლინების დონით რეგულირდება. გარდა ამისა, მათი აქტივობა რეგულირდება გარკვეული ამინომჟავური ნაშთების ფოსფორილირებითაც. აქტიურ მდგომარეობაში Cdk-ციკლინის კომპლექსი უჯრედული ციკლის განსაზღვრული ფაზის რეგულატორული ცილების ფოსფორილირების რეაქციებში მონაწილეობს.

უჯრედული ციკლის საკონტროლო წერტილები

დასრულდა თუ არა უჯრედული ციკლის გარკვეული ფაზა, უჯრედში საკონტროლო წერტილების მეშვეობით მოწმდება. ასეთი შემოწმება უჯრედული ციკლის რამდენიმე წერტილში ხდება, რომელთაც საკონტროლო ან შემოწმების წერტილებს (ინგ.checkpoint - შემოწმების წერტილი, პუნქტი) უწოდებენ. საკონტროლო წერტილები განლაგებულია G_1, G_2 და M ფაზების ბოლოს. პირველ პუნქტში მოწმდება, არის თუ არა უჯრედში დაზიანებული დნმ-ის მოლეკულები, მეორეში - დასრულდა თუ არა რეპლიკაციის პროცესი, მესამეში ქრომოსომების განაწილების სისწორე კონტროლდება. აღნიშნული დარღვევების აღმოჩენის შემთხვევაში ხდება უჯრედული ციკლის შეჩერება. ეს დრო უჯრედს შეუძლია გამოიყენოს „დაშვებული შეცდომების“ ან დაზიანებათა გამოსწორებისათვის. ისეთ პირობებში, როცა გამოსწორება შეუძლებელია, უჯრედში ირთვება პროგრამირებული სიკვდილის (აპოპტოზის) მექანიზმი და უჯრედი იღუპება.

თავი 2. სასიცოცხლო პროცესების მოლეკულური რეგულაციის მთავარი ბიომოლეკულები

2.1. ცილები

ცილები, ანუ პროტეინები (ლათინურიდან - პირველი, მთავარი) ცოცხალ სამყაროში გავრცელებული ბიოპოლიმერების ყველაზე დიდ კლასს ქმნის. სხვა ბიოლოგიურ მოლეკულებთან შედარებით, ისინი უჯრედში არა მარტო რაოდენობრივი უპირატესობით (მშრალი მასის ნახევარზე მეტს შეადგენს) არის წარმოდგენილი, არამედ განსაკუთრებული სტრუქტურული და ფუნქციური მრავალფეროვნებითაც ხასიათდება. ცილები უჯრედისთვის ის მოლეკულური ინსტრუმენტებია, რომელიც გენეტიკური ინფორმაციის გარდასახვას უზრუნველყოფს. აქედან გამომდინარე, ნებისმიერი ორგანიზმის ფენოტიპური თავისებურება და, ზოგადად, ცოცხალი სამყაროს მორფოლოგიური მრავალფეროვნება სწორედ მათი ფუნქციონირების მექანიზმებზეა დაფუძნებული. უჯრედი შეიცავს ასობით განსხვავებული ცილის მაკრომოლეკულას.

ცილის მოლეკულები მონაწილეობს უჯრედში მიმდინარე ყველა მოლეკულურ-ბიოლოგიურ პროცესში:

ფერმენტული ცილის მოლეკულებს ახასიათებს კატალიზური აქტივობა, რაც უჯრედში და, ზოგადად, ორგანიზმში მეტაბოლური პროცესების ინტენსივობას განსაზღვრავს;

რეგულატორული ცილები ძირითადი მოლეკულური პროცესების (რეპლიკაცია, ტრანსკრიფცია, ტრანსლაცია) სიზუსტეს ემსახურება;

სტრუქტურული ცილები ბიოლოგიური მემბრანების აუცილებელ კომპონენტს წარმოადგენს, ქმნის ციტოჩონჩხის სტრუქტურულ საფუძველს, შედის შემაერთებელი ქსოვილის, თმის საფარის შედგენილობაში და ა. შ. ანუ ასრულებს „სამშენებლო " ფუნქციას უჯრედში.

დამცავი ცილები (იმუნოგლობულინები) - ამ მაღალსპეციფიკურ ცილებს აქვს უცხო ობიექტების, ე. წ. ანტიგენების (ვირუსები, ბაქტერიები, უცხო ქსოვილები) ამოცნობის უნარი, რაც უცხო ნაერთებისა და პათოგენური მიკროორგანიზმებისაგან დაცვის სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან ფუნქციას ემსახურება;

ჰორმონები უჯრედში ფიზიოლოგიური პროცესების აქტივობას არეგულირებს;

სატრანსპორტო ცილები სპეციფიკური ცილების ჯგუფია, რომელიც ზოგიერთი მცირე ზომის მოლეკულისა და იონების ტრანსპორტირებას ემსახურება და უზრუნველყოფს ორგანიზმის ჟანგბადითა და საკვები ნივთიერებით მომარაგებას;

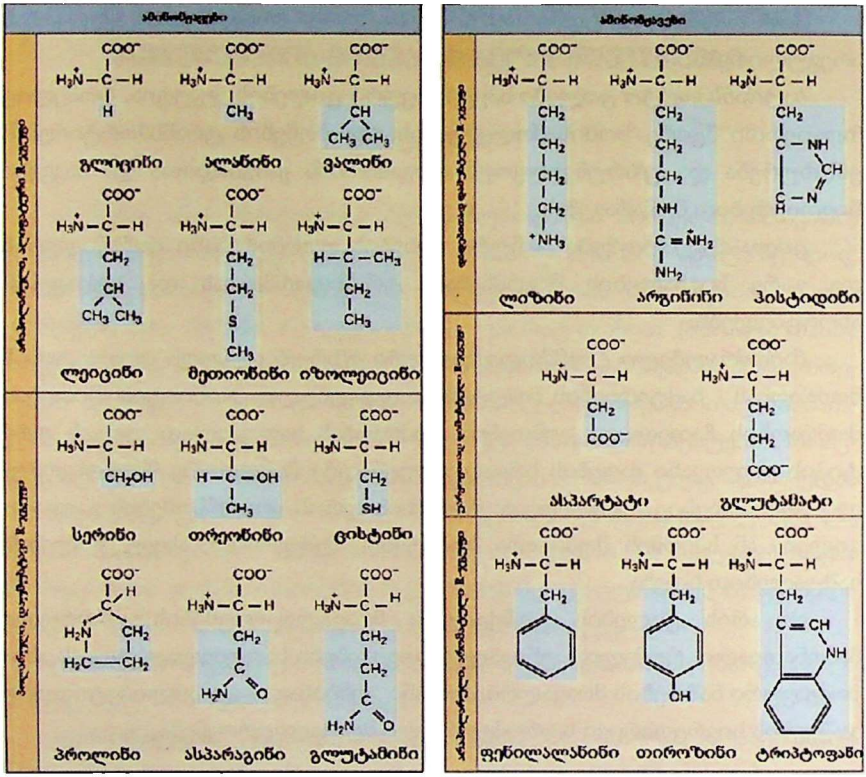
ცილა-რეცეპტორები იონური არხების ფორმირებაში მონაწილეობს და გარე სიგნალების შეგრძნებას, ტრანსფორმაციას და გადაცემას ახორციელებს;

მამოძრავებელი (კუმშვადი) ცილები უზრუნველყოფს ყველა ტიპის მოძრაობას - ბაქტერიების შოლტებით დაწყებული, პიანისტის თითების მოძრაობის ჩათვლით. კუნთების მოძრაობას საფუძვლად უდევს ორი ტიპის ცილოვანი ძაფების სრიალი. უჯრედში მიმდინარე მიკროსკოპული მოძრაობებიც, როგორიცაა: მიტოზის დროს ქრომოსომების გადაადგილება ან სპერმის მოძრაობა შოლტების მეშვეობით, ასევე, ცილების საშუალებით ხდება.

ეს არის ცილების ფუნქციური მრავალფეროვნების არასრული ჩამონათვალი, რომელთა უნიკალურ თვისებებს საფუძვლად უდევს ამინომჟავური ნაშთების მრავალრიცხოვანი კომბინაცია და პოლიპეტიდური ჯაჭვების სივრცობრივი სტრუქტურული მრავალფეროვნება.

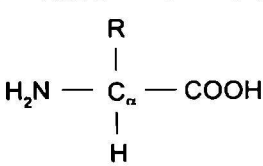
ცილის ამინომჟავური შედგენილობა

უჯრედში არსებული ცილოვანი მოლეკულების კოლოსალურ მრავალფეროვნებას საფუძვლად უდევს საკმაოდ მარტივი მოლეკულური სტრუქტურები. ყველა ტიპის ცილის აგებაში, უმარტივესი პროკარიოტებიდან დაწყებული უმაღლესი ძუძუმწოვრების ჩათვლით, 20 სახის, ე. წ. კანონიკური ამინომჟავა მონაწილეობს. ამდენად, ამინომჟავები ცილის მოლეკულის ანბანად ითვლება (სურ. 2.1). მათი აღნიშვნა სახელწოდების პირველი სამი ასოთი ხდება. მაგალითად, არგინინი - Arg, ჰისტიდინი - His, ალანინი - Ala და ა.შ.

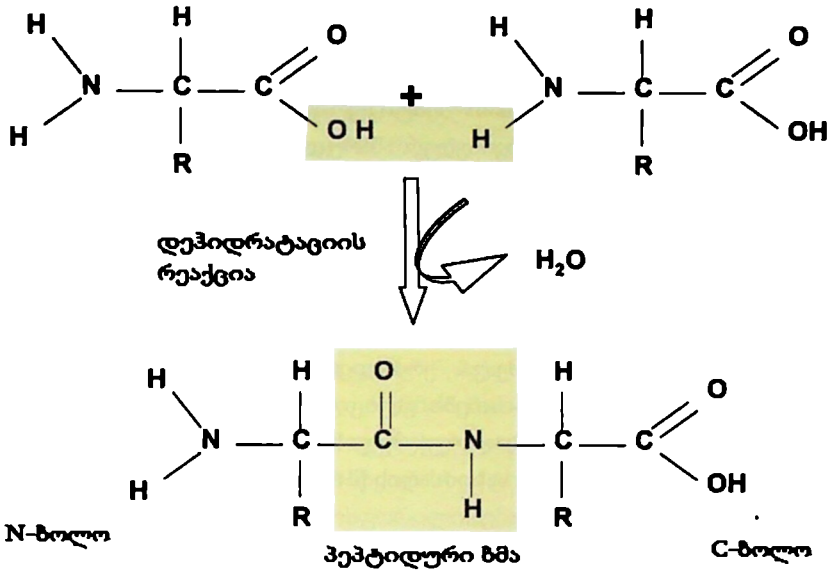


სურ. 2.1. ცილის სტრუქტურაში შემავალი ძირითადი ამინომჟავები

ყოველი ამინომჟავა შედგება ამინოჯგუფის, წყალბადის ატომის, კარბოქსილის ჯგუფისა და რადიკალისაგან:



სხვადასხვა ამინომჟავას ამინო-ჯგუფსა და კარბოქსილის ჯგუფს შეუძლია ერთმანეთს დაუკავშირდეს პეპტიდური ბმის მეშვეობით (სურ. 2.2).



სურ. 2.2. ამინომჟავებს შორის პეპტიდური ბმის ფორმირების სქემა

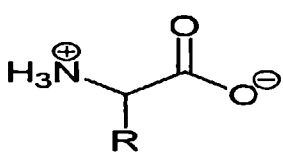
ერთადერთი ამინომჟავა, რომელსაც არ გააჩნია ამინოჯგუფი - პროლინია. ამინომჟავების რადიკალი (R) პეპტიდური კავშირის წარმოქმნაში მონაწილეობას არ იღებს. რადიკალების ქიმიური ბუნება ძალზედ განსხვავებულია, რაც მათ საშუალებას აძლევს, მონაწილეობა მიიღონ ცილის მოლეკულის სივრცობრივი სტრუქტურის წარმოქმნაში. სწორედ რადიკალების განლაგების თანამიმდევრობა განაპირობებს ცილის მოლეკულის სივრცობრივ ორგანიზაციას და, შესაბამისად, მათ ფუნქციებსაც.

ცილის მოლეკულის სტრუქტურაში შემავალი ამინომჟავები α-ამინომჟავების კლასს მიეკუთვნება, ვინაიდან მათი ამინოჯგუფები α-ნახშირბადის ატომთანაა დაკავშირებული. ამინომჟავების მეორე კლასი - β-ამინომჟავებია, რომლებიც სტრუქტურით მათი მსგავსია და ბუნებრივი პოლიპეპტიდების შედგენილობაში არ გვხვდება. β-ამინომჟავებს შეუძლია C_α-C_β კავშირების წარმოქმნა. ეს გაართულებდა პოლიპეპტიდის თავისუფალ დახვევას და ცილების რეგულარული სტრუქტურის წარ-

მოქმნას. როგორც ჩანს, ეს არის ის ძირითადი მიზეზი, რის გამოც ევოლუციის პროცესში უპირატესობა α-ამინომჟავებს მიენიჭა.

ამინომჟავების სტრუქტურაში α-ნახშირბადის გარშემო ოთხი განსხვავებული ქიმიური ჯგუფი განლაგებულია ტეტრაედრის სახით, რაც საფუძვლად უდევს მათ ოპტიკურ თვისებას. სტრუქტურებს, რომლებიც ერთმანეთის სარკისებურ ანარეკლს წარმოადგენს, L- და D-სტრუქტურებს უწოდებენ. ცილის მოლეკულის აგებაში მონაწილეობს მხოლოდ L-სტრუქტურა. ძალიან იშვიათად გვხვდება D-სტრუქტურა, თუმცა, დაფიქსირებულია რამდენიმე შემთხვევა, როცა D-ამინომჟავა ბუნებრივი ცილის აგებაში იღებს მონაწილეობას. მაგალითად, ციმბირის წყლულის ბაქტერიის უჯრედული კედლის ცილების სტრუქტურაში ნაპოვნია D-გლუტამინის მჟავა. ერთადერთი ამინომჟავა, რომელსაც ოპტიკური აქტივობა არ ახასიათებს, გლიცინია.

აღსანიშნავია, რომ ცოცხალი უჯრედის წყლიან გარემოში ამინომჟავები ბიპოლარული იონების სახით არის წარმოდგენილი:



ამიტომ ამინომჟავების უმრავლესობა, რომლებიც მონოამინომონოკარბონის მჟავებს მიეკუთვნება, pH-ის ფიზიოლოგიური მნიშვნელობების დროს დაუმუხტავია. მუხტს ატარებს მხოლოდ ის ამინომჟავები, რომელების გვერდითი ჯაჭვები (რადიკალები) დამატებით შეიცავს დამუხტულ ჯგუფებს (სურ.2.1). მაგალითად, უარყოფითად დამუხტულ ამინომჟავებს მიეკუთვნება ასპარაგინის მჟავა და გლუტამინის მჟავა. რადიკალებში კარბოქსილის უარყოფითი ჯგუფების არსებობა მათ უარყოფით მუხტს და, შესაბამისად, მჟავა თვისებებს განაპირობებს. დადებითად დამუხტულ ამინომჟავებს მიეკუთვნება სამი ამინომჟავა - ლიზინი, არგინინი და ჰისტიდინი. ლიზინისა და არგინინის დადებითად დამუხტული ნაშთები ეფექტურად უკავშირდებიან ფოსფორმჟავას უარყოფთად დამუხტულ ნაშთებს, რაც საფუძვლად უდევს ქრომატინის

დადებითმუხტიანი ჰისტონური ცილებისა და დნმ-ის ურთიერთქმედების მოლეკულურ რეაქციებს.

რიგ ცილებში ნაპოვნია ამინომჟავები, რომლებიც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ჩართვის შემდეგ ძირითადი ამინომჟავების მოდიფიცირების შედეგად წარმოიქმნება. მათი მნიშვნელობა მჟღავნდება კონკრეტული ბიოლოგიური პროცესების დროს. მაგალითად, პროლინის მოდიფიცირებით ჰიდროქსიპროლინი მიიღება. ამ ამინომჟავას დამატებითი ჰიდროქსილის ჯგუფი კოლაგენის ბოჭკოს სტაბილიზაციას ახდენს. მისი ნაკლებობა ადამიანში იწვევს ცინგის განვითარებას. მეორე მოდიფიცირებული ამინომჟავას - γ-კარბოქსიგლუტამატის ნაკლებობა სისხლის შედედების სისტემის ცილა-პროთრომბინში, შეიძლება სისხლდენის მიზეზი გახდეს. ყველაზე ხშირად მოდიფიცირებული ამინომჟავებიდან ფოსფოსერინია გავრცელებული. რიგი ჰორმონების ფუნქციონირება საჭიროებს სერინის ფოსფორილირების ან დეფოსფორილირების რეაქციებს.

ძირითადი ამინომჟავების სხვადასხვა ტიპის სპეციფიკური მოდიფიკაციები (ადენილილირება, ფოსფორილირება, მეთილირება და ა.შ.) სხვადასხვა ფერმენტის მეშვეობით ცილის მოლეკულის შიგნით სრულდება.

ზუსტი ახსნა იმისა, თუ რატომ მიენიჭა ევოლუციური უპირატესობა ზემოთ აღწერილ 20 ამინომჟავას ცილების სტრუქტურის აგებაში, ამჟამად ცნობილი არ არის. არსებობს მოსაზრება, რომ შედარებით მარტივი აგებულების ამინომჟავები (Gly, Ala, Glu, Ser, Asp) ევოლუციურად უფრო ძველი წარმოშობისაა, ვიდრე შედარებით რთული აგებულების ამინომჟავები, მაგალითად, Asn და His.

უკანასკნელ პერიოდში რიგი კატალიზური აქტივობის მქონე ცილებში ნაპოვნი იქნა სელენშემცველი ამინომჟავა - სელენოცისტეინი. ამასთან, ის აღმოჩენილია სრულიად განსხვავებული ორგანიზაციული დონის ორგანიზმებში - არქებაქტერიებიდან დაწყებული, ადამიანის ჩათვლით. ზოგჯერ მას 21-ე ამინომჟავადაც კი განიხილავენ.

ცილის სტრუქტურული არქიტექტურა

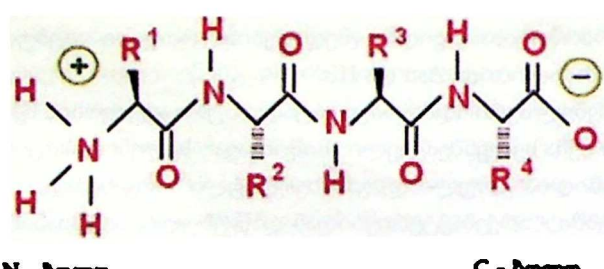
ყველა კონკრეტულ ცილას დამახასიათებელი სივრცობრივი კონფიგურაცია აქვს. ცილის მოლეკულების არქიტექტურა საკმაოდ რთულია და ოთხი სტრუქტურული დონით არის წარმოდგენილი. სტრუქტურუ-

ლი ორგანიზაციის საფუძველს წარმოადგენს ამინომჟავების გენეტიკურად დეტერმინირებული თანამიმდევრობა (პოლიპეპტიდური ჯაჭვი), რომელიც განსაზღვრავს ცილის სტრუქტურის უფრო მაღალ დონეებს.

ცილის პირველადი სტრუქტურა

ორ ერთნაირ ან განსხვავებულ ამინომჟავას შეუძლია დაკავშირება პეპტიდური ბმით. პეპტიდური ბმის წარმოქმნა ხდება ძლიერი მაკონდენსირებელი აგენტების ზემოქმედებით ერთი *α*-ამინომჟავას ამინოჯგუფიდან წყალბადისა და მეორე ამინომჟავას კარბოქსილის ჯგუფებიდან ჰიდროქსილის მოხლეჩით. იგივე გზით წარმოებს სამი, ოთხი, ხუთი და ა.შ. ამინომჟავების დაკავშირება. მრავალი ამინომჟავას ერთმანეთთან დაკავშირებით ყალიბდება პოლიპეპტიდი.

პეპტიდური ბმის წარმოქმნისას თითოეული ამინომჟავას ამინოჯგუფი ერთი წყალბადის ატომს, ხოლო კარბოქსილის ჯგუფი - ერთი ჟანგბადისა და ერთი წყალბადის ატომს კარგავს. ამიტომ პოლიპეპტიდის ამინომჟავური რგოლები *ამინომჟავურ ნაშთებად* იწოდება. ისინი აღარ წარმოადგენს ნამდვილ ამინომჟავებს. ამინომჟავას ნაშთს, რომელსაც თავისუფალ ბოლოზე ამინოჯგუფი აქვს, ამინო- ან N-ბოლოს უწოდებენ, ამინომჟავას ნაშთს კი, რომელიც თავისუფალ ბოლოზე კარბოქსილის ჯგუფს შეიცავს, კარბოქსი- ან C-ბოლოს:



პირველადი პოლიპეპტიდების არსებობის მოვლენა *ემილ ფიშერის (Emil Fischer)* მიერ იქნა დადასტურებული მოკლე პოლიპეპტიდების ხელოვნური სინთეზის გზით. მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში *რობერტ მერიფილდის (Robert Merrifield)* მიერ დასინთეზებულ იქნა პირველი

კატალიზური აქტივობის მქონე ცილა რიბონუკლეაზა, რომელიც 124 ამინომჟავური ნაშთისაგან შედგებოდა. მოგვიანებით, სხვა ცილების ხელოვნური სინთეზიც მოხერხდა, რაც ცილის პოლიპეპტიდური აგებულების თეორიის თვალსაჩინო დადასტურებას წარმოადგენდა.

მრავალი ბუნებრივი პეპტიდის წარმოქმნა უფრო დიდი ცილოვანი წინამორბედებისგან ხდება. ამ დროს ფერმენტ-პროტეინაზების ზემოქმედებით იშლება განსაზღვრულ ამინომჟავურ ნაშთებს შორის არსებული პეპტიდური ბმები და ფიზიოლოგიურად აქტიური პეპტიდები მიიღება. მაგალითად, ცილა ენდორფინისაგან ამ გზით წარმოიქმნება ანალგეტიკური თვისებების მქონე პეპტიდები - ენკეფალინები.

რიგ შემთხვევებში, დიდი ცილოვანი წინამორბედისაგან რამდენიმე სხვადასხვა სტრუქტურისა და ფიზიოლოგიური აქტივობის მქონე პეპტიდიც კი წარმოიქმნება. მაგალითად, *β*-ენდორფინებზე შესაბამისი პროტეაზების ზემოქმედებით, ენკეფალინის გარდა, შეიძლება ამოიჭრას სამი განსხვავებული ჰორმონული აქტივობის პეპტიდი: მელანოციტმასტიმულირებელი ჰორმონი, ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონი და ლიპოტროპინი. ამრიგად, ერთი ცილიდან პეპტიდების მთელი ჯგუფის მიღება ხდება, რომლებიც სტრესული ზემოქმედების დროს ორგანიზმში ნივთიერებათა ცვლის მოდიფიცირებას უზრუნველყოფს. ზოგჯერ პეპტიდებს შეუძლიათ სხვადასხვა რეცეპტორთან დაკავშირება, რაც საშუალებას იძლევა, განსხვავებული ფუნქციები განახორციელონ ორგანიზმში.

მიუხედავად იმისა, რომ ზოგიერთ პეპტიდს შეუძლია რეცეპტორთან დაკავშირებისთვის მიიღოს საჭირო კონფორმაცია, რთული სივრცობრივი სტრუქტურის ფორმირება შეუძლია მხოლოდ გრძელი პოლიპეპტიდური ჯაჭვების მქონე ცილის მოლეკულებს. ცილის ბუნებრივი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ქვედა ზღვრად 50 ამინომჟავასაგან შედგენილი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ითვლება. კერძოდ, ასეთ ცილებს განეკუთვნება ეპითელიუმის ზრდის ფაქტორი, ინსულინი და რიგი ბაქტერიოფაგების გარსის ცილები. ცილების პოლიპეპტიდური ჯაჭვები, უმეტესად, 100-400 ამინომჟავური ნაშთითაა წარმოდგენილი, რომლებიც განსაზღვრული სივრცობრივი სტრუქტურის ფორმირებას უწყობს ხელს. პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავების კოვალენტურად (პეპტიდური ბმით) დაკავშირებულ თანამიმდევრობას *ცილის პირველად სტრუქტურას* უწოდებენ.

ცილის მეორეული სტრუქტურა

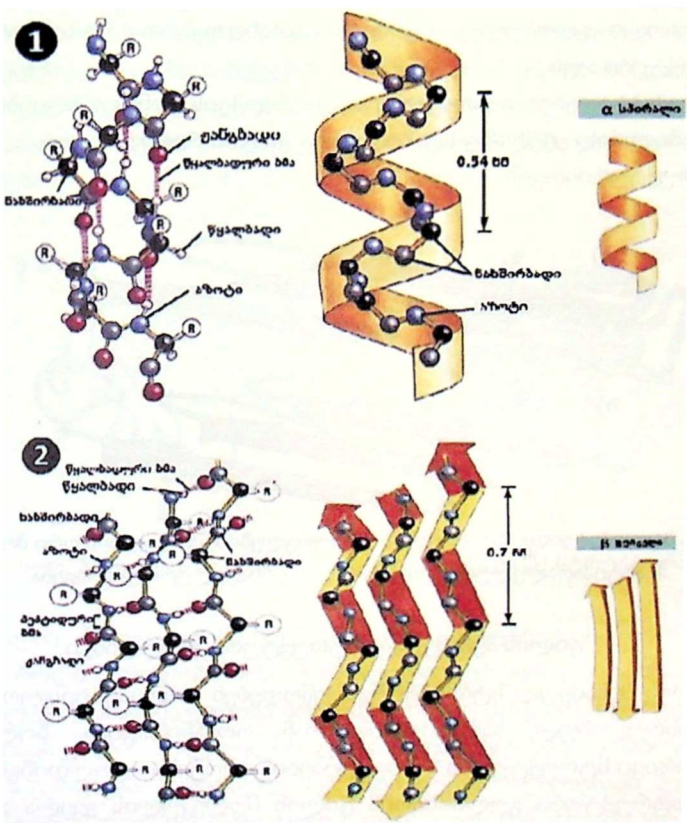
1951 წელს *ლაინუს პოლინგმა და რობერტ კორიმ (Linus Pauling, Robert Corey)* რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით მიღებული მონაცემების საფუძველზე პირველად გამოთქვეს მოსაზრება პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სპირალურად დახვეული მეორეული სტრუქტურის არსებობის შესახებ. მოგვიანებით, მათვე ჩამოაყალიბეს ამ სტრუქტურის აგების ძირითადი პრინციპები, რომელზე დაყრდნობით ცილის მეორეული სტრუქტურის რამდენიმე მოდელი იქნა შემოთავაზებული. მათგან ბუნებრივ ცილებში ყველაზე ხშირად გვხვდება α- და β-სტრუქტურები.

α-სტრუქტურა. წარმოებული კვლევების საფუძველზე დაგენილ იქნა, რომ ცილის მეორეული სტრუქტურა α-სტრუქტურის, ანუ α-სპირალის სახით არის წარმოდგენილი (სურ. 2.3-1). α-სპირალი შეიძლება იყოს მარჯვნივ დახვეული (საათის ისრის მიმართულებით) და მარცხნივ დახვეული, თუმცა, ბუნებრივ ცილებში ძირითადად მარჯვნივ დახვეული ფორმა გვხვდება. α-სპირალს შემდეგი ფიზიკური მახასიათებლები აქვს: სპირალის დიამეტრი - 23 ნმ; ხვიებს შორის მანძილი - 0,54 ნმ; ხვიაზე ამინომჟავური ნაშთების რაოდენობა - 3,6; ხვიებს შორის კუთხე - 26^0.

α-სპირალის სტაბილიზაცია წყალბადური ბმებით ხდება, რომელიც ძირითადი ჯაჭვის NH- და CO- ჯგუფებს შორის ყალიბდება (C=O….H-N). α-სპირალის არქიტექტონიკა იმგვარადაა მოწყობილი, რომ საშუალებას იძლევა, CO- ჯგუფებსა და N-ატომებს შორის მაქსიმალური რაოდენობის წყალბადური ბმა წარმოიქმნას. ამიტომაც, სპირალი მაქსიმალურადაა გაჯერებული წყალბადური ბმებით, რის შედეგადაც მისი სტრუქტურა იმდენად მჭიდრო ხდება, რომ შეუღწევადია წყლის მოლეკულებისთვისაც კი. გვერდითი ჯაჭვები სტრუქტურაში გარეთაა გამოშვერილი. სპირალის სიგრძე, როგორც წესი, არ არის დიდი და გლობულურ ცილებში 15 ამინომჟავურ ნაშთს არ აღემატება (3-4 ბრუნი), ხოლო ფიბრილურ ცილებში უფრო დიდი სიგრძისაა.

α-სპირალის გავრცელება ცილებში საკმაოდ ვარიაბელურია. ზოგიერთი ცილის, მაგალითად, მიოგლობინისა და ჰემოგლობინის მეორეული სტრუქტურა, ძირითადად, α-სპირალს წარმოადგენს. სხვა ცილებში, მაგალითად, საჭმლის მომნელებელ ფერმენტ ქემოტრიფსინის სტრუქტურაში ის საერთოდ არ შედის.

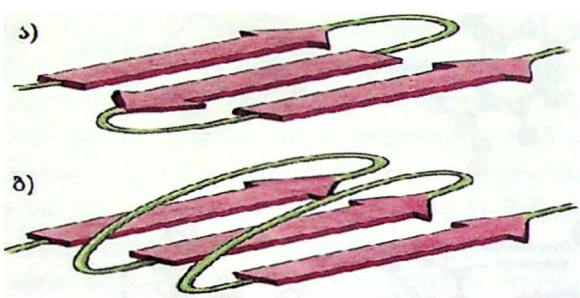
β-სტრუქტურა. პოლინგისა და კორის მიერ შემოთავაზებული ცილის მეორეული სტრუქტურის მეორე ვარიანტს *β*-სტრუქტურა წარმოადგენს. ის პირველად აბრეშუმის *β*-ფიბრიონში იქნა ნაპოვნი და სახელწოდებაც ფაქტობრივად აქედან წარმოდგება. ამ მოდელს *β*-დაკეცილი ფურცლის სტრუქტურასაც უწოდებენ (სურ. 2.3-2). *β*-ნაკეცებში პოლიპეპტიდური ჯაჭვი თითქმის გაჭიმულია. ამინომჟავების NH- და CO-ჯგუფებს შორის წყალბადური ბმები, *α*-სპირალისგან განსხვავებით, წარმოიქმნება არა პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შიგნით, არამედ ერთმანეთთან ახლომდებარე სხვადასხვა პოლიპეპტიდის პარალელურ და ანტიპარალურ უბნებს შორის.



სურ. 2.3. ცილის მეორეული სტრუქტურა: 1 - *α*-სპირალი; 2 - *β*- სტრუქტურა

ეს სტრუქტურა არ არის ისე გაჯერებული წყალბადური ბმებით, როგორც α-სპირალი. ამიტომ, შესაძლებელია, β-სტრუქტურა მოიცავდეს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის რამდენიმე უბანს. ნაკეცებში პოლიპეპტიდური ჯაჭვები, შესაძლოა, განლაგებული იყოს პარალელურად ან ანტიპარალელურად (სურ.2.4). მაგალითად, აბრეშუმის ფიბრიონი თითქმის მთლიანად ანტიპარალელური β-ნაკეცების „შტაბელებით" არის წარმოდგენილი. მსგავსი სტრუქტურა ნაპოვნია მრავალ სხვა ცილაშიც. სტრუქტურის ნაკეცში შეიძლება განთავსდეს 2-5 პარალელური ან ანტიპარალელური პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ხოლო ნაკეცების სიგრძე დაახლოებით 2 ნმ-ის ტოლია. ამინომჟავური ნაშთების რადიკალები სტრუქტურის გარეთ არის გამოშვერილი. გლობულური ცილების დაახლოებით 15%-ს მეორეული β-სტრუქტურა აქვს.

პოლიპეპტიდების α-სპირალური და β-ჯაჭვის კონფორმაციები თერმოდინამიკურად ყველაზე სტაბილურია ცილის რეგულარული მეორეული სტრუქტურისთვის.



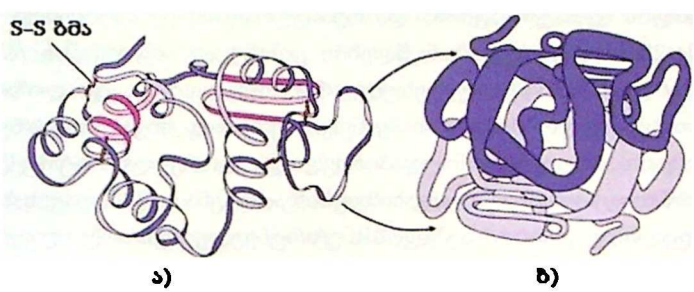
სურ. 2.4. პოლიპეპტიდური ჯაჭვების β- ფურცლების განლაგების ორი მოდელი: ა) ანტიპარალელური განლაგება; ბ) პარალელური განლაგება

ცილის მესამეული სტრუქტურა. ფოლდინგი

ცილის მესამეულ სტრუქტურას უწოდებენ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დასრულებულ სამგანზომილებიან ორგანიზაციას, ხოლო ამ სივრცობრივი სტრუქტურის ჩამოყალიბების პროცესს - ფოლდინგს. მესამეული სტრუქტურა გულისხმობს ცილის მოლეკულის ყველა ატომის განლაგებას სივრცეში.

პოლიპეპტიდური ჯაჭვების სივრცობრივი განლაგების მიხედვით ცილების ყველაზე მარტივ კლასიფიკაციას წარმოადგენს მათი გაყოფა გლობულურ და ფიბრილურ ცილებად. როგორც წესი, მესამეული სტრუქტურის განხილვა გლობულური ცილების მაგალითზე ხდება, რომლებიც გაცილებით მრავალფეროვანი სივრცული ორგანიზაციით გამოირჩევია და, შესაბამისად, მრავალფეროვანი ფუნქციური შესაძლებლობები აქვს (სურ. 2.5.ა).

მესამეული სტრუქტურის ფორმირებისათვის ძალიან მნიშვნელოვანია პოლიპეპტიდური ჯაჭვების ამინომჟავური ნაშთების რადიკალები და თავად პოლიპეპტიდურ ჯაჭვებს შორის წარმოქმნილ კავშირები, მაგალითად, წყალბადური ბმები, იონური და ჰიდროფობური ურთიერთქმედებები. რიგ შემთხვევებში მესამეულ სტრუქტურაში დამატებით მონაწილეობს დისულფიდური ბმები, რომლებიც პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შიგნით ცისტეინის შემცველ ამინომჟავურ ნაშთებს შორის წარმოიქმნება.



სურ. 2.5. ცილის მესამეული (ა) და მეოთხეული (ბ) სტრუქტურა

ცილის მოლეკულის სივრცობრივი სტრუქტურის ფორმირებაში მთავარ როლს ასრულებს მისი პირველადი სტრუქტურა (ამინომჟავების გარკვეული თანამიმდევრობა პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში). სწორედ ის განსაზღვრავს ცილის მოლეკულის ყველა ელემენტის სივრცობრივი განლაგების სპეციფიკას. საყურადღებოა, რომ ცოცხალ უჯრედში მესამეული სტრუქტურის ფორმირებაზე ძალიან დიდ გავლენას ახდენს პოლიპეპტიდური ჯაჭვების ურთიერთქმედება წყალთან და მასში გახსნილ მიკრო-

და მაკრომოლეკულებთან (ცილები, მეტალთა მარილები და ა.შ.). წყლიან გარემოში ამინომჟავების პოლარული და არაპოლარული რადიკალები განსხვავებულად იქცევა. ჰიდროფილურ რადიკალებს შეუძლია წყლის მოლეკულებთან ურთიერთქმედება და ისინი მოლეკულის ზედაპირზე განთავსდება. ჰიდროფობური რადიკალები, თითქოს, „გაურბის“ წყლის გარემოს, განლაგდება მოლეკულის შიგნით და მონაწილეობს ჰიდროფობური ბირთვის ჩამოყალიბებაში. ამ პროცესების შედეგად ცილა ჩახვეულ, გლობულურ სტრუქტურას იღებს. ზოგიერთი ჰიდროფობური რადიკალი მაინც რჩება გამოშვერილი ცილის მოლეკულის ზედაპირზე, რაც შემდეგში, მეოთხეული სტრუქტურის ჩამოყალიბებისას, ცილოვან გლობულებს შორის ურთიერთქმედების საშუალებას იძლევა.

გარემო პირობების შეცვლისას (pH, ტემპერატურა, იონური ძალები და ა.შ), შესაძლებელია, ცილამ განიცადოს დენატურაცია, დაკარგოს თავისი ფუნქცია, რაც სივრცობრივი ორგანიზაციის მნიშვნელობაზე მეტყველებს. გარკვეულ პირობებში დასაშვებია მისი ნატივური გლობულური სტრუქტურის რენატურაცია და, შესაბამისად, ფუნქციის აღდგენა. ცილის დენატურაციისა და რენატურაციის ექსპერიმენტი პირველად მე-20 საუკუნის 60-იან წლებში *კრისტიან ანფინსენის (Christian Anfinsen)* მიერ იქნა შესრულებული რიბონუკლეაზისა და ლიზოციმის მაგალითზე, ხოლო შემდეგ ნაჩვენები იქნა რიგ სხვა ცილებზეც. რენატურაციის პროცესში თავდაპირველად მეორეული სტრუქტურის, ხოლო შემდეგ სივრცული ორგანიზაციის აღდგენა ხდება, რაც, საბოლოო ჯამში, ცილის ფუნქციურ აქტივობას უზრუნველყოფს.

დენატურაციის შექცევადობის მოვლენა უტყუარი დასტურია იმისა, რომ ცილის მოლეკულებს სივრცობრივი სტრუქტურის თვითორგანიზების უნარი აქვს, რასაც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავების თანამიმდევრობა განსაზღვრავს. აღნიშნული ცდებიდან გამომდინარე, ჩამოყალიბდა *სტერეოქიმიური კოდის* თეორია, რომლის თანახმადაც, ცილის მოლეკულის პირველადი სტრუქტურა მოლეკულის უმაღლესი ორგანიზაციული დონის ჩამოყალიბებას უდევს საფუძვლად. დენატურირებული ცილის კონფორმაციის აღდგენა ყოველთვის არ ხდება. ზოგჯერ დენატურაციის პროცესი შეუქცევადია, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ცილის მოლეკულას, შეიძლება, გააჩნდეს სტაბილური ალტერნატიული

კონფორმაციები. აქედან გამომდინარე, სწორ სტრუქტურულ ორგანიზაციას ის ბიოსინთეზის პროცესში უნდა იღებდეს. ნაწილობრივ სინთეზირებული ცილის სპეციფიკური უბნები ურთიერთქმედებს ერთმანეთთან და ქმნის მრავალ კომპაქტურ ნახევრად დამოუკიდებელ უბანს - *დომენს.* ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ფარგლებში, შესაძლოა, რამდენიმე სტრუქტურული დომენი წარმოიქმნას. ისინი ერთმანეთს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მოკლე უბნებით უკავშირდება, რაც ცილის ცალკეული უბნის ძვრადობას უზრუნველყოფს. თითოეულ დომენს აქვს დამახასიათებელი კომპაქტური გეომეტრია - ჰიდროფობური ბირთვით და პოლარული ზედაპირით. ჩვეულებრივ, ის 100-150 ამინომჟავას შეიცავს. ერთ ან რამდენიმე სტრუქტურულ დომენს შეუძლია წარმოქმნას *ფუნქციური დომენი,* რომელსაც გარკვეული ფუნქციის განხორციელების უნარი შესწევს - შეუძლია ფერმენტული ფუნქციის შესრულება ან რომელიმე ნივთიერების მიერთება. მაგალითად, იმუნოგლობულინებს შეუძლია ანტიგენის მიერთება და ა.შ. მულტიდომენურ ცილაში აქტიური ცენტრი, როგორც წესი, ფუნქციური დომენების საზღვარზეა განლაგებული. მრავალფუნქციურ ცილებში თითოეული დომენი, შესაძლოა, განსხვავებული ამოცანების შესრულებასაც კი ემსახურებოდეს.

ცოცხალ უჯრედში ცილის მოლეკულის ფოლდინგი (სივრცობრივი ორგანიზაციის ჩამოყალიბება) საკმაოდ რთული პროცესია, რომელიც მოიცავს არა მარტო ახლადსინთეზირებული მოლეკულების კონფორმაციულ ცვლილებებს, არამედ, უჯრედში უკვე არსებულ ცილებთან არც თუ მარტივი ურთიერთობის სისტემას. უჯრედში არსებულმა ცილებმა, შესაძლოა, ზემოქმედება მოახდინონ სინთეზირებადი ცილის მოლეკულებზე და ხელი შეუშალონ ამინომჟავური თანამიმდევრობით დაპროგრამებული ნატივური სტრუქტურის ჩამოყალიბებას. ახლადსინთეზირებული ცილის მოლეკულების მესამეული სტრუქტურის ხელშეწყობის მიზნით, უჯრედში ფუნქციონირებს სპეციალური დამხმარე ცილების ჯგუფი - ფოლდაზები.

ფოლდაზები. 1987 წელს დამხმარე ცილების ჯგუფს, რომლებიც ცილების სწორ ფოლდინგს უწყობს ხელს, *მოლეკულური შაპერონები* უწოდეს (ინგლ.chaperon - ხანდაზმული ქალბატონი, რომელსაც ახალგაზრდა ლედი საზოგადოებაში შეჰყავს, კომპანიონი). მოგვიანებით

აღმოჩნდა, რომ ცილის სივრცული კონფორმაციის პროცესში სხვა ცილებიც მონაწილეობს. ამჟამად ფოლდინგის დამხმარე ცილები იყოფა საკუთრივ ფოლდაზებად (პროტეინდისულფიდიზომერაზები და პროლილიზომერაზები) და შაპერონებად.

პროტეინდისულფიდიზომერაზების ფუნქციას წარმოადგენს დისულფიდური ბმების სწორი შერჩევა და ფიქსაცია. ცილის მოლეკულის ფოლდინგის პროცესში არასწორი დისულფიდური ბმების წარმოქმნის დიდი ალბათობა (როცა ცილა შეიცავს ცისტეინის ამინომჟავურ ნაშთს) არსებობს. პროტეინდისულფიდიზომერაზები შლის არასწორ კავშირებს და ხელს უწყობს ახლის წარმოქმნას, რომ არ მოხდეს არასწორი ბმების სტაბილიზაცია. ეს პროცესი, ხშირად, ცილის სინთეზის პარალელურად მიმდინარეობს. მაგალითად, ცილა ჰემოგლობინის აქტიური ცენტრის ჩამოყალიბება, ჯერ კიდევ მაშინ ხდება, როცა სინთეზირებულია ცილის მხოლოდ 2/3.

პროლილიზომერაზები პროლინის ამინომჟავური ნაშთის სხვადასხვა ტიპის (*ცის-* და *ტრანს-*) პეპტიდური ბმების გარდაქმნას ემსახურება. ცილის მოლეკულის ამგებ 20 ამინომჟავას შორის პროლინი ერთადერთია, რომელიც არ წარმოადგენს ნამდვილ ამინომჟავას (არა აქვს ამინოჯგუფი). მას შეუძლია, კავშირი წარმოქმნას არა მარტო C_α, არამედ, აზოტის ატომთანაც, რაც გავლენას ახდენს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სივრცულ კონფიგურაციაზე. ამ დროს ვერ ყალიბდება ტიპური *α*-სპირალი ან *β*-სტრუქტურა. პოლიპეპტიდში ხშირად წარმოიქმნება ღუნი ერთ ან მეორე მხარეს, იმისდა მიხედვით, თუ როგორაა განლაგებული პროლინისა და მისი მეზობელი ამინომჟავას რადიკალები. თუ ისინი ერთ მხარესაა მიქცეული, მას *ცის- კონფიგურაციას,* ხოლო თუ ორივე მხარესაა განლაგებული, *ტრანს-კონფიგურაციას* უწოდებენ. ცილის სწორი კონფორმაციის მისაღწევად, რიგ შემთხვევებში, პროლინის ნაშთის *ცის-*, რიგ შემთხვევებში კი *ტრანს-*კონფიგურაციებია ვარგისი. პროლილიზომერაზების ფუნქციას, სწორედ *ცის-* და *ტრანს-*კონფიგურაციების ურთიერთგარდაქმნა წარმოადგენს, რითაც სწორი პროლინ-პეპტიდური ბმის კონფორმაციისა და, საბოლოოდ, ნატივური ცილის სწორი ფოლდინგი მიიღწევა.

შაპერონები წარმოადგენს ცილოვან კომპლექსებს, რომლებიც გვხვდება ბაქტერიებში, ევკარიოტული უჯრედის ციტოპლაზმაში, მიტოქონდრიულ მატრიქსსა და ქლოროპლასტებში. ისინი პირველად აღმოჩენილ იქნა, როგორც სითბური შოკის ცილები, რომელთა სინთეზი იზრდება მაღალ ტემპერატურაზე და აღინიშნება, როგორც hsp (ინგლ. Heatshockproteins -სიბური შოკის ცილები). შაპერონული ცილები უჯრედში რამდენიმე ფუნქციას ასრულებს: ხელს უწყობს ახლადსინთეზირებული ცილების სწორ ფოლდინგს; აკონტროლებს რეფოლდინგის პროცესებს; მონაწილეობს ცილების შიგაუჯრედულ ტრანსპორტში.

შაპერონული ცილების უპირველეს ფუნქციას წარმოადგენს ცილის სწორი კონფორმაციის ჩამოყალიბების ხელშეწყობა. ისინი არ ცვლის ცილის სინთეზის საბოლოო პროდუქტს, მაგრამ ხელს უშლის ცილის აგრეგაციას სივრცობრივი კონფორმაციის ჩამოყალიბების პროცესის დასრულებამდე. შაპერონების ოჯახის hsp 70kda ცილები უკავშირდება რიბოსომებზე სინთეზირებად პოლიპეპტიდებს და ფარავს მათ ჰიდროფობურ ზედაპირებს, რომლებიც ხელმისაწვდომი იქნებოდა გამხსნელისათვის. ეს იცავს ცილებს აგრეგაციისაგან, სანამ არ დასრულდება პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზი და არ დაიწყება ფოლდინგის პროცესი. ფოლდინგის დასრულებას hsp 70kda ცილები ყოველთვის ვერ უზრუნველყოფს და ხდება მათი ჩანაცვლება შაპერონების მეორე ოჯახის, hsp 60kda ცილებით, რომელებსაც *შაპერონინებს* უწოდებენ. მათ ატფ-აზური აქტივობა აქვს და აჰიდროლიზებს ატფ-ს ფოლდინგის პროცესში.

შაპერონული ცილების შემდეგი ფუნქცია, როგორც აღვნიშნეთ, რეფოლდინგია. უჯრედში არსებული ცილები გარკვეული დროის შემდეგ კარგავს თავის ნატივურ კონფორმაციას ანუ ნაწილობრივ დენატურირდება. სივრცობრივი კონფორმაციის ნაწილობრივი დარღვევა ზრდის მათ მიდრეკილებას აგრეგაციისკენ. შაპერონების აქტიური დახმარებით ხდება ასეთი ცილების სტრუქტურის აღდგენა - რეფოლდინგი. ამასთან, აქტიურად მატულობს შაპერონების სინთეზი, თუ უჯრედი დიდხანს იმყოფება სტრესულ მდგომარეობაში. ნაჩვენები იქნა, რომ თუ *E.coli*-ს უჯრედების ინკუბაცია 42°C ტემპერატურის პირობებში იწვევს შაპერონების მკვეთრ მატებას. ანალოგიური მონაცემები ევკარიოტულ უჯრედებზე დაკვირვებითაც არის მიღებული.

შაპერონული ცილების მესამე ფუნქციას შიგაუჯრედულ ტრანსპორტში მონაწილეობა წარმოადგენს. კერძოდ, მათი მეშვეობით ხდება სინთეზირებული ცილების გადატანა მიტოქონდრიებში ან კიდევ, ცილები, რომლებიც აღარ ექვემდებარებიან რეფოლდინგს ან ამოწურეს თავიანთი ფუნქცია უჯრედში, შაპერონების მეშვეობით ტრანსპორტირდება ლიზოსომებში.

ცილის მეოთხეული სტრუქტურა

მეოთხეული სტრუქტურა დამახასიათებელია ისეთი ცილებისთვის, რომლებიც თავიანთ სტრუქტურაში ერთზე მეტ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს შეიცავს (სურ.2.5-ბ.). მათ მულტიმერულ ცილებს უწოდებენ. მეოთხეული სტრუქტურა აღწერს პოლიპეპტიდური ჯაჭვების სივრცობრივ განლაგებას, რაც ცილის კონკრეტული ფუნქციის გამოვლენას ემსახურება. ასეთ სტრუქტურაში შემავალ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვებს *სუბერთეულებს* უწოდებენ.

ცილის მოლეკულის მეოთხეული დონის ორგანიზებაში, უპირატესად, სუსტი წყალბადური კავშირები იღებს მონაწილეობას. ამიტომ მეოთხეული სტრუქტურა გაცილებით ლაბილურია, ვიდრე მესამეული და, განსაკუთრებით, მეორეული სტრუქტურები.

მულტიმერული ცილები, უმეტეს შემთხვევაში, ლუწი პოლიპეპტიდური ჯაჭვებისაგან შედგება. იშვიათ შემთხვევაში, ასეთი ცილები პოლიპეპტიდური ჯაჭვების კენტი რიცხვითაც შეიძლება იყოს წარმოდგენილი. ლუწი პოლიპეპტიდების მქონე ცილები, შეიძლება, შეიცავდეს იდენტურ ან განსხვავებულ სუბერთეულებს. მაგალითად, ბოცვრის ჩონჩხის კუნთების ცილა ალდოლაზა ოთხი იდენტური პოლიპეპტიდური ჯაჭვისგან შედგება, ძუძუმწოვრების ჰემოგლობინი შეიცავს სუბერთეულების ორ განსხავავებულ წყვილს. ის ორი α- და ორი β-პოლიპეპტიდური ჯაჭვებისაგან შედგება.

ცილის მეოთხეულ სტრუქტურებს შორის საყურადღებოა ოლიგომერული მდგომარეობა, როცა ცილებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვების გარკვეული პროპორციით ცვლილების უნარი აქვს. ასეთ დროს ცილის სპეციფიკური ფუნქცია უცვლელი რჩება. მაგალითად, ხარის შრატის

ალბუმინი შეიძლება არსებობდეს მონომერის, დიმერის ან ტრიმერის სახით, მაგრამ ეს არ ცვლის მის ფუნქციურ აქტივობას.

ცილის მეოთხეულ სტრუქტურას მიაკუთვნებენ ფერმენტულ კომპლექსებს. ასეთი სტრუქტურები უჯრედს ესაჭიროება მეტაბოლური პროცესების მაღალი დონის შესანარჩუნებლად.

2.2. დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა (დნმ)

დნმ-ის ქიმიური ორგანიზაცია

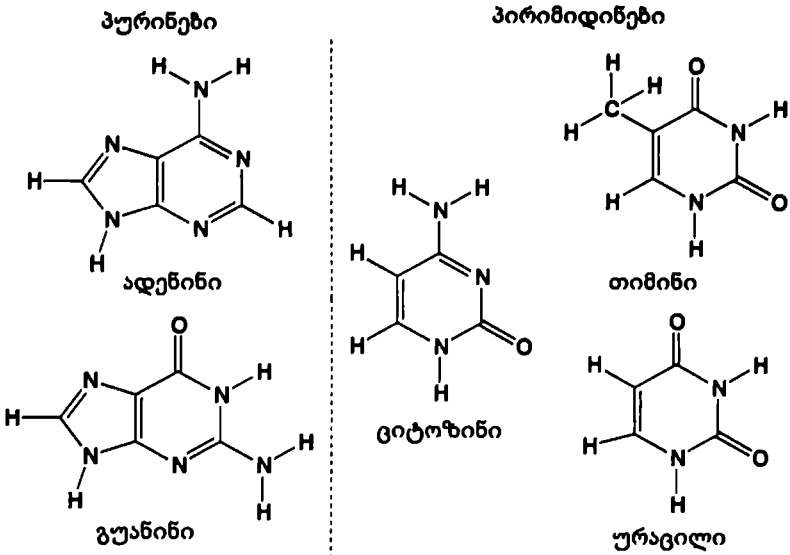
მეცხრამეტე საუკუნის 30-იან წლების იმ პერიოდისათვის, როცა მეცნიერებაში ჩამოყალიბდა პირველი წარმოდგენები უჯრედზე, როგორც ცოცხალი ორგანიზმის ფუნქციურ ერთეულზე, აქტიურად დაიწყო მისი ქიმიური შედგენილობის შესწავლა. დადგინდა, რომ ცოცხალი უჯრედი ძირითადად შეიცავს სამი ტიპის ნაერთებს: ცილებს, ცხიმებსა და ნახშირწყლებს. მოგვიანებით აღმოჩენილი იქნა, რომ ცოცხალი მატერია შეიცავს მეოთხე, სიცოცხლისათვის განსაკუთრებით მნიშვნელოვან ნივთიერებებს. 1868 წელს, *გრეგორ მენდელის (Gregor Mendel)* მიერ მემკვიდრეობითი ფაქტორის (გენის კონცეფციის) ჩამოყალიბებიდან სამი წლის შემდეგ, შეიქმნა მოსაზრება, რომ სწორედ ეს ნივთიერებები - ნუკლეინის მჟავები წარმოადგენს ცოცხალი ორგანიზმების გენეტიკურ მასალას. სამწუხაროდ, ნუკლეინის მჟავების მემკვიდრეობითი ფუნქციის დადგენამდე, მისი აღმოჩენიდან 80 წელზე მეტი გავიდა და კიდევ 10 წელი დასჭირდა, რომ ამ აღმოჩენას ფართო აღიარება მოეპოვებინა. უჯრედული პროცესების მართვის საქმეში ნუკლეინის მჟავების ცენტრალური როლის ასეთი დაგვიანებით აღიარება ბედის ირონიად თუ შეიძლება ჩაითვალოს, ვინაიდან ექიმი *ფრიდრიხ მიშერი (Friedrich Miescher),* რომელმაც ეს ნივთიერება აღმოაჩინა, კვლევას მიზანმიმართულად, სწორედ უჯრედის ბირთვის ქიმიური შედგენილობის შესწავლის მიზნით აწარმოებდა. ამ დროისათვის კი უკვე გავრცელებული იყო მოსაზრება, რომ მემკვიდრეობითობის განმსაზღვრელი ფაქტორები უჯრედის ბირთვშია კონცენტრირებული.

უჯრედის ბირთვის ქიმიური შედგენილობის შესწავლის მიზნით, მიშერი ორაგულის სპერმატოზოიდების და ჩირქის უჯრედებს სწავლობდა. მან იცოდა, რომ უჯრედული მასის ძირითადი წილი სწორედ ბირთვზე მოდიოდა. გამოკვლევებით დადგინდა, რომ უჯრედის ბირთვში შედის მანამდე უცნობი, ფოსფორით მდიდარი მჟავა თვისებების მქონე ნივთიერებები. მათ მიშერმა „ნუკლეინი“ უწოდა. ხოლო ტერმინი „ნუკლეინის მჟავები“ პირველად გამოიყენა გერმანელმა მეცნიერმა *რიჩარდ ალტმანმა (Richard Altmann)* 1889 წელს.

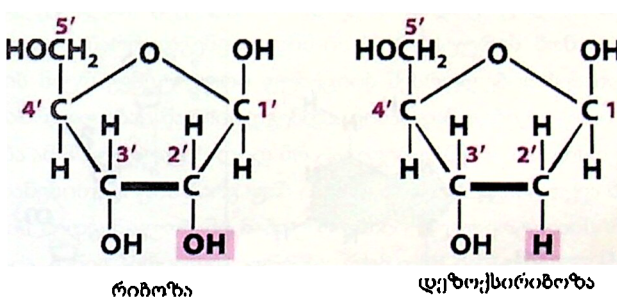
მე-19 და მე-20-ე საუკუნეების მიჯნაზე *ალბერეხტ კოსელმა (Albrecht Kossel)* დაადგინა, რომ ნუკლეინის მჟავების მოლეკულის შედგენილობაში შედის ორი ტიპის აზოტოვანი ფუძე - პირიმიდინული და პურინული, რომლებსაც შემოკლებით *პირიმიდინებს* და *პურინებს* უწოდებენ. პირიმიდინები შედგება ერთი ექვსწევრიანი რგოლისაგან, ხოლო პურინები ორი კონდენსირებული - ერთი ექვსწევრიანი და ერთი ხუთწევრიანი რგოლებისაგან. ყოველი ნუკლეინის მჟავა სინთეზირდება მხოლოდ ოთხი ტიპის აზოტოვანი ფუძის მონაწილეობით. პურინები - ადენინი და გუანინი და პირიმიდინები - ციტოზინი და თიმინი ან ურაცილი. თიმინი ურაცილისაგან განსხვავდება მეხუთე მდგომარეობაში მეთილის ჯგუფის არსებობით. აზოტოვანი ფუძეების აღნიშვნა მიღებულია სახელწოდების პირველი ასოთი. დნმ-ის მოლეკულის შედგენილობაში შედის ***ა, გ, ც, თ,*** ხოლო რნმ-ის მოლეკულის შედგენილობაში - ***ა, გ, ც, უ*** (სურ. 2.6).

აღსანიშნავია, რომ ზოგჯერ ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურაში გვხვდება მოდიფიცირებული აზოტოვანი ფუძეები, რომლებიც მოდიფიკაციებს ნუკლეინის მჟავის სტრუქტურაში ჩართვის შემდეგ განიცდის.

კოსელის მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტებით, ასევე, დადგენილ იქნა, რომ ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურაში შედის აგრეთვე ფოსფორმჟავა და ნახშირწყლები. ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურაში შემავალი ნახშირწყლები ორი სახისაა: ***დეზოქსირიბოზა და რიბოზა.*** რნმ შეიცავს რიბოზას, ხოლო დნმ - დეზოქსირიბოზას (სურ. 2.7). ისინი შაქრებისაგან იმით განსხვავდებიან, რომ შეიცავენ 5-ატომ ნახშირბადს 6-ის ნაცვლად. სწორედ ამ ნახშირწყლების სახელწოდებისგან წარმოდგება ნუკლეინის მჟავების სახელწოდებებიც - რიბონუკლეინის მჟავა და დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა.



სურ. 2.6. აზოტოვანი ფუძეების სტრუქტურა



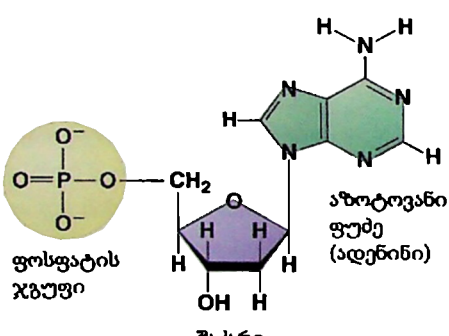
სურ. 2.7. ნუკლეინის მჟავების აგებაში მონაწილე ნახშირწყლების სტრუქტურა

ნუკლეინის მჟავების მოლეკულებში აზოტოვანი ფუძეები პენტოზურ რგოლებს უკავშირდება გლიკოზიდური ბმებით. ნახშირწყლისა და აზოტოვანი ფუძის კავშირს *ნუკლეოზიდს* უწოდებენ. ამ კავშირის დამ-

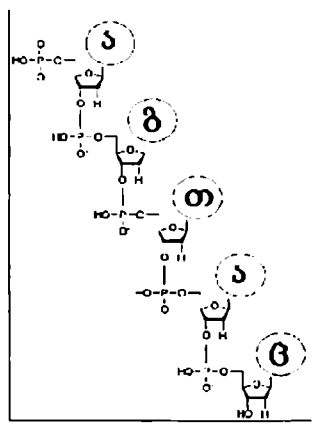
ყარება ხდება პენტოზური რგოლის C_1-ის და პირიმიდინის N_3-ს ან პურინის N_9-ს შორის. პირობითად პენტოზის ნახშირბადს აღნიშნავენ შტრიხით (′). ნუკლეოზიდის ფოსფორმჟავასთან დაკავშირების შედეგად წარმოიქმნება ***ნუკლეოტიდი*** (სურ.2.8).

ნუკლეოტიდები უკავშირდება ერთმანეთს და წარმოქმნის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვს. ამ ჯაჭვის ღერძი (ხერხემალი) ყალიბდება პენტოზისა და ფოსფორმჟავას ნაშთისაგან. ერთი პენტოზის 5'-ატომი უკავშირდება მეორე პენტოზის 3'-ატომს, რაც იმას ნიშნავს, რომ შაქარ-ფოსფატური ჯგუფი შეერთებულია 5'--3' კავშირით. კიდურა ნუკლეოტიდებს ერთ ბოლოზე აქვს თავისუფალი 5'-, ხოლო მეორე ბოლოზე - თავისუფალი 3'- ჯგუფები (სურ. 2.9).

ნუკლეინის მჟავების ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ჩაწერაც სწორედ 5'---3' მიმართულებით წარმოებს. აზოტოვანი ფუძეები შაქარ-ფოსფატური ღერძიდან გამოშვერილი რჩება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ერთი გაუწყვილებელი OH-ჯგუფის გამო ფოსფატური ჯგუფები უარყოფითადაა დამუხტული და მათი ნეიტრალიზაცია მიკროორგანიზმების გენომში მეტალების კატიონებით, ხოლო უმაღლეს ორგანიზმებში დადებითად დამუხტული ცილების იონებით ხდება.



სურ. 2.8. ნუკლეოტიდის სტრუქტურა



სურ. 2.9.
დნმ-ის შაქარ-ფოსფატური ხერხემალი

დნმ-ის მოლეკულის გახლეჩის დროს ფოსფოდიეთერული კავშირის გაწყვეტა ნებისმიერ ბოლოში შეიძლება მოხდეს. შესაბამისად, მიიღება ან ნუკლეოზიდ 3'- მონოფოსფატი ან ნუკლეოზიდ 5`- მონოფოსფატი. ნუკლეოზიდი შეიძლება დაუკავშირდეს ერთზე მეტ ფოსფატურ ჯგუფს. ამ შემთხვევაში მიიღება, ან *ადენოზინდიფოსფატი*, ან *ადენოზინტრიფოსფატი* - ენერგიით მდიდარი ნივთიერებები, რომლებიც უჯრედში მიმდინარე სხვადასხვა პროცესისთვის ენერგიის წყაროს წარმოადგენს.

დნმ-ის მოლეკულური ორგანიზაცია

ნუკლეინის მჟავების ქიმიური შედგენილობის შესწავლის შემდეგ, მეცნიერები დაინტერესდნენ მათი მოლეკულების სივრცობრივი ორგანიზაციის საკითხებით. დნმ-ის გენეტიკური ფუნქციის მიმართ მეცნიერთა სკეპტიციზმი, ძირითადად, სწორედ მისი სტრუქტურის შესახებ არსებული მცდარი შეხედულებებით იყო გამოწვეული. ცნობილი იყო, რომ დნმ ოთხი ტიპის ნუკლეოტიდისაგან შედგება, მაგრამ ფიქრობდნენ, რომ მისი სტრუქტურის აგება მონოტონურად გამეორებადი ტეტრანუკლეოტიდური ერთეულებისაგან ხდება. მე-20 საუკუნის 30-იან წლებში *ტორბერნ კასპერსონის (Torbjörn Caspersson)* მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ დნმ ძალიან დიდი მოლეკულაა, გაცილებით დიდი, ვიდრე ცილის მოლეკულა. იმდროინდელი წარმოდგენები დნმ-ის სტრუქტურის მონოტონურობის შესახებ მის მიერ გენეტიკური ფუნქციის შესრულების შესაძლებლობის მთავარ დაბრკოლებას წარმოადგენდა, ვინაიდან გენეტიკური ფუნქციის შესრულება ამ მოლეკულის დიდ მრავალფეროვნებას მოითხოვს.

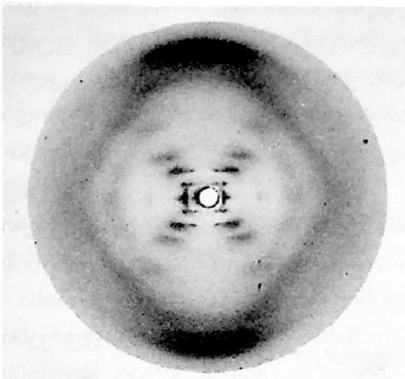
მოგვიანებით, *ერვინ ჩარგაფმა (Erwin Chargaff)* გამოთქვა მოსაზრება, რომ დნმ-ის შედგენილობაში ნაპოვნი ოთხი ნუკლეოტიდის რაოდენობა ცვალებადია. მანვე პირველმა აღნიშნა, რომ დნმ-ში პურინებისა და პირიმიდინების თანაფარდობა ერთნაირია: *ადენინის* რაოდენობა *თიმინის* ეკვივალენტურია, ხოლო *გუანინის* რაოდენობა - *ციტოზინისა.* ეკვივალენტობის წესი დადასტურებულ იქნა შემდეგი 15 წლის განმავლობაში სხვადასხვა ორგანიზაციული დონის ცოცხალ ორგანიზმებში (ვირუსებით დაწყებული, უმაღლესი ხერხემლიანების ჩათვლით) ჩატარებული გამოკვლევებით.

ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურის გაშიფვრის გასაღები აღმოჩნდა რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის მეთოდი ამ მეთოდის გამოყენება ჯერ კიდევ 1912 წელს დაიწყეს მარტივი, არაორგანული მარილების კრისტალების შესწავლის მიზნით. მნიშვნელოვანი წარმატებები ამ მიმართულებით მიღწეული იქნა *დოროთი კროუფუტის (Dorothy Crowfoot)* და მისი თანამშრომლების მიერ, რომლებმაც რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის მეშვეობით პენიცილინის მოლეკულის სამგანზომილებიანი სტრუქტურის გაშიფვრა შეძლეს.

ერთ-ერთი პირველი მკვლევარი, რომელმაც გამოთქვა მოსაზრება დნმ-ის სივცობრივი ორგანიზაციის შესახებ, *უილიამ ასტბიური (William Astbury)* იყო. რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის მეთოდს ის ადრე ცილების პოლიმერული ნაერთების სტრუქტურის გასაშიფრად იყენებდა. უპირველეს ყოვლისა, ასტბიურმა დაადგინა, რომ დნმ-ის გამომშრალი პრეპარატების სიმკვრივე იმდენად დიდია, რომ პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში ნუკლეოტიდებს შორის მანძილი ძალზე მცირე უნდა იყოს. 1938 წელს მან მიიღო დნმ-ის პირველი რენტგენოგრამები, მაგრამ ეს რენტგენოგრამები არ იყო სრულყოფილი და ამიტომ ასტბერმა ვერ შეძლო, სწორად აეხსნა დნმ-ის ნატიფი სტრუქტურა. მისი აზრით, დნმ-ის მოლეკულა წარმოადგენს პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვს, სადაც ნუკლეოტიდები ერთმანეთზეა დალაგებული. ცალკეული ნუკლეოტიდი განლაგებული უნდა იყოს, როგორც ბრტყელი თეფშები, რომლებიც მიმართულია მთავარი ღერძის პერპენდიკულარულად. ამასთან, შაქარ-დეზოქსირიბოზის რგოლი მდებარეობს პურინულ და პირიმიდინულ ფუძეთა პარალელურად. არსებული ნაკლოვანების მიუხედავად, ასტბიურმა დნმ-ის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში შეძლო, გაეზომა ნეკლეოტიდებს შორის მანძილი და დაედგინა, რომ ნუკლეოტიდები ერთმანეთის მიმართ 3,4 Å-ის ტოლი მანძილით არიან დაცილებული.

მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში მკვლევართა ჯგუფმა, რომელსაც *მორის უილკინსი (Maurice Wilkins)* ხელმძღვანელობდა, მიაგნო მნიშვნელოვან თეორიულ გადაწყვეტას. მათ მოამზადეს მაღალორიენტირებადი დნმ-ის ჯაჭვები, რის საფუძველზეც *როზალინდ ფრანკლინმა (Rosalind Franklin)* მიიღო შესანიშნავი რენტგენოგრამა (სურ. 2.10). მასზე მრავალი, მანამდე უცნობი ისეთი დეტალი გამოჩნდა, რომელმაც კიდევ ერთხელ

დადასტურდა ასტბერის გამოკვლევები, რომ ნუკლეოტიდებს შორის მანძილი დნმ-ის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში 3,4 Å -ის ტოლია.



სურ. 2.10. დნმ-ის რენტგენოგრამა, მიღებული როზალინდ ფრანკლინის მიერ

1953 წელს, როცა უილკინსის ჯგუფი, ჯერ კიდევ ცდილობდა მიღებული შედეგების საფუძველზე დნმ-ის სწორი მოდელი აეგო, ფრანკლინის რენტგენოგრამა ნახეს *ჯეიმს უოტსონმა* და *ფრენსის კრიკმა,* რომლებიც იმჟამად კემბრიჯში, ჯონ კენდრიუს ლაბორატორიაში მუშაობდნენ. უოტსონსა და კრიკს ამ დროისათვის შემოწმებული ჰქონდათ დნმ-ის სტრუქტურის რამდენიმე ვარიანტი, მაგრამ რენტგენოგრამების ცუდი ხარისხის გამო ვერ მოახერხეს რაიმე არსებითი დასკვნის გაკეთება. ფრანკლინის რენტგენოგრამის გაცნობის შემდეგ კი მათ საკითხი, ფაქტობრივად, რამდენიმე კვირაში გადაწყვიტეს. უოტსონმა და კრიკმა დნმ-ის სტრუქტურული მოდელი იმავე ჟურნალში გამოაქვეყნეს, რომელშიც განთავსებული იყო უილკინსის ჯგუფის რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის შედეგები. ეს რენტგენოგრამა უოტსონ-კრიკის დნმ-ის მოდელის შესანიშნავი დასაბუთება აღმოჩნდა, რაც მოლეკულური ბიოლოგიის ისტორიაში დღემდე ითვლება ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს აღმოჩენად.

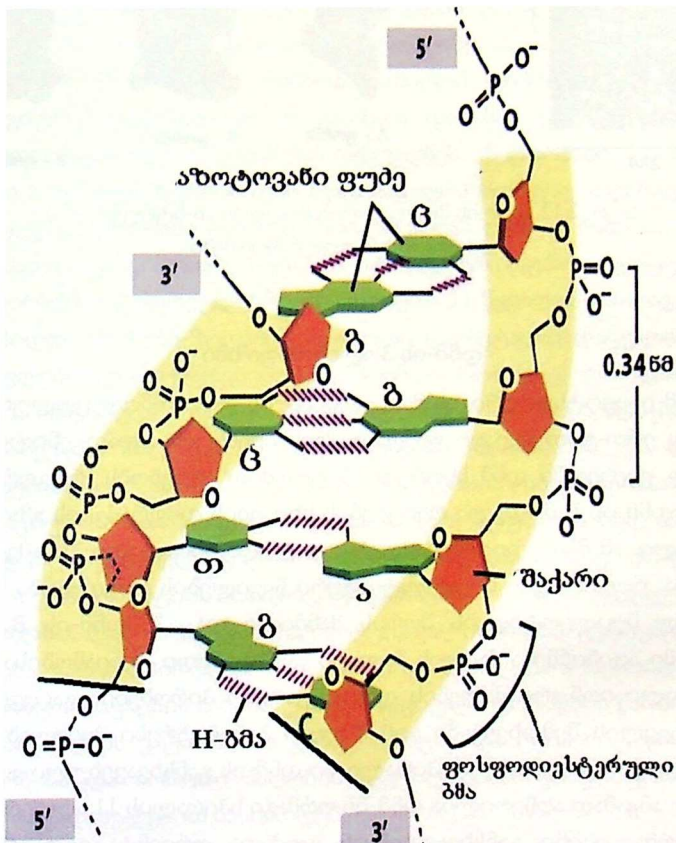
აღნიშნულ რენტგენოგრამაზე დაყრდნობით დადგინდა:

- დნმ-ის მოლეკულას აქვს ნამდვილი სპირალის ფორმა, რომელიც ერთ სრულ ბრუნს ყოველი 34 Å-ის მანძილზე აკეთებს, ხოლო დიამეტრი 20 Å-ის ტოლია. ვინაიდან მეზობელ ნუკლეოტიდებს შორის მანძილი 3,4 Å-ს შეადგენს, ერთ ხვიაში 10 ნუკლეოტიდი უნდა შედიოდეს;

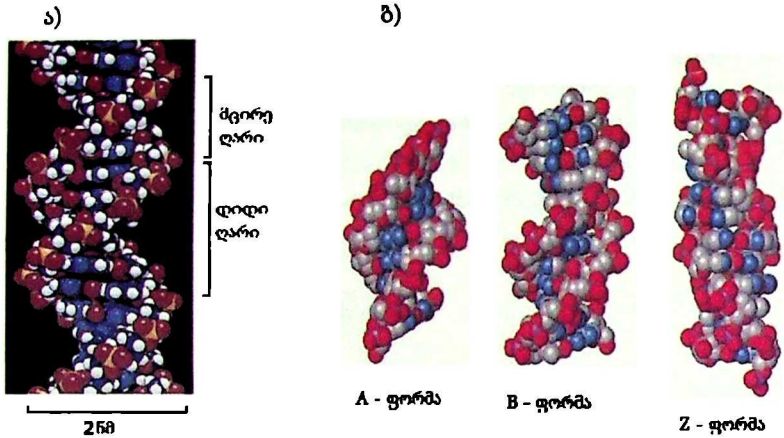
- დნმ-ის მოლეკულის სიმკვრივე მიუთითებს, რომ სპირალი ორი ჯაჭვისგან შედგება. სპირალის მუდმივი დიამეტრი კი იმაზე მეტყველებს, რომ აზოტოვანი ფუძეები სპირალის შიგნითაა მიმართული და, ამასთან, პურინის საპირისპიროდ ყოველთვის პირიმიდინული ფუძეა განლაგებული და, პირიქით. სხვა ტიპის კავშირები დიამეტრის ცვლილებას გამოიწვევდა. მაგალითად, პურინ-პურინული კავშირი გაზრდიდა დიამეტრს, პირიმიდინულ-პირამიდინული კი ზედმეტად დაავიწროებდა;
- დნმ-ის მოლეკულის მოდელის შექმნისას გათვალისწინებული იქნა ჩარგაფის მიერ დადგენილი წესი, რომლის თანახმად, გუანინის რაოდენობა დნმ-ში ყოველთვის ციტოზინის ტოლია, ხოლო ადენინისა - თიმინის. უოტსონ-კრიკის მოდელის თანახმად, აზოტოვანი ფუძეები ერთმანეთს წყალბადური ბმებით უკავშირდება. ჩვეულებრივ, ადენინს შეუძლია ორი წყალბადური ბმით დაუკავშირდეს თიმინს, ხოლო გუანინი მხოლოდ ციტოზინს უკავშირდება სამი წყალბადური ბმით. ასეთ სპეციფიკურ დაკავშირებას აზოტოვან ფუძეებს შორის *კომპლემენტურობას* უწოდებენ.
  - დნმ-ის ორსპირალიანი მოდელის თანახმად, პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვები ერთმანეთის მიმართ ანტიპარალელური ორიენტაციით არის მიმართული. ერთ ჯაჭვს 5'---3' მიმართულება აქვს, ხოლო მეორეს - 3'---5'(სურ. 2.11).
  - ფუძეები ბრტყელ სტრუქტურებს წარმოადგენს, რომლებიც სიმეტრიის ღერძის მიმართ პერპენდიკულარულად არის მიმართული, ხოლო სპირალის გასწვრივ ფუძეებს სტელაჟური განლაგება ახასიათებს. ნუკლეოტიდურ წყვილებს შორის არსებული წყალბადური ბმები და სტელაჟური ურთიერთქმედებები, რომლებიც ჰიდროფობული ძალებისა და ვან-დერ-ვაალსის ურთიერთქმედებათა კომბინაციას წარმოადგენს, *სტეკინგ-ურთიერთქმედებად* იწოდება. ეს კავშირები სპირალის თერმოდინამიკურ სტაბილობას უზრუნველყოფს;
  - ნუკლეოტიდთა ყოველი წყვილი მეზობელი წყვილის მიმართ 36º-ით არის მობრუნებული. ამრიგად, 10 ნუკლეოტიდური წყვილი ერთ სრულ ბრუნს (360º) ქმნის;

- დნმ-ის ორი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვი მარჯვნივ დახვეულ სტრუქტურას წარმოადგენს;
- ჯაჭვების ერთმანეთზე გადახვევისას წარმოქმნილი სპირალის სტრუქტურაში ორი ღარი აღინიშნება: დიდი - 22 Å სიგანის და მცირე - 12 Å სიგანის (სურ. 2.12-ა.).

დნმ-ის აღწერილ მოდელს B- ფორმას უწოდებენ.



სურ. 2.11. დნმ-ის ანტიპარალელური სტრუქტურა



სურ. 2.12. დნმ-ის მოლეკულის მოდელი (B-სტრუქტურა)
და პოლიმორფული ფორმები

დნმ-ის პოლიმორფიზმი

დნმ-ის უოტსონ-კრიკის მოდელი, ანუ B-ფორმა მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთ უდავო ფაქტად არის მიჩნეული. დადგენილია, რომ ცოცხალ უჯრედში დნმ სწორედ ამ ფორმით არსებობს. როგორც ცნობილია, დნმ-ის B-მოდელი რენტგენის სხივების დიფრაქციის გზით იქნა მიღებული. ამ მეთოდით შესაძლებელი გახდა ძირითადი პარამეტრების დადგენა, როგორიცაა: ნუკლეოტიდური წყვილების რაოდენობა ხვიაზე, მეზობელ ნუკლეოტიდებს შორის მანძილი და ა.შ. დნმ-ის B ფორმა უჯრედში აღინიშნება ძალიან მაღალი ფარდობითი ტენიანობისას (92%) და დაბალი იონური ძალების დროს. გარემო პირობების გარკვეულწილად შეცვლის შემთხვევაში აღნიშნული პარამეტრები შეიძლება შეიცვალოს და წარმოიქმნას ორსპირალიანი დნმ-ის განსხვავებული კონფორმაციები. ამჟამად აღწერილია დნმ-ის ორმაგი სპირალის 11 ალტერნატიული ფორმა. ისინი განსხვავდებიან ფუძეთა ორიენტაციით, როგორც სპირალის, ასევე ერთმანეთის მიმართ და სპირალის სხვა გეომეტრიული პარამეტრებით. ამასთან, დნმ-ის მოლეკულების უმრავლესობა მარჯვნივ

დახვეულ სპირალს წარმოადგენს, მაგრამ არსებობს მარცხნივ დახვეული სპირალური კონფორმაციაც.

მიღებულია დნმ-ის სხვადასხვა კონფორმაციის დაჯგუფება სამ ოჯახად. მარჯვნივ დახვეული კონფორმაციები A და B ოჯახებში შედის, მარცხნივ დახვეული - Z ოჯახს მიეკუთვნება (სურ. 2.12-ბ).

A ოჯახი. დნმ-ის A ფორმა, ჯერ კიდევ, ფრანკლინის რენტგენოგრამის მიღებამდე იქნა აღმოჩენილი. ის უჯრედში დაბალი ტენიანობისა და მარილების მაღალი კონცენტრაციის პირობებში, ანუ არაფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს არსებობს. ამიტომ ფიქრობდნენ, რომ მას ბიოლოგიური მნიშვნელობა არ გააჩნდა და ამის გამო მკვლევარები განსაკუთრებულ ყურადღებას არ აქცევდნენ. B-ფორმაში აზოტოვანი ფუძეები სპირალის ღერძისადმი მკაცრად პერპენდიკულარულადაა განლაგებული. A-ფორმაში ისინი დახრილი არიან ღერძის მიმართ. შესაბამისად, მათი რიცხვი ხვიაზე მეტია. A-სტრუქტურა უფრო მოკლე და ფართოა, სპირალის თითოეულ ბრუნზე ფუძეთა 11 წყვილია განლაგებული, მეტია ჰიდროფობური ზედაპირის ფართი და მეტადაა დაცული წყლის მოლეკულების ზემოქმედებისგან. აღმოჩნდა, რომ ეს ფორმა დამახასიათებელია ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულებისათვის, როცა რნმ-ის ჯაჭვი თვითდახვევით მოკლე, ორჯაჭვიან უბნებს წარმოქმნის და დნმ/რნმ ჰიბრიდებისთვის. ასევე, ზოგიერთი ბაქტერიის სპორაში მათი დნმ გარშემოკრულია სპორის ცილებით და A-სტრუქტურის სახით იმყოფება გამრავლებისთვის ხელსაყრელი პირობების დადგომამდე. ეს ფაქტები დნმ-ის A-კონფორმაციის ბიოლოგიურ მნიშვნელობაზე მეტყველებს.

B ოჯახი. დნმ-ის B ოჯახი სტრუქტურული მრავალფეროვნებით ხასიათდება. გარემო პირობების შესაბამისად, შეიძლება არსებობდეს B, C, D, E - კონფორმაციების სახით. კონფორმაციული ფორმების წარმოქმნაზე გავლენას ახდენს კატიონების კონცენტრაცია და ტემპერატურა. არეში ტენიანობისა და იონური ძალების ცვლილებისას ეს კონფორმაციები ურთიერთგადასვლებით ხასიათდება.

დნმ-ის C-ფორმა გვხვდება უჯრედში 66% ტენიანობისა და ლითიუმის (Li^+) იონების არსებობის პირობებში. დნმ-ის C-ტიპებში ერთ ხვიაზე ნუკლეოტიდების რიცხვი ნაკლებია, ვიდრე B-ფორმაში. ამ დროს სტეკინგ-ურთიერთქმედების შედარებით სუსტი ძალები მოქმედებს.

დნმ-ის ეს ფორმა დამახასიათებელია ქრომატინის და ზოგიერთი ვირუსული დნმ-ისთვის.

ნუკლეოტიდების ყველაზე მცირე რიცხვი (8 და 7.5) ხვიაზე აქვს D და E ფორმებს, ეს ფორმები ახასიათებს მხოლოდ დნმ-ის ისეთ მოლეკულებს, რომელთა პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვი არ შეიცავს გუანინს. დნმ-ის D-კონფორმაცია ნაპოვნია ფაგი T2-ის გენომში.

Z ფორმა. Z-ფორმა არის დნმ-ის ყველაზე კონტრასტული, მარცხნივ დახვეული ორმაგ-სპირალური კონფორმაცია. Z-სტრუქტურა დნმ-ის ისეთ მოლეკულებში გვხვდება, სადაც პურინულ-პირიმიდინული ფუძეები ერთმანეთს ენაცვლება. მისი შაქარ-ფოსფატური ხერხემალი ზიგზაგისმაგვარ წყობას ქმნის და სახელწოდებაც, სწორედ აქედან წარმოდგება. Z-ფორმა, დნმ-ის სხვა კონფორმაციებთან შედარებით, გრძელი და ბევრად ვიწროა და სპირალის თითოეულ ბრუნზე ფუძეთა 12 წყვილია განლაგებული. ასეთი კონფორმაციული ცვლილების გამო სტელაჟურად განლაგებული ნუკლეოტიდური ფუძეები, უმთავრესად, ორმაგი სპირალის გარეთა მხარესაა განთავსებული და არა შიგნით, როგორც ეს ჩვეულებრივ ხდება. არეში იონური ძალების ან კატიონების კონცენტრაციის ცვლილების პირობებში B-ფორმა შეიძლება გადავიდეს Z- ფორმაში.

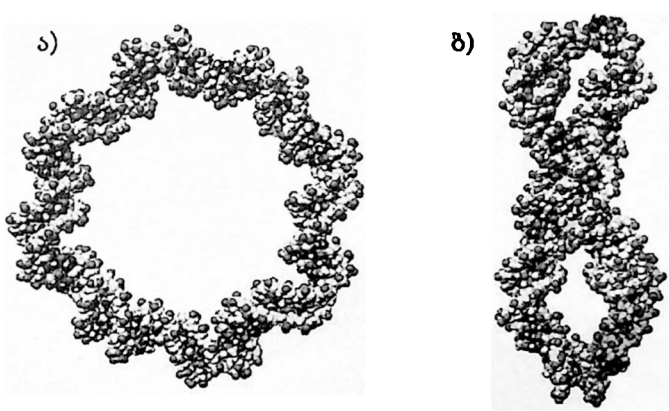
არსებობს მონაცემები, რომ Z-ფორმა გავლენას ახდენს გენების ექსპრესიასა და რეგულაციაზე. ამის დასტურს ის ფაქტი წარმოადგენს, რომ დნმ-ის მონაკვეთებს, რომლებიც ურთიერთმონაცვლე პურინებსა და პირიმიდინებს შეიცავს, უფრო მეტად 5'-ბოლოებზე პოულობენ, ანუ უბნებზე, რომლებიც ტრანსკრიფციულ აქტივობას არეგულირებს. გუანინის და ციტოზინის ნაშთების მეთილირება ხელს უწყობს Z-ფორმის სტაბილურობას.

დნმ-ის ყველა ფორმას აქვს დამახასიათებელი ზომის დიდი და მცირე ღარები. დნმ-სპირალის ღარების განსხვავებულ ზომებთან დაკავშირებულია სხვადასხვა კონფორმაციის დნმ-ის მიერ კომპლექსების წარმოქმნის სპეციფიკური უნარი. დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურები საკმაოდ დინამიკურია და შესაბამისი პირობების მიხედვით, შესაძლოა, კონფორმაციული ურთიერთგადასვლების განხორციელება.

დნმ-ის ფორმები და სუპერსპირალიზაცია

დნმ-ის მოლეკულას, შესაძლებელია, ჰქონდეს წრფივი ან წრიული (რგოლის) სტრუქტურა. მაგალითად, ზოგიერთი მცირე ზომის ვირუსის დნმ წრფივ, ორჯაჭვიან სპირალს წარმოადგენს. ასეთი ტიპის დნმ-ს შეიცავს უმაღლესი ორგანიზმებიც. ადამიანის დიპლოიდური უჯრედის 46 ქრომოსომიდან თითოეული, ცილის მოლეკულებთან დაკავშირებულ, წრფივ, ორმაგ-სპირალურ დნმ-ს წარმოადგენს.

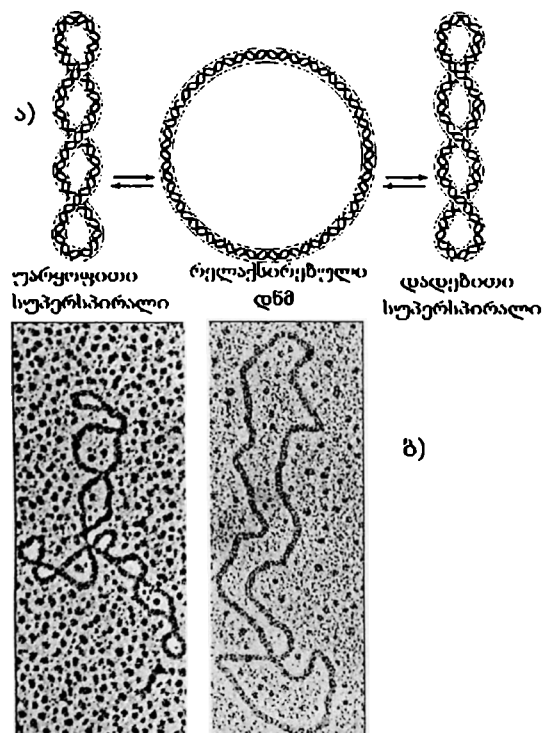
ზოგიერთი ორგანიზმის დნმ წრფივი ან წრიულია სიცოცხლის სხვადასხვა ციკლის დროს. ერთ-ერთ კარგად ცნობილი მაგალითია ფაგი λ -ს დნმ. *E.coli*-ს უჯრედში მოხვედრამდე მას წრფივი, ორჯაჭვიანი სტრუქტურა აქვს. ბაქტერიის ინფიცირებისას ის რგოლის ფორმას ღებულობს. თითოეული ჯაჭვის 3'- და 5'-ბოლოებს შორის ფოსფოდიესტერული ბმის წარმოქმნითა და ლიგაზების მეშვეობით მათი გაკერვით წარმოიქმნება კოვალენტურად ჩაკეტილი წრე (სურ.2.13).



სურ. 2.13. წრიული დნმ-ის მოდელი.
ა) წრიული დნმ; ბ) სუპერსპირალური დნმ

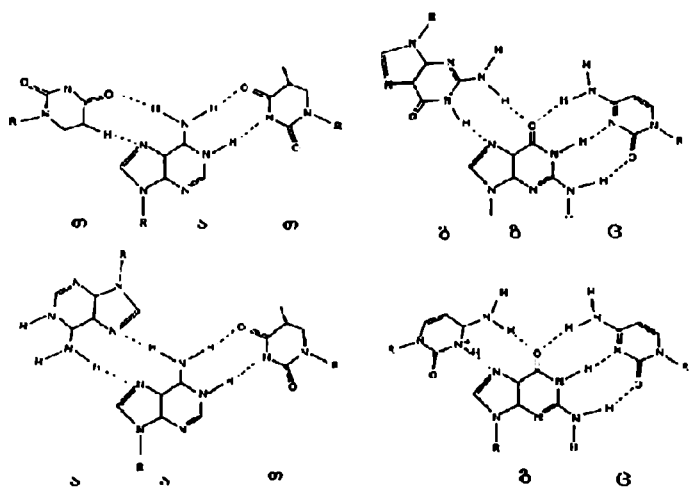
წრიული ფორმის დნმ აქვს ბაქტერიულ ქრომოსომებსა და ექსტრაქრომოსომურ პლაზმიდურ დნმ-ს. წრიული დნმ აგრეთვე გვხვდება უმაღლეს ორგანიზმებში. საფუვრების პლაზმიდები, ევკარიოტული უჯრედების მიტოქონდრიების და პლასტიდების დნმ წრიული ფორმისაა.

წრიულ ორჯაჭვიან დნმ-ს, რომელიც წრფივი დნმ-ის თავისუფალი ბოლოების შეერთებით მიიღება, *რელაქსირებულს* უწოდებენ. ასეთი სტრუქტურა ბიოლოგიურად ნაკლებად აქტიურია. როგორც წესი, ამგვარი დნმ კიდევ ეხვევა საკუთარი ღერძის გარშემო და განიცდის *სუპერსპირალიზაციას* (ზესპირალიზაციას). მარჯვნივ დახვეული ორმაგი სპირალის საათის ისრის საწინააღმდეგოდ დახვევა უარყოფით სუპერსპირალს წარმოქმნის, საათის ისრის მიმართულებით - დადებით სუპერსპირალს (სურ. 2.14). ზესპირალიზაცია მნიშვნელოვანია დნმ-ის მოლეკულის კომპაქტური სტრუქტურის მისაღებად.



სურ. 2.14. დნმ-ის მოლეკულის სუპერსპირალიზაცია.
ა) სქემატური გამოსახულება; ბ) ელექტრონულ-მიკროსკოპული სურათი

დნმ-ის სტრუქტურის ფორმირებისას, რიგ შემთხვევებში, *სამჯაჭვიანი და ოთხჯაჭვიანი დნმ-ის* წარმოქმნა ხდება. მაგალითად, *სამჯაჭვიანი დნმ* წარმოიქმნება, თუ ერთი ჯაჭვი შეიცავს მხოლოდ პურინულ თანამიმდევრობებს, ხოლო ორი - მხოლოდ პირიმიდინულს. პურინებს აქვს ორი პოტენციური წყალბადური ბმის საიტი სპირალის დიდ ღარში და შეუძლია სპეციფიკური, ე.წ. *ჰოხსტენის* ფუძეთა ტრიპლეტების წარმოქმნა მაგალითად, თიმინს შეუძლია ჰოხსტენის ორი წყალბადური ბმის წარმოქმნა *ა-თ* წყვილის ადენინთან (სურ. 2.15). პროტონირებულ ციტოზინს - *გ-ც* წყვილის გუანინთან. მიიღება სპირალი, რომელიც შეიცავს *თ-ა-თ* და *ც-გ-ც* ტრიპლეტებს. ამასთან, სამი ჯაჭვის კომპლექსში უარყოფითად დამუხტული შაქარ-ფოსფატური ხერხემლის ერთად განლაგება ზრდის ელექტროსტატიკურ განზიდულობას. ამიტომაც, სამმაგი სპირალი ნაკლებად სტაბილურია ორმაგ სპირალთან შედარებით.

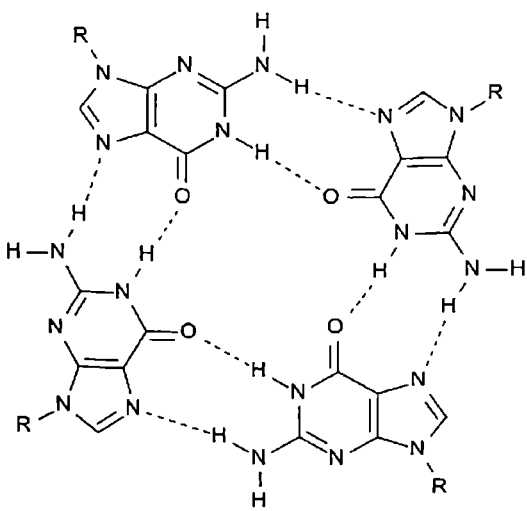


სურ. 2.15. დნმ-ის სამჯაჭვიანი მოლეკულის სტრუქტურა

საინტერესოა, რომ ევკარიოტულ უჯრედებში საკმაოდაა ნუკლეოტიდური უბნები, რომელთაც სამმაგი სპირალის შექმნის პოტენციური შესაძლებლობა აქვს. ასეთი უბნები განსაკუთრებით ხშირია იმ თანამიმ-

დევრობათა ახლოს, რომლებიც გენის რეგულაციის პროცესს უწყობს ხელს.

ოთხჯაჭვიანი დნმ-ის სტრუქტურის ფორმირება გუანინით მდიდარი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვებისგან ხდება. ისინი წარმოქმნის ტეტრამერულ სტრუქტურებს, რომელთაც გუანინის კვარტეტებს უწოდებენ (სურ. 2.16). *გ-კვარტეტები* სტელაჟურად ლაგდება ერთმანეთზე და მრავალშრიან სტრუქტურას ქმნის. გუანინით მდიდარი უბნები ევკარიოტული ქრომოსომის ტელომერულ უბნებში გვხვდება. *In vitro* პირობებში მსგავს უბნებს ტეტრამერული კომპლექსების შექმნა შეუძლია. აქვს თუ არა რაიმე ფუნქცია ტეტრაპლექსებს ტელომერის სტრუქტურაში, ჯერჯერობით უცნობია და, ზოგადად, სამჯაჭვიანი და ოთხჯაჭვიანი დნმ-ის ზუსტი ბიოლოგიური ფუნქციები ბოლომდე დადგენილი არ არის.

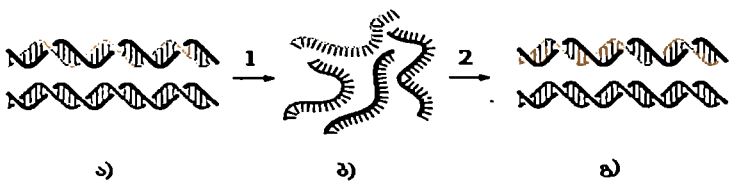


სურ. 2.16. დნმ-ის ოთხჯაჭვიანი სტრუქტურა (გუანინის კვარტეტი)

დნმ-ის დენატურაცია და რენატურაცია

დნმ-ის მოლეკულის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ პოლინუკლეოტიდური სპირალი შეიძლება დაირღვეს და მოხდეს ჯაჭვების განცალკევება პურინულ-პირიმიდინული წყალბადუ-

რი ბმებისა და სტეკინგ-ურთიერთქმმედებათა დარღვევის შედეგად. ამ მოვლენას დნმ-ის ორმაგი სპირალის ***დენატურაციას ან ლღობას*** (დნობას) უწოდებენ (სურ. 2.17). დნმ-ის კომპლემენტური ჯაჭვების განცალკევება შეიძლება მოხდეს დნმ-ის შემცველი ხსნარის გაცხელებით და შემდეგ მისი სწრაფი გაცივებით. დენატურაციას ადგილი აქვს, ასევე, ტუტით დნმ-ის დამუშავების შედეგად. ამ დროს პირიმიდინული ან პურინული რგოლის აზოტს სცილდება პროტონები, რაც განაპირობებს ჯაჭვების შემაკავშირებელი წყალბადური ბმების გაწყვეტას. დენატურაცია სხვადასხვა პირობებში სხვადასხვაგვარად ხდება. მაგალითად, ხსნარში კათიონების კონცენტრაციის შემცირების დროს დენატურაცია უფრო დაბალ ტემპერატურაზე და pH-ის დაბალი მნიშვნელობების დროს მიმდინარეობს. კატიონების კონცენტრაციის შემცირება იწვევს კომპლემენტური ჯაჭვების ფოსფატურ ჯგუფებს შორის იონიზაციის ხარისხის გაზრდას, რაც, თავის მხრივ, ზრდის ელექტროსტატიკურ განზიდულობას ურთიერთგადახვეულ ჯაჭვებს შორის. საბოლოო ჯამში, წყალბადური ბმების მცირე რიცხვის დარღვევაც კი იწვევს დენატურაციის პროცესს. მაგალითად, Na-ის იონების კონცენტრაციის შემცირებისას *E. coli*-ის დნმ-ის დენატურაციის ტემპერატურა 90^{0}C-დან 58^{0}C-მდე მცირდება.



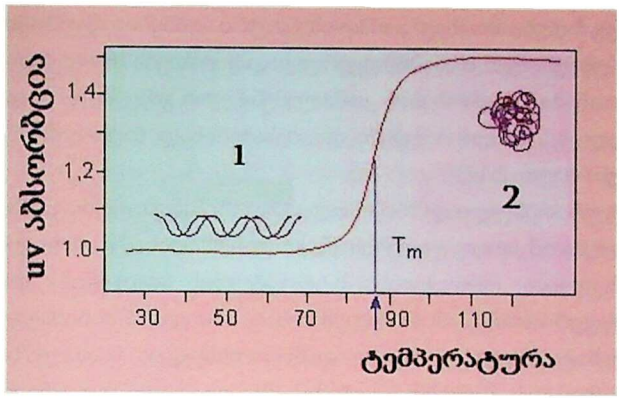
სურ. 2.17. დნმ-ის დენატურაცია-რენატურაციის სქემა:
ა) ნატივური ორსპირალიანი დნმ-ის მოლეკულები;
ბ) დენატურირებული დნმ; გ) რენატურირებული დნმ-ის მოლეკულები.
1. დენატურაციის პირობები: მაღალი ტემპერატურა ან pH;
2. რენატურაციის პირობები: ტემპერატურის ან pH-ის დაწევა

დენატურაციის პროცესს თან ახლავს დნმ-ის მოლეკულის რიგი ფიზიკური თვისებების არსებითი ცვლილებები. მისი ერთ-ერთი თვისება - ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის (აბსორბციის) უნარი - დენატურაციის პროცესზე დაკვირვების მოხერხებულ მეთოდს წარმოადგენს. დნმ-

ის ამგები აზოტოვანი ფუძეები ულტრაიისფერი სხივების ძლიერი შთამნთქმელია (მაქსიმუმი - 260 ნმ-თან ახლოს), მაგრამ სტელაჟურად განლაგებულ ფუძეებს შორის არსებული სტეკინგ-ურთიერთქმედებების გამო შთანთქმის ხარისხი დნმ-ის მთლიან მოლეკულაში თითქმის 40%-ითაა შემცირებული. ამ მოვლენას *ჰიპოქრომულ ეფექტს* უწოდებენ. დენატურაციის დროს სტეკინგ-ურთიერთქმედებები თანდათანობით მცირდება და იცვლება ჰიპოქრომულობის ეფექტიც, ხოლო სრული რღვევის შედეგად დნმ-ის ულტრაიისფერი სხივების აბსორბციის ხარისხი უახლოვდება მისი შემადგენელი პურინული და პირიმიდინული ფუძეების აბსორბციის ჯამს (სურ.2.18.).

დენატურაციის შემდეგ დნმ-ის მოლეკულის ორმაგი სპირალი ირღვევა და იძენს განცალკევებული ჯაჭვი უწესრიგო გორგლის სტრუქტურას. განცალკევებული ჯაჭვების მიერ ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის ხარისხი იზრდება მყისიერად. ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ დნმ-ის სხვადასხვა მოლეკულას სხვადასხვა ლღობის ტემპერატურა (ტემპერატურა, რომელზეც იწყება დენატურაცია) ახასიათებს. ის მით უფრო მაღალია, რაც მეტია *გ-ც* წყვილების შემცველობა დნმ-ის მოლეკულაში. ეს განპირობებულია, *ა-თ* ორმაგ ბმებთან შედარებით, გუანინსა და ციტოზინს შორის არსებული სამმაგი წყალბადური ბმების უფრო მაღალი თერმოსტაბილურობით. ეს ვარაუდი დადასტურებულ იქნა სინთეზური დნმ-ის მიღების შემდეგ, რომელიც მხოლოდ *ა-თ* წყვილებით იყო აგებული. ამ დნმ-ის ლღობის ტემპერატურა ყველაზე დაბალი აღმოჩნდა მიღებულ შედეგებს შორის. ამრიგად, ნებისმიერი დნმ-ის ლღობის ტემპერატურის მიხედვით შეიძლება მსჯელობა მის ნუკლეოტიდურ შედგენილობაზე. დენატურაციის დროს დნმ-ის შაქარ-ფოსფატური ხერხემლის კოვალენტური ბმები არ იშლება.

მას შემდეგ, რაც გაიშიფრა დნმ-ის სტრუქტურა, მისი მოლეკულების დენატურაციის მოვლენის აღმოჩენას მეცნიერთა დიდი გაკვირვება არ გამოუწვევია. თუმცა საკმაოდ მოულოდნელი აღმოჩნდა განცალკევებული პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვებიდან დნმ-ის რეკონსტრუქციის უნარის გამოვლენა. ექსპერიმენტების საფუძველზე გაკეთებული ეს აღმოჩენა *იულიუს მარმურს* (*Julius Marmur*) (1960) ეკუთვნის.



სურ. 2.18. ულტრაიისფერი სხივების (uv) ზემოქმედებით დნმ-ის დენატურაციის გრაფიკი. 1. დნმ-ის ორმაგი ნატივური ჯაჭვი; 2. რანდომულად დახვეული დნმ-ის ერთმაგი ჯაჭვი

მარმური სწავლობდა პნევმოკოკების ტრანსფორმაციული უნარის ცვლილებას სხვადასხვა ტემპერატურაზე. აღმოჩნდა, რომ 100^{0}C-ზე დენატურირებული დნმ-ის ტრანსფორმაციის უნარი პნევმოკოკებში 1%-ზე დაბლა ეცემა. ექსპერიმენტის შემდეგ ეტაპზე მარმური აკვირდებოდა ტრანსფორმაციის უნარის ცვლილებას 60^{0}C გრადუსამდე ხსნარის თანდათანობითი გაცივებით 80 წთ-ის განმავლობაში. დაფიქსირდა ტრანსფორმაციული აქტივობის გაზრდა 15%-მდე, რაც იმაზე მიუთითებდა, რომ მოხდა დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის ნატივური სტრუქტურის აღდგენა, ანუ ***დნმ-ის რენატურაცია.***

როცა დნმ-ის მოლეკულა მთლიანად არ არის დენატურირებული და მის სპირალში ჯერ კიდევ რჩება გაწყვილებული ფუძეების გარკვეული რაოდენობა, დნმ-ის მოლეკულის სტრუქტურა საკმაოდ მარტივად აღდგება. საკმარისია ტემპერატურისა და უჯრედის pH-ის ფიზიოლოგიურ მაჩვენებლამდე შეცვლა, რომ დნმ-ის ჯაჭვები თავისთავად დაუკავშირდება ერთმანეთს და აღდგება საწყისი ორმაგ-სპირალური სტრუქტურა. ამ მოვლენას „გამოწვა“ (ინგლ. Anneal) ეწოდება. იმ შემთხვევაში, როცა დნმ-ის მოლეკულა მთლიანად დენატურირებულია, მის რენატურაციას გაცილებით მეტი დრო სჭირდება. პირველ ეტაპზე, დაშორებულმა ჯაჭვებმა უნდა „იპოვონ“ ერთმანეთი შემთხვევითი დაჯახების შედეგად,

რის შემდეგ ხდება მოკლე კომპლემენტური უბნების წარმოქმნა. მეორე ეტაპზე ამ უბნებიდან თანამიმდევრულად წარმოეზს მომდევნო ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების კომპლემენტური გაწყვილება, დნმ-ის ორმაგი სპირალის საბოლოო შეკვრა და, შესაბამისად, ნატივური სტრუქტურის აღდგენა (სურ. 2.17).

დენატურირებული დნმ-ის მოლეკულების რენატურაციაზე დაკვირვება შეიძლება ამ მოლეკულების მიერ ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის მიხედვით. ორჯაჭვიანი სტრუქტურის აღდგენის კვალდაკვალ ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის ხარისხი ეცემა მინიმალურ ნიშნულამდე. რენატურაციის სიჩქარე დამოკიდებულია საანალიზო დნმ-ის მოლეკულაზე, მის წარმომავლობაზე. მაგალითად, თუ პნევმოკოკების დენატურირებული დნმ-ის ინკუბაციას აწარმოებენ 65°C-ზე 1 სთ-ის განმავლობაში, ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის ხარისხი 50%-ით მცირდება. ეს იმაზე მიუთითებს, რომ მოლეკულების დაახლოებით ნახევარი აღიდგენს ორსპირალიან სტრუქტურას. ანალოგიურ პირობებში ხბოს ფარისებური ჯირკვლის დენატურირებული დნმ-ის რენატურაცია საერთოდ არ ხდება, ხოლო ბაქტერიოფაგის დენატურირებული დნმ-ის მოლეკულების სტრუქტურა აღნიშნულ პირობებში თითქმის მთლიანად აღდგება.

მარმური შეეცადა, აეხსნა, რით არის გამოწვეული სხვადასხვა ტიპის დნმ-ის რენატურაციის შესაძლებლობები. მისი აზრით, ვინაიდან ორმაგი სპირალის სტრუქტურის აღდგენა თავისუფალ გარემოში დამოკიდებულია კომპლემენტური ფუძეების მქონე ჯაჭვების შეხვედრაზე, გასაგებია, რომ ასეთი ჯაჭვების შეხვედრის ალბათობის გაზრდასთან ერთად გაიზრდება რენატურაციის პროცესის სიჩქარეც. ზემოთ განხილული სამი ტიპის დნმ-დან კომპლემენტური ჯაჭვების შეხვედრის ყველაზე მაღალი ალბათობა ფაგებს აქვთ, რითაც შეიძლება აიხსნას მისი დნმ-ის თითქმის სრული რენატურაცია.

დნმ-ის ჰიბრიდიზაცია

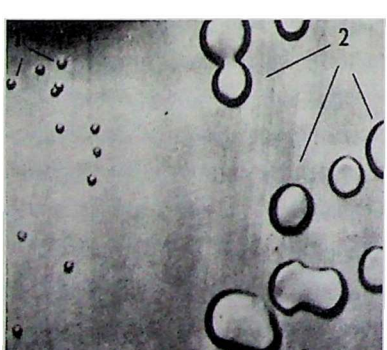
დნმ-ის რენატურაცია გულისხმობს ნატივური სტრუქტურის რღვევის შემდეგ მისი ორჯაჭვიანი სტრუქტურის კვლავ აღდგენას. ზოგჯერ დნმ-ის ორჯაჭვიანი სტრუქტურის რენატურაციაში, შესაძლოა, მონაწი-

ლეობდეს სხვადასხვა ორგანიზმიდან ან სხვა წყაროებიდან მოხვედრილი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვები. ასეთ შემთხვევაში საქმე გვაქვს დნმ-დნმ ჰიბრიდიზაციის მოვლენასთან.

დნმ-ის ჰიბრიდიზაციის მეთოდმა საინტერესო პრაქტიკული გამოყენება პოვა სისტემატიკურ ტაქსონომიაში. რაც მეტი საერთო გენები აქვს ორგანიზმს, ანუ, რაც მეტია ერთნაირი თანამიმდევრობის მქონე უბნები სხვადასხვა ორგანიზმის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვებში, მით უფრო ახლოს იქნება ეს ორი ორგანიზმი ერთმანეთთან ფილოგენეტიკური თვალსაზრისით. ამ მიმართულებით ექსპერიმენტების ჩასატარებლად *ბოლტონმა და მაკ-კარტიმ* შეიმუშავეს საკმაოდ მარტივი მეთოდიკა: საექსპერიმენტოდ აღებული ორი ორგანიზმიდან გაცხელებითა და შემდგომ სწრაფი გაცივებით წარმოებს ერთ-ერთის დნმ-ის დენატურაცია. განცალკევებული ჯაჭვების შემცველ ხსნარს ათავსებენ გალღობილ აგარში, აგარს დაუყოვნებლივ აცივებენ და ამით აფიქსირებენ დენატურირებულ ჯაჭვებს. პარალელურად, მეორე ორგანიზმი იზრდება დნმ-ის რადიოაქტიური წინამორბედების შემცველ ხსნარზე. რადიოაქტიურ დნმ-ს გამოყოფენ და მექანიკური გზით ხლეჩენ დაახლოებით 1000 ნუკლეოტიდიან ფრაგმენტებად და ამატებენ აგარს, რომელშიც უკვე დაფიქსირებულია პირველი ორგანიზმის განცალკევებული პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვები. ამის შემდეგ აგარს ათბობენ 60°C-მდე და აჩერებენ ერთი ღამის განმავლობაში. ასეთ პირობებში მიმდინარეობს ახალი დნმ-ის სპირალის სინთეზი, რომლის ერთი ჯაჭვი ერთი საექსპერიმენტო ორგანიზმისაა, ხოლო მეორე - მეორის. ცდის შემდეგ ეტაპზე, გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდების მოსაცილებლად აგარს ჩარეცხავენ მარილიანი ხსნარით. დაფიქსირებულ პოლინუკლეოტიდურ სპირალში კი ითვლიან რადიოაქტიური ჯაჭვების რაოდენობას. ასე შეიძლება დადგინდეს, დანიშნული დნმ-ის რა ნაწილი გაუწყვილდება მეორე ორგანიზმის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვს და, შესაბამისად, ნუკლეოტიდთა რა რაოდენობა აქვს ერთნაირ ორგანიზმებს. ეს მეთოდი ორგანიზმთა ფილოგენეტიკური ურთიერთკავშირისა და ევოლუციის შესწავლის თვალსაზრისით, ერთ-ერთ პირველ, ფუნდამენტურ მოლეკულურ-ბიოლოგიურ მეთოდს წარმოადგენდა.

დნმ-ის გენეტიკური ფუნქციის ექსპერიმენტული მტკიცებულებები

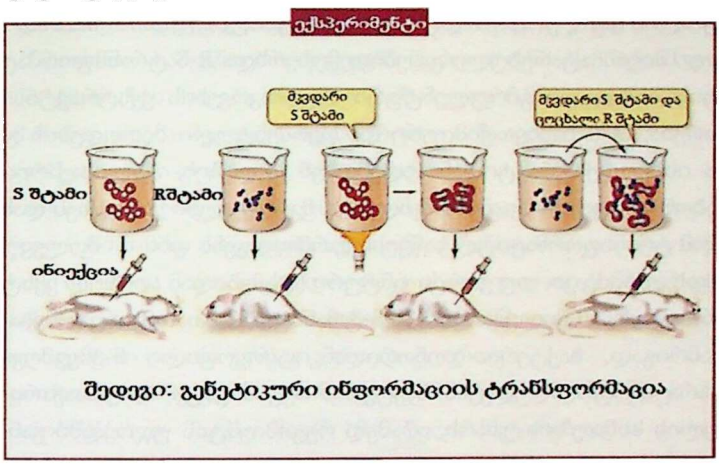
მემკვიდრეობითი ინფორმაციის შენახვასა და გადაცემაში დნმ-ის წამყვანი ფუნქციის დამტკიცების საქმეში გადამწყვეტი როლი შეასრულა 1928 წელს *ფრედერიკ გრიფიტის (Frederick Griffith)* მიერ ჩატარებულმა ექსპერიმენტმა. გრიფიტსი ცდებს ატარებდა პნევმოკოკებით (*Streptococcus pnevmoniae*) თაგვების დასნებოვნებაზე. პნევმოკოკები, რომლებიც ადამიანში პნევმონიას იწვევენ, პათოგენურია თაგვებისთვისაც. პნევმონიით დაავადებული ავადმყოფის ნახველით ინიექცია თაგვის დაღუპვას იწვევს ერთი დღე-ღამის განმავლობაში. პნევმოკოკების ვირულენტობას განაპირობებს გლუკოზისა და გლუკორინის მჟავასაგან აგებული პოლისაქარიდული კაფსულა, რომელიც იცავს ბაქტერიას ინფიცირებული ცხოველის დამცავი მექანიზმებით დაშლისაგან. პოლისაქარიდული კაფსულა ვირულენტური პნევმოკოკების კოლონიას გლუვ (ინგლ. smoot), პრიალა სახეს ანიჭებს. ეს კოლონია პნევმოკოკების ველურ S ტიპს წარმოადგენს. პნევმოკოკების ველური ტიპის მუტაციებით მიიღება არავირულენტური ფორმები, რომლებიც წარმოქმნიან ხორკლიანი (ინგლ. rough) ზედაპირის მქონე R კოლონიებს (სურ.2.19). მუტანტებს დაკარგული აქვთ დამცავი კაფსულის სინთეზის უნარი და, შესაბამისად, პათოგენობაც. კაფსულის სინთეზის უნარის მოშლას განაპირობებს ფერმენტ გლუკოზოდეჰიდროგენაზას მაკონტროლებელი გენის მუტაცია. იშლება პოლისაქარიდული კაფსულის ამგები ნივთიერების სინთეზი და, შესაბამისად, კაფსულაც აღარ ყალიბდება.



სურ. 2.19. პნევმოკოკების კოლონიები.
1 - უხეშზედაპირიანი კოლონია (R) - არავირულენტური შტამი (არ გააჩნია დამცავი პოლისაქარიდული კაფსულა);
2 - გლუვზედაპირიანი კოლონია (S) - ვირულენტური შტამი (პოლისაქარიდული კაფსულა იცავს მასპინძლის იმუნური სისტემის ზემოქმედებისაგან)

გრიფიტსის ცდებში თაგვის სხეულში ამ ორი შტამის შეყვანა განსხვავებულ შედეგებს განაპირობებდა (სურ. 2.20). ვირულენტური შტამით ინიექციისას თაგვები ავადდებოდნენ და იღუპებოდნენ. გაკვეთისას მათ სხეულში უამრავი ვირულენტური შტამი აღმოჩინეს, ხოლო არავირულენტური შტამის შეყვანა თაგვებში არავითარ ცვლილებას არ იწვევდა.

ცდის მეორე ვარიანტში თაგვების ინიექცია მოახდინეს გახურებით მკვდარი ვირულენტური შტამით. თაგვები არ დაავადდნენ, ე.ი. შტამმა დაკარგა ვირულენტობა.



სურ. 2.20. გრიფიტსის ექსპერიმენტი

შემდეგ ცდაში, გახურებით მკვდარი ვირულენტური შტამი შეურიეს არავირულენტურ, ცოცხალი შტამის უჯრედებს და შეიყვანეს საცდელი ცხოველების სხეულში. შედეგი განსაცვიფრებელი აღმოჩნდა - თაგვები დაავადდნენ და დაიღუპნენ. გაკვეთისას მათ სხეულში ცოცხალი ვირულენტური შტამი დაფიქსირდა. თაგვების სისხლიდან გამოყოფილი ბაქტერიების შესწავლით მივიდნენ დასკვნამდე, რომ საინიექციო ხსნარში გახურებით მკვდარი ვირულენტური შტამის არსებობამ გამოიწვია ცოცხალი, არავირულენტური შტამის ტრანსფორმაცია - მუტანტებს დაუბრუნდათ გენური მუტაციის გზით დაკარგული პოლისაქარიდული კაფსულის წარმოქმნის უნარი.

გამოითქვა მოსაზრება, რომ ცხოველი, რომლის სხეულშიც ეს ტრანსფორმაცია ხდება, მხოლოდ დეტექტორის როლს ასრულებს და არავითარ ზეგავლენას არ ახდენს ტრანსფორმაციაზე. ანალოგიური შედეგის მიღება *in vitro* პირობებშიც შეიძლება. ნაჩვენები იქნა, რომ R-S ტრანსფორმაცია მაშინაც ხდება, თუ R-მუტანტების კულტურას დავუმატებთ S-მუტანტების არაუჯრედოვან კულტურას.

მოგვიანებით, ამერიკელ მიკრობიოლოგ *ოსვალდ ევერისა (Oswald Avery)* და მისი კოლეგების - როკფელერის ინსტიტუტის თანამშრომლების - *კოლინ მაკ-ლეოდისა და მაკლინ მაკ-კარტის (Colin MacLeod, Maclyn McCarty)* მიერ ჩატარებული ცდებით მოხერხდა R-S ტრანსფორმაციული საწყისის შემცველი ვირულენტური პნევმოკოკების ექსტრაქტის ფრაქციონირება. სხვადასხვა ქიმიური და ფერმენტული მეთოდების გამოყენებით ისინი ექსტრაქტიდან ახდენდნენ ცილების, პოლისაქარიდებისა და რიბონუკლეინის მჟავას მოცილებას. მკვლევრები მივიდნენ დასკვნამდე, რომ ტრანსფორმაციულ საწყისს წარმოადგენს დნმ-ის მოლეკულები. იმ შემთხვევაშიც კი, თუ ვირულენტური შტამებიდან აღებულ ექსტრაქტს გავხსნით 6, 8, 10 წილ წყალში, R-S-ტრანსფორმაციას მაინც ექნება ადგილი. ამრიგად, ბაქტერია-დონორიდან გამოყოფილი S-პნევმოკოკების დნმ, არა მარტო აღუდგენს ბაქტერია-რეციპიენტს პოლისაქარიდული კაფსულის სინთეზის უნარს, არამედ რეციპიენტის უჯრედში განიცდის რეპლიკაციას. ამის შედეგად ტრანსფორმანტი თავად ხდება შემდგომი ტრანსფორმაციის წყარო. ამ მეცნიერების აზრით, სწორედ ბაქტერიული დნმ არის მემკვიდრეობითი მასალა, რომელშიც ჩაწერილია პოლისაქარიდული კაფსულის მაკონტროლებელი გენის ინფორმაცია.

ევერიმ, მაკ-ლეოდმა და მაკ-კარტიმ მიღებული მონაცემები გამოაქვეყნეს 1944 წელს, მაგრამ სამეცნიერო საზოგადოება უნდობლობით შეხვდა მათი კვლევის შედეგებს. ამ პერიოდისათვის მეცნიერებაში დამკვიდრებული იყო მოსაზრება, რომ გენეტიკური ინფორმაცია დაკავშირებულია ცილის მოლეკულებთან. არსებული ინფორმაცია დნმ-ის მოლეკულების სტრუქტურის შესახებ კი არ იძლეოდა საშუალებას, ეღიარებინათ ის, როგორც მემკვიდრეობითი ინფორმაციის წყარო. ერთერთ არგუმენტად იმას ასახელებდნენ, რომ შესაძლებელია, გაწმენდილი დნმ-ის პრეპარატი მაინც შეიცავდეს მცირე რაოდენობით ცილას და ეს

ანიჭებდეს მას ტრანსფორმაციულ უნარს. ამ კრიტიკული მოსაზრების საპასუხოდ, *ევერიმ, მაკ-ლეოდმა და მაკ-კარტიმ* შეასრულეს დიდი სამუშაო და აჩვენეს, რომ ცილის დამშლელი ფერმენტებით ტრანსფორმირებადი დნმ-ის დამუშავებისას არ იცვლება მისი ბიოლოგიური აქტივობა. მაგრამ საკმარისია, პრეპარატი დამუშავდეს ფერმენტ დეზოქსირიბონუკლეაზით, რომ პნევმოკოკები მაშინვე კარგავენ ტრანფორმაციის უნარს. დეზოქსირიბონუკლეაზა, ანუ დნმ-აზა მაღალი სპეციფიკურობის მქონე ფერმენტია, რომელიც ჰიდროლიზურ ზემოქმედებას ახდენს მხოლოდ დნმ-ის მოლეკულაზე. ხოლო მოგვიანებით, *როლინ ჰოჩკისის (Rollin Hotchkiss)* სამეცნიერო ჯგუფმა შეძლო დნმ-ის მაქსიმალურად სუფთა პრეპარატის მიღება, რომელიც მხოლოდ 0,02% ცილას შეიცავდა. ვერც ამ მონაცემებმა შეცვალა მეცნიერული საზოგადოების წარმოდგენა დნმ-ის გენეტიკური ფუნქციის სასარგებლოდ.

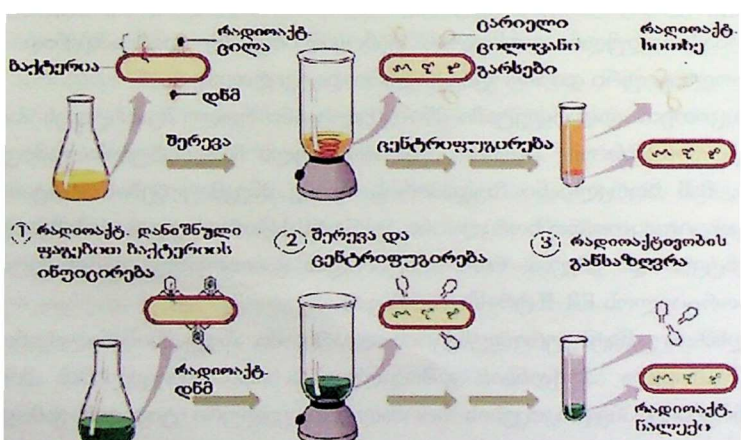
მეორე საწინააღმდეგო არგუმენტი შემდეგნაირად იყო ჩამოყალიბებული: თუ დნმ მაინც ასრულებს აქტიური ტრანსფორმაციული საწყისის ფუნქციას, არ არის გამორიცხული, რომ ის უშუალოდ ზემოქმედებდეს პოლისაქარიდული კაფსულის ჩამოყალიბებაზე და, ამდენად, აქვს ფიზიოლოგიური და არა გენეტიკური დატვირთვა.

საკითხის გადაწყვეტაში მნიშვნელოვანი როლი შეასრულეს *ჰარიეტ ტეილორის (Harriet Taylor)* მიერ 1949 წელს ჩატარებულმა გამოკვლევებმა. მან ხორკლიანი ზედაპირის მქონე პნევმოკოკების R-შტამიდან გამოყო კიდევ უფრო ხორკლიანი, უსწორმასწორო ზედაპირის მქონე ER-მუტანტები და აჩვენა, რომ R-შტამიდან გამოყოფილ დნმ-ს შეუძლია განახორციელოს ER-R ტრანსფორმაცია.

დნმ-ის გენეტიკური ფუნქციის აღიარებაში, ასევე, მნიშვნელოვანი როლი შეასრულა *ჰოჩკინსის* გამოკვლევებმა. მან პენიცილინის მიმართ მგრძნობიარე პნევმოკოკების ნორმალური, ველური ტიპიდან გამოყო ამ პრეპარატის მიმართ მდგრადი მუტანტები. მუტანტის დნმ დაუმატა პენიცილინის მიმართ მგრძნობიარე უჯრედებს. შედეგად, სამი ტიპის ტრანსფორმანტის მიღება შეძლო. ექსპერიმენტის შედეგები აშკარად მეტყველებდა, რომ პნევმოკოკების დნმ მონაწილეობს არა მარტო პოლისაქარიდული კაფსულის წარმოქმნაში, არამედ პენიცილინის მიმართ მდგრადობის განმსაზღვრელი უჯრედული სტრუქტურის ჩამოყალიბებაში.

ბაქტერიებში ტრანსფორმაციის მოვლენის დასაბუთების შემდეგ დღის წესრიგში დადგა სხვა სისტემებში დნმ-ის გენეტიკური როლის დასაბუთების საკითხი. საექსპერიმენტო ობიექტად აღებულ იქნა ფაგი-T2. ეს ვირუსი იწვევს ბაქტერია *E.coli*-ის ინფიცირებას. როცა ბაქტერიულ კულტურას უმატებენ ფაგებს, ისინი ადსორბირდებიან ბაქტერიის გარე ზედაპირზე და გარკვეული ნივთიერება შეჰყავთ მის უჯრედში. 20-წთ-ის შემდეგ ბაქტერიული უჯრედი განიცდის ლიზისს (რღვევას), რითაც გამოთავისუფლდება ფაგის გამრავლებული შთამომავლობა.

ამ მოვლენის მექანიზმებში გარკვევის მიზნით, 1952 წელს *ალფრედ ჰერშიმ და მარტოი ჩეიზმა (Alfred Hershey, Martha Chase)* ჩაატარეს ცდა, სადაც ბაქტერიის ინფიცირება მოახდინეს ფაგით, რომლის დნმ P^{35}., ხოლო ცილა S^{32} რადიოაქტიური იზოტოპით იყო ნიშანდებული (დანიშნული). ბაქტერიის და ფაგის ნარევს ანჯღრევდნენ და ცენტრიფუგირებით ყოფდნენ ორ ფრაქციად. მიღებული ფრაქციებიდან ერთი შეიცავდა ფაგების ცარიელ გარსებს, მეორე - თვით ბაქტერიებს (სურ. 2.21).



სურ. 2.21. ჰერშისა და ჩეიზის ექსპერიმენტი.

ა) ბაქტერიოფაგის კაფსულის ცილა ნიშანდებული რადიოაქტიური გოგირდით (^{35}S), ექსპერიმენტის ბოლოს გოგირდი ბაქტერიის უჯრედში არ დაფიქსირდა; ბ) ბაქტერიოფაგის დნმ ნიშანდებული რადიოაქტიური ფოსფორით (^{32}P), ცდის ბოლოს ფოსფორი ბაქტერიის უჯრედში დაფიქსირდა.

ფაგის შთამომავლობაში დნმ-ის ყველა ნიშანდებული მოლეკულა უჯრედის შიგნით აღმოჩნდა, ხოლო ნიშანდებული ცილის - მხოლოდ 1%.

ამ ექსპერიმენტის შედეგები ნათლად მიუთითებს, რომ საწყისი მშობლისეული დნმ, შეიჭრება რა ბაქტერიის უჯრედში, მრავლდება და გადაეცემა შთამომავლობას.

უმაღლეს ორგანიზმებში დნმ-ის გენეტიკური როლის პირველი მტკიცებულებები მიღებულ იქნა სხვადასხვა ორგანიზმიდან გამოყოფილი ქრომოსომების შერევის გზით. ამ დროს რეციპიენტის უჯრედში დაბალი სიხშირით, მაგრამ მაინც ვლინდებოდა დონორის ქრომოსომის მიერ შეტანილი თვისებები. შემდგომში შესაძლებელი გახდა, ეს ცდა დნმ-ის გაწმენდილი პრეპარატებით ჩატარებულიყო. სადღეისოდ წარმოებს დონორულ უჯრედში ცალკეული გენის გადატანაც კი და ისეთი ტრანსფორმანტების მიღება, სადაც აღნიშნული გენი ექსპრესირდება კიდეც. ამ მოვლენას მეცნიერებმა *ტრანსფექცია* უწოდეს, თუმცა ის თავისი არსით ტრანსფორმაციას წარმოადგენს. ამ ცდებით დადგენილი იქნა არა მარტო დნმ-ის გენეტიკური ფუნქცია უმაღლეს ორგანიზმებში, არამედ სხვადასხვა სახეობას შორის გენის გადატანის შესაძლებლობა მისი ფუნქციის შენარჩუნებით.

2.3. რიბონუკლეინის მჟავა (რნმ)

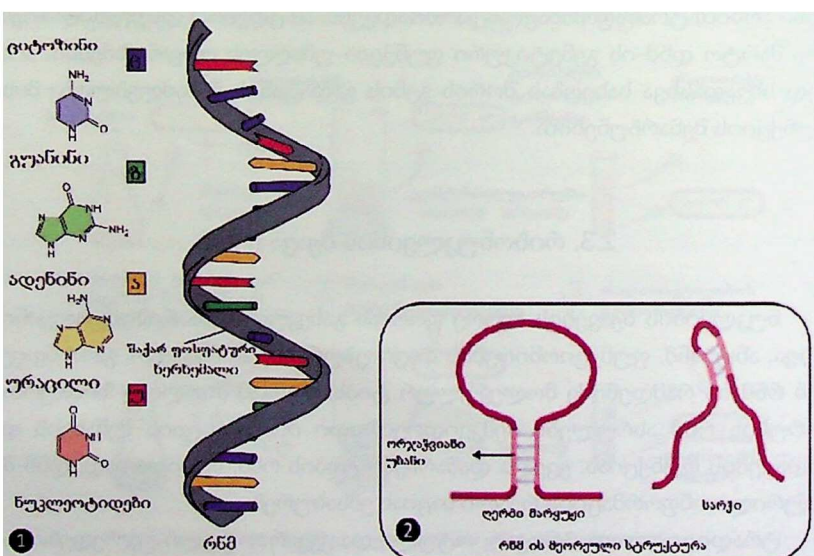
ნუკლეინის მჟავების მეორე ფორმას განეკუთვნება რიბონუკლეინის მჟავა, ანუ რნმ. ფუნქციონირების თავისებურების მიხედვით, განასხვავებენ რნმ-ის რამდენიმე მოლეკულურ ტიპს. მათგან მხოლოდ ზოგიერთი ვირუსის რნმ ასრულებს მემკვიდრეობითი ინფორმაციის შენახვის და გადაცემის ფუნქციას. ყველა დანარჩენი ტიპის რნმ, ძირითადად, დნმ-ში ჩაწერილი ინფორმაციის რეალიზაციას ემსახურება.

ტრადიციულად, პროკარიოტული და ევკარიოტული უჯრედებიდან გამოყოფილი რნმ-ის კლასიფიკაცია მათ მიერ შესრულებული ფუნქციის მიხედვით ხდება. ამ ნიშნით გამოყოფენ რნმ-ის სამ ძირითად ტიპს: რიბოსომურს (რ-რნმ), მესენჯერულს (მათ ინფორმაციულ (ი-რნმ) ან მატრიცულ რნმ-საც (მ-რნმ) უწოდებენ) და სატრანსპორტოს (ტ-რნმ).

სამივე ტიპის რნმ-ის მოლეკულების სინთეზი დნმ-ის გარკვეულ უბნებზე მიმდინარეობს მატრიცული პრინციპით, დნმ-ის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის კომპლემენტურად.

რნმ-ის სტრუქტურული ორგანიზაცია

რნმ-ის პირველადი სტრუქტურა. რნმ რიბონუკლეოზიდმონოფოსფატების წრფივ პოლიმერს წარმოადგენს (სურ. 2.22-1). პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის ღერძი აგებულია 5' - 3' შაქარ-ფოსფატური ბმებით და შეიცავს ოთხი ტიპის აზოტოვან ფუძეს: პურინულს - ადენინი და გუანინი და პირიმიდინულს - ციტოზინი და ურაცილი. რნმ-ის მოლეკულები, ასევე, შეიცავს მოდიფიცირებულ აზოტოვან ფუძეებს. ზოგჯერ მის სტრუქტურაში მეთილირებული ფუძეებიც გვხვდება. დნმ-ისა და რნმ-ის ქიმიურ სტრუქტურას შორის განსხვავება ძირითადად სამი ფაქტორით



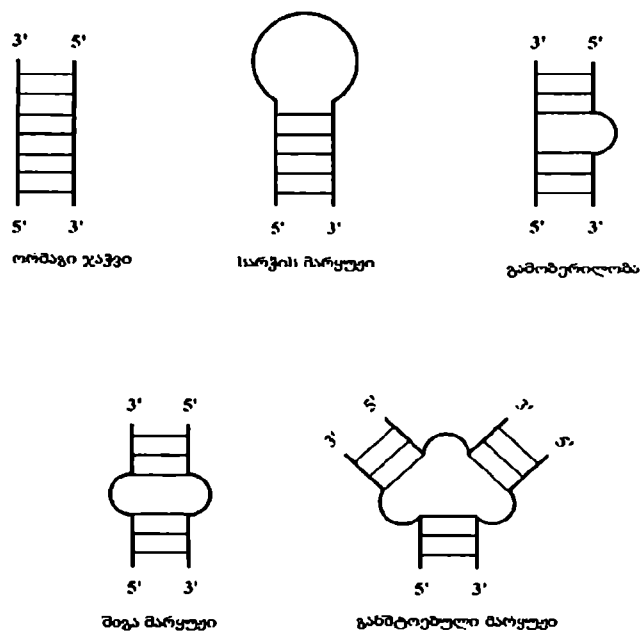
სურ. 2.22. რნმ-ის პირველადი (1) და მეორეული სტრუქტურა (2)

განისაზვრება: რნმ-ის ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შედის ნახშირწყალი რიბოზა და არა დეზოქსირიბოზა; აზოტოვანი ფუძე, ურაცილი თიმინის ნაცვლად; რნმ იშვიათი გამონაკლისის გარდა (ზოგიერთი ვირუსი) ერთჯაჭვიანია. რიბოზის 2'-ჰიდროქსილური ჯგუფები დნმ-ის მოლეკულას ჰიდროლიზის მიმართ უფრო მგრძნობიარეს ხდის. ამის გამო რნმ-ის მოლეკულების სტრუქტურა, დნმ-თან შედარებით, ნაკლებად სტაბილურია. ზოგიერთი სახის რნმ-ის სიცოცხლის პერიოდი სულ რამდენიმე წთ-ს შეადგენს, ზოგიერთისა - რამდენიმე დღეს. მიუხედავად ამისა, ნებისმიერი რნმ-ის მოლეკულები გაცილებით არასტაბილურია, ვიდრე დნმ-ის მოლეკულები.

რნმ-ის მეორეული სტრუქტურა. რნმ-ის მოლეკულებს, ზოგჯერ, მეორეული სტრუქტურაც ახასიათებს, რომელიც ერთჯაჭვიანი სტრუქტურის შიგნით შიგამოლეკულური თანამიმდევრობების კომპლემენტური გაწყვილების გზით ყალიბდება. ისინი, ჩვეულებრივ, არ წარმოქმნის დიდ, ორმაგ სპირალურ მონაკვეთებს. რნმ-ის მოლეკულის შიგნით არსებული გაწყვილებული უბნები შედარებით მოკლე თანამიმდევრობებით არის წარმოდგენილი. გაწყვილება დასაშვებია, როგორც რნმ-ის მოლეკულის შიგნით, ასევე რნმ-ის ორ მოლეკულას შორის. თუ რნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდების გარკვეულ თანამიმდევრობას მოსდევს მისი კომპლემენტური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვი შეიძლება მოიხაროს და ჩამოყალიბდეს ორჯაჭვიანი ანტიპარალელური სტრუქტურა. ასეთ სტრუქტურას *რნმ-ის სარჭს* უწოდებენ თმის სარჭთან სტრუქტურული მსგავსების გამო. (სურ. 2.22-2).

რნმ-ის სარჭი შედგება გაწყვილებული ნუკლეოტიდური უბნისაგან - ღერძისაგან (შტოსაგან) და გაუწყვილებელი უბნისაგან - მარყუჟისაგან. უმეტესად, მარყუჟი მოლეკულის ერთ-ერთ ბოლოზეა განლაგებული. თუ კომპლემენტური უბნები შედარებით დაცილებულია ერთმანეთისაგან, წარმოიქმნება რნმ-ის ორჯაჭვიანი სტრუქტურა ძალიან გრძელი, გაუწყვილებელი მარყუჟით. გარდა ამისა, რნმ-ის მოლეკულის შიგნით ზოგჯერ გვხვდება ნუკლეოტიდები, რომლებსაც კომპლემენტური წყვილები არ გააჩნიათ. ასეთ შემთხვევაში რნმ-ის სტრუქტურაში ყალიბდება შიგა მარყუჟები, ე.წ. ორმაგი სპირალის დეფექტები და ა. შ. (სურ. 2.23).

შესაძლებელია, ერთმანეთს გაუწყვილდეს რნმ-ის დამოუკიდებელი მოლეკულებიც. თუ ამ მოლეკულებს თავიანთ სტრუქტურაში აქვთ კომპლემენტური უბნები, შესაბამის პირობებში, ხდება მათი გაწყვილება. როგორც წესი, ისინი მოკლე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების უბნებითაა წარმოდგენილი. ასეთი ტიპის ურთიერთქმედებებს დიდი ბიოლოგიური მნიშვნელობა აქვს. სწორედ ნუკლეოტიდების გაწყვილების უნარი განაპირობებს ყველა იმ პროცესს, რომლებიც ნუკლეინის მჟავების მონაწილეობით მიმდინარეობს უჯრედში.



სურ. 2.23. რნმ-ის ორმაგი სპირალის შიგა მარყუჟები და დეფექტები

რნმ-ის მესამეული სტრუქტურა. ზოგიერთი ტიპის რნმ-ის მოლეკულა უფრო რთული ორგანიზაციით ხასიათდება. დადგენილია, რომ ფიზიოლოგიურ პირობებში რნმ-ის მეორეული სტრუქტურის ელემენტების ურთიერთქმედების შედეგად წარმოიქმნება კომპაქტური, მოწესრიგებული მესამეული სტრუქტურა:

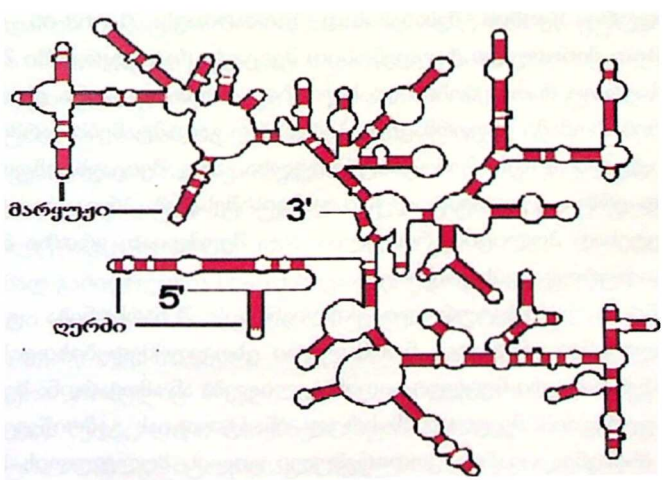
1. მეორეული სტრუქტურის ელემენტები ისეთნაირად ლაგდება, რომ უზრუნველყოფილ იქნეს ფუძეთა მაქსიმალური სტელაჟირება (სტეკინ-ურთიერთქმედებები);

2. მეორეული სტრუქტურის ელემენტებს შორის კავშირი მყარდება სპეციფიკური, ე. წ. მესამეული შიგამოლეკულური ურთიერთქმედების შედეგად. ეს, შესაძლოა, იყოს ერთმანეთისგან დაცილებულ ფუძეებს შორის წარმოქმნილი დამატებითი ნუკლეოტიდური წყვილები, რომლებიც, ხშირ შემთხვევაში, არ წარმოადგენს კანონიკურ, უოტსონ-კრიკის კომპლემენტურ წყვილებს; დამატებითი წყალბადური ბმების წარმოქმნა რიბოზას 2OH' და აზოტოვან ფუძეებს შორის და ა.შ.;

3. რნმ-ის მესამეული სტრუქტურის სტაბილიზება ორვალენტიანი მეტალების იონებით ხდება, რომლებიც უკავშირდებიან ფოსფატურ ჯგუფებსა და აზოტოვან ფუძეებს.

რნმ-ის მოლეკულების ტიპები

რიბოსომური რნმ. ნებისმიერ უჯრედში რნმ-ის შემცველობა 5-10-ჯერ აღემატება მასში დნმ-ის შემცველობას. უჯრედში შემავალი რნმ-ის უმთავრესი მასა, 70-80% რიბოსომურ რნმ-ზე (რ-რნმ) მოდის.



სურ. 2.24. რიბოსომური რნმ-ის (რ-რნმ) სტრუქტურა

რნმ-ის მოლეკულურ ტიპებს შორის ისინი ყველაზე დიდი ზომისაა. რიბოსომური რნმ მონაწილეობს რიბოსომის მოლეკულის შენებაში და ცილებთან ერთად რიბოსომის რთულ კომპლექსს წარმოქმნიან. პროკარიოტული რიბოსომის დიდი სუბერთეულის სტრუქტურის აგებაში 5S და 23S რ-რნმ-ის თითო ასლი მონაწილეობს, ხოლო მცირე სუბერთეული შეიცავს მხოლოდ ერთ მოლეკულა 16S რ-რნმ-ს. ევკარიოტული დიდი სუბერთეულის შედგენილობაში შედის სამი მოლეკულა რ-რნმ - 5S, 28S და 5,8S, ხოლო მცირე სუბერთეულის შედგენილობაში - ერთი მოლეკულა 18S რ-რნმ (იხ. თავი 5.8 - ტრანსლაცია). S (სვედბერგი) სიმბოლო სიმკვრივის გრადიენტში მოლეკულების დალექვის სიჩქარის კოეფიციენტს წარმოადგენს. რაც უფრო დიდია მოლეკულის მასა, მით მეტია სედიმენტაციის კოეფიციენტი.

რ-რნმ მოლეკულა სტაბილურია, რაც ცილის სინთეზის პროცესში რიბოსომების მრავალჯერად ფუნქციონირებას უზრუნველყოფს. რ-რნმ-ის სტრუქტურის სტაბილურობას ცილებთან მათი დაკავშირებაც აძლიერებს.

მესენჯერული რნმ (მ-რნმ). ამ მოლეკულებს ცილის შესახებ გენეტიკური ინფორმაცია მიაქვს სინთეზის ადგილას - რიბოსომებში, სადაც ცილის მოლეკულების აწყობას თავის სტრუქტურაში ჩაწერილი ნუკლეოტიდური წყობის შესაბამისად წარმართავს. მ-რნმ-ის უჯრედი შედარებით მინორული რაოდენობით შეიცავს, რაც უჯრედში შემავალი რნმ-ის საერთო რაოდენობის დაახლოებით 5%-ს შეადგენს. ისინი გენომიდან რიბოსომაში ინფორმაციის პირდაპირ გადამტანებს წარმოადგენს. ევკარიოტული მ-რნმ მონოცისტრონულია, ანუ შეიცავს ინფორმაციას მხოლოდ ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შესახებ. პროკარიოტული მ-რნმ უმეტესად პოლიცისტრონულია, ანუ შეუძლიათ ერთზე მეტი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის კოდირება.

მ-რნმ-ის სტრუქტურული მთლიანობის შენარჩუნება უაღრესად მნიშვნელოვანია უჯრედის ნორმალური ცხოველქმედებისთვის, ვინაიდან მის ნებისმიერი ნუკლეოტიდის ცვლილება ან ამოვარდნა შესაბამისი ცილის ფუნქციის შეცვლას ან სრულ ინაქტივაციას გამოიწვევს. ასევე, ძალიან მნიშვნელოვანია, კოდირებული ცილის მოლეკულის სინთეზი

დაიწყოს და დამთავრდეს სპეციფიკურ ინიციაციურ და ტერმინაციულ თანამიმდევრობებზე.

ევკარიოტულ უჯრედებში მ-რნმ-ზე ბუნების მიერ დაკისრებული ფუნქციის შესრულებისთვის მნიშვნელოვანია მ-რნმ-ის 5'-ბოლოზე კეპის (ინგლ. cap) სტრუქტურისა და 3' ბოლოზე - ე.წ. პოლიადენინის კუდის არსებობა (იხ. პროცესინგი). 5'-კეპი ხელს უწყობს ინფორმაციის ტრანსლაციის ინიციაციას, ხოლო პოლიადენინის კუდი მ-რნმ-ის სტრუქტურის სტაბილურობას უზრუნველყოფს. მ-რნმ-ის დეგრადაცია, ხშირად, სწორედ მისი დამოკლებით იწყება.

მ-რნმ-ის მოლეკულებს შედარებით მოკლე სიცოცხლის ხანგრძლივობა ახასიათებს. ისინი, ზოგჯერ, უჯრედში არააქტიურ მდგომარეობაში ინახება, მაგრამ გააქტიურებისთვის საგანგებო მზადყოფნაშია ცილის სინთეზისთვის საჭირო დროისათვის. მაგალითად, განაყოფიერების შემდეგ, კვერცხუჯრედში დაუყოვნებლივ და ძალიან აქტიურად იწყება ცილის სინთეზის პროცესი. ეს ფაქტი იმაზე მიუთითებს, რომ უჯრედში არსებობს რიბოსომები და კონკრეტული ცილის სინთეზისთვის აუცილებელი მ-რნმ-ის მოლეკულები.

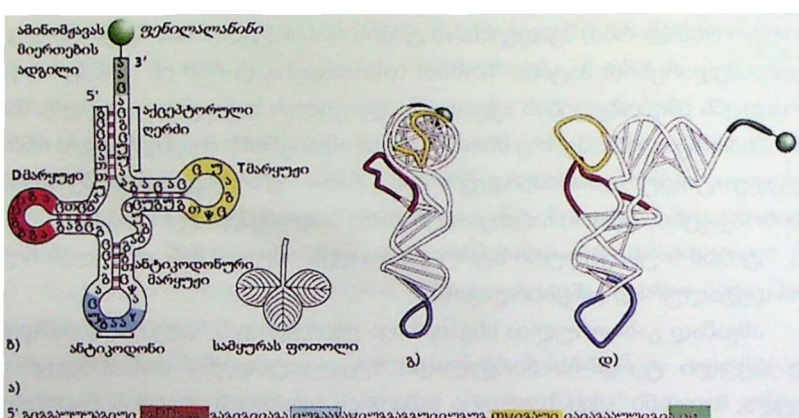
სატრანსპორტო რნმ. უჯრედის რნმ-ის დაახლოებით 15%-ს სატრანსპორტო რნმ (ტ-რნმ) შეადგენს. ამ ტიპის რიბონუკლეინის მჟავას მოლეკულები შედარებით პატარა ზომით ხასიათდება. ტ-რნმ-ის ფუნქციას წარმოადგენს ამინომჟავების აქტივაცია და ცილის სინთეზის ადგილას მათი ტრანსპორტირება. მეორე მხრივ, ტ-რნმ ამოიცნობს მესენჯერული რნმ-ის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რათა უზრუნველყოს შესაბამისი ამინომჟავების სწორი ჩართვა მშენებარე პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში.

ტ-რნმ-ს უნიკალური სტრუქტურა აქვს. ამიტომ მის აგებულებას უფრო დეტალურად განვიხილავთ.

ამჟამად გაშიფრულია სხვადასხვა უჯრედიდან მიღებული რამდენიმე ასეული ტ-რნმ-ის პირველადი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. ყველა მათგანს აქვს საერთო, სამყურას ფოთლის ფორმის მეორეული სტრუქტურა, რომელიც მოკლე, კომპლემენტური თანამიმდევრობების გაწყვილების შედეგად წარმოიქმნება (სურ. 2.25-ბ). ტ-რნმ-ის მეორეული სტრუქტურა ოთხი განშტოებისაგან შედგება, რომელთა სახელწოდებები მათი ფუნქციებიდან გამომდინარეობს. მათგან ერთ-ერთი - *აქცეპტო-*

რული შტო - ორი ჯაჭვისაგან შედგება და ერთჯაჭვიანი თანამიმდევრობით ბოლოვდება, რომელიც წარმოდგენილია ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით - *ცცა*. მის თავისუფალ ბოლოზე 2'/3'OH ჯგუფი ექვემდებარება ამინოაცილირებას. დანარჩენი სამი (ფსევდოურიდინის, დიჰიდროურიდინის და ანტიკოდონის) შტო ორჯაჭვიანია, რომელთა ბოლოზე გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდები მარყუჟებს წარმოქმნიან. ესენია:

- *ფსევდოურიდინის მარყუჟი* - TψC, სადაც ψ-ატიპური ფუძე ფსევდოურიდინია და სწორედ აქედან წარმოდგება მისი სახელწოდება;
- *ანტიკოდონური მარყუჟი,* რომლის ცენტრალურ ნაწილში ყოველთვის ანტიკოდონური თანამიმდევრობაა განლაგებული;
- *დიჰიდროურიდინის, ანუ* D-მარყუჟი, რომლშიც შედის დიჰიდროურიდინი (D).
- ტ-რნმ-ის სტრუქტურაში TψC მარყუჟსა და ანტიკოდონურ მარყუჟს შორის, ხშირად, განლაგებულია *დამატებითი მარყუჟი.* დამატებითი მარყუჟი შეიძლება იყოს მოკლე (3-5 ნუკლეოტიდით) და გრძელი (13-25 ნუკლეტიდით).



სურ. 2.25. ტ-რნმ-ის სტრუქტურა.
ა - პირველადი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა; ბ - მეორეული სტრუქტურა;
გ, დ - მესამეული სივრცობრივი (L) სტრუქტურა

სულ ტ–რნმ შეიცავს 74–დან 95–მდე ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას. ვარიაბელობას, ძირითადად, განაპირობებს D-მარყუჟი და დამატებითი მარყუჟი. როგორც წესი, მოლეკულის კომპლემენტური უბნები კონსერვატიული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისაგან შედგება და ეს უბნები უზრუნველყოფენ სტაბილურ მეორეულ სტრუქტურას. აქცეპტორულ ღერძში 7 ასეთი კომპლემენტური წყვილია. ΤψC ღერძში - 5, ანტიკოდონურ ღერძში - 5, ხოლო D ღერძში - 3 ან 4. ეს წყვილები, ძირითადად, კომპლემენტური *ა–უ* და *გ–ც* ნუკლეოტიდებითაა წარმოდგენილი, მაგრამ გვხვდება დამატებითი წყვილებიც: *გ–უ, გ–ψ, ა–ψ.* კანონიკური წყვილები უფრო სტაბილურია, ხოლო დამატებითი წყვილები განაპირობებენ რნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურის ჩამოყალიბებას.

ტ–რნმ–ის მოლეკულაში არის კონსერვატიული, ე.წ. ინვარიანტული უბნები, რომლებიც მუდმივია და არ იცვლება. არის, ასევე, ნახევრად კონსერვატიული ან ნახევრად ინვარიანტული უბნები, სადაც შეიძლება იყოს აზოტოვანი ფუძის მხოლოდ ერთი რომელიმე ტიპი - პურინული ან პირიმიდინული. ამასთან, არა აქვს მნიშვნელობა, დასახელებული ტიპის რომელი ნუკლეტიდი იქნება მის სტრუქტურაში.

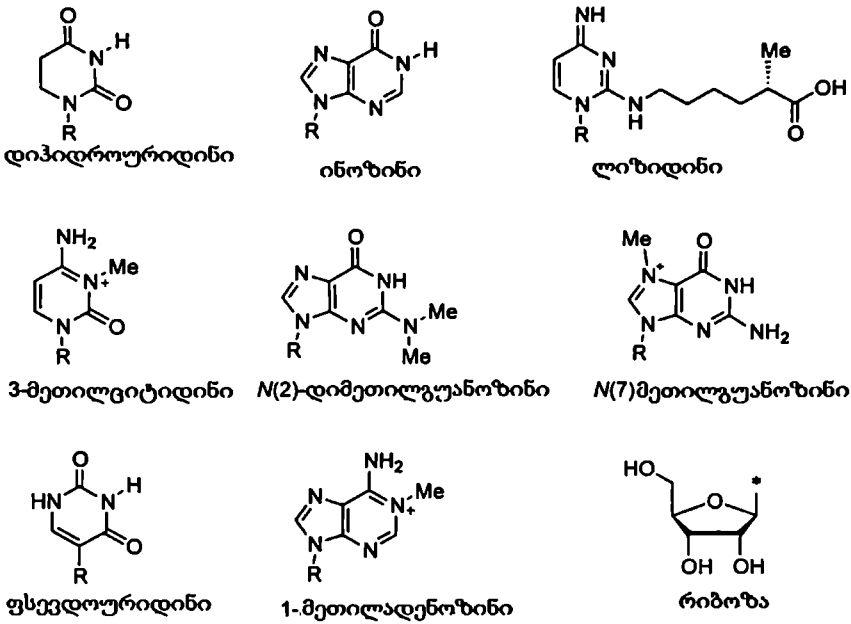
ტ-რნმ-ის ფუძეთა მოდიფიკაციები. რნმ–ის სხვა ტიპებისაგან განსხვავებით, ტ-რნმ-ის ერთ-ერთ დამახასიათებელ თავისებურებას წამოადგენს მის სტრუქტურაში არასტანდარტული ფუძეების არსებობა. არასტანდარტულად ან არაჩვეულებრივად ითვლება ნებისმიერი პურინული თუ პირიმიდინული რგოლი, ტიპური აზოტოვანი ფუძეების - *ა, გ, ც, უ* - გარდა. ნებისმიერი არასტანდარტული ფუძე ამ ოთხი ძირითადი ფუძის მოდიფიკაციით მიიღება. ისინი მოდიფიცირებას მხოლოდ პოლირიბონუკლეოტიდურ ჯაჭვში ჩართვის შემდეგ განიცდის. მართალია, მოდიფიცირებული ფუძეები რნმ-ის სხვა მოლეკულურ ტიპებშიც არის ნაპოვნი, მაგრამ ეს ცვლილებები, ძირითადად, მეთილირების მარტივი რეაქციებით შემოიფარგლება. ტ-რნმ-ის მოლეკულებში კი საქმე გვაქვს სხვადასხვა სირთულის ცვლილებებთან - მეთილირებით დაწყებული, პურინული რგოლების რთული გარდაქმნებით დამთავრებული. მოდიფიცირებული ფუძეების მრავალფეროვნება განაპირობებს ტ-რნმ-ის მოლეკულების სტრუქტურულ და ფუნქციურ მრავალფეროვნებას.

ტ-რნმ-ის მოდიფიკაციებს იწვევს, როგორც პირიმიდინული (ც,უ), ისე პურინული (ა,გ) რგოლების გარდაქმნები. ამასთან, პურინული რგოლები უფრო რთულ გარდაქმნებს განიცდის და, ხშირად, კომპლემენტური წყვილების შეცვლასაც კი განაპირობებს. შედარებით მარტივ და ხშირ ცვლილებებს განიცდის ურიდინი. მისი მოლეკულის რგოლის მეხუთე პოზიციაში მეთილირების შედეგად წარმოიქმნება რიბოთიმიდინი. მსგავსი მოდიფიკაცია გვხვდება დნმ-ის მოლეკულაშიც, მაგრამ რნმ-ში თიმინი არასტანდარტული ფუძეა და რიბოზის რგოლთან ამყარებს კავშირს, რაც ნუკლეინის მჟავებისათვის არატიპური შემთხვევაა. ტ-რნმ-ის სტრუქტურაში არსებული დიჰიდროურიდინის მოლეკულაში არის გაჯერებული ორმაგი ბმა, რომელიც ცვლის რგოლის სტრუქტურას, ხოლო ფსევდოურიდინში (ψ) რგოლი ისეა შებრუნებული, რომ N- და C-ატომები ერთმანეთს ადგილს უცვლის.

ციტიდინის მოდიფიკაციები ძირითადად მის მეთილირებაში გამოიხატება. ადენინის დეზამინირებით მიიღება ინოზინი. აღსანიშნავია, რომ ინოზინი უჯრედში პურინების ბიოსინთეზის შუალედურ პროდუქტს წარმოადგენს, მაგრამ ის, როგორც წესი, პირდაპირ არ ერთვება ტ-რნმ-ის სტრუქტურაში. გუანინის მოდიფიკაციებიდან ტ-რნმ-ის მოლეკულაში გვხვდება ქვეუოზინი, რომელიც დამატებით პენტოზურ რგოლს წარმოადგენს და ვიოზინი, რომელიც შეიცავს დამატებით რგოლს და გრძელ ნახშირწყლოვან ჯაჭვს.

სულ ტ-რნმ-ის მოლეკულაში დაფიქსირებულია 40–მდე სხვადასხვა სახის მოდიფიკაცია, რომლებიც ფაქტობრივად ნებისმიერ მარყუჟში შეიძლება განხორციელდეს. თუ ცვლილება ანტიკოდონში ხდება, გასაგებია, რომ ის გავლენას მოახდენს კოდონ–ანტიკოდონის ამოცნობაზე. ფიქრობენ, რომ ამ ურთიერთქმედებაზე ასეთივე ზეგავლენას ახდენს ანტიკოდონის მახლობლად მომხდარი მოდიფიკაციებიც.

2.26-ე სურათზე წარმოდგენილია ფუძეთა მოდიფიკაციის რამდენიმე მაგალითი:



სურ. 2.26. აზოტოვანი ფუძეების მოდიფიკაციის მაგალითები

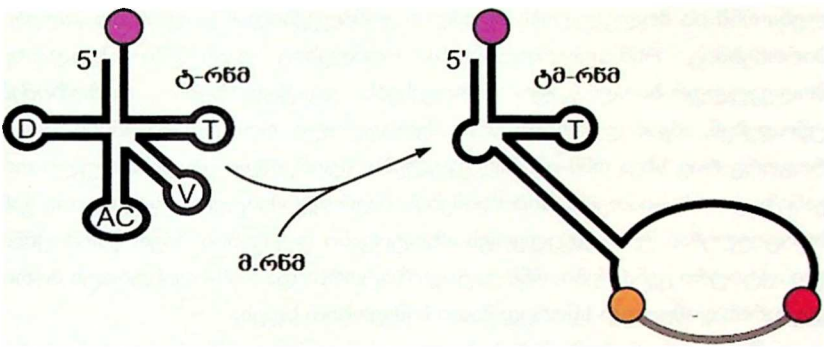
ტ-რნმ-ის მესამეული სტრუქტურა. სამყურას ფოთლის ფორმა, ტ-რნმ-ის მეორეულ სტრუქტურას წარმოადგენს, მაგრამ ამ მოლეკულებს აქვთ გაცილებით კომპაქტური სტრუქტურა მესამეული სივრცითი ორგანიზაციის სახით (სურ. 2.25-გ,დ). არსებული მონაცემებით, მესამეული სტრუქტურის ჩამოყალიბება „სამყურას ფოთლის“ მიმოკეცვით მიიღება. მასში შენარჩუნებულია მეორეული სტრუქტურის ორჯაჭვიანი უბნები, მაგრამ ისინი სივრცეში ისეთნაირად არიან განთავსებული, რომ ყალიბდება ერთმანეთის მიმართ მართი კუთხით განლაგებული ორი ორმაგი სპირალი. აქცეპტორული და TψC ღერძი წარმოქმნის ერთ სპირალს, ხოლო ანტიკოდონური და D-ღერძი - მეორეს. ტ-რნმ-ის მესამეული სტრუქტურა ლათინური L ასოს მოგვაგონებს, რის გამოც მას L-სტრუქტურასაც უწოდებენ. ამ სტრუქტურის ერთ ბოლოზე აქცეპტორული უბანია, რომელზეც ამინომჟავას მიმაგრება ხდება, ხოლო მეორე ბოლოზე - ანტიკო-

დონური მარყუჟი. TψC და D-მარყუჟები ექცევა L-სტრუქტურის ნაკეცში. მესამეული სტრუქტურის წარმოქმნაში მონაწილეობას იღებს დამატებითი წყალბადური ბმები.

იმისათვის, რომ განასხვაონ ტ-რნმ-ის მოლეკულის მეორეულ და მესამეულ სტრუქტურაში მონაწილე წყალბადური ბმები, მათ მეორეულ და მესამეულ წყალბადურ ბმებს უწოდებენ, იმისდა მიხედვით, თუ რომელი სტრუქტურის ჩამოყალიბებას განაპირობებენ. მესამეული წყალბადური ბმების ჩამოყალიბებაში მონაწილეობს ბევრი კონსერვატიული და ნახევრადკონსერვატიული აზოტოვანი ფუძე. როგორც ვხედავთ, ტ-რნმ-ის მესამეული სტრუქტურა ისეთნაირად არის აწყობილი, რომ მოლეკულამ შეძლოს ბუნების მიერ მასზე დაკისრებული ფუნქციების შესრულება. ამინომჟავა ანტიკოდონისაგან სივრცობრივად მაქსიმალურად დაცილებულ მდგომარეობაში იმყოფება. ეს კარგად ესადაგება ცილის სინთეზის პროცესს რიბოსომაში, როცა ამინოაცილური ჯგუფი რიბოსომის დიდ სუბერთეულშია განლაგებული, ხოლო ანტიკოდონსა და მ.რნმ–ის შორის ურთიერთქმედება მცირე სუბერთეულში ხდება. L-სტრუქტურის ნაკეცში მოქცეული TψC მარყუჟი აკონტროლებს მესამეული სტრუქტურის ცვლილებებს. ამრიგად, ტ.რნმ-ის სივრცულ სტრუქტურაში, ცილის მოლეკულის მსგავსად, ყალიბდება დომენები, რომლებიც ემსახურება ტ-რნმ-ის მიერ სხვადასხვა ფუნქციის შესრულებას.

რიბონუკლეოპროტეინული ნაწილაკები. ცოცხალი უჯრედების ბირთვში, ციტოპლაზმასა და მიტოქონდრიებში ნაპოვნია სტაბილური, მცირე ზომის რნმ-ის მოლეკულები. ისინი, ჩვეულებრივ, ცილის მოლეკულებთან წარმოქმნის კომპლექსს და რიბონუკლეოპროტეინული RNP (ინგლ. Ribonucleotid Protein) ნაწილაკების სახით ფუნქციონირებს. მათი როლი უჯრედის ცხოველქმედების პროცესებში ბოლომდე გარკვეული არ არის. ცნობილია, რომ RNP ნაწილაკები მონაწილეობს რნმ-ის მოლეკულების პოსტრანსკრიფციულ გარდაქმნებში (პროცესინგი), რნმ-ის ტრანსპორტირებასა და გენეტიკური ინფორმაციის ტრანსლაციის კონტროლში. შედარებით უკეთ ზოგიერთი მცირე ბირთვული რნმ არის შესწავლილი, რომელთა ფუნქციებს უფრო დეტალურად კონკრეტული მოლეკულური პროცესების განხილვისას გავეცნობით.

სატრანსპორტო-მესენჯერული რნმ (ტმ-რნმ). რნმ-ის ეს ფორმა ნაპოვნია ამჟამად შესწავლილ ყველა ბაქტერიულ გენომში. ის უჯრედში ორმაგ ფუნქციას ასრულებს: შეუძლია ამინომჟავას გადატანა რიბოსომაში, ცილის სინთეზის ადგილას და, ამავდროულად, შეუძლია, შეასრულოს მატრიცის ფუნქცია მოკლე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზისათვის. მის სტრუქტურაში 5'-ბოლო, ტ-რნმ-ის მსგავსად, ხაზოვანია და სტრუქტურაში აქვს სარჭი (სურ. 2.27).



სურ. 2.27. ტ-რნმ-ისა და ტმ-რნმ-ის სტრუქტურა.
T,D,V და AC - გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდების მარყუჟები სტრუქტურაში

რიბოზიმები

მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში *თომას ჩეკისა* და *სიდნეი ალტმანის* მიერ დადგენილ იქნა, რომ რნმ-ის მოლეკულებს შეუძლიათ ნუკლეინის მჟავებისათვის თითქოს უჩვეულო, ფერმენტული კატალიზის ფუნქციის შესრულება. ამ აღმოჩენამდე ბიოლოგიურ მეცნიერებაში საკმაოდ მტკიცედ იყო დამკვიდრებული აზრი, რომ ფერმენტული აქტივობა აქვს მხოლოდ ცილის მოლეკულებს. ცილისა და ფერმენტის გაგების იდენტურობას საფუძვლად ედო მოსაზრება იმის შესახებ, რომ მხოლოდ ცილის მოლეკულებს ახასიათებს მაღალი ხარისხის მოქნილობა, რაც განაპირობებს ბიოქიმიური რეაქციების წარმართვისათვის აუცილებელი აქტიური ცენტრების წარმოქმნის უნარს. აღმოჩნდა, რომ ინფუზორია *Tetrahymena thermophila*-ას რ.რნმ-ის მოლეკულების ფორმირებისას, რნმ-

ის მოლეკულას თავად შეუძლია ავტოკატალიზის გზით მოახდინოს ზედმეტი თანამიმდევრობების მოცილება. მოგვიანებით, აღმოჩენილი იქნა კიდევ უფრო რთული რნმ-კატალიზური სისტემები. *1989 წელს თომას ჩეკმა და სიდნეი ალტმანმა „რნმ-ის კატალიზური თვისებების აღმოჩენისთვის“ ნობელის პრემია მიიღეს ქიმიაში.*

გამოკვლევებით დადგინდა, რომ რიგ შემთხვევებში, კატალიზურად აქტიურ სუბერთეულს ნუკლეოპროტეინული ნაწილაკის რნმ-კომპონენტი წარმოადგენს. სხვა შემთხვევაში, კატალიზური აქტივობის შესრულება რნმ-ის მოლეკულებს შეუძლია კომპლექსიდან ცილის მოცილების პირობებშიც. რნმ-სუბერთეულებს, რომლებიც უჯრედში სხვადასხვა მოლეკულურ-ბიოლოგიურ პროცესებს აკატალიზებს, *რიბოზიმებს* უწოდებენ. ამჟამად კარგად არის შესწავლილი, რომ რიბოზიმებს, ისევე, როგორც რიგ სხვა რნმ-ის მოლეკულებს, მეორეული და მესამეული ორგანიზაცია ახასიათებს. რიბოზიმების მიერ ფერმენტული ფუნქციის განხორციელებას უზრუნველყოფს აზოტოვანი ფუძეების მიერ წარმოქმნილი აქტიური ცენტრები. რნმ-კატალიზატორსა და რნმ-სუბსტრატს შორის კავშირის დამყარება სწორედ მათი მეშვეობით ხდება.

ცნობილია რიბოზიმების ხუთი კლასი. მათგან სამი ტიპის რიბოზიმები მონაწილეობს თვითპროცესინგის რეაქციებში, ხოლო ორი ტიპის რიბოზიმები - ჭეშმარიტი კატალიზატორებია, რომლებიც მხოლოდ სპეციფიკურ სუბსტრატებზე მოქმედებს.

ამ მონაცემებს უდავოდ დიდი მნიშვნელობა აქვს, არა მარტო კონკრეტული მოლეკულური მექანიზმების შესწავლის თვალსაზრისით, არამედ ცოცხალი სამყაროს ევოლუციური განვითარების არსში წვდომისთვისაც. რნმ-ის კატალიზის უნარის აღმოჩენამ მნიშვნელოვნად შეცვალა წარმოდგენები ბიოქიმიური ევოლუციის შესახებ. თანამედროვე ცოცხალ უჯრედში რნმ-ის მოლეკულების გარდაქმნების (სპლაისინგის) რეაქციებში კატალიზის ფუნქციის მქონე 2'OH ჯგუფი მონაწილეობს, რომელიც დნმ-ის მოლეკულაში ნაპოვნი არ არის. ამდენად, ფიქრობენ, რომ თავდაპირველად უჯრედში მხოლოდ რნმ-ის მოლეკულები იყო. როგორც ჩანს, ეს მოლეკულები არ იყო სტაბილური და ცილის მოლეკულებმა განაპირობა მათი მდგრადობა. მოგვიანებით, თავისი მრავალფეროვანი თვისებების საფუძველზე, ცილის მოლეკულებმა ბიოლოგიუ-

რი კატალიზის უნარიც შეიძინა. ყოველივე ამან უზრუნველყო გენის ექსპრესიის აპარატის თანამედროვე სახით ჩამოყალიბება. აღნიშნული მოსაზრებებიდან გამომდინარე, პირველი ცოცხალი ორგანიზმების გენეტიკური აპარატი მთლიანად ეფუძნებოდა რნმ-ის მოლეკულებს, ხოლო დნმ-ის და ცილის მოლეკულები მოგვიანებით ჩამოყალიბდა. ამ კონცეფციას ხშირად „რნმ-ის სამყაროს“ უწოდებენ.

თავი 3. გენომის სტრუქტურა და ორგანიზაცია

3.1. გენომიკა

ტერმინი *გენომი* ბიოლოგიურ მეცნიერებაში შემოტანილ იქნა 1920 წელს *ჰანს ვინკლერის (Hans Winkler)* მიერ კონკრეტული სახეობის ქრომოსომების ჰაპლოიდური კრებულის გენეტიკური მასალის აღსანიშნავად. თანამედროვე გაგებით, გენომში ზოგჯერ სახეობის უჯრედის მთელ გენეტიკურ მასალას (დნმ) მოიაზრებენ - არაქრომოსომური ელემენტების ჩათვლით.

ცოცხალი მატერიის ორგანიზაციის სხვადასხვა დონეზე გენომი განსხვავებულად არის ორგანიზებული:

ვირუსებში გენომის მთელი გენეტიკური მასალა წარმოდგენილია დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულების სახით;

პროკარიოტებში გენეტიკური ინფორმაცია ციტოპლაზმაშია თავმოყრილი დნმ-ის მოლეკულების სახით;

ევკარიოტებში გენომი ორგანიზებულია ქრომოსომური აპარატის სახით.

სხვადასხვა ორგანიზაციული დონის სახეობების გენომებს მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთი მიმართულება - გენომიკა შეისწავლის. ეს დარგი 1980-1990 წ.წ. ჩამოყალიბდა, როცა მეცნიერებმა გენომის სექვენირების პირველი პროექტების განხორციელება დაიწყეს. პირველად გაშიფრულ იქნა ფაგ Φ-X174-ის 5 368 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი გენომი. მოგვიანებით, ბაქტერიის, საფუვრების, დროზოფილასა და რამდენიმე - უფრო მაღალი ორგანიზაციის სახეობების გენომების შესწავლა დაიწყო. ყველაზე ფართომასშტაბიან პროექტს ამ მიმართულებით - პროექტი „ადამიანის გენომი“ წარმოადგენს, რომლის განხორციელებაში მონაწილეობა მიიღეს მსოფლიოს წამყვანი ლაბორატორიების მეცნიერებმა. პროექტის პირველი მონაცემები გამოქვეყნდა 2001 წელს. 2007 წელს *კრეიგ ვენტერის* (*Craig Venter)* ჯგუფმა წარმოადგინა ადამიანის ექვსმილიარდიანი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის სექვენირების შედეგები.

ამჟამად დაწყებულია და მიმდინარეობს მიღებული შედეგების ინტერპრეტაციის სამუშაოები. მეცნიერები ფიქრობენ, რომ ადამიანის

გენომის დეტალური შესწავლა პერსპექტიულია მედიცინასა და ბიოტექნოლოგიაში პრაქტიკული გამოყენებისთვის. უკვე შეიქმნა ძუძუს კიბოს, სისხლის შედედების, კისტოზური ფიბროზის, ღვიძლის დაავადებების მიმართ წინასწარგანპირობებულობის მარტივი სადიაგნოსტიკო გენეტიკური ტესტები. მოელიან, რომ ინფორმაცია ადამიანის გენომის შესახებ შესაძლებელს გახდის, ნაპოვნი იქნეს კიბოს, ალცჰეიმერის და სხვა დაავადებათა გამომწვევი გენური მიზეზები, რაც მათი ეფექტური მკურნალობის საფუძველი უნდა გახდეს.

პარალელურად, მიმდინარეობს სამუშაოები სხვადასხვა სახეობის ორგანიზმების გენომების შესწავლის მიზნით. სექვენირების ახალი თაობის მეთოდები საშუალებას იძლევა, ექსპერიმენტები გაცილებით სწრაფად და მარტივად ჩატარდეს. ეს მეთოდები არა მარტო ექსპრესირებადი, არამედ გენომის რეგულატორული და სხვა არაექსპრესირებადი უბნების კარტირების საშუალებასაც იძლევა.

3.2. ვირუსული გენომი

ვირუსები სიცოცხლის არაუჯრედული ფორმებია, რომელებიც ცხოველქმედების უნარს მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში ამჟღავნებენ. მათ არ გააჩნიათ ენერგეტიკული ცვლის აპარატი და არც ცილის სინთეზი შეუძლიათ დამოუკიდებლად. ისინი ინფექციურ აგენტებს წარმოადგენენ და შეუძლიათ, დააზიანონ ნებისმიერი ტიპის ცოცხალი ორგანიზმი - მცენარეები, ცხოველები, ბაქტერიები. ვირუსებს, რომლებიც ბაქტერიებში პარაზიტობენ, ბაქტერიოფაგებს უწოდებენ. როცა ვირუსი ცოცხალ უჯრედში მოხვდება, ამ უკანასკნელის ნივთიერებათა ცვლა ისეთნაირად გარდაიქმნება, რომ იწყება ახალი ვირუსისათვის საჭირო ნივთიერებათა სინთეზი. ვირუსები რეპროდუქციისთვის მასპინძელი უჯრედის ბიოქიმიურ აპარატს იყენებენ.

ვირუსული ნაწილაკების (ვირიონები) გენეტიკური მასალა დაფარულია ცილოვანი კაფსიდით, რომელიც იცავს ფერმენტული ან მექანიკური დაზიანებისაგან. ზოგჯერ კაფსიდა დამატებით გარშემორტყმულია ლიპიდური გარსით. სურ. 3.1-ზე მოცემულია ზოგიერთი სახის ვირუსის

ორგანიზაცია. ვირუსების გენეტიკურ მასალას დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულები წარმოადგენს. შესაძლოა, მათი გენომი შეიცავდეს ორივე ტიპის ნუკლეინის მჟავას. ვირუსების გენომში გვხვდება ერთჯაჭვიანი ან ორჯაჭვიანი ნუკლეინის მჟავები. მათ შეიძლება ჰქონდეთ წრფივი სტრუქტურა ან რგოლის ფორმა. არის ვირუსები, რომელთაც ფრაგმენტირებული - რამდენიმე ნუკლეინის მჟავასაგან შემდგარი გენომი აქვთ. ვირუსული გენომის დნმ-ის ფორმების შესაძლო ნაირგვაროვნება მოცემულია №1 ცხრილში.

ცხრილი 1.

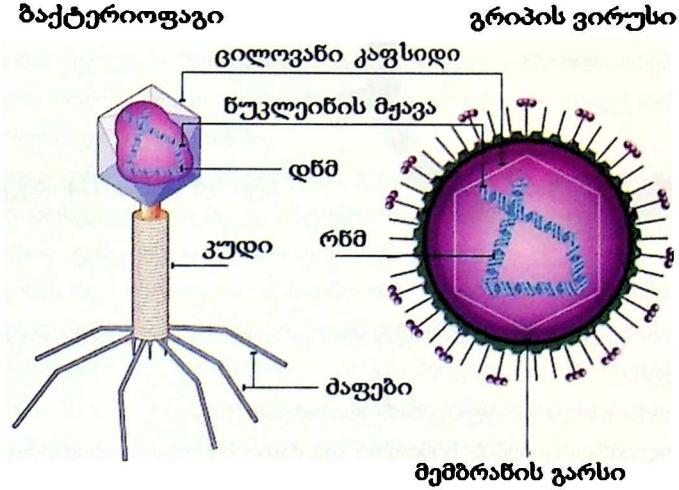
დნმ-შემცველი ვირუსების გენომის მრავალფეროვნება

დნმ-შემცველი ვირუსები	დნმ- შემცველი ვირუსების გენომი
მაიმუნის ვირუსი SV40; პაპილოვირუსი	წრიული ორჯაჭვიანი დნმ
ბაქტერიოფაგი M13; ლობიოს ოქროსფერი მოზაიკური ვირუსი	ერთჯაჭვიანი წრიული დნმ
ბაქტერიოფაგი-T4; ადამიანის და ძუძუმწოვრების ადენოვირუსი; ყვავილის და ჰერპესის ვირუსები	წრფივი ორჯაჭვიანი დნმ
ადამიანის ადენოვირუსების თანამგზავრები	წრფივი ერთჯაჭვიანი დნმ
B-ჰეპატიტის ვირუსი; ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკური ვირუსი	ორჯაჭვიანი დნმ-ის შეკრული რგოლი გადაფარვადი სეგმენტებით

აღსანიშნავია, რომ ვირუსულ გენომში ორჯაჭვიანი დნმ-ის არსებობის შემთხვევაში ორივე ატარებს გენეტიკურ ინფორმაციას. გენომის ერთ ნაწილში ერთი ჯაჭვი ტრანსკრიბირდება, ხოლო მეორე ნაწილში - მეორე.

ერთჯაჭვიანი დნმ-ის ან რნმ-ის შემცველი ვირუსების გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის დროს, მათზე მიშენდება დნმ-ის ან რნმ-ის მეორე ჯაჭვი, რომელიც შემდეგში მატრიცის როლს ასრულებს ვირუსის

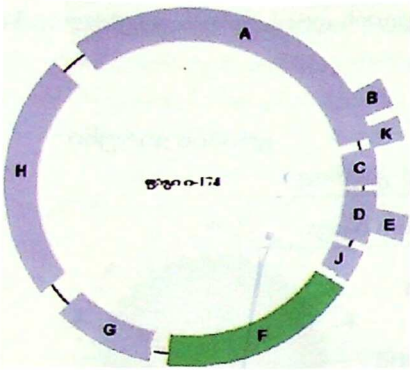
ახალი დნმ-ის ან რნმ-ის წარმოქმნისათვის. ინფორმაციის მატარებელ ჯაჭვს „+“ ჯაჭვი ეწოდება, რეპლიკაციის დროს ჩამოყალიბებულ ჯაჭვს - „-“ ჯაჭვი.



სურ. 3.1. ბაქტერიოფაგისა და გრიპის ვირუსის აგებულება

როგორც წესი, ვირუსული გენომი გენების შედარებით მცირე რიცხვს შეიცავს. მაგალითად, ონკოგენური ვირუსების გენომში სულ 4-5 გენია, რომელთაგან უშუალოდ ავთვისებიანი ზრდის ინდუქციაში მონაწილეობს ერთი ან ორი გენი. ვირუსული გენომისთვის ერთ-ერთ დამახასიათებელ თავისებურებას კომპაქტურობა წარმოადგენს. მაგალითად, ფაგი ფ გენომში ერთი გენის ფარგლებში მეორე გენია განლაგებული. კერძოდ, B გენი შეიძლება იყოს A გენის, ხოლო E გენი - D გენის საზღვრებში (სურ.3.2).

ვირუსული გენომის უმეტესი წილი (95%) წარმოდგენილია სტრუქტურული გენებით, რომლებიც ცილებს აკოდირებენ, ხოლო დანარჩენი ნაწილი რეგულატორული თანამიმდევრობებია.



სურ. 3.2. ფაგი ფ-174-ის გენომი

ევკარიოტების ვირუსების გენომის ორგანიზაციის მახასიათებლებს წარმოადგენს:

- გენების ინტრონულ-ეგზონური ორგანიზაცია;
- პოლიპროტეინების სინთეზი და მათი შემდგომი მოდიფიკაციები. ჯერ ვირუსის მთელი გენომი ერთი მ-რნმ-ის მოლეკულის სახით ტრანსკრიბირდება, რომელიც ერთი გიგანტური ცილის მატრიცს წარმოადგენს. მასზე სინთეზირდება ინერტული ცილა პოლიპროტეინი, რომელიც შემდეგ იშლება ცალკეულ ფუნქციურ ცილად;
- გენების გადაფარვადობა (ნუკლეოტიდების ერთი და იგივე თანამიმდევრობა აკოდირებს სხვადასხვა მ-რნმ-ის და, შესაბამისად, პოლიპეპტიდის სინთეზს). მაგალითად, SV40-სა და გრიპის ვირუსის შემთხვევაში.

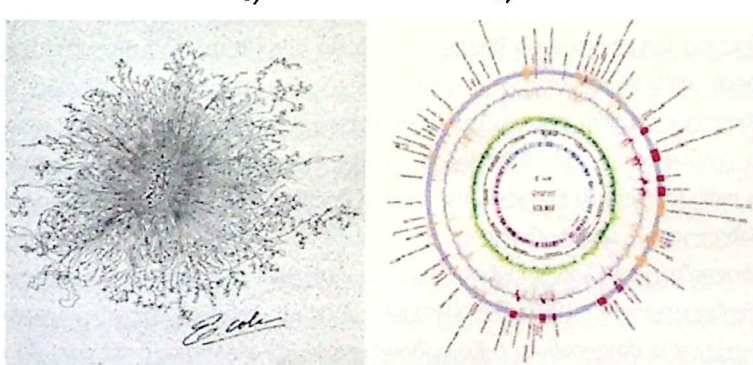
რეპლიკაციის პროცესის პირველ ეტაპზე ვირუსის გენეტიკური მასალა მასპინძელ უჯრედში შეაღწევს. ამ დროს ვირუსის გარსი გარეთ რჩება ან ვირიონი მას კარგავს უჯრედში შეღწევისთანავე. უჯრედში შეჭრილი ვირუსის დნმ ტრანსკრიბირდება მ-რნმ-ის სახით, რომელიც მიემართება უჯრედის რიბოსომებისაკენ. აქ ეს უკანასკნელი ცვლის უჯრედული რნმ-ის „გზავნილს“ ვირუსული ინფორმაციით და მიმდინა-

რეობს ვირუსული ცილების სინთეზი. ამ პროცესების შედეგად, მასპინძელი უჯრედი მთლიანად იშლება ან ნაწილობრივ ზიანდება.

გამრავლებისთვის შესაფერის უჯრედს ვირუსი სპეციფიკური მექანიზმით პოულობს. თავისი კაფსიდის ცალკეული უბნებით ის მასპინძელი უჯრედის რეცეპტორებს „ბოქლომ-გასაღების“ პრინციპით უკავშირდება. უჯრედის ზედაპირზე ასეთი რეცეპტორების არარსებობა მიუთითებს, რომ უჯრედი არამგრძნობიარეა ვირუსული ინფექციის მიმართ და ვირუსი ვერ შედის მასში.

რიგი დნმ-შემცველი ვირუსის გენეტიკური მასალა მასპინძელ უჯრედში მოხვედრის შემდეგ ინტეგრირდება მის დნმ-თან. მისი გენომი უჯრედის გენეტიკური აპარატის შემადგენელი ხდება და უჯრედის გაყოფისას რეპლიცირდება მის დნმ-თან ერთად. ზოგიერთ რნმ-შემცველ ვირუსს თავად შეუძლია შეასრულოს მ-რნმ-ის ფუნქცია, მაგრამ მხოლოდ იმ შემთხვევაში, როცა ვირუსი „+“ ჯაჭვს შეიცავს. „-“ რნმ-ის შემცველ ვირუსებში, ეს უკანასკნელი ჯერ „+“ ჯაჭვზე უნდა გადაიწეროს, მხოლოდ ამის შემდეგ არის შესაძლებელი მისი რეპლიცირება.

ა) ბ)



სურ. 3.3. *E.cili*-ს ქრომოსომა (ა) და გენომის სტრუქტურა(ბ)

რეტროვირუსების შემთხვევაში, ჯერ რნმ-ზე დნმ სინთეზი ხდება, რომელიც ინტეგრირდება მასპინძლის დნმ-ში. ამ პროცესებს ფერმენტი

უკუტრანსკრიფტაზა აკატალიზებს. შემდეგ ამ დნმ-ის მატრიცაზე ტრანსკრიბირდება ახალი ვირუსული რნმ, რომელიც ვირუსული ცილების სინთეზს უზრუნველყოფს.

3.3. პროკარიოტული გენომი

პროკარიოტები (ძვ. ბერძ. Προ-წინ, κάρυον-ბირთვი) უმარტივესი ერთუჯრედიანი ცოცხალი ორგანიზმებია, რომელთაც დამოუკიდებელი ცხოველქმედების უნარი აქვთ. პროკარიოტებს მიეკუთვნება ბაქტერიები, ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეები და არქეები. ამ უმარტივეს ორგანიზმებს არ გააჩნიათ ჩამოყალიბებული, მემბრანით შემოსაზღვრული ბირთვი და რიგი ორგანელები. ბირთვის ფუნქციას აქ ნუკლეოიდი - ბირთვის მსგავსი სტრუქტურა ასრულებს. ზოგიერთ ბაქტერიაში მიტოქონდრიების ფუნქციას - მეზოსომები (პლაზმური მემბრანის ნაოჭები).

პროკარიოტული ორგანიზმებიდან ყველაზე კარგად *E.coli*-ს (ნაწლავის ჩხირი) გენეტიკური სტრუქტურაა შესწავლილი. ბაქტერიული გენომის მთავარ კომპონენტს ე.წ. „ბაქტერიული“ ქრომოსომა წარმოადგენს, რომელიც ნუკლეოიდის შედგენილობაში შედის და გარკვეული წერტილებით მეზოსომასთანაა მიმაგრებული. ნუკელეოიდს ციტოპლაზმის დაახლოებით 30% უკავია და მორფოლოგიურად ყვავილოვანი კომბოსტოს თანაყვავილედს ჩამოჰგავს. „ბაქტერიული ქრომოსომა“ წარმოადგენს ორსპირალიან რგოლს, რომელიც მეორეული სპირალის სახით არის გადახვეული. „ბაქტერიული ქრომოსომის“ მეორეული სტრუქტურის სტაბილიზაციას ჰისტონების მსგავსი ცილები და რნმ-ის მოლეკულები უზრუნველყოფს. 1997 წლისათვის *E.coli*-ს დნმ-ის ნუკლეოტიდური სტრუქტურა მთლიანად იქნა გაშიფრული. დადგინდა, რომ იგი შეიცავს 4,7 მლნ ნუკლეოტიდურ წყვილს (სურ. 3.3).

მეზოსომასთან ქრომოსომის მიმაგრების წერტილი წარმოადგენს რეპლიკაციის საწყის წერტილს. ამ წერტილიდან რეპლიკაცია ორი, ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით მიმდინარეობს და ტერმინა-

ციულ საიტში სრულდება. უჯრედის გაყოფის შემდეგ ბაქტერიული ქრომოსომები გადანაწილდება შვილისეულ უჯრედებში.

ბაქტერიული გენომის ძირითად ნაწილს სტრუქტურული გენები შეადგენს. ისინი ცილებს, რ-რნმ-ს და ტ-რნმ-ს აკოდირებს. რეგულატორული თანამიმდევრობები შედარებით ცოტაა. სტრუქტურული გენები დაჯგუფებულია ტრანსკრიფციის ერთეულებად - ოპერონებად, რომლებიც ერთად ტრანსკრიბირდებიან.

მართალია, გენომის ცნებაში ძირითადად ქრომოსომის სტრუქტურაში შემავალი დნმ-ის მოლეკულა მოიაზრება, მაგრამ ბაქტერიულ უჯრედში გვხვდება გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი დამატებითი სტრუქტურებიც, რომელთაც *პლაზმიდებს* უწოდებენ. პლაზმიდები ორჯაჭვიანი დნმ-ის წრიულ მოლეკულებია. მათი გენები ბაქტერიებისათვის დამახასიათებელ ზოგიერთ უმნიშვნელოვანეს თვისებას განაპირობებს, მაგალითად, ანტიბიოტიკებისა და სპეციფიკური ტოქსინების ჩამოყალიბებაში მონაწილე მძიმე მეტალებისადმი გამძლეობას. არსებობს მინიპლაზმიდები, რომლებიც სულ ორი ცილის მოლეკულის სინთეზს განსაზღვრავს და მეგაპლაზმიდები, რომელთა სიგრძე მილიონობით ნუკლეოტიდურ წყვილს შეადგენს და მხოლოდ რამდენადმე ნაკლებია თავად ბაქტერიულ ქრომოსომასთან შედარებით.

ზოგიერთი პლაზმიდა მხოლოდ ერთი ასლის სახით არსებობს, ზოგი კი მრავალი ასლით არის წარმოდგენილი. ერთი და იგივე პლაზმიდა შეიძლება ჩაერთოს ქრომოსომაში ან ამოვარდეს მისი სტრუქტურიდან. ბაქტერულ უჯრედში პლაზმიდები შეიძლება ავტონომიურად არსებობდეს, მიმაგრებული იყოს მეზოსომასთან ან ინტეგრირებული იყოს ქრომოსომაში.

პლაზმიდებს, რომლებსაც დამოუკიდებელი ფუნქციონირების უნარიც აქვს და ბაქტერიული ქრომოსომის სტრუქტურაში ჩართვაც შეუძლია, ზოგჯერ *ეპისომებს* უწოდებენ. ეპისომები (F-ფაქტორი) მონაწილეობს ბაქტერიების კონიუგაციის პროცესში, წარმოადგენს ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის (R-პლაზმიდა) და კოლიცინოგენობის ფაქტორებს (Col-ფაქტორი).

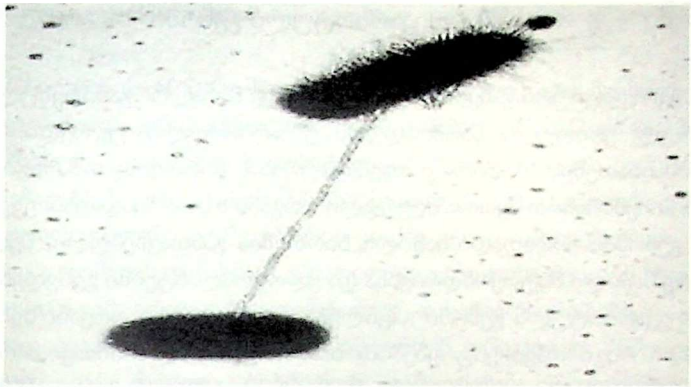
კონიუგაცია არის ერთი ბაქტერიული უჯრედიდან მეორეში გენეტიკური მასალის გადატანის პროცესი. კონიუგაციის მოვლენა 1946 წელს *ჯოშუა ლედენბერგის და ედუარდ ტატუმის (Joshua Lederberg , Edward Tatum)* მიერ იქნა აღმოჩენილი.

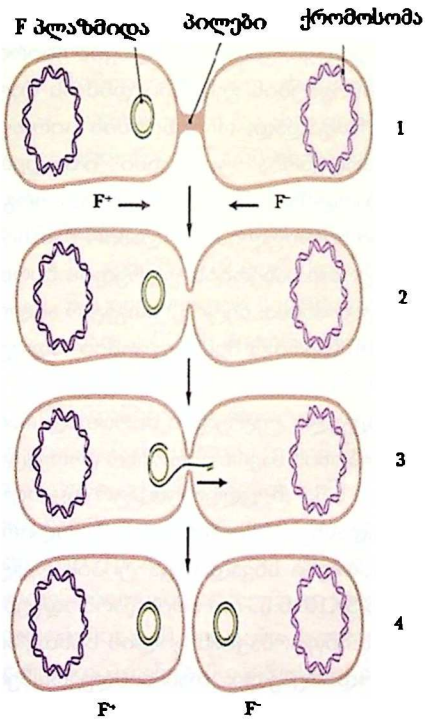
F-ფაქტორი ბაქტერიების ფერტილობის (ნაყოფიერების) ფაქტორს წარმოადგენს და მას „სქესის განმსაზღვრელ" ფაქტორსაც უწოდებენ. ეს ეპისომები აკოდირებს ცილებს, რომლებიც ხელს უშლის სხვა ბაქტერიის პილების მიმაგრებას მასთან (პილები ბაქტერიული უჯრედის ციტოვან თმისმაგვარ ბუსუსოვან გამონაზარდებს წარმოადგენს, რომელთა ფუნქციაა ბაქტერიის სუბსტრატთან მიმაგრება). ამიტომ, F-ფაქტორის (F+) შემცველ უჯრედებში ინფორმაციის გადატანა არ ხდება. ისინი გენეტიკური ინფორმაციის გამცემი, დონორული უჯრედებს წარმოადგენს და, პირიქით, აქცეპტორულ უჯრედებს ისეთი ბაქტერიული უჯრედები წარმოადგენს (F-), რომლებიც არ შეიცავს F-ფაქტორებს (სურ. 3.4).

R-პლაზმიდების გენები აკოდირებენ ისეთი ფერმენტების სინთეზს, რომლებიც ანტიბაქტერიული პრეპარატების დაშლას განაპირობებს. საბოლოო ჯამში, ასეთი ბაქტერიული უჯრედი რეზისტენტობას ავლენს მთელი რიგი ანტიბაქტერიული პრეპარატების მიმართ.

კოლიცინოგენობის ფაქტორი (Col-ფაქტორი) წარმოადგენს ეპისომას, რომელიც შეიცავს ციტოვანი ბუნების ანტიბიოტიკის, კოლიცინის მაკოდირებელ გენს. კოლიცინი თრგუნავს ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიული შტამების აქტივობას. ამ მოვლენას კოლიცინოგენობას უწოდებენ.

ეპისომის თვისებებს ზოგიერთი ზომიერი ფაგიც ამჟღავნებს. მეპატრონის უჯრედში მოხვედრის შემდეგ ეპისომას შეუძლია ბაქტერიულ გენომში ინტეგრირება. გადადის რა პროფაგის მდგომარეობაში, რეპლიცირდება ბაქტერიულ დნმ-თან ერთად. გარკვეულ სტრესულ (უჯრედის შიმშილი, ანტიბიოტიკების ზემოქმედება და სხვ.) პროფაგი აქტიურდება. მისი დნმ გამოეყოფა პატრონის გენომს და იწყებს გამრავლებას. ამ პროცესების შედეგად ბაქტერიის უჯრედი ლიზისს განიცდის, ფაგები გამოდიან გარეთ და შეუძლიათ ახალ უჯრედში ჩართვა.





სურ. 3.4. კონიუგაცია პილების საშუალებით:
1 - დონორი და რეციპიენტი უჯრედების დაკავშირება პილებით;
2 - უჯრედული კონტაქტი;
3 - პლაზმიდის დნმ-ის გადატანა რეციპიენტში;
4 - რეციპიენტში სინთეზირდება F· კომპლემენტური ჯაჭვი; დონორში სინთეზირდება მეორე კომპლემენტური ჯაჭვი; აღდგება პლაზმიდის სტრუქტურა.

3.4. ევკარიოტული გენომი

ევოლუციური განვითარების ყველაზე მაღალორგანიზებულ სტრუქტურულ ერთეულს წარმოადგენს ევკარიოტული უჯრედი. მისთვის დამახასიათებელ ძირითად თავისებურებას ბირთვისა და რიგი ორგანელების მემბრანით შემოსაზღვრული ორგანიზაცია შეადგენს. ევკარიოტების გენომის ძირითადი ნაწილი ბირთვშია განთავსებული, შედარებით მცირე ნაწილი მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტებში გვხვდება.

ევკარიოტული გენომი გაცილებით რთულადაა ორგანიზებული და მთელი რიგი თავისებურებებით ხასიათდება. აღსანიშნავია, რომ ევკარიოტულ გენომში გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი დნმ-ის რაოდენობა გაცილებით მეტია, ვიდრე პროკარიოტული გენომისა. შესაბამისად, მეტია ინფორმაციის ტევადობაც. მაგალითად, საფუვრების, ჭიების, მწერების გენომი 5-10-ჯერ მეტ დნმ-ს შეიცავს, ვიდრე ნაწლავის ჩხირის გენომის ერთი კრებული, ხოლო ძუძუმწოვრების გენომში დნმ-ის რაოდენობა რამდენიმე ასეულჯერ მეტია. ზოგადად, ორგანიზმის სირთულის მატებასთან ერთად დნმ-ის რაოდენობა უჯრედში იზრდება. მიუხედავად ამისა, უჯრედში დნმ-ის რაოდენობა ვერ ჩაითვლება ორგანიზმის სტრუქტურული და ფუნქციური სირთულის პირდაპირ მახასიათებლად. მაგალითად, თევზების ზოგიერთი სახეობის უჯრედის ბირთვი 10-ჯერ მეტ დნმ-ს შეიცავს, ვიდრე ადამიანისა. მეტიც, ზოგჯერ ახლომონათესავე სახეობების გენომები დნმ-ის საერთო შემცველობით ძლიერ განსხვავდებიან ერთმანეთისგან.

და მაინც, დნმ-ის სიჭარბე ევკარიოტული უჯრედის ძირითად რაოდენობრივ მახასიათებლად ითვლება. გენომის საერთაშორისო პროექტის მონაცემებით, *E.coli*-ს გენომი 4 639 221 ნ.წ. (ნუკლეოტიდურ წყვილს) შეიცავს. აქედან, 88,6% ცილისა და სხვადასხვა ტიპის რნმ-ის მაკოდირებელი თანამიმდევრობებია, ხოლო დანარჩენი სხვადასხვა ტიპის რეგულატორული უბნები. ადამიანის გენომი $3X10^9$ ნ.წ.-ით არის წარმოდგენილი, რომელთა მხოლოდ 1% აკოდირებს ინფორმაციას ცილის სინთეზის შესახებ. ინფუზორიებში ცილის მაკოდირებელი თანამიმდევრობები გენომის 5%-ს შეადგენს. ზოგადად, „ჭარბი დნმ"-ის შემცველობა ყველა

ევკარიოტული უჯრედის დამახასიათებელ თავისებურებად არის მიჩნეული.

მე-20 საუკუნის 60-იანი წლების ბოლოს ამერიკელი მეცნიერების *როი ბრიტენისა და ერიკ დევიდსონის (Roy Britten , Eric Davidson)* მიერ შემოთავაზებულ იქნა დნმ-ის დენატურაცია-რენატურაციის კინეტიკის მეთოდი. ჩატარებული ექსპერიმენტების საფუძველზე, ევკარიოტული გენომის მოლეკულური სტრუქტურის კიდევ ერთი თავისებურება იქნა დადგენილი, რომლის თანახმად, ევკარიოტული გენომი შეიცავს სხვადასხვა ხარისხით გამეორებად ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს.

ამჟამად ევკარიოტულ გენომში გამოყოფენ *უნიკალურ, საშუალოდ გამეორებად და მაღალი სიხშირით გამეორებად ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობათა ფრაქციებს:*

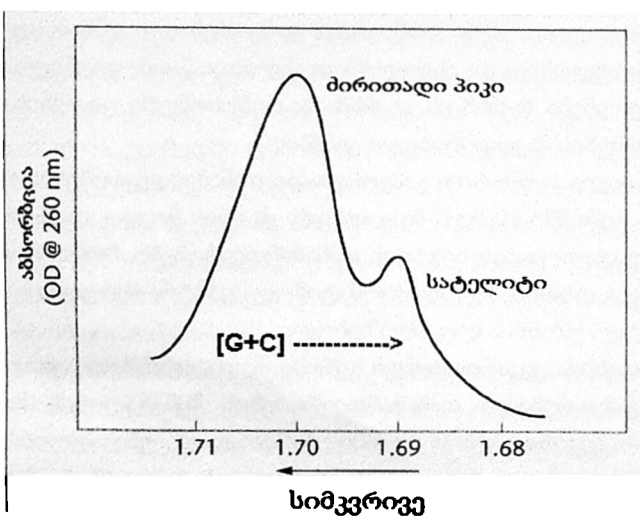
- გენომში უნიკალური თანამიმდევრობები მხოლოდ ერთი ან ძალიან მცირე რაოდენობის ასლებით არის წარმოდგენილი;
- საშუალოდ ანუ ზომიერად გამეორებადი თანამიმდევრობები ათეულობით და ასეულობით ასლითაა წარმოდგენილი. მათ მიეკუთვნება რ-რნმ-ის, ტ-რნმ-ის, რიბოსომური ცილებისა და ჰისტონების მაკოდირებელი გენები;
- მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობების რაოდენობა გენომში 10 მლნ-მდე აღწევს. ეს არის მოკლე, დაახლოებით 10 ნუკლეოტიდის სიგრძის თანამიმდევრობები, რომლებიც ძირითადად დნმ-ის ჰეტეროქრომატინულ (ცენტრომერულ და ტელომერულ) უბანშია ლოკალიზებული.

სხვადასხვა ევკარიოტული გენომი ძლიერ განსხვავდება უნიკალური და გამეორებადი თანამიმდევრობების შემცველობის მიხედვით. უდაბლესი ევკარიოტების გენომი, ძირითადად, უნიკალური უბნებით არის წარმოდგენილი, ხოლო გამეორებად თანამიმდევრობებზე გენომის მხოლოდ 10-20% მოდის. უმაღლესი ძუძუმწოვრების გენომის საერთო რაოდენობის ნახევარზე მეტი მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობებისაგან შედგება, ხოლო მცენარეებსა და ამფიბიებში მაღალგამეორებადი თანამიმდევრობები გენომის უმეტეს ნაწილს, დაახლოებით 80%-ს შეადგენს.

გამეორებადი უბნები უმეტესად მსგავსი, მაგრამ არა - სრულად იდენტური თანამიმდევრობებისგან შედგება. ამასთან, მსგავსების ხარისხიც განსხვავებულია. ზოგ შემთხვევაში ეს უბნები თითქმის ჰომოლოგიურია, სხვა შემთხვევაში მსგავსების ხარისხი საკმაოდ დაბალია.

გამეორებადი უბნები წარმოქმნიან *ოჯახებს*. ამ ცნების ქვეშ აერთიანებენ მთლიანად ან ნაწილობრივ ჰომოლოგიურ გამეორებად თანამიმდევრობებს.

მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობები განსხვავდება გენომის დანაჩენი დნმ-გან, რის გამოც ცეზიუმის ქლორიდის (CsCl) სიმკვრივის გრადიენტში ცენტრიფუგირებისას ეს ფრაქცია წარმოქმნის *სატელიტურ პიკს* (ინგლ. satellite – თანამგზავრი, სატელიტი), რომელიც ძირითად დნმ-ზე მსუბუქია ან მძიმე. დნმ-ის ამ მინორულ ფრაქციას *სატელიტურ დნმ-ს* უწოდებენ (სურ. 3.5).



სურ. 3.5. სატელიტური დნმ

ევკარიოტული გენომის კიდევ ერთ თავისებურებად სტრუქტურული (ცილა-მაკოდირებელი) გენების წყვეტილი აგებულება ითვლება.

ევკარიოტების სტრუქტურული გენების აბსოლუტურ უმრავლესობაში კოდირებად უბნებთან - ეგზონებთან ერთად გვხვდება, ე.წ. ჩართული თანამიმდევრობები - ინტრონები. გენის ექსპრესიის პირველ ეტაპზე გენის სრული თანამიმდევრობით ტრანსკრიბირდება, ხოლო შემდეგ ეტაპზე პირველადი ტრანსკრიფტიდან, სპეციფიკური მოლეკულური მექანიზმებით, ინტრონული უბნები ამოვარდება და ეგზონური უბნები გაერთიანება.

ევკარიოტული გენომის კიდევ ერთ თავისებურებას წარმოადგენს ინვერტირებული განმეორებები - *პალინდრომები*. არსებითად, პალინდრომები შეადგენენ შუალედური გამეორებების ნაწილს. ისინი გამეორებადი თანამიმდევრობების თითქმის ყველა ტიპს შეიცავს. პალინდრომები სწრაფად რენატურირდება და წარმოქმნის სხვადასხვა აღნაგობის „სარჭებს“.

ევკარიოტული გენომის ერთ-ერთ თავისებურებად ითვლება დნმ-ის ჰეტეროგენულობა ნუკლეოტიდური შედგენილობის მიხედვით. მაგალითად, დნმ-ის ერთ ჯაჭვში შეიძლება შეგვხვდეს რამდენიმე ათეული პურინული ფუძისაგან შემდგარი თანამიმდევრობები. შესაბამისად, კომპლემენტური ჯაჭვი პირიმიდინულ თანამიმდევრობებს შეიცავს. ასეთ თანამიმდევრობებს *პოლიპურინული* (პოლიპირიმიდინული) *ბლოკები* ეწოდება. ევკარიოტების გენომში გვხვდება, აგრეთვე, *ც-გ* წყვილებისგან შემდგარი უფრო გრძელი ბლოკებიც.

ჰეტეროგენულობის სხვა სახეს წარმოადგენს დნმ-ის მოლეკულაში *ა-თ* და *გ-ც* წყვილების არათანაბარი განაწილება. მაგალითად, დროზოფილას გენომში პერიოდულად გვხვდება 100 ნ.წ. სიგრძის თანამიმდევრობები, რომელთა 85% *ა-თ* წყვილებითაა წარმოდგენილი. *ა-თ* წყვილებით მდიდარი უბნები გაცილებით მარტივად დენატურირდება, რაც დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვის ნაწილობრივ გახსნას უწყობს ხელს. ამიტომ ეს უბნები განიხილება, როგორც უჯრედში მიმდინარე მოლეკულურ-გენეტიკური პროცესების - რეპლიკაციის, ტრანსკრიფციის და რეკომბინაციის ინიციაციის საიტები.

ევკარიოტული გენომისთვის დამახასიათებელია გარდაქმნის უნარი. გენომური გარდაქმნების თვალსაჩინო მაგალითს წარმოადგენს იმუნოგლობულინების გენების ფორმირების დროს გენების ცალკეული უბნების

გადაადგილებები. ასევე, ზოგიერთი სტრუქტურული გენის ასლების მრავალრიცხოვანი ზრდა, რაც გენთა ამპლიფიკაციის (ინგლ. amplification- გაფართოება, გაძლიერება) სახელწოდებით არის ცნობილი. მაგალითად, ბირთვაკულ ორგანიზატორებში რ-რნმ-ის გენების მრავალი ასლი წარმოიქმნება. აქვე შევნიშნავთ, რომ გენომური გარდაქმნები მაინც არ ითვლება ევკარიოტული გენომის უნივერსალურ თვისებად, რაც, თავის მხრივ, თაობებში გენომის ორგანიზაციის სტაბილურობას უზრუნველყოფს.

სატელიტური დნმ

სატელიტური ფრაქცია გენომში წარმოდგენილია მოკლე (1-20 ნ.წ.), გამეორებადი თანამიმდევრობების 10-15 ოჯახით, რომლებიც გრძელ ბლოკებს ქმნიან. ბლოკების შიგნით ეს ოჯახები ერთმანეთის მონაცვლეობითაა განლაგებული. სატელიტური დნმ არ აკოდირებს ცილის მოლეკულებს. ის, ძირითადად, გენეტიკურად არააქტიურ, კონსტიტუციურ ჰეტეროქრომატინულ უბნებში გვხვდება.

სატელიტური დნმ-ის გამეორებადი ერთეულების ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა სახეობასპეციფიკურ ნიშანს წარმოადგენს. მაგალითად, დროზოფილას ერთი სახეობა (*Drosophila Melangoster*) ოთხი ტიპის (5,7,10 და10-ზე მეტი ნ.წ.) სატელიტურ უბნებს შეიცავს, ხოლო მეორე სახეობა (*Drosophila virilis*) - მხოლოდ სამი ტიპის, თითოეული 7 ნ.წ. სიგრძის სატელიტურ თანამიმდევრობებს. სატელიტური დნმ-ის შემცველობის მიხედვით განსხვავდება ძუძუმწოვარათა ზოგიერთი ახლომონათესავე სახეობაც. მაგალითად, ვირთაგვების დნმ-ის სატელიტური ფრაქცია, ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის მიხედვით, მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ძირითადი დნმ-გან, ხოლო თაგვების გენომი შეიცავს მკვეთრად გამოხატულ *ათ*-ით მდიდარ სატელიტებს.

სახეობასპეციფიკურობის გარდა, ზოგიერთ სატელიტურ დნმ-ს ქრომოსომაში სპეციფიკური ლოკალიზაციის თავისებურება ახასიათებს. *Drosophila Melangoster*-ის გენომში სატელიტი-2 X და Y ქრომოსომებში, ხოლო სატელიტი-1 X, Y და მე-4 ქრომოსომების ჰეტეროქრომატინულ უბნებშია ლოკალიზებული.

ადამიანის გენომში სატელიტური დნმ სპეციფიკურადაა განაწილებული სხვადასხვა ქრომოსომაში. ამ ეტაპზე ცნობილია ადამიანის ექვსი ტიპის სატელიტური დნმ. სამი ტიპი მიეკუთვნება კლასიკურ სატელიტურ დნმ-ს. სატელიტი-1 წარმოადგენს 42 ნ.წ.-იან გამეორებად თანამიმდევრობებს, რომელიც შვიდ სხვადასხვა ქრომოსომაშია ლოკალიზებული. სატელიტი-2 და 3 შეიცავს მოკლე, პენტამერულ (5 ნ.წ.) თანამიმდევრობებს. სატელიტი-2 გვხვდება მე-2, მე-10 და მე-16 ქრომოსომებში, სატელიტი-3 გადანაწილებულია 12 სხვადასხვა ქრომოსომაში. გარდა ამისა, ადამიანის ყველა ქრომოსომის ცენტრომერულ უბანში ლოკალიზებულია α-სატელიტი, რომელიც 171 ნ.წ. სიგრძის, მონაცვლეობით განლაგებულ თანამიმდევრობებს შეიცავს; β-სატელიტი (68 ნ.წ.) მხოლოდ მე-9 ქრომოსომაში გვხვდება, γ-სატელიტი (220 ნ.წ. გამეორებადი თანამიმდევრობები) კი ლოკალიზებულია მხოლოდ მე-8 და X ქრომოსომებში.

ტიპური სატელიტური დნმ-ის გარდა, ადამიანის გენომში გვხვდება მინი- და მიკროსატელიტური დნმ, რომელიც ჯამში გენომის დაახლოებით 3%-ს შეადგენს.

მინისატელიტური დნმ 11-500 ნ.წ. სიგრძის გამეორებადი თანამიმდევრობებისგან შედგება. ასეთი უბნების საერთო რაოდენობა ადამიანის გენომში რამდენიმე ათასია.

მიკროსატელიტური დნმ კიდევ უფრო მოკლე (10 ნ.წ. ნაკლები) გამეორებებით არის წარმოდგენილი. ყველაზე ხშირად, ადამიანის გენომში დინუკლეოტიდური *აც* გამეორებები გვხვდება. ისინი ქმნიან 150 ნ.წ. სიგრძის ბლოკებს, რომლებიც ყველა 30 ათასი ნ.წ.-ის შემდეგ მეორდება. იშვიათი, ტრინუკლეოტიდური *ცგგ* გამეორებები აღმოჩენილ იქნა FMR–1 გენის შედგენილობაში, რომელიც X-ქრომოსომის მტვრევადობის სინდრომს განაპირობებს. ადამიანებში ნორმალურ შემთხვევაში *ცგგ* გამეორებების რაოდენობა ამ გენში 6-და 54-მდეა. ავადმყოფ ადამიანებში კი 200-1300 ასლი გვხვდება.

წარმოდგენილი მაგალითი და მრავალი სხვა შემთხვევა მიკრო- და მინისატელიტების პოლიმორფულობაზე მიუთითებს. ამ თვისების გამო მინი- და მიკროსატელიტებს, ხშირად, ცვლადი რაოდენობის ასლების ტანდემურ გამეორებებს (ინგლ. Variable Number of Tandem Repeats -

VNTR) უწოდებენ. ტანდემურ გამეორებების რაოდენობა და გენომში გადანაწილების თავისებურება ყოველი კონკრეტული ადამიანის გენომში იმდენად სპეციფიკური აღმოჩნდა, რომ მათი გამოყენება „თითის ანაბეჭდის“ მეთოდის ანალოგიურად გახდა შესაძლებელი. მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარების თანამედროვე ეტაპზე მინი- და მიკროსატელიტური დნმ-ის ვარიაბელობა გამოიყენება პოპულაციური ბიოლოგიის ფუნდამენტური საკითხების, ადამიანებს შორის ნათესაური კავშირების შესწავლისა და სხვადასხვა დაავადების დიაგნოსტიკის მიზნით.

დაბოლოს, ადამიანის გენომის სექვენირებისას აღმოჩენილ იქნა სატელიტური დნმ-ის კიდევ ერთი ტიპი, რომელსაც მეგასატელიტური დნმ უწოდეს. ეს ტანდემური გამეორებები 2,5 – 5 ათასი ნ.წ.-ით არის წარმოდგენილი და გენომში დაახლოებით 50-400-ჯერ მეორდება. მეგასატელიტური დნმ ლოკალიზებულია, მხოლოდ, მე-4, მე-8, მე-19 და X ქრომოსომებში.

ცოცხალ ორგანიზმთა სახეობების დიდ უმრავლესობაში მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანმიმდევობები გენომის, არაუმეტეს, 10% შეადგენს.

გენომის დანარჩენი 90% ევქრომატინულ უბანს წარმოადგენს, სადაც უნიკალური და გამეორებადი თანამიმდევრობები ერთმანეთს ენაცვლება.

გენომის დისპერგირებული გამეორებები

დისპერგირებული (ლათ. Dispergere - გაფანტვა) გამეორებები წარმოადგენს ევკარიოტული გენომის მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობების კიდევ ერთ კლასს, რომელიც „მიმოფანტულია“ მთელ გენომში. დისპერგირებული განმეორებების ასლები შეიძლება იყოს გენომის ნებისმიერ უბანში - (გენთაშორის თანამიმდევრობებში, ინტრონებში, ფლანგებში, ე.წ. ფლანკირებად (ინგლ. flank - მხარე) უბნებში, ექსტრაქრომოსომურ დნმ-ში და ა.შ. ამას ადასტურებს რესტრიქციული ანალიზის, მოლეკულურ დონეზე ჩატარებული კლონირებისა და სექვენირების კვლევები. განასხვავებენ დისპერგირებულ თანამიმდევრობათა ორ ძირითად ტიპს, რომლებიც ყველაზე ხშირად გვხვდება ევკარიოტულ გენომში. ესენია: მოკლე დისპერგირებული განმეორებები -

SINE (Short Interspersed Repeated Sequences) და გრძელი დისპერგირებული განმეორებები - LINE (Long Interspersed Repeated Sequences).

მოკლე დისპერგირებული განმეორებები (SINE) რეტროტრანსპოზონების ერთ-ერთ ვარიანტია, რომლის სტრუქტურაში შედის უკუტრანსკრიფციის გენი. გრძელი დისპერგირებული განმეორებები (LINE) განმეორებები, რომელთა შორის ყველაზე გავრცელებულია L1 (LINE1), წარმოადგენს დაახლოებით 6 000 ნ.წ. სიგრძის თანამიმდევრობას. ის ნაპოვნია თითქმის ყველა შესწავლილი ძუძუმწოვრის გენომში. ამასთან, ამ თანამიმდევრობებს სახეობების შიგნით გაცილებით მაღალი მსგავსება ახასიათებთ, ვიდრე განსხვავებული სახეობის გენომებში. მაგალითად, თაგვის LINE თანამიმდევრობების ასლები ერთმანეთისგან დაახლოებით 4%-ით განსხვავდება, ადამიანისა და თაგვის კი - 30%-ით.

SINE ტიპის განმეორებები დაახლოებით 100-500 ნ.წ. სიგრძის თანამიმდევრობებია. ის იმდენადაა გაფანტული მთელ გენომში, რომ „ყველგანმყოფის" სახელწოდებითაც კი არის ცნობილი. ყოველი სახეობა SINE-განმეორებების სპეციფიკურ კრებულს შეიცავს.

ყველაზე უკეთ ამ ტიპის გამეორებათა Alu-ოჯახია შესწავლილი, რომელიც 300 ნ.წ.-საგან შედგება. ადამიანის ჰაპლოიდური გენომი შეიცავს ასეთ თანამიმდევრობათა დაახლოებით 105-106 ასლს. ისინი სპეციფიკურად იშლებიან ბაქტერიული *(Artropobacter luteus)* Alu-რესტრიქტაზების ზემოქმედებით და სახელწოდებაც სწორედ აქედან წარმოდგება. რესტრიქციის საიტი თანამიმდევრობიდან დაახლოებით 170 ნ.წ.-ის მოშორებით მდებარეობს. ყველაზე ხშირად, ის გვხვდება გენთა შორის და გენის ინტრონულ უბნებში, ზოგჯერ კი მ-რნმ-ის სტრუქტურაშიც შედის. სხვადასხვა ტიპის Alu-თანამიმდევრობები დიდი რაოდენობით გვხვდება პრიმატების გენომში. Alu-ოჯახის მსგავსი თანამიმდევრობები ნაპოვნია თაგვებშიც და ცნობილია, როგორც B1-ოჯახი.

Alu-ოჯახისთვის თანამიმდევრობები შედის მცირე რნმ-ის მოლეკულების, კერძოდ, ტ-რნმ-ისა და 7S რნმ-ის სტრუქტურაში. ამ ტიპის თანამიმდევრობები ნაპოვნია სტრუქტურული გენების ტრანსკრიბირებად ერთეულებშიც, რაც დასტურდება მ-რნმ-ის მოლეკულებში მათი არსებობით.

3.5. ევკარიოტული გენომის ქრომოსომური ორგანიზაცია

ქრომატინის სტრუქტურა

ევკარიოტული გენომის გენეტიკური აპარატის ძირითად სტრუქტურულ-მორფოლოგიურ ერთეულს ქრომოსომა წარმოადგენს. ქრომოსომის გენეტიკური ინფორმაციის საფუძველს შეადგენს წრფივი, მარჯვნივდახვეული ორჯაჭვიანი დნმ-ის მოლეკულა. ევკარიოტული დნმ უზარმაზარი სიგრძის მოლეკულაა. მაგალითად, ადამიანის უჯრედი შეიცავს 23 წყვილ ქრომოსომას, რომელთა საერთო სიგრძე $1,3X10^8$ ან დაახლოებით 2 მ-ის ტოლია. იმისათვის, რომ ასეთი მოცულობის დნმ დაახლოებით 10 მკმ დიამეტრის ბირთვში ჩალაგდეს, საჭიროა მისი ათასჯერადი კონდენსაცია (შეკუმშვა). ცხადია, ევკარიოტულ უჯრედში დნმ-ის მოლეკულა უდიდესი კომპაქტურობით და ორგანიზებულობით ხასიათდება.

უჯრედში დნმ თავისუფალი სახით არ არსებობს. უჯრედული ციკლის ყველა ეტაპზე დნმ დაკავშირებულია რიგ ცილებთან და წარმოქმნის ქრომატინს. შედგენილობიდან გამომდინარე, ხშირად მას დეზოქსირიბონუკლეოპროტეინსაც (დნპ) უწოდებენ. არაგაყოფად (ინტერფაზურ) ბირთვში ქრომატინი ამორფულია და განაწილებულია უჯრედის ბირთვში. უჯრედის გაყოფის (მეტაფაზა) წინ ის ორგანიზდება მაღალკომპაქტურ სტრუქტურებად - ქრომოსომებად.

სხვადასხვა ობიექტიდან მიღებული ქრომატინის ქიმიური შედგენილობა საკმაოდ ერთგვაროვანია. ქრომატინის მთავარ კომპონენტებს დნმ და ჰისტონური ცილები შეადგენს. ევკარიოტულ გენომში არსებობს ჰისტონების ხუთი კლასი: H1, H2A, H2B, H3, H4. ისინი ფუძე ამინომჟავების - ლიზინისა და არგინინის ძალიან მაღალი შემცველობით ხასიათდება, ამიტომ ფუძე ცილები ეწოდებათ. ხერხემლიანთა ზოგიერთი ტიპის უჯრედში გვხვდება მეექვსე ტიპის ჰისტონი - H5, რომელიც ანაცვლებს H1 ცილას. ფუძე ამინომჟავების შემცველობიდან გამომდინარე, ჰისტონები ატარებენ დადებით მუხტს და ადვილად უკავშირდებიან უარყოფითი მუხტის მატარებელი დნმ-ის მოლეკულებს. H2, H3 და H4 კონსერვატიულ ცილებია. განსხვავებულ ფილოგენეტიკურ სახეობებს - უმაღლეს მცენარეებს, თევზებს და ძუძუმწოვრებს - H4 ცილის 102 ამინომჟავური თანამიმდევრობიდან მხოლოდ ერთი ან ორი ამინომჟავა

აქვთ განსხვავებული. H1 ჰისტონი საკმაოდ ვარიაბელურია. ერთი და იგივე ორგანიზმის სხვადასხვა ქსოვილშიც კი, შესაძლოა, მისი რამდენიმე, სხვადასხვა ვარიანტი შეგვხვდეს.

ქრომატინი შეიცავს არაჰისტონურ ცილებსაც, რომლებიც, ასევე, მაღალი ცვალებადობით და სახეობრივი და ორგანოსპეციფიკურობით ხასიათდება. ისინი, სავარაუდოდ, რეპლიკაციის, გენის ექსპესიისა და ქრომოსომების ორგანიზაციის პროცესებში მონაწილეობს.

ნუკლეოპროტეინული სტრუქტურის ორგანიზაცია იწყება ჰისტონურ ცილებზე დნმ-ის დახვევით. ქრომატინის ელემენტარულ ფიბრილას ძაფზე ასხმული მძივის ფორმა აქვს, რომლის ელემენტარულ ერთეულს (მძივს) წარმოადგენს ნუკლეოსომა (სურ.3.6-ა). ყველა ტიპის ევკარიოტული უჯრედისათვის ნუკლეოსომების ორგანიზაციის სქემა ერთნაირია. იგი შეიცავს დნმ-ის სეგმენტს და ჰისტონურ კლასტერს, რომელიც, თავის მხრივ, H2A, H2B, H3 და H4 ჰისტონური ცილებისგან შედგება. თითოეული ჰისტონი ორ-ორჯერ მეორდება და წარმოქმნის ნუკლეოსომის ცილოვან ბირთვს. ამ ოქტამერულ ბირთვს დნმ-ის დაახლოებით 146 ნ.წ. ეხვევა. ნუკლეოსომის ირგვლივ დნმ-ის დახვევა მის სიგრძეს 7-ჯერ ამცირებს. ნუკლეოსომებს ერთმანეთთან აკავშირებს 20-90 ნ.წ. სიგრძის დნმ, რომელსაც დნმ-ლინკერს (ინგლ. Link-დამაკავშირებელი) უწოდებენ. ლინკერი-სტრუქტურის სტაბილიაციას H1 ჰისტონი უზრუნველყოფს. ნუკლეოსომური სტრუქტურა ქმნის 10 ნმ დიამეტრის ნუკლეოფილამენტებს.

ნუკლეოფილამენტები კიდევ უფრო კონდენსირდება და წარმოქმნის ნუკლეოსომურ ჯგუფებს - *ნუკლეომერებს.* H1 ჰისტონები უკავშირდება ერთმანეთს და მეზობელ ნუკლეოსომებს მჭიდროდ აწყობს 30 ნმ დიამეტრის ზომის ბოჭკოებში, რომლებსაც *სოლენოიდურ* სტრუქტურებს უწოდებენ. ამრიგად, ქრომატინის 30 ნმ-იანი ფიბრილა აგებულია დნმ-ის კომპაქტური მოლეკულის გასწვრივ ნუკლეომერების მონაცვლეობით. პოლინუკლეოსომების წარმოქმნა და მათი კონდენსაცია 30 ნმ-იან ბოჭკოებში დნმ-ის 100-ჯერ უფრო კომპაქტურს ხდის (სურ. 3.6-ბ).

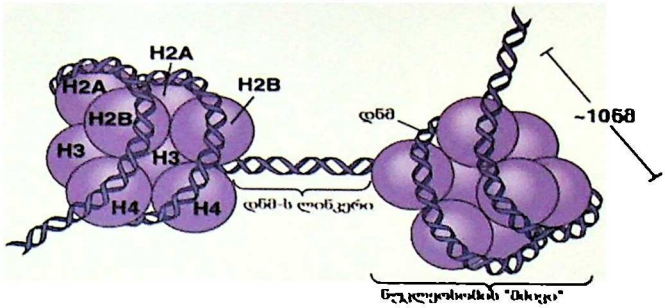
შემდეგ ეტაპზე 30 ნმ-იანი ბოჭკოები შემდგომი სპირალიზაციის შედეგად კიდევ უფრო იკუმშება. 30 ნმ-იანი ბოჭკოების უფრო მაღალ დონეზე განლაგების მოდელი ემყარება ხერხემლიანთა ოოციტების, ე.წ. „ლამფის ჯაგრისის“ (სახელწოდება ჭურჭლის სარეცხ ჯაგრისთან მსგავ-

სებიდან მოდის) ქრომოსომებიდან და დროზოფილას სანერწყვე ჯირკვლის უჯრედების გიგანტური პოლიტენური ქრომოსომებიდან მიღებულ მონაცემებს.

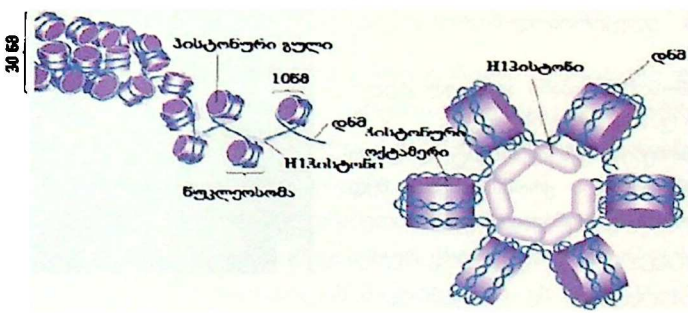
მე-19 საუკუნის ბოლოს *ედუარდ ბალბიანის (Édouard-Gérard Balbiani)* მიერ აღმოჩენილ იქნა, რომ მიტოზის პროფაზის სტადიაზე ქრომოსომაში აღინიშნება სხვადასხვა ფორმისა და ზომის გამსხვილებები, რომელთაც *ქრომომერები* უწოდეს. 1941 წელს *რომან ხესინ-ლურიეს (Roman Khesin-Lurie)* მიერ ქრომომერული სტრუქტურები აღწერილია „ლამფის ჯაგრისის" ქრომოსომებში. ეს ქრომოსომები გამონაკლისს წარმოადგენს, რადგან ზუსტად განსაზღვრულ, ორგანიზებულ სტრუქტურას ინარჩუნებს ინტერფაზაში. ამ გამოკვლევების საფუძველზე მე-20 საუკუნის 70-იან წლებში წარმოიშვა მოსაზრება ქრომოსომების ქრომომერული ორგანიზაციის შესახებ, რომლის თანახმად, 30 ნმ-იანი ბოჭკოების კონდენსაციის შედეგად იქმნება დომენების, მარყუჟების სერია (სურ. 3.6-გ).

ეს მარყუჟები, შეიძლება, შეიცავდეს 5 000-დან 12 000-მდე ნ.წ.-ს. მაგალითად, ადამიანის გენომი, საშუალოდ, 6 000 მარყუჟს შეიცავს. მარყუჟები უკავშირდება H1 ჰისტონისა და არაჰისტონური ცილებისაგან შემდგარ ე.წ. სკაფოლდს (ინგლ. scaffold - ფიცარნაგი, ხარაჩო). ორი დიდი სკაფოლდი ფიქსირდება მარყუჟების ძირთან და შეუძლია სუპერხვეულების აკუმულირება. დნმ-ის მოლეკულის *ა-თ*-ით მდიდარი უბნები უკავშირდება ცილოვან სკაფოლდს, რომელსაც SAR (ინგლ. Scaffold Attachment Regions – სკაფოლდთან მისამაგრებელი რეგიონი) უბნებს უწოდებენ. ამ ეტაპზე ხდება 30 ნმ-იანი ბოჭკოების დახვევა და სუპერდახვევა 1,4 ნმ ზომის სტრუქტურებად, რაც, საბოლოო ჯამში, დნმ-ის დამატებით - 200-ჯერ შეკუმშვას უზრუნველყოფს. ცილოვანი პლატფორმა (SAR) შეიცავს ტოპოიზომერაზა II-ის დამაკავშირებელ უბნებსაც, რომელებიც დნმ-ის ტოპოლოგიურ გარდაქმნებში იღებს მონაწილეობას. ეს ფაქტი მიუთითებს, რომ სუპერხვეულების ცვლილებები (კონდენსაცია-დეკონდენსაცია) ბიოლოგიურად მნიშვნელოვანი პროცესებია.

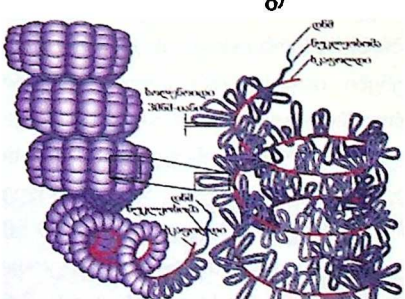
ა)



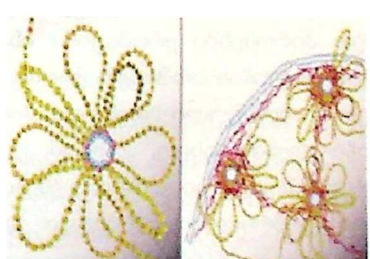
ბ)



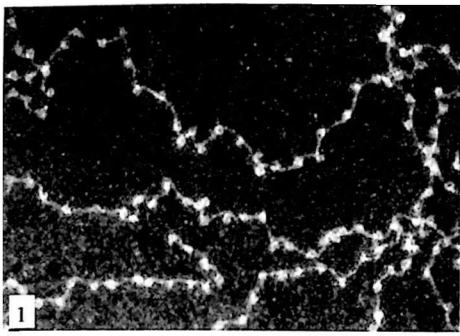
გ)

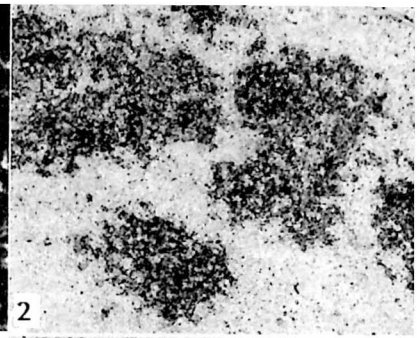


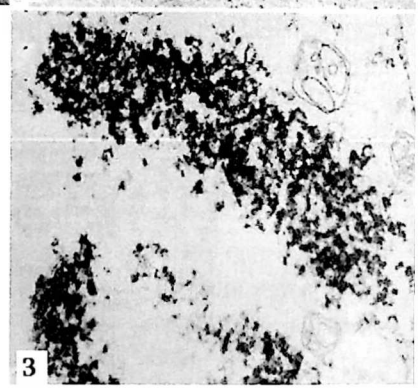
დ)



სურ. 3.6. ნუკლეოსომის სტრუქტურული სქემა:
ა - ნუკლეოსომური; ბ - ნუკლეომერული; გ - ქრომომერული ორგანიზაცია;
დ - ნუკლეოფილამენტების ყვავილედი







სურ. 3.7. ქრომოსომის ნუკლეოსომური (1) და ქრომონემური (2 და 3) ორგანიზაციის ელექტრონულ-მიკროსკოპული სურათი.
2. ქრომოსომის უბანი ადრეულ ტელოფაზაში (ვ. პოლიაკოვის ფოტო);
3. ქრომონემები ექსპერიმენტულად დეკონდენსირებული ქრომოსომების შედგენილობაში (ვ. ბურაკოვის ფოტო).

ქრომატინ-ქრომომერულ ორგანიზაციაზე დაკვირვება შესაძლებელია ელექტრონულ მიკროსკოპში ბირთვების ან ქრომოსომების დაბალი იონური ძალის, მაგალითად, 0, 01M NaCl ხსნარში მოთავსების შემდეგ. ასეთ პირობებში ქრომატინი ინარჩუნებს თავის ნორმალურ, ქიმიურ შედგენილობას (არ ხდება ქრომატინის დეპროტეინება), მაგრამ ის შედარებით ამორფული ხდება და, ძირითადად, წარმოდგენილია 30 ნმ-იანი ფიბრილების სახით. ამასთან, გარკვეულ უბნებში რჩება ამ ფიბრილებისაგან შემდგარი გამსხვილებები - ***ქრომომერები.*** ამ ადგილებში 30 ნმ-იანი ფიბრილების მრავალი მარყუჟი ერთადაა შეკრული საერთო ცენტრით და წარმოქმნის ყვავილედის მსგავს სტრუქტურებს (სურ. 3.6-დ). ქრომოსომური ორგანიზაციის შემდეგ დონეზე, რომელსაც ***ქრომონემურს*** უწოდებენ, მარყუჟების ჩალაგება ხდება. ვინაიდან, ქრომოსომების დიამეტრი 1 ნმ-ის ტოლია, ქრომატიდაში ბოჭკოების ჩალაგება დამა-

ტებით, დაახლოებით 10-ჯერ უფრო მეტ შეკუმშვას მოითხოვს. ფიქრობენ, რომ ეს, შესაძლოა, მიღწეულ იქნეს სპირალურ ხვეულებად მარყუჟების ერთმანეთზე დალაგებით. ქრომონემური უბნები კარგად იღებება და ადვილად ჩანს მიკროსკოპში (სურ. 3.7).

ამრიგად, ქრომატინისა და ქრომოსომის სტრუქტურაში დნმ-ის შეკუმშვის ოთხი დონე განიხილება:

პირველი - *ნუკლეოსომური*, რომელიც ჰისტონურ ოქტამერზე დნმ-ის დახვევის შედეგად წარმოქმნება;

მეორე - *ნუკლეომერული*, როცა დაახლოებით 8-10 ნუკლეოსომა გლობულების სახით ერთიანდება. ვინაიდან ეს პროცესები დნმ-ის უზარმაზარ წრფივ მოლეკულაზე ხორციელდება, ერთმანეთთან ახლომდებარე ნუკლეომერები წარმოქმნიან 30 ნმ ზომის ნუკლეოპროტეინულ ფიბრილებს;

მესამე - *ქრომომერული:* ნუკლეოპროტეინული ფიბრილები ერთიანდება არაჰისტონური ცილების სამაგრებით და წარმოქმნის გამსხვილებებს, რომელთა ხელოვნური გაშლით 30 ნმ-იანი მარყუჟებისგან შემდგარი ყვავილედის სტრუქტურა მიიღება;

მეოთხე - *ქრომონემური:* ერთმანეთთან დაახლოებული ქრომომერები ქმნის მსხვილ (0,1-0,2 მკმ), ძაფისებურ ქრომოსომურ სტრუქტურებს, რომლებიც კარგად ჩანს სინათლის მიკროსკოპში. ეს სტრუქტურა ჯერ კიდევ არ არის ბოლომდე შესწავლილი. თვლიან, რომ ქრომონემა მიიღება დამატებითი სპირალური კონდენსაციით, მაგრამ არ გამორიცხავენ დამატებითი მარყუჟების წარმოქმნის შესაძლებლობასაც.

ევქრომატინი და ჰეტეროქრომატინი

გენეტიკური მასალის ორგანიზაცია უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზაში პირდაპირ დამოკიდებულებაშია მის ფუნქციონირებასთან. მრავალი მეცნიერის მოსაზრებით, ინტერფაზის სტადიაზე ბირთვში სხვადასხვა ხარისხით კონდენსირებული ქრომატინი გვხვდება. ინტენსიურად გაყოფად და ნაკლებად სპეციალიზებულ უჯრედებში ქრომატინი ძირითადად დეკონდენსირებულია, ხოლო მაღალსპეციალიზებულ უჯრედებში და უჯრედებში, რომელთაც დაასრულეს თავიანთი სასიცოცხლო ციკლი, ის უმეტესად კონდენსირებულ მდგომარეობაშია.

მოყვანილი მაგალითები მიუთითებს, რომ რაც მეტია უჯრედში კონდენსირებული ქრომატინი, მით ნაკლებია მისი მეტაბოლური აქტივობა და, პირიქით, უჯრედის აქტივაციის დროს იზრდება დიფუზიური (ფაშარი) ქრომატინი.

მიუხედავად ამისა, მეტაბოლური აქტივობის პროცესში მთელი ქრომატინის დეკონდენსაცია არ ხდება. ჯერ კიდევ მე-19 საუკუნის 30-იან წლებში გერმანელმა ციტოლოგმა *ემილ ხაიცმა (Emil Heitz)* შენიშნა, რომ ქრომატინის გარკვეული უბნების კონდენსაციის ხარისხი არ არის დამოკიდებული უჯრედის აქტივობაზე და მუდმივად გამსხვილებული რჩება. ქრომატინის ამ უბნებს *ხაიცმა* ჰეტეროქრომატინი უწოდა. ეს უბნები ინტენსიურად იღებება და კარგად ჩანს მიკროსკოპით მეტაფაზური ბირთვის დათვალიერებისას. ამის საპირისპიროდ, ქრომატინის უბნები, რომლებიც დეკონდენსირებულ უბნებს - ქრომოცენტრებს შეიცავს, *ევქრომატინის* (საკუთრივ ქრომატინი) სახელწოდებითაა ცნობილი.

აღსანიშნავია, რომ უჯრედული ციკლის მთელ პერიოდში მუდმივად კონდენსირებული რჩება ქრომატინის მხოლოდ გარკვეული უბნები და მას *კონსტიტუციურ (მუდმივ) ჰეტეროქრომატინს* უწოდებენ. ასეთ, მუდმივად შეკუმშულ ზონებს, ძირითადად, ქრომოსომის ცენტრომერული და ტელომერული უბნები წარმოადგენს. კონსტიტუციური ქრომატინის წილი სხვადასხვა ევკარიოტულ გენომში განსხვავებულია. მაგალითად, ბუმბუმწოვრებში ის გენომის 10-15%-ს შეადგენს, ამფიბიებში - დაახლოებით 60%-ს. მათი ფუნქციური დანიშნულება ჯერ კიდევ საკამათოა. ფიქრობენ, რომ მათ ძირითადად რეგულატორული როლი აკისრიათ.

ქრომატინის ძირითად ნაწილი უჭირავს ევქრომატინს, რომლის კომპაქტურობის ხარისხი უჯრედის ფუნქციურ აქტივობაზეა დამოკიდებული. ევქრომატინი შეიცავს კონდენსირებულ ზონებს, რომლებსაც, უჯრედის ფუნქციური მოთხოვნებიდან გამომდინარე, შეუძლიათ განიცადონ დეკონდენსაცია. ამ უბნებს *ფაკულტატიურ ჰეტეროქრომატინს* უწოდებენ. ფაკულტატიური ჰეტეროქრომატინის ერთ-ერთ კარგ მაგალითს წარმოადგენს ადამიანის X ქრომოსომა. მამაკაცის ორგანიზმებში ის გაშლილ, ფუნქციურად აქტიურ მდგომარეობაშია. ქალის ორგანიზმის უჯრედები ორ X ქრომოსომას შეიცავს, რომელთაგან ერთი აქტიურ, დეკონდენსირებულ მდგომარეობაშია, ხოლო მეორე - შეკუმშული, ანუ

ჰეტეროქრომატინიზებული. ასეთ მდგომარეობაში ის მთელი სიცოცხლის განმავლობაში რჩება, მაგრამ, შემდეგ თაობებში მამაკაცის ორგანიზმში მოხვედრის შემდეგ, კვლავ აქტიურდება.

ზოგადად, დიფერენცირებული უჯრედების მხოლოდ 10% იმყოფება აქტიურ მდგომარეობაში, დანარჩენი ფაკულტატიური ჰეტეროქრომატინის კონდენსირებულ ფორმას წარმოადგენს.

ფიქრობენ, რომ უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზაში დნმ-ის ორგანიზაციული ცვლილებები კონტროლდება ბირთვული ჰისტონების ნაწილობრივი მოდიფიკაციებით. ჰისტონები განიცდიან უჯრედულ ციკლზე დამოკიდებულ შექცევად აცეტილირებას, ფოსფორილირებას და მეთილირებას. ამ რეაქციების შედეგად იცვლება ჰისტონების მუხტი და დნმ-თან დაკავშირების სიძლიერე. ეს იწვევს 30 ნმ-იანი ბოჭკოების გახსნასა და ქრომატინის დეკონდენსაციას (ევქრომატინის წარმოქმნას). აღნიშნული მოდიფიკაციები კავშირშია გენომის ტრანსკრიფციულ და რეპლიკაციურ აქტივობასთან. ამ პროცესში მონაწილეობენ არაჰისტონური ცილებიც.

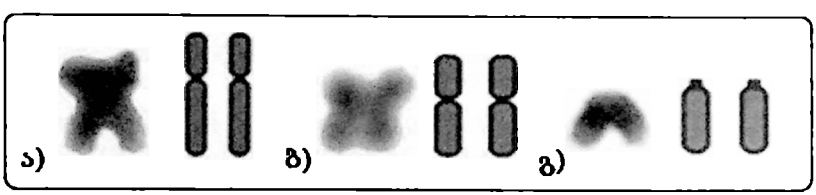
თუ დნმ-დან ჰისტონების დისოციაცია შეიძლება იყოს ტრანსკრიფციის წინაპირობა, არაჰისტონური ცილები დიფერენციაციისა და განვითარების პროცესში გენის ექსპრესიას არეგულირებს. არაჰისტონური ცილები შეიძლება ასრულებდეს ჰორმონებისა და სხვა მარეგულირებელი მოლეკულების დამაკავშირებელი საიტების როლს. მაშასადამე, აქტიური გენები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს მარეგულირებელი ცილებისათვის. ამ დროს არაფუნქციური გენები კი მათთვის მიუწვდომელი უნდა იყოს. ეს გენები, ისევე, როგორც სხვა არატრანსკრიფციული უბნები, როგორიცაა: ცენტრომერები, ტელომერები, ე.წ. უსარგებლო, „ნაგავი“ (ინგლ. Junk) დნმ, - რჩება მაღალკონდენსირებულ ფორმად - ჰეტეროქრომატინად. ქრომატინის ეს ფორმა ხასიათდება ჰისტონების მომატებული მეთილირებითა და შემცირებული აცეტილირებით.

ქრომოსომების ზოგადი მორფოლოგია

ევკარიოტული უჯრედის ქრომოსომები ერთიანი სქემითაა აგებული. ისინი სამი ძირითადი კომპონენტისგან შედგება: ქრომოსომის მხარი, ტელომერული უბანი და ცენტრომერა. ქრომოსომის ფორმა და სიდიდე

უჯრედში უცვლელია. ეს ნიშანი სახეობრივ ნიშანს წარმოადგენს და უცვლელად გადაეცემა უჯრედულ თაობებს.

მეტაფაზური ქრომოსომების ფორმას ცენტრომერის (პირველადი სარტყლის) მდებარეობა განსაზღვრავს. ამ ნიშნის მიხედვით განასხვავებენ: მეტაცენტრულ ქრომოსომას - თანაბარი ან თითქმის თანაბარი მხრებით; სუბმეტაცენტრულს - არათანაბარი მხრებით; აკროცენტრულს - ერთი ნორმალური და ერთი მოკლე, ზოგჯერ თითქმის შეუმჩნეველი მხარით. ცენტრომერის ზონაში განლაგებულია კინეტოქორი (ბერძნ. kinetós- მოძრაობა choros -ადგილი) - დისკის ფორმის ცილოვანი სტრუქტურა. მისკენ მიმართულია მიტოზური თითისტარას მიკრომილაკები, რომლებიც უჯრედის პოლუსებისაკენ ქრომოსომების გადაადგილებაში იღებს მონაწილეობას (სურ. 3.8).



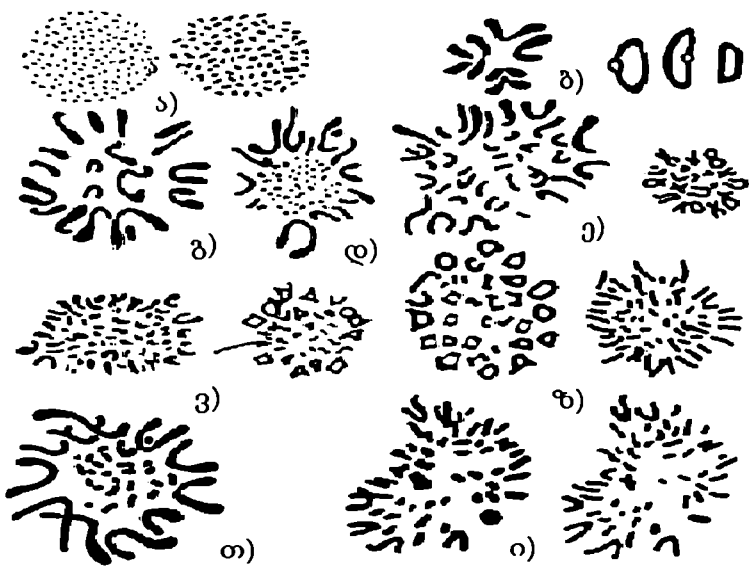
სურ. 3.8. ქრომოსომების მორფოლოგია.
ა - სუბმეტაცენტრული; ბ - მეტაცენტრული; გ - აკროცენტრული ქრომოსომები

ჩვეულებრივ, ქრომოსომას მხოლოდ ერთი ცენტრომერა აქვს, მაგრამ არსებობს დიცენტრული და პოლიცენტრული ქრომოსომებიც. ცენტრომერულ უბანში განლაგებულია მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობების მქონე სატელიტური დნმ.

ზოგ ქრომოსომას აქვს მეორეული სარტყელიც, რომელიც, ჩვეულებრივ, ქრომოსომის ბოლოზე მდებარეობს და ქრომოსომის პატარა ნაწილს, ე.წ. თანამგზავრს გამოყოფს. ამ ზონაში ბირთვაკის წარმოქმნა ხდება და ამიტომ მას ბირთვაკულ ორგანიზატორსაც უწოდებენ. აქვეა ლოკალიზებული რ-რნმ-ზე პასუხისმგებელი დნმ. ადამიანის ქრომოსომებში ბირთვაკული ორგანიზატორი განლაგებულია ცენტრომერასთან ახლოს, ქრომოსომის მოკლე მხრებზე.

ქრომოსომების მხრების ბოლოებზე განთავსებულია ტელომერული უბნები. იგი შეიცავს დნმ-ის განსაკუთრებულ თანამიმდევრობებს, რომელიც მას დამოკლებისგან იცავს.

სხვადასხვა ევკარიოტული ორგანიზმების უჯრედებს ქრომოსომთა განსხვავებული რიცხვი აქვთ, მაგრამ ეს რიცხვი მუდმივია ყოველი მოცემული სახეობისათვის (სურ.3.9-ზე წარმოდგენილია სხვადასხვა სახეობის ცხოველთა ქრომოსომები). ზოგიერთ რადიოლარიას 1000-1600 ქრომოსომაც კი აქვს. სულ 2 ქრომოსომის ჰაპლოიდური კრებულია დაფიქსირებული ასკარიდების ერთ-ერთ რასაში.

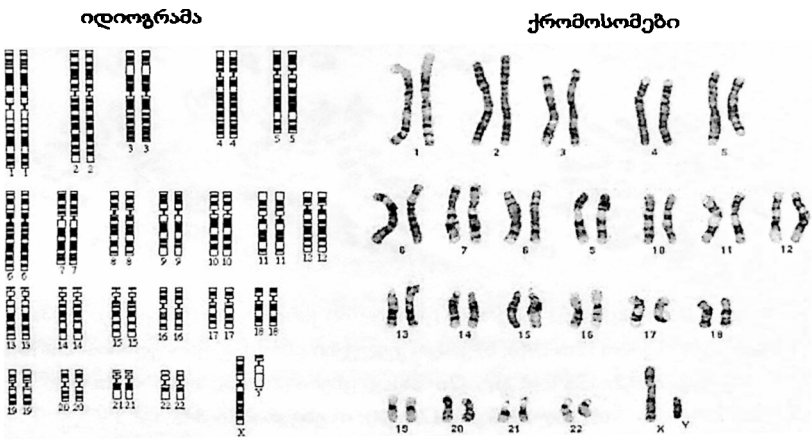


სურ. 3.9. სხვადასხვა სახეობის ცხოველის კარიოტიპი (მიუცინგი 1963).
ა) მდინარის კიბო (2n=196); ბ) კოღო კულექსი (2n=6); გ) ქარიყლაპია (2n=18);
დ) ქათამი (2n=78); ე) კატა(2n=38); ვ) ცხენი (2n=66); ზ) ხარი (2n=60);
თ) სალამანდრა (2n=34); ი) ცხვარი (2n=54)

უჯრედში თითოეული ქრომოსომა წყვილია. წყვილ ქრომოსომებს *ჰომოლოგიურს* უწოდებენ. ჰომოლოგიური ქრომოსომები, როგორც წესი,

იდენტურია. ქრომოსომების რიცხვი, ზომა და მორფოლოგია მუდმივი სახეობრივი თვისებაა და მას **კარიოტიპს** უწოდებენ. ახლომონათესავე სახეობების ქრომოსომური კრებულიც კი განსხვავებულია, თუნდაც ერთი ან რამდენიმე ქრომოსომის ზომით, ფორმით ან სტრუქტურით. სახეობის კარიოტიპის სტრუქტურა უცვლელია უჯრედის ტიპისა და ასაკის მიუხედავად. სურ. 3.10-ზე მოცემულია ადამიანის - მამაკაცის კარიოტიპი.

ქრომოსომური ანალიზის პრაქტიკაში ფართოდ გამოიყენება მათი დიფერენცირებული შეღებვის მეთოდი, რომელიც პირველად *ტორბორნ კასპერსონის (Torbjörn Caspersson)* მიერ იქნა დამუშავებული და მოგვიანებით უფრო დაიხვეწა. დიფერენცირებული შეღებვის მეთოდით შესაძლებელი გახდა სხვადასხვა ევკარიოტული ორგანიზმის, მათ შორის, ადამიანის ქრომოსომური რუკების შედგენა. დიფერენცირებული შეღებვის მოლეკულური მექანიზმები ბოლომდე ცნობილი არ არის, მაგრამ მრვალრიცხოვანი დაკვირვებით დადგენილია, რომ ჰეტეროქრომატინის ინტენსიური შეღებვის უნარი ამ ზონაში *ა-თ* ფუძეების სიჭარბესთან არის კავშირში.



სურ. 3.10. ადამიანის (მამაკაცის) კარიოტიპი

3.6. უჯრედის ორგანელების გენომი

ევკარიოტულ უჯრედში, ბირთვულ გენომთან ერთად, ფუნქციონირებს ციტოპლაზმური ორგანელების გენომი. ჯერ კიდევ 1909 წელს, *კარლ კორენსმა (Carl Correns)* მცენარე გულისაბას და *ერვინ ბაუერმა (Ervin Bauer)* გერანის ჭრელფოთოლა ფორმების შესწავლის დროს შენიშნეს, რომ ფოთლის შეფერილობის დამემკვიდრება არ ექვემდებარება მენდელისეულ კანონზომიერებებს. მე-20 საუკუნის 60-იანი წლების დასაწყისში კი დადგენილ იქნა, რომ გენეტიკურ მასალას (დნმ), ბირთვის გარდა, შეიცავს ციტოპლაზმის ორგანელებიც - ქლოროპლასტები და მიტოქონდრიები. ეს ორგანელები უჯრედში ძირითადად ენერგეტიკული ფუნქციის განხორციელებას ემსახურება. მიტოქონდრიებში ხდება ჟანგვითი ფოსფორილირება და ენერგიის აკუმულირება ქიმიურ კავშირებში, ხოლო ქლოროპლასტები ფოტოსინთეზის რეაქციებს ემსახურება და მზის ენერგიას ორგანულ ნაერთთა ქიმიურად აქტიური ბმების ენერგიად გარდაქმნის. როგორც გაირკვა, მათი გენომი წარმოდგენილია დნმ-ის ავტონომიური მოლეკულებით, რომელთა ფუნქციონირების რეგულაცია მიმდინარეობს საკუთარი, დამოუკიდებელი მექანიზმით. შესაბამისად, განაპირობებს ე.წ. *ციტოპლაზმური,* ანუ ქრომოსომგარე მემკვიდრეობის მოვლენებს. ამ დროს რომელიმე ნიშან-თვისების შთამომავლობაში გადაცემა არ ექვემდებარება მენდელის კანონებს.

მაშასადამე, ევკარიოტულ გენომში, ბირთვულის გარდა, მიტოქონდრიული და ქლოროპლასტური გენეტიკური სისტემებიც ფუნქციონირებს. მათი გენომი ამ ორგანელების ფუნქციონირებისთვის აუცილებელ რნმ-ისა და ცილის მოლეკულებს აკოდირებს. ამასთან, ორივე ტიპის ორგანელი საჭირო ცილების ნაწილს იყენებს ციტოპლაზმური ცილებიდან, რომელთა კოდირება ბირთვული გენეტიკური სისტემის საშუალებით ხდება. ამიტომაც ამბობენ, რომ ორგანელების გენომი წარმოადგენს ნახევრად ავტონომიურ გენეტიკურ სისტემას.

დღეისათვის შესწავლილი ყველა ციტოპლაზმური ორგანელის გენომი შეიცავს დნმ-ის ერთ ორჯაჭვიან მოლეკულას უნიკალური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით. ჩვეულებრივ, ორგანელების გენომს რგო-

ლის ფორმა აქვს. გამონაკლისს წარმოადგენს ინფუზორიების წრფივი მიტოქონდრიული დნმ.

მიტოქონდრიების გენომი

მიტოქონდრიები, როგორც უჯრედის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი კომპონენტი, გვხვდება ყველა ევკარიოტულ ორგანიზმში და ისინი უჯრედში ენერგეტიკული სადგურის ფუნქციას ასრულებს. სხვადასხვა ორგანიზაციული დონის ორგანიზმების უჯრედები შეიცავს სხვადასხვა რაოდენობისა და ზომის მიტოქონდრიებს. შესაბამისად, მიტოქონდრიული დნმ-ის რაოდენობა მათში განსხვავებულია. მაგალითად, საფუვრის მიტოქონდრიების დნმ, უჯრედში არსებული დნმ-ის საერთო რაოდენობის 18%-ს შეადგენს, ზოგიერთი ძუძუმწოვრის, მათ შორის, ადამიანის უჯრედში კი 1- 5%-ს არ აღემატება. ეს გარემოება, მიუხედავად ერთნაირი ფუნქციისა, მათი გენეტიკური ორგანიზაციის მნიშვნელოვან სხვაობაზე მიუთითებს.

ზოგადად, მიტოქონდრიული გენომი ხასიათდება მთელი რიგი თავისებურებებით. პირველი სენსაციური განაცხადი ამ მიმართებით 1979 წელს გაკეთდა, როცა აღმოჩენილ იქნა, რომ ზოგიერთ მიტოქონდრიულ გენომზე არ ვრცელდება გენეტიკური კოდის უნივერსალობის თვისების გარკვეული ასპექტები. კერძოდ, ადამიანის მიტოქონდრიებში *აუა* კოდონი, სტანდარტული კოდისგან განსხვავებით, ამინომჟავა იზოლეიცინის ნაცვლად, მეთიონინის სინთეზს განაპირობებს. არგინინის მაკოდირებელი ტრიპლეტები - *აგა* და *აგგ* - მიტოქონდრიულ გენომში სტოპ-კოდონებია.

მიტოქონდრიული გენომის მომდევნო თავისებურებას წარმოადგენს ტ-რნმ-ის მიერ ერთდროულად ოთხი კოდონის ამოცნობის შესაძლებლობა. ეს ამცირებს კოდონში მესამე ნუკლეოტიდის მნიშვნელობას და, საბოლოო ჯამში, გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის დროს გაცილებით ნაკლებ ტ-რნმ-ის მოლეკულებს საჭიროებს. სულ 22 ტ-რნმ-ს შეუძლია კოდის 64 კოდონის ამოცნობა, მაშინ, როცა ბირთვულ გენომში, მინიმუმ, 32 ტ-რნმ-ია საჭირო, ზოგიერთ შემთხვევაში კი - 61.

მიტოქონდრიული გენომისათვის ზოგჯერ კოდის გადაფარვადობაა დამახასიათებელი. მაგალითად, ქათმის მიტოქონდრიულ გენომში ტი-

როზინის გადამტანი ტ-რნმ-ის გენი გადაიფარება ცისტეინის ტ-რნმ-ის გენით. აღსანიშნავია, რომ ძუძუმწოვრების მიტოქონდრიების რიბოსომები შედარებით მცირე ზომისაა და მათი სედიმენტაციის მუდმივა 55 S-ის ტოლია (ევკარიოტული რიბოსომების ზომა 80 S, ხოლო პროკარიოტების - 70 S შეადგენს). ამავე დროს, მცენარეებში მიტოქონდრიები, პროკარიოტების მსგავსად, შეიცავს 70 S რიბოსომებს.

სხვადასხვა ორგანიზმის მიტოქონდრიულ გენომებს მეტ-ნაკლებად განსხვავებული, მაგრამ, ზოგადად, პროკარიოტების მსგავსი რეპლიკაციის სისტემა აქვთ. სხვადასხვა ორგანიზმში, ასევე, განსხვავებულია გენეტიკური ინფორმაციის ტრანსკრიფციისა და ტრანსლაციის სისტემებიც.

ამჟამად გაშიფრულია სხვადასხვა ორგანიზმის, მათ შორის, საფუვრების, მცენარეების, ადამიანის მიტოქონდრიული გენომები. მიუხედავად იმისა, რომ სხვადასხვა ორგანიზმის მიტოქონდრიული დნმ-ის მოლეკულები მნიშვნელოვნად განსხვავებულია, მათ შენარჩუნებული აქვს საერთო თავისებურებებიც.

მიტოქონდრიული გენომის შესასწავლად ყველაზე მოსახერხებელ ობიექტს საფუვრები წარმოადგენს. მათ უჯრედში, საშუალოდ, 22 მიტოქონდრიაა და ყოველ მათგანში დნმ-ის ოთხი ასლია. ჯამში, საფუვრის ზრდად უჯრედში მიტოქონდრიების წილად უჯრედის მთელი დნმ-ის 18%-მდე მოდის. მიტოქონდრიული დნმ აკოდირებს რ-რნმ-ის, ტ-რნმ-ისა და ცილის მოლეკულების (ციტოქრომ-c-ოქსიდაზა, ციტოქრომ b და ატფ-აზა) სუბერთეულებს. დადგენილია, რომ მიტოქონდრიებში ცილის სინთეზი ძირითადად ბირთვული გენებით კოდირდება, მაგრამ მიტოქონდრიული გენების მონაწილეობა ამ პროცესში აუცილებელია.

მაშასადამე, მიტოქონდრიების ცილის სინთეზის აპარატი შერეული ხასიათისაა. ეს თვისება შესაბამისი ორგანელების (მიტოქონდრიული და ქლოროპლასტური) გენომების ზოგად თავისებურებას წარმოადგენს. ცილოვანი კომპონენტების დიდი ნაწილი ტრანსპორტირდება გარემომცველი ციტოპლაზმიდან. ორგანელების მემბრანებში ნუკლეინის მჟავების გადატანა არ ხდება არც ერთი მიმართულებით - არც ციტოპლაზმიდან ორგანელებში, არც პირიქით. ამიტომ ცილის სინთეზის აპარატში ყველა ტიპის მ-რნმ-ის მოლეკულა თვით ორგანელებში სინთეზირდება. მაგა-

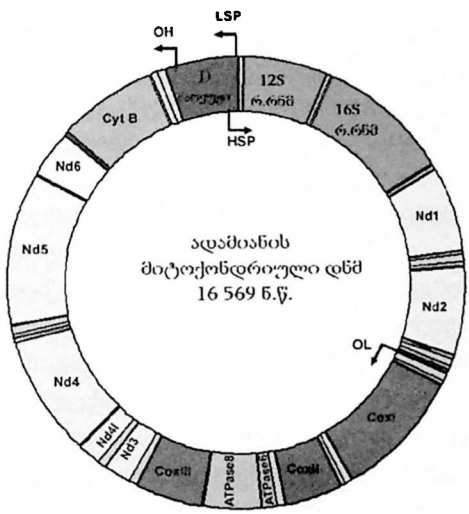
ლითად, საფუვრების მიტოქონდრიებიდან გამოყოფილი და შესწავლილი იქნა 8 სხვადასხვა მ-რნმ-ის მოლეკულა, რომელთა ტრანსკრიფცია წარმოებს ბირთვული გენებით კოდირებული რნმ-პოლიმერაზის მეშვეობით. აღმოჩნდა, რომ მხოლოდ მიტოქონდრიაში ტრანსკრიბირებულ მ-რნმ-ს შეუძლია მათი ტრანსლაცია ორგანელის შიგნით.

საფუვრების გენომში ზოგიერთი მიტოქონდრიული გენი, ადამიანისგან განსხვავებით, მოზაიკური აგებულებისაა და შეიცავს ინტრონებს. მისი ერთ-ერთი გენის (box - გენი) სექვენირებისას აღმოჩნდა, რომ მის სტრუქტურაში შედის 6 ეგზონი და 5 ინტრონი. სპლაისინგის შედეგად პირველი და მეორე ეგზონებისა და მეორე ინტრონების ნაწილის გაერთიანებით მიიღება მ-რნმ, რომელიც ფერმენტ მატურაზის ტრანსლაციას უზრუნველყოფს.

მიტოქონდრიული გენომი უზრუნველყოფს სუნთქვითი ჯაჭვის 13 ცილოვანი სუბერთეულის კოდირებას. ყველა დანარჩენ ცილას აკოდირებს ბირთვული გენომი. მათ შორის, ელექტრონების გადამტანი, მიტოქონდრიული დნმ-ის ტრანსკრიფციის, ტრანსლაციისა და რეპლიკაციის პროცესებში მონაწილე ცილებს. ამიტომ ამბობენ, რომ მიტოქონდრიების ფუნქციონირება ორი გენომის - ბირთვული და მიტოქონდრიული გენომების „დიალოგის“ შედეგია.

მცენარეული მიტოქონდრიული გენომი, ცხოველურთან შედარებით, უფრო დიდი ზომებით ხასიათდება და, ამასთან, ის ცვალებადია სხვადასხვა სახეობაში. მცენარეულ უჯრედში 50-200 მიტოქონდრია გვხვდება. ყოველი მათგანი საკუთარი გენომის 1-დან 100-მდე ასლს შეიცავს. მცენარეული მიტოქონდრიული დნმ-ის დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს მასში არაკოდირებადი უბნებისა და გრძელი გამეორებადი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების არსებობა. ამით ის განსხვავდება ცხოველებისა და ადამიანის მიტოქონდრიული დნმ-ისაგან, რომელიც იშვიათი გამონაკლისის გარდა, ინტრონებსა და გამეორებად უბნებს არ შეიცავს. მცენარეული ქლოროპლასტური გენომისაგან განსხვავებით, მიტოქონდრიები, ასევე, შეიცავს წრიულ და წრფივ პლაზმიდებს. მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები და რეკომბინაციები მამრობით ციტოპლაზმურ სტერილობას განაპირობებს, რომელიც მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების მომწიფების დარღვევას იწვევს.

ამჟამად გაშიფრულია ადამიანის მიტოქონდრიების გენომიც (სურ.3.11). დადგენილია, რომ ის შეიცავს 16 569 ნ.წ.-ს. მიტოქონდრიული დნმ-ის რაოდენობა უჯრედის დნმ-ის საერთო რაოდენობის 1%-ს შეადგენს. დნმ-ის მოლეკულა შედგება ერთი მძიმე - H (ინგლ. heavy) და ერთი მსუბუქი L (ინგლ. light) ჯაჭვისაგან. H-ჯაჭვი უფრო მეტად პურინულ ფუძეებს შეიცავს, ხოლო L-ჯაჭვი - პირიმიდინულს. ისევე, როგორც სხვა მიტოქონდრიული გენომი, ადამიანის მიტოქონდრიული გენომიც ნახევრად ავტონომიურ გენეტიკურ სისტემას წარმოადგენს. გენების მეტი წილი ბირთვის გენომშია ლოკალიზებული, ნაკლები - მიტოქონდრიულში.



სურ. 3.11. ადამიანის მიტოქონდრიული გენომის სქემა

გენომში შედის:

- რ-რნმ-მაკოდირებელი გენები (12 S და 16 S);
- 22 ტ-რნმ-ის (ყველა საჭირო) გენი;
- ატფ-აზას მე-6 და მე-8 სუბერთეულის
- მაკოდირებელი გენები;
- ციტოქრონ-ხ გენი;
- ნად.H-დეჰიდროგენაზას შვიდი სუბერთეულის მაკოდირებელი გენი.

ყველა ცილის (ერთის გამოკლებით), ექვსი ტ-რნმ-ისა და ორი რ-რნმ-ის ტრანსლაცია მძიმე ჯაჭვიდან (H) ტრანსკრიბირებული მ-რნმ-ის მეშვეობით ხდება; დანარჩენი ტ-რნმ-ის მოლეკულებისა და ერთი ცილის - მსუბუქი (L) ჯაჭვიდან.

მიტოქონდრიულ გენომში მომხდარი ცვლილებები, მათ შორის წერტილოვანი მუტაციები და დელეციები, უჯრედში ენერგეტიკული კრიზისის მიზეზი ხდება და ნეგატიურად აისახება ორგანიზმის ძირითად ფუნქციებზე. ადამიანის მიტოქონდრიულ გენომში მომხდარი ასეთი ცვლილებები სხვადასხვა მძიმე დაავადების მიზეზი ხდება. იგი ძირითადად იწვევს ნერვული სისტემის, კუნთების, მხედველობისა და გულის პათოლოგიებს. მიუხედავად იმისა, რომ მიტოქონდრიული დარღვევები დედის გზით გადაეცემა თაობებს, რიგ შემთხვევებში ასეთი დაავადებების მემკვიდრეობითობა მენდელის კანონებს ექვემდებარება, რაც კიდევ ერთხელ ადასტურებს მიტოქონდრიულ პროცესებში ბირთვული გენების მონაწილეობას.

უკანასკნელ პერიოდში ინტენსიურად მიმდინარეობს ადამიანის მიტოქონდრიული გენომის შესწავლა. დადგენილია, რომ მიტოქონდრიული გენების დამემკვიდრება უპირატესად დედის გზით ხდება, რადგან ახალშობილი მიტოქონდრიებს კვერცხუჯრედიდან იღებს. *ალან ვილსონის (Allan Wilson)* მიერ სხვადასხვა ეთნოსის 147 ადამიანის მიტოქონდრიული გენომის შედარებითი ანალიზის საფუძველზე, გამოითქვა მოსაზრება, რომ ყველა მათგანი წარმოადგენს ერთი - საერთო გენომის დივერგენციის შედეგს. პოპულარულ სამეცნიერო ლიტერატურაში ამ კვლევამ დიდი გამოხმაურება ჰპოვა და გარკვეული უტრირებაც კი მოახდინა, რომ, თითქოს, ყველა ადამიანი შთამომავალია ერთი ქალისა, რომელიც 200 ათასი წლის წინათ აფრიკაში ცხოვრობდა.

მიტოქონდრიულ გენომში მომხდარი ცვლილებების კლინიკური შედეგები

მიტოქონდრიული გენეტიკური სისტემისა და მასში მიმდინარე ბიოქიმიური პროცესების ცოდნა საფუძვლად დაედო მიტოქონდრიული გენომის მუტაციებით გამოწვეული სხვადასხვა ტიპის დაავადების პათოგენეზის შესწავლას. ყველა ცნობილი მიტოქონდრიული დაავადების

გამომწვევ მიზეზად მიიჩნევა მიტოქონდრიული გენომის მუტაციები, მიტოქონდრიულ პროცესებში ჩართული ბირთვული გენების მუტაციები და ბირთვულ და მიტოქონდრიულ გენომებს შორის სასიგნალო კავშირების დარღვევა.

მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციებით გამოწვეული დაავადებებიდან პირველად აღწერილ იქნა *ლებერის მემკვიდრეობითი ოპტიკური ნეიროპათია*. ადრეულ სიყმაწვილეში განვითარებული მხედველობის ნერვის დეგენერაციის გამო, ეს დაავადება უეცარ სიბრმავეს იწვევს.

მიტოქონდრიული დეფექტები, ხშირად, *კარდიომიოპათიის* მიზეზი ხდება. ეს ლოგიკურიცაა, რადგან გულის კუნთის მუშაობა მიტოქონდრიების ჟანგვითი მეტაბოლიზმის პროცესებზეა დამოკიდებული.

სხვადასხვა ტიპის კარდიომიოპათიების გარდა, მიტოქონდრიული გენეტიკური სისტემის დაზიანებით გამოწვეული ასობით სხვადასხვა დაავადებაა აღწერილი. ეს დაავადებები, უმეტეს შემთხვევაში, მულტისისტემური ხასიათისაა.

მიტოქონდრიული დნმ-ის დელეციები და წერტილოვანი მუტაციები ხშირად მძიმე მიტოქონდრიული დაავადებების მიზეზი ხდება. ერთერთი გავრცელებული საშიში დაავადება, რომელიც ადრეულ ასაკში ვლინდება, არის *აციდოზი (სინდრომი MELAS)*. დაავადებას იწვევს მიტოქონდრიული დეფექტები, რის გამოც ვერ ხერხდება გლიკოლიზის პროდუქტების უტილიზაცია და ორგანიზმში რძემჟავა გროვება. დაავადება ყველაზე ხშირად ვლინდება 5-15 წლის ასაკში. უმეტეს შემთხვევაში, აციდოზი იწყება ინსულტის მსგავსი ეპიზოდებით, ავთვისებიანი შაკიკითა და ფსიქომოტორული განვითარების შეფერხებებით. დაავადება პროგრესირებს ნევროლოგიური სიმპტომატიკის (ეპილეფსია, ფსიქომოტორული რეგრესია, სმენის ნეიროსენსორული დაქვეითება) გაძლიერებითა და ენდოკრინული (შაქრიანი დიაბეტი) დარღვევებით.

კერნს-საირის სინდრომი მიტოქონდრიული დნმ-ის დელეციებით გამოწვეული დაავადებაა. მისი პირველი სიმპტომები - პტოზი (ზედა ქუთუთოს დაშვება), კიდურების პროქსიმალური უბნების კუნთების სისუსტე, თვალის ბადურის პიგმენტური დეგენერაცია - ვლინდება 4-დან 20-წლამდე ასაკში. დაავადების პროგრესირებისას ჩამოთვლილ სიმპტომებს ემატება კარდიომიოპათია, მხედველობის ნერვის ატროფია,

ენდოკრინული დარღვევები. ზოგჯერ ადგილი აქვს ინტელექტის დაქვეითებას. ასეთი ავადმყოფები დაავადების დასაწყისიდან 10-20 წლის შემდეგ იღუპებიან გულ-სისხლძარღვთა უკმარისობით.

ქლოროპლასტების გენომი

უჯრედში ქლოროპლასტების არსებობა მცენარეული ორგანიზმების ერთ-ერთ მთავარ განმასხვავებელ თავისებურებას წარმოადგენს. ამ ორგანელების მთავარი ფუნქციაა ფოტოსინთეზი - მზის ენერგიის ხარჯზე წყლისა და ნახშირორჟანგისაგან ნახშირწყლების სინთეზი.

ქლოროპლასტებს ავტონომიური გენომი აქვს, რომელიც მცენარეულ უჯრედში მრავალი ასლის სახით არის წარმოდგენილი. ქლოროპლასტური დნმ უფრო დიდი ზომისაა, ვიდრე მიტოქონდრიული და სახეობების მიხედვით ვარირებს 130 000-დან 160 000 ნ.წ.-ის ფარგლებში. ქლოროპლასტების დნმ-ის მოლეკულა წარმოადგენს შეკრული რგოლის ფორმის ორჯაჭვიან სტრუქტურას. ქლოროპლასტური გენომი შეიძლება შევადაროთ დიდი ზომის ბაქტერიოფაგის, მაგალითად, ფაგ T4-ის გენომს. უმდაბლეს მცენარეებში მისი წილი უჯრედული დნმ-ის საერთო რაოდენობასთან შედარებით საკმაოდ დიდია. უმაღლეს მცენარეებში, პირიქით, ქლოროპლასტების დნმ უჯრედის საერთო დნმ-ის შედარებით მცირე ნაწილს წარმოადგენს.

„გენომის“ პროექტის ფარგლებში გაშიფრულია რამდენიმე სხვადასხვა სახეობის მცენარის ქლოროპლასტების გენომის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. დადგენილია ქლოროპლასტების გენომის ორგანიზაციის საერთო პრინციპები, რომელთაგან აღსანიშნავია ევოლუციის პროცესში მისი კონსერვატიულობა. ამჟამად ცნობილია, რომ ქლოროპლასტური გენომი შეიცავს დაახლოებით 100-120 გენს. ესენია:

- ტ-რნმ-ის გენები;
- რ-რნმ-ის გენები;
- რიბოსომური ცილების მაკოდირებელი გენები;
- ტრანსლაციის ინიციაციის ფაქტორის (ინგლ. Translation Initiation Factor - IF1) გენი;
- ფოტოსისტემის ცილოვანი კომპონენტების მაკოდირებელი გენები;

- ელექტრონული ტრანსპორტის სისტემის გენები;
- NADH (ნად.H-ნიკოტინამიდადენინნუკლეოტიდ დეჰიდროგენაზას) მაკოდირებელი გენები.

მიუხედავად იმისა, რომ ქლოროპლასტებს ავტონომიური გენომი და გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის საკუთარი აპარატი აქვთ, მათი ფუნქციონირებისთვის, ისევე, როგორც მიტოქონდრიების შემთხვევაში, აუცილებელია ბირთვული გენეტიკური აპარატის თანამონაწილეობა. ამის გარეშე ვერ მოხერხდება ქლოროპლასტების ძირითადი ფუნქციის - ფოტოსინთეზის განხორციელება. ჰიბრიდული ცილების სუბერთეულების გაერთიანება ხდება ქლოროპლასტებში, მაშინ, როცა მათი ნაწილი ციტოპლაზმის, ხოლო ნაწილი ბირთვული და ქლოროპლასტური გენებით კოდირდება.

ამრიგად, ცილის სინთეზის აპარატის ნაწილი ქლოროპლასტებში ავტონომიურად კონტროლდება (ტ-რნმ, რ-რნმ, IF1 ფაქტორი), ნაწილი - ბირთვული გენებით (ელონგაციისა და ტერმინაციის ფაქტორები, რიბოსომური ცილები), ნაწილი კი - (ფოტოსისტემის ცილოვანი კომპონენტები, ელექტრონ-ტრანსპორტული სისტემის კომპონენტები) ერთობლივად.

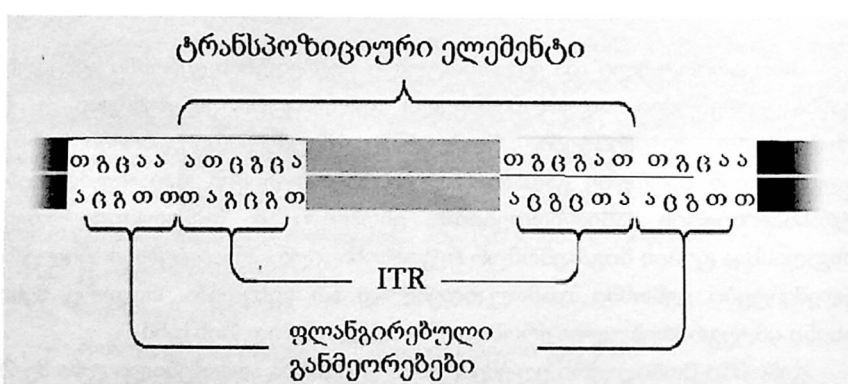
3.7. მობილური გენეტიკური ელემენტები

პროკარიოტული და ევკარიოტული უჯრედების გენომში გვხვდება განსაკუთრებული, ადგილმონაცვლე გენეტიკური ელემენტები, ე. წ. *მობილური ელემენტები,* რომლებსაც შეუძლიათ გენომში ერთი ადგილიდან მეორეზე გადაადგილება. ასეთი ტიპის გადაადგილებები ტრანსპოზიციის სახელწოდებითაა ცნობილი და საფუძვლად უდევს სხვადასხვა ტიპის შიგაგენომურ რეკომბინაციულ პროცესებს. მობილური ელემენტები გენომში დამოუკიდებლად არ გვხვდება. როგორც წესი, ისინი ინტეგრირებულია ქრომოსომის ან პლაზმიდების დნმ-ში.

გენომში მობილური ელემენტების არსებობა აღმოჩენილი იქნა მე-20 საუკუნის 40-იან წლებში, ამერიკელი მეცნიერის - *ბარბარა მაკკლინტოკის (Barbara McClintock)* მიერ. მან ექსპერიმენტებით დაასაბუთა სიმინდში განსაკუთრებული გენის არსებობის მოვლენა, რომელსაც შეუძლია

გამოიწვიოს ქრომოსომების წყვეტა, და აქვს ქრომოსომის ერთი ადგილიდან მეორეზე გადაადგილების უნარი. ტერმინი „ტრანსპოზიციაც“ სწორედ მის მიერ იქნა შემოტანილი, მაგრამ ამ მოვლენის მოლეკულური საფუძვლების ახსნა საკმაოდ დიდხანს ვერ მოხერხდა. მხოლოდ, პროკარიოტული ტრანსპოზიციული ელემენტების შესწავლის შემდეგ გახდა შესაძლებელი, ევკარიოტებშიც აეხსნათ ტრანსპოზიციის მოლეკულური მექანიზმები.

ამჟამად მობილური გენეტიკური ელემენტები აღმოჩენილია მცენარეებისა და ცხოველების მრავალ სახეობასა და მიკროორგანიზმებში. პროკარიოტებისა და ევკარიოტების მობილური ელემენტები, ძირითადად, მსგავსი სქემითაა აგებული. მათი სტრუქტურა წარმოდგენილია ცენტრალური ნაწილითა და ფლანგებით (დნმ-თანამიმდევრობები, რომლებიც სპეციფიკური ლოკუსის ორივე მხრიდანაა განლაგებული) ინვერტირებადი ტერმინალური განმეორებებით (ინგლ. inverted terminal repeats - ITR), როგორც წესი, ცენტრალურ ნაწილში განლაგებულია ტრანსპოზიციური ცილის - ტრანსპოზაზას მაკოდირებელი გენი ან გენები (სურ. 3.12). ტრანსპოზონები, რომელსაც გრძელი ინვერტირებადი თანამიმდევრობები აქვს (რეტროტრანსპოზონები), ტრანსპოზაზას შესატყვის ფერმენტს - ინტეგრაზას აკოდირებს.



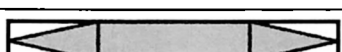
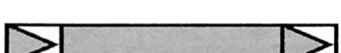
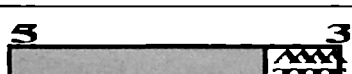
სურ. 3.12. ევკარიოტული მობილური გენეტიკური ელემენტების სტრუქტურა. ITR - ინვერტირებადი განმეორებები

გამეორებადი თანამიმდევრობები წარმოადგენს ტრანსპოზიციის აუცილებელ პირობას, რადგან ტრანსპოზაზასთან დაკავშირება სწორედ მათი მეშვეობით ხდება და რეკომბინაციის პროცესებიც სწორედ ამ უბანში წარმოებს (ცხრ. 2). ყველა მობილური ელემენტი ორივე ბოლოზე რამდენიმე ნუკლეოტიდის სიგრძის დუპლიცირებული ფლანგებია პირდაპირი გამნმეორებებით (დპგ). მობილურ ელემენტებში ამ თანამიმდევრობების რაოდენობა, უმეტესად, შედარებით მუდმივია და დაახლოებით 5-ის ტოლია, მაგრამ განსხვავებულია მათი ნუკლეოტიდური შედგენილობა. როგორც ჩანს, ამის მიზეზს წარმოადგენს დნმ-სამიზნის (სადაც მათი ჩართვა ხდება) შემთხვევითი შერჩევა.

აღსანიშნავია, რომ გამონაკლისის სახით არსებობს მობილური ელემენტების განსაკუთრებული ჯგუფი, რომლებსაც არ გააჩნია ბოლოებზე გამეორებადი თანამიმდევრობები.

ცხრილი 2.

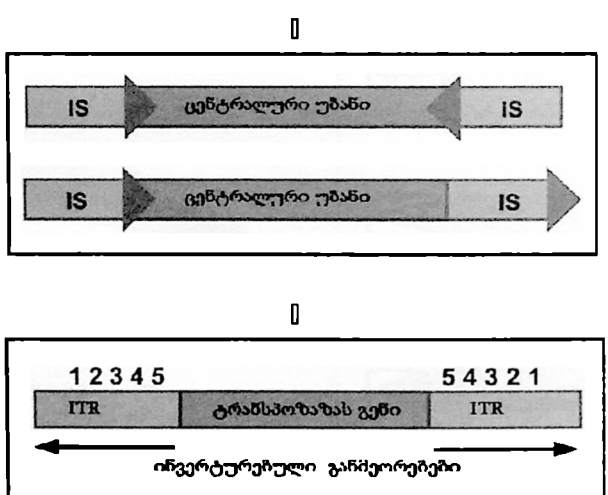
მობილური ელემენტების ძირითადი ტიპები

სტრუქტურა	ტრანსპოზიციის ძირითადი გენი
 მოკლე ინვერტირებული განმეორებებით	აკოდირებს ტრანსპოზაზას
 გრძელი ინვერტირებული განმეორებებით	აკოდირებს ტრანსპოზაზას
 პირდაპირი განმეორებებით	აკოდირებს უკუტრანსკრიფტაზას
	აკოდირებს უკუტრანსკრიფტაზას

პროკარიოტული გენომის მობილური გენეტიკური ელემენტები

პროკარიოტულ გენომში, მათ შორის, პლაზმიდებში, გვხვდება მობილური ელემენტები მოკლე ან გრძელი ინვერტირებადი ბოლოებით. დუპლიცირებული პირდაპირი განმეორებების რაოდენობა 5 ან 9 ნ.წ.-ს შეადგენს. ისინი ორ ძირითად ჯგუფად იყოფა: ინსერციული თანამიმდევრობები, ანუ IS (ინგლ. Insercion Sequence) ელემენტები და საკუთრივ ტრანსპოზონები (სურ. 3.13). IS ელემენტები უმარტივეს ტრანსპოზონებს წარმოადგენს.

ინსერციული თანამიმდევრობები (IS) ყველაზე მარტივი მობილური ელემენტებია. მათი სიგრძე, დაახლოებით, 1 500-2 500 ნ.წ.-ს შეადგენს. ისინი შეიცავენ ტრანსპოზაზის მაკოდირებელ გენს, რომელიც გაყოფილია ფლანგებად ორი ინვერტირებადი თანამიმდევრობით (სურ.3.13.ა). ტრანსპოზიციის რეაქციის დროს ჯერ IS ელემენტის რეპლიცირება ხდება, შემდეგ მიღებული ასლი ჩაერთვება ახალ ლოკუსში. IS ელემენტის სტრუქტურაში შედის კოდონი ინიციატორი, ტერმინატორი და პრომოტორული უბანი, რომლებსაც შეუძლია, გავლენა იქონიოს არა მარტო თავიანთი, არამედ გვერდით განლაგებული გენების ექსპრესიაზე.



სურ. 3.13. პროკარიოტების მობილური გენეტიკური ელემენტების ზოგადი სტრუქტურა. 1 - IS ელემენტები; 2 - ტრანსპოზონები

ტრანსპოზონები. მობილური ელემენტების ეს ჯგუფი ცენტრალურ ნაწილში შეიცავს არა მარტო ტრანსპოზაზას მაკოდირებელ გენს, არამედ გენებს, რომლებიც ტრანსპოზიციის პროცესში არ მონაწილეობს. ბოლოები წარმოდგენილია უფრო გრძელი ინვერტირებადი ფლანგებით, რომლებიც, შესაძლოა, IS ელემენტებს შეიცავდეს (სურ. 3.13-ბ.). ყველაზე ხშირად ეს არის ანტიბიოტიკების, სამკურნალო პრეპარატებისა და ტოქსინებისადმი მდგრადობის ფაქტორები. როცა ისინი პირველად იქნა შესწავლილი, მათ ტრანსპოზონები (Tn - transposon) უწოდეს. მოგვიანებით, ტრანსპოზონები ეწოდა გენომის ყველა მობილური ელემენტს.

ევკარიოტული გენომის მობილური გენეტიკური ელემენტები

ევკარიოტების მობილური ელემენტები გაცილებით მეტი მრავალფეროვნებით ხასიათდება, ვიდრე პროკარიოტების. ევკარიოტულ გენომში გვხვდება, როგორც პროკარიოტული ტიპის ტრანსპოზონები, ისე მხოლოდ მათთვის დამახასიათებელი, ე. წ. რეტროტრანსპოზონები.

პროკარიოტული ტიპის ტრანსპოზონები, მოკლე ინვერტირებადი თანამიმდევრობებით, აღმოჩენილია, მაგალითად, დროზოფილას გენომში. უმეტესწილად კი ევკარიოტებში რეტროტრანსპოზონები გვხვდება.

რეტროტრანსპოზონები, თავის მხრივ, იყოფა ორ კლასად:

- რეტროტრანსპოზონები - ბოლოებზე გრძელი გამეორებადი თანამიმდევრობებით;
- რეტროტრანსპოზონები - ბოლოებზე გამეორებადი თანამიმდევრობების გარეშე ე.წ. რეტროელემენტები.

პირველი კლასის რეტროტრანსპოზონების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმი ძალიან ჰგავს რნმ-შემცველი ვირუსების მასპინძლის ქრომოსომაში ჩართვის მოლეკულურ მექანიზმს. რეტროტრანსპოზონები ჯერ ტრანსკრიბირდება რნმ-ის მოლეკულებად, ხოლო შემდეგ ფერმენტ უკუტრანსკრიფტაზის ზემოქმედებით, რნმ-მატრიცაზე კვლავ დნმ-ის მოლეკულები ყალიბდება. დნმ-ის ეს მოლეკულები ინტეგრაზის (იგივე ტრანსპოზაზა) ფერმენტული აქტივობის შედეგად რანდომულად ინტეგრირდება გენომში.

მეორე კლასის რეტროტრანსპოზონები (რეტროელემენტები) ორი ტიპისაა - გრძელი (ინგლ. Long Interspersed Nuclear Elements - LINE) და მოკლე (ინგლ. Short Interspersed Nuclear Elements - SINE). ორივე ტიპის ტრანსპოზონი (LINE, SINE) ფართოდაა გავრცელებული უმაღლესი ძუძუმწოვრების გენომში. ადამიანის გენომის დანაწევრება მნიშვნელოვანწილად ტრანსპოზონების დაგროვების შედეგს წარმოადგენს. ზოგიერთი ტიპის LINE-ელემენტები, რომელთაც გრძელ დისპერგირებად (გაფანტულ) ელემენტებსაც უწოდებენ, ადამიანის გენომში დაახლოებით 5000 ასლის სახით გვხვდება. ხერხემლიანთა გენომში განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით მოკლე დისპერგირებულიი (SINE-ელემენტები), იგივე Alu-ოჯახის თანამიმდევრობებია. ისინი ადამიანის გენომის 5%-ს ქმნის და დაახლოებით 500 000 ასლით არის წარმოდგენილი.

მობილურ რეტროელემენტებს დიდი ბიოლოგიური მნიშვნელობა აქვს. ისევე, როგორც სხვა მობილური გენეტიკური ელემენტები, ისინი ქრომოსომურ გარდაქმნებს იწვევს და გენებში ჩართვის გზით განაპირობებს მათ ინაქტივაციას. ითვლება, რომ რეტროელემენტები მნიშვნელოვან ფუნქციას ასრულებს კანცეროგენეზში; შეუძლია ქრომოსომაში პროონკოგენების წინ ჩართვა და თავისი რეგულატორული ელემენტების მეშვეობით პროონკოგენების აქტივაცია, რაც, თავის მხრივ, არაკონტროლირებადი უჯრედული გაყოფის სტიმულირებას უწყობს ხელს.

თავი 4. გენის სტრუქტურული ორგანიზაცია

4.1. გენის ცნების ევოლუცია

გენის ცნების თანამედროვე განმარტებებში საუკუნეზე მეტი ხნის განმავლობაში გაწეული მეცნიერული შრომის შედეგებია წარმოდგენილი. თავდაპირველად მემკვიდრეობითობის დისკრეტული ფაქტორების შესახებ მხოლოდ ჰიპოთეზები არსებობდა. პირველი გენეტიკური ექსპერიმენტებით დაწყებული, თანამედროვე მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევის შედეგებით დამთავრებული, იცვლებოდა წარმოდგენები გენის ცნების შესახებ.

დიდი ხნის განმავლობაში გენი განიხილებოდა, როგორც მემკვიდრეობითობის ელემენტარული ერთეული. ჯერ კიდევ მე-19 საუკუნის 60-იან წლებში *გრეგორ მენდელმა* ზუსტი ექსპერიმენტების განზოგადების საფუძველზე მიუთითა, რომ არსებობს ამა თუ იმ ნიშან-თვისების განმაპირობებელი ერთეული, რომელიც მშობლებიდან შთამომავლობას გადაეცემა. მან შემოიტანა ტერმინი „მემკვიდრეობითი ფაქტორი“, ხოლო თავად ტერმინი „გენი“ პირველად 1909 წელს იქნა შემოთავაზებული *ვილჰელმ იოჰანსენის (Wilhelm Johannsen)* მიერ. მენდელის გამოკვლევები შემდგომში გენის თეორიას დაედო საფუძვლად, რომლის თანახმად მემკვიდრეობითიი ფაქტორის - გენის ფუნდამენტურ თვისებებს წარმოადგენს:

- ყოველ კონკრეტულ ნიშანს განსაზღვრავს წყვილი ალტერნატიული მემკვიდრეობითი ფაქტორი, რაც თანამედროვე ტერმინოლოგიით გენის დომინანტური და რეცესიული ალელების შესატყვისია;
- ყოველ კონკრეტულ ნიშანს ფაქტორთა წყვილი განსაზღვრავს, ანუ მშობლებიდან შთამომავლობას მემკვიდრეობით გადაეცემა არა კონკრეტული ნიშანი ან თვისება, არამედ მათი მადეტერმინებელი გენები. ეს განსაზღვრება შემდგომში ალელიზმის პრინციპს დაედო საფუძვლად;
- გენი შედარებითი მდგრადობით ხასიათდება.

გენის ცნების შემდგომი დაკონკრეტება მოხდა ამერიკელი მეცნიერის - *თომას მორგანისა (Thomas Morgan)* და მისი სკოლის კვლევების საფუძველზე. გენეტიკური და ციტოლოგიური ექსპერიმენტებით დადგენილ იქნა, რომ გენები ლოკალიზებულია ქრომოსომის განსაზღვრულ უბანში (ლოკუსში) და წარმოადგენს რეკომბინაციულ, მუტაციურ და ფუნქციურ ერთეულს.

მოგვიანებით, რამდენადმე შეიცვალა კლასიკური შეხედულებები გენის შესახებ და დადგინდა, რომ გენი გაცილებით რთულ სტრუქტურას წარმოადგენს და დაყოფადია. გენის დაუყოფადობის კონცეფცია პირველად 1926 წელს *ალექსანდრე სერებროვსკის* მიერ იქნა უარყოფილი. მან კოლეგებს მოუწოდა, ეღიარებინათ ბენზერის ჰიპოთეზა „ყოფნა-არყოფნის“ (present-ubsent) შესახებ, რომლის თანახმად, დომინანტობა გენის არსებობით არის განპირობებული, ხოლო რეცესიულობა არარსებობით. ამ მოსაზრებას იმჟამინდელი რუსული გენეტიკური სკოლა არ ეთანხმებოდა, რის არგუმენტსაც წარმოადგენდა უკუმუტაციების შედეგად ველური ფენოტიპის წარმოქმნის შემთხვევების არსებობა. *სერებროვსკის* მოსაზრება გენის დაყოფადობადობის შესახებ ხსნიდა წინააღმდეგობას ბეტსონის ჰიპოთეზასა და ასეთი მუტაციების არსებობას შორის. აგრეთვე, ეს მოსაზრება საფუძველად დაედო მრავლობითი ალელიზმის მოვლენის ახსნას, როგორც ერთი გენის სხვადასხვა მიმართულებით ცვლილების აღიარებას. საყურადღებოა, რომ ეს კონცეფცია თანხვედრაშია თანამედროვე წარმოდგენებთან იმის შესახებ, რომ, რიგ შემთხვევებში, მუტაციების მიზეზი, შესაძლოა, გენომში მობილური გენეტიკური ელემენტების ჩართვის ან ამოვარდნის პროცესი იყოს. შემდეგში გენის დაყოფადობა ექსპერიმენტულად იქნა დადასტურებული *ნიკოლოზ დუბინინის* მიერ დროზოფილის X ქრომოსომაში ლოკალიზებული გენი *scute*-ს (*achaete scute*) მრავლობითი ალელების შესწავლის საფუძველზე. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით, მკვლევრებმა დაასკვნეს, რომ ერთი გენის სხვადასხვა უბანი ერთმანეთისაგან დამოუკიდებელ ცვლილებებს განიცდის და სწორედ ეს არის მრავალობითი ალელიზმის მიზეზი.

ამ თეორიას ავტორებმა *ბაზიგენური თეორია* უწოდეს, რომლის თანახმად, გენი რთული (ბაზიგენური) სტრუქტურისაა და შედგება დამოუკიდებელი ნაწილებისაგან - ცენტრებისაგან. მუტაციას შეიძლება

დაექვემდებაროს როგორც ცალკეული ცენტრი, ისე მათი ჯგუფი *(გენის ცენტრული თეორია).*

ამრიგად, კონცეფცია - გენი დაუყოფადია, ერთიანად ექვემდებარება მუტაციურ პროცესს და ის მუტაციის ერთეულია, - შეიცვალა კონცეფციით - გენი რთულია, დაყოფადია და მუტაციებს ექვემდებარება ცალკეული - შიგაგენური სტრუქტურები (საიტები).

მოგვიანებით, გენის რთული აგებულების იდეა დაამტკიცეს *ედუარდ ლუისმა ლუისმა (Edward Lewis)* შიდაგენური (დროზოფილას *lozenge* და *white* გენების) კროსინგოვერის ექსპერიმენტული დასაბუთებით.

მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში ჩატარებული კვლევებისა და აღმოჩენების საფუძველზე, გენის ცნების შინაარსი პერიოდულად ივსებოდა.

გენის რთული სტრუქტურის შესწავლაში დიდ წვლილი შეიტანა *სეიმურ ბენზერის (Seymour Benzer)* კვლევებმა. ფაგი T4-ის ათასზე მეტი მუტაციის განაალიზების საფუძველზე არა მარტო გენის დაყოფადობის ფაქტი იქნა დასაბუთებული, არამედ გამოყოფილი იქნა შიგაგენური ცვალებადობისა (მუტონი) და რეკომბინაციის (რეკონი) უმცირესი ერთეულები.

1945 წელს *ჯორჯ ბიდლისა და ედუარდ ტატუმის* მიერ ჩამოყალიბებულ იქნა ჰიპოთეზა „ერთი გენი - ერთი ფერმენტი". ამ ჰიპოთეზის თანახმად, უჯრედში ბიოქიმიური რეაქციების ყოველ ეტაპს ცილა-ფერმენტი აკატალიზებს, რომლის სინთეზზე ერთი კონკრეტული გენია პასუხისმგებელი. მაგრამ, როგორც მოგვიანებით დადგინდა, ზოგიერთი ცილის მოლეკულას მეოთხეული სტრუქტურა (მულტიმერული ცილები) აქვს, რომლის ფორმირებაში მონაწილეობს რამდენიმე პოლიპეპტიდური ჯაჭვი. ამიტომ ფორმულირება, რომელიც ასახავს კავშირს გენსა და ნიშანს შორის - „ერთი გენი - ერთი ფერმენტი", - დაზუსტდა და შეიცვალა ფორმულირებით - „ერთი გენი - ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი". აქედან გამომდინარე, გენი არც ელემენტარული ფუნქციური ერთეული აღმოჩნდა. ამ თვალსაზრისითაც იგი რთულ, კომპლექსურ სისტემას წარმოადგენს.

ამავე პერიოდისათვის გენის კვლევაში ფიზიკოსები ჩაებნენ, რამაც დიდი ბიძგი მისცა არა მარტო გენის შესახებ არსებული წარმოდგენების განვითარებას, არამედ, ზოგადად, საფუძველი ჩაუყარა ახლებურ მიდგომებს ბიოლოგიურ მეცნიერებებში. განსაკუთრებით საყურადღებოა ინგლისელი მეცნიერის, *ერვინ შრედინგერის (Erwin Schrodinger)* კვლევები, რომელთა შედეგებიც მან 1945 წელს გამოაქვეყნა. *შრედინგერის* მიხედვით, გენის სტრუქტურა შეგვიძლია წარმოვიდგინოთ გიგანტური მოლეკულის სახით, რომელშიც, შესაძლებელია, მოხდეს ლოკალური ცვლილებები. ეს ცვლილებები (მუტაციები) თავისი არსით წარმოადგენს ატომების გადაადგილებას და განაპირობებს იზომერული მოლეკულების წარმოქმნას. ეს წარმოდგენები, გარკვეული ცვლილებებითა და დეტალებით, სავსებით შეესაბამება თანამედროვე შეხედულებებს გენის შესახებ. „გენურ მოლეკულაში“ ატომთა ასეთმა გადაადგილებამ (მუტაციამ) შეიძლება დააზიანოს გენის მხოლოდ ნაწილი, მაგრამ შესაძლებელია, მოახდინოს გადანაწილება გენის სხვა უბნებზე.

1944 წელს *ოსვალდ ეივერის, კოლინ მაკ-კარტისა და მაკლინ მაკლეოდის* მიერ აღმოჩენილ იქნა, რომ დნმ-ის მოლეკულებს შეუძლია გენეტიკური მასალის გადატანა (ტრანსფორმაცია) ერთი ბაქტერიული უჯრედიდან მეორეზე. ამასთან, დეზოქსირიბონუკლეაზის (დნმ-ის დამშლელი ფერმენტი) ზემოქმედება არ იწვევს ტრანსფორმაციული აქტივობის მოშლას. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით გამოითქვა მოსაზრება, რომ არა ცილები, არამედ დნმ-ის მოლეკულა წარმოადგენს გენეტიკური ინფორმაციის (გენის) მატერიალურ მასალას.

ერვინ ჩარგაფის (Erwin Chargaff) მიერ მემკვიდრეობითი მასალის ქიმიური ორგანიზაციისა და მისი რეალიზაციის პროცესების შესწავლის საფუძველზე კი ჩამოყალიბდა მოსაზრება, რომ გენი დნმ-ის მოლეკულის ფრაგმენტს წარმოადგენს, რომელიც ტრანსკრიბირდება რნმ-ის მოლეკულების სახით და აკოდირებს ამინომჟავურ თანამიმდევრობას პოლიპეპტიდში ან კიდევ დამოუკიდებელ ტ-რნმ-ისა და რ-რნმ-ის მოლეკულებს.

ეს მოსაზრებები *როზალინდ ფრანკლინის, ფრენსის კრიკისა და ჯეიმს უოტსონის* კლასიკური მეცნიერული კვლევებით დადასტურდა.

დაბოლოს, დნმ-ის ფრაგმენტების იზოლირებისა და კლონირების, დნმ-ის სექვენირებისა და გენის სტრუქტურის კვლევის სხვა მეთოდების

გამოყენებით, შესაძლებელი გახდა გენის სტრუქტურის დეტალური შესწავლა. უკანასკნელ წლებში გენომში აღმოჩენილ იქნა რეგულატორული გენები, რომლებიც არ ტრანსკრიბირდება.

თანამედროვე მოლეკულურ-ბიოლოგიური განსაზღვრებით, გენი წარმოადგენს გენომური დნმ-ის (ზოგიერთ ვირუსში რნმ-ის) ფრაგმენტს, რომელიც განსაზღვრავს გარკვეულ სპეციფიკურ ფუნქციას. რეკომბინაციისა და მუტაციის ერთეულს კი წარმოადგენს ნუკლეოტიდური წყვილი. როგორც ვხედავთ, გენის კლასიკური განმარტებიდან მხოლოდ ერთი კრიტერიუმი - ფუნქციის ერთეული, - დარჩა. მიუხედავად ამისა, ეს განმარტებაც ზუსტად ვერ ასახავს გენის არსს. გადაფარვადი გენების, ალტერნატიული სპლაისინგის, ალტერნატიული პოლიადენილილირების დროს გენეტიკური მასალის ერთ დისკრეტულ ერთეულს ერთზე მეტი ნიშნის კოდირებაში შეუძლია მიიღოს მონაწილეობა.

გენის რთული სტრუქტურა არაერთგზის იყო დადასტურებული თანამედროვე მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდებით.

4.2. გენების კლასიფიკაცია

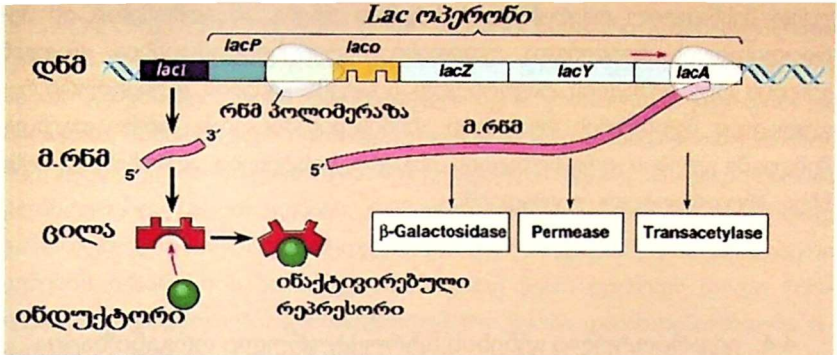
გენებს რთული სტრუქტურა აქვს და ფუნქციური თავისებურებებით ხასიათდება. ფუნქციის მიხედვით ისინი ორ კლასად შეიძლება დავყოთ - *სტრუქტურული გენები* და *ფუნქციური გენები*. სტრუქტურულ გენებს მიეკუთვნება გენები, რომლებიც აკოდირებს ცილებსა და რნმ-ის მოლეკულებს, ხოლო ფუნქციური გენები გავლენას ახდენს სტრუქტურული გენების ფუნქციონირებაზე. ფუნქციურ გენებს მიეკუთვნება *მოდულატორები* და *რეგულატორები*. გენი მოდულატორები აძლიერებს ან ასუსტებს სტრუქტურული გენების მოქმედებას (ინჰიბიტორები, ინტენსიფიკატორები, მოდიფიკატორები), რეგულატორები კი ახდენს სტრუქტურული გენების მოქმედების რეგულაციას (რეგულატორები, ოპერატორები).

4.3. პროკარიოტული გენების სტრუქტურული ორგანიზაცია

მიკროორგანიზმებს, სხვა ცოცხალი ორგანიზმებისაგან განსხვავებით, მუდმივად ცვლად გარემო პირობების გავლენისაგან თავდასაცავად, საკმაოდ შეზღუდული შესაძლებლობები აქვს. გადარჩენისათვის ბრძოლაში, ბუნებრივი გადარჩევის შედეგად მათ შეიძინეს ზოგიერთი შეგუებითი თავისებურება. გარემოს უმნიშვნელო ცვლილებებსაც კი ისინი საკმაოდ სწრაფი რეაქციებით პასუხობენ - შეუძლიათ მყისიერად გადართონ თავიანთი მეტაბოლური პროცესები ერთი სუბსტრატიდან მეორეზე. ამით ისინი განსხვავდებიან უფრო რთულად ორგანიზებული მრავალუჯრედიანი ორგანიზმებისაგან. ამ უკანასკნელთ კი, პირიქით, მდგრადი მეტაბოლური რეაქციები ახასიათებთ და, შესაძლებელია, საერთოდ არ პასუხობდნენ გარემოს ცვლილებებს მეტაბოლიზმის გარდაქმნის გზით.

სწორედ ამ თავისებურებებით აიხსნება ბაქტერიული გენების ორგანიზაციის მთავარი თავისებურება. დადგენილია, რომ ბაქტერიული გენები გაერთიანებულია კლასტერებად და ყველა საჭირო ფერმენტის ბიოსინთეზი ერთმანეთთან შეჭიდული გენების ჯგუფით წარმოებს. გენების მთელი ამ ჯგუფის ტრანსკრიფცია ერთი პოლიცისტრონული რნმ-ის სახით ხდება. პოლიცისტრონული რნმ-ის მოლეკულა შემდგომ ეტაპზე თანამიმდევრული ტრანსლაციის პროცესს ექვემდებარება და, საბოლოოდ, სინთეზირდება შესაბამისი ცილის მოლეკულა.

ამის მაგალითს ლაქტოზური *Lac*-გენები წარმოადგენს (სურ. 4.1). აღნიშნულ პროცესში სამი გენისაგან შემდგარი ჯგუფი მონაწილეობს: *LacZ* აკოდირებს ფერმენტ *β*-გალაქტოზიდაზის, *LacY* - *β*-გალაქტოზიდ-პერმეაზის, ხოლო *LacA* *β*-გალაქტოზიდ-ტრანსაცეტილაზის სინთეზს. პირველი განაპირობებს ლაქტოზის ჰიდროლიზს გლუკოზად და გალაქტოზად, მეორე უზრუნველყოფს სხვადასხვა შაქრის ტრანსპორტს უჯრედში, მესამე კი ახდენს აცეტილის ჯგუფის ტრანსპორტს აცეტილ-CoA-დან *β*-გალაქტოზიდაზაზე.



სურ. 4.1. ლაქტოზის ოპერონის სტრუქტურა.
LacI –რეგულატორული გენი; *LacP*-პრომოტორი; *lacO*-ოპერატორი, *LacZ, LacY, LacA*-სტრუქტურული გენები. რეპრესორი ინაქტივირებულია, ოპერატორი - ღიაა და მიმდინარეობს სტრუქტურული გენების ექსპრესია (რნმ-ის სინთეზი).

ამ სამი ლაქტოზური გენისაგან შემდგარი კლასტერის ტრანსკრიფცია ერთი მ-რნმ-ის სახით ხდება და აქვს ერთი საერთო პრომოტორი *LacP*, რომელიც უშუალოდ *ALacZ* გენის წინ არის განლაგებული. მათი ინდუქცია ტრანსკრიფციის დონეზე კონტროლდება. ინდუქტორის (ლაქტოზის) დამატებისას *LacZ* პრომოტორში წარმოეზს ტრანსკრიფციის ინიციაცია და იგი სტრუქტურული გენების გავლით ტერმინატორამდე გრძელდება, რომელიც *LacA* გენის მიმდებარე უბანშია განლაგებული. მაშასადამე, ადგილი აქვს გენების კოორდინირებულ რეგულაციას, ანუ ყველა გენის ფუნქცია ერთდროულად ვლინდება ან არ ვლინდება. ბაქტერიული გენების ასეთი ორგანიზაცია იმაზე მიუთითებს, რომ ბაქტერიული გენომი მზადყოფნაშია, რომ სწრაფად არეგულიროს ფერმენტთა აქტივაცია-ინაქტივაცია და, შესაბამისად, მეტაბოლიზმი მიუსადაგოს გარემო პირობების ცვლილებებს.

სტრუქტურული გენებისა და მათი ექსპრესიის მაკონტროლებელი ელემენტებისაგან შემდგარ სისტემას ***ოპერონი*** ეწოდება. კონცეფცია ოპერონის, როგორც პროკარიოტული გენომის მარეგულირებელი ერთეულის, შესახებ ჩამოაყალიბეს *ფრანსუა ჟაკობმა* და *ჟაკ მონომ* ლაქტოზური ოპერონის მაგალითზე, რომელიც სადღეისოდ ყველაზე

უკეთ შესწავლილ ოპერონულ სისტემად რჩება. ამ აღმოჩენამ იმ პერიოდისათვის ბიოლოგთა უდიდესი ინტერესი გამოიწვია, რადგან გენების ორგანიზაციის ოპერონული სისტემა გენების ფუნქციური რეგულაციის მექანიზმის რეალური ახსნის წინაპირობას წარმოადგენდა. შემდეგში გენების ორგანიზაციის მსგავსი სისტემები აღმოჩენილ იქნა სხვა პროკარიოტულ უჯრედებშიც.

4.4. ევკარიოტული გენების სტრუქტურული ორგანიზაცია

უნიკალური გენები და მულტიგენური ოჯახები

პროკარიოტული ორგანიზმების მსგავსად, ევკარიოტული გენომის გენების უმეტესობა წარმოდგენილია უნიკალური თანამიმდევრობების სახით - ჰაპლოიდურ ნაკრებზე მხოლოდ ერთი ასლით. მაგრამ ადამიანის გენომში ასეთი ერთეული (უნიკალური) გენები, მაკოდირებელი გენომის მხოლოდ 25-50%-ს შეადგენს. ამ გენებს *სოლიტერულ გენებს* (ინგლ. Solitary - ერთეული, ცალკეული) უწოდებენ. გენომის დანარჩენი ნაწილი წარმოდგენილია მულტიგენური ოჯახების, ანუ იდენტური ან ძალიან მსგავსი გენების კრებულის სახით.

ზოგიერთი მულტიგენური ოჯახი *იდენტური გენებისაგან* შედგენილი კლასტერებით არის წარმოდგენილი. იდენტური მულტიგენური ოჯახები ევკარიოტულ გენომში რნმ-პროდუქტებს, მაგალითად, რ-რნმ-ის მოლეკულებს აკოდირებს.

არაიდენტური გენების მულტიგენური ოჯახები წარმოადგენს მსგავსი, მაგრამ არა - სრულად იდენტური გენებისაგან შემდგარ კლასტერებს. მულტიგენური ოჯახის ამ ტიპს განეკუთვნება გლობინების მაკოდირებელი გენების ორი მონათესავე ოჯახი. ეს გენური ოჯახები აკონტროლებს გლობინების α და β პოლიპეპტიდური ჯაჭვების სინთეზს.

გენების ოჯახში გვხვდება გენები, რომლებსაც მოქმედი გენების მსგავსი, მაგრამ ფუნქციურად არააქტიური თანამიმდევრობები აქვს. ასეთი უბნები *ფსევდოგენების* სახელწოდებითაა ცნობილი.

მულტიგენური ოჯახები ერთი საერთო წინაპარი გენის დუპლიკაციის ან ცვლილებების გზით წარმოქმნილ გენთა ჯგუფს წარმოადგენს. ასეთი გენები შეიძლება განლაგებული იყოს ერთმანეთის გვერდით ან, პირიქით, მიმობნეული იყოს მთელ გენომში (სხვადასხვა ქრომოსომაში). ჩვეულებრივ, ისინი ერთადაა შეჯგუფებული მცირე ან დიდი ზომის კლასტერების სახით. გენებს, რომლებიც მრავალი თანამიმდევრულად განლაგებული ასლისაგან შედგება, *ტანდემურ გენებს* უწოდებენ. ასეთი გენების ექსპრესიის პროდუქტი, როგორც წესი, უჯრედს დიდი რაოდენობით ესაჭიროება. გენთა ტანდემური წყობა დამახასიათებელია რრნმ-ის, ტ-რნმ-ის, ჰისტონური ცილების მაკოდირებელი გენებისათვის. როგორც ჩანს, გენთა მსგავსი ორგანიზაცია სასიცოცხლოდ აუცილებელი პროცესების ინტენსივობის გაძლიერებას ემსახურება და წარმოადგენს ევოლუციურად გენების ორგანიზაციის მაქსიმალურად ოპტიმალურ ფორმას.

ყოველი ტანდემური კლასტერი გამეორებადი ერთეულია. ჩვეულებრივ, ასეთი ერთეულის სიგრძე ბევრად აღემატება მასზე ტრანსკრიბირებულ მ-რნმ-ს. მაშასადამე, ის შედგება ტრანსკრიბირებადი ნაწილისაგან, რომელსაც ტრანსკრიფციის ერთეული ეწოდება და არატრანსკრიბირებადი ნაწილისაგან, ე.წ. სპეისერისაგან. სპეისერი განლაგებულია ტრანსკრიფციის ორ ერთეულს შორის. ის გაცილებით უფრო მოკლეა, ვიდრე ტრანსკრიბირებადი ნაწილი.

სტრუქტურული გენები

ევკარიოტულ უჯრედში სტრუქტურული გენების ორი კლასია ცნობილი:

- რიბოსომური და ტრანსპორტული რნმ-ის სინთეზზე პასუხისმგებელი გენები;
- ცილების სინთეზის მაკინტროლებელი გენები.

მიუხედავად იმისა, რომ სტრუქტურული გენების ორგანიზაციას რამდენიმე ზოგადი მახასიათებელი აქვს, ყველა ევკარიოტული გენი მაინც არ არის ერთიანი პრინციპით აგებული და, რიგ შემთხვევებში, განსხვავებულია. ევკარიოტული გენების აბსოლუტური უმრავლესობა მოზაიკური სტრუქტურისაა და შედგება ეგზონ-ინტრონული თანამიმ-

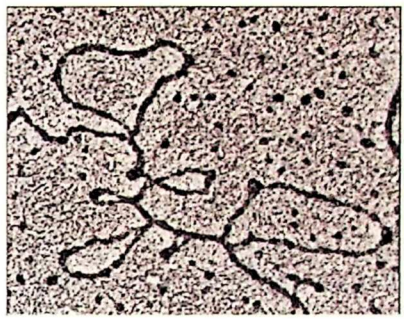
დევრობებისაგან. ყველა გენს აქვს სტრუქტურული ნაწილი, რომლის ბოლოებზე ძირითადი რეგულატორული თანამიმდევრობებია განლაგებული. ისინი ტრანსკრიფციის ინიციაციისა და ტერმინაციის ფუნქციის განხორციელებას ემსახურება, მაგრამ რეგულატორული უბნები, რომლებიც ტრანსკრიფციის გაძლიერებას ან შესუსტებას ახდენს, შესაძლოა, თვით გენის შიგნით იყოს განლაგებული, ან მნიშვნელოვნად იყოს დაცილებული მისგან.

გენის წყვეტილი აღნაგობა

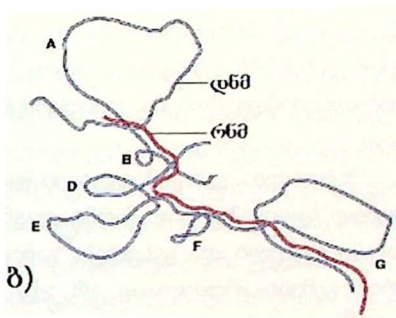
მეცნიერებს დიდხანს მიაჩნდათ, რომ პროკარიოტულ და ევკარიოტულ გენებს პრინციპულად მსგავსი აღნაგობა აქვს. ეს წარმოდგენები შეიცვალა გენის აგებულების შესწავლაში მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდების გამოყენების შესაძლებლობების გაჩენის შემდეგ. მე-20 საუკუნის 70-იანი წლების ბოლოს აღმოჩენილ იქნა, რომ დნმ-ის მონაკვეთისა და მისი შესატყვისი ტრანსკრიფტის ზომები განსხვავებულია. ეს მონაცემები მიღებულ იქნა დნმ-რნმ ჰიბრიდიზაციის მეთოდით. ამისათვის რესტრიქტაზებით დაფრაგმენტებული ბირთვული დნმ-ის მოლეკულიდან, რადიოაქტიური დნმ-ზონდების გამოყენებით, გამოყვეს ქათმის ოვალბუმინის გენის დნმ და მოახდინეს მისი დენატურაცია ცალკეულ ჯაჭვებად. შემდეგ აწარმოეს მისი ჰიბრიდიზაცია რიბოსომებიდან გამოყოფილ შესატყვის მ-რნმ-ის მოლეკულებთან. მიუხედავად იმისა, რომ აღნიშნული მ-რნმ შესაბამისი გენის ტრანსკრიფტს წარმოადგენდა, განსხვავებული აღმოჩნდა მათი ზომები. ელექტრონული მიკროსკოპიით მიღებულ ფოტოებზე (სურ. 4.2) კარგად ჩანს, რომ დნმ-ისა და რნმ-ის ჯაჭვების ცალკეული უბნები მჭიდროდ ეკვრის ერთმანეთს, ხოლო გაუწყვილებელი უბნები (დნმ-ის ჯაჭვები) წარმოქმნის მარყუჟებს (სულ 7 ასეთი მარყუჟია). მაშასადამე, გენი წყვეტილი აღნაგობისაა და შედგება მაკოდირებელი და არამაკოდირებელი უბნებისაგან.

გენის მაკოდირებელ ნაწილს **ეგზონი** ეწოდება. ევკარიოტულ გენებში ეგზონებს შორის განლაგებულია არამაკოდირებელი უბნები, ე. წ. **ინტრონები**. ინტრონები გენის ფიზიკურ ნაწილს წარმოადგენს და შედის პირველადი ტრანსკრიფტის შედგენილობაში. შემდეგ, რნმ-ის მომწიფე-

ბის პროცესში, სხვადასხვა მოლეკულური მექანიზმის შედეგად ამოიჭრება, და არ მონაწილეობს გენის საბოლოო პროდუქტის ჩამოყალიბებაში.



ა)



ბ)

სურ. 4.2. დნმ-რნმ ჰიბრიდიზაცია.

ა - ჰიბრიდიზაციის ელექტრონული მიკროფოტო;
ბ-ჰიბრიდიზაციის სქემა

A,B,C, D, E, F, G – ჰიბრიდიზაციის დროს წარმოქმნილი დნმ-მარყუჟები

გენში ეგზონური და ინტრონული უბნები სიგრძეზე მონაცვლეობს. აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა გენში ეგზონებისა და ინტრონების რაოდენობა შეიძლება დიდად განსხვავდებოდეს. მაგალითად, ვირთაგვას ინსულინის გენში სულ ორი ინტრონია, ოვალბუმინს გენი შეიცავს 7 ინტრონს, ადამიანის სისხლის შედედების (IX ფაქტორი) გენი, რომელიც ჰემოფილიას იწვევს, 26 ინტრონს შეიცავს, ხოლო მიოზინის გენი - 50 ინტრონს. მიუხედავად ამისა, ხშირად, სხვადასხვა სახეობის მსგავსი გენები ინტრონების ერთნაირ რაოდენობისაგან შედგება.

სხვადასხვა გენში განსხვავებულია ინტრონების სიგრძეც. ზოგიერთი გენის ინტრონი მეტად გრძელია. მაგალითად, β-ჰემოგლობინის გენი 550 ნ.წ. სიგრძის ინტრონს შეიცავს, იმუნოგლობულინის გენში ინტრონის

სიგრძე 1250 ნ.წ.-ს შეადგენს. ზოგიერთ გენში ინტრონების საერთო სიგრძე ჭარბობს ეგზონების სიგრძეს. მაგალითად, ოვალბუმინის გენი სულ 7 700 ნ.წ.-ს შეიცავს, ხოლო მისი მაკოდირებელი უბნის (ეგზონები) სიგრძე 1859 ნ.წ.-ს შეადგენს. სისხლის შედედების VII ფაქტორის გენი 186 ათასი ნ.წ.-ით არის წარმოდგენილი. მისი ეგზონური ნაწილი გენის მხოლოდ 3,8%-ს შეადგენს. (7 000 ნ.წ.). ზოგადად, მოზაიკური ევკარიოტული გენის ინტრონების სიგრძე 2-10-ჯერ და ზოგჯერ მეტადაც ჭარბობს ეგზონების საერთო სიგრძეს.

ინტრონებს ახასიათებს გენებში განლაგების გარკვეული კანონზომიერება. ცილა-მაკოდირებელ გენებში ისინი, უმეტესად, განლაგებულია ცილის სტრუქტურული და ფუნქციური დომენების მაკოდირებელ ეგზონებს შორის.

ეგზონები შეიძლება შეგვხვდეს სტრუქტურული გენის გარეთაც, მაგალითად, პრომოტორებსა და ტერმინატორებში. მათ *არამაკოდირებელ ეგზონებს* უწოდებენ. არამაკოდირებელი ეგზონების შესატყვისი რნმ-თანამიმდევრობები რიბოსომებთან დამაკავშირებელ უბნებს შეიცავს.

მართალია, გენის წყვეტილი წყობა ევკარიოტული გენის დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს, მაგრამ ეს არ არის აბსოლუტური მახასიათებელი და გვხვდება გამონაკლისებიც. ევკარიოტულ გენომში არის გენები, რომელთაც არ აქვს წყვეტილი აღნაგობა. მაგალითად, დროზოფილის გენების უმეტეს ნაწილში ინტრონები ნაპოვნი არ არის. ხერხემლიანებში ინტრონულ უბნებს არ შეიცავს α- და β-ინტერფერონებისა და ჰისტონების მაკოდირებელი გენები. საერთო წესიდან კიდევ ერთ გამონაკლისს წარმოადგენს ზოგიერთი გენის ინტრონის მიერ ცილის კოდირების უნარი. მაგალითად, საფუვრების მიტოქონდრიული გენი, რომელიც ციტოქრომ-*b*-ს აკოდირებს, შეიცავს სამ ინტრონულ უბანს. ისინი, თავის მხრივ, დამოუკიდებელ ცილოვან პროდუქტ - მატურაზის სინთეზს განსაზღვრავს, რომელიც ციტოქრომ-b-ს ფორმირებაში მონაწილეობს.

საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში მიაჩნდათ, რომ ინტრონები წარმოადგენს, არამაკოდირებელ, უსარგებლო, ე.წ. „ეგოისტურ დნმ-ს“. მაგრამ მას შემდეგ, რაც აღმოჩნდა, რომ ინტრონები ზოჯერ ეგზონების

ფუნქციას ასრულებს, გარკვეულად შეიცვალა წარმოდგენები ინტრონებზე, როგორც გენის უსარგებლო ნაწილზე,

თანამედროვე ეტაპზე გენის მოზაიკური (ეგზონურ-ინტრონული) სტრუქტურის ევოლუციური წარმოშობის საკითხების დასაბუთებული ახსნა ვერ ხერხდება. არსებობს რამდენიმე მოსაზრება, რომლებიც მეტ-ნაკლებად ხსნის მათი წარმოშობის საკითხს. ამ მიმართებით, შედარებით მეტი გამოხმაურება მოჰყვა *უოლტერ გილბერტის (Walter Gilbert)* კონცეფციას (1977), რომელსაც „გენის ეგზონურ თეორიას" უწოდებენ. ამ თეორიის თანახმად, პროგენოტის (ინგლ. progenote - პირველადი ორგანიზმი) საწყისი გენები (ur-gene) წარმოიშვა მოკლე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობებისაგან, რომლებიც სულ 15-20 ამინოჟავური ნაშთისგან შემდგარი პოლიპეპტიდების კოდირებას ახდენდა. მისი აზრით, ევოლუციის პროცესის შედეგად შერჩეული ეს ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები წარმოადგენდა, სწორედ, პირველ ეგზონებს. შემდგომი კომბინაციებისა და ევოლუციის შედეგად, მათგან ახალი ფუნქციის ფერმენტებისა და ცილების წარმოშობა უნდა მომხდარიყო. მათი არამაკოდირებელი ბოლოებისაგან კი ინტრონები პირველადი ეგზონების რეკომბინაციების დროს ჩამოყალიბდა, რომელთაც *გილბერტი* განიხილავს, როგორც „ევოლუციური წებოს" ნარჩენებს. პროკარიოტებისაგან განსხვავებით, რომლებიც ამ უსარგებლო ნარჩენებისგან გათავისუფლდა, ევკარიოტების ინტრონებმა განიცადა მნიშვნელოვანი გარდაქმნები და ხშირად გიგანტური ზომის თანამიმდევრობებადაც კი გადაიქცა.

მეორე გავრცელებული ჰიპოთეზის (ჯ. დარნელი და ვ. დულიტლი, 1978) მიხედვით, თანამედროვე ინტრონები წარმოადგენს „ევოლუციურ რელიქტებს", ანუ გადმონაშთებს. ამ ჰიპოთეზის თანახმად, ინტრონები შეადგენდა გიგანტური გენების ნაწილს. ფიქრობენ, რომ გენის მოზაიკური სტრუქტურა გენომის ევოლუციური განვითარების საშუალებას იძლევა, რის შესაძლებლობაც არ გააჩნია პროკარიოტებს, რომლებსაც თავის სტრუქტურაში არა აქვს ინტრონები და ევოლუციური განვითარების ჩიხს წარმოადგენს.

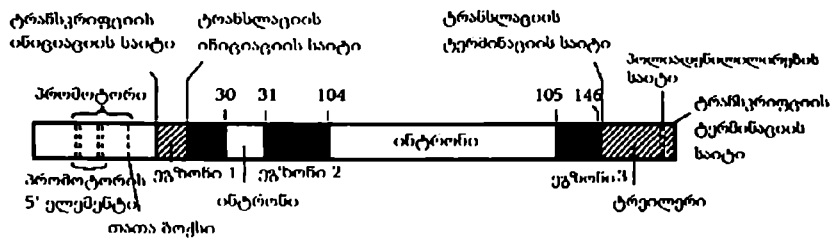
ჰომოლოგიური გენების ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ ევოლუციის პროცესში ინტრონები გაცილებით მეტად დაექვემდებარა გარდაქმნებს, ვიდრე ეგზონები. ამაზე მიუთითებს

ის ფაქტი, რომ ინტრონულ უბნებში გაცილებით მეტი მუტაციაა ნაპოვნი - ინსერციები (ნუკლეოტიდების ჩამატება), დელეციები (ნუკლეოტიდების ამოვარდნა), სხვადასხვა ტიპის ჩანაცვლებები და გარდაქმნები. ეგზონური უბნები გაცილებით კონსერვატიულია - მათში მხოლოდ ცალკეული ნუკლეოტიდური ჩანაცვლებაა დაფიქსირებული. ეს მონაცემები თანხვედრაშია მოსაზრებასთან, რომ ინტრონული გადაჯგუფებები წარმოადგენს ეგზონების ახალი კომბინაციების საფუძველს, რაც, საბოლოოდ, გენის სტრუქტურის ცვლილებას განაპირობებს.

ამ საკითხთან დაკავშირებით, საინტერესოა *ანზორ დიასამიძის* მოსაზრება. მისი აზრით, სავარაუდოა, რომ ევკარიოტებში გენთა ასეთი ორგანიზაცია გენისა და, ზოგადად, მემკვიდრეობითობის სტაბილიზაციის მიზანს უნდა ემსახურებოდეს. რაც უფრო მაღალი ორგანიზაციული დონისაა ცოცხალი ორგანიზმი, მით უფრო სრულყოფილია მასში შინაგანი და გარეგანი ჰომეოსტაზური პროცესები, მით უფრო უზრუნველყოფილია ორგანიზმის ინტეგრაციული დონე. ასეთ დაბალანსებულ სისტემაში შემთხვევითი მუტაციური ცვლილებები, პროკარიოტებთან შედარებით, მეტად დაარღვევს ევოლუციურად ჩამოყალიბებულ ბალანსს. შესაძლოა, ამან განაპირობა აუცილებლობა, რომ გენეტიკურ კოდში მომხდარი შემთხვევითი მუტაციების გარკვეული რაოდენობის გაუვნებელყოფა მომხდარიყო, რათა მას არ მოეხდინა მადეზორგანიზებელი გავლენა მთელ გენომზე. უნდა ვიფიქროთ, რომ გენის ინტრონული უბნები - ეს ის მუტირებული კოდონებია, რომლებიც ორგანიზმმა გააუვნებელყო იმით, რომ მათ, თითქოსდა, „აუკრძალა“ შემდგომი მემკვიდრეობითი ფუნქცია. ამ მოსაზრების თანახმად, მსგავსი მექანიზმით შეიძლება აიხსნას ქრომოსომის ჰეტეროქრომატინული უბნების არსებობაც. შესაძლოა, მსგავსმა უბნებმა შეიძინოს ახალი ფუნქცია - ახალი ტერმინალური კოდონის, ან კიდევ, ახალი გენების წარმოქმნის საფუძველი გახდეს. ასეთი ცვლილებებით ბუნებას თითქოს ეძლევა უვნებელი „ექსპერიმენტების“ დაყენებისა და ამ გზით ახალი სასარგებლო გენების შექმნის საშუალება.

ცილა-მაკოდირებელი გენები

სტრუქტურული გენების ეს კლასი აკონტროლებს სტრუქტურული ცილებისა და ცილა-ფერმენტების პოლიპეპტიდური ჯაჭვების სინთეზს. ამ ტიპის გენების კლასიკურ მაგალითს β-გლობინის მაკოდირებელი გენი წარმოადგენს (სურ. 4.3). იგი შედგება სამი ეგზონისა და ორი ინტრონისაგან.



სურ. 4.3. β-გლობინის გენის სტრუქტურა (გილბერტი,1994)

გენის პრომოტორულ უბანში, ტრანსკრიფციის ინიციაციის წერტილიდან 30-80 ნ.წ.-ით აღმა, განლაგებულია სამი კონსენსუსური უბანი - *თათა, ცაათ და PuცPuცცც* (*Pu* – პურინი). ტრანსკრიფციის ინიცირება ხდება 5'-ბოლოზე განლაგებული *აცაათთგ* თანამიმდევრობით, რომელსაც კეპ (cap) უბანს უწოდებენ. მასთან მიმდებარე ადგილას, ტრანსკრიფციის ინიციაციისა და ტრანსლაციის საიტებს შორის განლაგებულია *ლიდერი თანამიმდევრობა -ათგ.*

ეგზონი 1 (90 ნ.წ.) *β*-გლობინის ჯაჭვის პირველ 30 ამინომჟავას (1-30) სინთეზს უზრუნველყოფს;

ეგზონი 2 (222 ნ.წ.) – 31-104 ამინომჟავას;

ეგზონი 3 (12 ნ.წ.) – 105-146 ამინომჟავას.

ინტრონული უბნები - არამაკოდირებელ თანამიმდევრობებს წარმოადგენს და ჰემოგლობინის ცილოვანი სტრუქტურის ფორმირებაში არ მონაწილეობს.

გენის 3'-ბოლოზე განლაგებულია არატრანსკრიბირებადი – *ათთააა* თანამიმდევრობა, ხოლო *ტერმინალური საიტი* ბოლო ეგზონიდან 1000 ნ.წ.-ით არის დაცილებული.

გენის რნმ-ტრანსკრიფტის ბოლოზე პოლიადენინის კუდის მიერთება ხდება, რომელიც დაახლოებით 220 ადენინის ნაშთისაგან შედგება. ამისთვის აუცილებელია, ჯერ რნმ-ტრანსკრიფტის გაკვეთა მოხდეს. გაკვეთის სასიგნალო საიტს წარმოადგენს *აატააა* თანამიმდევრობა, ხოლო გაკვეთა ხდება ამ თანამიმდევრობიდან 20 ნუკლეოტიდის დაცილებით. პოლიადენინის კუდის მიერთების შემდეგ, ტრანსკრიფცია *აათთააა* თანამიმდევრობის გავლით ტერმინაციულ საიტამდე გრძელდება.

3'-ბოლოს *აათთააა* თანამიმდევრობიდან 500-900 ნ.წ.-ის დაცილებით გენის ექსპრესიის გამამძლიერებელი (ინგლ. enhancer) უბანია განლაგებული, რომელიც აუცილებელია მომწიფებული ერითროციტების β-გლობინის ფუნქციონირების ორგანიზებისათვის. გამამძლიერებელი უბანი განლაგებულია აგრეთვე β-გლობინის გენის 5'-ბოლოზე, გენის კლასტერიდან 6-22 ათასი ნ.წ.-ის დაცილებით, რომელსაც მაკონტროლებელ LCR (locus control region) საიტს უწოდებენ. იგი რამდენიმე ერითროსპეციფიკურ გამამძლიერებელ უბანს მოიცავს.

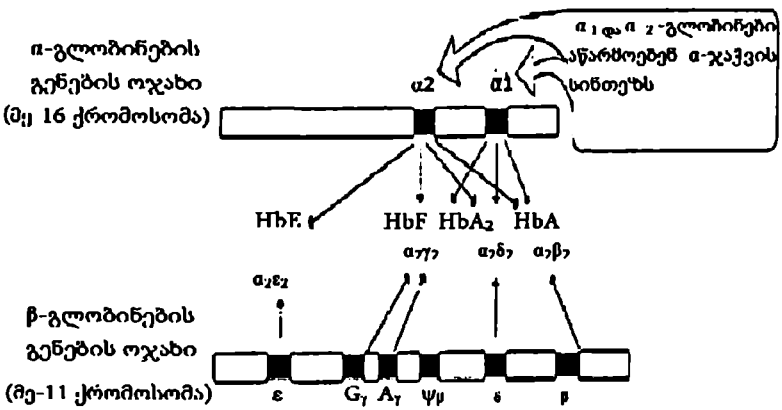
ცილა-გლობინების მაკოდირებელი გენები ერთ-ერთ უძველეს გენურ ოჯახს მიეკუთვნება. რიგი სახეობების გლობინების მაკოდირებელი გენების შესწავლით დადგინდა, რომ ამ ცილის ფუნქციურად აქტიურ ყველა გენს აქვს მსგავსი სტრუქტურა. კერძოდ, ყოველ მათგანს აქვს სამი ეგზონი. აქედან გამომდინარე, მეცნიერები მივიდნენ დასკვნამდე, რომ გლობინური გენები წარმოშობილია ერთი საერთო წინაპრისაგან. ამდენად, გლობინების ინდივიდუალურ გენებზე დაკვირვება გენის ევოლუციის შესახებ საერთო წარმოდგენების შექმნის შესაძლებლობას იძლევა.

როგორც ცნობილია, ზრდასრული ორგანიზმის ცილა-ჰემოგლობინი ტეტრამერია და ორი იდენტური – α და β ჯაჭვებისაგან შედგება. ემბრიონული და ზრდასრული ორგანიზმის ტეტრამერების სტრუქტურა განსხვავდება ერთმანეთისაგან. ამასთან, სხვადასხვა ორგანიზმში განსხვავების ხარისხი ერთნაირი არ არის.

ადამიანის ორგანიზმში გლობინების კოდირება დამოუკიდებელი მულტიგენური ოჯახებით ხდება. α-გლობინების კლასტერი მე-16 ქრომოსომის მოკლე მხარზეა განლაგებული შემდეგი თანამიმდევრობით: ζ-გენი (აკოდირებს ემბრიონული ჰემოგლობინის ζ-ჯაჭვს; შემდეგ მოდის

სამი ფსევდოგენი - ψζ, ψα2 და ψα1; კლასტერის 3'-ბოლოსკენ – α2 და α1 გენები.

β-გლობინების კლასტერი მე-11 ქრომოსომის მოკლე მხარზეა შემდეგი თანამიმდევრობით: ემბრიონული ჯაჭვის ε-გენი; HbF - ^γ და ^γ გენები, რომლებიც ერთი კოდონით განსხვავდება ერთმანეთისაგან; ფსევდოგენი - ψβ; ზრდასრული ადამიანის δ- გენი და β-გენი (სურ. 4.4).



სურ. 4.4. გლობინების გენების კლასტერები გავითარების სხვადასხვა სტადიაზე (Russel, 1998)

ონტოგენეზის სხვადასხვა სტადიაზე ეს გენები ჩამოთვლილი თანამიმდევრობით ფუნქციონირებს, ყველა გლობინურ გენს აქვს თავისი რეგულატორული თანამიმდევრობები.

ჰისტონების მაკოდირებელი გენები

ჰისტონური გენები ბირთვის ძირითად სტრუქტურულ გენებს წარმოადგენს. ჰისტონური გენები ტანდემურად გამეორებად კლასტერებშია ორგანიზებული, რაც უჯრედში ამ გენების პროდუქტის - ცილა-ჰისტონების მაღალი საჭიროებით არის განპირობებული. ევკარიოტული უჯრედის ხუთი ძირითადი ჰისტონური ცილა (H1, H2A, H2B, H3 და H4) საკვანძო როლს ასრულებს ქრომატინის სტრუქტურის შექმნასა და შენარჩუნებაში. ჰისტონების ფუნქცია მათი პირველადი სტრუქტურის

მაღალ კონსერვატიულობას განაპირობებს. გაყოფად სომატურ უჯრედებში ჰისტონების სინთეზი დნმ-ის რეპლიკაციის პარალელურად მიმდინარეობს. რეპლიკაციის დასრულებისთანავე, სინთეზირებულ დნმ-ის ჯაჭვებს შეუძლია დაუკავშირდეს მათ. ეს მიუთითებს, რომ დნმ-ის რეპლიკაციისათვის საჭირო მოკლე დროში უნდა მოხდეს დიდი რაოდენობით ჰისტონების სინთეზი. როგორც ჩანს, გენომში ჰისტონური გენების მაღალი სიხშირე უჯრედში ჰისტონების სწრაფად სინთეზის აუცილებლობით არის გამოწვეული.

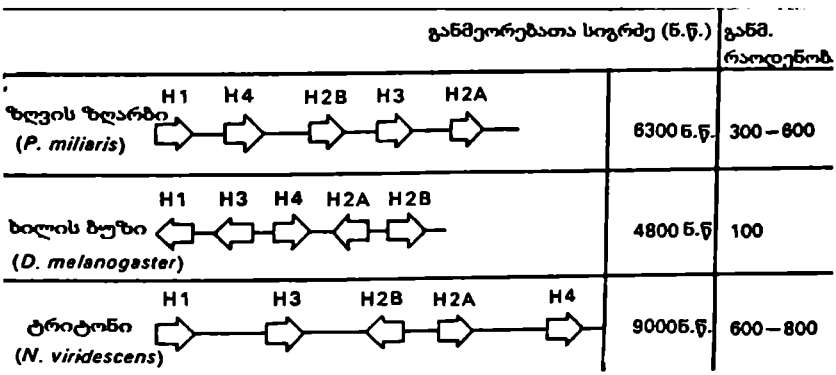
ჰისტონების ამინომჟავური შედგენილობისაგან განსხვავებით (პირველადი სტრუქტურა), გენების ასლების რაოდენობა და მათი ორგანიზაცია საკმაოდ ცვალებადია. გენომის ზომებსა და მასში ჰისტონური გენების რაოდენობას შორის არ აღინიშნება რაიმე გამოკვეთილი კორელაცია, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ეს გენები სხვადასხვა ინტენსივობით ექსპრესირდება. ამავდროულად, გამეორებათა სიხშირე ყველა ჰისტონური გენის საერთო ორგანიზაციულ თავისებურებას წარმოადგენს. ჩვეულებრივ, სახეობრივ დონეზე, გენომში ყოველი ჰისტონური გენის ასლების თანაბარი რაოდენობაა. მაგალითად, წიწილის გენომში მათი გამეორებების სიხშირე 10-ის ტოლია, ძუძუმწოვრების გენომში - 20-ის, ბაყაყის *(X. leavis)* - 40-ის, ხოლო დროზოფილის (*D. Melangoster*) - 100-ის, ზღვის ზღარბების რამდენიმე სახეობის გენომში ყოველი ჰისტონური გენი 300-600 ასლის სახით არის წარმოდგენილი.

ზღვის ზღარბების ამ სახეობებში ემბრიოგენეზში ძალიან სწრაფად ხდება ბირთვის გაყოფა. მათ გენომში ჰისტონური გენების ასლების დიდი რაოდენობა უზრუნველყოფს ამ გენების სინთეზისა და რეპლიკაციის სიჩქარის თანხვედრას.

პირველად ჰისტონური გენების სტრუქტურა სწორედ ზღვის ზღარბების სამი სახეობის მაგალითზე იქნა შესწავლილი. მათ გენომში ჰისტონური გენების ორი კლასი დაფიქსირდა. პირველ კლასს მიეკუთვნება ადრეული გენები, რომლებიც ინტენსიურად სინთეზირდება ემბრიოგენეზის ადრეულ სტადიებზე, ხოლო მეორე კლასს გვიანი გენები შეადგენს, რომლებიც ემბრიოგენეზის გვიან სტადიებზე ექსპრესირდება.

ადრეული ჰისტონური გენები შედის ერთი საერთო ერთეულის შედგენილობაში, რომლის მრავალჯერადი გამეორება ქმნის ტანდემური გე-

ნების კლასტერს. ყოველი გენი ერთმანეთისაგან გამოყოფილია არატრანსკრიბირებადი სპეისერით (ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით). აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა სახეობის გენომები ერთმანეთისაგან განსხვავდება ჰისტონური გენების კლასტერში სპეისერების ზომითა და ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების მიხედვით.



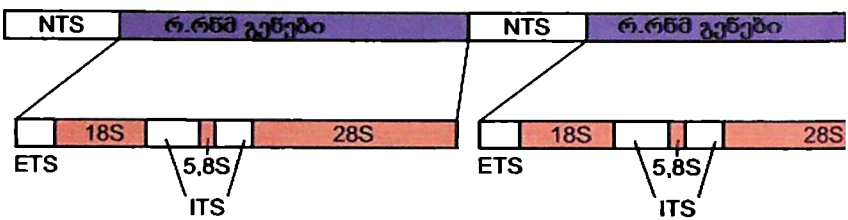
სურ. 4.5. სხვადასხვა სახეობაში ჰისტონური გენების აგებულების ზოგადი სქემა

ზღვის ზღარბების ჰისტონური გენების ორგანიზაციის აღწერილი პრინციპი სხვა სახეობებისათვისაც არის დამახასიათებელი. ამასთან, უნდა აღინიშნოს, რომ ნაპოვნია ჰისტონური გენების ორგანიზაციის სხვა ვარიანტებიც. მაგალითად, ადამიანის ჰისტონური გენომის კლასტერში ფსევდოგენების არსებობაც არის დაფიქსირებული. სურათზე 4.5 წარმოდგენილია სხვადასხვა სახეობის ჰისტონური გენების ზოგადი სქემა.

რიბოსომური და სატრანსპორტო რნმ-ის მაკოდირებელი გენები

რ-რნმ-ის გენები ორგანიზებულია მულტიგენურ ოჯახებად, რაც უჯრედში ამ გენის პროდუქტებზე დიდი მოთხოვნილებით არის განპირობებული. უჯრედში ცილოვანი მოლეკულების სინთეზის უზრუნველყოფას ესაჭიროება რიბოსომები, ხოლო მათ ფორმირებაში რნმ-ის მრავალი ფრაქცია მონაწილეობს. რიბოსომური გენების რაოდენობა განსხვავებულია სხვადასხვა სახეობაში. უმდაბლეს ევკარიოტებში ამ გენების დაახლოებით 100-200 ასლია, ადამიანში – 280. 18S, 5,8S და 28S რიბოსომური

გენების კლასტერები ტანდემურ თანამიმდევრობებს ქმნის და, როგორც წესი, ბირთვაკულ ორგანიზატორში არიან ლოკალიზებული. კლასტერებს შორის არატრასკრიბირებადი სპეისერებია (ინგლ. Nontransribed Spacer - NTS), სპეისერული უბნები არის აგრეთვე გენებს შორის (ინგლ. External Transcribed Spacer - ETS) და გენების შიგნითაც (ინგლ. Internal Transcribed Spacer - ITS) (სურ.4.6). ტრანსკრიბირებადი ერთეულები და არატრანსკრიბირებადი სპეისერების მონაცვლეობა ევკარიოტული უჯრედის ბირთვში კარგად ჩანს ელექტრონულ მიკროსკოპში. სპეისერების სიგრძე ამ ტანდემში ძლიერ ცვალებადია არა მარტო სხვადასხვა სახეობისათვის, არამედ სახეობის შიგნითაც.



სურ. 4.6. რ-რნმ-ის გენების სტრუქტურის სქემა.
NTS-არატრასკრიბირებადი თანამიმდევრობა (სპეისერი); ITS-სპეისერი გენის შიგნით; ETS- სპეისერი გენებს შორის

ადამიანის გენომში რ-რნმ-ის გენები მე-13, მე-14, მე-15, 21-ე და 22-ე აკროცენტრული ქრომოსომების მოკლე მხრებზეა ლოკალიზებლი. მათთვის დამახასიათებელია აგრეთვე ტანდემური ორგანიზაცია და წარმოქმნილი ასლების ინდივიდუალური და ასაკობრივი ცვალებადობა.

5S-გენები გენომის ზომიერად გამეორებად ფრაქციას წარმოადგენს და ისინი სხვა რიბოსომური გენებისაგან ცალკე არიან განლაგებული. ადამიანის გენომში გვხვდება 2 000 ასეთი გენი.

რიბოსომური გენების კლასტერებში კოდირებად გენებთან ერთად მათი ფსევდოგენებიც გვხვდება.

ტ-რნმ-ის გენები ზომიერად გამეორებად ფრაქციას წარმოადგენს. ევკარიოტულ გენომში ასობით და ათასობით ასეთი გენია ლოკალიზებული. მაგალითად, დროზოფილის გენომში 850, ბაყაყის გენომში - 1150,

ხოლო ადამიანის გენომში - 1300 ტ-რნმ-ის გენია. ეს გენები, რ-რნმ-ის გენების მსგავსად, გენთა ტანდემურ კლასტერებშია განლაგებული. მათი სტრუქტურის ორგანიზებაში ფსევდოგენებიც მონაწილეობს.

ფსევდოგენები

ფსევდოგენებს ევოლუციურ ჩიხებს უწოდებენ. ფსევდოგენები შეიცავს ფუნქციონირებადი გენების მსგავს თანამიმდევრობებს, მაგრამ ვერ ექსპრესირდება. სტრუქტურულ გენებთან მსგავსების მაღალი ხარისხის მიუხედავად, ფსევდოგენები ვერ წარმოქმნის ფუნქციურად აქტიურ ცილებს. ზოგიერთ ფსევდოგენს იგივე სტრუქტურა აქვს, რაც ფუნქციურად აქტიურ გენს – თავისი ეგზონურ-ინტრონული ორგანიზაციით. ფიქრობენ, რომ მათი ინაქტივაციის მიზეზი მუტაციებია, რაც განაპირობებს გენის ექსპრესიის ერთი ან ყველა სტადიის მოშლას.

ფსევდოგენის ტიპურ და კარგად შესწავლილ მაგალითს წარმოადგენს ბოცვრის გლობინის ψβ2 გენი. მისი სტრუქტურა და ნუკლეოტიდური შედგენილობა მსგავსია ფუნციურად აქტიური β2 გენის, მაგრამ მე-20 კოდონში აღინიშნება ერთი ნ.წ.-ის დელეცია, რომელიც წასაკითხი ჩარჩოს გადაადგილებას განაპირობებს. ასეთი გადანაცვლების გამო გენის ინტრონულ-ეგზონურ საზღვრებში აღარ არის სპეციფიკური თანამიმდევრობები (*გთ, აგ*), შესაბამისად, ვეღარ ხერხდება ინტრონების ამოცნობა და მოცილება.

როგორც ვხედავთ, აღნიშნულ ფსევდოგენს გენის ექსპრესიის სხვადასხვა სტადიის დეფექტი აქვს. ამიტომ ძნელია იმის განსაზღვრა, კონკრეტულად რომელი სტადია იწვევს გენის ინაქტივაციას.

ფსევდოგენები გენური ოჯახების დიდი ნაწილისთვის არის დამახასიათებელი, მაგრამ, უმეტესად, გენების საერთო რიცხვის მცირე წილს შეადგენს. თუმცა, არსებობს გამონაკლისებიც. მაგალითად, თაგვის რიბოსომების ცილის კოდირება ერთი გენით ხდება, რომელსაც 15 მსგავსი სტრუქტურული ფსევდოგენი აქვს.

თავი 5. გენეტიკური პროცესების მოლეკულური მექანიზმები

5.1. გენომის მდგრადობა და კვლავგანახლება

დედამიწაზე სიცოცხლის არსებობის აუცილებელ პირობას საფუძვლად უდევს ცოცხალი ორგანიზმებისთვის დამახასიათებელი უნივერსალური თვისებები – მემკვიდრეობითობა და ცვალებადობა. გენეტიკური მასალის (დნმ) უნიკალური სტრუქტურა, მისი კვლავწარმოქმნის უაღრესად ზუსტი და ნატიფი მექანიზმი უზრუნველყოფს თაობებში მემკვიდრეობითი ინფორმაციის განაწილება-შენარჩუნებას და, ზოგადად, ცოცხალი სამყაროს სახეობრივ მდგრადობას. ხოლო ცვალებადობის უნარი, ცოცხალი სამყაროს ევოლუციური განვითარებისა და, შესაბამისად, ახალ სახეობათა ფორმირებისთვის აუცილებელი მასალის მიწოდების ფუნქციას ასრულებს. როგორც ვხედავთ, გენომი, როგორც სიცოცხლის ამ ორი აუცილებელი თვისების ძირითადი სტრუქტურული და ფუნქციური ერთეული, ერთი მხრივ, სტაბილურ, მეორე მხრივ კი დინამიკურ სისტემას წარმოადგენს. ცოცხალი სამყაროს განვითარების პროცესში ჩამოყალიბებული ამ ორი საპირისპირო მოვლენის ბიოლოგიურად სასარგებლო ბალანსი განაპირობებს დედამიწაზე სიცოცხლის ფენომენის არსებობას და მის ბიომრავალფეროვნებას. ეს ბალანსი, ერთი მხრივ, გენეტიკური ინფორმაციის სტაბილურობის შენარჩუნების მძლავრი სისტემით, ხოლო, მეორე მხრივ, თაობებში დაფიქსირებული მემკვიდრეობითი ცვლილებების მეტ-ნაკლებად რეგულირებადი მუტაციური ცვლილებებით ხორციელდება.

რეპლიკაცია

ცოცხალი სამყაროსათვის დამახასიათებელ ყველაზე უნიკალურ თვისებას წარმოადგენს მისი კვლავწარმოქმნის უნარი, რომელიც დნმ-ის მოლეკულების ავტორეპროდუქციის – თვითგაორმაგების მოლეკულურ მექანიზმებს ემყარება. ამ პროცესს *რეპლიკაციას* უწოდებენ. დნმ-ის რეპლიკაცია, საბოლოო ჯამში, უზრუნველყოფს მემკვიდრეობითი ინფორმაციის თვითგანახლებას და თაობებში შენარჩუნებას.

რეპლიკაციის პროცესს უჯრედი ყოველმხრივ მომზადებული ხვდება. წინარეპლიკაციურ პერიოდში მიმდინარე სინთეზური რეაქციები უჯრედს გენეტიკურ მასალას გაორმაგებისთვის ამზადებს, წარმოებს რეპლიკაციისთვის საჭირო მონომერების (ნუკლეოტიდების) და ფერმენტების სინთეზი, იქმნება ოპტიმალური პირობები, რომ დნმ-ის ავტორეპროდუქცია წარიმართოს მაქსიმალურად სწრაფად და მოწესრიგებულად.

რეპლიკაციის პროცესი, ზოგადად, ძალიან მაღალი სიზუსტით სრულდება. დადგენილია, რომ რეპლიკაციის ერთი ციკლის განმავლობაში ყოველი მილიარდი ფუძეთა წყვილის სინთეზის დროს მხოლოდ ერთი შეცდომა ხდება. ამავდროულად, ცოცხალი ორგანიზმების დნმ მუდმივად იმყოფება ფიზიკური და ქიმიური აგენტების ზემოქმედების ქვეშ. უჯრედის მეტაბოლიზმის დროს წარმოქმნილი ჟანგბადის აქტიური ფორმები, საკვებსა და გარემოში არსებული ქიმიური ნაერთების დაშლის პროდუქტები, ტემპერატურული მერყეობა, რადიოაქტიური აგენტების ზემოქმედება და სხვა ფაქტორები გავლენას ახდენს გაყოფად უჯრედებზე. შედეგად, უჯრედის ყოველი გაყოფის შემდეგ გროვდება შეცდომების – მუტაციების საკმაო რაოდენობა. მუტაციების უმრავლესობა ორგანიზმისთვის საზიანოა და, ზოგჯერ, ლეტალური ეფექტიც კი აქვს. მუტაციები ხშირ შემთხვევაში უჯრედის ავთვისებიანი სიმსივნისთვის დამახასიათებელ უკონტროლო ზრდას იწვევს ან გავლენას ახდენს უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობაზე, იწვევს ნაადრევ დაბერებასა და სიკვდილს.

რეპლიკაციის ნატიფი მექანიზმი, თვითკორექციის უნარი და შეცდომების გასწორების სხვა მექანიზმები მინიმუმამდე ამცირებს მუტაციების რაოდენობას. მცირე რაოდენობით მუტაციების შენარჩუნება კი ევოლუციის აუცილებელ პირობად არის მიჩნეული. მცირე გენეტიკური ვარიაციების მქონე პოპულაციები, რომლებსაც უკეთ შეუძლია, შეეგუოს შეცვლილ გარემო პირობებს, ევოლუციის საწყის მასალად ითვლება.

რეპლიკაციის მიმდინარეობის მაღალ სიჩქარეს (დაახლოებით 800 ნ.წ./წმ ბაქტერიებში და 40 ნ.წ./წმ - ევკარიოტებში) უზრუნველყოფს სპეციალიზებული რეპლიკაციური ფერმენტები. გამოთვლილია, რომ ერთი რეპლიკაციური ერთეულის არსებობის შემთხვევაში, ადამიანის ქრომოსომის ერთი დნმ-ის მოლეკულას, რომელიც საშუალოდ 150 მლნ. ნუკ-

ლეოტიდურ წყვილს შეიცავს, ფერმენტების მონაწილეობის გარეშე 800 სთ დასჭირდებოდა. რეალურად, ქრომოსომების სინთეზი მოიცავს 8-10 სთ-ს. ეს მაშინ, როცა ერთ ქრომოსომაში ხდება 100-მდე რეპლიკაციური ერთეულის სინთეზი.

ამრიგად, რეპლიკაციის არსებული მექანიზმი ყველაზე რაციონალურია, როგორც გენეტიკური მასალის სტაბილურობისა და თაობებში გადაცემის, ისე ცოცხალი სამყაროს შემდგომი ევოლუციური განვითარების თვალსაზრისითაც.

რეპლიკაციის ნახევრად კონსერვატიული ბუნების მექანიზმი

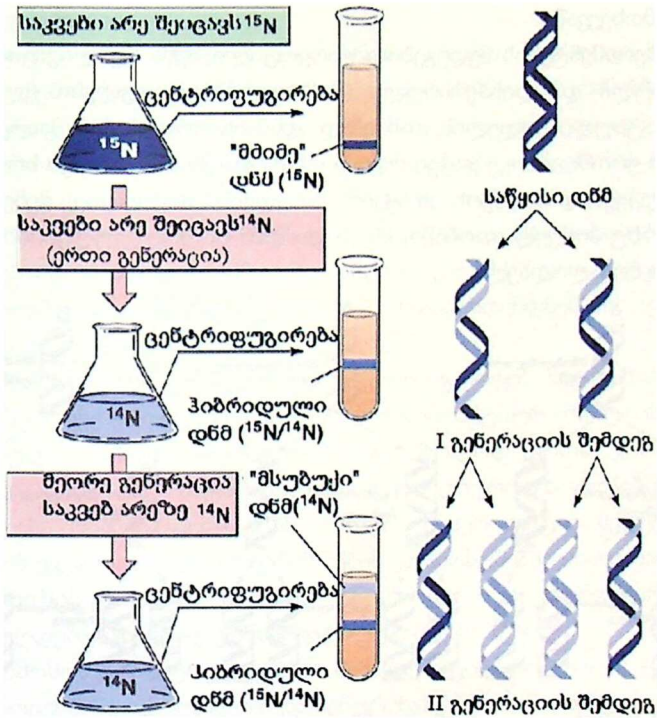
1953 წელს *უოტსონმა და კრიკმა* გამოთქვეს მოსაზრება მემკვიდრეობითი ინფორმაციის შესაძლო კოპირების შესახებ. 1958 წელს კალიფორნიის ტექნოლოგიური ინსტიტუტის თანამშრომლებმა *მეთიუ მეზელსონმა და ფრენკ სტალმა (Matthew Meselson , Franklin Stahl)* მახვილგონიერი ექსპერიმენტით დაამტკიცეს დნმ-ის ნახევრად კონსერვატიული ავტოსინთეზის უნარი.

ამ მოდელის მიხედვით, დნმ-ის სინთეზი იწყება ორსპირალიანი მოლეკულის ჯაჭვების დაცილებით, რომელთაგან თითოეული ასრულებს მატრიცის როლს შვილისეული ჯაჭვების სინთეზისათვის. რეპლიკაციური აქტის შედეგს წარმოადგენს ორი შვილისეული მოლეკულა, რომელთაგან ერთი ძველია (დედისეული), ხოლო მეორე – ახალსინთეზირებული. რეპლიკაციის ასეთ ფორმას ნახევრად კონსერვატიულს უწოდებენ. ამავე პერიოდში განიხილებოდა რეპლიკაციის კიდევ ორი მოდელი - კონსევატიული და დისპერსიული.

მეზელსონი და სტალი ექსპერიმენტის მსვლელობისას პერიოდულად აწარმოებდნენ შვილისეული დნმ-ის მოლეკულების ჯაჭვების დაცილებას, რითაც აჩვენეს, რომ ამ მოლეკულებს აქვს რეპლიკაციის პროცესში ორჯაჭვიანი სპირალის გახსნის უნარი.

რეპლიკაციის მექანიზმების შესწავლის მიზნით, ექსპერიმენტში გამოიყენეს აზოტის მძიმე იზოტოპი (N^{15}), რომლის შემცველ არეზე ზრდიდნენ ნაწლავის ჩხირის (*E.coli*) ბაქტერიებს (სურ. 5.1). დნმ-ის პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის სინთეზის დროს აღნიშნული იზოტოპი ერთვებოდა ბაქტერიის პურინულ და პირიმიდინულ ფუძეებში. შემდეგ

ისინი გადაჰქონდათ ნორმალური აზოტის (N^{14}) შემცველ საკვებ არეზე. მიღებულ თაობებში დნმ-ის სიმკვრივის განსაზღვრის მიზნით, ახდენდნენ მათ ულტრაცენტრიფუგირებას ცეზიუმის ქლორიდის (CsCl) გრადიენტში.

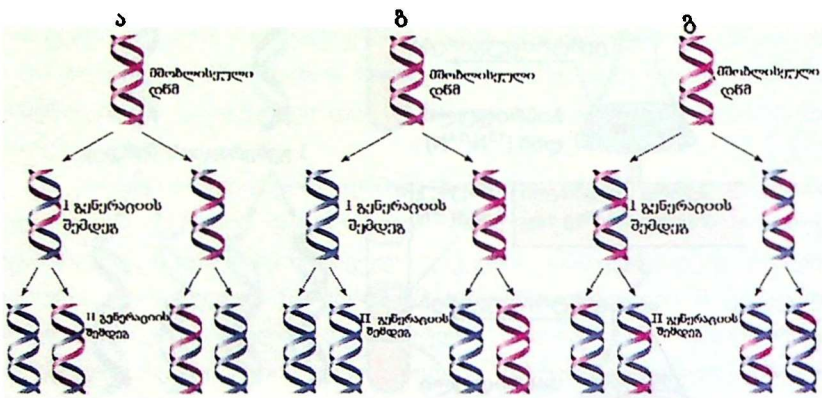


სურ. 5.1. მეზელსონისა და სტალის ექსპერიმენტის სქემა (W. Freemen 2005).

ყველაზე მაღალი სიმკვრივე N^{15} იზოტოპის შემცველ მოლეკულებს აღმოაჩნდა, საშუალო სიმკვრივის აღმოჩნდა „ჰიბრიდული" – N^{15} და N^{14} მოლეკულები, მინიმალური სიმკვრივე ჰქონდა მხოლოდ N^{14} აზოტის შემცველ დნმ-ის მოლეკულებს. ისინი ლაგდებოდნენ ცენტრიფუგის სინჯარაში შესაბამის (ფსკერთან ახლოს, შუაში ან ყელთან ახლოს) პოზიციებში.

პირველი გენერაციის შემდეგ მიღებული თაობა შეიცავდა მხოლოდ საშუალო სიმკვრივის ჰიბრიდულ (N^{15}/N^{14}) დნმ-ის მოლეკულებს, ხოლო მეორე თაობა ჰიბრიდულ და მსუბუქ მოლეკულებს. ასეთი შედეგი მოსალოდნელი იყო დნმ-ის განცალკევებული ჯაჭვების მატრიცად გამოყენების შემთხვევაში.

ექსპერიმენტების შედეგებით უარყოფილი იქნა რეპლიკაციის კონსერვატიული და დისპერსიული (მოზაიკური) მოდელები (სურ 5.2). კონსერვატიული მოდელის თანახმად, დნმ-ის ორი ახალი მოლეკულიდან ერთ-ერთში ორივე ჯაჭვი ძველი უნდა დარჩეს, მეორე კი სრულიად ახალი ჯაჭვებიდან აეწყოს. ამ სქემის მიხედვით, პირველივე გენერაციის შემდეგ, ანუ პირველ თაობაში, მსუბუქი დნმ-ის მოლეკულების ფორმირება იყო მოსალოდნელი.



სურ. 5.2. რეპლიკაციის ნახევრად კონსერვატიული (ა), კონსერვატიული (ბ) და დისპერსიული (გ) რეპლიკაციის მოდელები

დისპერსიული მოდელის თანახმად, რომელსაც იმ პერიოდის ბევრი მეცნიერი უჭერდა მხარს, დნმ-ის მშობლისეული მოლეკულა უნდა დაყოფილიყო მოკლე ფრაგმენტებად და მასზე აწყობილიყო ახალი ფრაგმენტები. ამ შემთხვევაში მსუბუქი მოლეკულების მიღება მხოლოდ რამდენიმე გენერაციის შემდეგ იყო მოსალოდნელი.

კონსერვატიული და დისპერსიული რეპლიკაციის სქემებით მოსალოდნელი შედეგები ექსპერიმენტით არ დადასტურდა.

რეპლიკაციის მექანიზმების შესწავლის მიზნით, მსგავსი ექსპერიმენტები ევკარიოტულ ორგანიზმებშიც იქნა ჩატარებული. ვინაიდან ევკარიოტული ქრომოსომები დნმ-ისა და ცილოვანი მოლეკულების რთულ კომპლექსს წარმოადგენს, აქ მნიშვნელოვანი იყო ცილის მოლეკულების როლის გარკვევაც.

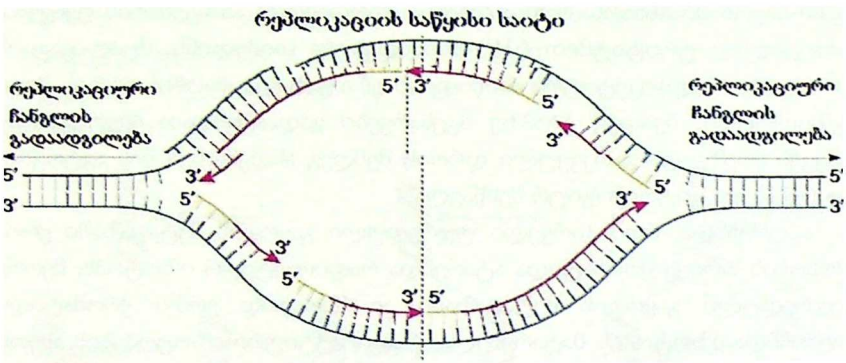
ამ მიზნით, *ჯ. ჰერბერტ ტეილორისა (J.herbert Taylor)* და მისი თანამშრომლების მიერ ჩატარებულ იქნა ექსპერიმენტი პარკოსნებზე ავტორადიოგრაფირების მეთოდის გამოყენებით. ერთი უჯრედული ციკლის განმავლობაში ხსნარს, რომელზედაც იზრდებოდა ამ მცენარის ფესვები, ამატებდნენ ტრიტიუმით ($_1H^3$) ნიშანდებულ თიმიდინს. რეპლიკაციის პროცესში რადიოაქტიური თიმიდინი ერთვებოდა ქრომოსომების შედგენილობაში. შემდეგ ეტაპზე მცენარეები გადაჰქონდათ ჩვეულებრივ საკვებ არეზე და გარკვეული დროის შემდეგ ახდენდნენ მის ავტოგრაფირებას და ციტოლოგიურ შესწავლას.

აღმოჩნდა, რომ პირველი უჯრედული გაყოფის მეტაფაზაში ქრომოსომის ორივე ქრომატიდა ატარებდა რადიოაქტიურ იზოტოპს, მეორე უჯრედული გაყოფის მეტაფაზაში კი მხოლოდ ერთი ქრომატიდი აღმოჩნდა იზოტოპის მატარებელი. რადიოაქტიური იზოტოპების ასეთი განაწილება რეპლიკაციის არსს ასახავს. ექსპერიმენტის შედეგებიდან ჩანს, რომ ევკარიოტული ორგანიზმების ქრომოსომებში მიმდინარე დნმ-ის სინთეზის პროცესი საერთო კანონზომიერებს ექვემდებარება და ხორციელდება ნახევრად კონსერვატიული მექანიზმით.

ქრომოსომების სტრუქტურაში შემავალი ცილების როლი რეპლიკაციის პროცესში შესწავლილი იქნა ჩინურ ზაზუნებზე ჩატარებული ექსპერიმენტით. ცდის მსვლელობისას რადიოაქტიური თიმიდინით ახდენდნენ ცხოველის ქრომოსომების დნმ-ისა და ცილების ნიშანდებას. შედეგად აღმოჩნდა, რომ რადიოაქტიური იზოტოპის გადანაწილება ქრომოსომის ამ ორ კომპონენტს შორის სხვადასხვაგვარად ხდება. დნმ-ის მოლეკულაში იგი ნახევრად კონსერვატიული მექანიზმით წარმოებს, ქრომოსომურ ცილებში პირველი გაყოფის მეტაფაზაში იზოტოპი თანაბრად ნაწილდება ქრომატიდების ცილებში, ხოლო მეორე, მესამე რეპლიკაციის შემდეგ ქრება. მიღებული შედეგი კიდევ ერთხელ ადასტურებს *ოსვალდ ეივერის* მოსაზრებას, რომ ცილა არ წარმოადგენს ქრომოსომის მუდმივ რეპროდუქციულ ელემენტს.

რეპლიკონი, როგორც რეპლიკაციის ერთეული

რეპლიკაციის დამოუკიდებელ ფუნქციურ ერთეულს ***რეპლიკონს*** უწოდებენ. რეპლიკაციის აქტს, როგორც წესი, მთელი რეპლიკონის გაორმაგება მოსდევს. ყველა რეპლიკონს აქვს საწყისი საიტი (ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა), სადაც რეპლიკაციის ინიციაცია ხდება, მას ***ori-საიტს*** (ინგლ. origin) უწოდებენ და ზღვრული (ინგლ. terminus) საიტი, სადაც რეპლიკაციის აქტი ჩერდება. ამ წერტილს ***ter-საიტს*** უწოდებენ (სურ. 5.3).

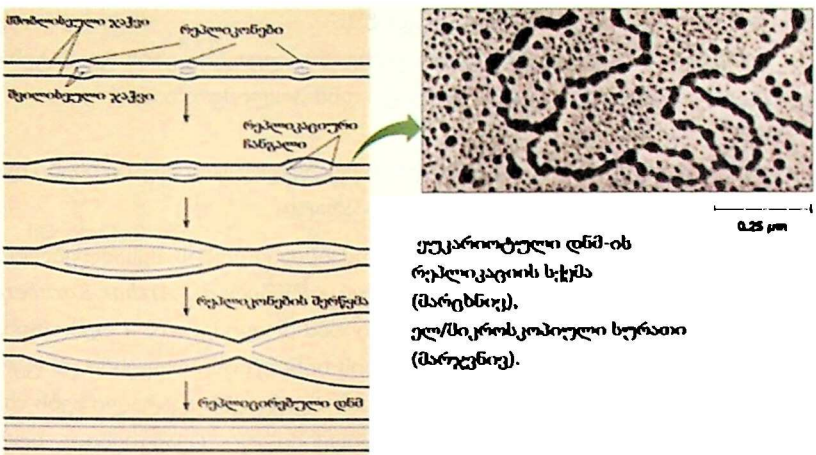


სურ. 5.3. რეპლიკონის სქემა (P.Russell, 2010)

რეპლიკაციის აქტის კონტროლი ხდება ინიციაციის სტადიაზე. რეპლიკაციის საინიციაციო ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა *cis*-მოქმედ საიტს წარმოადგენს, რაც იმას ნიშნავს, ის განლაგებულია იმავე მოლეკულაში, რომლის ფუნქციონირებაზეც ახდენს ზეგავლენას. ერთხელ დაწყებული რეპლიკაცია გრძელდება მანამ, სანამ არ დასრულდება მთელი რეპლიკონის ავტორეპროდუქცია. ინიციაციის სიხშირე კი რეპლიკაციის საწყისი საიტის და რეგულატორული ცილების ურთიერთქმედებით კონტროლდება. პროკარიოტული გენომი, ჩვეულებრივ, ერთ „ქრომოსომას“ შეიცავს, რომლის რეპლიკაციას არეგულირებს ერთადერთი რეპლიკონი. რეპლიკაციური აქტი უჯრედული ციკლის განმავლობაში მხოლოდ ერთხელ ინიცირდება და მთლიანი გენომის გაორმაგებით სრულდება. ქრომოსომის გარდა, ბაქტერიის უჯრედში შეიძლება იყოს

პლაზმიდი. ყოველი პლაზმიდი ავტონომიურ წრიულ გენომს წარმოადგენს და ის რეპლიკაციის დამოუკიდებელი ერთეულია.

ფაგებისა და ვირუსების დნმ, ასევე, რეპლიკაციის დამოუკიდებელ ერთეულს წარმოადგენს. მათი ინიციაცია შესაძლოა რამდენიმეჯერ განხორციელდეს ინფექციური ციკლის მიმდინარეობის პროცესში.



ევკარიოტული დნმ-ის რეპლიკაციის სქემა (მარცხნივ), ელ/სკანირებული სურათი (მარჯვნივ).

სურ. 5.4. ევკარიოტული დნმ-ის რეპლიკაცია

ევკარიოტული ქრომოსომა მრავალ რეპლიკონს შეიცავს. ერთი უჯრედული ციკლის განმავლობაში უნდა გაორმაგდეს ყველა რეპლიკონი. ამასთან, თითოეული რეპლიკონი მხოლოდ ერთხელ რეპლიცირდება. ფიქრობენ, რომ უჯრედში უნდა არსებობდეს რაღაც სიგნალი, რომელიც უკვე გაორმაგებულ რეპლიკონს განასხვავებს არარეპლიცირებულისგან (სურ. 5.4).

რეპლიკაციის ქიმიური საფუძვლები

დნმ-ის ბიოსინთეზისთვის სუბსტრატს წარმოადგენს ოთხი ტიპის დეზოქსირიბონუკლეოტიდტრიფოსფატი: დეზოქსიგუანოზინტრიფოსფატი (dGTP); დეზოქსიციტიდინტრიფოსფატი (dCTP), დეზოქსიადენოზინტრიფოსფატი (dATP) და დეზოქსითიმიდინტრიფოსფატი (dTTP)

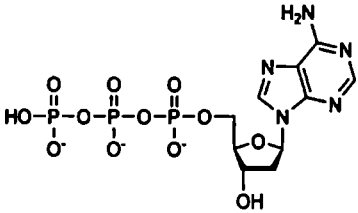
(სურ. 5.5). ნუკლეოტიდტრიფოსფატები აქვს სამი ფოსფატის ჯგუფს (α, β და γ), რომლებიც 5'-ჰიდროქსილ და 2'-დეზოქსირიბოზის ჯგუფებს აკავშირებს. α-ფოსფატი ფოსფოდიესტერული ბმით დნმ-ის მზარდი ჯაჭვის 3'OH ბოლოს უკავშირდება. მომდევნო ორი ფოსფატი (β და γ) გამოთავისუფლდება პიროფოსფატის (ფ) სახით, რომელიც ჰიდროლიზდება უჯრედული ფოსფოდიესტერაზებით. პიროფოსფატის გახლეჩა უზრუნველყოფს რეაქციის შეუქცევადობას.

დნმ-ის მზარდი ჯაჭვის 3'-ბოლოზე ნუკლეოტიდების დამატებას აკატალიზებს რეპლიკაციური ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა.

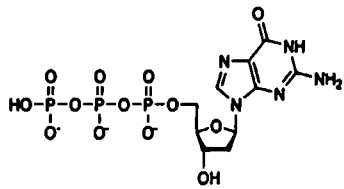
პროკარიოტული გენომის რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმები და ფერმენტული აპარატი

რეპლიკაციის მოლეკულურ მექანიზმებში წვდომის შესაძლებლობა მას შემდეგ გაჩნდა, რაც 1957 წელს *არტურ კორნბერგმა (Arthur Kornberg)* ბაქტერია *E.coli*-ს უჯრედებში ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა I აღმოაჩინა. მან დაადგინა, რომ დნმ-ის მოლეკულების სინთეზის პროცესში ეს ფერმენტი ნუკლეოტიდების პოლიმერიზაციის რეაქციებს აკატალიზებს და, რომ რეპლიკაცია თანამიმდევრული ბიოქიმიური რეაქციებით ხორციელდება. *დნმ-ის ბიოსინთეზის მოლეკულური მექანიზმების ახსნისთვის არტურ კორნბერგს 1959 წელს ნობელის პრემია მიენიჭა.* ამ პერიოდიდან დაიწყო რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმების დეტალური შესწავლა. აღმოჩენილ იქნა ათეულობით ფერმენტი, რომლებიც რეპლიკაციის რეაქციებს წარმართავს. დღეისათვის რეპლიკაციის რეაქციის მოლეკულური მექანიზმები საკმაოდ სრულყოფილადაა შესწავლილი.

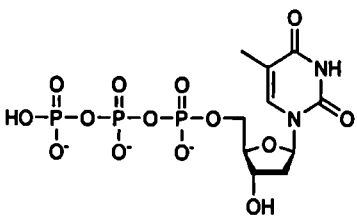
თანამედროვე წარმოდგენებით, რეპლიკაციის პროცესი მთელ რიგ ეტაპებს მოიცავს: დნმ-ის სპირალის რელაქსაცია; რეპლიკაციის საწყისი საიტის ამოცნობა; დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურის გახსნა და რეპლიკაციური ჩანგლის ფორმირება; დესპირალიზებული უბნების გახსნილ მდგომარეობაში შენარჩუნება; ახალი ჯაჭვების სინთეზის ინიციაცია; ჯაჭვების ელონგაცია და კორექცია; სინთეზის ტერმინაცია.



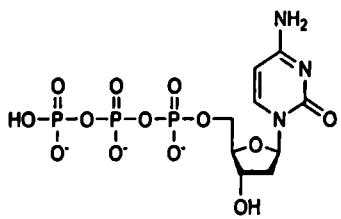
dATP



dGTP



dTTP



dCTP

სურ. 5.5. დეზოქსირიბონუკლეოტიდ ტრიფოსფატები

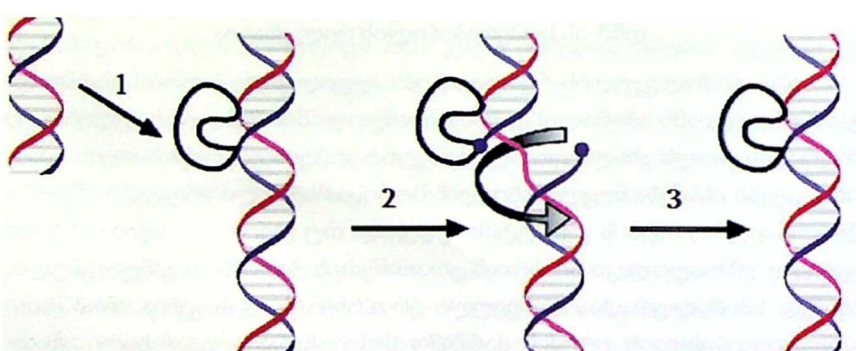
დნმ-ის სუპერსპირალის რელაქსაცია

დნმ-ის მოლეკულის რეპლიკაციის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ორჯაჭვიანი სპირალის გახსნა. მხოლოდ ამის შემდეგ ასრულებს იგი მატრიცის როლს ახალი კომპლემენტური ჯაჭვის სინთეზისათვის. დნმ-ის ჯაჭვები იხსნება ნუკლეოტიდებს შორის არსებული არაკოვალენტური (წყალბადური) ბმების გაწყვეტის შედეგად. თუ გავითვალისწინებთ, რომ ჯაჭვები უბრალოდ კი არ არიან ერთმანეთის პირისპირ განლაგებული, არამედ სპირალურადაა დახვეული ერთმანეთზე, გასაგებია, რომ მათი განცალკევებისთვის ღერძის გარშემო მობრუნებაა აუცილებელი. დადგენილია, რომ დნმ-ის მოლეკულის სტრუქტურაში არ არის თავისუფალი ბოლოები. ის წარმოადგენს ან წრიულ ჩაკეტილ ორსპირალიან სტრუქტურას (ბაქტერიების, პლაზმიდების, მიტოქონდრიების, მრავალი ვირუსის დნმ), ან გრძელ, წრფივ სტრუქტურას, სადაც ქრომოსომები მიმაგრებულია უჯრედულ მატრიქსთან (უმაღლესი ევკარიოტების დნმ) და,

ამდენად, თავისუფლად ბრუნვა არ შეუძლია. ამასთან, გარკვეულ შემთხვევებში, დნმ-ის მოლეკულა სუპერსპირალიზებულია - იხვევა თავისი ღერძის გარშემო. სუპერსპირალი სხვადასხვა მიზეზით შეიძლება წარმოიქმნას, მაგალითად, ნუკლეოსომაში ჩალაგების პროცესის დროს ან რეპლიკაციის მიმდინარეობის დროს დნმ-ის ჯაჭვების გახსნის გამო (გახსნილი ჯაჭვის ბოლოებზე).

რეპლიკაციის წარმართვისათვის დნმ-ის მოლეკულა ექვემდებარება ტოპოლოგიურ გარდაქმნებს. სუპერსპირალიზაციის მოხსნას და დნმ-ის მოლეკულის რელაქსაციას ემსახურება სპეციალური ფერმენტები - ტოპოიზომერაზები.

ტოპოიზომერაზა I ახდენს დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვის დროებით გაჭრას, რაც დნმ-ის მოლეკულას საშუალებას აძლევს მობრუნდეს საკუთარი ღერძის გარშემო. სუპერსპირალში დაძაბულობის მოხსნის შემდეგ აღდგება დნმ-ის ინტაქტური სტრუქტურა. *ტოპოიზომერაზა II*-ის სუპერსპირალზე ზემოქმედებით დნმ-ის ორივე ჯაჭვი იჭრება. ამ ფერმენტის მოქმედებით შესაძლებელია რთული, ჩახვეული მარუყუჟების გახსნა. რელაქსირებული დნმ-ის მოლეკულა მზად არის რეპლიკაციის პროცესის დასაწყებად (სურ. 5.6).

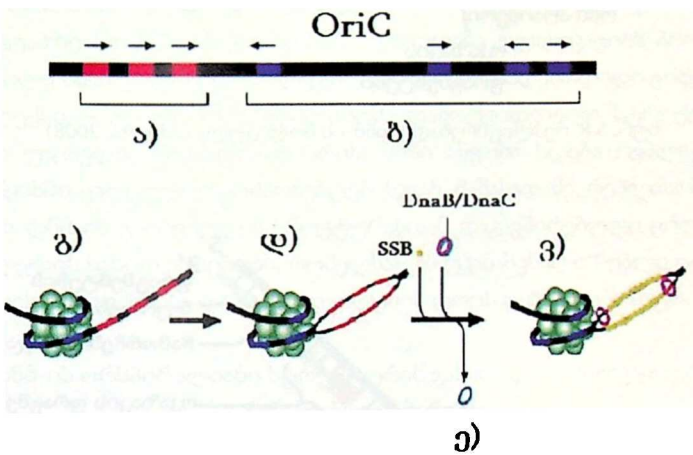


სურ. 5.6. დნმ-ის მოლეკულის რელაქსაცია ტოპოიზომერაზების ზემოქმედებით. 1- ფერმენტ ტოპოიზომერაზის დაკავშირება დნმ-ის მოლეკულასთან; 2 - დნმ-ის ჯაჭვის გაჭრა და მობრუნება; 3 - ჯაჭვის გაკერვა და დნმ-ის ინტაქტური სტრუქტურის აღდგენა

რეპლიკაციის საწყისი საიტი

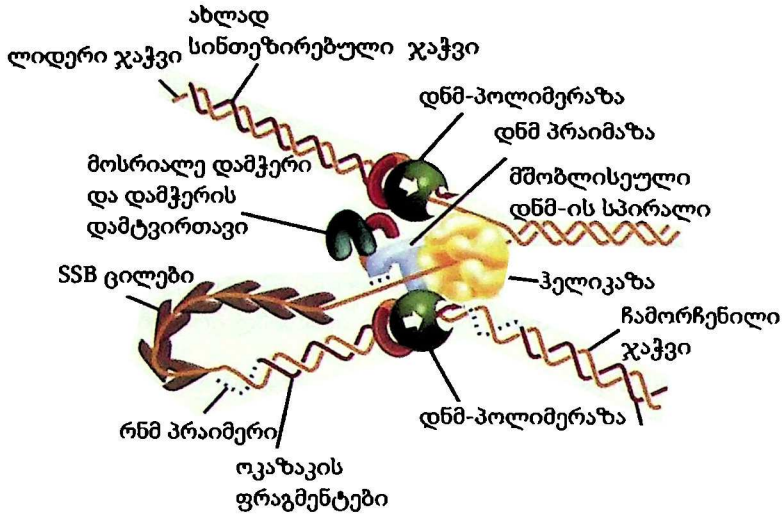
რეპლიკაციის საწყისი საიტი (Ori) წარმოადგენს დნმ-ის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობათა უბანს საიდანაც იწყება რეპლიკაცია. დნმ-ის რელაქსირებულ უბანზე რეპლიკაციის საწყისი საიტის თანამიმდევრობის ამოცნობა სპეციალური ინიციაციური ფერმენტების მეშვეობით ხდება.

ყველაზე უკეთ სადღეისოდ ეს უბანი *E.coli*-ის გენომშია შესწავლილი, რომელსაც მოიხსენიებენ, როგორც OriC. ამ უბნის ამოცნობის სიგნალს 9 ნუკლეოტიდიანი უბნები წარმოადგენს, რომელთა შორის 12-13 ნ.წ.-საგან შემდგარი **ა-თ**-ით მდიდარი თანამიმდევრობებია განლაგებული (სურ.5.7).

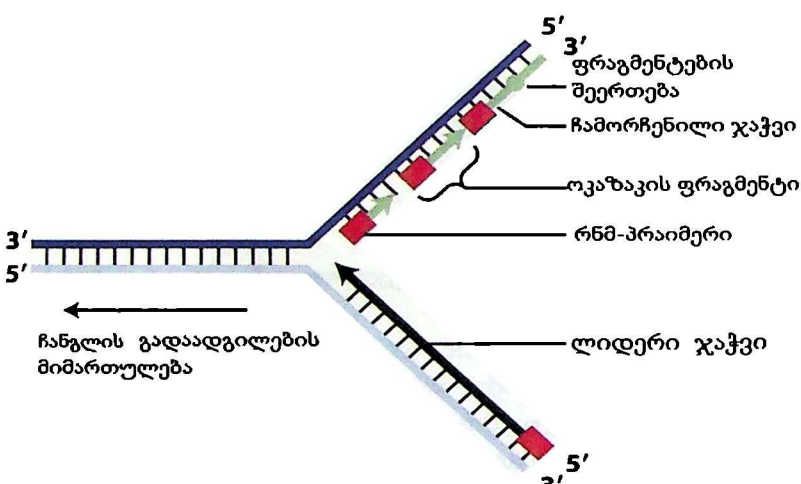


სურ. 5.7. *E.coli*-ს რეპლიკაციის საიტის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის სქემა

რეპლიკაციის საწყისი (OriC) წარმოდგენილია 13 ნ.წ. სიგრძის ა-თ მდიდარი (ა)და 9 ნ.წ. სიგრძის თანამიმდევრობების (ბ) განმეორებებით. დნმ-ის OriC უბანი ეხვევა DnaA ცილოვან კომპლექსზე (გ); იწვევს თ-ა მდიდარი უბნის გახსნას (დ); SSB ცილები დნმ-ს გახსნილ მდგომარეობაში იკავებს; DnaA-OriC კომპლექსს უკავშირდება სხვა ცილოვანი ფაქტორი -DnaB (ე) და იწყება რეპლიკაციის პროცესი (ვ).



სურ. 5.8. რეპლიცირებადი დნმ-ის მოლეკულა (Alberts, 2008)



სურ. 5.9. რეპლიკაციური ჩანგლის ფორმირება ევკარიოტული უჯრედის მაგალითზე

ეს ცხრაწევრიანი უბნები, შეიძლება, ერთმანეთის მიმართ ინვერტირებადი თანამიმდევრობით იყოს განლაგებული. ეს თანამიმდევრობები რეგულატორულ უბნებს წარმოადგენს და მაღალი კონსერვატიულობით ხასიათდება. მსგავსი რეგულატორული თანამიმდევრობები მრავალი ბაქტერიის გენომშია ნაპოვნი. მაგალითად, *Bacilus subtilis* ქრომოსომას 15 ასეთი უბანი აქვს.

In vitro პირობებში OriC-საიტის რეპლიკაციის ინიციაციის პროცესი იწყება კომპლექსის ფორმირებით, რომლის შედგენილობაში შედის 6 ცილა: DnaA, DnaB, DNAC, HU, გირაზა და SSB. თავდაპირველად 9-წევრიან თანამიმდევრობას უკავშირდება DnaA, წარმოიქმნება ცილოვანი აგრეგატი, რომელიც შემოეხვევა რეპლიკაციის საწყის დნმ-უბანს, ყალიბდება OriC/DnaA კომპლექსი და ხდება დნმ-ის მოლეკულის გახსნა. შემდეგ ეტაპზე OriC/DnaA კომპლექსს უერთდება რეპლიკაციის პროცესში მონაწილე სხვა ცილოვანი მოლეკულები და ყალიბდება დიდი ცილოვანი კომპლექსი – *რეპლისომა*. რეპლისომა დამოუკიდებელი სტრუქტურის სახით უჯრედში ნაპოვნი არ არის, მისი აწყობა ხდება რეპლიკაციის დასაწყისში ცალკეული კომპონენტებისაგან. მაშასადამე, რეპლისომა უჯრედში დნმ-ის გარკვეულ სტრუქტურასთან დაკავშირებული ცილოვანი კომპლექსის სახით არსებობს, რომელსაც ეს უკანასკნელი რეპლიკაციური ჩანგლის წარმოქმნისა და გადაადგილების დროს ღებულობს (სურ. 5.8).

დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურის გახსნა და რეპლიკაციური ჩანგლის ფორმირება

დნმ-ის ახალი ჯაჭვის სინთეზისათვის მატრიცის ფუნქციის შესრულება მხოლოდ დნმ-ის ერთჯაჭვიან მოლეკულას შეუძლია. გასაგებია, რომ რელიკაციის რეაქციას დნმ-ის ჯაჭვის გახსნა უნდა უსწრებდეს წინ. დნმ-ის დედისეული ჯაჭვების განცალკევების შედეგად ყალიბდება რეპლიკაციის აქტიური რეგიონი, რომელსაც მისი Y-ის მსგავსი სტრუქტურის *გამო რეპლიკაციურ ჩანგალს* უწოდებენ (სურ. 5.9).

დნმ-ის ჯაჭვების გახსნა მხოლოდ ძალიან მაღალ (90ºC) ტემპერატურაზეა შესაძლებელი. უჯრედში ამ პროცესს ფერმენტი დნმ-ჰელიკაზა აკატალიზებს, რომელიც წარმოადგენს DnaB გენის პროდუქტს. თავდაპირველად ის უკავშირდება რეპლიკაციის ინიციაციაში მონაწილე ზე-

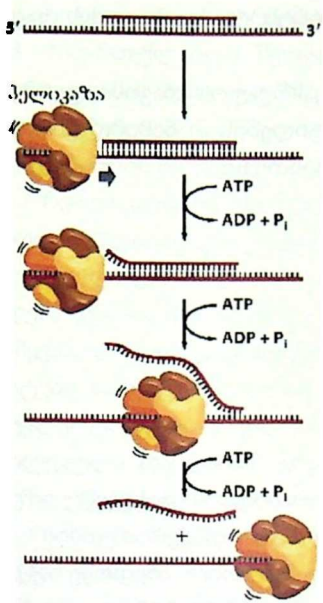
მოთ აღწერილ ფერმენტულ კომპლექსს, ხოლო შემდეგ გადადის დნმ-ის ერთ-ერთ ჯაჭვზე და მოძრაობს მასზე განსაზღვრული მიმართულებით. დნმ-ის ჯაჭვზე გადაადგილებისას ჰელიკაზა ჭრის დედისეული დნმ-ის ნუკლეოტიდური წყვილების დამაკავშირებელ წყალბადურ ბმებს და თანდათან ახდენს ჯაჭვების დაშორიშორებას, რაც რეპლიკაციური ჩანგლის ზრდას განაპირობებს. ეს რეაქცია ატფ-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებულ ენერგიას მოიხმარს (სურ. 5.10).

იმის მიხედვით, თუ რამდენი რეპლიკაციური ჩანგალი მოძრაობს სასტარტო წერტილიდან, რეპლიკაცია შეიძლება იყოს ერთმიმართულებიანი ან ორმიმართულებიანი. ორმიმართულებიანი რეპლიკაციის დროს რეპლიკაციური ჩანგლები ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით მოძრაობს და წარმოქმნის გამობერილობას (ბუშტუკს). ელექტრონულ მიკროსკოპში რეპლიცირებად დნმ-ს თვალის ფორმა აქვს და მას „რეპლიკაციურ თვალს“ ან „რეპლიკაციურ ბუშტუკს“ უწოდებენ (სურ. 5.4).

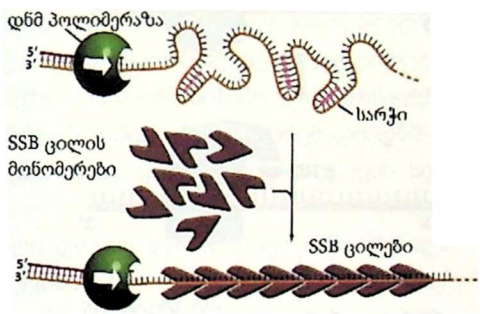
დესპირალიზებული უბნების გახსნილ მდგომარეობაში შენარჩუნება

დნმ-ჰელიკაზას მიერ ერთმანეთისგან განცალკევებული დნმ-ის ჯაჭვები კომპლემენტურ ნუკლეოტიდებს შეიცავს და სივრცობრივად ერთმანეთთან ახლოს არის განლაგებული. რომ არა დამატებითი ფაქტორების ზემოქმედება, ჯაჭვები სწრაფად დაუკავშირდებოდა ერთმანეთს და აღიდგენდა ორსპირალიან სტრუქტურას. დესპირალიზებულ უბნებს გახსნილი მდგომარეობას უნარჩუნებს ერთჯაჭვიან დნმ-თან დაკავშირებული ***SSB-ცილები*** (ინგლ. Single Stranded DNA Binding Protein). ამ ცილებს სპირალის დემასტაბილიზებელ ცილებსაც უწოდებენ. SSB-ცილებს აქვს კოოპერაციული დაკავშირების მექანიზმი, რაც იმას ნიშნავს, რომ ერთი მოლეკულის დაკავშირება აადვილებს მეორე მოლეკულის დაკავშირებასა და ა.შ. თუ პროცესი დაიწყო, ის გრძელდება მანამ, ვიდრე დნმ-ის მთელი მოლეკულა არ დაიფარება აღნიშნული ცილით. SSB-ცილები, ინარჩუნებს რა დნმ-ის ჯაჭვს გაშლილ მდგომარეობაში, ხელს უშლის ერთჯაჭვიანი სარჭების შესაძლო ფორმირებას, რაც დააბრკოლებდა რეპლიკაციის პროცესს (სურ. 5.11). ამრიგად, SSB-ცილები დნმ-ის სტრუქტურას სწრაფი რეაქციისთვის ამზადებს.

დნმ-ის მოლეკულასთან დაკავშირებული ჰელიკაზა იწვევს ორმაგი სპირალის გახსნას და ნუკლეოტიდებს შორის არსებული წყალბადური ბმების გაწყვეტას. ამ პროცესის ენერგეტიკული უზრუნველყოფა ატფ-ის დაშლის შედეგად გამოთავისულებულ ენერგიის ხარჯზე ხდება. მიიღება ადფ და პიროფოსფატი.



სურ. 5.10. ფერმენტ ჰელიკაზის დნმ-ის ერთჯაჭვიან სტრუქტურასთან მოქმედების სქემა



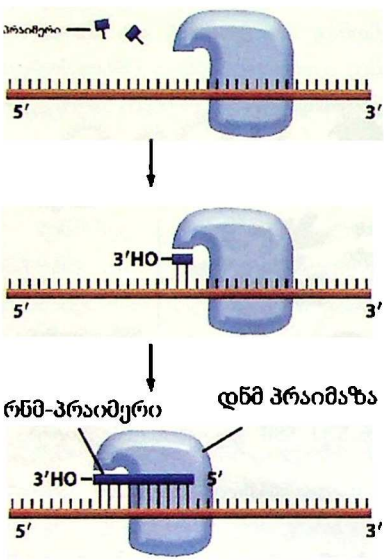
სურ. 5.11. SSB -ცილების დაკავშირება (Alberts, 2013)

დნმ-ის რეპლიკაციის ინიციაცია

რეპლიკაციური ჩანგლის ზრდასთან ერთად, დნმ-ის შვილისეული მოლეკულების სინთეზი დედისეული დნმ-ის ორივე ჯაჭვზე უნდა წარიმართოს. ამ პროცესს პოლიმერაზული აქტივობის ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა ახორციელებს, მაგრამ მას არ შესწევს რეპლიკაციის ინიცირების უნარი. დღემდე შესწავლილ ყველა დნმ-პოლიმერაზას შეუძლია, ნუკლეოტიდები მხოლოდ მიუერთოს უკვე არსებული პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის თავისუფალ 3- ბოლოს.

რეპლიკაციის ინიციაციის ფუნქცია უჯრედში სხვა ფერმენტს - ***პრაიმაზას*** აკისრია, რომელიც რეპლიკაციის პროცესს იწყებს მოკლე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების, ე. წ. ***პრაიმერის*** სინთეზით (სურ. 5.12). მისი აწყობა დნმ-მატრიცასთან რიბონუკლეოტიდების კომპლემენტური დაწყვილების პრინციპით ხდება. პრაიმერი წარმოადგენს დაახლოებით 10-15 ნუკლეოტიდისგან შემდგარ რნმ-ფრაგმენტს, რომელსაც აქვს თავისუფალი 3'OH- ბოლო.

აქ უკვე რნმ-პოლიმერაზას შეუძლია, შეასრულოს თავისი ფერმენტული აქტივობა და დეზოქსირიბონუკლეოტიდების თანამიმდევრული მიერთების გზით წარმართოს ახალი ჯაჭვის სინთეზი.



სურ. 5.12.
პრაიმერის სინთეზის სქემა

დნმ-ის ჯაჭვების ელონგაცია

დნმ-ის დუპლექსური, ანტიპარალელური სტრუქტურიდან გამომდინარე, რთულდება რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმების არსის გაგება. რეპლიკაციური ჩანგალი მოძრაობს 5'---3' მიმართულებით – დედისეული დნმ-ის მოლეკულის ერთ ჯაჭვზე, ხოლო 3'---5' მიმართულებით – მეორე ჯაჭვზე. დნმ-ის შვილისეული მოლეკულის სინთეზი

ორივე ჯაჭვზე ერთდროულად მიმდინარეობს. დედისეული დნმ-ის ჯაჭვების ანტიპარალელური ორიენტაცია ითხოვს სხვადასხვა ტიპის ფერმენტს, რომლებიც ერთ ჯაჭვზე პოლიმერიზაციის რეაქციების განხორციელებას 5'---3' მიმართულებით შეძლებს, ხოლო მეორე ჯაჭვზე – 3'---5' მიმართულებით. წინააღმდეგობა იმაში მდგომარეობს, რომ დღემდე ცნობილ ყველა ფერმენტს ნუკლეინის მჟავების სინთეზი მხოლოდ 5'---3' მიმართულებით შეუძლია წარმართოს. ამ წინააღმდეგობის ახსნა მხოლოდ მას შემდეგ გახდა შესაძლებელი, რაც მე-20 საუკუნის 60-ინი წლების ბოლოს იაპონელმა მეცნიერმა *რეიდჯი ოკაზაკიმ (Reiji Okazaki)* რეპლიკაციის წყვეტილი ბუნება აღმოაჩინა.

რეპლიკაციის მოლეკულურ მექანიზმებში გასარკვევად განვიხილოთ რეპლიცირებადი დნმ-ის მოლეკულა (სურ. 5.8; 5.9). როცა დნმ-ის მოლეკულა გახსნილია, მის ერთ ჯაჭვზე (3'--5' ორიენტაციის) უწყვეტად ხდება დნმ-ის ახალი ჯაჭვის სინთეზი 5'---3' მიმართულებით. ამ ჯაჭვს წამყვან, *ლიდერ ჯაჭვს* უწოდებენ. დეზოქსირიბონუკლეოტიდტრიფოსფატები სათითაოდ შედის სინთეზის აქტიურ ზონაში და კანონიკური ნუკლეოტიდური წყვილების შერჩევის შემდეგ სინთეზირებადი დნმ-ის მოლეკულა თანდათან გრძელდება. მაშასადამე, ლიდერი ჯაჭვის სინთეზი უწყვეტად მიმდინარეობს.

სინთეზირებადი შვილისეული დნმ-ის მეორე ჯაჭვს *ჩამორჩენილი ჯაჭვი* ეწოდება. ჩამორჩენილი ჯაჭვის რეპლიკაციის მექანიზმი განსხვავდება ლიდერი ჯაჭვისაგან. რეპლიკაციის პროცესი აქ პრაიმერის სინთეზით იწყება. შემდეგ კი დნმ-პოლიმერაზა პრაიმერის თავისუფალ 3'-ბოლოზე დნმ-ის ფრაგმენტის სინთეზს ახორციელებს. ეს ფრაგმენტები შეიცავს 1000-2000 ნუკლეოტიდურ წყვილს, რომლებსაც აღმომჩენის პატივსაცემად *„ოკაზაკის ფრაგმენტებს“* უწოდებენ. დნმ-ის ფრაგმენტების სინთეზის რეაქციებს ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა III აკატალიზებს. როდესაც დნმ-პოლიმერაზა III შეხვდება მის წინ მდებარე ფრაგმენტის პრაიმერს, ის ტოვებს მატრიცს.

მომდევნო ეტაპზე დნმ-ის მზარდ ჯაჭვს სცილდება პრაიმერები. პრაიმერის ამოვარდნის შემდეგ რჩება თავისუფალი ადგილი ანუ *ხვრელი, ე.წ. გეპი (gap),* რომელიც შეივსება რეპლიკაციური ჩანგლის შესაბამისი უბნის კომპლემენტური ნუკლეოტიდებით. ორივე რეაქციას (პრაიმერის

მოცილება, ღიობის შევსება) დნმ-პოლიმერაზა I წარმართავს, რაც ფერმენტის ორგვარი – ეგზონუკლეაზური (5'---3') და პოლიმერაზული აქტივობით არის უზრუნველყოფილი. ღიობის შევსების შემდეგ, ოკაზაკის ფრაგმენტებს შორის ახალსინთეზირებული დნმ-ის შაქარფოსფატურ ღერძი რჩება გაწყვეტილი, წარმოიქმნება ე. წ. *ნიკი.* ნიკი წარმოადგენს წყვეტილს დნმ-ის შაქარფოსფატურ ღერძში, რომელიც კოვალენტური ბმის გახლეჩით მიიღება. ღიობისაგან განსხვავებით აქ ნუკლეოტიდები ამოვარდნილი არ არის. შემდეგ ეტაპზე გაწყვეტილი დნმ-ის მოლეკულა გაიკერება ფერმენტ დნმ-ლიგაზის მეშვეობით. ჩამორჩენილ ჯაჭვზე დასინთეზებული 5'---3' მიმართულების მქონე ოკაზაკის ფრაგმენტები ერთიანდება და წარმოქმნის „ჩამორჩენილ", 3'---5' ინტაქტურ ჯაჭვს. მაშასადამე, ჩამორჩენილი ჯაჭვის ზრდა მიმდინარეობს წყვეტილად, ცალკეული ფრაგმენტის სინთეზის გზით.

საბოლოო ჯამში, შვილისეული დნმ-ის ორივე ჯაჭვის სინთეზი დროსა და სივრცეში თითქმის ერთდროულად მიმდინარეობს. რეპლიკაციის განხილულ მექანიზმს ნახევრადუწყვეტ რეპლიკაციას უწოდებენ.

რეპლიკაციის რეაქციის მაღალი სიჩქარის უზრუნველყოფას პროცესული პოლიმერაზები ესაჭიროება. რომლებიც, დაიწყებენ რა პოლიმერიზაციის რეაქციებს, არ დატოვებენ დნმ-ის მატრიცს სინთეზის დასრულებამდე. სწორედ ეს წარმოადგენს პროცესიული ფერმენტების მოქმედების მექნიზმის თავისებურებას. ამის გარეშე დიდი ზომის დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესი ძალიან გაიწელებოდა დროში. პროცესულობის გაზრდის მიზნით უჯრედი რეგულაციის განსაკუთრებულ მექანიზმს იყენებს. რეპლიკაციურ ჩანგალთან, დნმ-პოლიმერაზა უკავშირდება სპეციალურ ცილებს, ე.წ. *„მოსრიალე დამჭერებს".* დამჭერები დნმ-ის ორმაგი სპირალის ირგვლივ მოსრიალე რგოლს ქმნის. ამ რგოლის აწყობას ახდენს სპეციალური დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები – *„დამჭერის დამტვირთავები"* (სურ. 5.8). მოსრიალე დამჭერებთან დნმ-პოლიმერაზის ასოციაცია მის პროცესულობას ზრდის და, აქედან გამომდინარე, უზრუნველყოფს რეპლიკაციის პროცესის სიზუსტესა და სიჩქარეს.

რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომების კორექცია

რეპლიკაციის რეაქციის სიზუსტეს მნიშვნელოვნად განაპირობებს რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომების კორექციის მექანიზმი. ამ მექანიზმის არსი იმაში მდგომარეობს, რომ დნმ-პოლიმერაზები ორჯერ ამოწმებს დნმ-ის მზარდ ჯაჭვში შემავალი ნუკლეოტიდების შესაბამისობას დნმ-მატრიცთან.

ნუკლეოტიდების საწყისი შერჩევა ეფუძნება აქტიურ საიტში შემავალი ნუკლეოტიდების სწორ მორგებას. ახალი ჯაჭვის სინთეზის პროცესში მხოლოდ ის შემოსული ნუკლეოტიდი ჩაერთვება, რომელიც დნმ-მატრიცის ნუკლეოტიდის კომპლემენტურია.

ვინაიდან ზოგჯერ მაინც აქვს ადგილი ნუკლეოტიდების არაკანონიკური წყვილების წარმოქმნას, კორექციის მეორე გზა არის უკვე შესრულებული არასწორი კავშირის კორექცია. რნმ-პოლიმერაზა I-ის კიდევ ერთი აქტივობით - 3'---5' ეგზონუკლეაზური აქტივობით, დნმ-ის მზარდი ჯაჭვის 3'-ბოლოდან არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების ჩამოცილება ხდება.

რეპლიკაციის ტერმინაცია

ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რომელიც *E. coli-ს* რეპლიკაციის ტერმინაციას განაპირობებს, ტერმინალური ter-საიტი (ინგლ. terminal site) ეწოდება. *E. coli-ს* უჯრედში ტერმინალური საიტი მოკლე ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას წარმოადგენს (სულ 23 ნ.წ.). ტერმინალურ უბანში რამდენიმე ter-საიტი გვხვდება. ტერმინაციის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს სპეციალური გენის პროდუქტი, რომელიც უკავშირდება ამ საიტს და ხელს უშლის რეპლიკაციური ჩანგლის გადაადგილებას.

რეპლიკაცია და უჯრედული ციკლი

რეპლიკაციასა და უჯრედის ზრდის პროცესს შორის მჭიდრო ურთიერთკავშირი არსებობს. რეპლიკაციის ინიციაციის ციკლების სიხშირე ბაქტერიებში უჯრედის ზრდის სიჩქარით განისაზღვრება. რეპლიკაციის ციკლის დასრულება კი უჯრედის ორად გაყოფის სიგნალს წარმოადგენს,

რასაც შედეგად მოყვება სხვადასხვა უჯრედში შვილისეული ქრომოსომების გადანაწილების პროცესი.

E. coli-ს უჯრედები სხვადასხვა სისწრაფით იზრდება და უჯრედების გაორმაგების დრო 18 წთ-დან 180 წთ-მდე ვარირებს. ვინაიდან ბაქტერიული ქრომოსომა ერთადერთი რეპლიკონით არის წარმოდგენილი, რეპლიკაცის მთელი ციკლი მხოლოდ ერთი საწყისი წერტილით კონტროლდება.

დადგენილია, რომ რეპლიკაციის ინიციაციური პროცესები პირდაპირ კავშირშია უჯრედის მასის მატებასთან. რაც უფრო სწრაფად იზრდება უჯრედი, მით უფრო მატულობს უჯრედის მასა და, მით მეტი რეპლიკაციის საწყისი საიტის წარმოქმნა ხდება.

როგორც ცნობილია, ევკარიოტების უჯრედული ციკლი მოიცავს G_1, S, G_2 (ინტერფაზა) და M (მიტოზი) ფაზებს. დნმ-ის რეპლიკაცია უჯრედული ციკლის მხოლოდ გარკვეულ ეტაპს მოიცავს. ტიპური ევკარიოტული უჯრედი რეპლიკაციის ციკლის შესრულების დროს დიპლოიდურ მდგომარეობაში იმყოფება. ის ამ მდგომარეობაში მთელ G_1-ფაზაში რჩება და მოიცავს უჯრედული ციკლის ყველაზე დიდი პერიოდს. S-ფაზაში დნმ-ის სინთეზი წარმოებს, რომელიც უმაღლეს ევკარიოტებში რამდენიმე სთ-ს გრძელდება. რეპლიკაციის შედეგად უჯრედში იქმნება ტეტრაპლოიდური მდგომარეობა, რომელიც გრძელდება მთელი G_2-ფაზის განმავლობაში. ამის შემდეგ იწყება მიტოზის ფაზა, რომელიც შვილისეულ უჯრედებში ქრომოსომების კრებულს დიპლოიდურ მდგომარეობამდე ამცირებს.

S-ფაზის ინიციაციისათვის მზადება ევკარიოტულ უჯრედში, ჯერ კიდევ, G_1 ფაზაში ხდება. ამ დროს მიმდინარეობს სპეციფიკური ცილების სინთეზი, მაგრამ მისი მოლეკულური მექანიზმი ჯერჯერობით ბოლომდე ცნობილი არ არის. ასევე, უცნობია, ეს პროცესი თანდათანობით მიმდინარეობს თუ უეცრად ხდება. უცნობია, აგრეთვე, როგორ ღებულობს უჯრედი მოლეკულურ დონეზე გადაწყვეტილებას, გადაერთოს გენომის რეპლიკაციის მდგომარეობაში.

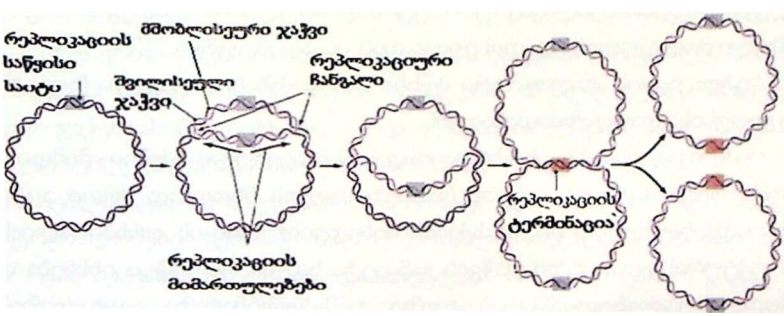
ევკარიოტული უჯრედის ქრომოსომები დიდი რაოდენობით დნმ-ის მოლეკულებს შეიცავს და მათი რეპლიკაციის განხორციელების მიზნით ქრომოსომა ცალკეულ რეპლიკონებად იყოფა. ამ რეპლიკონების გააქ-

ტიურება ერთდროულად არ ხდება. S-ფაზის ნებისმიერი მომენტისათვის მხოლოდ რამდენიმე მათგანი რეპლიცირდება. როგორც ჩანს, ყოველი რეპლიკონის აქტივაცია S-ფაზის გარკვეულ ეტაპზე წარმოებს. საინტერესოა, რომ S-ფაზაში შესვლის სიგნალს წარმოადგენს პირველი რეპლიკონის გააქტიურება. მხოლოდ ამის შემდეგ იწყება სხვა რეპლიკონების აქტივაცია, რომელიც რამდენიმე სთ-ს გრძელდება. ამრიგად, S-ფაზის კონტროლი ორ პროცესს მოიცავს: უჯრედის გამოყვანას G_1-პერიოდიდან და რეპლიკაციის ინიციაციას სხვადასხვა რეპლიკონში - მოწესრიგებული თანამიმდევრობით.

წრიული დნმ-ის რეპლიკაცია

წრიული დნმ-ის რეპლიკაციის დროს მატრიცის ფუნქციას შეიძლება ასრულებდეს დნმ-ის ორივე ჯაჭვი ან მხოლოდ ერთი, რაც, გარკვეულწილად, განსაზღვრავს რეპლიკაციის პროცესის თავისებურებებს.

სურ. 5.13-ზე წარმოდგენილია *E.coli*-ის დნმ-ის რეპლიკაციის სქემა:



სურ. 5.13. პროკარიოტული წრიული დნმ-ის რეპლიკაციის სქემა

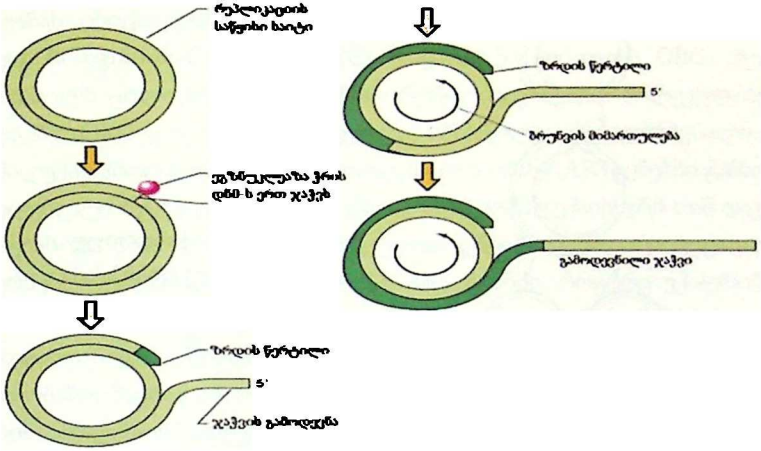
როგორც ვხედავთ, *E.coli*-ს წრიული ქრომოსომის სარეპლიკაციო მატრიცს დედისეული დნმ-ის ორივე ჯაჭვი წარმოადგენს. მისი სუპერსპირალიზებული წრიული დნმ-ის ორმაგი სპირალი მთლიანად უნდა გაიშალოს რეპლიკაციის აქტის შესასრულებლად. სუპერსპირალის გახსნა მოითხოვს საკუთარი ღერძის გარშემო განუწყვეტელ ბრუნვას, რაც მოლეკულაში ტოპოლოგიურ დაძაბულობას წარმოშობს. ამიტომ ტოპოი-

ზომერაზების მიერ განხორციელებული ტოპოლოგიური გარდაქმნები რეპლიკაციური აქტის ერთ-ერთ საკვანძო ეტაპს წარმოადგენს. ***ტოპოიზომერაზა I*** ჭრის ერთ-ერთ ჯაჭვს, რომელიც შემობრუნდება სიმეტრიის ღერძის გარშემო. ამით იხსნება დაძაბულობა დნმ-ის სუპერსპირალში. დნმ-ის მთლიანობა სწრაფად აღდგება, ხოლო რელაქსირებული („მოდუნებული") დნმ-ის მოლეკულა მზადაა მატრიცის ფუნქციის შესასრულებლად. *E.coli*-ს წრიული დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესს ერთადერთი რეპლიკაციური საწყისი საიტი აკონტროლებს, ხოლო რეპლიკაციური ჩანგლები ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით მოძრაობს და რეპლიკაციურ თვალს ქმნის. რეპლიცირებად დნმ-ის ბერძნული ასო θ ფორმა აქვს და მას ***რეპლიკაციის θ სტრუქტურას უწოდებენ.*** რეპლიკაციური თვალის ზრდასთან ერთად არარეპლიცირებული სეგმენტი სტრუქტურაში თანდათან მცირდება. რეპლიკაციის დასრულების შემდეგ ყალიბდება ორი ორჯაჭვიანი სტრუქტურა, რომლებიც ერთმანეთთან არის დაკავშირებული. ***ტოპოიზომერაზა II*** ერთ-ერთი ჯაჭვის გაჭრის გზით მათ დაცილებას ახდენს, ხოლო დნმ-ის ინტაქტური სტრუქტურა მალევე აღდგება. რეპლიკაციური აქტის დასრულების შემდეგ სინთეზირებული მოლეკულები დედისეული დნმ-ის იდენტურია.

რეპლიკაციის ანალოგიური მექანიზმი დამახასიათებელია ზოგიერთი ვირუსისა და პლაზმიდისათვის.

რეპლიკაციის პროცესი სრულიად განსხვავებული სქემით მიმდინარეობს, როცა მატრიცს დნმ-ის სინთეზისათვის მხოლოდ ერთი ჯაჭვი წარმოადგენს (სურ. 5.14). ამ სქემის მიხედვით, დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურის ერთ-ერთი ჯაჭვის გაწყვეტა ხდება. ეს ჯაჭვი იხსნება და გამოთავისუფლებულ 3'OH-ბოლოზე დნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს ახალი ნუკლეოტიდების დამატებას. რეპლიკაციის ზრდის წერტილი, თითქოს, გორავს დნმ-მატრიცის ირგვლივ. რეპლიკაციის ეს სქემა ცნობილია ***მგორავი რგოლის*** სახელწოდებით. სინთეზირებადი ჯაჭვი გამოდევნის საწყის მშობლისეულ ჯაჭვს და ვინაიდან ის კოვალენტური ბმითაა დაკავშირებული ძველ ჯაჭვთან, მიაღწევს მის 5'-ბოლოს. ეს ციკლი მრავალჯერ მეორდება. რეპლიკაციის მეორე ციკლისთვის მისი წინა ციკლის დროს რეპლიცირებული მასალის გამოდევნა ხდება და ა.შ. რეპლიკაციის ციკლი მრავალჯერ მეორდება, რაც უზრუნველყოფს დნმ-

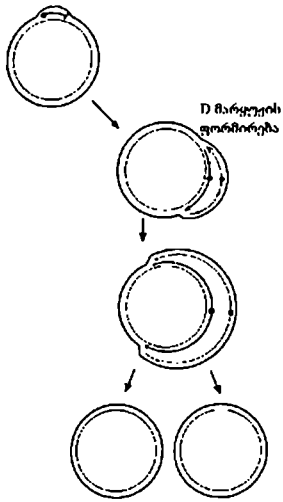
ის საწყისი მოლეკულის მრავალი ასლის სინთეზს. გამოთავისუფლებული ჯაჭვის ორსპირალიან სტრუქტურად გარდაქმნა კი მასზე კომპლემენტური ჯაჭვის სინთეზის გზით მიმდინარეობს.



სურ. 5.14. „მგორავი რგოლის“ პრინციპით მიმდინარე რეპლიკაციის სქემა

ზოგიერთი ფაგი, რომლის გენომი ერთჯაჭვიან წრიულ დნმ-ის წარმოადგენს, ბაქტერიის უჯრედში მოხვედრის შემდეგ, ჯერ კომპლემენტურ ჯაჭვს ასინთეზებს და გარდაიქმნება ორჯაჭვიან სტრუქტურად, ხოლო შემდეგ მგორავი რგოლის პრინციპით რეპლიცირდება.

რეპლიკაციის კიდევ ერთი ალტერნატიული მექანიზმი იქნა ნაპოვნი მიტოქონდრიების გენომში. მიტოქონდრიული ორჯაჭვიანი წრიული დნმ-ის რეპლიკაციის დროს თავდაპირველად მხოლოდ ერთი ჯაჭვი ასრულებს მატრიცის როლს. თავდაპირველად დნმ-ის სინთეზი მიმდინარეობს მოკლე მონაკვეთზე და იწვევს წრიული გენომიდან მეორე ჯაჭვის გამოდევნას. წარმოიქმნება ე.წ. D-მარყუჟი. მეორე ჯაჭვის რეპლიკაცია მხოლოდ მას შემდეგ იწყება, როცა პირველი ჯაჭვის უმეტესი ნაწილი უკვე დასინთეზებულია. ამიტომ პირველი ჯაჭვის რეპლიკაციის დასრულების მომენტისათვის მეორე ჯერ კიდევ არ არის სრულად რეპლიცირებული და ნაწილობრივ ერთჯაჭვიანი რჩება. საბოლოოდ, ორივე ჯაჭვი იკვრება კოვალენტური ბმით და მიღება დნმ-ის ორი წრიული მოლეკულა (სურ. 5.15).



სურ. 5.15. მიტოქონდრიული დნმ-ის რეპლიკაციის სქემა

ევკარიოტული გენომის რეპლიკაციის თავისებურებები

ევკარიოტული გენომის რეპლიკაცია ძირითადად ბაქტერიული გენომის მსგავსი მექანიზმით მიმდინარეობს, მაგრამ რიგი თავისებურებებითაც ხასიათდება. ევკარიოტული დნმ-ის რეპლიკაციას იგივე ფერმენტები აკატალიზებს. განსხვავება მდგომარეობს მათი მოქმედების სპეციფიკურ დეტალებში. მთელი რიგი განსხვავებები არსებობს აგრეთვე დნმ-ის რეპლიკაციის რეგულაციის მექანიზმებში.

ევკარიოტული გენომის რეპლიკაციის საწყისი საიტები. პროკარიოტული გენომის რეპლიკაციის საწყისი საიტის ანალოგებს ევკარიოტებში ავტონომურად რეპლიცირებადი თანამიმდევრობები (ინგლ. Autonomously Replicating Sequences - ARS) წარმოადგენს. დნმ-ის ეს უბანი პირველად 1980 წელს საფუვრის უჯრედებში იქნა იდენტიფიცირებული *რონალდ დეივისისა და ჯონ კარბონის (Ronald Davis , John Carbon)* მიერ.

ავტონომურად რეპლიცირებადი თანამიმდევრობა დაახლოებით 100-200 ნუკლეოტიდურ წყვილს მოიცავს და, ბაქტერიებისგან განსხვავებით, მრავალი ასლით არის წარმოდგენილი, სადაც რეპლიკაცია მხოლოდ

ერთი საწყისი საიტით კონტროლდება. მოგვიანებით მსგავსი კონსენსუსური თანამიმდევრობები დაფიქსირებულ იქნა სხვა ორგანიზმებშიც.

ევკარიოტულ უჯრედებში რეპლიკაციის ინიციაციის აუცილებელ პირობას ინიციაციის საწყისი საიტის ამომცნობი კომპლექსის (ინგლ. Origin Recognition Complex - ORC) არსებობა წარმოადგენს. ORC - მულტიმერული ცილოვანი კომპლექსია, რომელიც ცილის 6 მოლეკულისგან შედგება. ORC-კომპლექსი პირველად 1992 წელს იქნა აღმოჩენილი. ეს კომპლექსი ამოიცნობს და უკავშირდება ARS უბანს. ARS გენებში განხორციელებული მუტაციები ხელს უშლის ORC კომპლექსის დნმ-თან დაკავშირებას და პირიქით, ORC კომპლექსის გენებში მომხდარი მუტაციები აფერხებს რეპლიკაციის ინიციაციას ARS უბანში. როგორც ექსპერიმენტების შედეგად გაირკვა, ORC კომპლექსი ასეთ დროს რეპლიკაციურ ორიჯინთან დაკავშირებული რჩება მთელი უჯრედული ციკლის განმავლობაში, მაგრამ არ იწვევს რეპლიკაციის ინიციაციას. ამ ექსპერიმენტების ანალიზის საფუძველზე გამოითქვა მოსაზრება, რომ, სავარაუდოდ, რეპლიკაციის ინიციაციას სხვა დამხმარე ცილოვანი ფაქტორებიც ესაჭიროება. მართლაც, მოგვიანებით ევკარიოტულ უჯრედებში ნაპოვნი იქნა ასეთი ცილები, ე.წ. მინიქრომოსომის შემანარჩუნებელი ცილები (ინგლ. Minichromosom Maintenance Proteins - MCM). მათ პრერეპლიკაციური კომპლექსის ცილებსაც უწოდებენ. ამ ცილებს ჰელიკაზური აქტივობა აქვთ. ORC/MCM დაკავშირებით პრერეპლიკაციური კომპლექსი იქმნება. ამ კომპლექსის აქტივაცია რეგულირდება ციკლინებითა და ციკლინდამოკიდებული პროტეაზებით.

ძუძუმწოვრების დიფერენცირებულ უჯრედებში პრერეპლიკაციური კომპლექსები უჯრედული ციკლის G1-ფაზის დროს ყალიბდება ქრომოსომის სპეციფიკურ უბნებში, ხოლო მათი დაშლა მიტოზის დროს ხდება.

რეპლიკაციური ჩანგლები. ევკარიოტული ქრომოსომის რეპლიკაციის პროცესში მრავალი რეპლიკაციური ჩანგალი ფუნქციონირებს. მათი სინთეზი ქრომოსომის გასწვრივ განლაგებული მრავალი ორიჯინით რეგულირდება, რომლებიც ერთმანეთისაგან გარკვეული ინტერვალითაა დაცილებული. ევკარიოტულ გენომში რეპლიკონების რაოდენობის განსაზღვრა საკმაოდ რთულია, ვინაიდან, ზოგჯერ, ერთმანეთის გვერდით

განლაგებული რეპლიკონების რეპლიკაციური ჩანგლები ერთმანეთს ერწყმის და წარმოქმნის ერთ დიდ საერთო „თვალს“.

რეპლიკაციების ჩანგლის მოძრაობის სიჩქარე ევკარიოტებში პროკარიოტებთან შედარებით, მნიშვნელოვნად ნაკლებია - დაახლოებით 40 ნ.წ./წმ. ასეთ პირობებში უზარმაზარი ევკარიოტული გენომის რეპლიკაციას ძალიან დიდი დრო დასჭირდებოდა - დაახლოებით 20-30 დღე. როგორც ჩანს, რეპლიკაციის ოპერატიულობას მრავალი დამოუკიდებელი რეპლიკაციური ერთეულის ერთდროული ფუნქციონირება უზრუნველყოფს. თანამედროვე წარმოდგენებით, ევკარიოტული რეპლიკონები განლაგებულია ჯგუფებად. ამ ჯგუფებთან თავს იყრის სარეპლიკაციო ფერმენტები, რომლებიც ერთდროულად 10-დან 100-მდე მეზობლად განლაგებული რეპლიკაციური ჩანგლების ზრდას ემსახურებიან. თითოეული რეპლიკაციური ერთეული დაახლოებით 100 ნ.წ.-ს მოიცავს და რეპლიკაციის პროცესს ამ ერთეულებში 50-60 წთ ესაჭიროება. რაც შეეხება ევკარიოტული გენომის უფრო გრძელ (1000 ნ.წ.-ზე მეტი) რეპლიკონებს, მათ სინთეზს რამდენიმე საათი სჭირდება. ამასთან, ევქრომატინი, ჰეტეროქრომატინთან შედარებით, გვიან რეპლიცირდება და S-ფაზაში სწორედ მისი სინთეზი ხდება ბოლოს. როგორც ჩანს, ამას ევქრომატინის მეტად კონდენსირებული სტრუქტურა განაპირობებს.

რეპლიკაციის ევკარიოტული ფერმენტები. რეპლიკაციის ფერმენტული აპარატი პრო- და ევკარიოტულ უჯრედებში ძირითადად მსგავსია. ამავე დროს, გენომის ორგანიზაციული თავისებურებებიდან გამომდინარე, ევკარიოტების სარეპლიკაციო ფერმენტების მოქმედების მექანიზმები გაცილებით დეტალიზებულია და ხასიათდება რიგი სპეციფიკურობით.

ძირითად პოლიმერაზულ ფერმენტს ევკარიოტულ უჯრედშიც რნმ-პოლიმერაზა წარმოადგენს. ეს ფერმენტი, თავისი ჰელიკაზური აქტივობით, გახსნილი რეპლიკაციური ჩანგლის ლიდერულ ჯაჭვზე დნმ-ის სინთეზის რეაქციებს აკატალიზებს. დნმ-პოლიმერაზა ასოცირდება ე.წ. „მოსრიალე დამჭერთან“ (ინგლ. Proliferating Cell Nuclear Antigen - PCNA). ეს ცილა პირველად ინტენსიურად გამრავლებადი ანუ პროლიფერირებადი უჯრედების ბირთვში იქნა ნაპოვნი და სახელწოდებაც აქედან წარმოდგება. PCNA ცილის სუბერთეულები დნმ-ის ჯაჭვის გარშემო რგოლს წარმოქმნის, რომელსაც უკავშირდება დნმ-პოლიმერაზა. ამ

რგოლის აწყობა დამჭერის „დამტვირთავი“ ცილით ხდება, რომელსაც *სარეპლიკაციური ფაქტორი C* (ინგლ. Replication Factor C - RFC) ეწოდება. წარმოქმნილი კომპლექსი რნმ-პოლიმერაზის პროცესულობას უზრუნველყოფს (სურ. 5.8).

ჩამორჩენილ ჯაჭვზე დნმ-ის სინთეზის რეაქციებს ძირითადად ორი ტიპის დნმ-პოლიმერაზა (α და δ) აკატალიზებს. დნმ-პოლიმერაზა α მულტიმერული ცილაა, რომლის ერთ-ერთ სუბერთეულს პრაიმაზული აქტივობა ახასიათებს, ხოლო მეორეს - პოლიმერაზული. ამ ფერმენტის პრაიმაზული აქტივობა პრაიმერის სინთეზს აკატალიზებს. დაახლოებით 10 ნუკლეოტიდიანი პრაიმერის ჩამოყალიბების შემდეგ ირთვება ფერმენტის პოლიმერაზული აქტივობა და პრაიმერის 3'- ბოლოზე დეზოქსირიბონუკლეოტიდების მიერთების გზით ოკაზაკის ფრაგმენტის სინთეზი იწყება. ჯერ დნმ-ის მოკლე ფრაგმენტი (15-30 ნუკლეოტიდი) სინთეზირდება, რომელიც კოვალენტურადაა დაკავშირებული პრაიმერთან. აღნიშნული ზომის ნუკლეოტიდური უბნის ჩამოყალიბების შემდეგ ოკაზაკის ფრაგმენტის სინთეზს დნმ-პოლიმერაზა *δ* განაგრძობს. დნმ-პოლიმერაზა *δ* დნმ-ის მზარდ ჯაჭვში დეზოქსირიბონუკლეოტიდების მიერთების რეაქციებს წარმართავს და ოკაზაკის ფრაგმენტების საბოლოო ფორმირებას განაპირობებს.

აღსანიშნავია, რომ დნმ-პოლიმერაზა α-ს არ გააჩნია 3'---5' საკორექციო აქტივობა. შესაბამისად, ის ვერ უზრუნველყოფსდნმ-ის სინთეზის მაღალ სიზუსტეს. როგორც ჩანს, სწორედ ამიტომ ხდება აუცილებელი δ პოლიმერაზის ჩართვა რეპლიკაციის გარკვეულ ეტაპზე.

პრაიმერების მოცილებას ევკარიოტებში *რნმ-აზა H* ახდენს, წარმოქმნილი ღიობის შევსებას დნმ-პოლიმერაზა *δ*, ხოლო ოკაზაკის ფრაგენტებს შორის არსებული წყვეტილის გაკერვას დნმ-ლიგაზა უზრუნველყოფს.

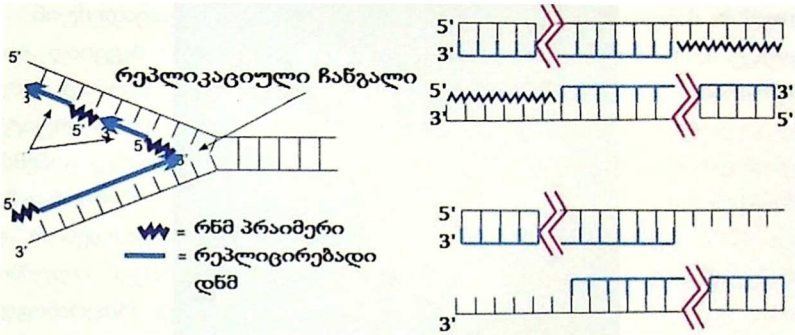
გარდა განხილული ფერმენტებისა, ევკარიოტულ უჯრედში ფუნქციონირებს სხვა ფერმენტებიც, რომლებიც შესაბამისი პროკარიოტული ფერმენტების ანალოგიური აქტივობებით ხასიათდება. ესენია: დნმ-პოლიმერაზა ε, რომელიც დნმ-პოლიმერაზის ანალოგს უნდა წარმოადგენდეს და აგრეთვე მონაწილეობს რეპარაციის პროცესში; *რეპლიკაციის*

ცილა A (ინგლ. Replication Protein A - RPA) - SSB ცილების ანალოგები და სხვ.

რეპლიკაციის ტერმინაციის თავისებურებები ევკარიოტებში

ევკარიოტულ გენომში წრფივი ქრომოსომების არსებობა მოითხოვს რეპლიკაციის ტერმინაციის განსხვავებულ მექანიზმს. რელიკაციის დასრულების პრობლემა ქრომოსომის ბოლოებზე, ე. წ. *ტელომერებში* „სპეციალიზებული“ ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების არსებობით რეგულირდება.

ტელომერი (ბერძნულად telos - ბოლო, meros- ნაწილი) წარმოადგენს ქრომოსომის კიდურა, ჰეტეროქრომატინულ, ფუნქციურად არააქტიურ უბანს. რელიკაციის ზოგადი სქემიდან გამომდინარე, ამ უბნის რეპლიკაცია რამდენადმე განსხვავებულად მიმდინარეობს. რეპლიკაციის აქტის დასრულებისა და პრაიმერის მოცილების შემდეგ, დნმ-ის შვილისეული ჯაჭვების ბოლოზე რჩება ღიობი (ინგლ. gap). თეორიულად, ლიდერულ ჯაჭვზე მისი შევსება რნმ-პოლიმერაზას თავისუფლად შეუძლია 3'-ბოლოზე დეზოქსირიბონუკლეოტიდების მიერთების გზით. ჩამორჩენილ ჯაჭვზე ღიობის შევსებას დნმ-პოლიმერაზა ვეღარ ახერხებს 3'-თავისუფალი ბოლოს არარსებობის გამო. ლოგიკურად, ასეთ შემთხვევაში, ახლად სინთეზირებული ჩამორჩენილი ჯაჭვი უნდა დამოკლდეს ერთი პრაიმერის (10-15 ნუკლეოტიდი) ზომის მონაკვეთით. სინამდვილეში აღმოჩნდა, რომ ახალი ჯაჭვი, მატრიცულთან შედარებით, დაახლოებით 50-100 ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით მოკლეა, ანუ პრაიმერს ემატება უბანი, რომელიც დნმ-პოლიმერაზას დნმ-ის მოლეკულასთან კომპლექსის ჩამოყალიბებისათვის ესაჭიროება. საბოლოო ჯამში, მიიღება შვილისეული დნმ-ის მოლეკულა, რომლის ერთი ჯაჭვი დედისეულ მოლეკულასთან შედარებით მოკლეა. ამ მოვლენას არასრულ რეპლიკაციას, ხოლო დნმ-ის არათანაბარ ბოლოებს ე. წ. შვერილებს (ინგლ. overhang) უწოდებენ (სურ. 5.16).

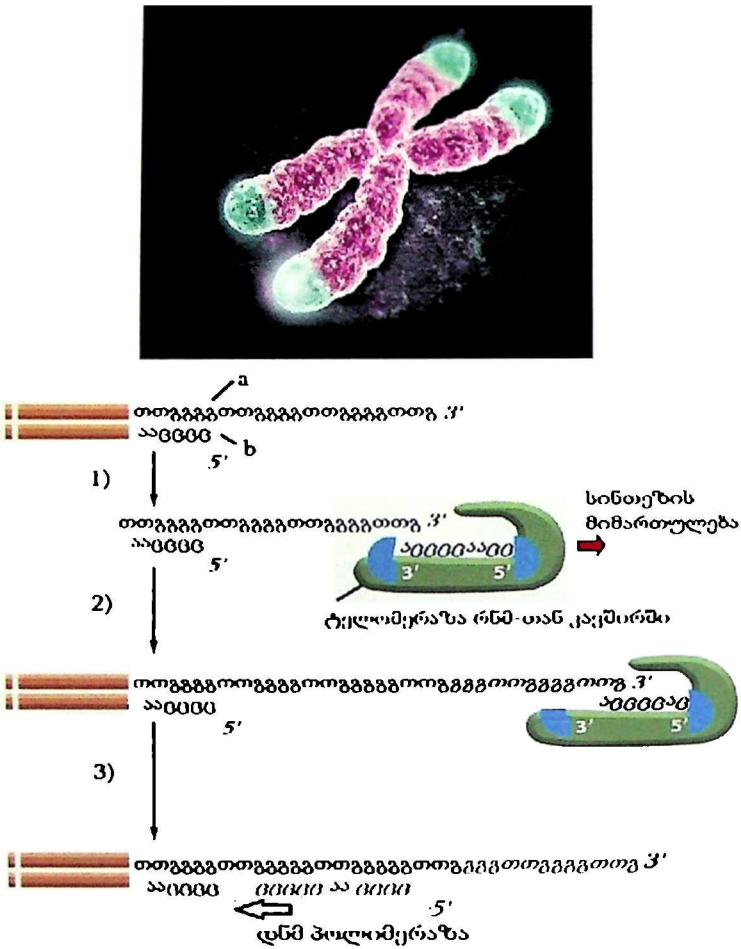


სურ. 5.16. „შვერილების“ ფორმირება დნმ-ის მოლეკულის ბოლოებზე

წრფივი დნმ-ის რეპლიკაციის დროს არსებობს არასრული რეპლიკაციის შედეგად წარმოქმნილი არასრული ბოლოების მოსალოდნელი რეკომბინაციის საფრთხეც.

აღნიშნული პრობლემების თავიდან აცილებას ევკარიოტული უჯრედი ტელომერების სტრუქტურული ორგანიზაციისა და ფერმენტ ტელომერაზის მეშვეობით ახერხებს.

დადგენილია, რომ ევკარიოტული ქრომოსომების ტელომერები შეიცავს გუანინით მდიდარ ჰექსანუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს, რომლებიც მრავალი ასლის სახით არის წარმოდგენილი. ეს ტანდემური უბნები მსგავსია თითქმის ყველა ტაქსონომიური ჯგუფისთვის - უმარტივესი ერთუჯრედიანებიდან დაწყებული, მცენარეებისა და უმაღლესი ძუძუმწოვრების ჩათვლით. მაგალითად, ადამიანის ტელომერი *თთაგგგ* ჰექსამერის ათასობით ასლით არის წარმოდგენილი. ვინაიდან ეს უბნები არ შეიცავს გენეტიკურ ინფორმაციას, მათი დაკარგვა გავლენას არ ახდენს გენომის ფუნქციონირებაზე და, შესაბამისად, იცავს მის წინ განლაგებულ ფუნქციურ გენებს დაზიანებისაგან. ამიტომ ამბობენ, რომ ტელომერი ქრომოსომის გენეტიკურად აქტიური უბნების ბუფერის როლს ასრულებს.



სურ. 5.17. ევკარიოტული დნმ-ის ტელომერული უბნების რეპლიკაციის სქემა. 1-ტელომერაზას დაკავშირება დნმ-ის ჯაჭვთან; 2-ტელომერაზა 3'-ბოლოს დაგრძელებას ახდენს (რნმ ჯაჭვზე დნმ-ის სინთეზი); 3-ჩამორჩენილი ჯაჭვის სინთეზის დასრულება დნმ-პოლიმერაზით (დნმ-ის სინთეზი დნმ-მატრიცაზე). a) დედისეული ჯაჭვი; b) დაუსრულებელი, ახლად სინთეზირებული, ჩამორჩენილი ჯაჭვი

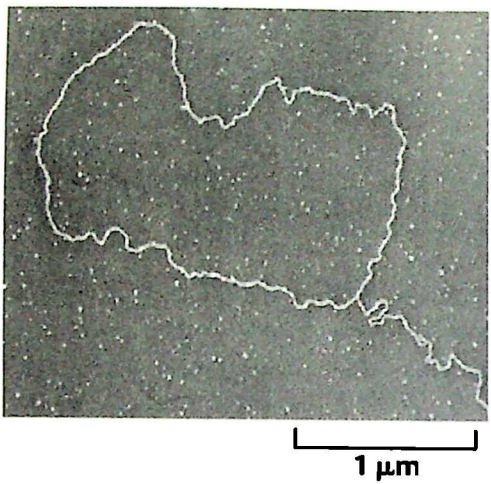
მიუხედავად ამისა, მხოლოდ ტელომერების სტრუქტურას არ შეუძლია, დაიცვას ქრომოსომა გადაგვარებისაგან. ლოგიკურია, რომ ტელომერის დამოკლება ისე, რომ ამან გავლენა არ მოახდინოს ქრომოსომის აქტიურ უბანზე, უსასრულოდ ვერ მოხერხდება. ბოლოს და ბოლოს, ეს უბნებიც დაზიანდება. ტელომერული უბნების შესანარჩუნებლად ბუნებამ გამოიმუშავა ტელომერული თანამიმდევრობების აღდგენის მექანიზმი, რომელსაც აკატალიზებს ფერმენტი *ტელომერაზა* (სურ. 5.17). აღნიშნული მექანიზმის არსი ტელომერული უბნების დაგრძელებაში მდგომარეობს და აუცილებელია უჯრედებისათვის, რომლებიც სასიცოცხლო ციკლის განმავლობაში აქტიურად იყოფიან (მაგალითად, ჩანასახოვანი და ღეროვანი უჯრედები).

დნმ-ის ტელომერული თანამიმდევრობები ამოიცნობა სპეციფიკური დნმ-დამაკავშირებელი ცილებით, რომლებიც ტელომერაზას ამ უბნისკენ მიმართავენ. ტელომერაზა დაკარგული უბნის აღდგენის რეაქციას იმეორებს ყველა უჯრედული ციკლის დროს. ეს ფერმენტი წარმოადგენს რიბონუკლეოტიდურ კომპლექსს, რომლის შედგენილობაში შედის დაახლოებით 150 ნუკლეოტიდიანი მოკლე რნმ. ტელომერაზა თავდაპირველად 3'-ბოლოზე არსებულ დნმ-შვერილს ამოიცნობს და მას წყალბადური ბმებით უკავშირდება. კომპლექსში შემავალი რნმ-ის მოლეკულა ასრულებს მატრიცის როლს ტელომერის ბოლოზე ნუკლეოტიდების სინთეზისთვის. 3'-ბოლოს დაგრძელების შემდეგ ტელომერაზა მიემართება ახალი რეაქციის განსახორციელებლად, დაგრძელებული ჯაჭვი კი გამოიყენება მატრიცად კომპლემენტური ჯაჭვის სინთეზისთვის.

აქ უკვე სინთეზს რნმ-პოლიმერაზა ახორციელებს ოკაზაკის ფრაგმენტების აწყობის გზით. ამ მექანიზმით უჯრედი თავს იცავს ტელომერების პროგრესული დამოკლებისაგან, მაგრამ ბოლო პრაიმერის ამოვარდნის შემდეგაც რჩება ერთჯაჭვიანი შვერილი 3'-ბოლოზე. შვერილში შემავალი გუანინები წყალბადური ბმებით უკავშირდება ერთმანეთს და წარმოქმნის უჩვეულო **გ-გ** კავშირებს, ეხვევა უკან და ქმნის მარყუჟს (სურ. 5.18).

ასეთი უნიკალური სტრუქტურის დაბოლოება ადვილად განირჩევა დაზიანებული დნმ-ის მოლეკულებისაგან და აღარ ექვემდებარება რეკომბინაციას. ტელომერების სტრუქტურისა და *ტელომერაზების მოქ-*

მედების მოლეკულური მექანიზმების გაშიფვრისთვის 2009 წელს ელიზაბეთ ბლეკბერნს, კეროლ გრეიდერსა და ჯეკ შოსტაკს ნობელის პრემია მიენიჭათ.



სურ. 5.18. დნმ-ის ტელომერულ ბოლოზე ფორმირებული მარყუჟის ელექტრონულ-მიკროსკოპული სურათი

ტელომერაზა ნაკლებად ექსპრესირდება დიფერენცირებულ უჯრედებში, რომლთა გაყოფის რიცხვი მკაცრად შეზღუდულია, ხოლო ტელომერაზული აქტივობა განსაკუთრებით მაღალია ჩანასახოვან უჯრედებში, ასევე, სიმსივნურ უჯრედებში.

5.2. დნმ-ის დაზიანებები და მათი აღდგენის მოლეკულური მექანიზმები

მიუხედავად იმისა, რომ დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესი ძალიან მაღალი სიზუსტით წარიმართება და დაშვებული უზუსტობები მინიმუმამდეა დაყვანილი, ამ პროცესის მსვლელობისას მაინც ხდება გარკვეული შეცდომები. თუ ამ შეცდომების ნაწილი მაინც არ გასწორდა, მოსალოდნელია უჯრედში მუტაციების დაგროვება. იმ შემთხვევაში, თუ დაზიანება დნმ-ის მოლეკულის მნიშვნელოვან თანამიმდევრობას შეეხო, მაშინ

ის საშიში ხდება სიცოცხლისათვის და შესაძლოა, გამოიწვიოს უჯრედის და ორგანიზმის სიკვდილიც კი.

მემკვიდრეობითი ინფორმაციის სტაბილურობას და მის თაობებში შენარჩუნებას დნმ-ის მოლეკულის კიდევ ერთი უნიკალური თვისება, რეპარაციის უნარი განაპირობებს. *რეპარაციას* (ლათ. reparation - აღდგენა) უწოდებენ დნმ-ის დაზიანებული ნაწილების ამოცნობისა და ამ დაზიანებათა გასწორების რეაქციებს.

დნმ-ის დაზიანებაში იგულისხმება ნებისმერი ცვლილება, რომელიც ორჯაჭვიანი სტრუქტურიდან გადახრას განაპირობებს. ეს შეიძლება იყოს:

- ერთჯაჭვიანი წყვეტა;
- ერთ-ერთი აზოტოვანი ფუძის ამოვარდნა, რის გამოც მისი ჰომოლოგი გაუწყვილებელი რჩება;
- ერთი ფუძის გარდაქმნა მეორედ, რაც ფუძეების არასწორ გაწყვილებას განაპირობებს;
- კოვალენტური კავშირის წარმოქმნა დნმ-ის ერთ-ერთ ჯაჭვზე, ან საპირისპირო ჯაჭვებს შორის.

ამ დაზიანებათა გასწორებას ემსახურება უჯრედის რეპარაციული სისტემის მეშვეობით ხდება, რასაც უჯრედის სასიცოცხლო ციკლში უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს. როცა რეპარაციული სისტემა არ აღმოჩნდება სპეციფიკური ამა თუ იმ დაზიანების მიმართ, მაშინ დაფიქსირება მუტაცია.

დნმ-ის მოლეკულის ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი დაზიანება იყოფა ორ ძირითად ჯგუფად - *წერტილოვანი მუტაციები და სტრუქტურული ცვლილები.*

წერტილოვანი მუტაციების დროს ადგილი აქვს ნუკლეოტიდების არასწორ გაწყვილებას. ეს გავლენას ახდენს ტრანსკრიფციისა და რეპლიკაციის პროცესების მიმდინარეობაზე და, შესაბამისად, დნმ-ში მომხდარი ცვლილებები მემკვიდრეობით გადაეცემა მომავალ თაობებს.

სტრუქტურულ ცვლილებებს, როგორიცაა: დნმ-ის ჯაჭვის წყვეტა ან ნუკლეოტიდის ამოვარდნა, შეუძლია, ფიზიკური ბარიერი შეუქმნას რეპლიკაციისა და ტრანსკრიფციის პროცესებს. დაზიანებული ჯაჭვის მატრიცად გამოყენების დროს დაზიანებულმა საიტმა შეიძლება დააბრ-

კოლოს დნმ-პოლიმერაზის გადაადგილება. ასეთ დროს რეაქცია გრძელდება მომდევნო, დაუზიანებელ საიტში, რაც ახლად სინთეზირებული მოლეკულის შესაბამის უბანში ღიობის წარმოქმნას იწვევს.

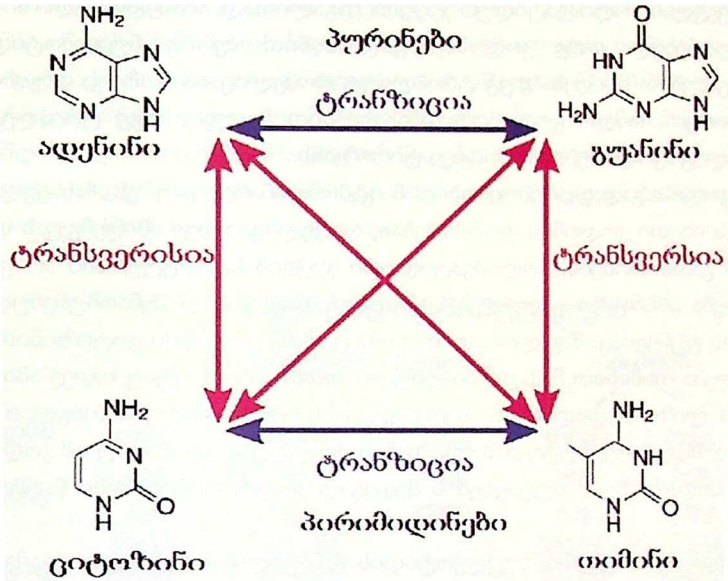
დნმ-ის მოლკეულაში წარმოქმნილი დაზიანებების რეპარაცია და თაობებში დაფიქსირებული მუტაციების მინიმუმამდე დაყვანა მნიშვნელოვანია, როგორც გენერაციული, ასევე სომატური უჯრედებისათვის. პირველისახეობების მდგრადობის შენარჩუნების გარანტს წარმოადგენს, ხოლო მეორე - სიმსივნური ან სხვა სახის ფუნქციურად გადაგვარებული უჯრედების დაგროვების თავიდან აცილებას უწყობს ხელს.

გენეტიკურ მასალაში მუტაციების აღმოცენების მოლეკულური საფუძვლები

დნმ-ის მოლეკულის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობაში განხორციელებული ნებისმიერი ცვლილება გენური მუტაციის საფუძველს წარმოადგენს. უმარტივესი ტიპის, ანუ წერტილოვანი მუტაციის დროს ცვლილება ერთ ნუკლეოტიდურ წყვილს ან დნმ-ის მოლეკულის ძალიან მოკლე თანამიმდევრობას ეხება. ამ დროს ადგილი აქვს: ნუკლეოტიდის ჩანაცვლებას ან გენის წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას.

ნუკლეოტიდების ჩანაცვლებით მიმდინარე მუტაციების დროს შედარებით ხშირად ერთი პურინული ან პირიმიდინული ფუძე იცვლება მეორით. აზოტოვანი ფუძეების ასეთი ტიპის ჩანაცვლებას *ტრანზიცია* ეწოდება. ტრანზიციის დროს ოთხი ტიპის ცვლილებაა მოსალოდნელი *ა →გ, გ →ა, თ →ც ან ც → თ.* შედეგად გ-ც წყვილი ჩანაცვლდება ა-თ წყვილით ან პირიქით (სურ. 5.19).

უფრო იშვიათად პურინული ფუძე შეიძლება შეიცვალოს პირიმიდინულით ან პირიმიდინული ფუძე - პურინულით. ასეთი ტიპის წერტილოვან მუტაციას *ტრანსვერსიას* უწოდებენ. ტრანსვერსიის დროს რვა სხვადასხვა სახის ცვლილება შეიძლება მოხდეს: *ა →თ, თ →ა, ა →ც, ც →ა, გ →ც, ც →გ, გ →თ, თ →გ* . საბოლოოდ ა- *თ* წყვილი ჩანაცვლდება *თ*-ა ან *ც*-*გ* წყვილით (სურ. 5.19).



სურ. 5.19. ნუკლეოტიდების ჩანაცვლებით გამოწვეული მუტაციები დნმ-ის მოლეკულაში

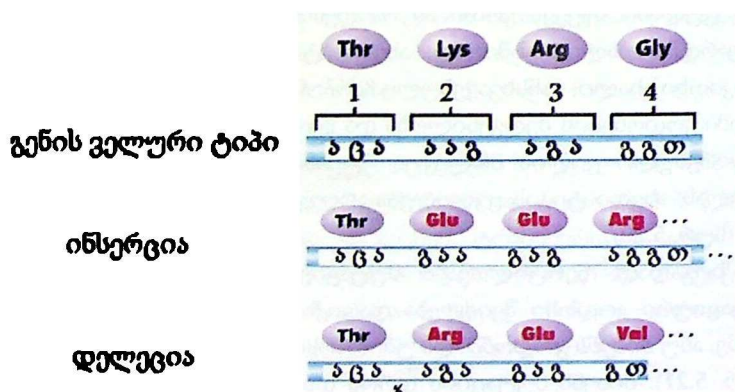
წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას (ინგლ. frame shift) დნმ-ის მოლეკულაში იწვევს ერთი ან რამდენიმე ნუკლეოტიდის ჩამატება ან ამოვარდნა. ძალიან ხშირად, ასეთი ტიპის მუტაციის დროს კოდის წასაკითხი ახალი, განსხვავებული ჩარჩოს ჩამოყალიბება ხდება. იცვლება კოდში კოდონების შედგენილობა და წყობა, რაც განაპირობებს მის მიერ კოდირებული ცილის მოლეკულაში ამინომჟავური თანამიმდევრობის შეცვლას. ასეთი ტიპის ცვლილება არღვევს გენის აზრობრივ სტრუქტურას (სურ. 5.20).

ზოგადად, წერტილოვანი მუტაციების ზეგავლენით ორი ტიპის მუტაციური კოდონი შეიძლება დაფიქსირდეს - შეცვლილი შინაარსის მქონე, ანუ ***მისენს-კოდონი*** და უშინაარსო, უაზრო, ანუ ***ნონსენს-კოდონი*** (სურ. 5.21). მისენს-მუტაციის დროს დნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდის ჩანაცვლება იწვევს კოდონის შედგენილობის ცვლილებას და, შესაბამისად, შინაარსის - ამინომჟავური შედგენილობისა და თანამიმდევრო-

ბის შეცვლას პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში. მაგალითად, ამინომჟავა ლიზინის მაკოდირებელ *თთც* კოდონში ციტოზინით მეორე ნუკლეოტიდის ჩანაცვლებით მიიღება *თცც* ტრიპლეტი, რომელიც ამინომჟავა არგინინს აკოდირებს, ხოლო გუანინით ჩანაცვლებით მიიღება *თგც* ტრიპლეტი, რომელიც აკოდირებს ამინომჟავა ტიროზინს.

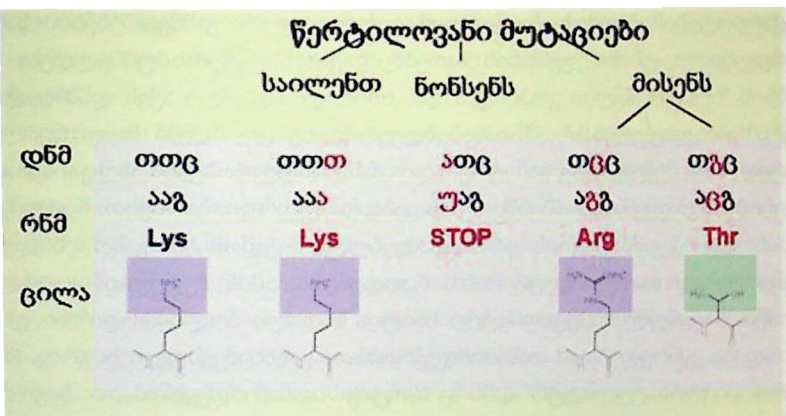
კოდის გადაგვარებულობიდან გამომდინარე, თუ ეს ჩანაცვლება იწვევს ისეთი კოდონის ფორმირებას, რომელიც იგივე ამინომჟავას სინთეზს განაპირობებს, პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სტრუქტურაში არ ფიქსირდება არანაირი ცვლილება. ამ დროს მთლიანად შენარჩუნებულია ცილის ფუნქციაც. მაგალითად, თუ იმავე *თთც* კოდონში ციტოზინის ჩანაცვლება თიმინით მოხდა, მიღებული *თთთ* ტრიპლეტიც იგივე ამინომჟავას, ლიზინს აკოდირებს. ასეთ მუტაციას ჩუმ ან საილენთ (ინგლ. silent - ჩუმი, მდუმარე) მუტაციას უწოდებენ. ჩვეულებრივ, ამა თუ იმ კოდონში მომხდარი ჩუმი მუტაციების შედეგად კოდონ-სინონიმები წარმოქმნება.

სხვა შემთხვევაში, ნუკლეოტიდის ჩანაცვლებამ შესაძლოა, გამოიწვიოს კოდონის ცვლილება, რომელიც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში განსხვავებული, მაგრამ მსგავსი ფუნქციის ამონომჟავას ჩანაცვლებას განაპირობებს. ამ ტიპის მუტაციის შემთხვევაში ცილის ფუნქცია არ იცვლება და მუტაცია ფენოტიპურად არ ვლინდება.



სურ. 5.20. წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებით გამოწვეული მუტაციები

ნონსენს-მუტაციის დროს ნუკლეოტიდური წყვილის შეცვლა კოდონში იწვევს ამინომჟავას მაკოდირებელი ტრიპლეტის ნონსენს-კოდონად გარდაქმნას. მაგალითად, თთც-ს გარდაქმნა უათ (შესაბამისად, უაგ - მატრიცულ რნმ-ში). თუ ასეთი მუტირებული კოდონი გენის შიგნით აღმოჩნდა, ცილის სინთეზი ნაადრევად წყდება და მიიღება დამოკლებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი. ასეთი ტიპის მუტაციის შედეგს წარმოადგენს ცილის ფუნქციის სრული ინაქტივაცია.



სურ. 5.21. წერტილოვანი მუტაციების მაგალითები

შესაძლოა, დნმ-ის მოლეკულის სტრუქტურაში განხორციელდეს გაცილებით რადიკალური ცვლილებები. ძალიან ხშირად, ასეთ მუტაციას ადგილი აქვს გენომის მობილური ელემენტების ინსერციის შედეგად. მაგალითად, ტრანსპოზონების ინსერციის შედეგად, გენის კოდირებად ან რეგულატორულ უბანში შეიძლება მოხდეს ათასობით ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის შემცველი უცხო დნმ-ის ჩართვა. ასეთი ცვლილების შემდეგ ნორმალური ფენოტიპი აღარ მიიღება. თუ მისი ჩართვის ადგილიდან მობილური გენეტიკური ელემენტი ამოვარდა, ამას შესაძლოა მიმდებარე უბნის დელეცია მოჰყვეს. ამრიგად, მობილური ელემენტები გენის მუტაციის ერთ-ერთ სერიოზულ მიზეზს წარმოადგენს.

აღსანიშნავია, რომ გენის გარკვეულ საიტებში მუტაციები გაცილებით ხშირად წარმოიქმნება. ამ უბნებს მუტაციის „ცხელ წერტილებს“

(ინგლ. hot spot) უწოდებენ. ეს უბნები არ არის უნივერსალური ყველა ტიპის მუტაციისთვის. სხვადასხვა მუტაგენს განსხვავებული „ცხელი წერტილები“ აქვს.

განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს მუტაციებისადმი მგრძნობიარე დნმ-თანამიმდევრობის ერთ-ერთი ტიპი, რომელიც დი-, ტრი- და ტეტრა-ნუკლეოტიდური განმეორებებისაგან შედგება. ამ თანამიმდევრობას *მიკროსატელიტურ დნმ-ს* უწოდებენ. ერთ-ერთ კარგად შესწავლილ ასეთ თანამიმდევრობას წარმოადგენს ადამიანისა და სხვა ევკარიოტების ქრომოსომის *ცა* დინუკლეოტიდური განმეორებებით წარმოდგენილი უბანი. გენომის სარეპლიკაციო სისტემას უძნელდება ამ უბნის ზუსტი ასლის კოპირება და, ხშირად, ადგილი აქვს დნმ-პოლიმერაზის „დაცურებას“ ამ თანამიმდევრობაზე (არ ხდება მათი რეპლიკაცია), რის შედეგადაც გამეორებადი თანამიმდევრობების ასლების რაოდენობა მომდევნო თაობებში მცირდება, ზოგჯერ კი, პირიქით, რეპლიკაციისა და რეკომბინაციის დროს დაშვებული შეცდომების გამო იზრდება გამეორებად თანამიმდევრობათა რაოდენობა. ამის შედეგად, პოპულაციაში მოცემული სპეციფიკური საიტის მაღალი პოლიმორფიზმი ფიქსირდება, გროვდება ამ თანამიმდევრობათა განსხვავებული სიგრძე, რის გამო მიკროსატელიტურ დნმ-ს *მარტივ თანამიმდევრობათა სიგრძის პოლიმორფიზმსაც* (ინგლ. Simple Sequence Length Polymorphisms – SSLPs) *უწოდებენ.* ასეთი პოლიმორფიზმი მოსახერხებელ მარკერს წარმოადგენს მუტაციებით გამოწვეული მემკვიდრეობითი დაავადებების შესწავლის მიზნით.

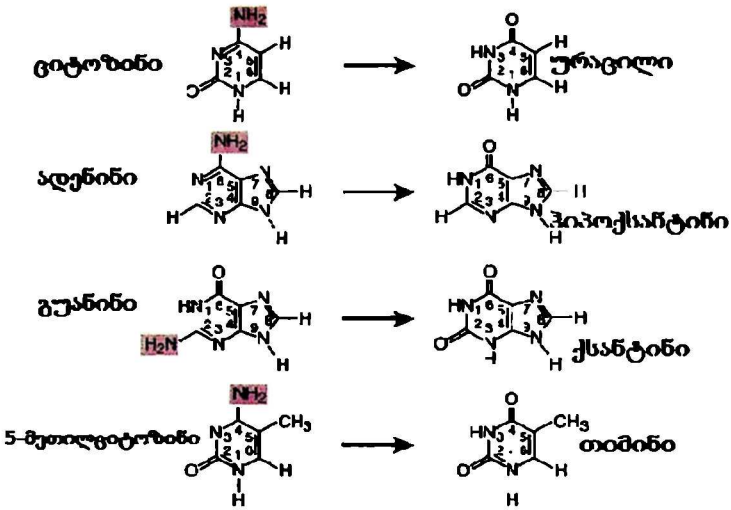
გენური მუტაციის კიდევ ერთ განსაკუთრებულ სახეს წარმოადგენს გამეორებადი ტრიპლეტების ასლების რიცხვის მკვეთრი ზრდა. ამ მოვლენას *ტრიპლეტური ექსპანსია* (ინგლ. expansion - გაგანიერება, გავრცობა) ეწოდება. ადამიანის გენომის 50-ზე მეტი გენი შეიცავს, სულ ცოტა, ხუთ ტრინუკლეოტიდურ გამეორებას. ამჟამად ცნობილია ადამიანის დაახლოებით 12 სხვადასხვა დაავადება, რომლის მიზეზს ტრიპლეტური ექსპანსია წარმოადგენს. ამდენად, მიკროსატელიტურ დნმ-ს განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ადამიანის გენეტიკისა და დაავადებების შესწავლის თვალსაზრისით.

მუტაციები შეიძლება იყოს სპონტანური, რომელებსაც ბუნებრივი მუტაგენური ფაქტორები იწვევს და ინდუცირებული, რომელთა გამომწვევად ხელოვნური მუტაგენური ფაქტორების ზემოქმედება მიიჩნევა. სპონტანური მუტაციის მიზეზი, შესაძლოა, იყოს ბუნებრივი რადიაციული ფონი, გარემოს დაბინძურება ქიმიური აგენტებით, მაიონიზებელი გამოსხივება, უჯრედული მეტაბოლიზმის დროს წარმოქმნილი რეაქციული ჟანგბადის სხვადასვა ფორმა (O_2^-, H_2O_2. OH^-), სითბური ფლუქტუაციები და ა. შ. მუტაციები კი დნმ-ის რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომების, დნმ-ის მოლეკულის ქიმიური შედგენილობის ცვლილების, ან გენომის მობილური ელემენტების გადაადგილების შედეგად აღმოცენდება.

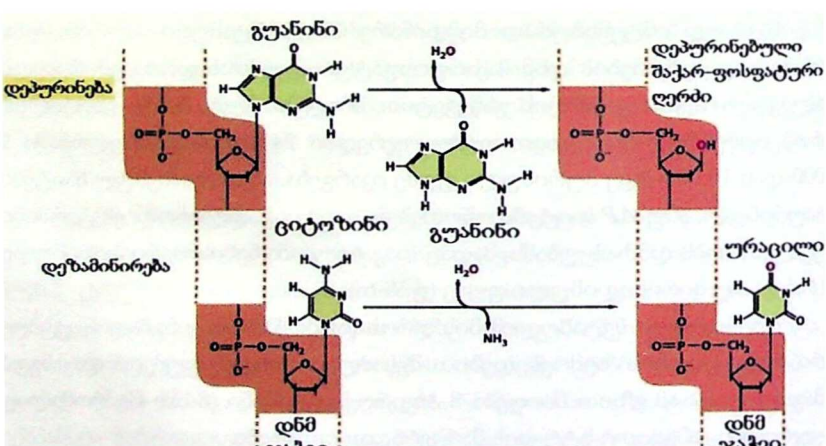
უჯრედის ნორმალური ფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს დნმ-ის დაზიანებებიდან ყველაზე ხშირად ციტოზინის სპონტანურ დეზამინირებას აქვს ადგილი, რომელიც ამ რეაქციის შედეგად ურაცილად გარდაიქმნება. ადამიანის ყოველ უჯრედში, ერთი დღის განმავლობაში, დაახლოებით 100 ასეთი რეაქცია ხდება. სპონტანურ დეზამინირებას *ა* და *გ* ფუძეებიც ექვემდებარება. ამ დროს ადენინი გარდაიქმნება ჰიპოქსანთინად, ხოლო გუანინი - ქსანთინად (სურ. 5.22).

საკმაოდ ინტენსიურად მიმდინარეობს სპონტანური აპურინირება, რომელიც პურინების დნმ-შაქარფოსფატურ ღერძთან დამაკავშირებელი გლიკოლიზური კავშირის გაწყვეტით მიიღება (სურ. 5.23). ცნობილია, რომ ძუძუმწოვრების თითოეულ უჯრედში 24 სთ-ის განმავლობაში 2 000-დან 10 000-მდე პურინული ფუძე იკარგება. ამ დაზიანებულ საიტებს აპურინულ, ანუ ***AP საიტებს*** უწოდებენ, თუმცა, სადღეისოდ, ეს ტერმინი გულისხმობს დნმ-ის უბანს, სადაც დაკარგულია ნებისმიერი პურინული (ა ან გ) თუ პირიმიდინული ფუძე (ც ან თ).

უჯრედული მეტაბოლიზმის დროს წარმოქმნილი ჟანგბადის აქტიური რადიკალების ზემოქმედებით შესაძლოა მოხდეს ფუძეთა დაჟანგვა. მაგალითად, ამ გზით მიიღება 8-ჰიდროქსიგუანინი (8-oxo-G), რომელიც უჯრედის ჟანგვითი სტრესის მარკერადაც ითვლება.



სურ. 5.22. აზოტოვანი ფუძეების დეზამინირება



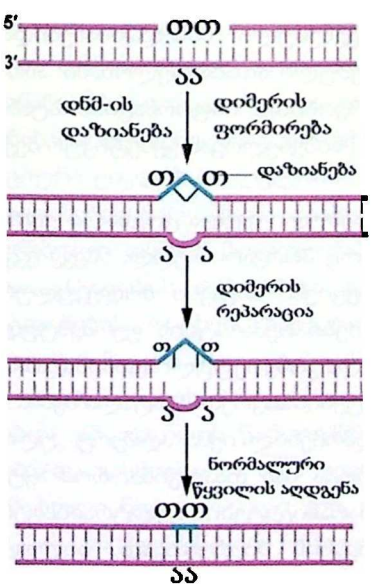
სურ. 5.23. აზოტოვანი ფუძეების დეზამინირებისა და დეპურინირების რეაქციები

მუტაციის პროვოცირება, შესაძლოა, აზოტოვანი ფუძეების ტაუტომერული (ალტერნატიული) ფორმებით მოხდეს, რაც მათი ალტერნატიული ფორმების სხვადასხვა ნორმალურ ფუძესთან გაწყვილების უნარს ემყარება. მაგალითად, 5-ბრომურაცილის ერთ ფორმას შეუძლია, გაუწყვილდეს ადენინს, მეორე ალტერნატიულ ფორმას კი - გუანინს.

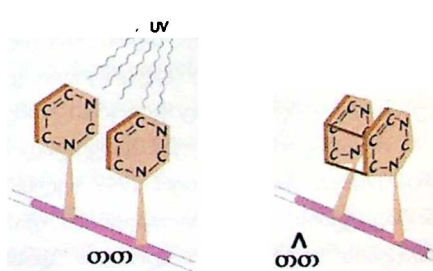
მაალკილირებელი აგენტები აწარმოებს მეთილის ან სხვა ალკილური ჯგუფების ჩართვას აზოტოვან ფუძეებში. მაგალითად, მეთილმეთან სულფონატით, შესაძლოა, გუანინის ალკილირება. ის ამატებს ($-CH_3$) ან ($-CH_3-CH_3$) ჯგუფებს ჟანგბადს მე-6 პოზიციაში. მიიღება $O^{\cdot 6}$-ალკილგუანინი ან $O^{\cdot 6}$-მეთილგუანინი.

მეტაბოლიზმის შედეგად წარმოქმნილი მეთილის ჯგუფებით, შესაძლოა, მოხდეს აზოტოვანი ფუძეების მეთილირება და ა. შ.

აქტიურ მუტაგენს წარმოადგენს რენტგენის მაიონიზებელი გამოსხივება. გამა-სხივების ზემოქმედებით დნმ-ის მოლეკულაში ირღვევა ქიმიური ბმები, რის შედეგადაც წარმოიქმნება წერტილოვანი და ქრომოსომური მუტაციები.



სურ. 5.24. დნმ-ის დაზიანება თიმინის დიმერების წარმოქმნით და დაზიანებათა პირდაპირი რეპარაციის (ფოტორეაქტივაციის) სქემა



ულტრაიისფერი გამოსხივება, ასევე, საკმაოდ ეფექტურ მუტაგენს წარმოადგენს. აზოტოვანი ფუძეების მიერ ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის შედეგად, დნმ-ის მოლეკულა ფოტოქიმიურ გარდაქმნებს განიცდის. დნმ-ის ერთ ან ორივე ჯაჭვზე მეზობლად განლაგებულ პირიმიდინულ ფუძეებს შორის წარმოიქმნება კოვალენტური ბმები (სურ. 5.24). შედარებით მაღალი სიხშირით თიმინის დიმერები წარმოიქმნება, რომლებიც დაზიანებული დნმ-ის სტრუქტურაში გამობერილობების ფორმირებას იწვევს.

5.3. რეპარაცია

რეპარაციის მოლეკულური მექანიზმები

სხვადასხვა ფაქტორის ზეგავლენით, დნმ-ის მოლეკულის დაზიანებების აბსოლუტური უმრავლესობა დროებით ხასიათს ატარებს. უჯრედის რეპარაციული სისტემა ამ დაზიანებათა კორექციას უზრუნველყოფს და მხოლოდ მათი ძალიან უმნიშვნელო ნაწილი ფიქსირდება მუტაციის სახით. ცნობილია, რომ უჯრედში აღმოცენებული 1000 დაზიანებიდან, შესაძლოა, ერთიც კი არ იქნეს შენარჩუნებული შთამომავლობაში. ამრიგად, რეპარაცია წარმოადგენს მემკვიდრეობითი ინფორმაციის სტაბილურობის უზრუნველყოფის კიდევ ერთ მნიშვნელოვან გენეტიკურ მექანიზმს.

რეპარაციის უნარი დედამიწაზე არსებული ყველა ცოცხალი უჯრედის დამახასიათებელი თვისებაა. როგორც პროკარიოტულ, ასევე ევკარიოტულ უჯრედებში რეპარაციის რეაქციები მსგავსი მოლეკულური მექანიზმებით ხორციელდება. ეს რეაქციები რეპარაციის ფერმენტული სისტემით არის უზრუნველყოფილი. ყველა კონკრეტული ტიპის დაზიანების აღმოფხვრას სპეციფიკური ფერმენტების ნაკრები აკატალიზებს.

რეპარაციის მოვლენა პირველად აღმოჩენილ იქნა *ალბერტ კელნერის (Albert Kelner)* მიერ 1949 წელს, როცა მან დაადგინა, რომ აქტინომიცეტების, ბაქტერიოფაგებისა და პარამიცეტების ულტრაიისფერი სხივების ლეტალური დოზით დასხივების მიუხედავად, ხილული სინათლის პირობებში მათი სიცოცხლისუნარიანობის აღდგენა ხდება.

მაქს დელბრუკის (Max Delbrück) წინადადებით, ამ მოვლენას *ფოტორეაქტივაცია* ეწოდა. მოგვიანებით დადგენილ იქნა, რომ დნმ-ში მომხდარი დაზიანებების შესწორება შესაძლებელია სიბნელის პირობებშიც. ამჟამად დეტალურადაა შესწავლილი დნმ-ის დაზიანებათა რეპარაციის რამდენიმე განსხვავებული სისტემა. ამ სისტემათა ერთი ნაწილი პირდაპირ ახდენს დნმ-ში მომხდარ დაზიანებათა კორექციას, სხვა ტიპის სისტემების მოქმედების მექანიზმი ჯერ დაზიანებული უბნის ამოჭრას ახდენს, ხოლო შემდეგ აღადგენს დაზიანებული უბნის ადგილას წარმოქმნილ ღიობს.

პირდაპირი რეპარაცია

დნმ-ში წარმოქმნილი დაზიანებების ან რეპლიკაციის პროცესში დაშვებული შეცდომების გასწორებას უჯრედის გენეტიკური აპარატი უზრუნველყოფს დაზიანებული აზოტოვანი ფუძის ან ნუკლეოტიდის მოცილების გარეშე. ეს რეაქციები წარიმართება დნმ-პოლიმერაზას საკორექციო აქტივობით ან სპეციფიკური ფერმენტების ზემოქმედებით.

პირდაპირი რეპარაციის ერთ-ერთ ფორმას წარმოადგენს ბაქტერიული დნმ-პოლიმერაზის საკორექციო შემოწმება. როგორც უკვე განვიხილეთ, დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესი ძალიან მაღალი სიზუსტით მიმდინარეობს და რეპლიკაციის ერთი ციკლის დროს დაშვებული შეცდომების მოსალოდნელობა 10^{-7}–10^{-11} არ აღემატება. სინამდვილეში რეპლიკაციური ციკლის მსვლელობის პროცესში თავდაპირველად დაშვებული შეცდომების რაოდენობა დაახლოებით ათასჯერ უფრო მეტია. რეპლიცირებული დნმ-ის მოლეკულაში სწორედ რნმ-პოლიმერაზის საკორექციო აქტივობის მეშვეობით მცირდება საბოლოოდ დაფიქსირებული შეცდომების რიცხვი. ბაქტერიულ დნმ-პოლიმერაზას, გარდა 5'---3' პოლიმერაზული აქტივობისა, 3'---5' ეგზონუკლეაზური აქტივობაც აქვს. თუ რეპლიკაციის პროცესში ნუკლეოტიდების არასწორი გაწყვილება მოხდა, ამ ადგილას წარმოიქმნება „გამობერილობა", რომელიც ამოიცნობა და გასწორდება დნმ-პოლიმერაზის მიერ, ან კიდევ, არასწორად შემოსული ნუკლეოტიდი ვერ ამყარებს წყალბადურ ბმას მატრიცული ჯაჭვის კომპლემენტურ ნუკლეოტიდთან და პოლიმერაზა არ ამატებს ნუკლეოტიდს მზარდი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის 3'-ბოლოს. რეპ-

ლიკაციის პროცესი ჩერდება, ვიდრე არასწორი ნუკლეოტიდი არ იქნება მოცილებული და შესაბამისი ნუკლეოტიდის ჩართვა არ მოხდება. ასეთი ტიპის შეცდომების ძალიან დიდი ნაწილი სწორდება, მაგრამ ზოგჯერ დნმ-პოლიმერაზა ვერ ახერხებს შეცდომის გასწორებას და იგი მუტაციის სახით ფიქსირდება.

რეპარაციის აღნიშნული მექანიზმის დასადასტურებლად ბაქტერიებში მუტატორული გენის (MutD) მოქმედების მექანიზმი შეიძლება გამოვიყენოთ. ამ გენის მუტაცია დნმ-პოლიმერაზა III-ის საკორექციო აქტივობის განმსაზღვრელი ε-სუბერთეულის ინაქტივაციას იწვევს. შედეგად, ვერ ხდება არასწორად ჩართული ნუკლეოტიდების შესწორება და მუტაციები, ამა თუ იმ ხარისხით, თითქმის ყველა გენში ფიქსირდება. რეპარაციის ეს ფორმა მხოლოდ პროკარიოტებისთვის არის დამახასიათებელი.

პირდაპირი რეპარაციის მექანიზმით ხორციელდება *ფოტორეაქტივაციის* რეაქციებიც (სურ.5.24.). ულტრაიისფერი სხივების ზემოქმედებით, ზოგჯერ პირიმიდინულ (უმეტესად თიმინის) ფუძეებს შორის კოვალენტური ბმების წარმოქმნა ხდება. ყალიბდება პირიმიდინული დიმერები, როგორც ერთი ჯაჭვის შიგნით, ისე კომპლემენტურ ჯაჭვებს შორის. აღნიშნული დაზიანებების რეპარაციას ფერმენტი ფოტოლიაზა (ფკ. 4.1.99.3.) უზრუნველყოფს, რომლის კოდირება *phr*-გენით ხდება. ამ ფერმენტის აქტივაცია ხილულ სინათლეზე წარმოებს. იგი იყენებს აბსორბირებული სინათლის ენერგიას, არღვევს დიმერებს შორის არსებულ კოვალენტურ ბმებს და აღადგენს დნმ-ის ნატივურ სტრუქტურას. ფოტორეაქტივაციის მაკატალიზებელი ფოტოლიაზები აღმოჩენილია პროკარიოტებსა და უდაბლეს ძუძუმწოვრებში. უმაღლეს ძუძუმწოვრებში ეს ფერმენტი არ გვხვდება.

არსებობს მოსაზრება, რომ რნმ-დან დნმ-ზე ევოლუციური გადასვლის პროცესში ურაცილის თიმინით შეცვლის ერთ-ერთ მიზეზს, შესაძლოა, თიმინის დიმერების წარმოქმნისა და ფოტორეაქტივაციის უნარიც წარმოადგენდეს. ვინაიდან დაზიანებათა აღდგენისა და წარმოქმნილ დაზიანებათა შექცევადი ხასიათი გაცილებით მეტად უზრუნველყოფდა გენეტიკური აპარატის სტაბილურობას, ვიდრე შეუქცეველი ცვლილებე-

ბი, რომელთა რისკი გაცილებით მაღალი იქნებოდა დნმ-ის მოლეკულაში ურაცილის არსებობისას.

პირდაპირი რეპარაციის გზით ხორციელდება აგრეთვე *მაალკილირებელი აგენტების ზემოქმედებით გამოწვეული დაზიანებების რეპარაცია.* ამ ტიპის გენეტიკური დაზიანებების გასწორება დნმ-ის აზოტოვან ფუძეებთან მიერთებული ალკილის ან მეთილის ჯგუფების მოცილების გზით ხდება. მაგალითად, გენი *ada-ს* მიერ კოდირებული ფერმენტ O^6-მეთილგუანინტრანსფერაზას შეუძლია, ამოიცნოს O^6-მეთილგუანინი, მოაცილოს მას მეთილის ჯგუფი და დააბრუნოს გუანინის ფუძე ნორმალურ მდგომარეობაში.

მაიონიზებელი გამოსხივებით გამოწვეული ერთჯაჭვიანი დაზიანებების პირდაპირი რეპარაციის კიდევ ერთ სახეს წარმოადგენს ფერმენტ *პოლინუკლეოტიდლიგაზით (ფკ. 5.1.1.) კატალიზური აქტივობით წარმართული რეპარაცია.* ამ ფერმენტის მოქმედების მექანიზმი დნმ-ის დაზიანებული ბოლოების ამოცნობითა და მათი პირდაპირი შეერთების გზით ხორციელდება.

ექსციზიური რეპარაცია

დნმ-ის მოლეკულის დაზიანებათა აღდგენის ეს სისტემა უფრო რთული და მრავალეტაპობრივი პროცესია. ის მოიცავს დაზიანებული უბნის ამოცნობის, მისი ამოჭრისა და დაუზიანებელი ჯაჭვის მატრიცაზე ახალი, ნორმალური ჯაჭვის რესინთეზის პროცესებს. ექსციზური რეპარაციის მოვლენა 1964 წელს იქნა აღმოჩენილი *რიჩარდ ბოისის, პაულ ჰორვარდ-ფლენდერსისა და რიჩარდ სეტლოუს (Richard boce, Paul Howard-Flanders Richard B. Setlow)* სამეცნიერო ჯგუფების მიერ. ჩატარებული ექსპერიმენტების საფუძველზე გამოითქვა მოსაზრება, რომ არსებობს სარეპარაციო სისტემები, რომლებიც არ მოითხოვს ხილულ სინათლეს. ამიტომ რეპარაციის ამ სისტემას სიბნელით რეპარაციასაც უწოდებენ.

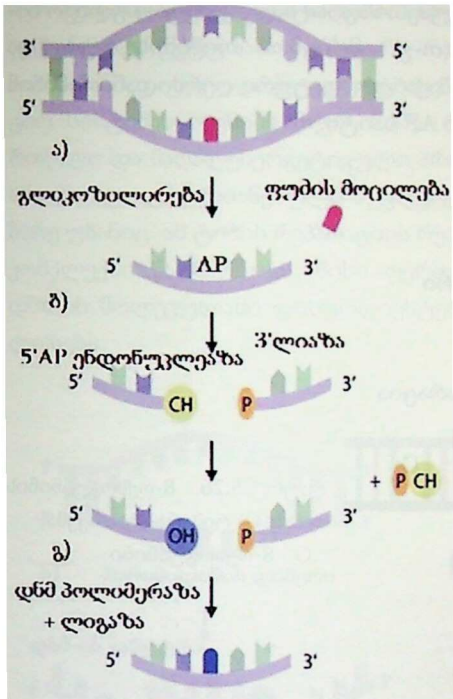
ექსციზიური რეპარაციის ზოგადი სქემა ძირითადად შემდეგ ეტაპს მოიცავს:

- სპეციფიკური ნუკლეაზური ფერმენტების მიერ დნმ-ის დაზიანებული უბნის ამოცნობა;

- ინციზია - დაზიანებული უბნის გაკვეთა დაზიანების ორივე მხრიდან;
- ექსციზია - დაზიანებული უბნის ამოკვეთა, რის შედეგადაც დნმ-ის მოლეკულაში წარმოიქმნება ღიობი;
- დნმ-პოლიმერაზის მიერ ღიობის შევსება დაუზიანებელი ჯაჭვის კომპლემენტური ნუკლეოტიდების 3'-ბოლოზე მიერთების გზით;
- ჯაჭვის გაკერვა ფერმენტ ლიგაზების მეშვეობით და დნმ-ის ინტაქტური მოლეკულის აღდგენა.

ექსციზური რეპარაცია ძირითადად ორი სახისაა: რეპარაცია ფუძეთა ამოჭრით და რეპარაცია ნუკლეოტიდების ამოჭრით.

რეპარაცია ფუძეთა ამოჭრით - ეს არის ექსციზიური რეპარაციის სახე, რომელიც ფუძეების დაზიანების მრავალი განსხვავებული ტიპის აღდგენას ემსახურება. მათ შორის დეზამინირებული, მეთილირებული, დაჟანგული და ა. შ. AP-საიტების ჩათვლით (სურ.5.25). ეს დაზიანებები ამოიცნობა ფერმენტ დნმ-3-მეთილადენინგლიკოზილაზა I მიერ, რომელიც აკატალიზებს დეზოქსირიბოზასა და დაზიანებულ ფუძეს შორის არსებული გლიკოზიდური ბმის გახლეჩას. ამ რეაქციის შედეგად, დაზიანებული ფუძე დნმ-ის ჯაჭვს სცილდება, ხოლო დეზოქსირიბოზა რჩება ჯაჭვის შედგენილობაში, ვინაიდან რეაქციის დროს პენტოზა-ფოსფატური კავშირი არ ზიანება. გამომდინარე იქიდან, თუ რომელი აზოტოვანი ფუძის მოცილება ხდება რეაქციის შედეგად, წარმოიქმნება აპურინული ან აპირიმიდინული AP-საიტი, რომელიც შემდგომში უნდა მოსცილდეს დნმ-ის შაქარ-ფოსფატურ ღერძს. ეს რეაქცია ორი ტიპის - AP-ენდონუკლეაზური და AP-ლიაზური ფერმენტული აქტივობით წარიმართება. AP-ენდონუკლეაზა ხლეჩს ფოსფოდიესტერულ ბმას 5'-მხრიდან, მაგრამ ტოვებს დეზოქსირიბოზას შაქარ-ფოსფატური ღერძის შედგენილობაში, ხოლო AP-ლიაზა AP-საიტს 3-ბოლოდან ჭრის. წარმოქმნილი ერთნუკლეოტიდიანი ღიობის რესინთეზს დნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს, ხოლო გაკერვას - ლიგაზა.



სურ. 5.25. რეპარაცია ფუძეთა ამოჭრით.

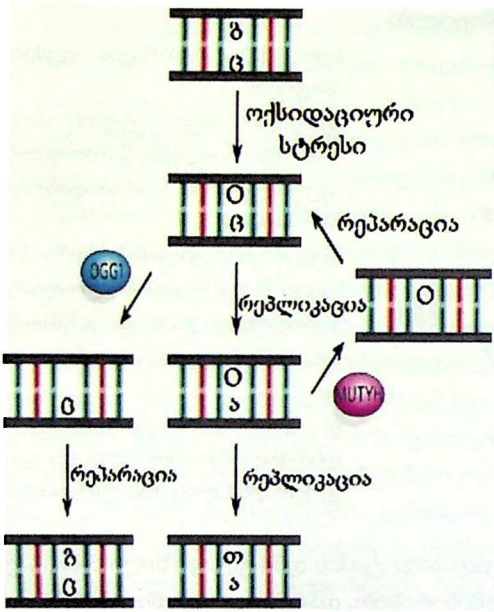
ა) დაზიანებული ფუძის ამოცნობა და მოცილება, წარმოიქმნება აპურინული ან აპირიმიდინული (AP) საიტი;

ბ) ფერმენტი ენდონუკლეაზა AP-საიტს 3'-ბოლოდან, ხოლო ლიაზა 5'-ბოლოდან ჭრის და წარმოიქმნება ერთნუკლეოტიდიანი ღიობი;

გ) ღიობის რესინთეზი ხდება დნმ-პოლიმერაზის მიერ და გაიკერება დნმ-ლიგაზას მეშვეობით.

უჯრედში არსებული სხვადასხვა ტიპის დნმ-გლიკოზილაზები, სპეციფიკურად ამოიცნობს დეზამინირებით, დაჟანგვით თუ მეთილირებით დაზიანებულ ფუძეებს. ადამიანის უჯრედში ამჟამად რვა სხვადასხვა ტიპის გლიკოზილაზაა დაფიქსირებული. ფერმენტის ერთ-ერთი ფორმა - ურაცილგლიკოზილაზა (ფკ.4.1.1.66) სპეციფიკურად ცნობს ციტოზინის დეზამინირებით წარმოქმნილ ურაცილს, როგორც დნმ-ის მოლეკულისათვის უჩვეულო ფუძეს და აცილებს მას. ეს რეაქცია უჯრედს მუტაციების მაღალი სიხშირისაგან იცავს. ხშირად ძუძუმწოვრების დნმ-ის *ც-გ* წყვილში ციტოზინი მეთილირებულია 5'-პოზიციაში. 5'-მეთილ-N-ციტოზინის დეზამინირებით კი წარმოიქმნება არა ურაცილი, არამედ თიმინი (სურ. 5.22). ურაცილგლიკოზილაზა ამ შეცვლილ ფუძეს ვერ ცნობს, ყალიბდება *თ-გ* წყვილი, რომელთაგან ორივე დნმ-ის ნორმალურ ფუძეს წარმოადგენს. თითქოს ძალიან ძნელი ამოსაცნობია, რომელი

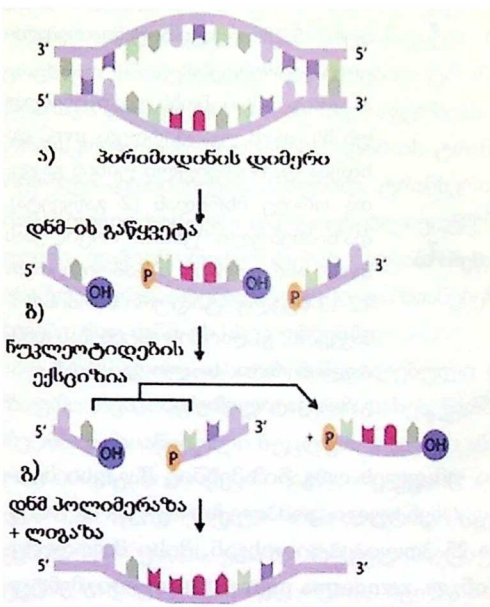
მათგანი წარმოადგენს შეცვლილ ფუძეს, მაგრამ სპეციფიკური გლიკოზილაზები ახერხებს ამ წყვილში (თ-გ) ამოიცნოს თიმინის ფუძე და მოაცილოს ის დნმ-ჯაჭვს. დნმ-ის შაქარფოსფატური ღერძიდან თიმინის მოცილების შედეგად წარმოიქმნება AP-საიტი.



სურ. 5.26. 8-ოქსოგუანინის (oxo-G) რეპარაციის სქემა.
O - 8-ოქსოგუანინი

გლიკოზილაზების სპეციფიკური აქტივობის კიდევ ერთ მაგალითს წარმოადგენს გუანინის დაჟანგვის გზით წარმოქმნილ 8-ოქსოგუანინის (oxo-G) რეპარაცია (სურ. 5.26). oxo-G-ს აქვს უნარი, გაუწყვილდეს ადენინის ფუძეს. სპეციფიკური გლიკოზილაზები ამ წყვილში ამოიცნობს არა oxo-G ფუძეს, არამედ ადენინს და ჩამოაშორებს მას დნმ-ის მოლეკულისგან. ამგვარად, ფერმენტული სისტემა ახდენს არა დაზიანებული, არამედ მასთან არასწორად შეწყვილებული ფუძის ამოცნობას და ამოჭრას, რის შემდეგაც დნმ-ის მოლეკულაში წარმოიქმნება AP-საიტი. AP-საიტების აღდგენა, ყველა შემთხვევაში, მსგავსი მექანიზმით ხორციელდება.

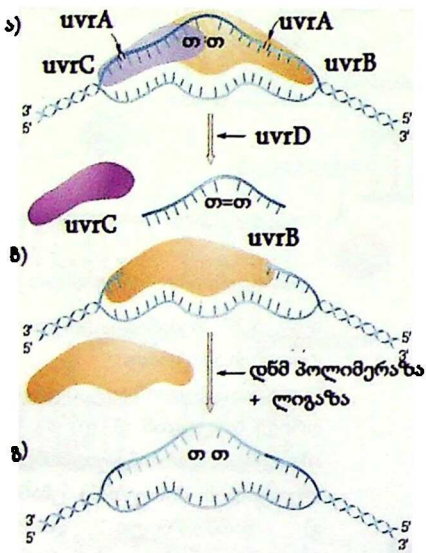
რეპარაცია ნუკლეოტიდების ამოჭრით - დნმ-ის მოლეკულის ორჯაჭვიან სტრუქტურაში მომხდარი მნიშვნელოვანი გადახრების გასწორების მიზნით, უჯრედი ნუკლეოტიდების ამოჭრით მიმდინარე სარეპარაციო სისტემას იყენებს (სურ. 5.27). რეპარაციის ეს ფორმა შედარებით რთული და მაღალენერგეტიკული პროცესია. რომლის დროს ამოიჭრება, არა მხოლოდ დაზიანებული ნუკლეოტიდი, არამედ დაზიანების მიმდებარე უბანიც. ამ ტიპის რეპარაციის რეაქციებს მულტიმერული ცილოვანი კომპლექსი წარმართავს. მისი ფერმენტული აქტივობა დაზიანებული დნმ-ის მოლეკულაში ფოსფოდიესტერული ბმების ჰიდროლიზს აკატალიზებს.



სურ. 5.27. რეპარაცია ნუკლეოტიდების ამოჭრით.
ა) დაზიანებული საიტი იჭრება ორივე ბოლოდან (5' და 3'); ბ) ამოიჭრება დაზიანებული ნუკლეოტიდის მიმდებარე უბანი; გ) წარმოქმნილი ღიობი შეივსება დნმ-პოლიმერაზის მიერ და გაიკერება დნმ-ლიგაზის მეშვეობით.

E. colli-ს უჯრედებში ამ პროცესს აკატალიზებს ფერმენტი, რომელიც ოთხი სუბერთეულითაა წარმოდგენილი - uvrA, uvrB , uvrC და uvrD (გენის სახელწოდება *uvr* – ultra violet repair). სუბერთეულები uvrA და uvrB დაზიანებული უბნის ამოსაცნობად „გადაათვალიერებს" დნმ-ის მოლეკულას. uvrA ამოიცნობს დაზიანებულ უბანს და სცილდება კომპ-

ლექსს, ხოლო uvrB უკავშირდება uvrC-ს, რომელიც, თავის მხრივ, ასრულებს ორ ენდონუკლეაზურ კვეთას დაზიანებული უბნის ორივე მხრიდან. 5'-ბოლოდან ის ჭრის ფოსფოდიესტერულ კავშირს 8 ნუკლეოტიდის დაცილებით, ხოლო 3'-მხრიდან - 4-5 ნუკლეოტამდე მანძილზე. ამ რეაქციის შედეგად, დაახლოებით 12-13 ნუკლეოტიდის სიგრძის მონაკვეთის ამოიჭრება. დაზიანებული უბნის მოცილებას კი uvrD უზრუნველყოფს. წარმოქმნილი ღიობის რესინთეზს დნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს, ხოლო გაკერვას დნმ-ლიგაზა (სურ. 5.28).



სურ. 5.28. ექსციზიური რეპარაციის ფერმენტები:
ა) uvrA ამოიცნობს დაზიანებულ უბანს, uvrB უკავშირდება uvrC და ხდება დაზიანებული უბნის გაკვეთა ორივე მხრიდან (2 გაწყვეტა); დაზიანებული უბნის მოცილებას uvrD ასრულებს; ბ) ამოიკვეთება 12-13 ნუკლეოტიდური სირძის მონაკვეთი; გ) ღიობის ამოვსებას დნმ-პოლიმერაზა, ხოლო გაკერვას ლიგაზა აკატალიზებს.

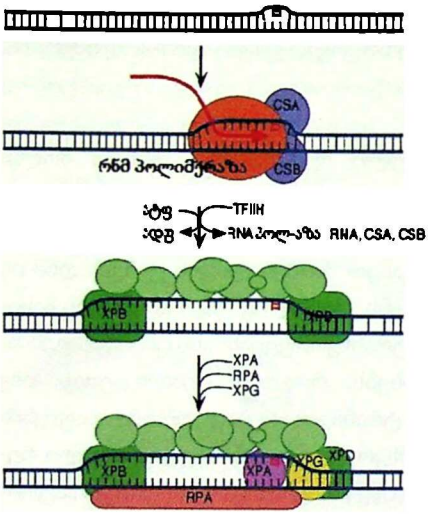
ნუკლეოტიდების ექსციზია უმაღლეს ორგანიზმებშიც მსგავსი მექანიზმით წარიმართება, მაგრამ ფერმენტული კომპლექსი აქ უფრო რთულია და შედგება დაახლოებით 25 პოლიპეპტიდისგან. მისი მაკოდირებელი გენის სახელწოდებაა *xp* (ინგლ. xeroderma pigmentosum - პიგმენტური ქსეროდერმას მაკოდირებელი გენი). კომპლექსის XPC (uvrA ანალოგი) სუბერთეული პასუხისმგებელია დაზიანებული უბნის ამოცნობაზე. დაზიანებულ უბანზე წარმოიქნება სტრუქტურული დეფორმაცია - გამობერილობა, რომელიც ამოიცნობა XPA და XPD ჰელიკაზური აქტივობის მქონე კომპლექსისა (uvrB-ს ანალოგი) და RPA-ცილის (ინგლ. Replication

Protein - სარეპლიკაციო ცილა) მიერ. დაზიანებული უბნის ორივე მხარეს ხდება ენდონუკლეაზური კვეთა. 5-ბოლოზე დაზიანებული უბნის გაჭრას XPG სუბერთეული (uvrC ანალოგი) აწარმოებს, ხოლო 3'-ბოლოს გაკვეთას - ERCCl-XPF ეგზონუკლეაზა. ამ რეაქციის შედეგად, დაზიანებული დნმ-ის მოლეკულიდან 24-32 ნუკლეოტიდის სიგრძის მონაკვეთი ამოიჭრება, რომლის რესინთეზს უზრუნველყოფს დნმ-პოლიმერაზა, ხოლო გაკერვას - ლიგაზა.

ტრანსკრიფციასთან შეწყვილებული რეპარაცია - დნმ-ის მოლეკულაში მომხდარი დაზიანებები მუდმივად იმყოფება სარეპარაციო სისტემის კონტროლის ქვეშ და უმალვე მოქმედებს იმ ადგილას, სადაც ყველაზე მეტად არის აუცილებელი. ასეთ მნიშვნელოვან უბნებს დნმ-ის ისეთი თანამიმდევრობები წარმოადგენს, რომელიც უჯრედისთვის სასიცოცხლო მნიშვნელობის ცილების ტრანსკრიფციას ახდენს. გასაგებია, რომ დაზიანებები თანაბრად აფერხებს, როგორც რეპლიკაციის, ისე ტრანსკრიფციის პროცესებს. დნმ-ის ტრანსკიბირებად უბანში დაფიქსირებული დაზიანების პასუხად, ტრანსკრიფციასთან შეწყვილებული რეპარაციული სისტემა დაუყოვნებლივ იწყებს ტრანსკრიბირებადი მატრიცული ჯაჭვის რეპარირებას. აღსანიშნავია, რომ მის კომპლემენტურ, არატრანსკრიბირებად ჯაჭვში დაზიანებების კორექცია იგივე სიჩქარით ხდება, რაც დნმ-ის სხვა უბნებში.

ტრანსკრიფციასთან შეწყვილებული რეპარაციული სისტემა ექსციზიური რეპარაციის ერთ-ერთ სახეს წარმოადგენს, რომელიც მიმდინარეობს დაზიანებული ნუკლეოტიდების ან გარკვეული მონაკვეთის ამოჭრის პრინციპით (სურ. 5.29). რეაქციის აქტივაცია ხდება დაზიანებულ დნმ-თან გაჩერებული რნმ-პოლიმერაზული კომპლექსით, რომელიც გენის ექსპრესიის გზაზე პირველ საფეხურს ახორციელებს. პროკარიოტებში, სადაც გენები შედარებით მცირე ზომისაა, ეს პროცესი შედარებით მარტივად წარიმართება. რნმ-პოლიმერაზა დისოცირდება დაზიანების ადგილიდან, ხოლო დაზიანების კორექციის შემდეგ გენის ტრანსკრიფცია თავიდან ხდება. ევკარიოტული გენების ძალიან დიდი ზომების გამო გაცილებით რთული რეპარაციული რეაქციებია საჭირო რნმ-პოლიმერაზული კომპლექსის შეჩერების, დაზიანებათა კორექციისა და

ტრანსკრიფციის პროცესის თავიდან ამოქმედებისთვის. შესაძლოა, ტრანსკრიბირებადი უბნების დიდმა ზომებმა დააბრკოლოს დაზიანებული უბნის მისაწვდომობა და ხელი შეუშალოს დაზიანებული უბნების ამოცნობასა და კორექციას. პროცესს წარმართავს ცილოვანი კომპლექსი - CSA CSB (CS - cockayne's sindrom). ეს კომპლექსი ამოიცნობს გაჩერებულ რნმ-პოლიმერაზას, რომელიც გადაიწევს უკან და ახდენს რეპარაციული ცილების გააქტივებას. ეს უკანასკნელი კი დაზიანებული უბნის კორექციას ახდენს. რეპარაციის ამ ტიპს ნუკლეოტიდების ამოჭრის სისტემის ანალოგიური რეპარაციული ფერმენტები აკატალიზებს.



სურ. 5.29. ტრანსკრიფციასთან შეწყვილებული რეპარაციის სქემა

ტრანსკრიფციასთან შეწყვილებული რეპარაცია მნიშვნელოვანია ადამიანის უჯრედების ნორმალური ფუნქციონირებისთვის, მისი დეფექტი იწვევს დაავადება კოკეინის სინდრომს.

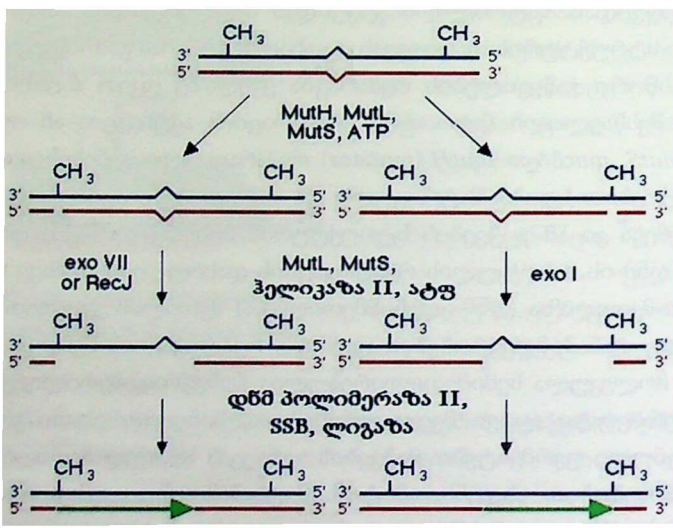
არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების ფუძეების რეპარაცია - რეპლიკაციის პროცესის მსვლელობისას, შესაძლოა, მოხდეს ნუკლეოტიდების შემთხვევითი არჩევა, მზარდ პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში მისი ჩართვა და მატრიცული ჯაჭვის ნუკლეოტიდებთან მათი გაწყვილება. ამ პროცესის შედეგად კომპლემენტური *ა-თ, გ-ც* წყვილების ნაცვლად, არაკომპლემენტური ნუკლეოტიდური წყვილები წარმოიქმნება, რომელთაც „მისმეტჩ" (ინგლ. mismatch - შეუსაბამო) წყვილებს უწოდებენ. პროკარიოტულ უჯრედებში ასეთი შეუსაბამო წყვილების წარმოქმნის სიხშირე საკმაოდ მაღალია (დაახლოებით, 10 000 ნ.წ.-ზე - ერთი), ევკარიოტებში შედარებით ნაკლები. უჯრედის სარეპარაციო სისტემამ უნდა უზრუნველყოს მზარდ რეპლიცირებად ჯაჭვში არასწო-

რად ჩართული ნუკლეოტიდის მოცილება. ამდენად, არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების ფუძეების რეპარაცია არის ნუკლეოტიდების ამოჭრით რეპარაციის ფორმა. განსხვავება იმაში მდგომარეობს, რომ ამ შემთხვევაში სარეპარაციო სისტემამ უნდა ამოიცნოს არა დაზიანებული ან მოდიფიცირებული, არამედ ნორმალური, მაგრამ მატრიცული ჯაჭვის შეუსაბამო ნუკლეოტიდი. არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდის ადგილის ამოცნობა დნმ-ის სპირალის სტრუქტურის დეფორმაციით ხდება. თუ დაზიანებულ ან მოდიფიცირებულ ფუძეს სარეპარაციო სისტემა სპეციფიკურად ამოიცნობს და ამოჭრის ინდივიდუალური ფუძის, ნუკლეოტიდის ან პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის ფრაგმენტის სახით, არასწორად გაწყვილებული ფუძის ამოჭრა უნდა მოხდეს რეპლიცირებადი ჯაჭვიდან. მატრიცული ჯაჭვიდან ნუკლეოტიდის ამოჭრა გენეტიკური სტრუქტურის დარღვევას და ახალ მუტაციას გამოიწვევს.

არასწორი გაწყვილების რეპარაცია ყველაზე უკეთ *E.coli*-ს უჯრედებშია შესწავლილი (სურ. 5.30). რეპარაციის აქტივაცია ამ ორგანიზმებში ***mutS, mutL*** და ***mutH*** (mutator) რეპარაციული გენების ცილოვანი პროდუქტებით ხდება. მატრიცული და ახლად რეპლიცირებადი ჯაჭვების გარჩევა კი ამ ჯაჭვების სტრუქტურის მიხედვით. საქმე ისაა, რომ *E.coli*-ს დნმ-ის მოლეკულის რეპლიკაციის დასრულებისთანავე ფერმენტი Dum-მეთილაზა (დნმ-ადენინმეთილაზა) მეთილის ჯგუფით მონიშნავს ***გათც*** თანამიმდევრობების ადენინს. რეპლიკაციის შემდეგ ციკლში დნმ-ის მოლეკულა სემიმეთილირებულია (ნახევრად-მეთილირებული), ანუ მატრიცული ჯაჭვი მეთილირებულია, სინთეზირებადი კი - არა. რეპარაციული ფერმენტები ჯაჭვების გარჩევას სწორედ მეთილის ჯგუფების არსებობით ახდენს. ამიტომ, შეუსაბამო წყვილების რეპარაცია უნდა მოხდეს ძალიან სწრაფად, რათა დაასწროს ახლად სინთეზირებული ჯაჭვის მეთილირების პროცესს.

რეპარაციის პროცესი იწყება MutS ცილის მიერ შეუსაბამო ნუკლეოტიდური წყვილის ამოცნობით. მას უმალვე უკავშირდება MutL და MutH ცილები. MutH ენდონუკლეაზური აქტივობის მქონე ცილაა, რომელიც ამოიცნობს არამეთილირებული ჯაჭვის ***გათც*** თანამიმდევრობას და კვეთს მას ადენინის ნუკლეოტიდთან. ენდონუკლეაზური კვეთა, შესაძლოა, განხორციელდეს ადენინის, როგორც 5'-, ისე 3'-მხრიდან. დნმ-ის

სპირალის გახსნა ჰელიკაზურური აქტივობის MutU (იგივე uvrD) ფერმენტით ხდება. თუ ჯაჭვი 5'-მხრიდან გაიჭრა, 5'---3' ეგზონუკლეაზური აქტივობის ფერმენტი ნუკლეოტიდებს აცილებს დაზიანებულ საიტამდე და, ზოგჯერ, გაივლის კიდეც მას. თუ გაკვეთა 3'-მხარეს მოხდა, აქტიურდება 3---5' ეგზონუკლეაზა, რომელიც ნუკლეოტიდების ჩამოშორებას ახდენს არასწორად გაწყვილებული საიტის მოცილებამდე. რეპარირებად ჯაჭვში წარმოქმნება გრძელი, ასობით ნუკლეოტიდიანი ღიობი, რომლის რესინთეზს დნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს, ხოლო გაკერვას - ლიგაზა. ამ ტიპის რეპარაციის რეაქცია აუცილებლად საჭიროებს ენერგიას ატფ-ის სახით.



სურ. 5.30. არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების (მისმეტჩ) რეპარაციის სქემა

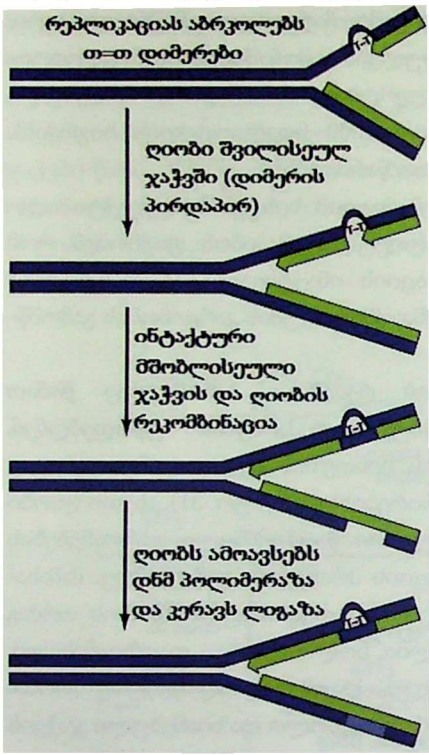
არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების რეპარაცია ადამიანის უჯრედებშიც არის აღმოჩენილი, რომელიც მსგავსი მექანიზმით წარიმართება. მაგრამ აქ უფრო რთული სისტემა ფუნქციონირებს, რომლის მექანიზმი ბოლომდე ნათელი არ არის. მაგალითად, უცნობია, როგორ

ხდება ახალი და ძველი ჯაჭვების გარჩევა. ფერმენტულ აპარატში ნაპოვნია MutS და MutL მსგავსი ცილოვანი კომპლექსები. არ არის ნაპოვნი MutH ანალოგი. რეპარაციის რეაქციაში ჩართულია PCNA-დამჭერი, რომელიც დამატებით ფუქციას ასრულებს - მონაწილეობს ნუკლეოტიდების ამოჭრის რეაქციებში. ნუკლეოტიდების ამოჭრით მიღებული ღიობი აქაც გრძელია (დაახლოებით 1000 ნუკლეოტიდის სიგრძის), რომლის რესინთეზი იგივე პრინციპით წარმოებს.

არასწორად გაწყვილებული რეპარაციის სისტემის დეფექტი ადამიანში იწვევს მემკვიდრეობით არაპოლიპოზურ კიბოს. ფიქრობენ, რომ არასწორად გაწყვილებული რეპარაციის ინაქტივაცია ან დათრგუნვა ზოგიერთი ტიპის კუჭის კიბოს და ენდომეტრიუმის კარცინომის გამომწვევი მიზეზი შეიძლება იყოს.

შვილისეული ჯაჭვის ღიობის რეპარაცია, რომელსაც წინათ პოსტრანსკრიფციულ რეკომბინაციულ რეპარაციას უწოდებდნენ, უჯრედის მიერ გამოიყენება დნმ-ის სინთეზის შედეგად შვილისეულ ჯაჭვში წარმოქმნილი ღიობის რეპარირებისთვის (სურ. 31). ასეთი ღიობი წარმოიქმნება, თუ დნმ-ის მოლეკულაში წარმოქმნილი დაზიანებების გასწორება ვერ მოხერხდა რეპლიკაციის პროცესის დაწყებამდე. მაშასადამე, რეპლიკაციური აქტის დაწყებამდე დედისეული დნმ-ის ორმაგ სპირალში ერთი ჯაჭვი დაზიანებულია, ხოლო მეორე - დაუზიანებელი. ერთი რეპლიკაციური ციკლის შემდეგ, დაუზიანებელ ჯაჭვზე ნორმალური დნმ-ის მოლეკულა სინთეზირდება, ხოლო დაზიანებული ჯაჭვის დეფექტის კომპლემენტურ უბანში ყალიბდება ღიობი. ამ ეტაპზე ერთვება სარეპარაციო სისტემა - მატრიცული დნმ-ის დაუზიანებელი ჯაჭვიდან სარეპარაციო სისტემის RecA ცილა ამოკვეთს ზუსტად ღიობის შესაბამისი სიგრძის მონაკვეთს და ჩააშენებს მის ადგილას. სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, ადგილი აქვს ჰომოლოგიურ რეკომბინაციას. ამიტომ რეპარაციის ამ სისტემას რეკომბინაციულ რეპარაციას უწოდებენ. რესინტეზირებული უბნის გაკერვა დნმ-ლიგაზით ხდება. რეკომბინაციის რეაქციის შედეგად სიცარიელე რჩება დაუზიანებელი დნმ-ის მოლეკულის მატრიცულ ჯაჭვში, მაგრამ, ვინაიდან მისი კომპლემენტური თანამიმდევრობა დაუზიანებელია, იგი ადვილად შეივსება ნუკლეოტიდებით დნმ-პოლიმერაზის მიერ და ილუქება ლიგაზით.

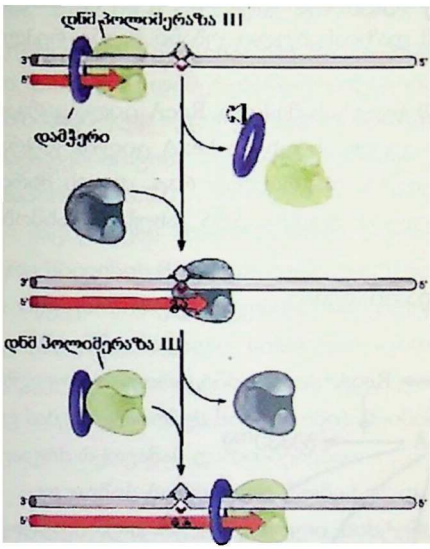
SOS- რეპარაცია არის ავარიული პასუხი დნმ-ის მოლეკულაში ისეთ ძლიერ დაზიანებებზე, რომელთა გასწორებას ვერ ახერხებს უჯრედის ვერც ერთი ზემოთ ჩამოთვლილი სარეპარაციო სისტემა.



სურ. 5.31. შვილისეული ჯაჭვის ღიობის რეპარაცია - რეკომბინაციული რეპარაციის სქემა

მაიონიზებელი დასხივების, ჟანგვითი სტრესების თუ სხვა მუტაგენური ფაქტორებით გამოწვეული ძლიერი დამაზიანებელი ზემოქმედებით გამოწვეული დნმ-ის ძლიერი დაზიანებების დროს (წყვეტა დნმ-ის ორივე ჯაჭვში; ერთჯაჭვიანი წყვეტა, როცა მეორე ჯაჭვიც დაზიანებულია; გადაგრეხა; AP საიტები, რომლებიც ვერ ასრულებენ მატრიცის ფუნქციას და ა.შ.). *E.coli*-ს უჯრედებში, მაღალი სიზუსტის დნმ-პოლიმერაზები I და III დეფექტური უბნების გადალახვას ვერ ახერხებენ და, როგორც კი რეპლიკაციური ჩანგალი შეხვდება პირველივე არარეპარირებულ დაზიანებას, რეპლიკაციის პროცესი ჩერდება. თუ დნმ-ში ბევრია ასეთი დაზიანება, უჯრედი განწირულია დასაღუპად. ასეთ დროს მოქმედებას იწყებს SOS-რეპარაციული სისტემა, რომლის დროსაც აქტიურდება დნმ-პოლიმერაზების სპეციალიზებული ფორმები (დნმ-პოლიმერაზა IV და V), რომლებიც ახერხებს დაზიანებული უბნების რეპარაციას (სურ. 5.32). დნმ-პოლიმერაზების ეს ტიპი მოკლებულია საკორექციო აქტივობას, ამიტომ რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომების ალბათობაც ძალიან მაღალია. დნმ-ის რეპლიკაციის ეს ფორმა ცნობილია, როგორც ***შეცდომებისაკენ მიდრეკილი*** ან

ტრანსლეზიური სინთეზი. ამ პროცესის შედეგად, დნმ, მართალია, გარკვეული შეცდომებით, მაგრამ მაინც რეპლიცირდება და მზადაა გაყოფისათვის. მეორე მხრივ, რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომები წარმოადგენს მუტაციის ახალ წყაროს. თუ ეს შეცდომები სასიცოცხლო მნიშვნელობის ფუნქციას არღვევს, უჯრედი მაინც იღუპება.



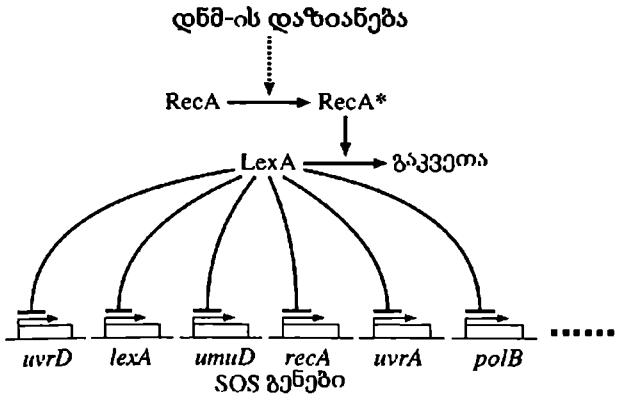
სურ. 5.32. შეცდომებისაკენ მიდრეკილი (ტრანსლეზიური) რეპარაციის სქემა (Watson, 2008)

ტრანსლეზიური დნმ-პოლიმერაზები აქვს ადამიანის უჯრედსაც. მაგალითად, დნმ-პოლიმერაზა **η**, მაიონიზებელი დასხივებით წარმოქმნილი თიმინის დიმერების წინ, უპირატესად, ადენინის ჩართვას ახდენს. ვინაიდან ***A-T*** სწორი შეწყვილებაა, რეპლიკაციის დროს დაშვებული შეცდომები და, შესაბამისად, მუტაციური ეფექტიც მცირდება.

SOS-რეპარაციის რეგულაცია დნმ-ის დაზიანებაზე *SOS* პასუხის რეპარაციული გენების კოორდინაციული მოქმედებით ხდება (სურ. 5.33). დაზიანებაზე პასუხი RecA (recombination) ცილის პროტეაზული აქტივობის აქტივაციით იწყება. მას შეუძლია, ამოიცნოს და გაჭრას მეორე, *lexA* (lambda excision) გენის lexA ცილოვანი პროდუქტი. *lexA* გენი დაახლოებით 20-მდე გენის რეპრესორს წარმოადგენს, მათ შორის - *umuD* (uv mutator) და *umuC* რეპარაციული გენების. *lexA* გენის გაჭრა ხსნის მის

რეპრესიულ ზემოქმედებას *umuD* და *umuC* გენებზე და იწყება მათი ტრანსკრიფცია. სინთეზირდება *umuD* და *umuC* ცილები, რომლებიც უკავშირდება დნმ-პოლიმერაზა III – RecA ცილოვან კომპლექსს. UmuD იხლიჩება უფრო მოკლე ფრაგმენტად UmuD', რომელიც UmuC ცილასთან კომპლექსში წარმოადგენს ტრანსლეზიურ დნმ-პოლიმერაზას. ამის შემდეგ რეპლიკაციური კომპლექსი აგრძელებს დნმ-ის სინთეზს. მართალია, დიდი შეცდომების ფასად, მაგრამ დაზიანებული უბანი მაინც რეპლიცირდება.

ინდუქციური ზემოქმედების შეწყვეტის შემდეგ RecA ცილა კარგავს თავის პროტეაზულ აქტივობას და ვეღარ ახერხებს LexA ცილის გაჭრას. უჯრედში სწრაფად ხდება LexA ცილის დაგროვება, რაც, თავის მხრივ, *SOS*- გენების რეპრესიას და, საბოლოო ჯამში, *SOS* -ასუხის ჩახშობას განაპირობებს.



სურ. 5.33. SOS რეპარაციის რეგულაციის სქემა

კლინიკური კავშირები

რეპარაციული სისტემის ინაქტივაცია ან მისი სხვადასხვა ეტაპზე წარმოქმნილი დეფექტები რიგი გენეტიკური დაავადების მიზეზს წარმოადგენს:

პიგმენტური ქსეროდერმა (XP- Xeroderma pigmentosum) - ექსციზიური რეპარაციული სისტემის მოშლით გამოწვეული დაავადებას წარმოადგენს, რომელიც 1968 წელს ჯეიმს კლივერის მიერ იქნა შესწავლილი.

პიგმენტური ქსეროდერმა იშვიათი, აუტოსომურ-რეცესიული ტიპის დაავადებაა, რომელიც შეიძლება გამოიწვიოს რეპარაციული გენებიდან *(xpA, xpB, xpC, xpD, xpE, xpF, xpG),* თუნდაც, ერთ-ერთში არსებულმა დეფექტმა. ამ დროს დარღვეულია ულტრაიისფერი სხივებით გამოწვეული თიმინის დიმერების რეპარაციის პროცესების სხვადასხვა ეტაპი (დაზიანებული ნუკლეოტიდების ამოჭრა, ღიობის ამოშენება და ა.შ.), რაც დაავადებისთვის დამახასიათებელ მაღალ ფოტომგრძნობელობას განაპირობებს.

პაციენტებს ახასიათებთ მომატებული მგრძნობელობა ულტრაიისფერი სხივების მიმართ, რომელიც მზისათვის მისაწვდომ ღია ადგილებში იწვევს წითელი ფერის პიგმენტური ლაქების განვითარებას. ასეთ პაციენტებში მაღალი სიხშირით ვითარდება კანის კიბო. დაავადების გარკვეული ფორმების დროს ადგილი აქვს ნევროლოგიურ დარღვევებს (დე სანკტ-კაჩიონეს სინდრომი). შეინიშნება ქუთუთოების, წარბებისა და თვალის რქოვანას დაზიანებები.

კოკეინის სინდრომი - უმეტესად გამოწვეულია ტრანსკრიფციასთან შეუღლებული რეპარაციული სისტემის დარღვევებით - რეპარაციული ენდონუკლეაზების დეფექტებით და დნმ-ის ტრანსკრიბირებადი უბნების დეფექტებით.

დაავადების თაობებში გადაცემა აუტოსომურ-რეცესიული ტიპით ხდება და მას მე-5 და მე-10 ქრომოსომებში განლაგებული *csA* და *csB* გენების მუტაციები იწვევს. პაციენტებს დაახლოებით 2 წლის ასაკიდან ზრდის შენელება ახასიათებთ. აღინიშნება სიყრუე, მხედველობის ატროფია, თავის ქალის ძვლების კალციფიკაცია და ა. შ.

ბლუმის სინდრომი - დაავადების მიზეზად ითვლება რეპლიკაციის პროცესების შენელება და რეპარაციული სინთეზის დათრგუნვა. ასეთ ცვლილებას ფერმენტ ლიგაზას მაკოდირებელი გენის დეფექტი და მის მიერ კოდირებული ცილის დეფიციტი განაპირობებს. ამ დროს აღინიშნება ქრომოსომური აბერაციების მაღალი სიხშირე.

ბლუმის სინდრომი აუტოსომურ-რეცესიულ დაავადებას წარმოადგენს, რომელიც შედარებით მაღალი სიხშირით ბიჭებში ვითარდება. დაავადებულ ახალშობილებს აღენიშნებათ წონის მკვეთრი კლება, ზრდის შენელება, მომატებული ფოტომგრძნობელობა. პაციენტებს მზის სხივების ზემოქმედებით კანზე უვითარდებათ პეპლისებრი ერითემა, ახასითებთ მომატებული მგრძნობელობა ვირუსული ინფექციების მიმართ, მაღალია სიმსივნური დაავადებების განვითარების რისკიც.

ფანკონის ანემია - დაავადების მიზეზს წარმოადგენს ქიმიური მუტაგენებითა და სხვა კანცეროგენების ზეგავლენით გამოწვეული ენდონუკლეაზების დეფექტები და, შესაბამისად, რეპარაციული სისტემის დარღვევა.

პაციენტებში აღინიშნება ჰემატოლოგიური სურათის ცვლილება - შემცირებულია სისხლის უჯრედული ელემენტების რაოდენობა, დამახასიათებელია თითების დეფორმაცია და ჩონჩხის სხვა ანომალიები, უროგენიტალური ცვლილებები, მიკროცეფალია, სმენის დაქვეითება, გულ-სისხლძარღვთა და საჭმლის მომნელებელი სისტემის დარღვევები და ა. შ.

ლუი-ბარის სინდრომი (ატაქსია-ტელეანგიექტაზია) - დაავადების მიზეზად დნმ-ის რეპარაციული რეაქციების დეფექტი, უჯრედული ციკლის დარღვევა და ქრომოსომური აბერაციები ითვლება. დაავადებულებში შეინიშნება მომატებული მგრძნობელობა ულტრაიისფერი სხივების, მაიონიზებელი გამოსხივების და სხვა მსგავსი მუტაგენური ფაქტორების მიმართ.

დაახლოებით 40 000 ახალშობილიდან ერთი ამ დაავადების მატარებელია. დაავადების დამემკვიდრება აუტოსომურ-რეცესიული ტიპისაა. მის გამომწვევად *atm* (*ataxia telengiectasia mutated*) გენის მუტაცია ითვლება. ამ გენის ცილოვანი პროდუქტები რეპარაციული გენებისა და უჯრედული ციკლის მაკონტროლებელი ცილების აქტივატორებს წარმოადგენს.

დაავადებისთვის დამახასიათებელია ნერვული და იმუნური სისტემის დარღვევები. დაავადება ადრეულ ასაკში ვლინდება, ახასიათებს ნათხემოვანი ატაქსია, რომელიც კუნთოვანი კოორდინაციის დარღვევას, სხეულის რყევას და გონებრივ ჩამორჩენილობას იწვევს. პაციენტებში მაღალია სიმსივნური დაავადებების განვითარების რისკი.

არასწორად გაწყვილებული (მისმეტჩ) რეპარაციის დარღვევებით გამოწვეული სიმსივნური დაავადებები. არასწორად გაწყვილებული რეპარაციის დარღვევები ადამიანებში სწორი ნაწლავის არაპოლიპოზური მემკვიდრეობითი სიმსივნის *HNPCC* (heriditory nonpolyposis colorectal cancer) მიზეზს წარმოადგენს და, ასევე, ზოგიერთი სხვა ტიპის სიმსივნის განვითარებასაც უწყობს ხელს.

ნაწლავის არაპოლიპოზური სიმსივნე - აუტოსომურ-დომინანტური დაავადებაა, რომელის განვითარებას არასწორად დაწვილებული ფუძეების რეპარაციაზე პასუხისმგებელი გენებიდან მხოლოდ ერთის მუტაციაც კი იწვევს. ნაწლავური ტრაქტის ამომფენი უჯრედები აქტიურად გაყოფად უჯრედებს განეკუთვნება. ითვლება, რომ სიცოცხლის განმავლობაში კოლინჯის ერთ უჯრედში მაინც ხდება „მისმეტჩ" რეპარაციის გენის ერთ-ერთი ალელის მუტაცია. თუ მეორე ალელი არა არის დაზიანებული, გენს მაინც აქვს რეპარაციის უნარი და სიმსივნე არ ვითარდება. მაგრამ თუ უჯრედს მემკვიდრეობით მიღებული ასეთი გენის ერთი მუტაციური ალელი მაინც აქვს, სიმსივნის განვითარების ალბათობა მკვეთრად იზრდება.

5.4. რეკომბინაცია

რეკომბინაცია მემკვიდრეობითი ცვალებადობის ერთ-ერთ ძირითად წყაროს წარმოადგენს, რომლის დროსაც გენეტიკური მასალის (დნმ) გადანაწილებისა და გადაჯგუფების საფუძველზე წარმოიქმნება გენთა ახალი კომბინაციები. თუ ჩვენ მიერ უკვე განხილული რეპლიკაცია და რეპარაციის პროცესები გენომის სტაბილურობას და მემკვიდრეობითი მასალის თაობებში შენარჩუნებას ემსახურება, რეკომბინაცია გენეტიკური მასალის ცვალებადობას განაპირობებს. რეკომბინაციის ბიოლოგიური მნიშვნელობა იმდენად დიდია, რომ მან მთელ ცოცხალ სამყაროში პოვა განვითარება. პროკარიოტებსა და ევკარიოტებში რეკომბინაციული პროცესები სხვადასხვა გზით მიმდინარეობს. მათი რეალიზაცია პროკარიოტებში კონიუგაციის, ტრანსფორმაციისა და ტრანსდუქციის გზით ხდება. ევკარიოტებში რეკომბინაციებს ადგილი აქვს, როგორც სასქესო გამეტე-

ბის ჩამოყალიბების დროს მეიოზში, ისე მიტოზის დროს სომატურ უჯრედებში. საბოლოო ჯამში, დნმ-ის ერთი მოლეკულიდან მეორეზე გარკვეული თანამიმდევრობების გადატანა ხდება. რეკომბინაცია შესაძლოა იყოს რეციპროკული (ლათ. reciprocus - ურთიერთ), როცა დნმ-ის ნაწილების ურთიერთგაცვლა ხდება და არარეციპროკული, როცა ცალმხრივ გადატანას აქვს ადგილი.

რეკომბინაცია შეიძლება განხორციელდეს უჯრედის ბირთვების, დნმ-ის მთლიანი მოლეკულების ან მის ნაწილებს შორის გაცვლით. რეკომბინაციული პროცესების დიდი მრავალფეროვნებიდან მოლეკულური ბიოლოგიის შესწავლის ინტერესს დნმ-ის მოლეკულის ნაწილებს შორის მიმდინარე რეკომბინაციის ნატიფი მოლეკულური მექანიზმების ახსნა წარმოადგენს.

არჩევენ რეკომბინაციის ორ ძირითად ტიპს:

- ჰომოლოგიური, ანუ ზოგადი (იგივე კროსინგოვერი) რეკომბინაცია;
- არაჰომოლგიური, ანუ საიტსპეციფიკური რეკომბინაცია;

ნებისმიერი ტიპის რეკომბინაციული პროცესი იწყება დნმ-ის ჰომოლოგიური წყვილების ამოცნობითა და დაახლოებით. დნმ-ის უბნები, რომელთა შორის რეკომბინაციის რეაქციები უნდა განხორციელდეს, ერთმანეთთან კონტაქტში შედის. ამ პროცესს სინაფსისს (ბერძ. Synapsis – შეერთება, კავშირი) უწოდებენ. მაშასადამე სინაფსის სტადია, რომელსაც ევკარიოტებში ქრომოსომების გაწყვილებასაც უწოდებენ, სავალდებულოა ყველა ტიპის რეკომბინაციული გარდაქმნების დასაწყებად.

ჰომოლოგიური რეკომბინაცია

ჰომოლოგიური რეკომბინაცია დნმ-ის ორმაგი სპირალის იდენტურ ან თითქმის იდენტურ, ჰომოლოგიურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს შორის ხდება. ეს პროცესი სპეციალური ფერმენტების მეშვეობით კატალიზდება, რომელებსაც შეუძლია, გამოიცნოს და სუბსტრატის სახით გამოიყენოს ჰომოლოგიურ თანამიმდევრობათა ნებისმიერი წყვილი.

ჰომოლოგიური რეკომბინაციის მექანიზმების არსში წვდომისათვის სასურველია გავიხსენოთ, რომ დნმ წარმოადგენს ორი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სპირალურად დახვეულ დუპლექსს. დნმ-დუპლექსის შემადგე-

ნელი ჯაჭვები ანტიპარალელური ორიენტაციისაა და ერთმანეთის კომპლემენტურია. ერთნაირი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობებით წარმოდგენილი ასეთი მოლეკულები ერთმანეთის ჰომოლოგიურია, მაგრამ მათი იდენტურობა, შესაძლოა დაირღვეს მუტაციებით. უმეტესწილად, მუტაციები ერთი ნუკლეოტიდის მეორით შეცვლას იწვევს, უფრო იშვიათად, ცალკეული ნუკლეოტიდის ინსერციას ან დელეციას. ყოველი მუტაცია შესაბამისი გენის ახალი ალელის წარმოქმნას განაპირობებს, რომელიც საწყისი ალელისაგან მხოლოდ ერთი ნუკლეოტიდით განსხვავდება. თუ მუტაცია ფენოტიპის შეცვლას იწვევს. მას „გენეტიკურ მარკერს“ უწოდებენ.

ვინაიდან დნმ-ის ცალკეული ჯაჭვი სხვადასხვა მშობლისაგან არის მიღებული, ისინი ერთმანეთის ჰომოლოგიური და, შესაბამისად, კომპლემენტურია. ასეთ ჯაჭვებს შეუძლია, წარმოქმნას დუპლექსები. სხვაგვარად რომ ვთქვათ, ჰომოლოგიური დნმ-ის მოლეკულებს შეუძლია ერთმანეთი ამოიცნოს ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისა და კომპლემენტურობის პრინციპით. სხვადასხვა დნმ-ის მოლეკულის ჯაჭვებს იგივე პრინციპით მოძებნოს ერთმანეთი და წარმოქმნას ახალი დუპლექსები, რომელთაც ჰეტეროდუპლექსებს უწოდებენ.

ჰომოლოგიური რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმების ასახსნელად მოლეკულურ ბიოლოგიაში რამდენიმე სქემა გამოიყენება, რომლის საფუძველს წარმოადგენს *რობინ ჰოლიდეის (Robin Holliday)* მიერ 1964 წელს შემოთავაზებული ევკარიოტების კროსინგოვერის (ინგლ. crosingover - გადაკვეთა) მოდელი. თავდაპირველად, წარმოდგენილი მოდელი რეკომბინაციის მექანიზმების დეტალურ ახსნას არ მოიცავდა, მაგრამ ამ პერიოდისათვის ჩატარებული მოლეკურ-გენეტიკური ექსპერიმენტების შედეგებით შესაძლებელი გახდა მისი სრულყოფა და რეკომბინაციის ნატიფი მოლეკულური მექანიზმის ახსნა. რეკომბინაციის ზოგადი სქემა, რიგი განსხვავებებისა და თავისებურებების მიუხედავად, პროკარიოტული და ევკარიოტული ორგანიზმებისთვის საერთო აღმოჩნდა.

ჰოლიდეის მოდელი

ჰოლიდეის მოდელი დნმ-ის ჰომოლოგიური მოლეკულების გაწყვეტა-შეერთების პრინციპს ემყარება. ვინაიდან ეს მოდელი მეიოზური კროსინგოვერისთვის იქნა დამუშავებული, ამდენად, გასაგებია, რომ მეიოზის I პროფაზის დროს ოთხი ჰომოლოგიური ქრომატიდი მონაწილეობს, რომლებიც დნმ-ის ორი ჰომოლოგიური დუპლექსის სახით არის წარმოდგენილი.

დნმ-ის ჰომოლოგიურ ორმაგ სპირალებს შორის გენეტიკური ინფორმაციის გაცვლა რომ მოხდეს, ჯერ საჭიროა ორივე დუპლექსის ჯაჭვების გაწყვეტა და მხოლოდ ამის შემდეგ გახდება შესაძლებელი დნმ-ის ნაწილების გაცვლა-შეერთება. ჰოლიდეის მოდელის თანახმად, ჯაჭვების გაწყვეტა ორ ეტაპად მიმდინარეობს.

რეკომბინაციის პროცესი, აღნიშნული მოდელის მიხედვით, მოიცავს ჰოლიდეის სტრუქტურის აწყობისა და სტრუქტურის გადაწყვეტის ეტაპებს.

რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმები ჰოლიდეის მოდელის მიხედვით წარმოდგენილია სურათზე 5.34.

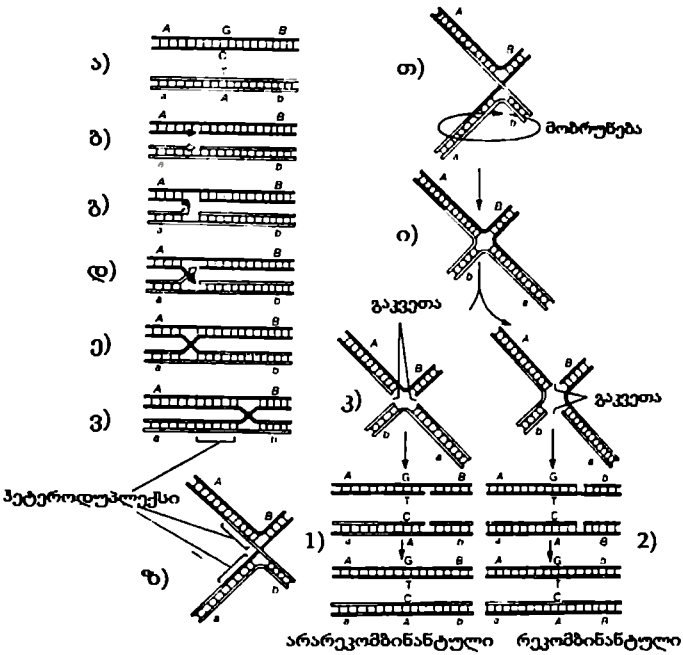
ჰოლიდეის სტრუქტურის ფორმირება:

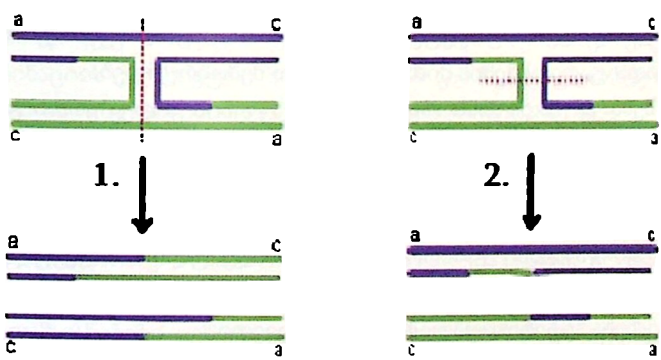
ა) რეკომბინაციის აუცილებელ წინაპირობას კონიუგაცია, ანუ ჰომოლოგიური ქრომოსომების დაწყვილებული დისეული ქრომატიდების დაახლოება წარმოადგენს. იქმნება გენეტიკური მასალის გაცვლისათვის საჭირო სტაბილური ბივალენტური სტრუქტურა;

ბ) რეკომბინაცია იწყება ერთჯაჭვიანი წყვეტით, რომელიც ერთნაირი პოლარობის ორ ჯაჭვში ხდება;

გ) გაკვეთის ადგილებში მიმდინარეობს დნმ-ის ჯაჭვების თავისუფალი ბოლოების ინვაზია (ინგლ. Invasion - შეჭრა) დნმ-ის ჰომოლოგიურ მოლეკულაში;

დ) ინვაზიური ჯაჭვები უერთდება რეციპიენტი დნმ-ის გაწყვეტილ მოლეკულებს და მიიღება გადაჯვარედინებული სტრუქტურა (ქიაზმა). ვინაიდან ამ სტრუქტურის ფორმირებაში დნმ-ის ოთხი ჯაჭვიდან მხოლოდ ორი (არადისეული ქრომატიდების ჯაჭვები) მონაწილეობს, მას „ჰოლიდეის ნახევარქიაზმებს“ უწოდებენ. სტრუქტურის შიგნით ჰიბრიდული ჰეტეროდუპლექსური უბნებია.





სურ. 5.34. ჰომოლოგიური რეკომბინაციის ჰოლიდეის მოდელი. 1-ჰოლიდეის ჯაჭვების ჰორიზონტალური გაკვეთა (მიიღება არარეკომბინანტული დნმ); 2-ვერტიკალური გაკვეთა (მიიღება რეკომბინანტული დნმ-ის მოლეკულა)

ე) ამის შემდეგ იწყება ნახევარქიაზმის გადაჯვარედინების ადგილების გადაადგილება დნმ-ის რეკომბინირებადი დუპლექსების გასწვრივ. ამ მოვლენას შტოს მიგრაცია ეწოდება. ამ დროს ჰოლიდეის სტრუქტურის ცენტრიდან (გადაჯვარედინების წერტილი) მიმდინარეობს საწყისი დუპლექსების გახსნა კომპლემენტარულ ნუკლეოტიდებს შორის წყალბადური ბმების რღვევის გამო. გამოთავისუფლებული ჯაჭვები მყისიერად უკავშირდებიან ჰომოლოგიური დუპლექსების კომპლემენტურ ჯაჭვებს.

ვ) ზ) წარმოიქმნება საკმაოდ გრძელი ჰეტეროდუპლექსური უბნები. მაგალითად, საფუვრებში მათი სიგრძე 1000 ნ.წ.-ს შეადგენს. სომატურ უჯრედებსა და პროკარიოტულ უჯრედებში ჰეტეროდუპლექსური უბნები კიდევ უფრო გრძელია.

ჰეტეროდუპლექსების ჩამოყალიბებით სრულდება ჰოლიდეის სტრუქტურის ფორმირება. წარმოიქმნება რთული განშტოებული სტრუქტურა, რომელიც ჰომოლოგებად უნდა დაიყოს. ამ პროცესს ჰოლიდეის სტრუქტურის (ან ნახევარქიაზმების) გადაწყვეტა ეწოდება.

ჰოლიდეის სტრუქტურის გადაწყვეტა:

თ) ი) ჰოლიდეის სტრუქტურა განიცდის იზომერიზაციას. ერთ-ერთი ქიაზმა გადაჯვარედინების მიმართ 180^0-ით შემობრუნდება;

კ) ამის შემდეგ უნდა განხორციელდეს ჯაჭვების კიდევ ერთი გაკვეთა, რომელიც დაასრულებს ჯაჭვების გაცვლის პროცესს:

1) თუ მიღებული იზომერის იმ ჯაჭვების (ჰორიზონტალური) გაკვეთა მოხდა, რომლებმაც უკვე განიცადეს გარდაქმნები (პირველადი გაკვეთა ამ ჯაჭვებში განხორციელდა), მიღებული მოლეკულები არ იქნება რეკომბინანტული დედისეული მარკერების მიმართ, მაგრამ ორივეს ექნება ჰეტეროდუპლექსური მონაკვეთი;

2) თუ გაიკვეთა დნმ-ის ინტაქტური მოლეკულები (ვერტიკალური გაკვეთა), ანუ ისინი, რომლებიც რეკომბინაციის ინიციაციაში არ მონაწილეობდნენ, მიიღება დედისეული მარკერების მიმართ რეკომბინანტული დნმ-ის ორი მოლეკულა.



ჰოლიდეის სტრუქტურის
ელექტრონული მიკროფოტო

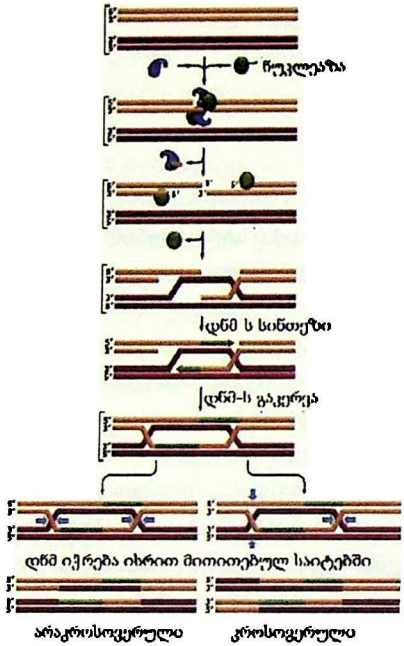
რეკომბინაციის ჰოლიდეის მოდელი რეკომბინაციის ყველაზე მარტივი სქემაა, მაგრამ მისი საკვანძო საკითხები საფუძვლად უდევს რეკომბინაციის სხვა სქემებს. მაგალითად, მე-20 საუკუნის 70-იან წლებში შემოთავაზებულ მესელსონ-რედინგის მოდელს, რომელიც დნმ-ის ჯაჭვების ასიმეტრიულ გაცვლას ეყრდნობა. მათ მოახდინეს ჰოლიდეის სტრუქტურის მოდიფიცირება რეკომბინაციის ისეთი ტიპისთვის, როცა ჰეტეროდუპლექსი ყალიბდება დნმ-ის მხოლოდ ერთ ჯაჭვზე.

შოსტაკის (ორჯაჭვიანი წყვეტისა და რეპარაციის) მოდელი

1983 წ. *ჯეკ შოსტაკის (Jack Szostak)* მიერ შემოთავაზებულ იქნა რეკომბინაციის კლასიკური მოდელისაგან განსხვავებული სქემა, რომელიც დნმ-ის ორჯაჭვიანი წყვეტა-შეერთების პრინციპით ხდება.

შოსტაკის მოდელის საფუძველს წარმოადგენს საფუვრების რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმები. ამ სტრუქტურის თანახმად, რეკომბინაციის ინიციაციას იწვევს დნმ-ის ორი ჯაჭვის ერთდროული გაწყვეტა. აღსანიშნავია, რომ ქრომოსომის ორივე ჯაჭვის დაზიანება ცოცხალ სამყაროში ძალიან საშიშ მოვლენად ითვლება, რადგან რეპარაციის გარეშე ასეთი დაზიანებები გენეტიკურ არასტაბილურობას და უჯრედის დაღუპვას იწვევს. მიუხედავად ამისა, დნმ-ის ორივე ჯაჭვის გაწყვეტა ცოცხალ ორგანიზმებში საკმაოდ ხშირად ხდება, საფუვრებში კი მეიოზური რეკომბინაციის საფუძველს შეადგენს.

ამ მოდელის თანახმად, რეკომბინაციის პროცესი რამდენიმე ეტაპს მოიცავს (სურ. 5.35):



სურ. 5.35. ჰომოლოგიური რეკომბინაციის ორჯაჭვიანი წყვეტა-შეერთების შოსტაკის მოდელი

- თავდაპირველად ხდება ორი ჰომოლოგიური ქრომოსომიდან ერთ-ერთი დუპლექსის ორივე ჯაჭვის (დისეული ქრომატიდების) წყვეტა;
- ეგზონუკლეაზების ზემოქმედებით დნმ-ის გაწყვეტილი მონაკვეთების ნაწილობრივი ჰიდროლიზის შედეგად ყალიბდება გამოშვერილი 3'-ბოლოები;
- ერთ-ერთი ასეთი ჯაჭვი ურთიერთქმედებს ინტაქტური დნმ-დუპლექსის კომპლემენტურ ჯაჭვთან (არადისეულ ქრომატიდთან) და ჩაანაცვლებს მასში იდენტურ მონაკვეთს, რომელიც, თავის მხრივ, ჰეტეროდუპლექსს წარმოქმნის მეორე გაკვეთილი ჯაჭვის შესაბამის უბანთან. გაწყვილების უბანი თანდათან იზრდება - ინვაზირებული მონაკვეთის 3'-ბოლოზე დნმ-პოლიმერაზა აწარმოებს ნუკლეოტიდების მიერთებას და აღადგენს დაკარგულ ინფორმაციას. მატრიცის ფუნქციას ამ დროს ინტაქტური დნმ-ის ჯაჭვები ასრულებს;

- ამ პროცესების შედეგად წარმოიქმნება შუალედური პროდუქტი, რომელიც ორჯაჭვიანი განაკვეთის ორივე ბოლოზე ჰოლიდეის ნახევარ-ქიაზმებს შეიცავს (ორმაგი ჰოლიდეის სტრუქტურა - ორი სპირალი ერთმანეთთან ორჯერ გადაჯვარედინებული ჯაჭვით არის დაკავშირებული) და ამავე დროს მის შედგენილობაში არის ორი ჰეტეროდუპლექსური მონაკვეთი.
- ამის შემდეგ ხდება სტრუქტურის გადაწყვეტა - ფერმენტ რეზოლვაზას ზემოქმედებით და მიიღება რეკომბინაციის საბოლოო პროდუქტები - კროსოვერული (რეკომბინანტული) ან არაკროსოვერული (არარეკომბინანტული) დუპლექსები.

ამ მოდელის ძირითადი ეტაპები ექსპერიმენტულად არის დადასტურებული. 1994 წელს ამერიკელ მეცნიერთა ჯგუფის მიერ საფუვრის მეიოზური უჯრედებიდან გამოყოფილი იქნა ჰოლიდეის ნახევარ-ქიაზმებით დაკავშირებული ორი ჰომოლოგიური დუპლექსისაგან შემდგარი სტრუქტურა. სხვადასხვა მეცნიერის მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ სპეციფიკური ორჯაჭვიანი გაწყვეტა დაკავშირებულია მეიოზური რეკომბინაციის ცხელ წერტილებთან. მიუხედავად ამისა, ორმაგჯაჭვიანი გაწყვეტით მიმდინარე რეკომბინაციის დეტალები ჯერ კიდევ დაზუსტებას საჭიროებს. ის დადასტურებელია მხოლოდ საფუვრებისთვის.

ჰომოლოგიური რეკომბინაციის ფერმენტები

ჰომოლოგიური რეკომბინაციის ფერმენტები ყველაზე უკეთ *E.coli*-ს უჯრედებშია შესწავლილი. ამდენად, მათ ფუნქციას სწორედ *E.coli*-ს უჯრედებში მიმდინარე რეკომბინაციული პროცესების მაგალითზე განიხილავენ (სურ. 5.36).

ჰომოლოგიური რეკომბინაციის პროცესების საკვანძო ფერნეტებად RecA, RecBCD, RuvA, RuvB და RunC ცილები ითვლება.

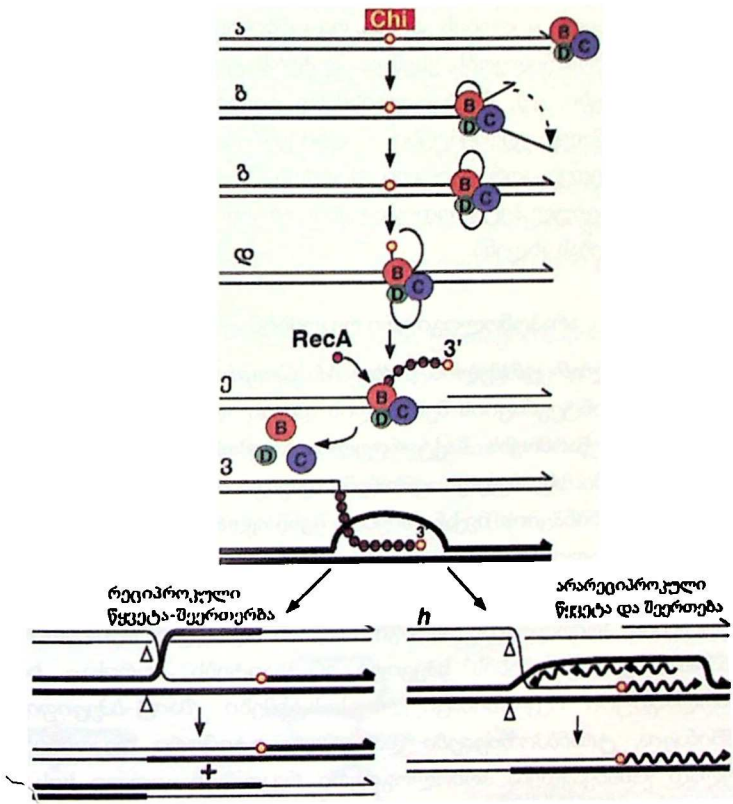
RecA ცილა წარმოადგენს *recA* გენის მცირე ზომის (38 კდალტონი) ცილოვან პროდუქტს, რომელიც, გარდა რეკომბინაციისა, დნმ-ის რეპლიკაციისა და რეპარაციის პროცესებსაც აკატალიზებს. რეკომბინაციის რეაქციების დროს მის მთავარ დანიშნულებას ერთჯაჭვიანი დნმ-ის ჰომოლოგიურ დუპლექსთან დაკავშირება წარმოადგენს და თავისი ფუნქციის შესასრულებლად ატფ-ის ჰიდროლიზით გამოთავისუფლებულ ენერგიას

იყენებს. RecA ცილას აქვს დნმ-ის დაკავშირების ორი საიტი, რის გამოც მას შეუძლია ერთდროულად დაუკავშირდეს დნმ-ის ერთ ჯაჭვს და ორმაგ სპირალს. ეს მას საშუალებას აძლევს, დნმ-ის სპირალსა და ერთჯაჭვიანი დნმ-ის ჰომოლოგიურ უბანს შორის სინაფსის წარმოქმნის რეაქციის კატალიზი განახორციელოს. RecA კოოპერაციულად უკავშირდება ერთჯაჭვიან დნმ-ს და მის ირგვლივ მარჯვნივდახვეულ ცილოვან სპირალს ქმნის. წარმოიქმნება RecA-დნმ ფილამენტი. ასეთი სტრუქტურა აადვილებს ერთი ჯაჭვის დაწყვილებას დნმ-ის ჰომოლოგიურ დუპლექსთან. ჯაჭვების მიმოცვლით ყალიბდება ჰეტეროდუპლექსი.

RecA ცილის მონაწილეობა *in vitro* პირობებში დაფიქსირდა რეკომბინაციული პროცესების შემდეგ ეტაპებზეც. აღმოჩნდა, რომ ის აკატალიზებს შტოს მიგრაციის რეაქციებსაც. ამრიგად, *in vitro* პირობებში RecA ცილას შეუძლია მონაწილეობა მიიღოს ჰომოლოგების პოვნის, სინაფსის სტრუქტურის, ჰეტეროდუპლექსის ჩამოყალიბებისა და ჯაჭვების მიმოცვლის რეაქციებში. ამ რეაქციების სტიმულირება SSB-ცილებით ხდება, რომლებიც დნმ-ის ერთჯაჭვიანი სტრუქტურის გაშლას განაპირობებს.

RecBCD კომპლექსური ცილაა, რომელსაც მრავალგვარი აქტივობა აქვს (ეგზო- და ენდონუკლეაზური, ჰელიკაზური და ა.შ.). თავისი ფუნქციის განხორციელებისთვის ის უკავშირდება დნმ-ის ორჯაჭვიან ნაწყვეტებს და გადაამუშავებს მათ რეკომბინაციის სუბსტრატად RecA-ცილისთვის. რეკომბინაციის საწყის სტადიაზე ფერმენტი უკავშირდება დნმ-ის დუპლექსს და იწყებს მის გახსნას. რეაქცია ასიმეტრიულია. ის 3'-ბოლოს ისეთნაირად იკავებს, რომ დაახლოებით 1000 ნუკლეოტიდიანი სიგრძის ერთჯაჭვიან მარყუჟს წარმოქმნის. ამ დროს 5'-ბოლო გამოშვერილი რჩება. RecBCD-ცილა, მოძრაობს რა დნმ დუპლექსზე, მას თან მიაქვს მარყუჟი, ხოლო გადაადგილებისთვის ის ატფ-ის ჰიდროლიზით გამოთავისუფლებულ ენერგიას იყენებს. ფერმენტი დნმ-დუპლექსზე მოძრაობას აგრძელებს მანამ, ვიდრე არ შეხვდება სპეციფიკური χ (chi) საიტი. ამ სპეციფიკური საიტის 3'-ბოლოდან 4-6 ნუკლეოტიდის დაცილებით, ის კვეთს დნმ-ის ჯაჭვს (რაც ადასტურებს ჰოლიდეის პოსტულატს, რომ პირველადი რეკომბინაციული გაკვეთა სპეციფიკურ თანამიმდევრობებში ხდება). დუპლექსის შემდეგი გახსნა ერთჯაჭვიანი რეკომბინანტული დნმ-ის გამოდევნას იწვევს, რომელიც უკავშირდება RecA-ცი-

ლას. ეს უკანასკნელი აგრძელებს რეკომბინაციულ გარდაქმნებს, რომელსაც ნახევარქიაზმების ფორმირებამდე მივყავართ. ფიქრობენ, რომ ამით სრულდება RecBCD და RecA-ცილების მონაწილეობა რეკომბინაციის პროცესში. ამის შემდეგ დნმ-პოლიმერაზა ჯაჭვებში არსებული ღიობებს ამოავსებს, ხოლო დნმ-ლიგაზა გაკერავს მას.



სურ. 5.36. რეკომბინაციის ფერმენტული აპარატი.
RecBCD კომპლექსი უკავშირდება დნმ-ის მოლეკულას (ა), წარმოიქმნება მარყუჟი(ბ), რომელიც მოძრაობს დნმ-დუპლექსზე (გ), ვიდრე არ შეხვდება chi საიტი (დ), აქ ჭრის დნმ-ის ჯაჭვს (ე) და გამოიდევნება რეკომბინანტული დნმ-ის ჯაჭვი (ვ).

რეკომბინაციის შემდეგ ეტაპებს - შტოს გადაადგილებასა და ნახევარქიაზმების გადაწყვეტის რეაქციებს - რეკომბინაციის სხვა ცილები - RuvA, RuvB и RuvC აკატალიზებს. RuvA და RuvB აყალიბებს ჰელიკაზური აქტივობის კომპლექსს, რომელიც ასტიმულირებს განშტოების ინტენსიურ მიგრაციას. RuvC ენდონუკლეაზური აქტივობა კი გადამწყვეტ როლს თამაშობს ჰოლიდეის ნახევარქიაზმების დაშლის რეაქციებში.

ზემოთ აღწერილი ცილების გარდა, რეკომბინაციის პროცესებში მრავალი სხვა ცილა მონაწილეობს. ესენია: ალტერნატიული რეკომბინაციის პროცესების ცილები, ე.წ. RecA-ს დამხმარე ცილები და დნმ-ის მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტები - დნმ-გირაზა, დნმ-პოლიმერაზა, დნმ-ლიგაზა. აგრეთვე, კორექციული აქტივობის ცილების ჯგუფი, რომლებიც რეკომბინაციულ ჰეტეროდუპლექსში არასწორად გაწყვილებული ფუძეების შესწორებას ახდენს.

არაჰომოლოგიური რეკომბინაცია

1962 წელს *ალან კემპბელის (Allan M. Campbell)* მიერ ბაქტერიულ გენომში ფაგ-λ-ს ინტეგრაციის შესწავლის დროს აღმოაჩნდა, რომ ფაგის გენომის ჩართვა წარმოებს ბაქტერიული ქრომოსომის მკაცრად განსაზღვრულ საიტში. სწორედ ეს აღმოჩენა დაედო საფუძვლად არაჰომოლოგიური რეკომბინაციის მექანიზმების შესწავლას. მრავალრიცხოვანი გამოკვლევების საფუძველზე დადგინდა, რომ არაჰომოლოგიური რეკომბინაცია არ მოითხოვს რეკომბინაციის პროცესში მონაწილე დნმ-ის მოლეკულების ჰომოლოგიას ან იგი ძალიან შეზღუდული ჰომოლოგიური თანამიმდევრობების სპეციფიკურ საიტებს შორისაც ხდება. არაჰომოლოგიური რეკომბინაციული სისტემები *(საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია, ტრანსპოზიციები და არალეგიტიმური რეკომბინაცია)* ძირეულად განსხვავდება ჰომოლოგიური რეკომბინაციული სისტემის მოლეკულური მექანიზმებისაგან. მისი ბიოლოგიური მნიშვნელობა მდგომარეობს გენეტიკური მასალის ევოლუციურ განვითარებასა და, განსაკუთრებით, გენომების ბიოლოგიურად სასარგებლო ონტოგენეტიკურ გარდაქმნებში.

საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია

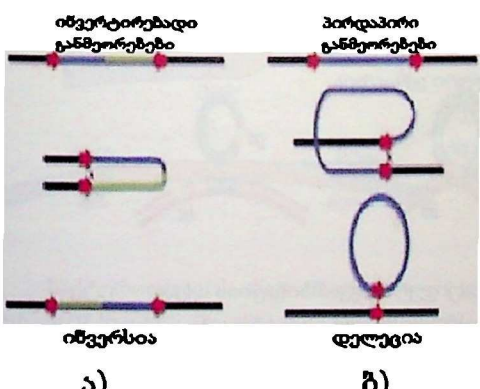
რეკომბინაციის ეს სისტემა განსაკუთრებით ფართოდაა გავრცელებული პროკარიოტებსა და უდაბლეს ევკარიოტებში, იშვიათად, უმაღლეს ევკარიოტებშიც გვხვდება. ხერხემლიან ცხოველებში საიტსპეციფიკური რეკომბინაციის ცნობილ მაგალითს წარმოადგენს იმუნოგლობულინების მაკოდირებელი დნმ-ის თანამიმდევრობების გარდაქმნები.

საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის აუცილებელ პირობად რეკომბინირებადი დნმ-ის მოლეკულებში ჰომოლოგიის მოკლე (დაახლოებით 15-30 ნ.წ.), სპეციფიკური უბნების არსებობა ითვლება. ამ პროცესში ჰომოლოგიური საიტების შეცნობასა და გენეტიკური ინფორმაციის გაცვლას აკატალიზებს სპეციფიკური ფერმენტები - რეკომბინაზები. ეს ფერმენტები ორ ძირითად ჯგუფად იყოფა: ტოპოიზომერაზები და რეზოლვაზები.

საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის შედეგად ორი ტიპის პროდუქტი მიიღება (სურ. 5.37):

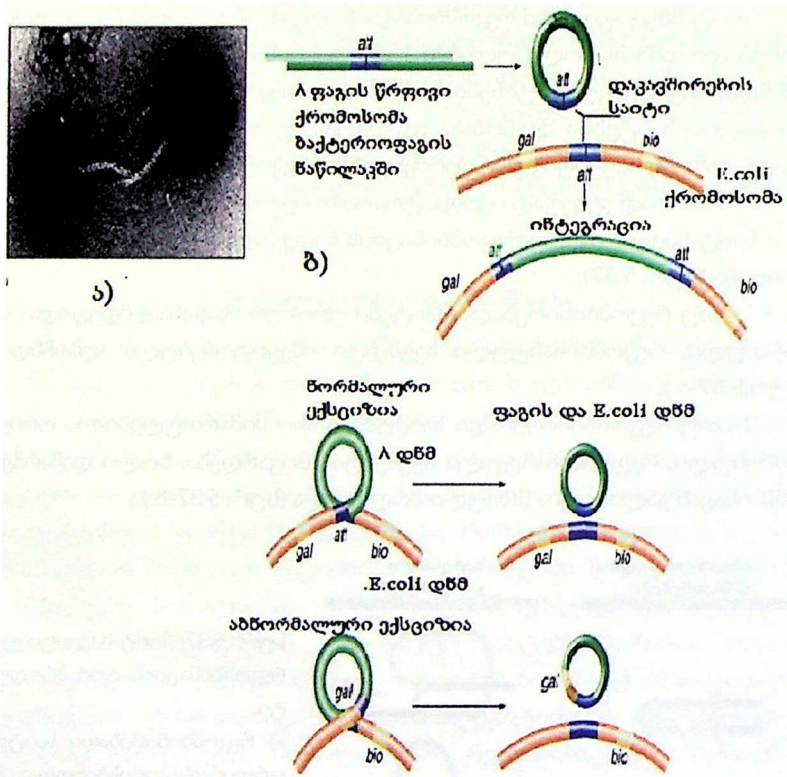
1) თუ რეკომბინირებადი საიტები ურთიერთსაწინააღმდეგოდაა მიმართული, რეკომბინანტული სეგმენტი ინვერტირებული აღმოჩნდება (სურ.5.37-ა.);

2) თუ რეკომბინირებადი საიტები ერთი მიმართულებითაა ორიენტირებული, რეკომბინანტული სეგმენტი ამოვარდება, ხოლო დანარჩენი დნმ-ისაგან ყალიბდება წრიული მოლეკულა (სურ. 5.37-ბ.).



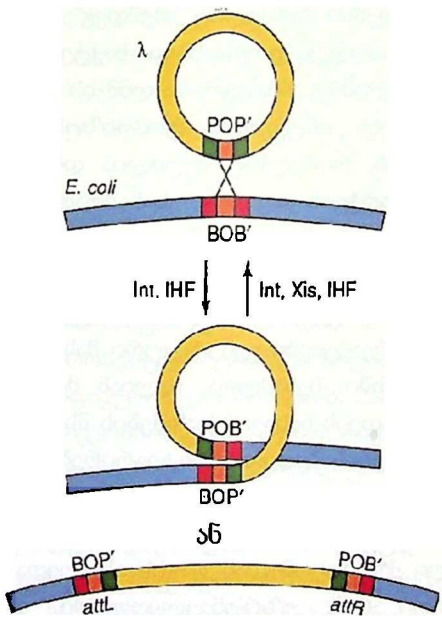
სურ. 5.37. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის ორი პროდუქტი.
ა) რეკომბინირებადი საიტები ურთიერთსაპირისპიროდაა მიმართული;
ბ) რეკომბინირებადი საიტები ერთი მიმართულებით არიან ორიენტირებული.

საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის მოლეკულური მექანიზმები ყველაზე უკეთ შესწავლილია λ-ფაგის *E.coli*-ს წრიულ ქრომოსომაში ინტეგრაციის მაგალითზე. ბაქტერიის უჯრედში ინფექციის შემდეგ ფაგის წრფივი, ორჯაჭვიანი დნმ ბოლოებზე არსებული კომპლემენტური თანამიმდევრობების (წებვადი ბოლოების) მეშვეობით იკვრება და წრიულ მოლეკულად გარდაიქმნება (სურ. 5.38).



სურ. 5. 38. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის სქემა.
λ-ფაგის *E.coli*-ის ქრომოსომაში ინტეგრაცია:
ა) ელექტრომიკროსკოპული სურათი და ბ) სქემა

ამ ორი ორგანიზმის გენომების ინტეგრაცია ქრომოსომისა და ფაგის ერთი და იმავე att (ინგლ. Attacment-მიმაგრება) საიტების რეკომბინაციის გზით ხდება. *E.coli*-ს გენომისთვის ის აღინიშნება, როგორც attB და ლოკალიზებულია gal (galactose) და bio (biotin) ოპერონებს შორის და დაახლოებით 30 წ.წ. სიგრძის მონაკვეთს წარმოადგენს. ამ საიტის სტრუქტურაში შედის სულ 15 წ.წ. სიგრძის ცენტრალური მონაკვეთი. სწორედ ის ღებულობს მონაწილეობას რეკომბინაციულ გარდაქმნებში. *E.coli*-ს რეკომბინაციული საიტი სტანდარტულად აღინიშნება, როგორც BOB' საიტი, სადაც B და B' ცენტრალური ელემენტის საპირისპირო ბოლოებს წარმოადგენს (სურ. 5.39).



სურ. 5.39. რეკომბინაციული საიტის სტრუქტურა.
ინტეგრირებული პროფაგის გენეტიკური მასალა ფლანგირებული BOP' და POB' სტრუქტურებით; Int,HTF, Xis - ინტეგრაციის წარმმართველი ცილები

ბაქტერიოფაგის რეკომბინაციული საიტი აღინიშნება, როგორც attP. მას, attB საიტის მსგავსად, აქვს იგივე ზომის ცენტრალური მონაკვეთი - POP'. attP-უბანი უფრო რთულადაა მოწყობილი, ვიდრე ბაქტერიის შესაბამისი საიტი (attB). მას ორივე ფლანგზე სპეციფიკური თანამიმდევრობები აქვს, რომლებიც რეკომბინაციული ცილების დაკავშირების

საიტებია და, ამდენად, რეკომბინაციული სტრუქტურის მნიშვნელოვან ელემენტებს წარმოადგენს. ამ უბნის P-მხარი 150 ნუკლეოტიდური წყვილისაგან შედგება, ხოლო P'-მხარი - 90 ნუკლეოტიდური წყვილისგან. სულ რეკომბინაციულ გარდაქმნებში დაახლოებით 240 ნ.წ. სიგრძის მონაკვეთი მონაწილეობს. როგორც ვხედავთ, ფაგისა და ბაქტერიის რეკომბინაციული საიტების ცენტრალური ნაწილი სრულად ჰომოლოგიურია, ხოლო კიდურა უბნები კი განსხვავებული. ინტეგრაციის პროცესს წარმართავს ფაგის *int*-გენის პროდუქტი ინტეგრაზა და ბაქტერიის IHF (ინგლ. Integration Host Factor - ინტეგრაციის მასპინძელი) ფაქტორი.

ინტეგრაზის attP-საიტს უკავშირდება IHF, რომელიც წარმოქმნის რთულ, ნუკლეოპროტეინულ კომპლექსს, რომელიც შემდეგ attB-საიტთან ამყარებს კავშირს. ამ პროცესის შედეგად ფაგისა და ბაქტერიის დნმ ერთმანეთს უახლოვდება. შემდეგ ეტაპზე, ინტეგრაზა დნმ-ის გაწყვეტა-შეერთების რეაქციებს აკატალიზებს. ინტეგრაზა ტოპოიზომერაზული აქტივობის ცილას წარმოადგენს, რომელსაც შეუძლია დნმ-ის ორსპირალიანი სუპერხვეულის ერთი ჯაჭვის გაკვეთა. ეს საშუალებას იძლევა, სუპერხვეულების თავისუფალი ბრუნვა და განცალკევება განხორციელდეს. ამავდროულად, ინტეგრაზა დნმ-ის მოლეკულაში კოვალენტურ კავშირს იმავე ადგილებში აღადგენს, სადაც მათი გაკვეთა მოხდა. ჯაჭვების გაწყვეტა-შეერთების რეაქციები გენეტიკური მასალის რეკომბინაციით სრულდება. ამ პროცესში, შესაძლოა, ძალიან მოკლე დუპლექსური უბნების შემცველი ჰოლიდეის ნახევარქიაზმების მსგავსი სტრუქტურა ჩამოყალიბდეს. რეკომბინაციის შედეგად ინტეგრირებული პროფაგის გენეტიკური მასალის მარცხენა ფლანგზე BOP-სტრუქტურა, ხოლო მარჯვენა ფლანგზე - BOP'-სტრუქტურა აღმოჩნდება (სურ. 5.39).

აღსანიშნავია, რომ ბაქტერიული ქრომოსომიდან ფაგის ამოკვეთაც საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციით არის უზრუნველყოფილი. ამ პროცესებს, ინტეგრაციის დროს მოქმედი ფერმენტების გარდა, λ-ფაგის *xis-გენის* პროდუქტი - ექსცისაზა აკატალიზებს.

როგორც ვხედავთ, საიტ-სპეციფიკური (არაჰომოლოგიური) რეკომბინაციის დროს სინაფსების ჩამოყალიბებისთვის რეკომბინაციულ საიტებთან დაკავშირებული ცილების ურთიერთშეცნობა ხდება. რეკომბინაციული საიტები ძალიან მოკლე უბნებითაა წარმოდგენილი და მათი

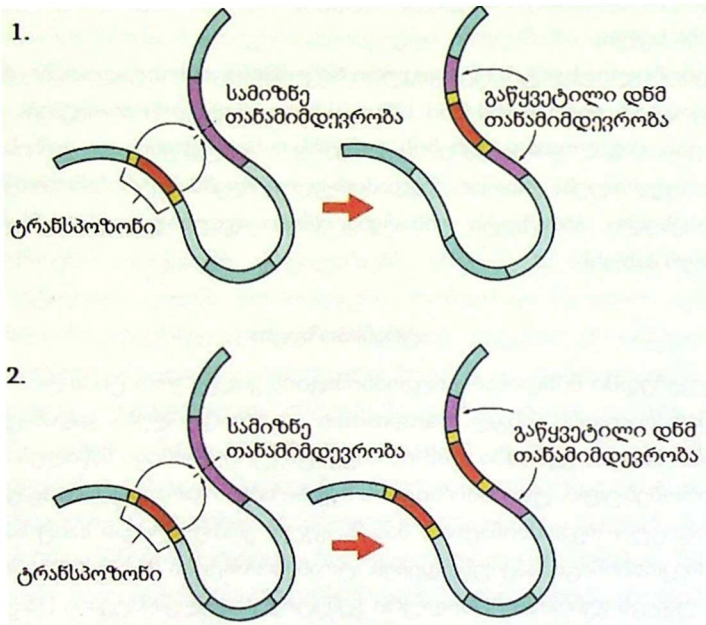
ჰომოლოგია უშუალოდ სინაფსის დროს მნიშვნელოვანი არ არის, მაგრამ აუცილებელია სპეციფიკური ცილების დაკავშირებისა და რეკომბინაციულ საიტებს შორის ჯაჭვების გასაცვლელად. ამ თავისებურებებით საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია მნიშვნელოვნად განსხვავდება ჰომოლოგიური რეკომბინაციისაგან, რომელიც ერთჯაჭვიანი დნმ-ის ჰომოლოგიური უბნების ამოცნობას ეფუძნება. ეს დნმ-ის მოლეკულების პრესინაფსურ დაზიანებასა და ერთჯაჭვიანი უბნების გამოთავისუფლებას უწყობს ხელს.

ცნობილია საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის მაგალითები, რომლებიც ცოცხალ ორგანიზმებში სხვადასხვა გენეტიკურ პროცესებს აკონტროლებს. მაგალითად, გენების კონვერსია საფუვრებში და ფაზის ცვლილება (ცვლილება მთავარ ზედაპირულ ცილებში) ტრიპანოსომებში. ეს უკანასკნელი პარაზიტს ეხმარება, რათა დაუსხლტდეს ორგანიზმის იმუნურ პასუხს.

ტრანსპოზიცია

უჯრედში მიმდინარე რეკომბინაციის კიდევ ერთ ტიპს ტრანსპოზიცია წარმოადგენს (ინგლ. transposition – გადაადგილება, გადანაცვლება). ტრანსპოზიცია გენომში დნმ-ის სპეციფიკური მოძრავი ნაწილებით არის განპირობებული. ტრანსპოზიციის მექანიზმები გარკვეულად ჰგავს საიტ-სპეციფიკურ რეკომბინაციას, მას ზოგჯერ ერთეულოვან საიტ-სპეციფიკურ რეკომბინაციასაც უწოდებენ. ტრანსპოზიციის მექანიზმებს საფუძვლად უდევს გენომში მობილური გენეტიკური ელემენტების (IS ელემენტები და ტრანსპოზონები) გადაადგილების უნარი. მათ შეუძლიათ, გადაადგილდნენ დნმ-ის მოლეკულის ერთი უბნიდან მეორეზე, იმავე უჯრედის სხვა დნმ-ის მოლეკულაზე და ორგანიზმის სხვა უჯრედშიც კი. მობილური ელემენტები, პრაქტიკულად, ყველა ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში გვხვდება. ტრანსპოზირებადი ელემენტები დამოუკიდებლად არ არსებობს, ისინი ყოველთვის ქრომოსომური ან პლაზმიდური დნმ-ის ნაწილს წარმოადგენს. გადაადგილებისას ტრანსპოზირებადი ელემენტი ერთი საიტიდან მეორეზე გადაინაცვლებს, რაც საფუძვლად უდევს რეკომბინაციულ პროცესებს. რეკომბინაცია მობილურ ელემენტსა და სამიზნე დნმ-ს (რომელშიც ის იქნება გადატანილი) შორის დუპლექ-

სებში ხდება. ისევე, როგორც საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის დროს, აქ არ შეინიშნება პრესინაფსური დაზიანებები. რეკომბინაციის პროცესში ყოველთვის სპეციფიკურად ჩართულია ამ ელემენტის ბოლოები, ხოლო სამიზნე დნმ-ს ის რანდომულად უკავშირდება (აქ რაიმე ტიპის ჰომოლოგია დაფიქსირებული არ არის). ამიტომ ითვლება, რომ ტრანსპოზიცია ცალმხრივად საიტ-სპეციფიკურია, რადგან სპეციფიკურობა მხოლოდ



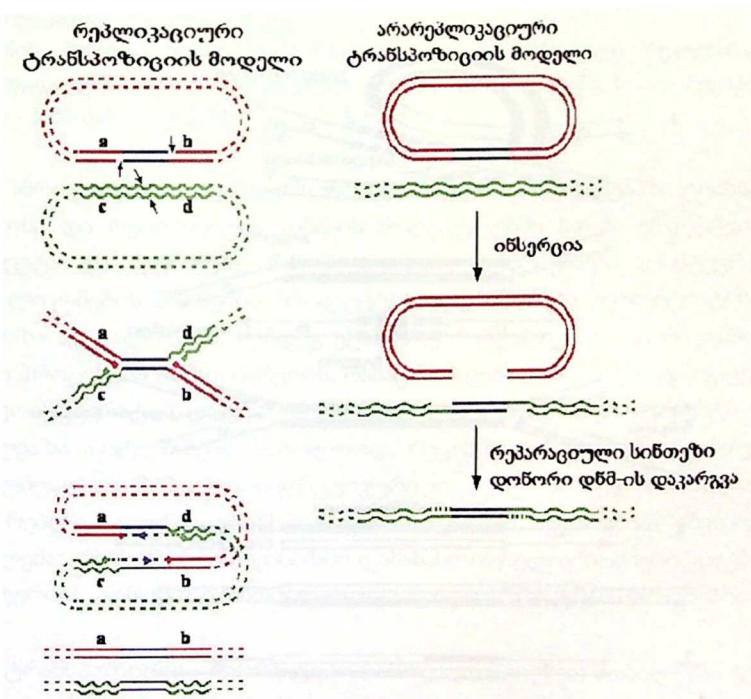
სურ. 5.40. ტრანსპოზიციის ორი მეთოდი:
1 - ამოჭრა და ჩაწებება (cut and paste); 2 - კოპირება და ჩაწებება (copy and paste)

ტრანსპოზირებადი ელემენტის მხრივ ვლინდება. ტრანსპოზონებს შეუძლია, რამდენიმე ალტერნატიულ სამიზნეს დაუკავშირდეს და ზოგჯერ გენები ისეთ ადგილას გადაიტანოს, სადაც მსგავსი ტიპის გენები მანამდე არ ფიქსირდებოდა. მაგალითად, ბაქტერიის უჯრედში ტრანსპოზირებად ელემენტს შეუძლია, იმოძრაოს ქრომოსომის შიგნით, პლაზმიდიდან ქრომოსომაზე ან პირიქით, ან კიდევ, პლაზმიდიდან - პლაზმიდზე. ამ

თვისების გამო მობილურ გენეტიკურ ელემენტებს არაფორმალურად „მხტუნავ გენებს“ უწოდებენ.

ტრანსპოზირებადი ელემენტის გადასვლა დნმ-ის ერთი უბნიდან მეორეზე, ზოგჯერ, „ამოჭრისა და ჩაწებების“ (ინგლ. cut-and-paste) პრინციპით მიმდინარეობს, ზოგჯერ - „კოპირებისა და ჩაწებების“ (ინგლ. copy and paste) პრინციპით. პირველ შემთხვევაში, მობილური ელემენტის ახალ საიტზე გადატანა ხდება, მეორე შემთხვევაში, რეპლიცირდება საწყის საიტზე და მიღებული ასლი გადაიტანება სამიზნე დნმ-ზე (სურ. 5.40).

განასხვავებენ ტრანსპოზიციის ორი ტიპის მოლეკულურ მექანიზმს - რეპლიკაციურ და არარეპლიკაციურ ტრანსპოზიციას (სურ. 5.41):

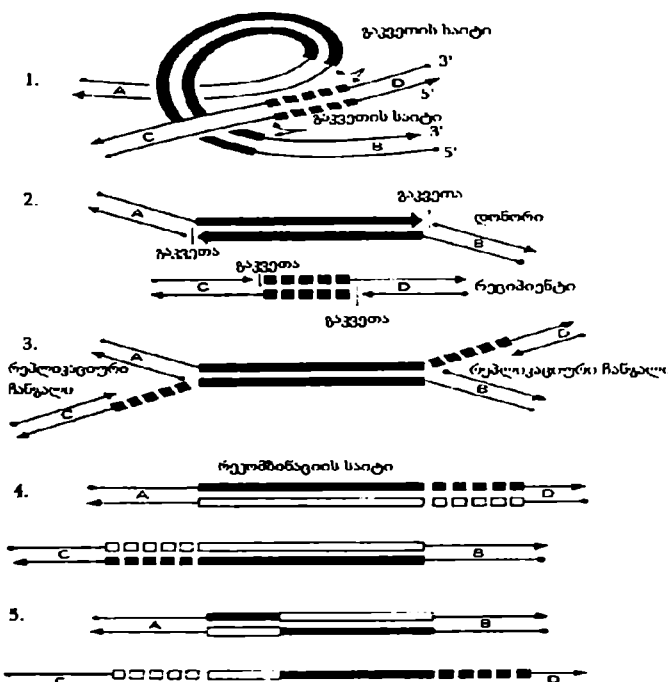


სურ. 5.41. ტრანსპოზიციის სქემა.
რეპლიკაციური (Shapiro,1979) და არარეპლიკაციური (Berg,1977) ტრანსპოზიცია

1) რეპლიკაციური ტრანსპოზიციის დროს ხდება ტრანსპოზიციური ელემენტების რეპლიცირება. ამ დროს ტრანსპოზონების რიცხვი იზრდება, ვინაიდან მათი ასლი გადაიტანება და ახალ საიტში ჩაერთვება ისე, რომ ძველ საიტზეც რჩება. ამ მექანიზმის განახორციელებას ტრანსპოზიციური ცილა-ფერმენტები - ტრანსპოზაზა (საწყისი ტრანსპოზონის ბოლოებთან ურთიერთქმედებს) და რეზოლვაზა (ურთიერთქმედებს შვილისეულ ასლთან) უზრუნველყოფენ;

2) არარეპლიკაციური ტრანსპოზიციის არსი ტრანსპოზონის ფიზიკურ გადაადგილებაში მდგომარეობს.

რეპლიკაციური ტრანსპოზიციის (შაპიროს მოდელი) თანამიმდევრობა ნაჩვენებია 5.42 სურათზე:



სურ. 5.42. რეპლიკაციური ტრანსპოზიციის (შაპიროს მოდელი) ეტაპები

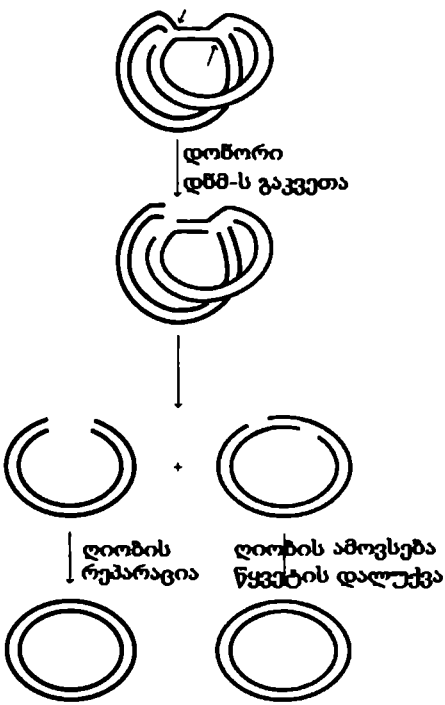
1. რეპლიკაციურ ტრანსპოზიციაში მონაწილეობს დონორი-ტრანსპოზონისა და რეციპიენტი-დნმ-ის საიტები;
2. მობილური გენეტიკური ელემენტის (ტრანსპოზონი/IS ელემენტი) დონორული ორჯაჭვიანი მოლეკულა იჭრება რესტრიქტაზებით. ასევე ხდება რეციპიენტის გაკვეთა საწინააღმდეგო მხრიდან;
3. გაკვეთის უბანში ტრანსპოზონის ბოლოები უკავშირდება რეციპიენტის დნმ-ის გამოშვერილ ბოლოებს. შედეგად ყალიბდება ორი რეპლიკაციური ჩანგალი თავისუფალი 3'OH-ბოლოებით. მიღებული კოინტეგრატის (რეპლიკონების შერწყმის პროდუქტი) სტრუქტურაში ჩართული ტრანსპოზონის ორივე მხარეს აღმოჩნდება რეციპიენტის დნმ-ის მცირე მონაკვეთები;
4. ორივე რეპლიკაციურ ჩანგალზე იწყება ტრანსპოზონის ნახევრადკონსერვატორული რეპლიკაცია. ამ პროცესს თან ახლავს რეციპიენტის დნმ-ის მონაკვეთების დუპლიკაცია;
5. ამის შემდეგ ხდება საიტ-სპეციფიკური რეციპროკული რეკომბინაცია. შედეგად, დნმ-დონორის მოლეკულა შეიცავს ტრანსპოზონს, ხოლო რეციპიენტისა - დნმ-ტრანსპოზონს.

ამრიგად, რეპლიკაციური ტრანსპოზიციის საწყის ეტაპზე ტრანსპოზონისა და რეციპიენტის დნმ-ის მოლეკულებში ხდება ერთჯაჭვიანი გაწყვეტა და შეერთება, რის შედეგადაც წარმოიქმნება კოინტეგრატი (რეპლიკონების შერწყმის პროდუქტი). ამ პროცესებს ფერმენტი ტრანსპოზაზა აკატალიზებს. შემდეგ ეტაპებზე რეპლიკაციისა და რეკომბინაციის პროცესები მიმდინარეობს, რასაც მოჰყვება დნმ-ის უბნების გაცვლა და კოინტეგრატის დაშლა. ამ პროცესების აქტივაციას კი ფერმენტი რეზოლვაზა აკატლიზებს. საბოლოოდ, რეციპიენტის გენომში ჩაერთვება არა უშუალოდ მობილური გენეტიკური ელემენტი, არამედ მისი ასლი.

რეპლიკაციური ტრანსპოზიციები გენომში შედარებით იშვიათად მოვლენაა. აღნიშნული მექანიზმი დამახასიათებელია ზომიერი ფაგებისა (ბაქტერიის გენომთან ასოცირებული ფაგები) და ტრანსპოზონებისათვის.

ტრანსპოზიციის მეორე ტიპი (არარეპლიკაციური) მობილური გენეტიკური ელემენტების ფიზიკურ გადაადგილებას გულისხმობს (სურ. 5.43.). ამ მექანიზმის მიხედვით, ფერმენტი რეციპიენტისა და ტრანსპოზონის დნმ-ის ორჯაჭვიან საფეხურებრივ კვეთას ახორციელებს, ხოლო

შემდეგ მობილური ელემენტები ქრომოსომის ბოლოებს უერთდება. ამ დროს ტრანსპოზონის ბოლოებზე ერთჯაჭვიანი ფლანგირებული თანამიმდევრობები წარმოიქმნება, რომლებიც მატრიცის როლს ასრულებენ წყვეტისას წარმოქმნილი ღიობის შესავსებად. არარეპლიკაციური მექანიზმი დამახასიათებელია ბაქტერიის მობილური ელემენტების უმრავლესობისა და მოკლე, მიმართული ბოლოების მქონე ევკარიოტული ტრანსპოზონებისათვის.



სურ. 5.43. არარეპლიკაციური ტრანსპოზიციის ეტაპები

არალეგიტიმური რეკომბინაცია

არალეგიტიმური (ინგლ. Illegitimate - არაკანონიერი) რეკომბინაციის ცნება *ნაომი ფრანკლინის (Naomi Franklin)* მიერ იქნა შემოღებული. რეკომბინაციის ეს ტიპი არ მოითხოვს არც ჰომოლოგიას დნმ-ის მოლე-

კულებს შორის და არც რაიმე ტიპის სპეციფიკური საიტების არსებობას. ამიტომ აქ არ ვრცელდება საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის და ტრანსპოზიციის კანონზომიერებები. მისი მექანიზმები სადღეისოდ ნაკლებადაა შესწავლილი, მაგრამ ცნობილია, რომ დამახასიათებელ თავისებურებას დნმ-ის არაჰომოლოგიური ბოლოების შეერთება წარმოადგენს. დნმ-დუპლექსის გაკვეთილი ბოლოები რეკომბინირდება სხვა დუპლექსთან ჰომოლოგიის გარეშე და იწვევს დნმ-ის ორჯაჭვიანი წყვეტის რეპარაციას. ამის გამო ეს მექანიზმი მნიშვნელოვანია ორგანიზმის გადარჩენისათვის.

რეკომბინაციის მექანიზმების შესწავლის მიზნით, ამფიბიებსა და ძუძუმწოვრებში ჩატარებული კვლევების საფუძველზე აღმოჩენილ იქნა ფერმენტები, რომლებსაც დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულების ბოლოებთან შეუძლია დაკავშირება. მოგვიანებით, თაგვებზე ჩატარებული ცდებით გამოვლინდა მაიონიზებელი გამოსხივების მიმართ მგრძნობიარე მუტანტები. ნორმალურ უჯრედში დასხივების შედეგად წარმოქმნილი ორჯაჭვიანი დაზიანებების აღდგენა რეპარაციული სისტემის საშუალებით ხდება. მუტანტებს ეს უნარი დარღვეული ჰქონდათ, რაც იმაზე მიუთითებდა, რომ საცდელი ცხოველების უჯრედებში ვერ ხერხდებოდა არაჰომოლოგიური ორჯაჭვიანი დნმ-ის მოლეკულების ბოლოების შეერთება. ამავე დროს, მათ უჯრედებში არ მუშაობდა იმუნოგლობულინების მაკოდირებელი დნმ-ის თანამიმდევრობების რეკომბინაციული მექანიზმები. ამ ცდებით დადგინდა, რომ იმუნოგლობულინების რეკომბინაციული გარდაქმნების გვიან ეტაპებზე (ცნობილია, რომ ადრეულ ეტაპზე რეკომბინაცია საიტ-სპეციფიკური მექანიზმით ხდება) არალეგიტიმური რეკომბინაციის მექანიზმები მონაწილეობს. მეტიც, გამოვლენილ იქნა ამ პროცესებზე პასუხისმგებელი ფერმენტი - დნმ-დამოკიდებული პროტეოკინაზა. ფერმენტი აკატალიზებს დნმ-ბოლოების შეერთებას ჰომოლოგობის გარეშე. რადიომგრძნობიარე მუტანტების პროტეოკინაზები დეფექტური აღმოჩნდა. არალეგიტიმური რეკომბინაციის უნარის შემცირება ზოგჯერ დაავადების გამომწვევი მიზეზი ხდება. მაგალითად, რეკომბინაციის მექანიზმის მოშლა, რომელიც აქტიური იმუნოგლობულინების გენების აწყობაში მონაწილეობს ადამიანში, ე. წ. კომბინირებულ იმუნოდეფიციტურ დაავადებას იწვევს.

მაშასადამე, არალეგიტიმური რეკომბინაციის ინიციირების წყაროს წარმოადგენს დნმ-ის ორივე ჯაჭვის წყვეტა. ასეთი ტიპის დაზიანებები უჯრედში, შესაძლოა, წარმოიქმნას ტრანსკრიფციის, რეპლიკაციისა და რეპარაციის დროს. ნათელია, რომ არაჰომოლოგიური ბოლოების შეერთებით ქრომოსომების შემთხვევითი ინტეგრაცია შეიძლება, ახალი მუტაციების წყარო გახდეს ან მოშალოს გენის ფუნქციური რეგულაცია. ეს საკითხი გენური თერაპიის ერთ-ერთ დამაბრკოლებელ მიზეზად ითვლება, ვინაიდან გენეტიკური პრობლემის მოგვარების მიზნით განხორციელებული გენის ჩანერგვა ახალი პრობლემის მიზეზი შეიძლება გახდეს.

რეკომბინაციის ბიოლოგიური მნიშვნელობა

ჰომოლოგიური და არაჰომოლოგიური რეკომბინაციის მოლეკულურ-ბიოლოგიური მექანიზმების განხილვის შემდეგ, შეგვიძლია, შევაფასოთ მისი მნიშვნელობა უჯრედში მიმდინარე პროცესებისთვის. უპირველესად, რეკომბინაციული გარდაქმნები აუცილებელია, როცა - დნმ-ის ორივე ჯაჭვის დაზიანების დროს არსებობს გენეტიკური ინფორმაციის დაკარგვის საშიშროება. ამ დროს განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი ჰომოლოგიური რეკომბინაციული პროცესებია. მეორე, რეკომბინაციული პროცესები გენეტიკური მრავალფეროვნების შექმნას უწყობს ხელს. აქ არალეგიტიმური რეკომბინაციული პროცესები და მობილური გენეტიკური ელემენტების ტრანსპოზიციებია მნიშვნელოვანი.

ცოცხალ სამყაროში რეკომბინაციის ბიოლოგიური როლი, ზოგადად, ძალიან დიდია. რეკომბინაციით გამოწვეული გენეტიკური მრავალფეროვნება ხელს უწყობს ცოცხალი ორგანიზმების შეგუებას ცვალებად გარემო პირობებთან. გენეტიკური მასალის გადაჯგუფება იმდენად მნიშვნელოვანი აღმოჩნდა, რომ რეკომბინაციის მექანიზმები ყველა ცოცხალ უჯრედში ხორციელდება.

ეს მექანიზმები არანაკლებ მნიშვნელოვანია მემკვიდრეობითი მასალის იმ ონტოგენეტიკური გარდაქმნებისთვის, რომლებიც გენების ფუნქციონირების რეგულაციაში მონაწილეობს. მაგალითად, როგორიცაა, გენების კონვერსია (ჰეტეროდუპლექსის გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდების კორექცია). ამ დროს ადგილი აქვს გენეტიკური ინფორმაციის

არარეციპროკულ გადატანას ერთი ქრომატიდიდან მეორეზე. ცოცხალ უჯრედებში მრავლად არის გენები, რომლებიც გარკვეულ ლოკუსში განლაგებისას, ჩვეულებრივ, ექსპრესირდება და ასრულებს თავის გენეტიკურ ფუნქციას. როგორც წესი, მათი ფუნქციონირების რეგულაცია საკუთარი პრომოტორით ხდება. ამავდროულად, სხვა ლოკუსებში, შესაძლოა, იყოს მათი ჰომოლოგიური, მაგრამ გარკვეული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით განსხვავებული გენები. ასეთ გენებს არ გააჩნია საკუთარი პრომოტორი და არ ფუნქციონირებენ. ამ „მდუმარე" თანამიმდევრობებს შეუძლია, წარმოქმნას სინაფსები ფუნქციონირებად გენებთან და შეასრულოს მატრიცის ფუნქცია მისი კონვერსიისთვის. ამრიგად, ფუნქციონირებად გენს შეუძლია შეცვალოს თავისი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა.

რეკომბინაციის ყველა ბიოლოგიური ფუნქცია ბოლომდე ჯერ კიდევ არ არის შესწავლილი. ცნობილია, რომ რეკომბინაციული პროცესების შედეგად რეტროვირუსებს მასპინძელი ორგანიზმის უჯრედიდან შეუძლია წარიტაცონ ონკოგენები, მონაწილეობა მიიღონ იმუნოგლობულინების გენების ფორმირებაში. არალეგიტიმური რეკომბინაციის მექანიზმებით, შესაძლოა, უცხო დნმ-ის ჩანერგვა გენომში, რამაც პრაქტიკული გამოყენება პოვა გენურ თერაპიაში. გარდა ამისა, არაკორექტული ჰომოლოგიური რეკომბინაცია ადამიანში არაერთი დაავადების მიზეზი შეიძლება იყოს, რაც, ასევე, მიუთითებს მის მნიშვნელობაზე ორგანიზმის ცხოველქმედების პროცესებში.

კლინიკური კავშირები

არაკორექტული ჰომოლოგიური რეკომბინაცია ადამიანში სხვადასხვა დაავადების მიზეზს წარმოადგენს:

თირკმელზედა ჯირკვლების ქერქის თანდაყოლილი ჰიპერპლაზია. დაავადების მიზეზია გენის კონვერსიის შედეგად ჩამოყალიბებული სტეროიდ-21-ჰიდროქსილაზის (ფკ. 1.14.99.4) უკმარისობა. ფერმენტი 21-ჰიდროქსილაზა პროგესტერონის გარდაქმნებში მონაწილეობს. მის სინთეზს მე-6 ქრომოსომაში ლოკალიზებული გენი *cyp21 (cytochrome poliptade)* აკოდირებს. ადამიანის გენომში არსებობს მისი ფსევდოგენი *cyp21A.* აქტიურ *cyp21B* გენთან მაღალი ჰომოლოგიის გამო, რეკომბინაციის პრო-

ცესი, შესაძლოა, კონვერსიის - აქტიური გენის ნაწილის *cyp21B* ფსევდოგენზე გადატანის გზით წავიდეს ან მოხდეს *cyp21B* გენის დელეცია. გენომში აქტიური *cyp21* გენის არარსებობა ანდროგენიტალური სინდრომის განვითარებას იწვევს, რომელიც ფერმენტ სტეროიდ-21-ჰიდროქსილაზის ნაკლებობით არის გამოწვეული.

დაავადების დროს შარდ-სასქესო გზების ანომალიები გოგონებში, ჯერ კიდევ პრენატალურ (მუცლად ყოფნის) პერიოდში ვლინდება. დაბადების შემდეგ, ანდროგენების სიჭარბე აქტიურად ვლინდება ორივე სქესში. 3-10 წლის ასაკში ძვლების აქტიური ზრდა ხდება, ხოლო 11-12 წლისთვის წყდება. ამიტომ, დაავადებული ბავშვები დაბლები რჩებიან, აღინიშნება სქესობრივი განვითარების დარღვევები და უნაყოფობა.

შარკო-მარი-ტუტის დაავადება. დაავადების მიზეზს მიელინური ცილის PMP22 (prenatal mielin protein) მაკოდირებელი გენის დუპლიკაცია წარმოადგენს, რომელიც ამ გენის შემცველი გრძელი ჰომოლოგიური თანამიმდევრობების რეკომბინაციის შედეგად მიიღება. ეს დუპლიკაცია შარკო-მარი-ტუტის ნევრალური ამიოტროფიის (კუნთების კვების დარღვევის) მიზეზი ხდება.

ამ დაავადების დროს ქვედა კიდურების დისტალური ნაწილების კუნთების დისტროფია ვითარდება. დაავადება ნელა პროგრესირებს. პირველად ტერფის ნაწილი ზიანდება, ტერფი „ჩამოეკიდება“, ყალიბდება დამახასიათებელი სიარულის მანერა. მოგვიანებით ატროფირდება წვივისა და ბარძაყის კუნთები. დაავადების გვიან სტადიაზე, შესაძლოა, ზედა კიდურების კუნთების ატროფიაც განვითარდეს.

pmp22-გენის დელეციის შედეგად შედარებით ნაკლები სირთულის დაავადება - მემკვიდრეობითი ნეიროპათია ვითარდება. ასეთ ავადმყოფებს აღენიშნებათ ამა თუ იმ კიდურის ნაწილობრივი დამბლა და მგრძნობელობის დაკარგვა, რომლის მიზეზი, უმეტეს შემთხვევაში, შესაბამის ნერვზე ზეწოლა ან მცირე ტრავმა შეიძლება იყოს. ამ დაავადებას პირველად „კარტოფილის შემგროვებელთა დაავადება“ უწოდეს, რადგან ის პირველად ფერმერთა ოჯახში დაფიქსირდა, რომელთაც დაჩოქილ მდგომარეობაში ხანგრძლივად მუშაობის შემდეგ კიდურების დამბლა უვითარდებოდათ.

5.5. გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაცია

მოლეკულური ბიოლოგიის ცენტრალური დოგმა

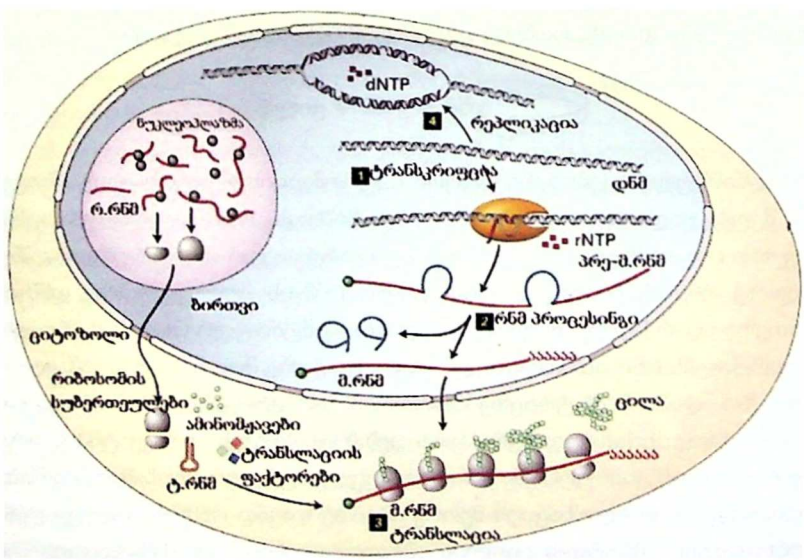
მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში, მას შემდეგ, რაც დადგენილი იქნა, რომ ძირითად გენეტიკურ მოლეკულებს ცოცხალი უჯრედის გენომში დნმ-ის მოლეკულები წარმოადგენს და გაიშიფრა მათი სტრუქტურა, გაჩნდა მოსაზ-რებები გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის შესაძლო გზების შესახებ. ამ მოსაზრებების თანახმად, გენეტიკური ინფორმაციის გადაცემა ბირთვიდან ციტოპლაზმაში უნდა ხდებოდეს, სადაც დნმ-ის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა ცილის მოლეკულის ამინომჟავურ თანამიმდევრობად გარდაიქმნება. ამ პროცესში მოლეკულა-შუამავლის როლს რნმ-ის მოლეკულები ასრულებს. ეს მოსაზრება 1956 წელს კრიკის მიერ ჩამოყალიბებული იქნა, როგორც მოლეკულური ბიოლოგიის ცენტრალური დოგმა, რომელიც სქემატურად ასე გამოიყურება:



აღნიშნული სქემა გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პროცე-სის შეუქცევადობას ასახავს, რაც იმას ნიშნავს, რომ გაივლის რა გენე-ტიკური ინფორმაცია გზას დნმ-დან ცილამდე, უკან აღარ ბრუნდება, ანუ ცილაზე რნმ-ის მოლეკულების, ხოლო რნმ-ის მოლეკულებზე დნმ-ის სინთეზი აღარ ხდება. როგორც ვხედავთ, ცენტრალურ როლს ამ პროცეს-ში ასრულებს რნმ-ის მოლეკულა. მისი, როგორც მოლეკულა-შუამავლის, სინთეზი დნმ-ის მატრიცზე წარმოებს. ამ პროცესს ტრანსკრიფციას (ინგლ. transcription-გადაწერა, კოპირება) უწოდებენ. ორივე ტიპის ნუკ-ლეინის მჟავას ქიმიური ენა ერთია - ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. ინფორმაციის რეალიზაციის მეორე ეტაპზე თავად რნმ-ის მოლეკულები წარმოადგენს მატრიცს ცილის მოლეკულების სინთეზისათვის. ამ პროცესს ტრანსლაცია (ინგლ. translation - გადათარგმნა) ეწოდება, რად-გან აქ ნუკლეოტიდების ქიმიური ენა ახალ, ამინომჟავების ქიმიურ ენად - ამინომჟავურ თანამიმდევრობად უნდა გარდაიქმნას (სურ. 5.44).

მოგვიანებით აღმოჩნდა, რომ ტრანსკრიფცია არ არის რნმ-ის სინთე-ზის ერთადერთი გზა. მაგალითად, ზოგიერთი ვირუსის გენომი რნმ-ის

მოლეკულებით არის წარმოდგენილი და აქვთ ერთი საერთო თვისება - მათი სინთეზი ისევ რნმ-ის მატრიცაზე ხდება. შედეგად მიიღება მ-რნმ-ის მოლეკულები, რომლებიც მონაწილეობს, როგორც ტრანსკრიფციის პროცესში, რაც ვირუსებში ინფექციური პროცესების განხორციელებაში გამოიხატება, ისე ვირუსული გენომის ავტორეპროდუქციაში, ანუ წარმოებს რნმ-ის მოლეკულების რეპლიკაცია. რეტროვირუსებში ეს პროცესი გრძელდება და რნმ ასრულებს მატრიცის როლს უკუტრანსკრიფციის დროს, რის შედეგადაც რნმ-ის მატრიცზე დნმ-ის მოლეკულები ყალიბდება. მიუხედავად ამისა, განხილული შემთხვევები მაინც გამონაკლისს წარმოადგენს და იმდენად იშვიათია გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის სტანდარტულ მექანიზმებთან შედარებით, რომ მოლეკულური ბიოლოგიის ძირითად დოგმას ჯერაც არ დაუკარგავს აქტუალურობა.



სურ. 5.44. გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაცია უჯრედში

5.6. გენის ექსპრესიის მოლეკულური მექანიზმები

მ.რნმ-ის ბიოსინთეზი - ტრანსკრიფცია

რა ფაქტორებმა განაპირობა ცოცხალი სამყაროს განვითარება ისეთნაირად, რომ გენეტიკური მასალის ლოკალიზაციის ადგილი და ამ ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესები ერთმანეთისაგან გამიჯნულიყო? რატომ დაეკისრა რნმ-ის მოლეკულებს შუამავლის როლი ამ პროცესში?

ამ კითხვებზე პასუხის გაცემა დღეისათვის მხოლოდ ჰიპოთეზების დონეზე არის შესაძლებელი, რადგან მკვლევრებს არა აქვთ საშუალება, შეისწავლონ თანამედროვე ცოცხალი უჯრედის შორეული პროტოტიპები. არსებობს მოსაზრება, რომ პირველ, პრიმიტიულ უჯრედში არ არსებობდა განსხვავება ნუკლეინის მჟავებს შორის, ანუ ის, რაც გენომს წარმოადგენდა, მონაწილეობდა, როგორც რეპლიკაციის, ისე ტრანსლაციის პროცესებში.

ვარაუდობენ, რომ ცოცხალი უჯრედის ევოლუციის რომელიღაც ეტაპზე მოხდა გენომიდან ტრანსლაციური აპარატის გამოყოფა, გენეტიკური ინფორმაციის ლოკალიზაციის ადგილის გამიჯვნა და ცილის სინთეზი დაიწყო მოლეკულა შუამავალზე - მატრიცზე, რომელიც განსხვავდებოდა საკუთრივ გენომისაგან.

დღეს შეუძლებელია იმის დადგენა, თუ როგორ მიმდინარეობდა რნმ-ის მოლეკულური ტიპების (მ-რნმ, რ-რნმ, ტ-რნმ) ჩამოყალიბება. მაგრამ ფაქტია, რომ რნმ-ის მოლეკულები თანამედროვე ცოცხალი ორგანიზმების უჯრედებში განსხვავებულ ფუნქციებს ასრულებს: წარმოადგენს მატრიცს ცილის სინთეზის პროცესში (მ-რნმ); წარმოადგენს ამინომჟავების გადამტან, ფუნქციურად აქტიურ მოლეკულებს, რომლებსაც აკისრია ადაპტორის როლი გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესში (ტ-რნმ); აქვს სტრუქტურული ფუნქცია, მონაწილეობს რა რიბოსომების აგებაში (რ-რნმ). ამავე დროს, მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ არ არის გამორიცხული, რ-რნმ-ის მოლეკულებს ცოცხალი სამყაროს განვითარების გარკვეულ ეტაპზე გაცილებით მნიშვნელოვანი, თვით გენეტიკური ინფორმაციის მატარებლის ფუნქცია ჰქონოდა ცოცხალ უჯრედში.

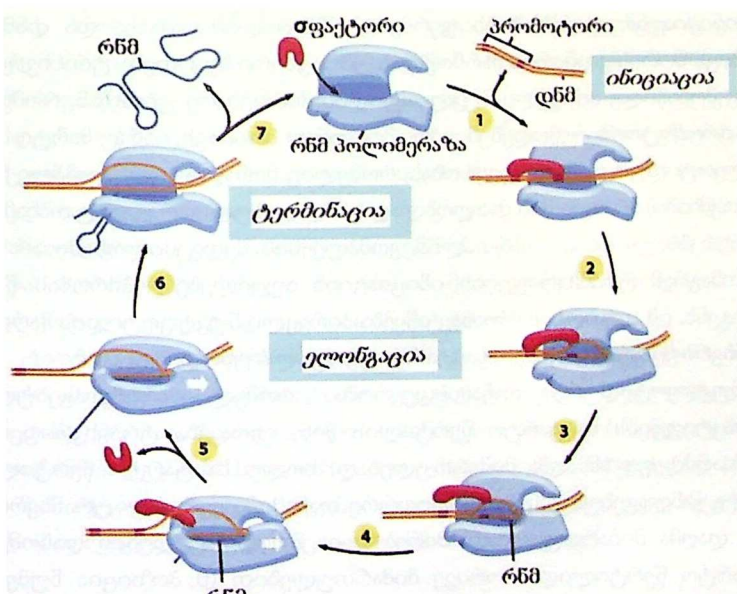
რნმ-ის მოლეკულების სხვადასხვა ტიპების ასეთი განსხვავებული და მნიშვნელოვანი ფუნქციები იმაზე მიუთითებს, რომ რნმ-ს აკისრია ცენტრალური როლი გენის ექსპრესიაში. ეს მოლეკულები, ერთი მხრივ, ასრულებს მატრიცის როლს ცილის სინთეზში, ხოლო მეორე მხრივ, წარმოადგენს დნმ-ში ჩაწერილი ინფორმაციის ტრანსლაციის მთავარ საშუალებას.

გარკვეული მოსაზრებით, გენის ექსპრესიის პროცესში რნმ-ის მრავალფეროვანი ფუნქცია ასახავს მის განსხვავებულ თვისებებს. მოლეკულებს შორის არსებული ფუნქციური სხვაობის მიუხედავად, რნმ-ის სამივე მოლეკულურ ტიპს საერთო წარმოშობა აქვს. კერძოდ, ყველა მათგანის ტრანსკრიფცია დნმ-ის მოლეკულებიდან წარმოეგს. მ-რნმ-ის შემთხვევაში ტრანსკრიფციის პროდუქტი ასრულებს მატრიცის როლს ცილის სინთეზისათვის. ტ-რნმ-ისა და რ-რნმ-ის შემთხვევებში, რნმ-ტრანსკრიფტები ფუნქციურად აქტიური მოლეკულებია. პროკარიოტულ და ევკარიოტულ უჯრედებში გენის ექსპრესიის კონტროლი სწორედ ტრანსკრიფციის გზით ხორციელდება.

ტრანსკრიფციის პროცესი გენის ექსპრესიის პირველ საფეხურს წარმოადგენს, რომელიც უზრუნველყოფს გენში ჩაწერილი ინფორმაციის შესაბამისი რნმ-ის მოლეკულების სინთეზს. დნმ-ის უბანს, რომელიც ტრანსკრიფციას ექვემდებარება, ***ტრანსკრიფციის ერთეული*** ეწოდება. პროკარიოტულ ორგანიზმებში გენომში ჩაწერილი ინფორმაციის სრულად გადაწერა ხდება. ევკარიოტებში ტრანსკრიფციის ერთეულს მხოლოდ ერთი, კონკრეტული გენი წარმოადგენს. ცალკეულ შემთხვევაში, შესაძლოა, ტრანსკრიფციას დაექვემდებაროს ერთზე მეტი გენი. ტრანსკრიფციის რეაქცია ყველა ორგანიზაციული დონის ცოცხალ ორგანიზმებში მსგავსი სქემით წარიმართება. განსხვავება მდგომარეობს მხოლოდ მოლეკულური მექანიზმების სირთულესა და ფერმენტული აპარატით უზრუნველყოფაში.

ჩვეულებრივ, ტრანსკრიფციის პროცესი დნმ-ის მოლეკულის ერთ ჯაჭვზე მიმდინარეობს, რომელსაც ***მატრიცულ ჯაჭვს*** უწოდებენ. სინთეზირებული რნმ-ის მოლეკულა ამ ჯაჭვის კომპლემენტურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს შეიცავს და დნმ-ის მეორე, ე. წ. ***მაკოდირებელი ჯაჭვის*** ასლს წარმოადგენს.

ტრანსკრიფცია გენის ექსპრესიის არა მარტო პირველი, არამედ ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ეტაპია. სწორედ ამ დროს მიიღება „გადაწყვეტილება“, თუ რომელი გენის ექსპრესია უნდა მოხდეს უჯრედში. ტრანსკრიფციის პროცესი, როგორც წესი, 5’-დან 3’-ბოლოსკენ წარიმართება და ყალიბდება რნმ-ის დისკრეტული მოლეკულები 5’---3’ ბოლოებით. ტრანსკრიფციის უშუალო პროდუქტს ***პირველად ტრანსკრიფტს*** უწოდებენ. პირველადი ტრანსკრიფტები არასტაბილური მოლეკულებია. პროკარიოტული მ-რნმ-ის მოლეკულები ძალიან სწრაფად იშლება, ხოლო რ-რნმ-ის და ტ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტებიდან მომწიფებული, ფუნქციური მოლეკულების ჩამოყალიბებამდე ხდება ამ მოლეკულების გაჭრა შესაბამის საიტებში. ევკარიოტებში ყველა ტიპის რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის მოლეკულების ბოლოები ექვემდებარება მოდიფიცირებას და გაჭრას და მხოლოდ შემდეგ ყალიბდება მომწიფებული მოლეკულები.



სურ. 5.45. ტრანსკრიფციის ციკლის სქემა

რნმ-პოლიმერაზა უკავშირდება დნმ-ის მოლეკულას და პოულობს პრომოტორს (1); ტრანსკრიფციის უბანში დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვი იხსნება, ხდება გახსნილი ორმაგი კომპლექსის ფორმირება (2); იწყება ტრანსკრიფციის პროცესი (3); ტრანსკრიფციის პროცესი გადადის ელონგაციის სტადიაში, σ-ფაქტორი ტოვებს მატრიცს (4); რნმ-ის ელონგაციის პროცესი გრძელდება, სინთეზირდება რნმ-ის მოლეკულა (5 და 6); ტრანსკრიფციის ტერმინაცია - სინთეზირებული რნმ და ფერმენტი ტოვებენ დნმ-მატრიცს (7).

ტრანსკრიფციის რეაქცია სამ ეტაპად მიმდინარეობს. ესენია: *ინიციაცია, ელონგაცია და ტერმინაცია* (სურ. 5.45). ყველა ტიპის რნმ-ის ტრანსკრიფციის პროცესს წარმართავს ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა. ის აკონტროლებს რიბონუკლეოტიდების სწორ გაწყვილებას დნმ-ის მატრიცთან და აკატალიზებს მათ შორის ფოსფოდიესტერული ბმების წარმოქმნას. რნმ-პოლიმერაზისათვის მატრიცის როლს ასრულებს დნმ-ის შესაბამისი გენი.

ინიციაცია გულისხმობს ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზისა და დნმ-ის მატრიცს შორის კავშირის წარმოქმნას. ეს კავშირი მყარდება ტრანსკრიფციაში მონაწილე პირველი ნუკლეოტიდის მიმდებარე უბანთან, რომელსაც *პრომოტორს* უწოდებენ. პრომოტორი მოიცავს, არა მარტო იმ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რომელიც მონაწილეობს კომპლექსის წარმოქმნაში, არამედ მის მახლობლად განლაგებულ გარკვეულ თანამიმდევრობებს. ეს უბანი, მართალია, კომპლექსის შედგენილობაში არ შედის, მაგრამ ტრანსკრიფციის ინიციაციის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს. იმ ადგილს, საიდანაც იწყება პირველი ნუკლეოტიდის ჩართვა ტრანსკრიფციის პროცესში, *სასტარტო წერტილს* უწოდებენ.

ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც განლაგებულია ტრანსკრიფციის სასტარტო წერტილის წინ, იწოდება ტრანსკრიფციის საწინააღმდეგო ან აღმა მიმართულებად, ხოლო სასტარტო წერტილის შემდეგ განლაგებული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა - ტრანსკრიფციის დაღმა მიმართულებად. მიღებულია ნუკლეოტიდების დანომვრა სასტარტო წერტილიდან ორივე მიმართულებით (0 პოზიცია ნუმერაციაში გათვალისწინებული არ არის). სასტარტო წერტილს აღნიშნავენ, როგორც +1 პოზიციას. სასტარტო წერტილის შემდეგ ტრანსკრიფციის

მიმართულებით განლაგებული ნუკლეოტიდების რიგითი ნომერი იქნება +2,+3,+4,+5,+6,+7,+8,+9,+10 და ა.შ. ტრანსკრიფციის საწინააღმდეგო, ანუ აღმა თამიმდევრობებისა კი -2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-10 და. შ.

უმეტეს შემთხვევაში, სასტარტო წერტილის ფუნქციას პურინული ფუძე ასრულებს. ამასთან, *ადენინი* უფრო ხშირად გვხვდება სასტარტო მდგომარეობაში, ვიდრე *გუანინი.* ეს ნუკლეოტიდები უმეტესად განლაგებულია *ცათ* ტრიპლეტში, მაგრამ ამ ტრიპლეტის კონსერვატიულობა არ არის ისე აშკარად გამოხატული, რომ ყოველთვის წარმოადგენდეს ტრანსკრიფციის სასტარტო წერტილს.

ელონგაციის დროს ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა უზრუნველყოფს რნმ-ის პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის ზრდას. როგორც კი დასრულდება რნმ-ის მოკლე (დაახლოებით 10 ნუკლეოტიდიანი) მონაკვეთის სინთეზი, ხდება ტრანსკრიფციის პროცესის გადართვა ელონგაციის სტადიაზე. ამ ეტაპზე ფერმენტი განიცდის კონფორმაციულ გარდაქმნებს, რაც დნმ-მატრიცთან უფრო მტკიცე კავშირის წარმოქმნას უზრუნველყოფს. ელონგაციის პროცესში რნმ-პოლიმერაზა, კატალიზური ფუნქციის გარდა, მთელი რიგი რეაქციების განხორციელებაში მონაწილეობს. მოძრაობს რა დნმ-ის გასწვრივ, ის უზრუნველყოფს დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის მომდევნო უბნის გახსნას, რომელიც, თავის მხრივ, რიბონუკლეოტიდების კომპლემენტური დაკავშირებისთვის ახალ მატრიცს წარმოადგენს. იმავდროულად, აღდგება ფერმენტის გადაადგილების საწინააღმდეგო მიმართულებით უკვე წაკითხული დნმ-ის უბნის სპირალური სტრუქტურა. ელონგაციის სტადიაზე რნმ-ის მოლეკულის 3'-ბოლოს თითო ნუკლეოტიდი ემატება და თანდათან მატულობს სიგრძეში.

ტერმინაცია გულისხმობს დნმ-ის სპეციფიკური, ე.წ. ტერმინაციული უბნის ამოცნობას. ტერმინატორი რეგულატორული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობაა, რომელიც რნმ-ის სინთეზის პროცესის შეწყვეტის სიგნალს წარმოადგენს. ამ სტადიაზე, ერთი მხრივ, უნდა მოხდეს რნმ-პოლიმერაზას აქტიურობის დათრგუნვა, ხოლო მეორე მხრივ, უკვე აწყობილი რნმ-ის მოლეკულების დისოციაცია დნმ-ის მატრიციდან.

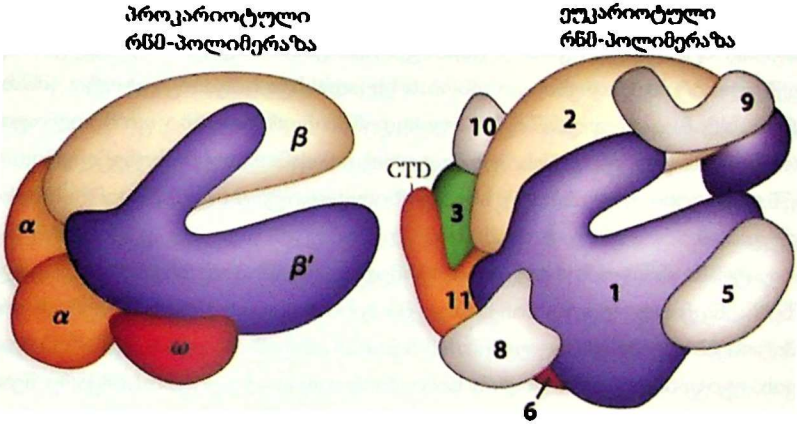
რნმ-პოლიმერაზა - ტრანსკრიფციული ფერმენტი

ტრანსკრიფციის პროცესის ძირითადი წარმმართველი ფერმენტის ფუნქციას ყველა ორგანიზაციული დონის უჯრედში რნმ-პოლიმერაზა ასრულებს. მისი ფუნქციონირებისათვის აუცილებელია დნმ-ის მატრიცი და სარეაქციო არეში ნუკლეოზიდტრიფოსფატების (ატფ, გტფ, ცტფ, თტფ) არსებობა. ბაქტერიულ უჯრედებში ყველა რნმ-ის (მ-რნმ, რ-რნმ, ტ-რნმ) სინთეზს ერთი და იგივე რნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს. ევკარიოტულ უჯრედში ტრანსკრიფციული აპარატი უფრო რთულადაა მოწყობილი და გაცილებით მეტადაა სპეციალიზებული. განსხვავებულია სხვადასხვა ტიპის რნმ-პოლიმერაზას ზომები და მათი მოქმედების რეგულაციის მოლეკულური მექანიზმებიც.

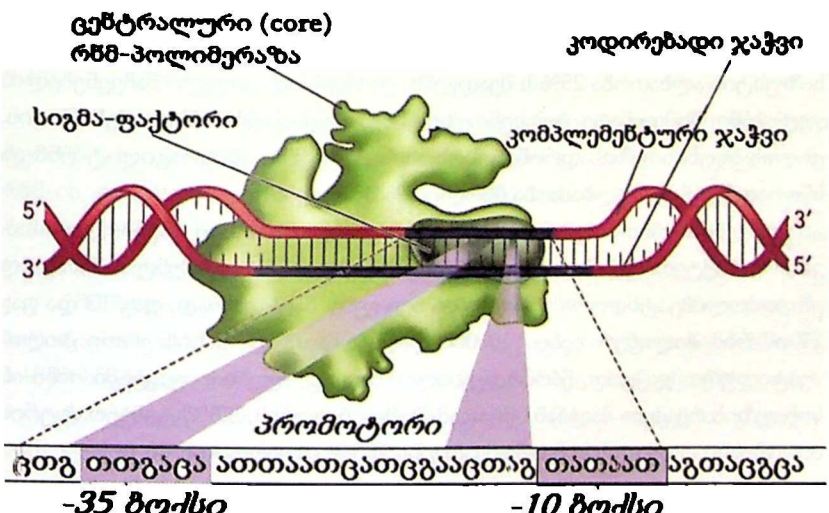
პროკარიოტული რნმ-პოლიმერაზა. სადღეისოდ, ყველაზე დეტალურად *E.coli*-ს რნმ-პოლიმერაზაა შესწავლილი. მისი სტრუქტურა ყველა ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზის ანალოგიურია. *E.coli*-ს უჯრედებში, საჭიროების შესაბამისად, 2000-დან 5000-მდე რნმ-პოლიმერაზას მოლეკულა ფუნქციონირებს.

რნმ-პოლიმერაზის მთლიანი ფერმენტი, ანუ, როგორც მას უწოდებენ, *ჰოლოფერმენტი* მეოთხეული სტრუქტურის მულტიმერული ცილაა, რომლის მოლეკულური მასა 480 000 დალტონს შეადგენს. იგი ხუთი სუბერთეულისაგან შედგება: ორი α-სუბერთეული, β-, β^1 და σ-სუბერთეულები. ჰოლოფერმენტს ოდნავ გაჭიმული ფორმა აქვს, მისი მაქსიმალური ზომა 15 ნმ-ის ტოლია. ბიოქიმიური მეთოდებით ის შეიძლება ორ კომპონენტად დაიშალოს: ცენტრალური ფერმენტი (ინგლ. core enzyme) - α_2-. β-, β^1 და σ ფაქტო-რი (σ პოლიპეპტიდი). უკანასკნელ წლებში აღმოჩენილია აგრეთვე ω- სუბერთეული (სურ. 5.46), რომლის ფუნქცია ბოლომდე შესწავლილი არ არის.

ტრანსკრიფციის პროცესის ინიცირება მხოლოდ ჰოლოფერმენტს შეუძლია. სიგმა ფაქტორი ფერმენტს ისეთ კონფორმაციას აძლევს, რომელიც მას პრომოტორისკენ წარმართავს და მასთან სტაბილური კომპლექსის წარმოქმნას უზრუნველყოფს. პრომოტორთან კავშირის დამყარების შემდეგ, სიგმა ფაქტორი თავისუფლდება კომპლექსისგან და ელონგაციის პროცესს ცენტრალური (core) ფერმენტი განაგრძობს. როგორც ჩანს, რნმ-პოლიმერაზას სიგმა ფაქტორის გარეშეც შეუძლია დნმ-მატრიცთან დაკავშირება, მაგრამ არ ძალუძს ტრანსკრიფციის ინიცირება.



სურ. 5.46. ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზის სქემატური გამოსახულება



სურ. 5.47. ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზის
პრომოტორთან დაკავშირების მექანიზმის სქემა

მაშასადამე, სიგმა-ფაქტორის ფუნქცია პრომოტორის ამოცნობასა და მასთან სტაბილური კომპლექსის ფორმირებაში მდგომარეობს. განსხვავებული პრომოტორების ამოცნობას სხვადასხვა სიგმა-ფაქტორი ემსახურება. ასე მაგალითად, *E.coli*-ს უჯრედებში ნორმალური ფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს პრომოტორის ამოცნობას უზრუნველყოფს σ^{70} (70 დალტონი მოლ. მასით), სხვა ფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს σ^{32} და ა. შ.

ტრანსკრიფციის რეაქციები, რომელთაც რნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს, საკმაოდ დიდი სიჩქარით მიმდინარეობს. 37^{0}C ტემპერატურის პირობებში წმ-ში დაახლოებით 40 ნ.წ.-ის სინთეზირდება. შედარებისათვის, იგივე პირობებში ცილის სინთეზის დროს რეაქციის სიჩქარე შეადგენს 25 ამონომჟავა/წმ, ხოლო რეპლიკაციის სიჩქარე - 800 ნ.წ./წმ.

ტრანსკრიფციის პროცესში მონაწილეობას ღებულობს ოთხივე ტიპის რიბონუკლეოტიდი. როგორც ჩანს, ფერმენტი არჩევს საჭირო ნუკლეოტიდებს დნმ-მატრიცთან დასაწყვილებლად. თუ აღმოჩნდა, რომ ნუკლეოტიდების შერჩევა სწორად არ მოხდა, იგი განიდევნება და წარმოებს ახალი წყვილების გამოცდა. კანონიკური წყვილების შერჩევის სიზუსტის ალბათობა 25%-ს შეადგენს. ეს საკმაოდ მაღალი მაჩვენებელია უჯრედში მიმდინარე ბიოსინთეზის რეაქციისათვის (შედარებისთვის, ცილის ბიოსინთეზის დროს რიბოსომის A-უბანში ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის სწორად შერჩევის ალბათობა მხოლო 3% შეადგენს).

ფაგების რნმ-პოლიმერაზა გაცილებით მარტივი აგებულებისაა, ვიდრე ბაქტერიულისა. უმეტეს შემთხვევაში, ეს ფერმენტი მხოლოდ ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან შედგება. მაგალითად, ფაგ T3 და ფაგ T7-ის რნმ-პოლიმერაზები 110 000 დალტონი მოლ. მასის ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვით წარმოდგენილი მოლეკულებია. ფაგებში რნმ-ის სინთეზის რეაქცია ძალიან სწრაფად მიმდინარეობს. 37 ^{0}C ტემპერატურის პირობებში რეაქციის სიჩქარე შეადგენს 200 ნუკლეოტიდს/წმ-ში.

ევკარიოტული რნმ-პოლიმერაზები. ევკარიოტების ტრანსკრიფციული აპარატი გაცილებით რთულადაა მოწყობილი, ვიდრე პროკარიოტებისა. აქ ტრანსკრიფციის პროცესს სამი სხვადასხვა რნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს (I, II, III) და მათ ტრანსკრიფციის ფაქტორებს (ინგლ. Transcription Factors -TF) უწოდებენ. რნმ-პოლიმერაზები ნაპოვნია რო-

გორც ევკარიოტულ ბირთვში, ისე მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტებში. ევკარიოტული რნმ-პოლიმერაზების სტიმულირება ორვალენტიანი კატიონებით ხდება, რომელთა მიმართ სხვადასხვა ტიპის რნმ-პოლიმერაზას განსხვავებული მოთხოვნა აქვს. სხვადასხვა ტიპის რნმ-პოლიმერაზების აქტივობის იდენტიფიცირება შესაძლებელია α-ამინატინის მეშვეობით. ამ ტოქსინის მიმართ ევკარიოტულ რნმ-პოლიმერაზები განსხვავებული მგრძნობელობით ხასიათდება. მაგალითად, α-ამინატინის ძალიან დაბალი კონცენტრაციაც კი თრგუნავს რნმ-პოლიმერაზა II-ის აქტივობას თითქმის ყველა ევკარიოტულ უჯრედში; რნმ-პოლიმერაზა III-ს α-ამინატინის მიმართ საშუალო მგრძნობელობით აქვს; ხოლო რნმ-პოლიმერაზა I თითქმის არამგრძნობიარეა და მისი აქტივობის ინჰიბირება თითქმის ვერ ხერხდება აღნიშნული ნაერთით.

ბირთვული რნმ-პოლიმერაზების დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს პროკარიოტულ რნმ-პოლიმერაზასთან შედარებით უფრო დიდი ზომები. თითოეული ფერმენტის შედგენილობაში შედის ორი დიდი სუბერთეული 200 000 და 140 000 დალტონი მოლ. მასითა და ათი მცირე სუბერთეული - 10 000-დან 90 00-მდე დალტონი მოლ. მასით (სურ. 5.46).

რნმ-პოლიმერაზა I ევკარიოტული უჯრედის ყველაზე აქტიური ფერმენტია. ის ლოკალიზებულია ბირთვაკში და პასუხისმგებელია რ-რნმ-ის ტრანსკრიფციაზე. რნმ-პოლიმერაზა I ასინთეზებს უჯრედული რნმ-ის 50-70%-ს. მისი აქტივობის სტიმულირება თანაბრად ხდება, როგორც მაგნიუმის (Mg^{2+}), ისე, მანგანუმის (Mn^{2+}) იონებით.

რნმ-პოლიმერაზა II ლოკალიზებულია ბირთვში, არ გვხვდება ბირთვაკში. მასზე მოდის რნმ-ის სინთეზური აქტივობის 20-40%, პასუხისმგებელია პრე-მ-რნმ-ის (მ-რნმ წინამორბედები) სინთეზზე. ფერმენტის აქტივობის სტიმულირება მანგანუმის (Mn^{2+}) იონებით გაცილებით ეფექტურია, ვიდრე მაგნიუმის (Mg^{2+}) იონებით.

რნმ-პოლიმერაზა III - მინორული აქტივობის ფერმენტია. ის რნმ-ის უჯრედული სინთეზის მხოლოდ 10%-ს უზრუნველყოფს. ამ ფერმენტების მოქმედებით წარმოებს ტ-რნმ-ს და მცირე ბირთვული რნმ-ების სინთეზი, ხოლო სტიმულაცია მანგანუმის (Mn^{2+}) იონებით უფრო ეფექტურია, ვიდრე მანგანუმის (Mg^{2+}) იონებით.

ევკარიოტული უჯრედებიდან გამოყოფილი რნმ-პოლიმერაზებით შესაძლებელი გახდა რნმ-ის მოლეკულების *in vitro* სინთეზი. მაგალითად, ადამიანის უჯრედებიდან გამოყოფილი რნმ-პოლიმერაზა II-ს შეუძლია, თაგვის გლობინების გენის ტრანსკრიფცია განახორციელოს. ეს და სხვა მსგავსი ექსპერიმენტები იმაზე მიუთითებს, რომ პრომოტორის ამოცნობის დროს არა აქვს მნიშვნელობა არც ქსოვილურ და არც სახეობრივ სპეციფიკურობას. აქედან გამომდინარე, არსებობს რაღაც უნივერსალური და კონსერვატიული სტრუქტურა, რომელიც ფერმენტის მიერ ამოიცნობა, როგორც პრომოტორი. რა თქმა უნდა, ეს მონაცემები არ გამორიცხავს, რომ ბუნებრივ პირობებში დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები რნმ-პოლიმერაზული აქტივობის მოდულირებას ახდენდეს.

მიტოქონდრიული და ქლოროპლასტური რნმ-პოლიმერაზები უფრო პატარა ზომის მოლეკულებია. ამ ორგანელების გენომების ზომები ბირთვულ გენომზე გაცილებით მცირეა. შესაბამისად, ორგანელების რნმ-პოლიმერაზები გენების მხოლოდ განსაზღვრული რიცხვის ტრანსკრიფციაში მონაწილეობს და ტრანსკრიფციის მექანიზმები უფრო მარტივია.

ტრანსკრიფციის რეგულატორული თანამიმდევრობები

პრომოტორი. პრომოტორი წარმოადგენს დნმ-ის ისეთ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რომელიც ამოიცნობა ცილა-ფერმენტის მიერ. დნმ-ის ამ უბანს მხოლოდ რეგულატორული ფუნქცია აქვს. ამ თვისებით პრომოტორი განსხვავდება დნმ-ის იმ თანამიმდევრობებისაგან, რომლებიც ტრანსკრიბირდება, ანუ შეიცავს ინფორმაციას ცილის სინთეზის შესახებ.

პრომოტორის ფუნქციონირებისათვის აუცილებელი თანამიმდევრობა ჩაწერილია თვით დნმ-ის მოლეკულის თანამიმდევრობაში, ანუ თავად მოლეკულის სტრუქტურა ასრულებს სიგნალის როლს მისი ფუნქციონირებისათვის. მისი ექსპრესირებადი უბნები კი შინაარსს მხოლოდ იმის შემდეგ იძენს, როცა ეს ინფორმაცია გარდაიქმნება ნუკლეინის მჟავად ან ცილად.

დნმ-ის თანამიმდევრობა, რომელიც არ ექსპრესირდება რნმ-ის ან ცილის მოლეკულებად, იწოდება *cis*-დომინანტურ საიტად. ეს ნიშნავს, რომ ამ უბანს შეუძლია, გავლენა მოახდინოს დნმ-ის მხოლოდ იმ მო-

ლეკულაზე, რომლის ფიზიკურ ნაწილსაც თვითონ წარმოადგენს. მას არ შეუძლია ზემოქმედება დნმ-ის სხვა მოლეკულის ჰომოლოგიურ უბანზე.

პრომოტორის აწყობის აუცილებელ პირობას ფერმენტის მიერ მისი შეცნობა და დნმ-ფერმენტის სტაბილური კავშირის წარმოქმნა წარმოადგენს. ამ პროცესში სასიგნალო ფუნქციას სპეციფიკური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები ასრულებს, რომლსაც *კონსენსუსურ თანამიმდევრობებს* უწოდებენ. თითქმის ყველა ბაქტერიულ პრომოტორში სასტარტო წერტილის საწინააღმდეგო, ტრანსკრიფციის აღმა მიმართულებით, -10 პოზიციაში ნაპოვნია ჰექსამერული კონსენსუსური უბანი - თათაათ ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. ამ თანამიმდევრობას *თათა ბოქსი* (box) ეწოდება. მას აგრეთვე „პრიბნოუს" ბლოკსაც უწოდებენ. „პრიბნოუს" ბლოკის არსებობა პრომოტორში არ არის მკაცრად განსაზღვრული, მაგრამ ითვლება საშუალო სტატიკურ ანუ კანონიკურ თანამიმდევრობად. „პრიბნოუს" ბლოკი ძირითადად წარმოდგენილია *თ-ა* წყვილებით. ეს მიუთითებს, რომ დნმ-ის ამ კონსენსუსური თანამიმდევრობის ფუნქცია, ენერგიის მინიმალური დანახარჯით, დნმ-ის ორჯაჭვიანი სტრუქტურის განცალკევებაში გამოიხატება. გასაგებია, რომ თიმინსა და ადენინს შორის არსებული ორი წყალბადური ბმის გაწყვეტა გაცილებით ნაკლებ ენერგიას მოითხოვს, ვიდრე გუანინსა და ციტოზინს შორის არსებული სამმაგი წყალბადური ბმისა.

ბაქტერიებში მეორე კონსესუსური თანამიმდევრობა ნაპოვნია -35 პოზიციაში. ის წარმოდგენილია ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობით - *თთგაცა*, რომელსაც, ხშირად, ამოცნობის საიტსაც უწოდებენ. ეს ორი კონსენსუსური თანამიმდევრობა (-10 და -35 პოზიციაში განლაგებული უბნები) განაპირობებს ბაქტერიულ გენომში ტრანსკრიბირებადი დნმ-ის პრომოტორის დაკავშირებას რნმ-პოლიმერაზასთან (სურ. 5.47).

ევკარიოტულ პრომოტორებში კონსესუსური *თათა*-ბოქსი შვიდი ნუკლეოტიდური წყვილისგან შედგება - *თათაათათ*. ამ თანამიმდევრობას *ჰოგნესის* ან *გოლბერგ-ჰოგნესის ბლოკსაც* უწოდებენ. ევკარიოტული *თათა* ბოქსი, უპირატესად, -25 პოზიციაშია განლაგებული და გ-ც-ით მდიდარ გარემოცვაშია მოქცეული. ეს კონსენსუსური თანამიმდევრობა, თითქმის, ბაქტერიულის ანალოგიურია, განსხვავება მხოლოდ ლოკალიზაციის ადგილშია. ზოგიერთ ევკარიოტულ პრომოტორს -70 -80 პოზი-

ციაში, ასევე, აქვს სხვა კონსენსუსური თანამიმდევრობა - *ggg(თ)ცაათცთ*, რომელიც ხშირად აღინიშნება, როგორც *ცაათ* თანამიმდევრობა.

გამაძლიერებელი (ინგლ. enhanser) - ევკარიოტული გენომის ტრანსკრიფციის რეგულატორულ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას წარმოადგენს. ეს არის *ცის*-მოქმედი საიტი, რომლიც აძლიერებს გენის ექსპრესიას, აკონტროლებენ რა ტრანსკრიფციის სისწრაფეს და ეფექტურობას. გამაძლიერებელი საიტი ამ უნარს სპეციფიკურ ცილებთან - აქტივატორებთან დაკავშირების შედეგად იძენს. აქტივატორს, სულ მცირე, ორი დომენი აქვს, რომელთაგან ერთით უკავშირდება გამაძლიერებელ თანამიმდევრობას, ხოლო მეორეთი - სხვა ცილოვან ფაქტორს ან პრომოტორს. ქრომატინში წარმოქმნილი მარყუჟი სივრცობრივად დაცილებულ გამაძლიერებელს და პრომოტორს დაახლოების საშუალებას აძლევს.

ჩამხშობი (ინგლ. silencer) - დნმ-ის მოკლე უბნებია, რომლსაც, ასევე, ტრანსკრიფციის რეგულაციის ფუნქცია აკისრია. უკავშირდებიან რა სპეციფიკურ რეგულატორულ ცილებს, ტრანსკრიფციის შესუსტებას ან საერთოდ დათრგუნვას იწვევს.

იზოლატორი (ინგლ. Insulator) - დნმ-ის უბანია, რომლიც პრომოტორსა და გამაძლიერებელ თანამიმდევრობას შორის ურთიერთქმედებას ზღუდავს. ვარაუდობენ, რომ იზოლატორი ტრანსკრიბირებადი გენის ორივე ბოლოზე უნდა არსებობდეს. მხოლოდ ორ იზოლატორს შორის არსებულ გამაძლიერებელ თანამიმდევრობას შეუძლია პრომოტორთან დასაახლოებლად მარყუჟის წარმოქმნა.

ტრანსკრიფციის მოლეკულური მექანიზმები ბაქტერიებში

ტრანსკრიფციის მოლეკულური მექანიზმები ყველაზე სრულყოფილად *E. coli*-ს უჯრედებშია შესწავლილი. არსებული განსხვავებების მიუხედავად, ტრანსკრიფციის ძირითადი ციკლი ანალოგიურია ცოცხალი სამყაროს ყველა ორგანიზაციულ დონეზე. ამდენად, *E. coli*-ს უჯრედებში მიმდინარე ტრანსკრიფციის პროცესის განხილვით შესაძლებელია ზოგადი წარმოდგენა შევიქმნათ ტრანსკრიფციის მოლეკულურ მექანიზმებზე.

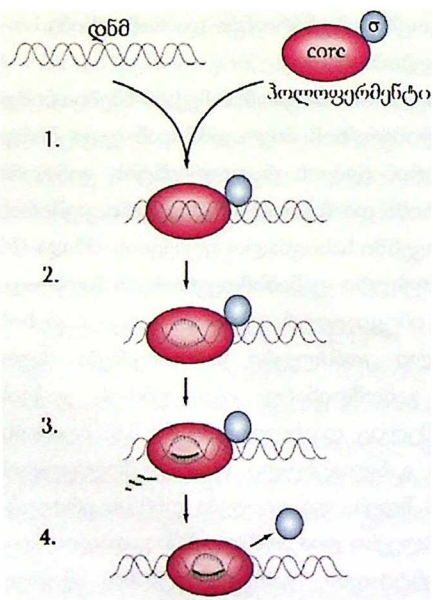
როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ბაქტერიულ უჯრედებში ტრანსკრიფციის პროცესს ერთი და იგივე ფერმენტი - რნმ-პოლიმერაზა წარმართავს.

ტრანსკრიფციის ინიცირება მხოლოდ ფერმენტის პრომოტორთან დაკავშირებით და სტაბილური კომპლექსის ჩამოყალიბებით არის შესაძლებელი. რნმ-პოლიმერაზას, როგორც დნმ-დამოკიდებულ ფერმენტს, შეუძლია, დაამყაროს კავშირი დნმ-ის ნებისმიერ უბანთან. ამ კავშირის წარმოქმნას საფუძვლად უდევს დადებითად დამუხტულ ცილის მოლეკულებსა და უარყოფითად დამუხტულ ნუკლეინის მჟავას მოლეკულებს შორის ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედების ძალები. ელექტროსტატიკური ძალები სუსტია, ამიტომ მათ შორის კავშირი არასტაბილურია და იწოდება ურთიერთქმედების სუსტ უბნად. ამ ურთიერთქმედებით ჩამოყალიბებულ კომპლექსს - დნმ-ფერმენტს - დახურულ კომპლექსს უწოდებენ, ვინაიდან დნმ-ის მოლეკულა ამ კომპლექსში ორჯაჭვიანი სტრუქტურის სახით არის წარმოდგენილი. დნმ-ის არასპეციფიკურ (შემთხვევით) უბანთან წარმოქმნილი კავშირი არასტაბილურია და არსებობა დროის ძალიან მცირე შუალედში შეუძლია, მაგრამ ჰოლოფერმენტის შედგენილობაში მყოფი სიგმა-ფაქტორი მას ანიჭებს უნარს, ამოიცნოს სპეციფიკური უბანი და დაამყაროს მასთან სტაბილური კავშირი. ეს კავშირი გაცილებით სიცოცხლისუნარიანია და რამდენიმე სთის განმავლობაშიც კი შეუძლია არსებობა.

ჰოლოფერმენტის მიერ პრომოტორის ამოცნობის მექანიზმები მნიშვნელოვნად განსხვავდება რნმ-პოლიმერაზის მიერ დნმ-თან დაკავშირების რეაქციებისგან. სიგმა ფაქტორი, ცვლის რა ფერმენტის კონფორმაციას, მას პრომოტორის ამოცნობისა და მასთან სტაბილური კავშირის დამყარების უნარს ანიჭებს. ამ პროცესში სასიგნალო ფუნქციას -35 და -10 პოზიციაში განლაგებული კონსენსუსური თანამიმდევრობები წარმოადგენენ. ჰოლოფერმენტის დნმ-ის ინიციაციურ უბანთან დაკავშირების დროსაც ანალოგიური *დახურული კომპლექსი* წარმოიქმნება (სურ. 5.48.1). ფერმენტის ზომებიდან გამომდინარე, იგი დნმ-ის ჯაჭვის საკმაოდ დიდ უბანს ფარავს, რომელიც დაახლოებით 60 ნ.წ. მოიცავს. ამის შემდეგ ფერმენტის შიგნით განლაგებული დნმ-ის მოლეკულის მოკლე უბნების (12-17 ნ.წ) გახსნა ხდება და მიიღება დნმ-ის ერთჯაჭვიანი უბანი, ანუ დახურული კომპლექსი *ღია კომპლექსში* გადადის (ღია ორმაგი კომპლექსი ეს არის ფერმენტი-დნმ - გახსნილი უბანი). სწორედ

ამ დროს ყალიბდება პრომოტორთან ჰოლოფერმენტის სტაბილური ურთიერთქმედების კომპლექსი (სურ.5. 48.2).

ურთიერთქმედების განსხვავებული (სუსტი და სტაბილური) ფორმების არსებობა იმაზე მიუთითებს, რომ რნმ-პოლიმერაზა პრომოტორს პოულობს სინჯისა და შეცდომების გასწორების პრინციპით. თუ ჰოლოფერმენტი დაუკავშირდა ურთიერთქმედების სუსტ უბანს, ანუ არასპეციფიკურ საიტს, იგი განაგრძობს მოძრაობას დნმ-ის მატრიცზე მანამ, სანამ არ გადაეყრება პრომოტორს და არ წარმოქმნის სტაბილურ კომპლექსს დნმ-ის ჯაჭვის გახსნილ უბანთან. ამ სტადიაზე, უმეტეს შემთხვევაში რნმ-ის არასრულყოფილი, მოკლე ჯაჭვის აწყობა ხდება, რომელიც მაქსიმუმ 10-ნულეოტიდიან უბანს წარმოადგენს. ასეთი ტრანსკრიფტები ელონგაციის პროცესში აღარ ჩაერთვება. ისინი დისოცირდება კომპლექსიდან, ხოლო თავად ფერმენტი განაგრძობს მოძრაობას დნმ-მატრიცზე, ვიდრე არ მიაგნებს ინიციაციის სპეციფიკურ უბანს. ამ უბნის პოვნის შემდეგ ფერმენტი მასთან სტაბილურ კავშირს წარმოქმნის.



სურ. 5.48. რნმ-პოლიმერაზა-დნმ-კომპლექსის ფორმირების სქემა:
1. დახურული ორმაგი კომპლექსის ფორმირება;
2. ღია ორმაგი კომპლექსის ჩამოყალიბება;
3. სამმაგი კომპლექსი (რნმ პოლიმერაზა დნმ-რნმ);
4. სიგმა ფაქტორი ტოვებს დნმ მატრიცს.

ტრანსკრიფციის შემდეგი ეტაპია პირველი ნუკლეოტიდური წყვილის წარმოქმნა დნმ-ის გახსნილი ჯაჭვის მატრიცზე მათ შორის ფოსფოდიესტერული ბმის დამყარებით. პირველი ნუკლეოტიდური წყვილის წარმოქმნა სასტარტო წერტილში, +1 პოზიციაში ხდება. როგორც კი დაიწყება რნმ-ის ჯაჭვის სინთეზი, სიგმა ფაქტორი ტოვებს ჰოლოფერმენტს და ელონგაციის სტადიას ცენტრალური (core) ფერმენტი წარმართავს.

ამ ეტაპზე ყალიბდება ეგრეთ წოდებული *სამმაგი კომპლექსი:* ფერმენტი - დნმ - რნმ (სურ. 5.48). რნმ-პოლიმერაზა მტკიცედაა დაკავშირებული, თითქოს ჩაკეტილია მასში მანამ, სანამ არ გაწყვილდება ყველა ნუკლეოტიდი, ანუ არ დასრულდება რნმ-ის ჯაჭვის ელონგაცია.

ელონგაციის სტადიაზე რნმ-ის ჯაჭვის ზრდა 3'-ბოლოზე რიბონუკლეოტიდების მიერთებით ხდება. ამ ადგილს, ხშირად, *ზრდის წერტილსაც* უწოდებენ. ელონგაციის სტადიაზე ფერმენტს კიდევ ერთი დამატებითი ფუნქცია აკისრია. ის უზრუნველყოფს არასწორად გაწყვილებული ნუკლეოტიდების რედაქტირებას, აკატალიზებს არასწორად მიერთებული ნუკლეოტიდების ჩამოცილებას და უზრუნველყოფს მატრიცის კომპლემენტური ნუკლეოტიდის ჩართვას რნმ-ის მზარდ ჯაჭვში.

რნმ-ის მოლეკულის სინთეზი გრძელდება მანამ, ვიდრე ტრანსკრიფციული ფერმენტი არ მიუახლოვდება დნმ-მატრიცის ტერმინალურ უბანს. აქ ფერმენტი წყვეტს მოძრაობას და ნუკლეოტიდების ჩართვას რნმ-ის მზარდ ჯაჭვში. რნმ-პოლიმერაზა ტოვებს დნმ-ის მატრიცს და თავისუფლდება სინთეზის პროდუქტი - რნმ-ის ტრანსკრიფტი. ტერმინაციის სტადიაზე ხდება დნმ-რნმ ჰიბრიდის დამაკავშირებელი ყველა წყალბადური ბმის გაწყვეტა და მხოლოდ ამის შემდეგ აღდგება დნმ-ის ორსპირალიანი სტრუქტურა (სურ.5.46; 5.48.).

დნმ-ის უბანს, სადაც ტრანსკრიფციის პროცესი სრულდება, *ტერმინატორი* ეწოდება. ტერმინატორი წარმოადგენს რეგულატორულ უბანს, რომელიც შეიცავს ტრანსკრიფციის დასრულების სასიგნალო ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას. ტერმინალური უბნის მოქმედების მექანიზმი საკმაოდ განსხვავებულია და ზოგჯერ დამოკიდებულია დამატებითი ცილოვანი ფაქტორების ზემოქმედებაზე.

ბაქტერიებში ტერმინაციის ორ ფორმას არჩევენ: ***Rho*-დამოკიდებული და *Rho*-დამოუკიდებელი** ან ***p*-დამოკიდებული და *p*-დამოუკიდებული ტერმინაცია.**

p-დამოუკიდებელი ტერმინაციის დროს, საკმარისია, რნმ-პოლიმერაზა მოხვდეს ტერმინაციულ უბანში, ის დამოუკიდებლად, ყოველგვარი დამატებითი ცილოვანი ფაქტორის გარეშე წარმართავს ტერმინაციული რეაქციების მთელ კომპლექსს. ასეთ ტერმინალურ უბანებს *p*-დამოუკიდებელ ტერმინატორებს უწოდებენ.

p-დამოკიდებელი ტერმინაცია მხოლოდ დამატებითი ცილოვანი p-ფაქტორის თანამდევობით არის შესაძლებელი. მათ ფუნქციონირებას *p*-ფაქტორის სხვადასხვა კონცენტრაცია ესაჭიროება. ასეთ ტერმინაციულ უბანებს *p*-დამოკიდებელი ტერმინატორები ეწოდება.

ტერმინაციის ამ ორი განსხვავებული სისტემის შედარებისას აღმოჩნდა, რომ ისინი, გარკვეულწილად, განსხვავდება ერთმანეთისგან. *p*-დამოუკიდებელი ტერმინაციის შედეგად მიღებული რნმ-ის მოლეკულების ბოლოებზე აღინიშნება ურაცილის ნუკლეოტიდებისაგან შემდგარი მონაკვეთი (სურ.5.49). გასაგებია, რომ *ა-უ* წყვილებს შორის წყალბადური ბმების გაწყვეტა ნაკლებ ენერგიას მოითხოვს. როგორც ჩანს, სწორედ ამიტომ არ საჭიროებს ტერმინაციის ეს ტიპი დამატებითი ცილოვანი ფაქტორების ჩართვას ტერმინაციის რეაქციებში. *p*-დამოკიდებული ტერმინაციის დროს რაიმე ტიპის ჰომოლოგია არ შეიმჩნევა. ამასთან, ორივე ტიპის ტერმინაციული საიტის წინ განლაგებულია განსაკუთრებული ტიპის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა - პალინდრომი.

პალინდრომი გრამატიკული ცნებაა და ნიშნავს ისეთ თანამიმდევრობას, რომელიც ერთნაირად იკითხება ორივე მიმართულებით. პალინდრომის მაგალითია ნაწყვეტი გალაქტიონის ლექსიდან:

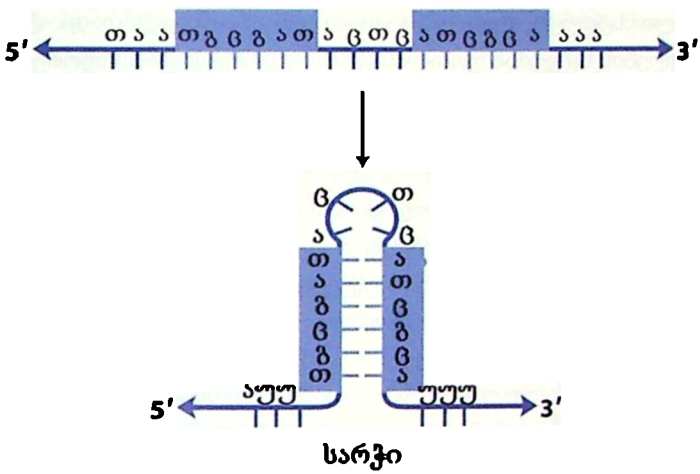
აი რა მზის სიზმარია

აირევი ივერია

მოლეკულურ ბიოლოგიაში პალინდრომი წარმოადგენს დნმ-ის ორჯაჭვიან სტრუქტურას, რომელიც იდენტურად იკითხება ორივე ჯაჭვზე, თუ მას ერთნაირი ორიენტაციიდან წავიკითხავთ. ქვემოთ მოყვანილია დნმ-ის უბანი, რომელიც პალინდრომის ტიპურ მაგალითს წარმოადგენს:

5’–––გ თ ც გ ა ც –––3’
3’------ც ა გ ც თ გ–––– 5’

როგორც ვხედავთ, თანამიმდევრობა ერთნაირად იკითხება 5’-დან 3’-ბოლოსაკენ და, პირიქით. ჯაჭვების ანტიპარალელური ორიენტაციიდან გამომდინარე, პირველი ჯაჭვი მარჯვნიდან მარცხნივ, ხოლო მეორე - მარცხნიდან მარჯვნივ უნდა წავიკითხოთ.



სურ. 5.49. პალინდრომის სარჭის სტრუქტურა

პალინდრომს აქვს სიმეტრიის ღერძი, რომლის ორივე მხარე ერთმანეთის კომპლემენტურია, ანუ ერთნაირად იკითხება ორივე მხრიდან, მაგრამ ისინი ურთიერთსაწინააღმდეგოდ არიან ორიენტირებული. მოცემულ პალინდრომში ინვერტირებადი გამეორება არის თანამიმდევრობა *გთც / გაც*.

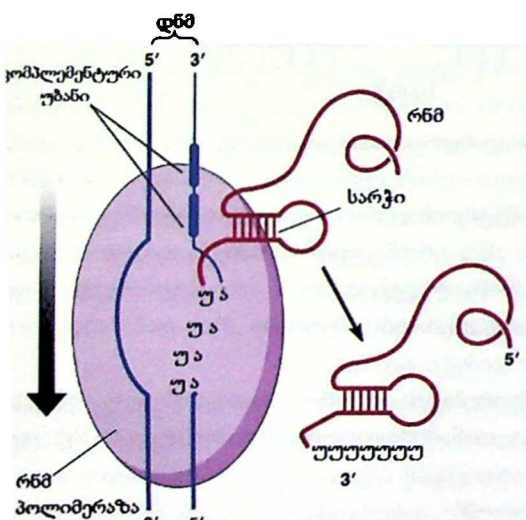
ინვერტირებადი გამეორებები, არ არის სავალდებულო, უწყვეტი იყოს. მაგალითად, იგივე თანამიმდევრობა, შესაძლებელია, ასე იყოს წარმოდგენილი:

5’---- გ თ ც ა გ გ ა ც-----3’
3’----ც ა გ თ ც ც თ გ---- 5’

მოცემულ შემთხვევაში ინვერტირებადი განმეორებები იგივე ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისაგან შედგება, მაგრამ სიმეტრიის ღერძი უწყვეტი არ არის და სამი ნუკლეოტიდისაგან შედგება.

ინვერტირებადი განმეორებები, როგორც წესი, ურთიერთკომპლემენტურია, თუ მათ წაკითხვას ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით ვაწარმოებთ. კომპლემენტური წყვილები რნმ-ის მოლეკულაში სარჭებს წარმოქმნის (სურ. 5.49). დნმ-ის მოლეკულაში არსებული პალინდრომები შესაბამისი რნმ-ის მოლეკულებს ანიჭებს ორჯაჭვიანი მეორეული სტრუქტურის წარმოქმნის უნარს. მაგალითად, ტ-რნმ-ის მოლეკულების სამყურას ფოთლის ფორმის სტრუქტურას სწორედ ასეთი სარჭები განაპირობებს.

პალინდრომები პროკარიოტული ორგანიზმების ყველა ტერმინატორში არის ნაპოვნი. მისი ზემოქმედებით წარმოქმნილი რნმ-ის სარჭის სტრუქტურა აიძულებს რნმ-პოლიმერაზას, გაცილებით ნელა იმოძრაოს ან შეჩერდეს. ჩვეულებრივ, ფერმენტი ტერმინატორზე დაახლოებით 60 წმ-ს ჩერდება. ტრანსკრიფცია რომ უწყვეტად გრძელდებოდეს, ფერმენტი ამ დროში 2000 ნ.წ.-ის გავლას შეძლებდა.

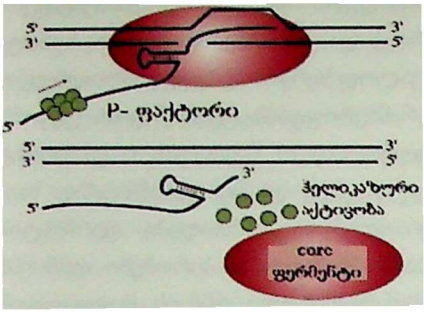


სურ. 5.50.
p-დამოუკიდებული ტერმინაციის სქემა

ρ-დამოუკიდებელი ტერმინაციის დროს რნმ-პოლიმერაზას რეაქცია ბოლომდე მიჰყავს, სცილდება მატრიცს და გამოთავისუფლდება სინთეზირებული რნმ-ის მოლეკულა. უშუალოდ სარჭის შემდეგ განლაგებული ურაცილის შემცველი ბოლოები ტრანსკრიფციის ტერმინაციას უწყობს ხელს. აქ დნმ-რნმ ჰიბრიდის ნუკლეოტიდურ წყვილებს (ა-უ) შორის კავშირი სუსტია (ორმაგი წყალბადური ბმა) და მის გასაწყვეტად საკმარისია ენერგიის მინიმალური რაოდენობა. მაშასადამე, ფერმენტის ტერმინატორზე შეჩერებით იქმნება ოპტიმალური პირობები დნმ-რნმ კომპლექსის დასაშლელად და სინთეზირებული რნმ-ის მოლეკულის გამოთავისუფლებისათვის (სურ. 5.50).

ρ-დამოკიდებული ტერმინაციის მარეგულირებელი *ρ*-ფაქტორი ფუნქციონირებს მხოლოდ ტრანსკრიფციის ტერმინაციის სტადიაზე. ტერმინაციული უბანი აქ ციტოზინით მდიდარი თანამიმდევრობებით, ხოლო დნმ-რნმ ჰიბრიდი *ც-გ* წყვილებით არის წარმოდგენილი. მათ შორის არსებული სამმაგი ბმების გახლეჩა უფრო რთულია. ამ პროცესს ხელს უწყობს P-ცილის ჰელიკაზური აქტივობა, ხოლო ტერმინაციის რეაქცია ტრირიბონუკლეოტიდების ჰიდროლიზის შედეგად გათავისუფლებულ ენერგიას მოიხმარს. ამ ტიპის ტერმინაციის რეაქციის დროს *ρ*-ფაქტორი ემაგრება სინთეზირებადი რნმ-ის მოლეკულას 5′-ბოლოზე იმ დროს, როცა უკვე სინთეზში ჩართულია 50 ან მეტი ნუკლეოტიდი და, თითქოს, მისდევს მას. როდესაც რნმ-პოლიმერაზა შეჩერდება ტერმინატორზე, *ρ*-ფაქტორი ეწევა ფერმენტს, ურთიერთქმედებს მასთან და განაპირობებს რნმ-ის მოლეკულის გათავისუფლებას. მაშასადამე, ტერმინაციული საიტის ძირითად ფუნქციას წარმოადგენს, აიძულოს რნმ-პოლიმერაზა გააკეთოს პაუზა, რის შემდეგაც ვითარდება ტერმინაციული პროცესები (სურ. 5.51).

ანტიტერმინაცია. ტერმინაციის პროცესი ყოველთვის ერთიანი სქემით არ მიმდინარეობს. ზოგ შემთხვევაში ტერმინატორის მოქმედების ეფექტურობა რნმ-პოლიმერაზაზე რეგულატორული ცილების ზემოქმედებით შეიძლება დაითრგუნოს. ამ მოვლენას *ანტიტერმინაცია* ეწოდება. ანტიტერმინაციის დროს ფერმენტი განაგრძობს რნმ-ის მოლეკულის სინთეზს. სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, წარმოებს ტერმინატორის წაკითხვა.



სურ. 5.51. P- დამოკიდებული ტერმინაციის სქემა

ანტიტერმინაციული ფერმენტი - pN ცილა მოქმედების მაღალსპეციფიკური მექანიზმით ხასიათდება. თუ ბაქტერიული გენი შეიცავს *P*-დამოკიდებულ ტერმინატორს, pN ცილას შეუძლია ანტიტერმინაცია მოახდინოს ფაქტობრივად ყველა იმ ტერმინაციულ საიტზე, რომელიც რნმ-პოლიმერაზას შეხვდება ტრანსკრიფციის დროს.

მაშასადამე, ყველა ტრანსკრიფციულ ერთეულში უნდა შედიოდეს ისეთი საიტი, რომელსაც ამოიცნობს ანტიტერმინაციული pN ცილა. ეს საიტი ასრულებს სასიგნალო ფუნქციას, რომ პირველივე შემხვედრ ტერმინატორზე განხორციელდეს ანტიტერმინაცია. რაც იმას ნიშნავს, რომ ანტიტერმინაციული საიტი, რომელსაც ამოიცნობს pN ცილა და ტერმინაციული საიტი, სადაც ეს ცილა კონკრეტულ შემთხვევაში თავის ფუნქციას ასრულებს, სხვადასხვა ადგილას მდებარეობს. ამასთან, ეს უბნები შეიძლება საკმაოდ დაცილებული იყოს ერთმანეთისგან.

დნმ-ის უბანს, რომელიც ამოიცნობა pN ცილის მიერ, nut (N utilization) -საიტი ეწოდება. nut საიტი სპეციფიკური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობებისგან შედგება, რომელიც სპეციფიკურად ამოიცნობა თავისი pN ცილის მიერ. როდესაც pN ცილა იპოვნის nut საიტს, ის ურთიერთქმედებს რნმ-პოლიმერაზასთან და ახდენს ამ საიტის მოდიფიკაციას ისეთნაირად, რომ ეს უკანასკნელი აღარ რეაგირებს *P*-ფაქტორის ზემოქმედებაზე. რნმ-პოლიმერაზა იმდენად არაკონტროლირებადი ხდება, რომ აღარ რეაგირებს ტერმინაციულ სიგნალებზე.

ტრანსკრიფციის მოლეკულური მექანიზმები ევკარიოტებში

ტრანსკრიფციული ციკლი ბაქტერიებსა და ევკარიოტებში ძირითადად მსგავსი მოლეკულური მექანიზმებით მიმდინარეობს. მსგავსია ტრანსკრიფციის რეაქციის წარმმართველი ფერმენტის - რნმ-პოლიმერაზის ძირითადი სტრუქტურული ორგანიზაციაც. მაგრამ ბაქტერიებისა და ევკარიოტების ტრანსკრიფციულ პროცესებს შორის არის რიგი განსხვავებებიც:

ბაქტერიებში ტრანსკრიფციას მხოლოდ ერთი ტიპის რნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს, ევკარიოტულ უჯრედში სამი სხვადასხვა რნმ-პოლიმერაზა ასტიმულირებს ტრანსკრიფციის რეაქციას. ესენია: რნმ-პოლიმერაზა I, რნმ-პოლიმერაზა II და რნმ-პოლიმერაზა III. ეს ფერმენტები ევკარიოტული გენომის განსხვავებული გენების ტრანსკრიფციას ემსახურება.

ბაქტერიებში ტრანსკრიფციის ინიციაციისთვის რნმ-პოლიმერაზას მხოლოდ ერთი დამატებითი ცილა - σ ფაქტორი ესაჭიროება. ევკარიოტებში ანალოგიური რეაქციის განსახორციელებლად რნმ-პოლიმერაზა II მრავალ დამატებით ფაქტორს საჭიროებს, რომელებსაც ტრანსკრიფციის გენერალურ ფაქტორებს უწოდებენ.

ევკარიოტებში ტრანსკრიფციის ინიციაცია, ბაქტერიებისაგან განსხვავებით, მაღალი ორგანიზაციის ქრომატინის კომპაქტურ ნუკლეოსომურ სტრუქტურაში ხდება.

ტრანსკრიფცია რნმ-პოლიმერაზით I. რნმ-პოლიმერაზა I რიბოსომური (5,8S, 18S და 28S) გენების ტრანსკრიფციას აკონტროლებს. პრომოტორი, რომელსაც რნმ-პოლიმერაზა I ამოიცნობს, განლაგებულია -40-დან +10-მდე და -150-დან -110-მდე პოზიციებში. ტრანსკრიფციული ფაქტორები (TF) უკავშირდება პრომოტორს და ამით რნმ-პოლიმერაზა I-ის მიერ პრომოტორის ამოცნობას უზრუნველყოფს. გამაძლიერებელი უბანი კი,რომელიც ტრანსკრიფციის აღმა, +250 პოზიციაში გვხვდება, აძლიერებს ტრანსკრიფციის სიხშირეს. განსაკუთრებით სწრაფად რ-რნმ ექსპრესირება მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების ზრდის პროცესში აღინიშნება. განსხვავებულ ორგანიზმებში ცვალებადია გამაძლიერებელი თანამიმდევრობის ლოკალიზაციის ადგილი.

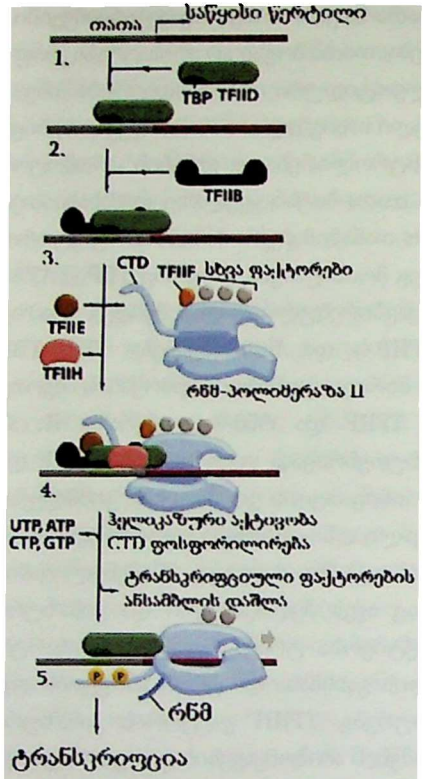
ტრანსკრიფცია რნმ-პოლიმერაზა *III-ით.* ეს ფერმენტი ტ-რნმ-ს, 5S რ-რნმ-ს, მცირე ბირთვული რნმ-სა და სხვა მცირე რნმ-ს სინთეზსს აკატალიზებს. ტრანსკრიფციული ფაქტორები უკავშირდება პრომოტორს და წამართავს მისკენ რნმ-პოლიმერაზა III-ს. რნმ-პოლიმერაზა III-ით წარმართული ტრანსკრიფციის განმასხვავებელ თავისებურებას ტრანსკრიფციის ფაქტორის დამაკავშირებელი საიტების განსხვავებული ლოკალიზაცია წარმოადგენს - ისინი გენის ტრანსკრიბირებადი უბნის შიგნითაა განლაგებული.

ტრანსკრიფცია რნმ-პოლიმერაზით II. რნმ-პოლიმერაზა II ევკარიოტული გენომის ტრანსკრიფციული აპარატის ერთ-ერთი ძირითადი ფერმენტია, რომელიც ასტიმულირებს ყველა ცილა-მაკოდირებელი და სპეციალიზებული მცირე რნმ-ების ექსპრესიას. რნმ-პოლიმერაზა II მულტიმერული ცილაა, რომლის ცალკეული სუბერთეულები (2 დიდი და 10 მცირე) ტრანსკრიფციის რეაქციის სხვადასხვა ეტაპს აკონტროლებს. ფერმენტის ყველაზე დიდი სუბერთეული შეიცავს 7 ამინომჟავასგან შემდგარ კარბოქსიტერმინალურ კუდს - CTD ან C-დომენს, რომლის სიგრძე, სახეობების მიხედვით, განსხვავებულია (სურ. 5.46). მაგალითად, საფუვრების რნმ-პოლიმერაზა II 27 ასეთ ტანდემურ გამეორებას შეიცავს, ადამიანისა - 52-ს. ის ელონგაციის სტადიას აკონტროლებს.

რნმ-პოლიმერაზა II-ის დაკავშირებას პრომოტორთან და აქტიური ტრანსკრიფციული კომპლექსის შექმნას ტრანსკრიფციული ფაქტორების რთული კომპლექსი წარმართავს, რომელთა ნაწილი ბაზალურია და ყველა გენის ტრანსკრიფციის ინიციაციის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს. ამიტომ მათ *ტრანსკრიფციის გენერალურ ფაქტორებს* უწოდებენ. გენერალური ფაქტორები ფუნქციურად σ ფაქტორის ეკვივალენტია და სამგანზომილებიანი სტრუქტურა ახასიათებს. ევკარიოტების ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს მოიხსენიებენ, როგორც TFII. ამ აბრევიატურაში TF ტრანსკრიფციულ ფაქტორს (Transcription Factor) გულისხმობს, ხოლო II - რნმ-პოლიმერაზა II-ს. TFII-ის განსხვავებული ფორმები აღინიშნება, როგორც TFIIB, TFIID, TFIIH და ა. შ.

ტრანსკრიფციის ცილოვანი ანსამბლის შექმნა იწყება დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის პრომოტორის სპეციფიკურ უბანთან ერთ-ერთი გენერალური ტრანსკრიფციული ფაქტორის - TFIID დაკავშირებით (სურ.

5.52). ის ამოიცნობს კონსესუსურ თათა-ბოქსს, რომელიც ევკარიოტებში, ჩვეულებრივ, -25 პოზიციაში გვხვდება. თათა ბოქსი არ არის ტრანსკრიფციის ერთადერთი სასიგნალო ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. სხვადასხვა გენში გვხვდება განსხვავებული სასიგნალო თანამიმდევრობებიც, მაგრამ რნმ-პოლიმერაზა II-ით კონტროლირებადი გენების პრომოტორების დიდი უმრავლესობისათვის *თათა*-ბოქსი ყველაზე დამახასიათებელი და მნიშვნელოვანი სასიგნალო თანამიმდევრობაა. TFIID ფაქტორი, თათა ბოქსთან დაკავშირების შემდეგ მოიხსენიება, როგორც TBP (TATA-binding protein - თათა-ბოქსთან დაკავშირებული ცილა). შემდეგ ეტაპზე TBP უკავშირდება მიმდებარე TFIIB-ს და წარმოიქმნება TFIIB-TBP კომპლექსი. ეს ანსამბლი, თავის მხრივ, კავშირს წარმოქმნის მეორე კომპლექსთან, რომელშიც შედის TFIIF და რნმ-პოლიმერაზა II. ამ გაერთიანებულ კომპლექსებს საფეხურებრივად უკავშირდება TFIIE და TFIIH და იქმნება ტრანსკრიფციის ინიციაციის კომპლექსი. კომპლექსი დახურულია, ვინაიდან მასში შემავალი დნმ-ის მოლეკულა ორჯაჭვიანი სტრუქტურითაა წარმოდგენილი. ამ ეტაპზე ძალზედ მნიშვნელოვანია TFIIH ფაქტორის როლი, რომელსაც აქვს ჰელიკაზური და კინაზური აქტივობები. მისი ჰელიკაზური აქტივობა ტრანსკრიფციის სასტარტო წერტილში დნმ-ის ორმაგი სპირალის გახსნასა და ტრანსკრიფციის ღია კომპლექსის ჩამოყალიბებას ემსახურება. TFIIH ფაქტორის კინაზური აქტივობა კი აკატალიზებს CTD-დომენის ამინომჟავების ფოსფორილირების რეაქციებს. ფოსფორილირების რეაქციები კომპლექსის კონფორმაციულ ცვლილებებს იწვევს. კომპლექსს ტოვებს რიგი გენერალური ფაქტორები. მაგალითად, TFIIE და TFIIH. რნმ-პოლიმერაზა დნმ-მატრიცთან უფრო მჭიდროდ ურთიერთქმედებს, იწყება რნმ-ის ჯაჭვის სინთეზი და ინიციაციის სტადიას ელონგაციის სტადია ანაცვლებს. გენერალური ტრანსკრიფციული ფაქტორი, რომლებმაც თავისი ფუნქცია შეასრულა და დატოვა კომპლექსი, მზად არის შეუერთდეს სხვა ცილოვან კომპლექსებს და თავიდან განახორციელოს ინიციაციის რეაქციები.

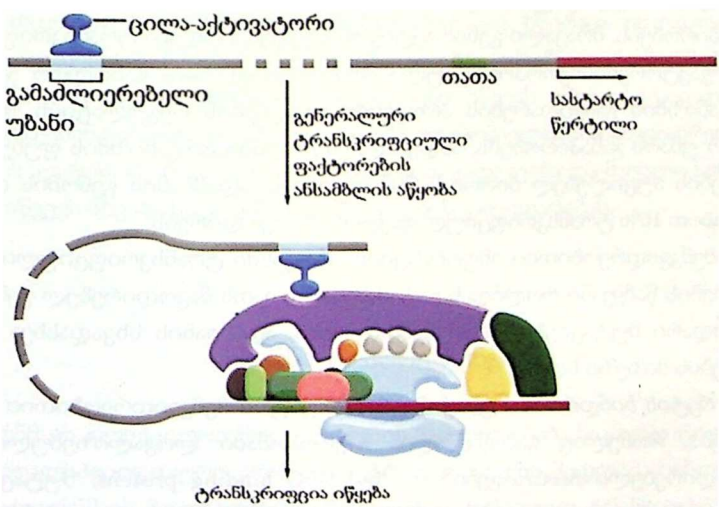


სურ. 5.52. ევკარიოტულ გენების ტრანსკრიფციის ინიციაციის სქემა რნმ-პოლიმერაზა II-ის მეშვეობით *in vitro* პირობებში (Alberts, 2008). პრომოტორი შეიცავს კონსენსუსურ თანამიმდევრობას - თათა-ბოქსს (1); ტრანსკრიფციის ინიციაციისთვის რნმ-პოლიმერაზა საჭიროებს გენერალურ ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს, TNIID უკავშირდება თათა-ბოქსს (2); სხვადასხვა ტრანსკრიფციული ფაქტორის დაკავშირებით (3) ხდება ტრანსკრიფციული ანსამბლის აწყობა (4); TFIIH-ფაქტორის ჰელიკაზური აქტივობით ხდება დნმ-ის მოლეკულის ლოკალური გახსნა, TFIIH, აგრეთვე, აკატალიზებს CTD-დომენის ფოფორილირების რეაქციებს; რეაქცია ატფ ენერგიას მოიხმარს (5); იწყება რნმ-ის სინთეზი.

ტრანსკრიფციის ინიციაციის წარმოდგენილი სქემა აღწერილია *in vitro* სისტემისთვის, რომლისთვისაც გამოყენებულ იქნა რნმ-პოლიმერაზა II, გენერალური ტრანსკრიფციული ფაქტორები და გაწმენდილი დნმ-ის მოლეკულები. ბუნებრივ პირობებში ევკარიოტულ უჯრედში დნმ კომპაქტური ნუკლეოსომური სტრუქტურითაა წარმოდგენილი. შესაბამისად, ტრანსკრიფციის ინიციაცია უფრო კომპლექსურია და გაცილებით მეტი ცილოვანი ფაქტორის მონაწილეობას ითხოვს, ვიდრე გაწმენდილი დნმ. აქ ტრანსკრიფციის რეაქციებში დამატებით ჩართულია რეგულატორული ცილები, ე.წ. ტრანსკრიფციის აქტივატორები. რნმ-პოლიმერაზა II-სა და გენერალურ ფაქტორებთან ურთიერთქმედებაში შედის სხვა ცილოვანი კომპლექსები, რომლებსაც მედიატორებს უწო-

დებენ და ბოლოს, ტრანსკრიფციის ინიციაცია მოითხოვს ქრომატინის მოდიფიცირებას, რასაც ქრომატინის გამშლელი და ჰისტონ-მამოდიფიცირებელი ცილები უზრუნველყოფს.

5.53-ე სურათზე ნაჩვენებია, თუ როგორ ხდება ცილოვანი ანსამბლის აწყობა სასტარტო წერტილთან. მაგრამ ეს არ შეიძლება ჩაითვალოს დადგენილ მოდელად, ვინაიდან ცილოვანი კომპლექსის აწყობის თანამიმდევრობა და თავად კომპლექსი სხვადასხვა გენში განსხვავებულია. მნიშვნელოვანია, რომ ტრანსკრიფციაში მონაწილე სხვადასხვა ცილოვანი კომპლექსი დნმ-ის მოლეკულიდან მოშორებით ურთიერთქმედებს ერთმანეთთან და მათი ანსამბლის აწყობა დნმ-ის სპეციფიკურ უბნებში მოტანის შემდეგ ხდება.



სურ. 5.53. ტრანსკრიფციის ანსამბლის აწყობის სქემა

რაც შეეხება ელონგაციის სტადიას, იგი ევკარიოტებში 60-70 ნუკლეოტიდის სინთეზის შემდეგ იწყება. აქ გენერალური ფაქტორების უმეტესობა ტოვებს კომპლექსს. ნაწილი კი, მაგალითად, **TFIIF** რჩება რნმ-პოლიმერაზასთან კავშირში. ელონგაციის სტადიაზე მას ემატება სხვა დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები, რომლებსაც ელონგაციური ფაქტო-

რები ეწოდება. ელონგაციური ფაქტორები რჩება ურთიერთქმედებაში სინთეზის დასრულებამდე და ელონგაციის რეაქციის მიმდინარეობას აკონტროლებს. ტერმინაციულ უბანში ტრანსკრიფციის პროცესი სრულდება: რნმ-პოლიმერაზა II დეფოსფორილირებას განიცდის, აღდგება მისი თავდაპირველი კონფორმაცია, ტოვებს დნმ-მატრიცას და მზად არის, ჩაერთოს ტრანსკრიფციის ახალ ციკლში.

კლინიკური კავშირები

ყველა ცოცხალი ორგანიზმის გენის ექსპრესიის რეგულაციაში აუცილებელად მონაწილეობს ტრანსკრიფციის ფაქტორები (TF). ტრანსკრიფციის ფაქტორები წარმოადგენს დნმ-დამაკავშირებელ ცილების ჯგუფს, რომელიც გენის ტრანსკრიფციის გაძლიერებას ან შესუსტებას განაპირობებს. მრავალი გენის აქტივობა რეგულირდება ტრანსკრიფციული ფაქტორების კორპორაციული მოქმედებით, რაც, საბოლოო ჯამში, ორგანიზმის განვითარების პროცესში ამ გენების რეგულაციის უნიკალურ უნარს განაპირობებს. ამდენად, ეს ცილები ორგანიზმის ფუნქციონირების აუცილებელ პირობას წარმოადგენს. ადამიანის გენომის დაახლოებით 10% ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს აკოდირებს.

მემკვიდრეობითი ინფორმაციის პროცესში ტრანსკრიფციული ფაქტორების წამყვანი როლიდან გამომდინარე, მათს მაკოდირებელ გენებში მომხდარი მუტაციები, ხშირ შემთხვევაში, ადამიანის სხვადასხვა დაავადების მიზეზი ხდება:

რეტის სინდრომი - ფსიქონევროლოგიური მემკვიდრეობითიი დაავადება, რომელიც გამოწვეულია X-ქროსომაში ლოკალიზებული TF მაკოდირებელი *MeCP2*-გენის (methyl GpG binding protein) მუტაციით. გვხვდება მხოლოდ ქალებში 1:10000 — 1:15000 სიხშირით და წარმოადგენს მძიმე გონებრივი ჩამორჩენის მიზეზს.

დიაბეტის იშვიათი ფორმა, ე.წ. MODY დიაბეტი (ინგლ. maturity onset diabetes of the young - ზრდასრულთა ტიპის დიაბეტი ახალგაზრდებში). დაავადება გვხვდება ახალგაზრდებში, მაგრამ მიმდინარეობს შედარებით მსუბუქად, II ტიპის დიაბეტის მსგავსად. ითვლება, რომ დაავადებას იწვევს TF -მაკოდირებელი ზოგიერთი გენის (MODY1-MODY9) მუტაცია.

ვერბალური ფუნქციის მოშლა - Developmental verbal dyspraxia. დაავადებას იწვევს TF-მაკოდირებელი *foxP2*-გენის მუტაცია. აღნიშნული დაავადების დროს ადამიანს დარღვეული აქვს მეტყველების ფუნქციისთვის აუცილებელი მოძრაობის კოორდინაცია.

აუტოიმუნური დაავადება IPEX (ინგლ. immune dysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome – პოლიენდოკრინოპათიული, ენტეროპათიული, იმუნური დისრეგულაციური X-დაკავშირებული სინდრომი). გამოწვეულია TF მაკოდირებელი FOXP3 გენის მუტაციით. დაავადება ახალგაზრდა მამაკაცებში იწვევს ლიმფური ჯირკვლების გადიდებას, ეგზემას, კვებით ალერგიას და ა.შ.

ლი-ფრაუმენტის სინდრომი LFS (Li-Fraument-sindrom) - ზოგიერთი ტრანსკრიფციული ფაქტორი ონკოგენს ან ონკოსუპრესორს წარმოადგენს, მათს მაკოდირებელ გენებში მომხდარი მუტაცია, ხშირად, ონკოლოგიური დაავადების განვითარების მიზეზი ხდება. აღმოჩნდა, რომ p53 გენის 245-258 კოდონებში მომხდარი მუტაციები იწვევს იშვიათ დაავადებას ლი-ფრაუმენტის სინდრომს. დაავადება შთამომავლობას მემკვიდრეობითობის აუტოსომურ-დომინანტური ტიპით გადაეცემა და მაღალი სიხშირით იწვევს სხვადასხვა ტიპის სიმსივნეების განვითარებას.

5.7. რნმ-ის პროცესინგი

რნმ-ის ფუნქციური მოლეკულების ჩამოყალიბება საკმაოდ რთული და მაღალსპეციფიკური პროცესია. ტრანსკრიფციის შედეგად სინთეზირებული რნმ-ის მოლეკულები, რომლებსაც პირველად ტრანსიფტებს ან რნმ-წინამორბედებს უწოდებენ, იშვიათი გამონაკლისის გარდა, ჯერ კიდევ არ არის მზად უჯრედში თავისი გენეტიკური ფუნქციის შესასრულებლად. ეს მოლეკულები ჩამოყალიბების პროცესში სხვადასხვა სახის გარდაქმნებს განიცდის, რასაც რნმ-ის მომწიფება ანუ პროცესინგი (ინგლ. Processing - დამუშავება) ეწოდება. ამასთან, სხვადასხვა ტიპის რნმ-ის (მ-რნმ, ტ-რნმ, რ-რნმ) მოლეკულების პროცესინგი მეტ-ნაკლებად განსხვავებული მექანიზმით მიმდინარეობს. ტ-რნმ-ისა და რ-რნმ-ის პროცესინგი,

როგორც პროკარიოტულ, ისე ევკარიოტულ ორგანიზმებში შედარებით მსგავსი მექანიზმებით წარმოებს - პირველადი ტრანსკრიფტიდან ზედმეტი ნუკლეოტიდების ამოჭრის ან საფეხურებრივი ჩამოცილების შედეგად გამოიყოფა მომწიფებული რნმ-ის მოლეკულები. პროკარიოტული მესენჯერული რნმ უჯრედში პირველადი ტრანსრიფტის სახით რჩება და არ საჭიროებს პოსტტრანსკიფციულ გარდაქმნებს. თუმცა, არსებობს ისეთი გამონაკლისებიც, როცა პროკარიოტული მ-რნმ ჯერ ყალიბდება წინამორბედი მოლეკულის სახით და მხოლოდ პროცესინგის შემდეგ არის მზად თავისი ფუნქციის შესასრულებლად. სრულიად განსხვავებული, გაცილებით რთული მოლეკულური გარდაქმნებით ხასიათდება ევკარიოტული მ-რნმ-ის მომწიფება. ეს პროცესი მრავალ საფეხურს მოიცავს, მიმდინარეობს სპეციფიკური ფერმენტული აპარატის მონაწილეობით და საჭიროებს ენერგიას. ამ თავში დაწვრილებით განვიხილავთ თითოეული ტიპის რნმ-ის მოლეკულის პროცესინგის მექანიზმებს.

მესენჯერული რნმ-ის პროცესინგის მოლეკულური მექანიზმები

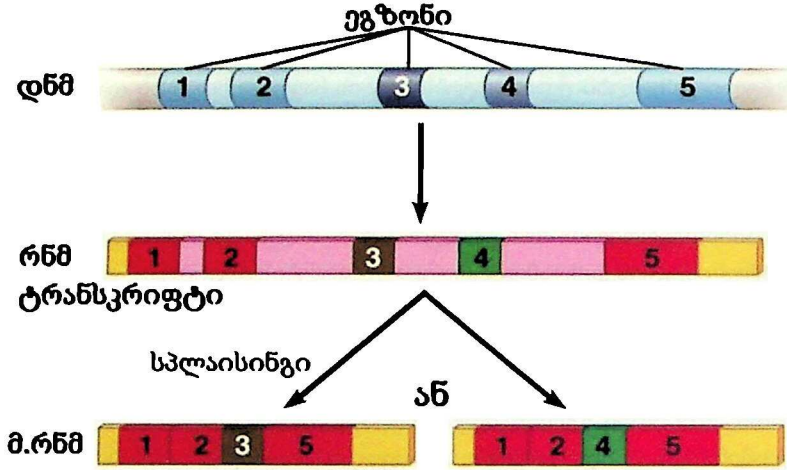
1977 წელს დადგენილი იქნა, რომ ევკარიოტული გენების აბსოლუტურ უმრავლესობას მოზაიკური, წყვეტილი სტრუქტურა აქვს. მეცნიერები ამ დროისთვის კარგად ფლობდნენ ინფორმაციას პროკარიოტული გენომის შესახებ, სადაც გენებში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაცია მის მიერ კოდირებული ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მოლეკულების ამინომჟავური თანამიმდევრობის კოლინეარულია, ანუ ყოველი გენის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა მის მიერ კოდირებული ცილის ამინომჟავურ თანამიმდევრობას შეესაბამება. ამდენად, მათთვის გენის მოზაიკური ბუნების აღმოჩენა მოულოდნელობას წარმოადგენდა. ამით დაიწყო ახალი ერა ევკარიოტული გენების ფუნქციონირების შესწავლის თვალსაზრისით.

გენის მოზაიკური (წყვეტილი) აღნაგობა გულისხმობს, რომ გენში კოდირებადი, ფუნქციური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების (ეგზონების) გვერდით განლაგებულია არამაკოდირებელი, არაფუნქციური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები (ინტრონები). ამასთან, ეგზონების სიგრძე 1000 ნუკლეოტიდს არ აღემატება და, უმეტესად, 150-200 ნუკლეოტიდს მოიცავს, ხოლო ინტრონების სიგრძე 10-დან 100 000-მდე

ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ფარგლებში მერყეობს და, ცალკეულ შემთხვევაში, 800 000-ს აღწევს. ამჟამად ცნობილია, რომ მაკოდირებელი ეგზონები ევკარიოტებში გენის საერთო სიგრძის დაახლოებით 10%-ს შეადგენს.

მესენჯერული რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტი, რომელსაც პრე-მ-რნმ-ს უწოდებენ, სრულად მოიცავს გენში შემავალ ეგზონ-ინტრონულ თანამიმდევრობებს. პროცესინგის დროს ხდება ამ თანამიმდევრობების გაჭრა, ინტრონების ამოკვეთა და ეგზონების შეერთება. ამ მოვლენას სპლაისინგი (ინგლ. Splice - შეჭდომა, გადაბმა) ეწოდება (სურ. 5.54). სპლაისინგი პირველადი ტრანსკრიფტებიდან ფუნქციური მ-რნმ-ს ჩამოყალიბების ძირითადი საფეხურია, რომელიც სხვადასხვა, ზოგჯერ კი ერთსა და იმავე გენშიც მეტ-ნაკლებად განსხვავებული მოლეკულური მექანიზმით მიმდინარეობს. გარკვეულ პირობებში, შესაძლოა, სპლაისინგი წარიმართოს ცილა-ფერმენტული აპარატის დახმარების გარეშე და არ საჭიროებდეს ენერგიის მოხმარებას. ამ ტიპის სპლაისინგს თვით-სპლაისინგი ეწოდება. სხვა შემთხვევაში, სპლაისინგის რეაქცია მოითხოვს რთულ, სპეციფიკურ ფერმენტულ აპარატს და ენერგიას ატფ-ის სახით.

აღსანიშნავია, რომ მ-რნმ-ში ეგზონების დაკავშირების თანამიმდევრობა არ არის ყოველთვის მკაცრად განსაზღვრული და, შესაძლოა, ეგზონები ერთმანეთს განსხვავებული თანამიმდევრობით (კომბინაციით) დაუკავშირდეს. ამ დროს ერთი ტიპის პირველადი ტრანსკრიფტიდან ყალიბდება სრულიად განსხვავებული მ-რნმ-ის მოლეკულები. სპლაისინგის ამ ფორმას ალტერნატიულ სპლაისინგს უწოდებენ. ნათელია, რომ ალტერნატიული სპლაისინგის დროს გენის პირველად პროდუქტში (მ-რნმ) იცვლება ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა და, შესაბამისად, ამინომჟავური თანამიმდევრობა ცილის პოლიპეტიდურ ჯაჭვში. სხვაგვარად რომ ვთქვათ, ერთი და იგივე გენი, შესაძლოა, რიგი განსხვავებული ცილოვანი მოლეკულების სინთეზს განაპირობებდეს და ზოგჯერ ერთი გენის ტრანსლაციის შედეგად ასობით განსხვავებული ცილის მოლეკულა მივიღოთ.



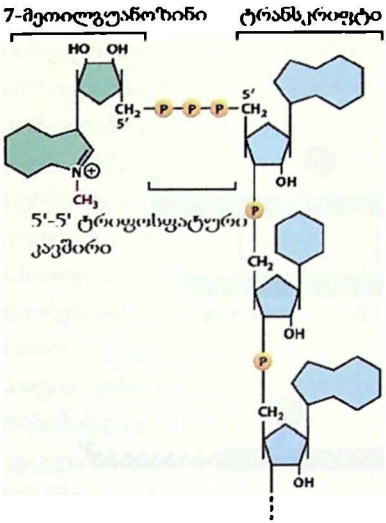
სურ. 5.54. სპლაისინგის სქემა ტროპონინ T გენის მაგალითზე.
1,2,3,4,5 - გენის ეგზონური უბნები

პირველადი ტრანსკრიფტის პროცესინგი, შესაძლოა, მასში შემავალი ნუკლეოტიდური ფუძეების მოდიფიკაციის გზით განხორციელდეს, რაც ერთი და იგივე გენიდან განსხვავებული სტრუქტურისა და ფუნქციის ცილის მოლეკულების ტრანსლაციას განაპირობებს. პროცესინგის ამ სახეს **რედაქტირება** (ინგლ. editing) ეწოდება.

სავარაუდოდ, ზოგადად, პროცესინგის მოვლენას ცოცხალი სამყაროსთვის უდიდესი ბიოლოგიური მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეს. ეს ევკარიოტულ ორგანიზმებს საშუალებას აძლევს, საკუთრივ გენის ცვალებადობის გარეშე, გარემო პირობებთან ურთიერთობაში არეგულიროს გენური პროდუქტების მრავალფეროვნება. ეს, უდავოდ, მნიშვნელოვანია გარემოს ცვალებად პირობებთან ორგანიზმის ფენოტიპური მორგების, ან, თუნდაც, ინდივიდუალური განვითარებისას ონტოგენეზის ცვალებად გარემო პირობებთან შესაბამისობის რეგულაციის თვალსაზრისით, ე. წ. ონტოგენეზური ადაპტირებისათვის.

მ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის ბოლოების მოდიფიკაცია

მ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტი, როგორც წესი, განიცდის ინტრონის 5'- და 3'-დისკრეტული ბოლოების მოდიფიკაციურ ცვლილებებს - კეპირებას და პოლიადენილირებას.



სურ. 5.55. რნმ-ის 5'-ბოლოს კეპირების რეაქცია

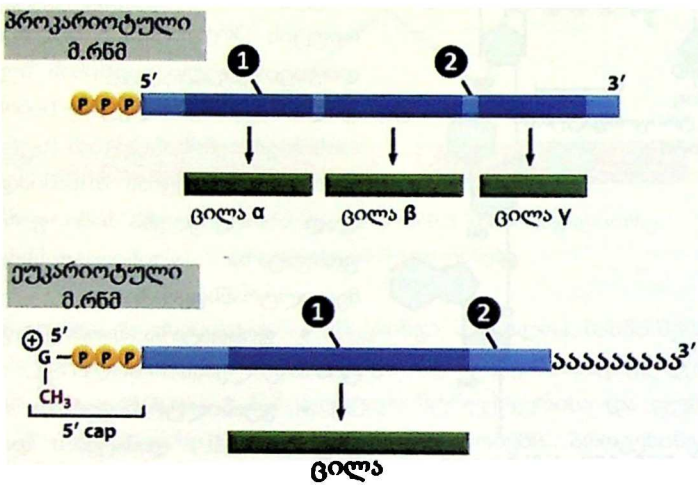
კეპი (ინგლ. cap – catabolite activator protein) ეს არის ერთ-ერთი ტრანსკრიფციული ფაქტორი. კეპირება გულისხმობს პირველადი ტრანსკრიფტის (პრე-მ-რნმ) 5'-ბოლოზე მოდიფიცირებული გუანინის ნუკლეოტიდის - 7-მეთილგუანოზინის ნაშთის მიერთების რეაქციას (სურ. 5.55). კეპირების რეაქციას თანამიმდევრულად ახორციელებს სამი ფერმენტი: ფოსფატაზა, გუანილტრანსფერაზა, მეთილტრანსფერაზა.

- **ფოსფატაზა** აწარმოებს ფოსფატის მოცილებას 5'- ბოლოზე;
- **გუანილტრანსფერაზა** ახდენს გმფ-ის (GMP) დამატებას და წარმოიქმნება 5'-5' უჩვეულო კავშირი, 5'-3'-ის ნაცვლად;
- **მეთილტრანსფერაზა** იწვევს გუანოზინის მეთილირებას.

საბოლოოდ ფორმირებულ მეთილგუანოზინს მ-რნმ-ის 5'-ბოლოზე აქვს კეპის (ქუდის) მსგავსი სტრუქტურა. ზოგჯერ მეთილირებას განიცდის კეპის მიმდებარედ განლაგებული ერთი ან ორი ნუკლეოტიდის რიბოზის 2OH- ჯგუფები.

5'-კეპები დამახასიათებელია მხოლოდ ევკარიოტული მ-რნმ-თვის, ანუ რნმ-ის მოლეკულებისთვის, რომელთა სინთეზს რნმ-პოლიმერაზა II წარმართავს (სურ. 5.56.). რნმ-პოლიმერაზა II-ს აქვს ფოსფორილირებული „კუდი" (სურ. 5.46.) ე. წ. CTD - C ტერმინალური უბანი. CTD-ტერმინალურ თანამიმდევრობას აქვს უნარი, დაუკავშირდეს როგორც კეპირების რეაქციაში მონაწილე ფერმენტებს, ასევე რნმ-ის 5'-ბოლოს.

როგორც კი კეპ-სტრუქტურის ფორმირება დასრულდება, ეს კავშირი იშლება და მ-რნმ-ის 5'-ბოლო CBC (ინგლ. cap-binding complex - კეპ-დამაკავშირებელი კომპლექსი) ცილოვან კომპლექსთან წარმოქმნის კავშირს. ყველა ეს პროცესი მიმდინარეობს ბირთვში. აღსანიშნავია, რომ კეპირების რეაქცია ტრანსკრიფციის საკმაოდ ადრულ ეტაპზე იწყება, დაახლოებით 20-30 ნუკლეოტიდის სინთეზირების შემდეგ, როგორც კი დასრულდება მისი 5'-ბოლოს ფორმირება.



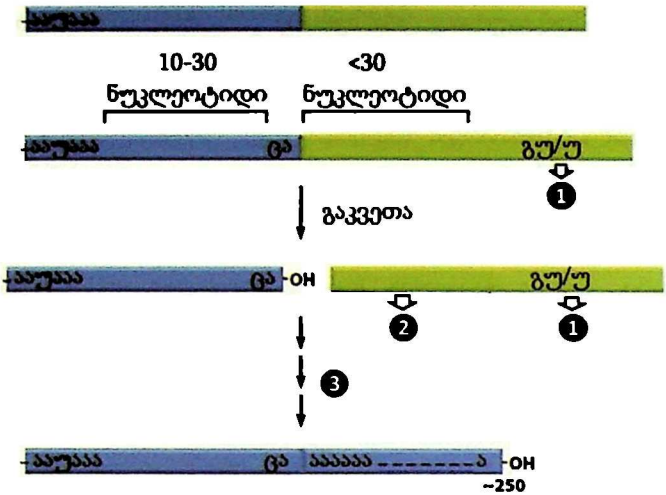
სურ. 5.56. პროკარიოტული და ევკარიოტული მ-რნმ-ის მოლეკულების სტრუქტურების შედარება

რა ფუნქცია აქვს კეპს? 5-კეპით მ-რნმ-ის მონიშვნა უჯრედში არსებული სხვა ტიპის რნმ-ის მოლეკულებისაგან მისი დიფერენცირების საშუალებას იძლევა; იცავს არასპეციფიკური ნუკლეაზების ზემოქმედებისაგან; ხელს უწყობს მის ტრანსპორტს ბირთვიდან ციტოპლაზმაში; აგრეთვე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მ-რნმ-ის ტრანსლაციის პროცესში - უზრუნველყოფს რიბოსომასთან მ-რნმ-ის დაკავშირებას.

პოლიადენილირება - ინფორმაცია რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის 3'-ბოლოს მოდიფიცირების შესახებ დნმ-ის მოლეკულაშია კოდირებული, მაგრამ მისი ამოცნობის რეაქციები იწყება მხოლოდ დნმ-მატრი-

ცის მ-რნმ-ის მოლეკულად ტრანსკრიბირების შემდეგ. გაივლის რა რნმ პოლიმერაზა ამ სასიგნალო თანამიმდევრობას, რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის გაკვეთისა და მასთან რიგი ადენილატების მიერთების შედეგად, ყალიბდება პრე-მ-რნმ-ის სპეციფიკური ბოლო, ე.წ. „პოლიადენილატების კუდი".

სასიგნალო, კონსენსუსური, ჰექსამერული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა - *აააუაა* მდებარეობს გაკვეთის საიტის *(ცა)* მარცხნივ -10 -30 პოზიციაში, ხოლო გაკვეთის საიტის მარჯვნივ, დაახლოებით +30 პოზიციაში განთავსებულია *გუ* -ით ან *უ*-ით მდიდარი თანამიმდევრობა (სურ. 5.57). რნმ ტრანსკრიფტის 3'-ბოლოს ფორმირებას საკმაოდ რთული ფერმენტული აპარატი ემსახურება (სურ. 5.58), რომელთა შორის განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ორი მულტიმერული ცილა - CPSF (ინგლ. Cleavage and Polyadenylation Specificity Factor - გაკვეთისა და პოლიადენილირების სპეციფიკური ფაქტორი) და CstF (ინგლ. Cleavage Stimulation Factor - გაკვეთის მასტიმულირებლი ფაქტორი). პირველი უკავშირდება *აააუაა* კონსესუსურ თანამიმდევრობას, ხოლო მეორე *გუ*-ით მდიდარ თანამიმდევრობას, რის შემდეგაც სპეციფიკური ენდონუკლეაზა, ე.წ. „გაკვეთის დამატებითი ფაქტორი" გაჭრის რნმ-ის მოლეკულას შესაბამის უბანში. რეაქციის შემდეგ საფეხურს ფერმენტ პოლიადენილპოლიმერაზის (PAP) მიერ ადენილატების (ადენოზინმონოფოსფატების) მიერთება წარმოადგენს, რის შედეგადაც მ-რნმ-ის 3'-ბოლოზე წარმოიქმნება „პოლიადენილატების კუდი" (პოლი-ა კუდი). *პოლი-ა (Poly-A)* თანამიმდევრობის სინთეზის დასრულებას უზრუნველყოფს დამატებითი პოლი-ა დამაკავშირებელი ცილა-ფერმენტი. მისი სიგრძე 100-250 ადენინის ფუძისაგან შემდგარი თანამიმდევრობით განისაზღვრება. იმ რნმ-პოლიმერაზებისაგან განსხვავებით, რომლებიც რნმ-ის ტრანსკრიფციის პროცესს წარმართავს, PAP-ფერმენტი არ საჭიროებს დნმ-მატრიცს, რაც იმას ნიშნავს, რომ გენომი არ შეიცავს 3'- ბოლოს პოლი-ა კუდის მაკოდირებელ თანამიმდევრობას. რაც შეეხება პოლი-ა დამაკავშირებელ ფერმენტს, აქ ცილა-სუბსტრატული კავშირი შენარჩუნდება პოლი-ა კუდის ფორმირების დასრულების შემდეგაც, ხოლო ციტოპლაზმაში მომწიფებული მ-რნმ-ის ტრანსპორტირების მერე მონაწილეობას ღებულობს ტრანსლაციის პროცესის წარმართვაში.

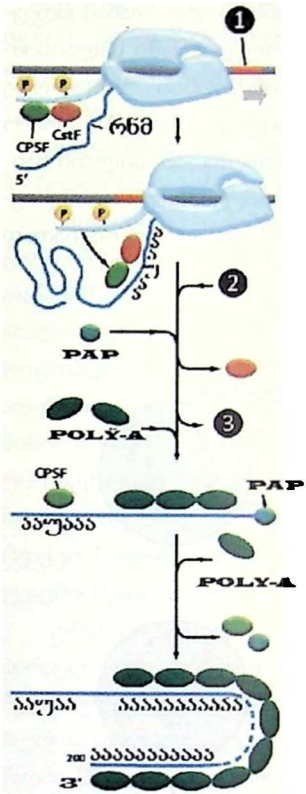


სურ. 5.57. მ-რნმ-ის 5'-ბოლოს პოლიადენილირების სქემა.
1 - გუანინითა და ურაცილით ან ურაცილით მდიდარი თანამიმდევრობა;
2 - მ-რნმ-ის ეს უბანი ბირთვში იშლება; 3 - ურაცილების დამატება

აღსანიშნავია, რომ 3'-ბოლოზე ადენილატების მიერთების რეაქცია მ-რნმ-ის სინთეზის დასრულებას მოსდევს, ან კიდევ, პირველადი ტრანსკრიფტის სინთეზის პროცესში წარმოებს. ამ უკანასკნელ შემთხვევაში, რნმ-პოლიმერაზა განაგრძობს ტრანსკრიფციის რეაქციას, რომელიც ტერმინაციულ საიტში სრულდება. მაგრამ ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომელიც პოლი-ა კუდის შემდეგ ტრანსკრიბირდება, არ არის დაცული 5'-კეპით და, ამდენად, ადვილად ექვემდებარება ეგზონუკლეაზების ზემოქმედებას და საკმაოდ მალე იშლება.

პოლიადენილატების მიერთება ხდება, როგორც პრო-, ისე ევკარიოტული მ-რნმ-ის მოლეკულების 3-ბოლოებზე, თუმცა, ევკარიოტული მ-რნმ-ის მოლეკულების პოლი-ა კუდი გაცილებით გრძელია პროკარიოტულთან შედარებით. გამონაკლისს წარმოადგენს ჰისტონური ცილების მაკოდირებელი მ-რნმ-ის მოლეკულები, რომლთა 5'-ბოლოს ადენილატების მიერთების რეაქცია არ ხდება და ციტოპლაზმაში პოლი-ა კუდის გარეშე გადადის. ამასთან, მათი სიცოცხლის ხანგრძლივობა სულ 30 წთ-ს შეადგენს. მაშინ, როცა პოლი-ა კუდის მქონე მ-რნმ-ის მოლეკულების

სიცოცხლის ხანგრძლივობა რამდენიმე სთ-ს და, ზოგჯერ, რამდენიმე დღესაც კი შეადგენს.

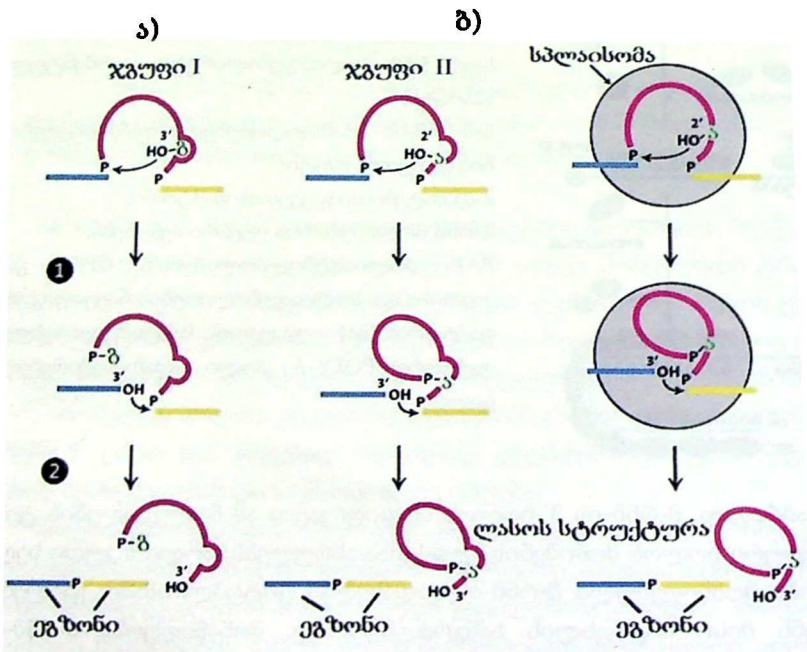


სურ. 5.58. პოლიადენილირების ფერმენტული აპარატი.
1-მ-რნმ-ის არამაკოდირებელი თანამიმდევრობის გაკვეთის საიტი;
2-დამატებითი გაკვეთის ფაქტორი;
3-რნმ-პოლიმერაზის უეცარი შეჩერება;
PAP - პოლიადენილპოლიმერაზა; GPSF - გაკვეთისა და პოლიადენილირების სპეციფიკური ფაქტორი; CstF - გაკვეთის მასტიმულირებელი ფაქტორი; POLY-A- პოლი-ა დამაკავშირებელი ცილა.

ამრიგად, მ-რნმ-ის 3'-ბოლოს მოდიფიკაცია ამ მოლეკულების ტერმინალური ბოლოს მონიშვნის ფუნქციას ასრულებს; პოლი-ა კუდი ხელს უწყობს მომწიფებული მ-რნმ-ის გადასვლას ციტოპლაზმაში; გავლენას ახდენს მისი სიცოცხლის ხანგრძლივობაზე; მონაწილეობს მ-რნმ-ის ტრანსლაციის პროცესში.

სპლაისინგი

მ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის ეგზონურ-ინტრონული თანამიმდევრობის საზღვრები მარკირებულია კონსენსუსური თანამიმდევრობებით. ეს თანამიმდევრობები პრე-მ-რნმ-ის მოლეკულაში სპლაისინგის განხორციელების ადგილებს მონიშნავს ინტრონის 5'-ბოლოზე განლაგებული თანამიმდევრობა - 5'- სპლაის-საიტად იწოდება, ხოლო ინტრონის 3'-ბოლოზე განლაგებული თანამიმდევრობა - 3'-სპლაის საიტად. ზოგჯერ მათ დონორულ და აქცეპტორულ საიტებადაც მოიხსენიებენ, თუმცა, უკანასკნელ პერიოდში ეს ტერმინები სულ უფრო იშვიათად გამოიყენება.



სურ. 5.59. თვითსპლაისინგის სქემა.

1 - ტრანსესტერიფიკაციის I რეაქცია; 2 - ტრანსესტერიფიკაციის II რეაქცია. ეგზონების შეერთებით გამოთავისებულ ინტრონს ლასოს ფორმა აქვს (ბ); ა) I ჯგუფის ინტრონები; ბ) II ჯგუფის ინტრონები

სპლაისინგის რეაქციის განხორციელებისათვის, ასევე, აუცილებელია ინტრონის შიგნით არსებული კონსენსუსური თანამიმდევრობა, რომელსაც განშტოების წერტილის საიტს (ინგლ. branch point site) უწოდებენ. ეს თანამიმდევრობა, უმეტესად, 3'-ბოლოსთან ახლოს მდებარეობს და მას პირიმიდინებით მდიდარი - პოლიპირიმიდინის (Poly-Py) უბანი მოსდევს.

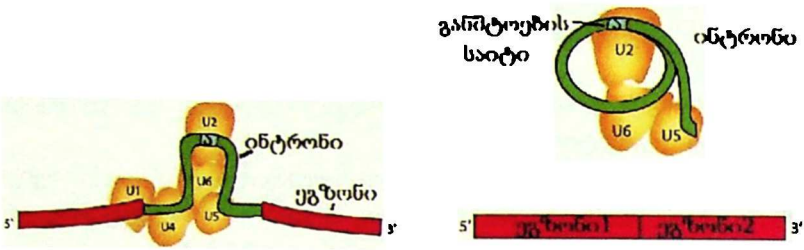
სპლაისინგის კონსენსური თანამიმდევრობებია: *გუ* - 5' ბოლოზე, *აგ* - 3'- ბოლოზე, *ა*- განშტოების საიტში.

სპლაისინგის ქიმიური მექანიზმის საფუძველს ტრანსესტერიფიკაციის რეაქცია წარმოადგენს, რომელიც პრე-მ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობებს შორის ფოსფოდიეთერული ბმების გაწყვეტითა და ახალი კავშირების წარმოქმნით მიმდინარეობს (სურ. 5.59-ბ). ტრანსესტერიფიკაციის პირველ საფეხურზე განშტოების საიტის კონსერვატიული ადენინის პენტოზის 2'-OH-ჯგუფი ზემოქმედებს 5'-სპლაის-საიტის გუანინის ფოსფორის ჯგუფზე, რის შედეგადაც ფოსფოდიესტერული კავშირი ინტრონის 5'-ბოლოსა და ეგზონს შორის ირღვევა. ინტრონის გამოთავისუფლებული 5'-ბოლო უკავშირდება განშტოების საიტის ადენინს. რეაქციის მეორე საფეხურზე, პირველი ეგზონის 5'-ბოლოს 3'OH-ჯგუფი უკავშირდება, ინტრონის 3'- ბოლოს ფოსფორის ჯგუფი.

ტრანსესტერიფიკაციის მეორე საფეხური მოიცავს ორ ქვესაფეხურს. პირველი - ეგზონის 5'-ბოლოს მიერთება 3'-ბოლოსთან, ანუ მაკოდირებელი უბნების სპლაისინგი; მეორე - ინტრონის ამოჭრა, რომელიც შეკრულია თავისუფალი 5'-ბოლოსა და განშტოების საიტის ადენინს შორის წარმოქმნილი კავშირით. გამოთავისუფლებულ ინტრონს მარყუჟის ფორმა აქვს და მას ინტრონულ ლასოს უწოდებენ (სურ. 5.59-2,ბ; სურ. 5.60-ბ).

სპლაისინგის ფერმენტული აპარატი. სპლაისინგის რეაქციას რთული "მოლეკულური მანქანა" წარმართავს, რომლიც რნმ-ისა და ცილის მოლეკულების მრავალკომპონენტიან კომპლექსს წარმოადგენს. ამ კომპლექსს *სპლაისოსომას* უწოდებენ. სპლაისინგის პროცესში მონაწილეობას ღებულობს ბირთვული რნმ-ის მოლეკულები. მათ, ზომების გამო (თითოეული სულ 100-300 ნუკლეოტიდისაგან შედგება), *მცირე*

ბირთვულ რნმ-ების (მბ-რნმ) - (ინგლ. small nuclear RNAs - ***snRNAs***) უწოდებენ. სპლაისინგის რეაქციებს ხუთი ძირითადი მბ-რნმ აკატალიზებს – U1, U2, U3, U4 და U6 (სურ. 5.60-ა).



ა) ბ)

სურ. 5.60. სპლაისინგის პროცესებში მონაწილე მცირე ბირთვული რნმ-ების (snRNAs) კომპლექსი (ა); ბ) ინტრონული „ლასოს" ჩამოყალიბება; U2-U6 რნმ-რნმ კავშირი

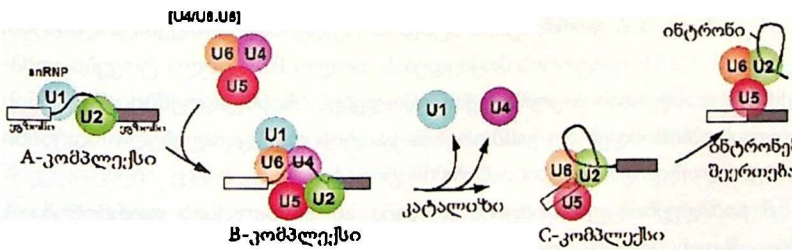
თითოეული მათგანი უკავშირდება რამდენიმე (სულ მცირე შვიდ) ცილის მოლეკულას და ***წარმოქმნის მცირე ბირთვულ რიბონუკლეოპროტეინებს (მბ-რნპ)*** - (ინგლ.small nuclear ribonucleoprotein - ***snRNP***), მათ შემოკლებით ***„სნარფსებს"*** (snurps) უწოდებენ. სპლაისოსომის კომპლექსის აგებაში სხვა ცილებიც მონაწილეობს, რომლებიც შედარებით სუსტ კავშირს ამყარებს მრავალკომპონენტიან კომპლექსთან. სნარფსები სპლაისოსომის ძირითადი შემადგენელი ნაწილია, რომლებიც რეაქციის მსვლელობის სხვადასხვა ეტაპზე სპეციფიკურ კომპლექსებს წარმოქმნის და, საბოლოო ჯამში, უჯრედში სპლაისინგის განხორციელებას უზრუნველყოფს. ამ რეაქციის ენერგიის წყაროს ატფ-ის მოლეკულები წარმოადგენს.

სპლაისინგის პროცესში მცირე ბირთვულ რიბონუკლეოპროტეინებს სამი მნიშვნელოვანი ფუნქცია აკისრია: 5'-სპლაის საიტის და განშტოების შუალედური საიტის ამოცნობა; ამ საიტების მიტანა ერთმანეთთან; რნმ-ის ინტრონების გაკვეთა და ეგზონების შეერთების რეაქციების კატალიზი. ეს რეაქციები რნმ-რნმ, რნმ-ცილისა და ცილა-ცილა კავშირების წარმოქმნით მიმდინარეობს. ამასთან, სპლაისოსომის კომპონენტი, რომელიც

ამთავრებს სპლაისინგის რეაქციაში თავის კონკრეტულ ფუნქციას, ტოვებს სპლაისოსომის მოლეკულურ კომპლექსს.

სპლაისოსომის კომპლექსის ჩამოყალიბებისა და სპლაისინგის რეაქციის განხორციელების დროს რნმ-რნმ კავშირები შეიძლება დამყარდეს ერთი სახის ან სხვადასხვაგვარ მბ-რნპ-სა და პრე-მ-რნმ-ს შორის. მაგალითად, სპლაისინგის პროცესში აქტიურად მონაწილეობს ურაცილით (U) მდიდარი მბ-რნპ-ების კლასი. სპლაისინგის რეაქციის საწყის ეტაპზე U1-მბ-რნმ ამოიცნობს პრე-მ-რნმ-ის 5'-სპლაის-უბანს შემდეგ ეტაპზე ამ უბანს უკავშირდება U6 განშტოების საიტში რნმ-რნმ ტიპის კავშირი წარმოიქმნება U2 მბ-რნპ-სთან. ორი სხვადასხვა ტიპის რნმ-ს შორის კავშირის მაგალითს წარმოადგენს U2-U6 კავშირი, რომელიც ემსახურება ინტრონის 5'-ბოლოსა და განშტოების საიტის ერთმანეთთან მიერთების ეტაპის განხორციელებას (სურ. 5.60-ბ).

სპლაისინგის რეაქციაში ჩართულია სხვადასხვა ცილოვანი ფაქტორი, რომლებიც არ შეიცავს რნმ მოლეკულებს. მაგალითად, U2AF დამხმარე ფაქტორი (ინგლ. U2 Auxiliary Factor – U2AF) ამოიცნობს **პოლი-ა** უბანს, ამ რეაქციის ინიციაციას უზრუნველყოფს სხვა ცილოვანი ფაქტორი - BBP (ინგლ. brunch-point binding protein - განშტოების საიტის დამაკავშირებელი ცილა), რომელიც შემდეგ ეტაპზე ტოვებს U2 მბ-რნპ-ს.



სურ. 5.61. სპლაისინგის რეაქციის ეტაპები

სპლაისინგის მიმდინარეობის ეტაპები. სპლაისინგის რეაქცია მკაცრად განსაზღვრული თანამიმდევრობით წარიმართება. სპლაისოსომის კომპლექსის სხვადასხვა კომპონენტი, უზრუნველყოფს რა რეაქციის განსაზღვრული ეტაპის განხორციელებას, თავისი ფუნქციის შესრულე-

ბის შემდეგ ტოვებს კომპლექსს და რეაქციის მომდევნო ეტაპზე სხვა - სპეციფიკური კომპონენტები ერთვება.

სპლაისინგის რეაქციის საფეხურებრივი მიმდინარეობის მოლეკულური ეტაპები ნაჩვენებია სურათზე 5.61.

სპლაისინგის რეაქცია შემდეგ ეტაპებს მოიცავს:

E-კომპლექსის ფორმირების სტადია. სპლაისინგის რეაქცია U1 მბ-რნჰ-ს მიერ რნმ 5'-სპლაის-საიტის ამოცნობით იწყება. პარალელურად U2AF-ფაქტორი ამოიცნობს 3'-სპლაის საიტს. ამ ცილის ერთი სუბერთეული უკავშირდება პოლი-ა (Py) უბანს, ხოლო მეორე - 3'-სპლაის საიტს. აქვე მყარდება კავშირი განშტოების საიტის დამაკავშირებელ BBP ცილასთან. სპლაისინგის ამ ეტაპზე განხორციელებული რეაქციების ერთობლიობას ადრეულ, *E- კომპლექსს* (ინგლ. early-ადრეულ), ან, ზოგჯერ, საორიენტაციო კომპლექსსაც უწოდებენ, ვინაიდან მისი კონსტრუქცია პრე-მ-რნმ-ის, როგორც სპლაისინგის სუბსტრატის, ფორმირებას განსაზღვრავს. ამ კომპლექსში მცირე რნმ-ისა და პრე-მ-რნმ სუბსტრატს შორის კომპლემენტური დაწყვილების შედეგად და მათ შორის წყალბადური ბმების წარმოქმნის საფუძველზე ყალიბდება რნმ-ის ორჯაჭვიანი სტრუქტურა. გამონაკლისს წარმოადგენს 3'-ბოლოს კონსენსუსური ადენინი, რომელიც არ უწყვილდება U2 მბ-რნჰ-ს ურაცილს, რის გამოც მომატებული რეაქციისუნარიანობით ხასიათდება.

A-კომპლექსის ფორმირების სტადია. რეაქციაში ერთვება U2 მბ-რნჰ, აძლიერებს U2AF ფაქტორის მოქმედებას, ხოლო BBP ცილა ტოვებს კომპლექსს. ამ თანწყობას A-კომპლექსს უწოდებენ. A კომპლექსში ინტრონის 3'-ბოლოსთან მიმდებარე განშტოების საიტის გაუწყვილებელი ადენინი გამობერილობის სახით აღინიშნება (სურ. 561).

B-კომპლექსის ფორმირების სტადია. ამ კომპლექსის ფორმირება A კომპლექსთან U4, U6 და U5 და U1 ბირთვული რნმ-პროტეინების მიერთებით ხორციელდება. U4 და U6, მათი მოლეკულების რნმ-ის კომპლემენტური გაწყვილების საფუძველზე ერთმანეთთან მყარ კავშირში იმყოფება. U5 მათთან შედარებით სუსტ ასოციაციურ ურთიერთქმედებას ავლენს, ვინაიდან კავშირი მყარდება მხოლოდ ცილა-ცილა ტიპის ურთიერთქმედებით. ამ სამმაგი ნუკლეოპროტეინული ნაწილაკის მიერთებით A კომპლექსი გარდაიქმნება B კომპლექსად.

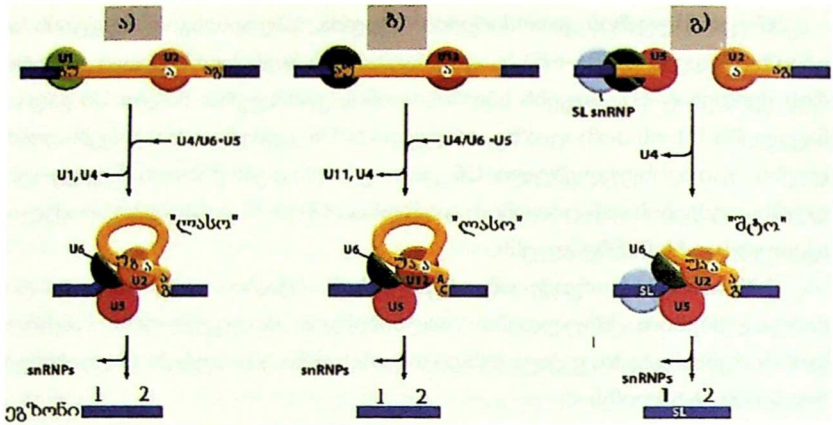
C- კომპლექსის ფორმირების სტადია. სპლაისინგის რეაქციის ამ ეტაპზე წყდება U1 მბ-რნპ-სა და პრე-მ-რნმ-ს შორის არსებული კავშირი, რის შემდეგაც U1 ტოვებს სპლაისოსომის კომპლექსს, ხოლო U6 გადაინაცვლებს U1-ის პოზიციაზე. ირღვევა U4/U6 კავშირი - U4 ტოვებს კომპლექსს. გათავისუფლებული U6 ურთიერთქმედებს U2-თან ნუკლეოტიდური ფუძეების გაწყვილებით და წარმოიქმნება C კომპლექსი, რომელიც აქტიურ საიტს წარმოადგენს.

სპლაისინგის რეაქციის კატალიზის სტადია. აქტიური საიტის ჩამოყალიბებით სრულდება „სპლაისინგის მოლეკულური მანქანის" ფორმირების ეტაპი. ყველა შემდეგი გარდაქმნა ემსახურება სპლაისინგის რეაქციის კატალიზს.

კატალიზის პირველ ეტაპზე აქტიური საიტი ფარავს ინტრონის 5'-სპლაის ბოლოს და განშტოების საიტებს და ხელს უწყობს ტრანსესტერიფიკაციის პირველი რეაქციის განხორციელებას. ტრანსესტერიფიკაციის მეორე რეაქციას აკატალიზებს U5 მბ-რნპ, რომელიც ხელს უწყობს ინტრონის 5-' და 3'-ბოლოების დაახლოებას, ინტრონის „ლასოს" გამოყოფას და ორი ეგზონის შეერთებას.

სპლაისინგის რეაქციის დასასრულს მ-რნმ-ის და მბ-რნპ-ს მოლეკულები სცილდება ერთმანეთს, მაგრამ ეს უკანასკნელი რჩება დაკავშირებული ინტრონის ლასოსთან, ვიდრე არ მოხდება ინტრონის დეგრადაცია - ნუკლეოტიდებად დაშლა.

სპლაისინგის ტიპები. ევკარიოტებში სპლაისინგის რამდენიმე გზა არსებობს. ზემოთ აღწერილი მექანიზმი სპლაისინგის *ძირითად* ტიპს მიეკუთვნება. ევკარიოტული ორგანიზმების სხვადასხვა გენის მოზაიკური სტრუქტურის ეგზონურ-ინტრონული თანამიმდევრობების ამოცნობა და სპლაისინგი სწორედ ამ თანამიმდევრობით ხორციელდება (სურ. 5.62.ა.).



სურ. 5.62. სპლაისინგის ტიპები:
ა) ძირითადი; ბ) მინორული; გ) ტრანს-სპლაისინგი

სპლაისინგის ერთადერთ ტიპს იყენებს მხოლოდ უმარტივესი ევკარიოტული (მაგალითად, საფუვრის) გენები. სხვა ევკარიოტული ორგანიზმების - მწერების, მცენარეების, ძუძუმწოვრების გენების პირველადი ტრანსკრიფტის გარკვეული ნაწილის გარდაქმნები სპლაისინგის ძირითადი ტიპის მექანიზმისგან განსხვავებული გზით მიმდინარეობს. ამ პროცესის განხორციელებას უზრუნველყოფს სპლაისომის განსხვავებული, ე.წ. ***მინორული*** ფორმა (სურ. 5.62-ბ). იქიდან გამომდინარე, რომ სპლაისოსომის კომპლექსში U12 ტიპის მცირე ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინები შედის, მას U12 სპლაისოსომას უწოდებენ. U12 სპლაისომის შიგნით და მბ-რნჰ-ს მოლეკულებსა და პრე-მ-რნმ-ს შორის იგივე ტიპის რნმ-რნმ კავშირები მყარდება, რაც ძირითად სპლაისოსომურ კომპლექსში გვაქვს. განსხვავება სპლაისოსომის ამ ორ ტიპს შორის იმაში გამოიხატება, რომ ისინი პრე-მ-რნმ-ის 5'-, 3'-ბოლოებსა და განშტოების საიტის შიგნით განსხვავებულ კონსენსუსურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს ამოიცნობს. U12 სპლაისომური კომპლექსის მოქმედების მექანიზმი ძირითადი სპლაისოსომური კომპლექსის მსგავსია და ინტრონული მარყუჟის ამოკვეთით და ეგზონური საიტების შეერთებით მთავრდება. ევკარიოტების რამდენიმე ასეული გენის სპლაისინგი მხოლოდ

მინორული ტიპით წარიმართება, მათ შორის ადამიანის გენების 0,1% მინორული, ანუ U12 მექანიზმით სპლაისირდება. საინტერესოა, რომ ბუმბუმწოვრების ზოგიერთი პრე-მ-რნმ-ის ერთსა და იმავე მოლეკულაში ინტრონების ნაწილის ამოკვეთა წარმოებს ძირითადი, ხოლო ნაწილისა - მინორული მოლეკულური მექანიზმით.

ცნობილია სპლაისინგის კიდევ ერთი ვარიაცია, რომელსაც **ტრანს-სპლაისინგს** უწოდებენ. ტრანს-სპლაისინგის არსი ორი დამოუკიდებელი პრე-მ-რნმ-ის ეგზონების შეერთებაში მდგომარეობს, რაც, საბოლოო ჯამში, ერთიანი მომწიფებული რნმ-ის მოლეკულის ჩამოყალიბებას უწყობს ხელს. ტრანს-სპლაისინგის მექანიზმს ექვემდებარება ერთუჯრედიანი ცხოველების - ტრიპანოსომების ერთ-ერთი სახეობის (აფრიკული ძილის დაავადების გამომწვევი) მ-რნმ-ის გენების აბსოლუტური უმრავლესობა და ნემატოდების გენების 1%. ყველა შემთხვევაში ცალკეულ ეგზონს შეუძლია, დაუკავშირდეს უჯრედში არსებულ სხვადასხვა რნმ-ტრანსკრიფტს. სპლაისინგის ამ მექანიზმით მიღებულ მ-რნმ მოლეკულებს აქვთ ერთი და იგივე 5'- და განსხვავებული 3'-ბოლოები. ტრანს-სპლაისინგში მონაწილეობს, როგორც სპლაისოსომის კომპლექსისთვის დამახასიათებელი კომპონენტები, ასევე, უნიკალური მბ-რნპ მოლეკულები, რომელთაც ლიდერული მბ-რნპ (SL RNPs) ეწოდება. ფიქრობენ, რომ დამახასიათებელი 5'-ეგზონის არსებობა განსაზღვრავს ტრანსლაციის პროცესის მაქსიმალურ ეფექტურობას (სურ. 5.62-გ).

როგორც ვხედავთ, პრე-მ-რნმ-ის სპლაისინგის რეაქცია საკმაოდ რთული მოლეკულური მექანიზმით არის უზრუნველყოფილი და ის სპლაისოსომური კომპლექსის დახმარებით მიმდინარეობს. ამასთან, სპლაისინგის პროცესი საკმაოდ ცვალებადია, რომელშიც მონაწილეობს მეტ-ნაკლებად განსხვავებული ფერმენტული კომპლექსი და ინტრონული უბნების განსხვავებული კონსესუსური თანამიმდევრობები. პრე-მ-რნმ-ის სპლაისომურ ინტრონულ უბნებს ბირთვული პრე-მ-რნმ-ის ინტრონული კლასი ეწოდება.

ფიქრობენ, რომ წყვეტილი აგებულების გენები ერთიანი წარმოშობისაც რომ იყოს, განვითარების შემდეგ ეტაპებზე, დივერგენციის შედეგად (ერთმანეთისაგან საკმაოდ დაცილების გზით) სპლაისოსომური კომპლექსის ჩამოყალიბება ევოლუციური განვითარების შედეგად უნდა

მომხდარიყო. ჩნდება კითხვები: როგორ იყო უზრუნველოფილი ევოლუციის ადრეულ ეტაპებზე სპლაისინგის რეაქციები? რა ტიპის გარდაქმნები არეგულირებდა ამ პროცესს?

ამ კითხვებზე პასუხი ზოგიერთი გენის თვითსპლაისინგის მოვლენის აღმოჩენის შემდეგ გახდა შესაძლებელი.

თვითსპლაისინგი

მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში *თომას ჩეკის* მიერ აღმოჩენილ იქნა ფერმენტული აქტივობის მქონე რნმ-ის მოლეკულები, რომლებსაც *რიბოზიმები* უწოდეს. ჩატარებულმა ექსპერიმენტულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ზოგიერთი ორგანიზმის წყვეტილი გენების გარკვეული ნაწილის რნმ-წინამორბედის მომწიფება ცილა-ფერმენტის მონაწილეობის გარეშეც არის შესაძლებელი და აქ კატალიზატორის როლს თავად რნმ-ის მოლეკულები ასრულებს. შეიძლება ითქვას, რომ ამ აღმოჩენამ მეცნიერები საგონებელში ჩააგდო, ვინაიდან ფართოდ გავრცელებული მოსაზრების თანახმად, ცოცხალ უჯრედში კატალიზატორის ფუნქციის შესრულება მხოლოდ ცილოვან მოლეკულებს შეეძლოთ. ამ რწმენის საფუძველს ცილის მოლეკულის მრავალფეროვანი, მოქნილი, სამგანზომილებიანი სტრუქტურის მიერ აქტიური ცენტრების წარმოქმნის უნარი წარმოადგენდა, რაც ბიოქიმიური რეაქციების განხორციელების აუცილებელი პირობაა.

უდაბლესი ევკარიოტული ორგანიზმის - *Tetrahymena thermophila*-ს სხვადასხვა შტამის რ-რნმ-ის პროცესინგის მექანიზმის *in vitro* პირობებში შესწავლისას დადგინდა, რომ ამ გენის სპლაისინგის უნარი თვით რნმ-ის მოლეკულის თვისებაა. რნმ-ის მოლეკულას აქვს მეორეული და მესამეული სტრუქტურების წარმოქმნის უნარი, ყალიბდება აქტიური ცენტრები, რომლებიც რნმ-წინამორბედის კატალიზის რეაქციას უზრუნველყოფს. ვინაიდან რნმ-ის მოლეკულა თავად აწარმოებს თავის გარდაქმნებს, ამ მოვლენას *ავტოკატალიზი* უწოდეს, ხოლო მათ მიერ განხორციელებულ სპლაისინგის რეაქციებს - *თვითსპლაისინგი.* თვითსპლაისინგის მოვლენა აღმოჩენილია, ასევე, ფაგ T4-ს, მიტოქონდრიულ და ქლოროპლასტურ გენებში.

პროტეაზებით დამუშავებული (რაც გამორიცხავს მათში ცილის მოლეკულების არსებობას) ამ გენების ინტრონების სპლაისინგის რეაქციებზე დაკვირვების შედეგად იდენტიფიცირებულ იქნა თვითსპლაისირებადი ინტრონების ორი კლასი - I ჯგუფის და II ჯგუფის ინტრონები (სურ. 5.59).

II ჯგუფის ინტრონების მონაწილეობით მიმდინარე სპლაისინგის რეაქციის ქიმიზმი მოიცავს ორი ტრანსესტერიფიკაციის რეაქციას, მიმდინარეობს განშტოების საიტის ადენინთან ურთიერთქმედებით და მთავრდება ლასოს სტრუქტურის ამოკვეთითა და ეგზონების შეერთებით.

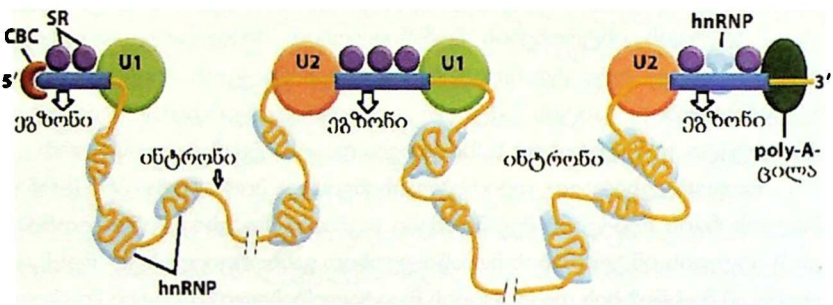
I ჯგუფის ინტრონების მონაწილეობით მიმდინარე სპლაისინგის რეაქცია, ასევე, ორი ტრანსესტერიფიკაციის რეაქციას მოიცავს. კავშირი აქ განშტოების საიტის აქტიურ გუანინთან მყარდება, შუალედური პროდუქტი კი შედარებით ხაზობრივია და არა აქვს მარყუჟის ფორმა.

როგორც ვხედავთ, თვითსპლაისინგის და ბირთვული პრე-მ-რნმ-ის სპლაისინგის რეაქციის მექანიზმები საკმაოდ მსგავსია. განსაკუთრებით ეს II ჯგუფის ინტრონების მონაწილეობით განხორციელებულ რეაქციებს ეხება. ამ მექანიზმის და რეაქციის მაკატალიზებელი აპარატის შესწავლის საფუძველზე მეცნიერები მივიდნენ დასკვნამდე, რომ რნმ-ის მომწიფების პროცესი უძველეს ორგანიზმებში სწორედ თვითსპლაისინგის მექანიზმით მიმდინარეობდა. ევოლუციური განვითარების შედარებით გვიან ეტაპზე, II კლასის ინტრონები ცილოვანი მოლეკულებით დაიფარა და სპლაისოსომური კომპლექსი ჩამოყალიბდა, რომელმაც ჩაანაცვლა თვითსპლაისირებადი ფერმენტული აპარატი.

სპლაისინგის საიტის ამოცნობის მოლეკულური მექანიზმები

სპლაისინგის რეაქციის სწორად წარმართვისათვის მნიშვნელოვანია სპლაისოსომური კომპლექსის ცილების მიერ სპლაისინგის საიტის სწორი იდენტიფიკაცია. საყურადღებოა, რომ ინტრონული უბნების დიდი ზომების (ცალკეულ შემთხვევაში ინტრონი 100 000 ნუკლეოტიდზე მეტს მოიცავს) გამო სპლაისინგის აქტიური საიტების განსაზღვრის დროს შეცდომები გამორიცხული არ არის.

სპლაის-საიტის გამოცნობისას ძირითადად ორი ტიპის შეცდომაა მოსალოდნელი. პირველი - სპლაის-საიტს შეუძლია, გააკეთოს ნახტომი, ანუ გამოტოვოს მომდევნო თანამიმდევრობა და 5'-სპლაის-საიტმა კავშირი დაამყაროს არა მიმდებარე, არამედ ამ საიტის მიღმა მდებარე სხვა თანამიმდევრობასთან (სურ. 5.64-ა). მეორე - სპლაისოსომური კომპლექსის მიერ ხდება მსგავსი, მაგრამ არა ნამდვილი თანამიმდევრობის ამოცნობა. შესაბამისად, 5'-სპლაის-საიტი უკავშირდება ფსევდო 3'-სპლაის-საიტს და იგი პირველადი ტრანსკრიფტიდან მომწიფებულ რნმ-ში მოხვდება (სურ. 5.64-გ).



სურ. 5.63. ეგზონების ამოცნობის მექანიზმი სპლაისინგის დროს. სპლაისოსომური კომპლექსის საშუალებით ამოიცნობა თანაბარი ზომის ეგზონები. **hnRNP**- ჰეტეროგენული ბირთვული რნმ (წარმოქმნის კომპლექსს ინტრონებთან); **SR**-ეგზონური გამაძლიერებლის ამომცნობი ცილოვანი ფაქტორები; **CBC** -კეპ (Cap) - დამაკავშირებელი ცილები

სპლაისინგის რეაქციის დროს მოსალოდნელი შეცდომების თავიდან აცილებას და სპლაის-საიტების ამოცნობის სიზუსტეს ორი ტიპის მოლეკულური მექანიზმი ემსახურება:

პირველი, ჯერ კიდევ, ტრანსკრიფციის ეტაპზე ხორციელდება. პირველადი ტრანსკრიფტის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის სინთეზის პროცესში, რნმ-პოლიმერაზა II-ის ფოსფორილირებული კუდის მიერ ხდება ზოგიერთი სპლაისოსომური ცილის მოლეკულების გადატანა, რომლებიც სინთეზის დასრულებისთანავე პრე-მ-რნმ-ის მოლეკულებზე განთავსდება. სინთეზირებული 5'-საიტი უკავშირდება 3'-საიტს. ეს

რეაქცია შემდეგი 3'-სპლაის-საიტის სინთეზამდე ხორციელდება, რაც გამორიცხავს „სწორი" სპლაის-საიტის გამოტოვებას. სპლაისინგის საიტების შერჩევის პროცესში ტრანსკრიფციის და სპლაისინგის რეაქციების კოორდინაცია „სპლაისინგის გამოტოვების" ტიპის შეცდომებისაგან დაცვის საუკეთესო მექანიზმია.

მეორე - „ეგზონების ამოცნობის" მექანიზმი (სურ.5.63), რომლის თანახმადაც, ტრანსკრიფციის დასრულებისთანავე, სპლაისომური კომპლექსი ამოიცნობს თანაბარი ზომის ეგზონებს. შემდეგ ეგზონური თანამიმდევრობების მიმდებარე უბანში, რომლებსაც ეგზონურ გამაძლიერებელს უწოდებენ, დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები, ე.წ. SR (სერინითა - S და არგინინით - R მდიდარი) ცილები 5'- და 3'-საიტების მარკირებას ახდენს. თავის მხრივ, ინტრონულ უბნებთან კავშირს ჰეტეროგენური ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინები *ჰბ-რნპ* (ინგლ. heterogeneous nuclear ribonucleoproteins - **hnRNPs**) წარმოქმნის და გრძელი ინტრონული თანამიმდევრობებიდან კომპაქტური სტრუქტურის ფორმირებას უწყობს ხელს. აღწერილი მექანიზმი და ეგზონების მიმდებარე გამაძლიერებელ უბნებთან SR-ცილების დაკავშირება სპლაისიგის საიტის ამოცნობის სიზუსტეს უზრუნველყოფს. ეს გამორიცხავს მიმდებარე უბნებიდან ფსევდოთანამიმდევრობების ჩართვას.

ამ რეაქციის დროს ეგზონური და ინტრონული უბნების ამოცნობა და სპლაისოსომური კომპლექსის ფორმირება ტრანსკრიფციის ეტაპზე ხდება, მაგრამ სპლაისინგის სხვა ქიმიური გარდაქმნები ტრანსკრიფციის დასრულების შემდეგ წარმოებს. მაშასადამე, სპლაისინგის რეაქციები შეიძლება მიმდინარეობდეს, როგორც კოტრანსკრიფციულად, ისე პოსტტრანსკრიფციულად.

ალტერნატიული სპლაისინგი

ალტერნეტიული სპლაისინგის არსი პრე-მ-რნმ-ის პოსტტრანსკრიფციული გარდაქმნების გზით განსხვავებული სტრუქტურის მ-რნმ-ის მოლეკულების ჩამოყალიბებაში მდგომარეობს. ამ პროცესის შედეგად, რნმ-ის პირველად ტრანსკრიფტში შემავალი კოდირებადი უბნების (ეგზონები) სპლაისინგი განსხვავებული მექანიზმით ხორციელდება. საბოლოო ჯამში, მომწიფებული რნმ-ის მოლეკულების და, შესაბამისად,

მიიღება მის მიერ კოდირებული ცილის მოლეკულების დიდი მრავალფეროვნება.

ალტერნატიული სპლაისინგის მარტივ მაგალითს წარმოადგენს ძუძუმწოვრების კუნთის ცილა ტროპონინის *T-გენის* სპლაისინგი (სურ. 5. 54). ამ გენის პირველად ტრანსკრიფტში შედის ხუთი (1,2,3,4,5) ეგზონური უბანი. ექვემდებარება რა ალტერნატიული სპლაისინგის მექანიზმებს, ეს გენი ორი ტიპის მომწიფებული მ-რნმ-ის სინთეზს განაპირობებს. განსხვავებული კომბინაციით განლაგებულ ოთხ ეგზონი ორი სხვადასხვა ცილა-პროდუქტის - T ტროპინინ α-ს და T ტროპინინ β-ს სინთეზს აკოდირებს.

ალტერნატიული სპლაისინგის ისეთ მაგალითად, რომლის დროსაც ერთი კონკრეტული გენი ძალიან დიდი რაოდენობის ცილის მოლეკულის სინთეზს განაპირობებს, შეიძლება მოვიყვანოთ დროზოფილას *(Drosophila melanogaster)* dscam გენის სპლაისინგი. ეს გენი ნეირონების სწორი ლოკალიზაციის და ასევე უცხო ბაქტერიების ამოცნობისა და ფაგოციტოზის ფუნქციას ასრულებს. *dscam* გენი შეიცავს 116 ინტრონულ უბანს, რომელთაგან 17 აუცილებლად შედის ყველა სპლაისირებული რნმ-ის მოლეკულის შედგენილობაში. ამ სისტემას, ალტერნატიული სპლაისინგის მექანიზმების გამოყენებით, ცილის 38 016 განსხვავებული ვარიანტის კოდირება შეუძლია, რომელთაგან უკვე პრაქტიკულად იდენტიფიცირებულია 1800 ტიპის ცილის მოლეკულა.

ამჟამად ცნობილია ალტერნატიული სპლაისინგის რამდენიმე მექანიზმი (სურ. 5.64):

- ეგზონის გამოტოვება, ანუ ეგზონური კასეტები. ეს მექანიზმი დამახასიათებელია ძუძუმწოვრების პრე-მ-რნმ-თვის. ამ ტიპის სპლაისინგის დროს თანამიმდევრული ეგზონებიდან ერთ-ერთი ამოიჭრება, ან კიდევ, ეს თანამიმდევრობა შენაჩურდება მომწიფებული რნმ-ის მოლეკულაში;
- ურთიერთგამომრიცხავი ეგზონები - ორი ეგზონიდან ერთ-ერთი აუცილებლად ამოიჭრება სპლაისინგის შემდეგად, ხოლო მეორე შენარჩუნდება;
- ალტერნატიული 5'-საიტის და ალტერნატიული 3'-საიტის გამოყენება;

- ინტრონების შენარჩუნება მომწიფებულ მ-რნმ-ის მოლეკულაში. ასეთ შემთხვევაში ინტრონული უბანი სპლაისინგის შემდეგ რჩება რნმ-ის მოლეკულაში და მონაწილეობს ამინოჟავური თანამიმდევრობის კოდირებაში. ამ დროს არ არის გამორიცხული, ინტრონის ნუკლეოტიდურმა თანამიმდევრობებმა სტოპ-კოდონების სინთეზის ინიციირება ან წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლება გამოიწვიოს, რაც ცილის ფუნქციის დაკარგვას განაპირობებს. ამიტომ ალტერნატიული სპლაისინგის ამ მექანიზმის გამოყენება ძალიან იშვიათად ხდება.
- მრავლობითი პრომოტორებისა და პოლიადენილირების მრავლობითი საიტები. ალტერნატიული პრომოტორების შერჩევა 5'-ბოლოზე განსხვავებული ეგზონების არსებობას განაპირობებს, ხოლო პოლიადენილირების საიტები - განსხვავებული 3'- ბოლოების.

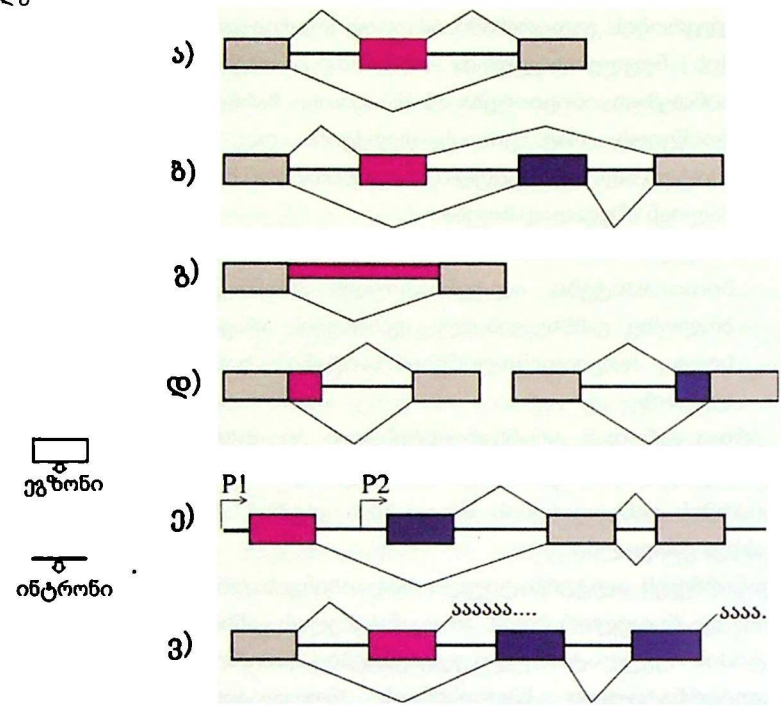
ერთი გენიდან ტრანსკრიბირებული პრე-მ-რნმ-ის მოლეკულების ალტერნატიული სპლაისინგის სხვადასხვა მექანიზმი გამოიყენება ორგანიზმის განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე ან ერთი ორგანიზმის ხვადასხვა ქსოვილში.

განარჩევენ ალტერნატიული სპლაისინგის ორ ტიპს - კონსტიტუციურსა და რეგულირებადს. ამ უკანასკნელის განხორციელებას სხვადასხვა ტიპის რეგულატორული ელემენტები განაპირობებს.

ალტერნატიული სპლაისინგის რეგულაცია. ალტერნატიული სპლაისინგის რეგულაციას პრემ-რნმ-ის სპლაისირებად თანამიმდევრობებთან რეგულატორული ცილების დაკავშირება უზრუნველყოფს. ეს სპეციფიკური საიტებია: **ეგზონური ან ინტრონული გამაძლიერებელი (enhancer) და ჩამხშობი (insulator) თანამიმდევრობები,** რომლებიც, შესაბამისად, აძლიერებენ ან თრგუნავენ სპლაისინგის რეაქციებს.

სპლაისინგის რეგულაციაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს SR-ცილები. სწორედ ეს ცილები ამოიცნობს სპეციფიკურ სპლაის-საიტებს კონკრეტულ უჯრედებსა და განვითარების კონკრეტულ სტადიაზე. SR-ცილების სხვადასხვა აქტიური დომენი უკავშირდება სპლაისინგის გამაძლირებლებსა (მაგალითად, RRM-დომენი) და სპლაისოსომური კომპლექსის ცილებს (RS-დომენი) და უზრუნველყოფს სპლაისინგის მექანიზ-

მის გააქტიურებას. ზოგიერთი ტიპის SR-ცილა (SRp38) დეფოსფორილირებულ მდგომარეობაში სპლაისინგის რეპრესორის ფუნქციას ასრულებს.



სურ. 5.64. ალტერნატიული სპლაისინგის ტიპები:
ა) ეგზონური კასეტები; ბ) ურთიერთგამომრიცხავი ეგზონები; გ) ინტრონების შენარჩუნება მომწიფებულ მ-რნმ-ში; დ) ალტერნატიული 3'- და ალტერნატიული 5'- სპლაის-საიტების გამოყენებით; ე)ალტერნატიული პრომოტორების გამოყენებით; ვ) ალტერნატიული სპლაისინგი და პოლიადენილირება

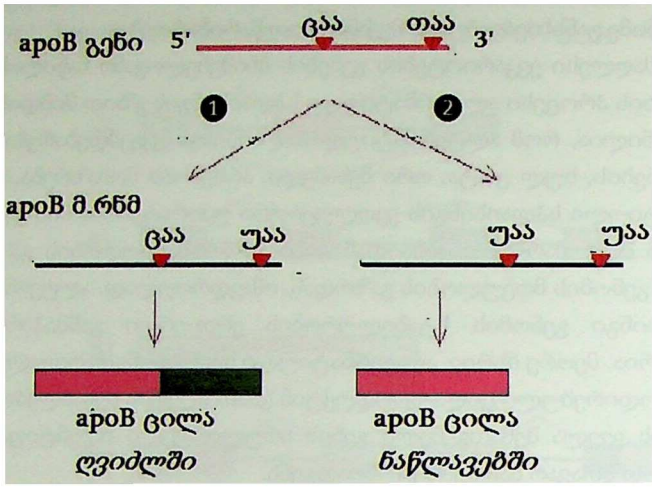
საინლენსერების ამოცნობისა და სპლაისინგის რეპრესირების ფუნქციას, უმეტეს შემთხვევაში, ჰეტეროგენური ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინები (hnRNP) ასრულებს. ეს ცილები უკავშირდება სპლაისინგის საიტებს ან გამამძლიერებელ თანამიმდევრობებს და ბლოკავს სპლაისინგის რეაქციებს. ამის შემდეგ მოცემული საიტი აღარ ფიქსირდება მომწი-

ფებული მ-რნმ-ის მოლეკულის შედგენილობაში. სპლაისინგის რეპრესია რამდენიმე განსხავავებული მექანიზმით წარიმართება.

უმაღლესი ევკარიოტების გენების მნიშვნელოვანი ნაწილის რნმ-ის სინთეზის პროცესი ალტერნატიული სპლაისინგის გზით მიმდინარეობს. დადგენილია, რომ ალტერნატიულ სპლაისინგს ექვემდებარება ადამიანის გენების, სულ ცოტა, ორი მესამედი. არსებობს მოსაზრება, რომ ალტერნატიული სპლაისინგის ევოლუციური უპირატესობა მის ეკონომიურობაში მდგომარეობს, ვინაიდან მისი ინფორმაციულობის გაზრდა არ იწვევს გენომის მოცულობის გაზრდას. იმავდროულად, ალტერნატიული სპლაისინგი გენომის სტაბილურობის ერთ-ერთი განმაპირობებელი ფაქტორია. მეორე მხრივ, ალტერნატიული სპლაისინგი ართულებს გენის მიერ კოდირებული ცილა-პროდუქტის განსაზღვრის შესაძლებლობას და გენომის ყველა შემადგენელი გენის სრულყოფილი იდენტიფიცირების ერთ-ერთ მთავარ ბარიერს წარმოადგენს.

რედაქტირება

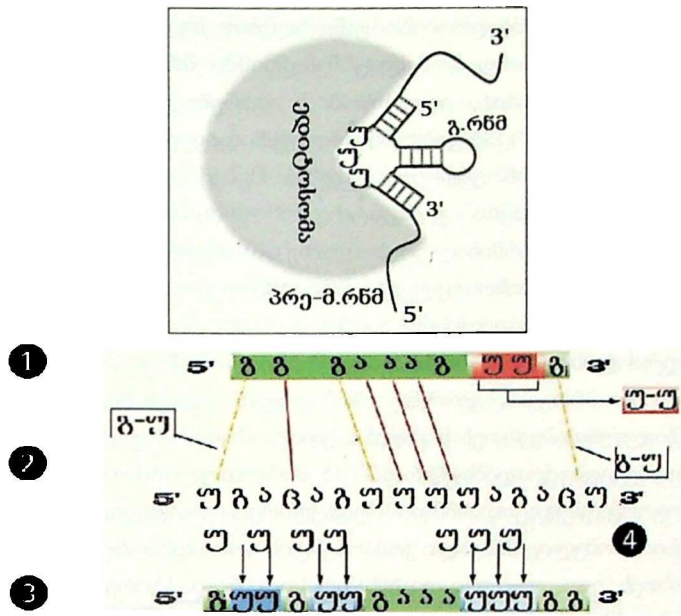
რედაქტირება (ინგლ. editing) რნმ-ის პროცესინგის ერთ-ერთ სახეს წარმოადგენს, რომლის დროსაც რნმ-ის ზოგიერთი ნუკლეოტიდი ქიმიურ მოდიფიკაციას განიცდის. რედაქტირების დროს შესაძლებელია ნუკლეოტიდის ჩანაცვლება, ინსერცია ან დელეცია. ეს პროცესი პოსტტრანსკრიფციულ ეტაპზე მიმდინარეობს და განაპირობებს ერთი და იმავე გენიდან განსხვავებული სტრუქტურისა და ფუნქციის მქონე რნმ-ის მოლეკულების ტრანსლაციას. რედაქტირებას ექვემდებარება ევკარიოტული მ-რნმ, რ-რნმ და ტ-რნმ-ის ზოგიერთი მოლეკულა და, შესაძლოა, მიმდინარეობდეს ბირთვში, ციტოპლაზმაში, მიტოქონდრიებსა და პლასტიდებში. სადღეისოდ, რნმ-ის რედაქტირების მოლეკულური მექანიზმი ბოლომდე შესწავლილი არ არის. ცნობილია, რომ ამ რეაქციის ძირითადი ეტაპები მოიცავს *რედაქტირების საიტის ამოცნობის, რედაქტირებადი ნუკლეოტიდის იდენტიფიცირების და კატალიზის რეაქციებს.*



სურ. 5.65. რედაქტირების სქემა *apoB* გენის მაგალითზე. 1 - რედაქტირება არ ხდება; 2- **ცაა** კოდონი იცვლება **უაა** სტოპკოდონით

რედაქტირების ერთ-ერთ კარგად შესწავლილ მოლეკულურ მექანიზმს ძუძუმწოვრების აპოლიპროტეინ B (*apoB)* გენის საიტ-სპეციფიკური დეზამინირების რეაქცია წარმოადგენს (სურ. 5.65). *apoB* -გენის პროდუქტები ლიპიდების მეტაბოლიზმის რეაქციებში მონაწილეობს. გენის ერთ-ერთი ეგზონის ***ცაა*** კოდონში დეზამინირების რეაქციის შედეგად ციტოზინი ურაცილით იცვლება და გლუტამინის მასინთეზირებელი კოდონიდან სტოპ-კოდონად გარდაიქმნება. გენს ახასიათებს ქსოვილსპეციფიკური მოქმედება. ღვიძლის უჯრედებში ეს გენი სრულყოფილი, 4 563 ამინომჟავას შემცველი ცილა-პროდუქტის სინთეზს უზრუნველყოფს, ხოლო ნაწლავის უჯრედებში იგი მოკლე, სულ 2 142 ამინომჟავასგან შემდგარი ცილის მოლეკულებს ასინთეზირებს. ამის მიზეზს წარმოადგენს ***ცაა*** კოდონის ***უაა*** სტოპ-კოდონად გარდაქმნა. აპოლიპროტეინ B-გენის მიერ კოდირებული ამ ორი განსხვავებული ცილის მოლეკულის ფუნქციაც განსხვავებულია. პირველი სისხლში ქოლესტე-

როლისა და ტრიგლიცეროიდების ტრანსპორტს ემსახურება, ხოლო მეორე ასრულებს ნაწლავებში ლიპიდების აბსორბციის ფუნქციას.



სურ. 5.66. რედაქტირება გენის წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებით.
1 - მ-რნმ; 2 - გ-რნმ (მეგზური guide); 3 - რედაქტირებული მ-რნმ (ურაცილი უკავშირდება მეგზური რნმ-ის პურინულ აზოტოვან ფუძეებს - გუანინსა და ადენინს). ზემოთ - ედიტოსომით დაფარული რნმ-ის მოლეკულა.

რნმ-ის რედაქტირების განსხვავებული მოდელი ნაპოვნია ტრიპანოსომების *(Trypanosoma brucei)* მიტოქონდრიის რნმ-ტრანსკრიფტებში. ამ შემთხვევაში, საქმე გვაქვს პირველადი ტრანსკრიფტის სპეციფიკურ უბანში რიგი ურაცილების ინსერციასთან ან დელეციასთან, რაც კოდონების შინაარსის შეცვლას და წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას იწვევს. ამ შემთხვევაში მთლიანად იცვლება გენში ჩაწერილი ინფორმაციული გზავნილი.

რნმ-ის რედაქტირება იწყება პირველადი ტრანსკრიფტისა და, ე.წ. რნმ-მეგზურის (ინგლ. guide RNA) გაწყვილებით (სურ 5.66). რნმ მეგზური ინსერცია/დელეციის საიტის მახლობლად შეიცავს კომპლემენტურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს. გაწყვილების შედეგად მიიღება რნმ-რნმ ორჯაჭვიანი უბანი, რომელიც შემდგომში მრავალკომპონენტიანი ცილოვანი კომპლექსით - ედიტოსომით იფარება. რეაქციის მომდევნო ეტაპზე, ედიტოსომა აკატალიზებს პოლიურიდილის თანამიმდევრობის მიერთების რეაქციებს. ენდონუკლაზების მეშვეობით ხდება გაუწყვილებელი უბნების გაჭრა, ფერმენტი რნმ ურიდილტრანსფერაზა (ფკ. 2.7.7.52) მ-რნმ-ის ტერმინალურ ბოლოზე აწარმოებს ურიდილის გადატანას, ხოლო ეგზორიბონუკლეაზა აკატალიზებს გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდებიდან ურაცილების ამოჭრას. როგორც კი ედიტოსომური კომპლექსი დაასრულებს მ-რნმ-ისა და მეგზური რნმ-ის კომპლემენტური გაწყვილების პროცესს, ფერმენტი რნმ-ლიგაზა (ატფ) რედაქტირებული მ-რნმ ბოლოების შეერთებას ახდენს. ედიტოსომური კომპლექსს რედაქტირება სპეციფიკურად, მხოლოდ 3'---5' მიმართულებით შეუძლია.

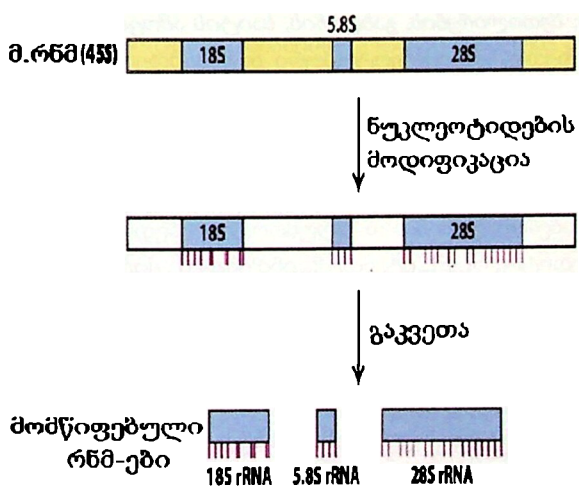
როგორც ვხედავთ, რნმ-ის რედაქტირება რთული, სპეციფიკური პროცესია, რომელიც მრავალი კომპონენტის კოორდინირებულ მოქმედებას ითხოვს. ევოლუციური თვალსაზრისით, რედაქტირება გენეტიკური ინფორმაციის სტაბილიზაციის დამატებით საშუალებად ითვლება. მემკვიდრეობითი ინფორმაციის დაცვის დამატებითი მექანიზმების ფლობა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მრავალუჯრედიანი ორგანიზმებისთვის, რათა ონტოგენეზური განვითარების პროცესში თავიდან იქნას აცილებული გენეტიკური ტვირთის დაგროვება.

რიბოსომური რნმ-ის პროცესინგის მოლეკულური მექანიზმები

ფუნქციურ მოლეკულებად ჩამოყალიბების გზაზე პოსტრანსკრიფციულ გარდაქმნებს ექვემდებარება არა მარტო კოდირებადი მ-რნმ-მოლეკულები, არამედ არაკოდირებადი რნმ-ის მოლეკულებიც (რ-რნმ, ტ-რნმ). ეს მოლეკულები თავად წარმოადგენს გენის ექსპრესიის პროდუქტს. როგორც პროკარიოტული, ისე ევკარიოტული რ-რნმ-ის წინამორბედი გაცილებით მეტ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას შეიცავს, ვიდრე მომწიფებული, ფუნქციური მოლეკულები. ზედმეტი ნუკლეოტი-

დების მოცილება პროცესინგის თანამიმდევრული რეაქციებით ხორციელდება. რ-რნმ უჯრედში ყველაზე დიდი რაოდენობით გვხვდება (უჯრედული რნმ-ის 80%), რაც გენომში მისი მაკოდირებელი გენების დიდი რაოდენობის ასლების არსებობით აიხსნება. პროკარიოტულ და ევკარიოტულ გენომში რ-რნმ-ის მაკოდირებელი გენების რაოდენობა განსხვავებულია. მაგალითად, *E. Coli* შვიდი სახის რ-რნმ-ს აკოდირებს, ადამიანის გენომი შეიცავს 200 რიბოსომურ გენს, რომლებიც ხუთ სხვადასხვა ქრომოსომურ (13,14,15,21 და 22) კლასტერშია გადანაწილებული. ბაყაყის (*Xenopus*) 600 რიბოსომური გენი განთავსებულია ერთი ქრომოსომის ერთ კლასტერში.

ევკარიოტული რიბოსომის სტრუქტურას ოთხი ტიპის რ-რნმ ქმნის: 5 S; 5,8 S; 18 S და 28 S. აქედან სამის - 5,8 S; 18 S და 28 S - ჩამოყალიბება ერთი გრძელი პრე-რ-რნმ-ის მოდიფიკაციური გარდაქმნებისა და გახლეჩის რეაქციებით ხდება (სურ. 5.67). მის სინთეზს რნმ-პოლიმერაზა I უზრუნველყოფს. 5S რ-რნმ-ის სინთეზი ცალკე განთავსებული გენური კლასტერიდან რნმ-პოლიმერაზა III-ის მეშვეობით ხორციელდება და მომწიფების პროცესში არ საჭიროებს ქიმიურ მოდიფიკაციებს.



სურ. 5. 67. ევკარიოტული რ-რნმ-ის პროცესინგის სქემა

პრე-რ-რნმ-ის გრძელი წინამორბედის ქიმიური მოდიფიკაციები უჯრედის ბირთვაკში წარმოებს და რიბოზის 2'OH-პოზიციაში მეთილირებითა და ურიდინის იზომერიზაციის გზით ფსევდოურიდინად გარდაქმნაში მდგომარეობს. ყოველი მოდიფიკაციური ცვლილება სპეციფიკურ საიტში სრულდება. ამ პროცესში ჩართულია მეგზური რნმ-მოლეკულები მცირე ბირთვაკული რნმ-ის (ინგლ. small nucleolar RNAs or snoRNAs) ოჯახიდან. მათი ნაწილი მოდიფიკაციის ფერმენტების შესაბამის საიტში გადატანის ფუნქციას ასრულებს, ხოლო ნაწილი პრე-რ-რნმ-ის გრძელი მოლეკულის გახლეჩის რეაქციებში მონაწილეობს.

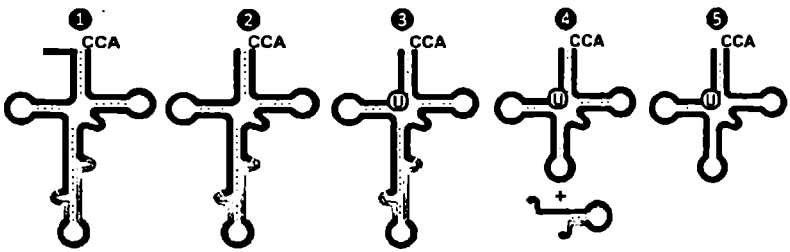
პრე-რნმ-ის პროცესინგის შედეგად ჩამოყალიბებული 18S რ-რნმ-მოლეკულები ევკარიოტული რიბოსომის მცირე სუბერთეულის, ხოლო 5S, 5.8S, 28S რ-რნმ რიბოსომის დიდი სუბერთეულების სტრუქტურის აგებაში მონაწილეობს.

ბაქტერიული რიბოსომის სამივე სტრუქტურული რ-რნმ-ის (5S, 16S და 23S) ფორმირება ერთი 30S წინამორბედისაგან ხდება. პრე-რ-რნმ-ის გრძელი ტრანსკრიფტი, როგორც მოლეკულის ბოლოებზე, ისე მოლეკულის შიგნით, შეიცავს არასაჭირო, ზედმეტ ნულეოტიდურ თანამიმდევრობებს და, ასევე, ტ-რნმ-ის მაკოდირებელ უბანს. პროცესინგის რეაქციები მოიცავს: *მეთილირების, გახლეჩის, საიტის ამოცნობისა და გახლეჩის რეაქციებს.* ზედმეტი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების ამოჭრა და დეგრადაცია ეგზო- და ენდონუკლეაზების მოქმედებით არის უზრუნველყოფილი. რიბოსომის სტრუქტურის აგებაში მონაწილეობს 5S, 16S და 23S რ-რნმ-ის მომწიფებული მოლეკულები, ხოლო ტ-რნმ-ტრანსკრიფტიდან ყალიბდება მომწიფებული ტ-რნმ-ის მოლეკულა.

სატრანსპორტო რნმ-ის პროცესინგი

პროცესინგი ფუნქციური ტ-რნმ-ის ჩამოყალიბების აუცილებელ ეტაპს წარმოადგენს. როგორც პროკარიოტული, ისე, ევკარიოტული ტ-რნმ-ის სინთეზი გრძელი წინამორბედისგან ხდება. ცნობილია, რომ პრე-ტ-რნმ-ის სედიმენტაციის კონსტანტა 4,5S-ს შეადგენს და დაახლოებით 100 ნუკლეოტიდისგან შედგება, ხოლო მომწიფებული 4S ტ-რნმ - 70-80 ნუკლეოტიდისაგან. მაშასადამე, ტ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტი ზედმეტ ნუკლეოტიდებს შეიცავს, რომელთა მოცილება სპლაისინგის

რეაქციებით ხორციელდება. ტ-რნმ-ის სპლაისინგის რეაქციები სპეციფიკურად, ამოჭრა-დამატების პრინციპით მიმდინარეობს და ცილა-ფერმენტებით კატალიზდება. ამასთან, ფერმენტის მიერ სპლაისინგის საიტების სწორად ამოცნობისა და რეაქციის მაღალი სიზუსტით წარმართვისათვის აუცილებელია ტ-რნმ-ის მოლეკულის სამყურას ფორმის სივრცითი კონფორმაცია (სურ. 5.68).



სურ. 5. 68. ტ.რნმ-ის პროცესინგის სქემა.
1 - პრე-ტ.რნმ; 2 - 5'-ბოლოს მოდიფიკაცია რნმ-აზა P-ს ზემოქმედებით;
3 - რედაქტირება ურაცილის ჩამატებით; 4 - სპლაისინგი ენდონუკლეაზების ზემოქმედებით; 5 - მომწიფებული ტ-რნმ

ჭარბი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები შეიძლება იყოს ტ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის როგორც 5'-, ისე 3'-ბოლოზე. მათ მოცილებას უზრუნველყოფს სპეციფიკური ეგზო- და ენდორიბონუკლეაზები. ენდორიბონუკლეაზების მიერ ფოსფოდიესტერული კავშირების გაჭრის შედეგად მიიღება დისკრეტული ფრაგმენტები და მომწიფებულ ტ-რნმ-ის მოლეკულას შორდება ინტრონული თანამიმდევრობები. ეგზონუკლეაზების მოქმედების მექანიზმი ზედმეტი ნუკლეოტიდების სათითაოდ ჩამოცილებაში მდგომარეობს. ამასთან, მათ მოქმედება მხოლოდ 3'-ბოლოდან შეუძლიათ.

პრე-ტ-რნმ-ის 5'-ბოლოდან ზედმეტი ნულეოტიდების მოცილებას ენდონუკლეაზა - რნაზა P აკატალიზებს, ხოლო 3' ბოლოდან - ეგზონუკლეაზა - რნაზა D რნაზა P რნმ-ისა და ცილის მოლეკულებისაგან შედგება. ამ კომპლექსში კატალიზური აქტივობის გამოსავლენად აუცილებელ კომპონენტს რნმ-ის მოლეკულები წარმოადგენს (P-precursor – რნმ-

წინამორბედი). საინტერესოა, რომ კომპლექსის რნმ-ის მოლეკულებს ცილოვანი კომპონენტების გარეშეც ძალუძს ფერმენტული აქტივობის განხორციელება.

ტ-რნმ-ის პროცესინგის შემდეგი ეტაპია 3'-ბოლოზე *ცცა* თანამიმდევრობის დამატება. ტ-რნმ-ის პროცესინგის ეს საფეხური ციტოპლაზმაში მიმდინარეობს და მას ფერმენტი რნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა აკატალიზებს. *ცცა* ტრიპლეტი ტ-რნმ-ის აქტიურ საიტებს ერთდროულად უკავშირდება ფოსფოდიესტერული ბმებით და არ საჭიროებს სპეციფიკურ მატრიცს.

ტ-რნმ-ის დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს აზოტოვანი ფუძეების სხვადასხვა ტიპის მოდიფიკაციები. მომწიფებული ტ-რნმ-ის მოლეკულა, სულ მცირე, 1-დან 10-მდე მოდიფიცირებულ რიბონუკლეოტიდს შეიცავს. ქიმიურ გარდაქმნებს ექვემდებარება ყველა ტ-რნმ. ცნობილია ტ-რნმ-მოლეკულების 50-ზე მეტი სახის მოდიფიკაცია. მოდიფიკაციები შეიძლება განხორციელდეს დეზამინირების, მეთილირების და სხვა ტიპის ქიმიური რეაქციებით. მოდიფიცირებული ნუკლეოტიდების ფუნქცია შეიძლება იყოს ანტიკოდონის მიერ მ-რნმ-ის კოდონის სწორი დაკავშირება, ტ-რნმ-ის მოლეკულებთან ამინომჟავების მიერთების სიზუსტე და ა.შ.

მ-რნმ-ის ტრანსპორტირება

მ-რნმ-ის მოლეკულები, რომლებმაც პროცესინგის რეაქციების ციკლი სრულყოფილად და უშეცდომოდ გაიარა, მზადაა თავიანთი ფუნქციის შესასრულებლად, რაც მათში ჩაწერილი ინფორმაციის ცილის მოლეკულებად ტრანსლაციაში მდგომარეობს. ამ მისიის შესასრულებლად აუცილებელია, განხორციელდეს მომწიფებული მ-რნმ-ის ტრანსპორტირება ბირთვიდან ციტოპლაზმაში.

სრულად დამუშავებულ, მომწიფებული მ-რნმ-ის მოლეკულებს აქვს კეპირებული 5'-ბოლო, პოლი-ა კუდი 3'-ბოლოზე და თავისუფალია ინტრონული უბნებისგან. ასეთი მოლეკულების ხვედრითი წილი ბირთვში ძალიან დაბალია. ტრანსპორტირების რეაქციის მექანიზმის მეშვეობით, უნდა მოხდეს მათი ზუსტი იდენტიფიცირება და განსხვავება

არასრულყოფილად ან არასწორად დამუშავებული მ-რნმ-ის მოლეკულებისგან.

როგორ ხორციელდება დამუშავებული, მომწიფებული მ-რნმ-ის სელექცია და გადატანა? ეს პროცესი რამდენიმე განსხვავებული მექანიზმით წარიმართება. როგორც უკვე ვნახეთ, პროცესინგი მოიცავს კეპირების, სპლაისინგის და პოლიადენილირების რეაქციებს. ამ რეაქციებს ცილა-ფერმენტები ან რთული ცილოვანი კომპლექსები აკატალიზებს. თავისი ფუნქციის შესრულების შემდეგ მათი ნაწილი ტოვებს მ-რნმ-ის სუბსტრატს. თუ ეს ფერმენტები შენარჩუნებულია პროცესინგის დასრულების შემდეგაც, მაგალითად, მბ-რნპ, ეს წარმოადგენს სიგნალს, რომ ასეთი არასრულყოფილად ან არასწორად დამუშავებული მ-რნმ-ის მოლეკულები არ გადავიდეს ციტოპლაზმაში.

პროცესინგის ფერმენტების გარკვეული ნაწილი, მაგალითად, SR-ცილები და აგრეთვე ჰეტეროგენური ბირთვული რნმ-პროტეაზების მცირე ნაწილი მომწიფებული მ-რნმ-ის მოლეკულაშიც შენარჩუნდება, მათ ემატება სპეციფიკური ცილები და ეს ცილოვანი ნაკრები მომწიფებული მ-რნმ-ის იდენტიფიცირების საშუალებას იძლევა.

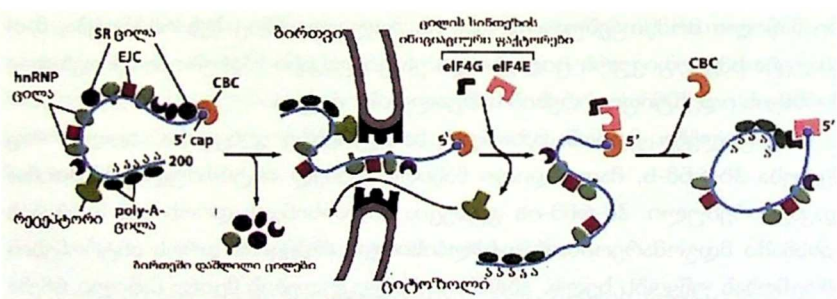
SR-ცილები ეგზონ-ეგზონურ საზღვრებზე გვხვდება. ხოლო, რაც შეეხება ჰბ-რნმ-ს, მათი დიდი ნაწილი გრძელ ინტრონულ უბნებთანაა დაკავშირებული. ჰმ-რნმ-ის ფუნქცია სპლაისინგის დროს რნმ-სარჭების გახსნაში მდგომარეობს, რაც სპლაისინგის რეაქციის დროს ინტრონების ამოცნობას უწყობს ხელს. ჰბრნმ-ის მოლეკულების მცირე ნაწილი რჩება მომწიფებული რნმ-ის შედგენილობაში და მასთან ერთად ტრანსპორტირდება ციტოპლაზმაში.

არასწორად დამუშავებული რნმ-ის მოლეკულები იშლება ბირთვში სპეციალური ცილოვანი კომპლექსის - *ეგზოსომების* მიერ, რომლებიც კომპლექსის შიგნით მრავლად შეიცავს 3'-5' რნმ-ეგზონუკლეაზებს.

მომწიფებული მ-რნმ-ის ტრანსპორტი ბირთვული მემბრანის ფორების კომპლექსის გავლით ხორციელდება. ბირთვული ფორების არხები ერთმანეთთან აკავშირებს ნუკლეოპლაზმას და ციტოზოლს. უჯრედის საჭიროების შესაბამისად, ამ ფორების გავლით მოლეკულები, შეიძლება, გადავიდეს ბირთვიდან ციტოპლაზმაში და, პირიქით, ციტოპლაზმიდან ბირთვში. მაგალითად, ამ გზით ხვდება ბირთვში ზოგიერთი ცილოვანი

მოლეკულა, რომელთა სინთეზი ციტოპლაზმაში ხდება, მაგრამ თავიანთ ფუნქციას ბირთვში ასრულებენ.

ბირთვული ფორების არხებში მცირე ზომის მოლეკულები (50 კდა და ნაკლები) თავისუფლად მოძრაობს, ხოლო მ-რნმ-ის მაკრომოლეკულების ტრანსპორტირებას ნუკლეოპროტეინული კომპლექსი ესაჭიროება. ამ რეაქციების ენერგეტიკული უზრუნველყოფა გტფ-ის ჰიდროლიზით გამოთავისუფლებული ენერგიის ხარჯზე ხდება. ნუკლეოპროტეინული კომპლექსი წარმოადგენს მ-რნმ-ის ტრანსპორტირების სიგნალს, რომელიც ამოიცნობა ბირთვული ***სატრანსპორტო რეცეპტორების*** მიერ. ციტოპლაზმაში მოხვედრის შემდეგ მ-რნმ-ის მოლეკულას სცილდება სატრანსპორტო რეცეპტორები, რომლებიც იგივე ფორების გავლით ბრუნდება უკან, ციტოპლაზმიდან ბირთვში და თავიდან ერთვება სხვა მ-რნმ-ის მოლეკულების ექსპორტში (სურ. 5.69).



სურ. 5.69. მომწიფებული მ-რნმ-ის ტრანსპორტირება ბირთვიდან ციტოპლაზმაში (Alberts, 2008)

კლინიკური კავშირები

ქსოვილები, სადაც ინტენსიურად მიმდინარეობს მეტაბოლიზმის პროცესები, დიდი რაოდენობით სხვადასხვა ცილის მოლეკულას საჭიროებს. სპლაისინგის დროს დაშვებული ნებისმიერი შეცდომა გენის ცილა-პროდუქტის ცვლილებას განაპირობებს, რაც სხვადასხვა დაავადების - ნეიროდეგრადაციული, გულ-სისხლძარღვთა, სიმსივნური, ასევე, ნეიტოდეგენატიული დაავადების, ალცჰეიმერის მიზეზი შეიძლება გახ-

დეს. ეს დეფექტები ორ ჯგუფად იყოფა: სპლაისინგის პირველადი და მეორეული დეფექტები.

სპლაისინგის პირველადი დეფექტების დროს მუტაციას განიცდის ალტერნატიული სპლაისინგის სწორი წარმართვისთვის აუცილებელი თანამიმდევრობები, ყალიბდება დეფექტური პრე-მ-რნმ-ის მოლეკულა, რომელიც, საბოლოოდ, დაავადების მიზეზი ხდება. პრე-მ-რნმ-ის დეფექტურმა სპლაისინგმა შეიძლება გამოიწვიოს ლუი-ბარის სინდრომი და ნეიროფიბრომატოზი. სპლაისინგის პირველადი დეფექტებით განპირობებულ დაავადებებს მიეკუთვნება, აგრეთვე, დემენცია. ტაუ-გენის ტრანსკრიფტის არსარასწორი სპლაისინგი იწვევს აქსონებში ან მზარდ ნეირონებში დეფექტური ტაუ-ცილის დაგროვებას, რაც დაავადების განვითარებას უწყობს ხელს. ამავე მიზეზით, შესაძლოა, განვითარდეს ალცჰეიმერის დაავადება. სპლაისინგის მექანიზმების დეფექტები წარმოადგენს დუშენის დაავადების (კუნთების დისტროფია) მიზეზს. ამ შემთხვევაში, დისტროფინის გენის მუტაცია იწვევს სპლაისინგის მექანიზმების დარღვევას და, შესაბამისად, დეფექტური მ-რნმ-ის სინთეზს.

მეორეულ დეფექტებს იწვევს სპლაისინგის რეგულატორული ფაქტორების მუტაციები. შეცვლილი რეგულატორული ფაქტორების მოქმედებით იცვლება სინთეზირებული მ-რნმ-ის სტრუქტურა. ზოგიერთ შემთხვევაში, ამ მიზეზით სერიოზული კლინიკური დარღვევები შეიძლება განვითარდეს. მაგალითად, ადამიანის მე-15 ქრომოსომის დაახლოებით შვიდი გენის სპლაისინგის მექანიზმის დეფექტები და ანომალიური ექსპრესია, პრადერ-ვილის სინდრომის განვითარებას იწვევს. ამ დაავადების კლინიკურ გამოვლინებას წარმოადგენს ინტელექტუალური და ქცევითი გადახრები.

თალასემია. მ-რნმ-ის პროცესინგის დროს შეცდომები შეიძლება მოხდეს ინტრონების ამოჭრის დროსაც და მომწიფებული მ-რნმ-ის მოლეკულაში დამატებითი ნუკლეოტიდები აღმოჩნდეს. ეს განაპირობებს გენის წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას, დეფექტური მ-რნმ-ისა და არაფუნქციური ცილის მოლეკულების სინთეზს. ინტრონების ამოჭრის დროს დაშვებული შეცდომები ადამიანის გენეტიკური დაავადების, თალასემიის გამომწვევ მიზეზად არის მიჩნეული. თალასემია ჰემოგლობინის პოლიპეპტიდური ჯაჭვების (ორი α და ორი β) კოორდინირებული

სინთეზის გენეტიკურ დეფექტს წარმოადგენს. იმის მიხედვით, თუ რომელი ტიპის პოლიპეპტიდის სინთეზი ირღვევა, არჩევენ α- და β-თალასემიას. დაავადების სხვადასხვა ფორმის დროს პაციენტებს სხვადასხვა სიმძიმის ანემია უვითარდებათ.

α-თალასემიას შესაბამისი მაკოდირებელი გენის ლოკუსებში (სულ 4 ასეთი ლოკუსია) მომხდარი მუტაციები განაპირობებს. ერთ ლოკუსში მომხდარი ცვლილება მინიმალურ კლინიკურ ცვლილებას, ხოლო ორ ლოკუსში მომხდარი მუტაცია მსუბუქი ფორმის ანემიას იწვევს. სამ ლოკუსში მომხდარი ცვლილება მნიშვნელოვნად ამცირებს α-გლობინების სინთეზს, ხოლო ჭარბი β-გლობინის პეპტიდები წარმოქმნის ტეტრამერს - ჰემოგლობინ-H-ს. ამ დაავადებას ჰემოგლობინოპათიას უწოდებენ და სხვადასხვა სიმძიმით ხასიათდება. ოთხივე ალელში მომხდარი ცვლილება სიცოცხლესთან შეუთავსებელია.

β-თალასემიის ორი ფორმა არსებობს - დიდი და მცირე თალასემია. დიდი თალასემია დაავადების შედარებით მძიმე ფორმაა, რომელსაც β-გლობინის გენის ორივე ალელის მუტაცია იწვევს. პაციენტებში ანემია დაახლოებით 6 თვის ასაკიდან ვლინდება. მცირე თალასემიის დროს, მუტაცია β-გლობინის მხოლოდ ერთ ალელში ხდება. ეს ფორმა შედარებით მსუბუქად მიმდინარეობს და სპეციალურ მკურნალობას არ საჭიროებს.

5.8. ტრანსლაცია

გენომში ჩაწერილი ინფორმაციის რეალიზაციის საბოლოო პროდუქტი ცილის მოლეკულებია. როგორც კი დასრულდება ტრანსკრიფციისა და პროცესინგის რეაქციები, მ-რნმ-ის მოლეკულა მზადაა, შეასრულოს მატრიცის ფუნქცია ცილის მოლეკულების ასაწყობად. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, რნმ-ის მატრიცაზე ცილის მოლეკულების სინთეზს *ტრანსლაცია* ეწოდება.

ტრანსლაციის მექანიზმების ახსნა მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთ მთავარ პრობლემას წარმოადგენ-

და. ამ დროიდან მოყოლებული მეცნიერები ნაბიჯ-ნაბიჯ შიფრავდნენ ტრანსლაციის მოლეკულურ კომპონენტებსა და მექანიზმებს.

ცოცხალი სამყაროს ხანგრძლივი ევოლუციური განვითარების პროცესში ჩამოყალიბებული ეს საიდუმლოება, ე.წ. „ბუნების კრიპტოგრამა“, საბოლოოდ 21-ე საუკუნის დასაწყისში იქნა ამოხსნილი. ამჟამად გაშიფრულია არა მარტო ტრანსლაციის პროცესის მოლეკულური მექანიზმები, არამედ ატომურ დეტალებამდეა შესწავლილი ძირითადი ტრანსლაციური მანქანის - რიბოსომის სტრუქტურა.

გენეტიკური კოდი

ტრანსლაციის პროცესის თანამიმდევრული მოლეკულური რეაქციების შედეგად დნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ქიმიურ ენაზე ჩაწერილი ინფორმაცია ცილის მოლეკულის ამინომჟავური თანამიმდევრობის ქიმიურ ენაზე უნდა გადაითარგმნოს. ამ პრობლემას უკრედი ევოლუციურად ჩამოყალიბებული წესის მიხედვით არეგულირებს, რომელიც *გენეტიკური კოდის* სახელწოდებითაა ცნობილი.

დნმ-ში ინფორმაცია 4 სიმბოლოთი - 4 ტიპის ნუკლეოტიდის სახითაა ჩაწერილი, ხოლო ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის აგებაში 20 სიმბოლო - 20 ტიპის ამინომჟავა მონაწილეობს. როდესაც მეცნიერები კოდირების პრობლემაზე მუშაობდნენ, მათ წინაშე, უპირველეს ყოვლისა, ამ სიმბოლოთა რაოდენობრივი ურთიერთშესაბამისობის ახსნის პრობლემა დადგა. გენეტიკურ კოდში უნდა იყოს იმდენი ერთეული, რომ გაშიფროს 20 ამინომჟავა. ნათელია, რომ კოდური თანაფარდობა უნდა იყოს ერთზე მეტი. თუ დავუშვებთ, რომ კოდური დაჯგუფება 2-ის ტოლია, მაშინ დნმ-ის მოლეკულაში კოდირებული იქნება მხოლოდ 4^2 ანუ 16 ტიპის ამინომჟავა. ამრიგად, კოდური თანაფარდობა არ შეიძლება იყოს 3-ზე ნაკლები. ამ შემთხვევაში შესაძლო კომბინაციების რაოდენობა იქნება 4^3, ანუ 64. ასეთი კომბინაციის დროს ან ყველა ტრიპლეტი არ ღებულობს მონაწილეობას ამონომჟავას გაშიფვრაში, ან ზოგიერთი ამონომჟავას გაშიფვრაში ერთზე მეტი ტრიპლეტი მონაწილეობს. როგორც მოგვიანებით, გენეტიკური კოდის სრული გაშიფვრის შემდეგ დადგინდა, მეორე ვარიანტი, ფაქტობრივად, სწორია. გენეტიკური კოდის ტრიპლეტი (სამი

ნუკლეოტიდი) არის უმცირესი ერთეული, რომელსაც შეუძლია ერთი ამინომჟავას გაშიფვრა.

დნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის იმ ელემენტარულ ერთეულს (დაჯგუფებას), რომელსაც შეუძლია ერთი ამინომჟავას კოდირება, ანუ ჩართვა ცილის მოლეკულის სინთეზში, *კოდონი* ეწოდება. კოდონების თანამიმდევრობა იკითხება უწყვეტად გენის ერთი ბოლოს ფიქსირებული წერტილიდან, დამთავრებული ტერმინაციული წერტილით მეორე ბოლოზე, 5'---3' მიმართულებით. ეს თანამიმდევრობა შეესაბამება ამინომჟავების წყობას პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში N-ბოლოდან C-ბოლომდე.

კოდის ტრიპლეტური ბუნება პირველად დადგენილი იქნა 1964 წელს ფრენსის კრიკისა და მისი თანამშრომლების მიერ გენეტიკური ექსპერიმენტებით. ისინი აღნიშნულ ექსპერიმენტში ნივთიერება აკრიდინით იწვევდნენ მუტაციებს ფაგ T4-ის rII უბანში. აკრიდინი წარმოადგენს მუტაგენურ საღებარს. ამ ნივთიერების მოქმედების მუტაციური ეფექტი იმაში მდგომარეობს, რომ მისი ზემოქმედების შედეგად, დნმ-ში ცალკეული ნუკლეოტიდის ამოვარდნა (დელეცია) ან ჩამატება (ინსერცია) ხდება. ჩატარებული ცდებით ნაჩვენები იქნა, რომ აკრიდინით ინდუცირებული მუტაციები ორი მიმართულებით განსხვავდება ნუკლეოტიდების შეცვლით ინდუცირებული მუტაციებისაგან:

პირველი - ნუკლეოტიდების შეცვლისას ხშირად ადგილი აქვს წერტილოვან მუტაციებს. ამ დროს იცვლება მხოლოდ გენის ის კოდონი, სადაც ადგილი ჰქონდა მუტაციას. წერტილოვანი მუტაციის დროს, მართალია, ცილის აქტივობა იცვლება, მაგრამ მისი ფუნქცია მთლიანად არ ქრება. აკრიდინული მუტაციის დროს კი გენის ფუნქცია მთლიანად იშლება.

მეორე - წერტილოვანმა მუტაციებმა შეიძლება განიცადონ რევერსია ველური ტიპისაკენ. აკრიდინული მუტაციები რევერსიას განიცდიან მხოლოდ აკრიდინის ხელმეორე ზემოქმედების შედეგად. ამ დროს გენის ფუნქციის მოშლა განპირობებულია იმით, რომ გენეტიკური კოდი იკითხება ფიქსირებული სასტარტო წერტილიდან გადაუფარავი ტრიპლეტების სახით.

გადაუფარავი კოდი ნიშნავს, რომ ყოველ კოდონში შედის სამი ნუკლეოტიდი, ხოლო თანამიმდევრობით განლაგებული კოდონები წარმოადგენს თანამიმდევრობით განლაგებულ ტრიპლეტებს. ამასთან, კოდონები არ არის გამიჯნული ერთმანეთისაგან, ანუ მათი წაკითხვა სასვენი ნიშნების გარეშე ხდება. ეს გულისხმობს, რომ თუ კოდის რომელიმე უბანში ნუკლეოტიდის ამოვარდნა ან ჩამატება მოხდა, მის შემდეგ განლაგებულ ტრიპლეტებშიც იცვლება ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. შესაბამისად, იცვლება ცალკეული კოდონის შინაარსი და გენში ჩაწერილ მთელი გენეტიკური ინფორმაციაც (სურ. 5.70).

ფიქსირებული სასტარტო წერტილი ნიშნავს, რომ გენში ჩაწერილი ინფორმაციის კოდური ერთეულები (კოდონები) ფუნქციონირებს გენის საწყისი წერტილიდან მწყობრი თანამიმდევრობით. შესაბამისად, ცილის ბიოსინთეზი იწყება ერთი ბოლოდან და მთავრდება მეორე ბოლოზე, ანუ კოდირებადი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ცალკეული უბანი დამოუკიდებლად ვერ წაიკითხება.

თუ გენეტიკური კოდი იკითხება გადაუფარავი ტრიპლეტების სახით, დასაშვებია დნმ-ის ცილის მოლეკულებად ტრანსლაციის სამი მიმართულება, ანუ დასაშვებია კოდის წასაკითხი სამი ჩარჩოს არსებობა. მაგალითად, თუ დნმ-ის მოლეკულაში გვაქვს შემდეგი ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა:

ა გ ც ა გ ც ა გ ც ა გ ც ა გ ც ა გ ც ა გ ც

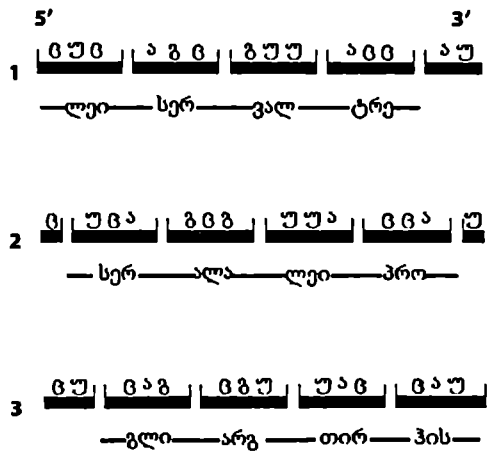
შესაძლებელია, წაკითხვის მხოლოდ სამი შესაძლო ჩარჩოს გამოყენება:

აგც აგც აგც აგც აგც აგც აგც
გცა გცა გცა გცა გცა გცა გცა
ცაგ ცაგ ცაგ ცაგ ცაგ ცაგ ცაგ

მაგრამ უკრედი კონკრეტული ცილის სინთეზის მოთხოვნიდან გამომდინარე, იშვიათი გამონაკლისი გარდა, იყენებს მხოლოდ ერთ ჩარჩოს. შედარებისთვის შეიძლება ნებისმიერი სამი სიმბოლოსგან შემდგარი ტექსტი მოვიყვანოთ. ტექსტის სწორად გაგებისთვის აუცილებელია სიმბოლოების სწორად დაჯგუფება, ანუ სწორი წასაკითხვი ჩარჩო.

მაგალითად, სიმბოლოების თანამიმდევრობა *სრადაქომანიასძმაუჩა.* ამ სიმბოლოების ტრიპლეტური დაჯგუფება მხოლოდ მეორე პოზიციიდან - *რ* სიმბოლოდ ქმნის აზრიან წინადადებას *რად აქო მან იას ძმა უჩა.* სხვა წერტილიდან სიმბოლოების უაზრო დაჯგუფება მიიღება - *სრა დაქ ომა ნია სძმ აუჩ ა* ან *ადა ქომ ანი სძმ უჩა.* სწორი წასაკითხი ჩარჩო, ასევე, მნიშვნელოვანია უჯრედის მოლეკულური ენისათვის.

ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას სასტარტო წერტილსა და ტერმინაციულ წერტილს შორის *ღია წასაკითხი ჩარჩო* ეწოდება (სურ. 5.70).



სურ. 5.70. გენეტიკური კოდის წასაკითხი ჩარჩოს სქემა. 1,2,3 - კოდის წასაკითხი სამი შესაძლო ჩარჩო

თუ კოდის წასაკითხად გამოიყენება მხოლოდ ერთი ჩარჩო, წერტილოვანი მუტაციების შემთხვევაში იცვლება მხოლოდ ერთი ნუკლეოტიდი (ერთ ნუკლეოტიდს მეორე ჩაანაცვლებს), ე.ი. ცვლილება მხოლოდ ერთ კოდონში ხდება, რაც ცილის ტრანსლაციის დროს მის შედგენილობაში მხოლოდ ერთი ამინომჟავას შეცვლას იწვევს. ამ შემთხვევაში არ არის აუცილებელი, ცილის მოლეკულამ მთლიანად დაკარგოს აქტივობა. ასეთ დროს, უმეტესად, ცილის აქტივობის მხოლოდ ნაწილობრივ ცვლილებასთან გვაქვს საქმე.

ნუკლეოტიდების ჩამატების ან დელეციის დროს კი ადგილი აქვს წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას. კოდის გადაუფარაობის თვისებიდან

გამომდინარე, იცვლება მუტაციის საიტის შემდეგ განლაგებული კოდონების შინაარსი, რაც ტრანსლირებული ცილის მოლეკულაში შესაბამისი ამინომჟავების თანამიმდევრობის შეცვლას იწვევს, აღარ ხდება ნორმალური პოლიპეპტიდის სინთეზი და ცილის ფუნქცია მთლიანად იცვლება ან იკარგება. თუ მუტაცია სამი ნუკლეოტიდის ინსერციით ან დელეციით მიმდინარეობს, გენეტიკურ კოდში ერთი ამინომჟავას ჩამატება ან ამოვარდნა ხდება, რაც არ იწვევს ისეთ ძლიერ მუტაციურ ეფექტს და, შესაძლოა, შენარჩუნებულიც კი იქნეს ცილის ფუნქცია.

გენეტიკური კოდის გაშიფვრა - კოდის ტრიპლეტური ბუნების დადგენიდან ძალიან მალე, მეცნიერებმა მოახერხეს გენეტიკური კოდის გაშიფვრა. 1961 წელს *მარშალ ნირენბერგმა და ჰენრიხ მათეიმ* (*Marshall Nirenberg, Heinrich Matthaei*), შეძლეს ცილის სინთეზისთვის აუცილებელი სისტემის მიღება არაუჯრედული ექსტრაქტის სახით, ე.წ. *in vitro* პირობებში. პირველი ცდები ჩატარებული იქნა *E. coli*-ს უჯრედებიდან მიღებულ ექსტრაქტზე. შლიდნენ მის უჯრედებს, ცენტრიფუგირებით აცლიდნენ უჯრედული გარსისა და მემბრანის ფრაგმენტებს, ხოლო დნმ-ის მოლეკულებს შლიდნენ ფერმენტ დნმ-აზას ზემოქმედებით. ასეთი გზით დამუშავებულ უჯრედულ ექსტრაქტზე პოლინუკლეოტიდებისა და შესაბამისი ფერმენტების დამატებით შესაძლებელი გახდა ცილის სინთეზის განხორციელება.

თავიანთ ექსპერიმენტში ნირენბერგი და მათეი *E.coli-ს* უჯრედულ ექსტრაქტს უმატებდნენ ჰომოპოლიმერს, რომელიც მხოლოდ ურაცილის ნუკლეოტიდებისგან შედგებოდა. ეს იყო ბაქტერიული უჯრედისთვის დასმული შეკითხვა - რომელ ამინომჟავას ასინთეზირებს კოდონი *უუუ?* პასუხი ერთმნიშვნელოვანი აღმოჩნდა - ეს არის *ფენილალანინი.* მიღებული შედეგი იმ დროისთვის სენსაციური იყო, რადგან ამ ექსპერიმენტით გაიხსნა გენეტიკური კოდის გაშიფვრისკენ მიმავალი გზა. ანალოგიურად დადგინდა, რომ პოლიციტოზინი - პოლიპროლინის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზს განსაზღვრავს, ხოლო პოლიადენილი - პოლილიზინისას, ანუ ტრიპლეტი *ცცც* ამინომჟავა *პროლინს* ასინთეზირებს, ხოლო ტრიპლეტი *ააა - ლიზინს.* შემდეგ ეტაპზე მოხერხდა ცილის სინთეზის მატრიცად ხელოვნური ჰეტეროპოლიმერების გამოყენება, რომლებზეც სხვადასხვა ამინომჟავური შედგენილობის პოლიპეპტიდური ჯაჭვები

იქნა მიღებული. მიუხედავად შედეგებისა, სინთეზური მ-რნმ-ის მოლეკულაში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის განსაზღვრა საკმაოდ რთული იყო. ამ პერიოდისათვის მეცნიერები ვერ ახერხებდნენ წინასწარ განსაზღვრული ნუკლეოტიდებიდან რნმ-ის, თუნდაც, ძალიან მოკლე ფრაგმენტების აწყობასაც კი. პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვების მიღება ნუკლეოტიდების ნარევის მხოლოდ შემთხვევითი სინთეზით იყო შესაძლებელი. 1965 წელს *ჰარ გობინ ქორანამ (Har Gobind Khorana)* წინასწარ განსაზღვრული ნუკლეოტიდებიდან რნმ-ის ფრაგმენტების სინთეზი შეძლო. ეს აღმოჩენა კიდევ ერთ გარღვევას წარმოადგენდა კოდის გაშიფვრისკენ მიმავალ გზაზე, რამაც შესაძლებელი გახადა გენეტიკურ კოდონებსა და ამინომჟავებს შორის ზუსტი შესაბამისობის განსაზღვრა. 1967 წლისათვის გენეტიკური კოდი მთლიანად იქნა გაშიფრული, რისთვისაც ***1968 წელს რობერტ ჰოლის, მარშალ ნირენბერგსა და ჰარ გობინ ქორანას*** *(Robert Holley, Marshall Nirenberg, Har Gobind Khorana,)* ***ნობელის პრემია მიენიჭათ.*** მოგვიანებით, მათი აღმოჩენები მთლიანად იქნა დადასტურებული მოლეკულურ-გენეტიკური მეთოდებით.

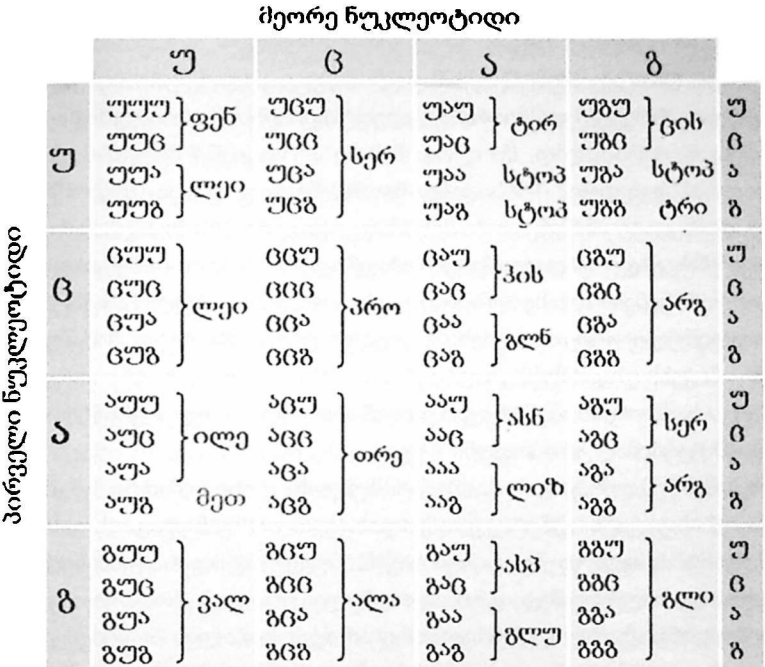
გენეტიკური კოდის ცხრილი

გენეტიკური კოდის გაშიფვრის საბოლოო შედეგები მოცემულია გენეტიკური ცხრილის სახით, რომელიც შემუშავებული იქნა *ფრენსის კრიკის* მიერ. ცხრილში ცილის სტრუქტურაში შემავალი ოცივე ამინომჟავა წარმოდგენილია საერთაშორისო ნომენკლატურით მიღებული სამი ასოსგან შემდგარი შემოკლებების სახით. მაგალითად, Arg - არგინინი, Val - ვალინი, Fen - ფენილალანინი და ა.შ. ყოველი ამინომჟავას შესაბამისი ტრიპლეტური კოდონის მოძებნა შემდეგნაირად ხდება:

კოდონის პირველი ნუკლეოტიდი განლაგებულია ცხრილის მარცხნივ მოთავსებულ რიგში, მეორე ნუკლეოტიდი ცხრილის ზედა ჰორიზონტალურ რიგში, ხოლო მესამე ნუკლეოტიდი ცხრილის მარჯვნივ განლაგებულ რიგში. მათი გადაკვეთა გვაძლევს ოთხ-ოთხი კოდონისაგან შემდგარ ოთხ კვადრატს (სურ. 5.71).

როგორც ვხედავთ, გენეტიკურ კოდში შემავალი 64 კოდონიდან აზრის მქონე მხოლოდ 61 კოდონი. ეს 61 კოდონი შიფრავს 20 ამინომ-

ჟავას, ხოლო 3 კოდონი არ აკოდირებს არც ერთ ამინომჟავას. მათ უშინაარსო, სტოპ-კოდონები ან ტერმინაციული კოდონები ეწოდება.



სურ. 5.71. გენეტიკური კოდის ცხრილი

გენეტიკური კოდის ცხრილიდან ნათლად ჩანს, რომ თითქმის ყველა ამინომჟავას შეესაბამება რამდენიმე კოდონ-სინონიმი, ანუ ერთ ამინომჟავას რამდენიმე კოდონი შეესაბამება. გამოკვეთილია კოდის გარკვეული სტრუქტურა იმ თვალსაზრისით, რომ ერთი ამინომჟავას კოდონ-სინონიმები კოდის ცხრილში გაბნეული კი არ არის, არამედ თითქმის ყოველთვის ერთ კვადრატშია განლაგებული. ამ წესიდან გამონაკლისს წარმოადგენს არგინინის, სერინისა და ლეიცინის კოდონები. ამ ამინომჟავებს შიფრავს ექვს-ექვსი სხვადასხვა კოდონი და, ამდენად, ერთ კვადრატში ფიზიკურად ვერ განთავსდება. ერთი ამინომჟავას კოდონე-

ბის რიცხვი საკმაოდ კარგად ასახავს ცილის მოლეკულაში ამ ამინომჟავას შეხვედრის სიხშირეს, ანუ რაც მეტი კოდონი აკოდირებს ერთ ამინომჟავას, მით უფრო ხშირად გვხვდება ის ცილის მოლეკულის შედგენილობაში. ამ წესიდან გამონაკლისს წარმოადგენს მხოლოდ ამინომჟავა არგინინი.

ერთსა და იმავე ამინომჟავას მაკოდირებელ კოდონ-სინონიმებს, როგორც წესი, პირველი და მეორე ნუკლეოტიდი ერთნაირი აქვს და ერთმანეთისგან, ძირითადად, მხოლოდ მესამე პოზიციაში მყოფი ნუკლეოტიდით განსხვავდება. მაშასადამე, მესამე ნუკლეოტიდს კოდონში არ აქვს გადამწყვეტი მნიშვნელობა მისი სპეციფიკურობის თვალსაზრისით. ამ მოვლენას *კოდის გადაგვარებულობა ეწოდება.* ზოგიერთ შემთხვევაში, კოდონ-სინონიმებს მესამე პოზიციაში მხოლოდ პურინული ან მხოლოდ პირიმიდინული ფუძე აქვს. მესამე ნუკლეოტიდი მხოლოდ სამ შემთხვევაში ანიჭებს კოდონს სპეციფიკურობას. ასეთი უნიკალური კოდონებია: *აუგ* - აკოდირებს ამინომჟავა მეთიონინს, *უგგ* - აკოდირებს ტრიპტოფანსა და ტერმინალური კოდონი - *უგა.*

მესამე ნუკლეოტიდის გადაგვარებულობა მინიმუმამდე ამცირებს მუტაციების ეფექტს. გენეტიკური კოდის ასეთი ორგანიზაციის გამო, ის გაცილებით დაცულია შეცდომებისაგან. ნუკლეოტიდის შემთხვევითი შეცვლის დროს უფრო მეტად მოსალოდნელია ერთი ამინომჟავას შეცვლა მისი მსგავსით ან ცვლილებას საერთოდ არ აქვს ადგილი.

ცოცხალ სამყაროში გვხვდება *გენეტიკური კოდის გადაფარვის* შემთხვევები. მაგალითად, ფაგ ψ174-ის კოდში ნაპოვნი იქნა ორი გადაფარვადი წასაკითხი ჩარჩო. ასეთი ჩარჩოს გამოყენება განაპირობებს დნმ-ის ერთი მოლეკულის მიერ ორი მოლეკულა ცილის კოდირებას. ანალოგიური შემთხვევები გვხვდება სხვა ვირუსებსა და მიტოქონდრიულ გენომში. „*E.coli*-ს გენომის“ პროექტის შედეგების მიხედვით, გაშიფრული იქნა 405 გადაფარვადი გენი. კოდის გადაფარვა ზრდის მუტაციების ალბათობას. კოდირებადი უბნის მოქნილობა ასეთ დროს შეზღუდულია იმ მიზეზით, რომ მესამე ნუკლეოტიდის ცვლილებამ, შესაძლოა, არ გამოიწვიოს ერთი ცილის სტრუქტურის ცვლილება, მაგრამ დიდი ალბათობით, მეორე ცილის სტრუქტურის ცვლილებას მაინც გამოიწვევს. კოდის გადაფარვის შემთხვევები ნაპოვნია ძუძუმწოვრების

მიტოქონდრიულ გენომშიც. მიუხედავად ამისა, გადაუფარავი წასაკითხი ჩარჩოს მოვლენა გენეტიკური კოდისთვის არ არის ტიპური და ძალიან იშვიათად გვხვდება. ამიტომაც გადაუფარავი ტრიპლეტები კოდის ერთ-ერთ უნივერსალურ თვისებად ითვლება.

ტერმინაციის კოდონები. გენეტიკურ კოდში შემავალი 64 კოდონიდან სამი ტრიპლეტი *უაა, უგა* და *უაგ* ტერმინალური (სტოპ) კოდონებია. მათ *უშინაარსო* ანუ *ნონსენს კოდონებსაც* უწოდებენ. ამ კოდონებზე ცილის სინთეზი წყდება.

ტერმინაციული კოდონების არსებობა 1961 წელს ფაგ T4-ზე ჩატარებული ნონსენს-მუტაციის გამომწვევი ექსპერიმენტებით იქნა დადგენილი. ცდაში პატრონი-უჯრედების სახით *E.coli*-ს უჯრედები იყო გამოყენებული. შექმნეს პირობითად ლეტალური სისტემა. ცდისთვის იყენებდნენ ბაქტერიის პერმისიულ და არაპერმისიულ უჯრედებს. პერმისიულს უწოდებენ ბაქტერიულ შტამს, რომელშიც შეუძლია გამრავლება კონკრეტული მუტაციის მატარებელ ბაქტერიოფაგს, არაპერმისიულ შტამში ასეთი ფაგი არ მრავლდება. არაპერმისიულ სისტემაში ფაგის მუტანტები ვერ მრავლდებოდნენ ნონსენს-მუტაციების გამო, მაშინ, როცა ისინი თავისუფლად მრავლდებოდნენ ბაქტერიის პერმისიულ შტამებში ეს აიხსნებოდა პერმისიულ შტამებში მუტაცია-სუპრესორის არსებობით. სუპრესორი თრგუნავდა ფაგის ნონსენს-მუტაციის ეფექტს. სუპრესორად გამოყენებული იყო ამინოაცილ ტ-რნმ-ის მუტაციური ფორმა, რომელიც ამოიცნობს კოდონ-ტერმინატორს და ამ ადგილას ჩასვამს თავის ამინომჟავას. ასე ითრგუნება ნონსენს-მუტაციის ეფექტი და შეწყვეტილი ცილის სინთეზი გრძელდება.

ყველა ჩატარებული გენეტიკური გამოკვლევით ერთნაირი შედეგები იქნა მიღებული. ნონსენს-მუტაციის შედეგად ჩამოყალიბებული ნებისმიერი კოდონ-ტერმინატორი იწვევს ცილის სინთეზის შეჩერებას. ამასთან, ნებისმიერი გენის დაბოლოება ხდება ერთ-ერთი და, უფრო ხშირად, არანაკლებ ორი კოდონ-ტერმინატორით. ეს კოდონები წარმოადგენს ველური ტიპის ცილის C-ბოლოზე განლაგებული ამინომჟავების მაკოდირებელი ტრიპლეტის გაგრძელებას.

არც ერთი კოდონ-ტერმინატორისათვის არ არის ნაპოვნი შესაბამისი ტ-რნმ. მაშასადამე, ცილის სინთეზის ტერმინაციის მექანიზმი არ იმარ-

თება სპეციალური ტ-რნმ-ის მონაწილეობით. სამაგიეროდ, ტერმინაციის პროცესს წარმართავს სპეციალური ცილოვანი ფაქტორები, რომლებიც მოქმედებას იწყებს, როგორც კი მიაღწევს კოდონ-ტერმინატორს. მაშასადამე, ტერმინალური კოდონები ცილის მოლეკულების სინთეზის ტერმინაციას, ანუ დასრულებას უზრუნველყოფს. მათი მოქმედების მექანიზმი მნიშვნელოვნად განსხვავდება ამინომჟავების მაკოდირებელი ტრიპლეტების მოქმედების მექანიზმებისაგან.

გენეტიკური კოდის უნივერსალობა. ითვლება, რომ გენეტიკური კოდი უნივერსალურია მთელი ცოცხალი სამყაროსთვის, რაც იმას ნიშნავს, რომ ყველა ცოცხალ უჯრედში განსაზღვრული კოდონი შეესაბამება განსაზღვრულ ამინომჟავას. მაგალითად, ნებისმიერ პროკარიოტულ თუ ევკარიოტულ გენომში *აუგ* ტრიპლეტი ამინომჟავა მეთიონინს აკოდირებს, *ცგგ* - პროლინს და ა.შ. ლაბორატორიული ექსპერიმენტებით დადგინდა, რომ ერთი სახეობის ორგანიზმიდან გენების სხვა სახეობის ორგანიზმში ტრანსპლანტაციის შემდეგ ის შეიძლება წაკითხულიქნეს ამ უკანასკნელის ცილის სინთეზის აპ არატის მიერ, როგორც *in vitro,* ისე, *in vivo* პირობებში. სადღეისოდ, ასეთი ჰეტეროგენური სისტემები საკმაოდ წარმატებით გამოიყენება პრაქტიკულ ბიოტექნოლოგიაში.

აღსანიშნავია, რომ ცოცხალ სამყაროში კოდის უნივერსალობის დადგენილი წესის გამონაკლისებიც არის დაფიქსირებული. გენეტიკური კოდის მცირე ვარიაციები გვხვდება სხვადასხვა ორგანიზმის გენომში. მაგალითად, ზოგიერთი სახეობის მიტოქონდრიების გენომში კოდონი *უგა* იკითხება, როგორც *უგგ,* ანუ კოდონ-ტერმინატორის ნაცვლად წარმოადგენს ტრიპტოფანის მაკოდირებელ ტრიპლეტს. საფუვრებში *ცუა* აკოდირებს თრეონინს ლეიცინის ნაცვლად. ძუძუმწოვრების გენეტიკურ კოდში ტრიპლეტი *აუა* იმავე მნიშვნელობისაა, რაც *აუგ* და ლეიცინის ნაცვლად შიფრავს მეთიონინს. *აგა* და *აგგ,* არგინინის გაშიფვრის ნაცვლად, პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის ტერმინაციას განაპირობებს.

გენეტიკური კოდის ევოლუცია. მცირე გამონაკლისების მიუხედავად, გენეტიკური კოდი უნივერსალურად ითვლება, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს ცოცხალი სამყაროს ერთიანი წარმოშობისა და ევოლუციური განვითარების თვალსაზრისით. კოდის უნივერსალობა მეცნიერებს აფიქრებინებს, რომ ის ჩამოყალიბდა ჯერ კიდევ პრიმიტიულ

უჯრედებში, რომლებმაც შემდეგში დასაბამი მისცა ყველა ცოცხალ ორგანიზმს. ან შესაძლოა, გენეტიკური კოდი ჯერ კიდევ სიცოცხლის ევოლუციის პრეუჯრედულ დონეზე ჩამოყალიბდა და შემდეგ საფუძვლად დაედო მთელი ცოცხალი სამყაროს გენეტიკურ სისტემებს. ამის საფუძველს იძლევა გენეტიკური კოდის უნივერსალობა - გენეტიკური კოდის ერთიანი გენეტიკური შინაარსი მთელ ცოცხალ სამყაროში.

ე.წ. „კოდის გაყინვის" თეორიის თანახმად, კოდის სტრუქტურა თავდაპირველად შემთხვევითი კომბინაციების პრინციპით ყალიბდებოდა, მაგრამ მას შემდეგ, რაც კოდი შინაარსიანი გახდა, მისი ევოლუციური დივერგენცია აღარ მომხდარა. *ფრენსის კრიკისა* და *კარლ ვოეზეს (Carl Woese)* მიხედვით, შესაძლებელია, კოდი თავდაპირველად წარმოდგენილი იყო უფრო პრიმიტიული ფორმით, სადაც ერთ კოდონს შეეძლო გაეშიფრა ერთი ჯგუფის ნებისმიერი ამინომჟავა. ამ დროისათვის ცილის სინთეზი ვერ იქნებოდა ზუსტი და მაღალსპეციფიკური პროცესი, მაგრამ ამ თეორიის მომხრე მეცნიერების აზრით, განვითარების ამ სტადიაზეც კი, კოდი, ალბათ, ტრიპლეტური იყო. *კრიკის* აზრით, კოდის დუპლეტურობის შემთხვევაში ვერ მოხერხდებოდა მეზობელი ამინომჟავების დაახლოება და დაკავშირება, თუმცა, ამინომჟავას ამოსაცნობად საკმარისი უნდა ყოფილიყო ტრიპლეტის პირველი ორი ნუკლეოტიდი. ვარაუდობენ, რომ კოდონში მესამე ნუკლეოტიდის სპეციფიკურობა განვითარების უფრო მაღალ საფეხურზე ჩამოყალიბდა. ამას ადასტურებს მიტოქონდრიული გენომის არსებობა, სადაც ადგილი აქვს კოდის სრულ გადაგვარებულობას. მიტოქონდრიულ გენომში მესამე ნუკლეოტიდი არ ახდენს გავლენას კოდონის შინაარსზე.

განხილული თეორიის თანახმად, ცოცხალი ორგანიზმების განვითარების რომელიღაც ეტაპზე მოხდა კოდის „გაყინვა" თანამედროვე სახით. როგორც ჩანს, გენეტიკური ინფორმაციის კოდირების ეს სისტემა საკმაოდ სრულყოფილი აღმოჩნდა და უკვე ნებისმიერი შეცდომა აღარ იწვევდა ამინომჟავების შეცვლით განპირობებულ კრიტიკულ ცვლილებებს.

ტრანსლაციის პროცესი ციტოპლაზმის სტრუქტურულ ერთეულში - რიბოსომაში ხორციელდება. ტრანსლაცია რთული, საფეხურებრივი, ენერგოტევადი პროცესია, რომელშიც მრავალი მოლეკულური კომპონენტი მონაწილეობს - მ-რნმ, ტ-რნმ, სპეციფიკური ტრანსლაციური ფერმენტები და ა.შ.

მესენჯერული რნმ. მ-რნმ მოლეკულებს ტრანსლაციის პროცესში ორი ფუნქცია აკისრია: წარმოადგენს მოლეკულა-შუამავლებს მემკვიდრეობითიი მასალის ციტოპლაზმაში ინფორმაციის გადატანის პროცესში; ასრულებს მატრიცის ფუნქციას ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის აწყობის დროს.

პირველი მონაცემები ცილის სინთეზის პროცესში მ-რნმ-ის როლის შესახებ მიღებულ იქნა ფაგი T2-ით ინფიცირებული ბაქტერიის უჯრედებზე ჩატარებული ექსპერიმენტებით.

ფაგური ინფექციის დროს ბაქტერიის უჯრედებზე დაკვირვებით დადგენილ იქნა, რომ ინფიცირებულ უჯრედებში რნმ-ის საერთო რაოდენობა არ იცვლება, უცვლელი რჩება რიბოსომური რნმ-ის რაოდენობაც. მაგრამ, როგორც კი უჯრედში შეაღწევს ფაგის დნმ, ძალიან სწრაფად სინთეზირდება რნმ-ის მოლეკულების მცირე რაოდენობა, რომელებიც უკავშირდება რიბოსომის მოლეკულებს და მალევე იშლება. შესაძლებელი გახდა ახლად სინთეზირებული რნმ-ის მოლეკულების ფაგურ დნმ-თან ჰიბრიდიზაცია, მაშინ, როცა მათი ჰიბრიდიზაცია ბაქტერიის დნმ-ის მოლეკულებთან ვერ მოხერხდა. შემდეგში, როცა შეძლეს დნმ-ის ორჯაჭვიანი სტრუქტურის დენატურაცია ცალკეულ ჯაჭვებად და მათი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის შედარება ინფიცირებული ბაქტერიულ უჯრედში სინთეზირებულ მ-რნმ-ის მოლეკულებთან, გამოვლინდა, რომ მ-რნმ-ის მოლეკულები ფაგის დნმ-ის მხოლოდ ერთი ჯაჭვის ანალოგიურია.

მოგვიანებით, ევკარიოტული უჯრედებიდან მ-რნმ-ის მოლეკულების იზოლაცია მოახდინეს. ერითროციტური უჯრედების გლობინური მ-რნმ-ს, რომელიც რამდენიმე საათის განმავლობაში ინარჩუნებს სიცოცხლისუნარიანობას, უმატებდნენ ცილის სინთეზისთვის აუცილებელ სხვა

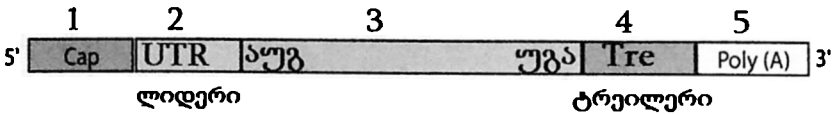
კომპონენებს. მოახერხეს *in vitro* პირობებში ტრანსლაციის პროცესის განხორციელებაც.

ამრიგად, მეცნიერებმა შეძლეს ეჩვენებინათ, რომ უჯრედში არსებობს არასტაბილური რნმ-ის მოლეკულები, რომლებიც დნმ-ის ერთერთი ჯაჭვის ანალოგიურია. ტრანსლაციის დროს ისინი უკავშირდება რიბოსომებს, სადაც მატრიცის როლს ასრულებს.

ამჟამად დადგენილია, რომ მ-რნმ-ის აწყობა დნმ-ის მოლეკულაზე შერჩევითად ხდება მოცემულ მომენტში კონკრეტულ ცილაზე უჯრედის მოთხოვნილების შესაბამისად. დნმ-ის ჯაჭვიდან ტრანსკრიბირებული მ-რნმ-ის მოლეკულა, გაივლის რა შესაბამის გარდაქმნებს (პროცესინგს), მიემართება ციტოპლაზმაში ცილის სინთეზის ადგილას. მ-რნმ მოლეკულები არამდგრადია. შეასრულებს რა თვის ფუნქციას, ძალიან მალე იშლება. ბაქტერიულ უჯრედში მ-რნმ სინთეზირდება, გამოიყენება და იშლება რამდენიმე წთ-ის განმავლობაში. ადამიანის უჯრედში მ-რნმ-ის სიცოცხლის პერიოდი რამდენიმე დღეს შეიძლება შეადგენდეს. მიუხედავად ამისა, მ-რნმ-ის მოლეკულები, დნმ-ის მოლეკულებთან შედარებით, გაცილებით არასტაბილურია.

ევკარიოტული მ-რნმ, როგორც წესი, მონოცისტრონულია, ანუ შეიცავს ინფორმაციას მხოლოდ ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შენების შესახებ, ხოლო პროკარიოტული მ-რნმ პოლიცისტრონული, ანუ ერთზე მეტი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის უნარი აქვს (სურ. 5.56). ევკარიოტულ მ-რნმ-ის მოლეკულები უნიკალური სტრუქტურის მქონე, წრფივად განლაგებულ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას წარმოადგენს (სურ. 5.72). მისი 5'-ბოლო ბლოკირებულია კეპით (იხ. თავი 5.7 - პროცესინგი). კეპს მოსდევს არატრანსლირებადი 5'UTR (ინგლ. untranslated region) უბანი, ე.წ. *ლიდერი თანამიმდევრობა,* რომელიც ტრანსლირებადი უბნით გრძელდება. ეს მონაკვეთი გენის წასაკითხ ღია ჩარჩოს წარმოადგენს. ის უმეტესად იწყება ინიციაციური *აუგ* თანამიმდევრობით და მთავრდება რომელიმე *სტოპ-კოდონით.* მას მოსდევს მეორე არატრანსლირებადი თანამიმდევრობა 3'UTR, ე.წ. *ტრეილერი* (ინგლ. Trailer – წამთრევი, მისაბმელი) და მთავრდება 20-დან 200 ნუკლეოტიდამდე სიგრძის *პოლი-ა* (polyA) კუდით, რომელიც მ-რნმ-ის მოლეკულის 3'-დაბოლოებას ქმნის. ამ თანამიმდევრობის მთლიანობა უკიდურესად

მნიშვნელოვანია ტრანსლაციის პროცესისათვის, ვინაიდან ნებისმიერი ნუკლეოტიდის ამოვარდნა ან შეცვლა მის მიერ ტრანსლირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სტრუქტურაზე ახდენს გავლენას. ასევე, დიდი მნიშვნელობა აქვს მოდიფიცირებულ ბოლოებს. კეპირებული 5'-cap-ბოლო მიუთითებს, თუ საიდან უნდა დაიწყოს ტრანსლაციის პროცესი, ხოლო პოლი-ა კუდი მ-რნმ-ის სტაბილურობას უწყობს ხელს. მისი დეგრადაცია ხშირად პოლიადენილატების კუდის დამოკლებით იწყება.



სურ. 5.72. ევკარიოტული მ-რნმ-ის სტრუქტურა.
1 - კეპირებული (cap) 5'-ბოლო; 2 - არატრანსლირებადი ლიდერული (UTR) უბანი; 3 - ტრანსლირებადი თანამიმდევრობა; 4 - არატრანსლირებადი ტრეილერი (Tre); 5 - პოლი-ა (PolyA) უბანი

სატრანსპორტო რნმ. მ-რნმ-ის მიერ ციტოპლაზმაში გადმოტანილი ინფორმაციის პირდაპირი ტრანსლაცია პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ამინომჟავურ თანამიმდევრობად შეუძლებელია, ვინაიდან კოდონი ამინომჟავას უშუალო დაკავშირებას ვერ ახერხებს. ნუკლეოტიდური ენის ამინომჟავურ ენად გადათარგმნას მოლეკულა-ადაპტორები ესაჭიროება. ამ ფუნქციას ტრანსლაციის პროცესში ტ-რნმ-ის მოლეკულები ასრულებს. ტ-რნმ-ის მოლეკულა, ერთი მხრივ, ამოიცნობს მ-რნმ-ის ნუკლეოტიდურ კოდონს, მეორე მხრივ, უკავშირდება წინასწარ გააქტიურებულ შესაბამის ამინომჟავას. ტ-რნმ-ის მოლეკულების ამ უნარს მათი სტრუქტურული ორგანიზაცია უდევს საფუძვლად.

რნმ-ის მოლეკულების ეს ტიპი 70-90 ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისგან შემდგარი მცირე ზომის მოლეკულებია, სადაც კომპლემენტური თანამიმდევრობები, გაწყვილების შედეგად, სარჭის სტრუქტურას წარმოქმნის. პირველადი სტრუქტურის ოთხი ასეთი სეგმენტი ტ-რნმ-ის სტრუქტურაში ღერძებს ქმნის, ხოლო გაუწყვილებელი უბნები მარყუჟებს, რაც ტ-რნმ-ის მოლეკულის სამყურას ფოთლის ფორმის მეორეული

სტრუქტურის ჩამოყალიბებას განაპირობებს. მეორეული სტრუქტურა შემდეგში გადაიკეცება და წარმოქმნის კომპაქტურ, L ასოს ფორმის მესამეულ, სივრცობრივ სტრუქტურას. ტ-რნმ-ის L სტრუქტურის ურთიერთსაწინააღმდეგო ბოლოებზე განთავსებული გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები უმნიშვნელოვანესია ცილის სინთეზის პროცესის წარმართვისათვის. ერთ-ერთი მათგანი, სამნუკლეოტიდიანი გაუწყვილებელი თანამიმდევრობა - ანტიკოდონი, უკავშირდება ტრანსლირებადი მ-რნმ-ის კომპლემენტურ კოდონს. მეორე, 3'-აქცეპტორულ ბოლოზე განლაგებული გაუწყვილებელი *ცცა* ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა ამინომჟავას დაკავშირების უბანს წარმოადგენს (სურ. 2.25).

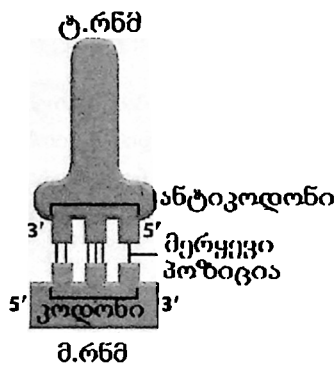
კოდონ-ანტიკოდონური ურთიერთქმედების პრინციპი. ტ-რნმ-ის მიერ საჭირო კოდონის ამოცნობა კოდონ-ანტიკოდონური ურთიერთქმედებით ხორციელდება, რაც ნუკლეოტიდების კომპლემენტური გაწყვილების პრინციპით ხდება. ამ ურთიერთქმედებათა მექანიზმი არ შემოიფარგლება მხოლოდ *გ-ც* და *ა-უ* კანონიკური წყვილების წარმოქმნით, რაც გენეტიკურ კოდის სტრუქტურის თავისებურებებით არის განპირობებული.

როგორც ცნობილია, გენეტიკური კოდის ერთ-ერთ დამახასიათებელ თავისებურებას გადაგვარებულობა წარმოადგენს, ანუ კოდის წაკითხვისას, უმეტეს შემთხვევაში, არა აქვს მნიშვნელობა, რომელი ნუკლეოტიდი იქნება მესამე მდგომარეობაში. ცნობილია მხოლოდ სამი შემთხვევა, როდესაც მესამე მდგომარეობაში მყოფი აზოტოვანი ფუძე კოდონს უნიკალურ მნიშვნელობას ანიჭებს. ეს კოდონებია: *აუგ* - აკოდირებს ამინომჟავა მეთიონინს, *უგგ* - აკოდირებს ტრიპტოფანსა და *უგა* - ტერმინალური კოდონია. ეს იმაზე მიუთითებს, რომ თუ კოდონში მესამე მდგომარეობაში ციტოზინი ან ურაცილია, კოდონს არ გააჩნია მხოლოდ ერთი მნიშვნელობა. ვერც მესამე მდგომარეობაში მყოფი ადენინი უზრუნველყოფს ერთადერთი ამინომჟავას სინთეზს (*უგა* - ტერმინალური კოდონია).

რადგან ანტიკოდონი კოდონის კომპლემენტურია, გამოდის, რომ კოდონის მესამე ნუკლეოტიდი ურთიერთქმედებს ანტიკოდონის პირველ ნუკლეოტიდთან. ამასთან, სხვადასხვა უჯრედიდან გამოყოფილი ტ-

რნმ-ის მოლეკულების შესწავლით დადგინდა, რომ ერთ ტ-რნმ-ის მოლეკულას შეუძლია, ამოიცნოს რამდენიმე სხვადასხვა კოდონი. მაშასადამე, ანტიკოდონის პირველ ნუკლეოტიდს შეუძლია კავშირის დამყარება კოდონის მესამე პოზიციაში მდგომ რამდენიმე სხვადასხვა ნუკლეოტიდთან. ასეთ შემთხვევაში ნუკლეოტიდების გაწყვილების პრინციპი სცილდება მხოლოდ კანონიკური კავშირების წარმოქმნის შესაძლებლობას.

კოდონ-ანტიკოდონის დაკავშირების ასეთ პრინციპს ნუკლეოტიდების არაერთგვაროვანი შესაბამისობის ანუ „მერყეობის“ ჰიპოთეზით (ინგლ. wobble hypothesis) ხსნიან. ამ ჰიპოთეზის მიხედვით, კოდონ-ანტიკოდონური კავშირის დროს კოდონის პირველი ორი ნუკლეოტიდი ანტიკოდონის შესაბამის (მეორე და მესამე) ნუკლეოტიდებს ყოველთვის კანონიკური პრინციპით უკავშირდება. კოდონის მესამე პოზიციაში კი დასაშვებია ე.წ. „მერყეობა“, ანუ არაკანონიკური ნუკლეოტიდური წყვილის წარმოქმნა ანტიკოდონის პირველ ნუკლეოტიდთან (სურ. 5.73).



სურ. 5.73. კოდონ-ანტიკოდონის დაკავშირება „მერყეობის“ ჰიპოთეზის თანახმად

ასეთი ნუკლეოტიდური წყვილების შესაძლო ვარიანტებია:

- ანტიკოდონის *უ-ს* შეუძლია კოდონში ამოიცნოს კოდონის *ა* და *გ*;
- ანტიკოდონის *ც* ამოიცნობს მხოლოდ კოდონის *გ*-ს;
- ანტიკოდონის *ა* ამოიცნობს მხოლოდ კოდონის *უ*-ს;
- ანტიკოდონის *გ* კოდონში ამოიცნობს, როგორც *ც*-ს, ასევე *უ*-ს.

როგორც ვხედავთ, კოდონების ერთმნიშვნელოვნად ამოცნობა ხდება მხოლოდ კოდონის მესამე პოზიციაში გუანინის ან ურაცილის არსებობის შემთხვევაში. ასეთი კოდონებია - *უგგ* და *აუგ*, თუმცა, სპეციფიკური კოდონი ურაცილისთვის აღმოჩენილი არ არის.

კოდონ-ანტიკოდონური კავშირის წარმოქმნაში, ხშირად, ტ-რნმ-ის მოლეკულის მოდიფიცირებული ნუკლეოტიდები მონაწილეობს. ისინი ანტიკოდონის პირველ პოზიციაში კოდონის მესამე ნუკლეოტიდთან ნაკლებად მკაცრ გაწყვილებას განაპირობებს. უმეტეს შემთხვევაში, ეს ანტიკოდონური ნუკლეოტიდები ისეა მოდიფიცირებული, რომ გაადვილდეს ნუკლეოტიდური წყვილების წარმოქმნა სხვადასხვა, მათ შორის, არაკანონიკურ ნუკლეოტიდთან. მაგალითად, ანტიკოდონის პირველ პოზიციაში თითქმის არ გვხვდება *ადენინი.* ეს ნუკლეოტიდი, ჩვეულებრივ, მოდიფიცირებულია *ინოზინად,* რომელსაც შეუძლია, დაუკავშირდეს კოდონის მესამე პოზიციაში მდგომ ურაცილს, ციტოზინს და ადენინს. ანტიკოდონის პირველ მდგომარეობაში *გუანინი ქვეოზინად* გარდაიქმნება და შეუძლია გაუწყვილდეს ციტოზინს ან ურაცილს.

ამრიგად, „კოდის მერყეობის“ ჰიპოთეზა ერთი კოდონის რამდენიმე ანტიკოდონით ამოცნობის შესაძლებლობის იძლევა. მიუხედავად ამისა, კოდის წაკითხვის დროს ყველა შესაძლო ვარიანტის ერთდროულად გამოყენება არ ხდება და მხოლოდ ერთ-ერთს ენიჭება უპირატესობა. მეორე მხრივ, გვხვდება შემთხვევები, როცა არ ხერხდება კოდონ-ანტიკოდონური კავშირის დამყარება ჰიპოთეზით დასაშვებ შემთხვევებში, ან კიდევ, პირიქით, წარმოიქმნება ისეთი კავშირიც, რაც ჰიპოთეზის წესებით ვერ აიხსნება. ამ გამონაკლისებს მეცნიერები ისევ ტ-რნმ-ის უნიკალური სტრუქტურით ხსნიან. მიიჩნევა, რომ ასეთ დროს კოდონ-ანტიკოდონური კავშირის წარმოქმნაში მონაწილეობს არა მარტო ანტიკოდონური მარყუჟი, არამედ L-სტრუქტურაში მის მახლობლად განლაგებული უბნებიც. ისინი გავლენას ახდენენ ანტიკოდონის მიერ შესაბამისი კოდონის ამოცნობაზე.

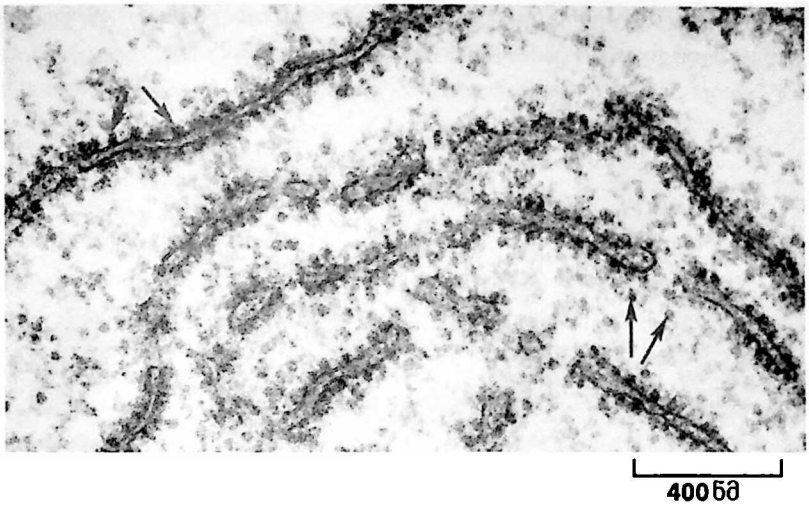
რიბოსომები. ბირთვიდან მესენჯერული რნმ-ის მიერ ციტოპლაზმაში გადატანილი ინფორმაციის ტრანსლაცია რიბოსომებში ხდება. სწორედ რიბოსომები უზრუნველყოფს გენეტიკური მესიჯის სწორ წაკითხვას და ცილის სინთეზის მაღალ სიზუსტეს. ეს პირველად ვირ-

თაგვებზე ჩატარებული ცდებით იქნა დადგენილი, როდესაც ცხოველის ორგანიზმში რადიოაქტიური ამინომჟავების შეყვანიდან რამდენიმე წუთში ისინი ღვიძლის უჯრედების რიბოსომურ ფრაქციაში დააფიქსირეს.

რიბოსომების სტრუქტურის შესწავლა დაიწყო მე-20 საუკუნის 50-იან წლებში, ხოლო ამჟამად უჯრედის ეს, ე.წ. „ტრანსლაციური მანქანა“ ატომურ დონეზეა გაშიფრული.

ცოცხალი ორგანიზმების უჯრედებში რიბოსომები საკმაოდ დიდი რაოდენობით გვხვდება. პროკარიოტული უჯრედები დაახლოებით 15 000 რიბოსომას შეიცავს, ხოლო ტიპურ ევკარიოტულ უჯრედში გვხვდება მილიონობით რიბოსომური სტრუქტურა. მათი ნაწილი რიბოსომაში თავისუფლადაა განთავსებული, ხოლო ნაწილი დაკავშირებულია ენდოპლაზმური რეტიკულუმის მემბრანასთან (სურ. 5.74). პროკარიოტული და ევკარიოტული უჯრედების რიბოსომები მსგავსი აგებულებითა და ფუნქციით ხასიათდება. მათი სინთეზი ბირთვაკში ხდება, ხოლო ციტოპლაზმაში ტრანსპორტირების შემდეგ უკავშირდებიან რ-რნმ-ის მოლეკულებს.

რიბოსომები სტრუქტურულად კომპაქტურ, რიბონუკლეოპროტეინულ ნაწილაკებს წარმოადგენს, რომელთა მასა 10^6 დალტონის რიგისაა. ყოველი რიბოსომა ორი (დიდი და მცირე) სუბერთეულისაგან შედგება, ხოლო თითოეული სუბერთეული რ-რნმ-ის და ცილის მოლეკულების კომპლექსისაგან. რიბოსომის თითოეული კომპონენტი მის სტრუქტურაში წარმოდგენილია მხოლოდ ერთი ასლის სახით. ბაქტერიული რიბოსომები ევკარიოტული ციტოპლაზმური რიბოსომებისაგან განსხვავდება ზომებით. პირველად ეს შენიშნულ იქნა ამ ორი ტიპის რიბოსომების სედიმენტაციის დროს. აღმოჩნდა, რომ მათი დალექვის სიჩქარე განსხვავებულია. სედიმენტაციის სიჩქარე გამოისახება სვედბერგის ერთეულებში და აღინიშნება S სიმბოლოთი. რაც უფრო დიდია მოლეკულის მასა, მით მეტია სედიმენტაციის სიჩქარე, შესაბამისად, S-ის მნიშვნელობაც. სედიმენტაციის სიჩქარეზე გავლენას ახდენს, აგრეთვე, ნაწილაკების ზომებიც - კომპაქტური ნაწილაკები უფრო სწრაფად ილექება.

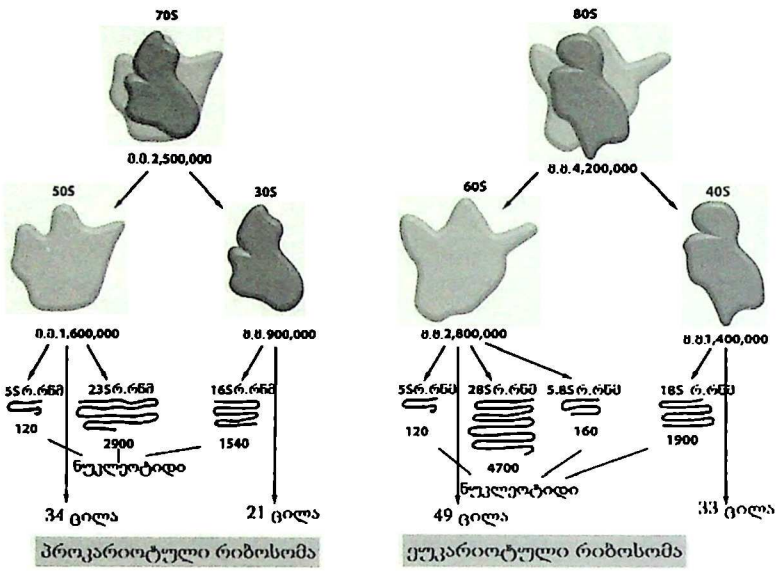


სურ. 5.74. რიბოსომები ევკარიოტული უჯრედის ციტოპლაზმაში (ელექტრონული მიკროფოტო). რიბოსომები ფოტოზე ჩანს შავი წერტილების სახით (მითითებულია ისრით). რიბოსომების ნაწილი თავისუფლადაა გადანაწილებული ციტოპლაზმაში, ნაწილი დაკავშირებულია ენდოპლაზმურ რეტიკულუმთან.

ბაქტერიული რიბოსომების სედიმენტაციის კონსტანტა 70S-ის ტოლია, ხოლო მისი სუბერთეულებისა - 50S და 30S. დიდ სუბერთეულებს თითქმის სფერული ფორმა აქვს და ზომით ორჯერ აღემატება ასიმეტრიული ფორმის მცირე სუბერთეულებს. დიდი სუბერთეულის შედგენილობაში შედის ერთი მოლეკულა 5Sრ-რნმ, ერთი მოლეკულა 23Sრ-რნმ და 34 ცილოვანი მოლეკულა. მცირე სუბერთეული შეიცავს ერთ მოლეკულა 16Sრ-რნმ-ს და 21 ცილოვან მოლეკულას (სურ. 5.75).

ევკარიოტული ციტოპლაზმური რიბოსომების სედიმენტაციის კონსტანტა 80S-ის ტოლია, ხოლო მათი სუბერთეულებისა - 60S და 40S. დიდი სუბერთეულის შედგენილობაში შედის სამი მოლეკულა რ-რნმ: 5S, 28S და 5,8S; მცირე სუბერთეულის შედგენილობაში - ერთი მოლეკულა 18S რ-რნმ; ორივე სუბერთეული 80-ზე მეტ სხვადასხვა სახის ცილოვან

მოლეკულას შეიცავს - დიდი სუბერთეული დაახლოებით 49 მოლეკულას, მცირე დაახლოებით - 33 მოლეკულას (სურ.5.75.).

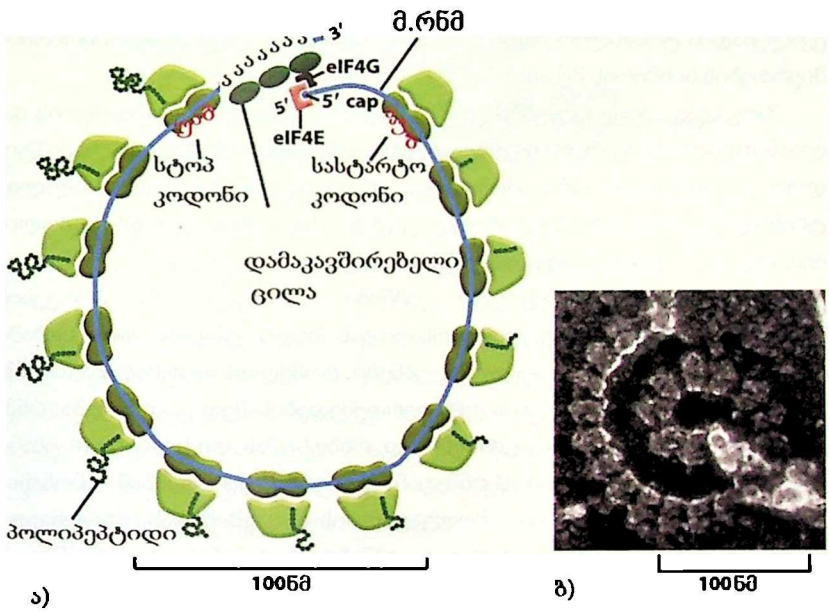


სურ. 5.75. პროკარიოტული და ევკარიოტული რიბოსომების სტრუქტურა

მიტოქონდრიებისა და ქლოროპლასტების რიბოსომების ზომები შედარებით ცვალებადია. მაგალითად, ადამიანის და ბაყაყის მიტოქონდრიული რიბოსომების სედიმენტაციის კონსტანტა 60S-ის, ხოლო სოკოების მიტოქონდრიების რიბოსომებისა - 74 S-ის ტოლია.

როცა რიბოსომა არ არის ჩართული ცილის სინთეზის პროცესში, მისი სუბერთეულები დისოცირებულია ერთმანეთისაგან. რიბოსომის მთლიანი სტრუქტურა მხოლოდ ტრანსლაციის დროს იკვრება. სწორედ აქ იქმნება ყველა აუცილებელი პირობა მ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს შორის კავშირის დამყარებისა და კოდონ-ანტიკოდონური ამოცნობისათვის. სუბერთეულების შეერთების ადგილას ყალიბდება გვირაბის მსგავსი სტრუქტურა, რომელშიც შედის და მოძრაობს მ-რნმ. ცილის სინთეზის პროცესში რიბოსომები მოძრაობს მ-რნმ-ის მოლეკულაზე და თანმიმდევრობით კითხულობს მის ნუკლეოტიდურ წყობას. ამ პროცესის

ცალკეულ ეტაპზე სინთეზირებადი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ერთი ამინომჟავით იზრდება. ამრიგად, რიბოსომა მ-რნმ-ის მოლეკულაზე 5'---3' მიმართულებით გადაადგილდება და თან მიაქვს ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, რომელიც გადაადგილების კვალდაკვალ ზომებში მატულობს. როგორც კი ამ გზაზე რიბოსომას რომელიმე ტერმინალური კოდონი შეხვდება, პოლიპეპტიდის უკვე სინთეზირებული ნაწილი ტოვებს მას და ღებულობს დამახასიათებელ კონფორმაციას. რიბოსომა კვლავ დისოციირდება ცალკეულ სუბერთეულებად და მზადაა სხვა ცილის მოლეკულის ასაწყობად მ-რნმ-ის სხვა, ახალ მატრიცზე (სურ. 5.76).



სურ. 5.76. პოლირიბოსომა.

ა) პოლირიბოსომაზე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ეტაპობრივი სინთეზის სქემატური გამოსახულება; ბ) ევკარიოტული უჯრედის პოლირიბოსომის ელექტრონული მიკროფოტო. Cap -კეპი მ-რნმ-ის 5'ბოლოზე, EF-ტრანსლაციის ელონგაციური ფაქტორი.

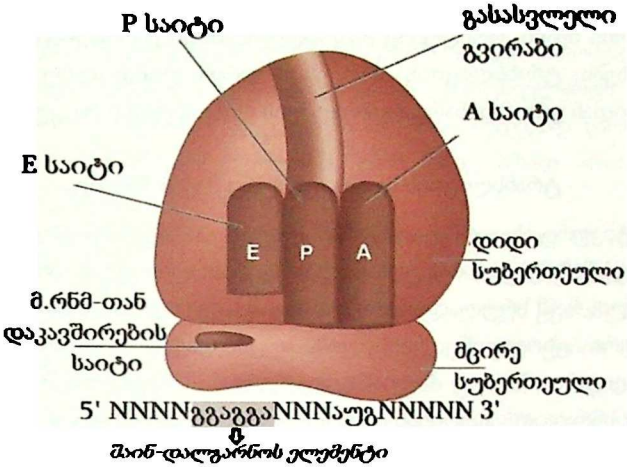
როგორც წესი, ტრანსლაციის პროცესში რიბოსომების მთელი ჯგუფია ჩართული, რომელსაც *პოლირიბოსომას* ან *პოლისომას* უწოდებენ. ეს საშუალებას იძლევა, გაიზარდოს ტრანსლაციის პროცესის პროდუქტიულობა, ვინაიდან პოლისომის ნებისმიერ რიბოსომას შეუძლია ჩაერთოს ცილის სინთეზის პროცესში წინა რიბოსომაში ტრანსლაციის დასრულებამდე. უჯრედებში განსხვავებული ზომის პოლისომები გვხვდება, რაც კონკრეტული ცილის მოლეკულის სინთეზის სპეციფიკითა და სხვა ფაქტორებით აიხსნება. პროკარიოტულ უჯრედებში უფრო დიდი ზომის პოლისომები გვხვდება, ევკარიოტული უჯრედების პოლისომები შედარებით მცირე ზომისაა და რიბოსომების ნაკლებ რაოდენობას შეიცავს. ამასთან, ეს არ არის სტაბილური მაჩვენებელი. პოლისომების ზომა ცვალებადია ტრანსლირებადი მ-რნმ-ის ზომებისა და მათზე რიბოსომის მიერთების სიხშირის შესაბამისად.

ზოგადად, პოლისომებში ტრანსლაციის პროცესი მიმდინარეობს ძალიან მაღალი სიჩქარით. ევკარიოტული უჯრედის მზარდ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში წმ-ში ორი ამონომჟავა ერთვება. კიდევ უფრო მაღალია ტრანსლაციის სიჩქარე ბაქტერიულ უჯრედებში. აქ ყოველ წმ-ში პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს უერთდება 12-17 ამინომჟავა.

რიბოსომების ფუნქციური უბნები. ტრანსლაციის პროცესის მოწესრიგებულ და ეფექტურ წარმართვას ხელს უწყობს რიბოსომაში არსებული ფუნქციურად აქტიური უბნები, რომელთა ფორმირება რ-რნმ-ის და რიბოსომური ცილების ურთიერთქმედების შედეგად ხდება. რნმ-ის მოლეკულებთან დასაკავშირებლად რიბოსომას ოთხი ასეთი უბანი აქვს. ერთ-ერთი მათგანი მ-რნმ-თან კავშირის წარმოქმნაში მონაწილეობს, ხოლო სამი ტ-რნმ-ის მოლეკულების დაკავშირებას უზრუნველყოფს. ტ-რნმ-ის დამაკავშირებელი უბნები A (ამინოაცილ-ტ-რნმ), P (პეპტიდილ-ტ-რნმ) და E გასვლის, (ინგლ. Exit) საიტებად იწოდება. A- და P-საიტების ფორმირებაში რიბოსომის ორივე სუბერთეული მონაწილეობს, ხოლო E-საიტის ფორმირებაში - მხოლოდ დიდი სუბერთეული (სურ. 5.77).

რიბოსომა მ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს ერთმანეთთან ახლო მანძილზე განათავსებს და აწვდის ახალ ამინომჟავას პოლიპეპტიდის კარბოქსილის (C) ბოლოზე დასამატებლად. შემდეგ ის აკატალიზებს პეპტიდური ბმის

წარმოქმნას. როცა პოლიპეპტიდური ჯაჭვი დაგრძელდება, ის „გაძვრება“ დიდი სუბერთეულის გვირაბში. სინთეზის დასრულების შემდეგ პოლიპეპტიდი გვირაბის გასასვლელიდან გადადის ციტოპლაზმაში.



სურ. 5.77. რიბოსომის ფუნქციური უბნების სქემა

ტ-რნმ-ის მოლეკულები რიბოსომის A- და P-საიტებში განთავსდება მხოლოდ იმ შემთხვევაში, თუ მის ანტიკოდონებს შეუძლია მ-რნმ-ის ტრანსლირებად კოდონებთან კომპლემენტური დაკავშირება. მ-რნმ-ის მომიჯნავე კოდონების A და P საიტებში შემოსული ტ-რნმ-ის მოლეკულები სივრცობრივად ახლოსაა განლაგებული ერთმანეთთან, რაც უზრუნველყოფს გენეტიკური ინფორმაციის სწორ წაკითხვას.

რიბოსომა, როგორც რიბოზიმი. რიბოსომების სივრცობრივი სტრუქტურის დეტალური გაშიფვრა თანამედროვე მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთ უახლეს მიღწევას წარმოადგენს. მიღებული მონაცემები ადასტურებს არსებულ ჰიპოთეზას, რომ რიბოსომების სტრუქტურასა და ფუნქციონირებაში მთავარი როლი აკისრია რნმ-ს და არა ცილის მოლეკულებს. რაოდენობრივად რიბოსომის 2/3-ს რ-რნმ შეადგენს, ხოლო 1/3-ს - ცილის მოლეკულები. რ-რნმ-ის მოლეკულებს აქვს მკვეთრად გამოხატული სამგანზომილებიანი სტრუქტურა, რომელიც რიბოსომის გულს

ქმნის. ისინი რიბოსომის დიდი და მცირე სუბერთეულების საზღვრისა და ფუნქციურად აქტიური A- და P-საიტების მთავარ შემადგენელს წარმოადგენს, ხოლო ცილოვანი მოლეკულები, ძირითადად, ზედაპირზე არის განთავსებული. ისინი რ-რნმ-ის ისეთ კონფორმაციულ ცვლილებებს უწყობს ხელს, რომლებიც პეპტიდური ბმის წარმოქმნის რეაქციებს აკატალიზებს. ტრანსლაციის პროცესის დროს მიმდინარე რეაქციების სპეციფიკიდან გამომდინარე, რიბოსომებს რიბოზიმებს მიაკუთვნებენ.

ტრანსლაციის მოლეკულური მექანიზმები

გენეტიკური ინფორმაციის ტრანსლაციის პროცესი ნატიფი მოლეკულური მექანიზმებით რეგულირდება. ტრანსლაციური აპარატი ისეა მოწყობილი, რომ სრულად უზრუნველყოფს უჯრედის მოთხოვნილებას ნორმალური ცხოველქმედებისთვის აუცილებელ ცილათა ნაკრებზე. ტრანსლაციური აპარატი ძალიან ეფექტურად - მაღალი სიზუსტითა და დიდი სისწრაფით ახერხებს გენეტიკური ინფორმაციის შესატყვისი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზს. ამ პროცესის განხორციელებაში ათასობით ცილოვანი ფაქტორია ჩართული, ხოლო საჭირო ენერგიით უზრუნველყოფა გტფ-ის ჰიდროლიზის ხარჯზე ხდება. ზოგადად, ტრანსლაცია მაღალენერგეტიკული პროცესია, რომელიც უჯრედისთვის საჭირო საერთო ენერგიის 90%-ს მოიხმარს, რაც უჯრედის ცხოველქმედების პროცესში ტრანსლაციის უაღრესად დიდ მნიშვნელობას ადასტურებს.

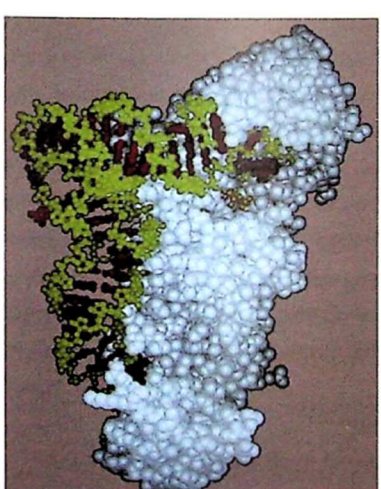
გენეტიკური ინფორმაციის გადამტან შუამავალ მ-რნმ-ის მოლეკულებში ნუკლეოტიდური ინფორმაცია ჩაწერილია და იკითხება 5'---3' მიმართულებით, ხოლო მის შესაბამის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავები N-ბოლოდან C-ბოლოსკენ, N---C მიმართულებით სინთეზირდება, რაც იმას ნიშნავს, რომ მ-რნმ-ის თანამიმდევრობა პოლიპეპტიდის ამინომჟავური თანამიმდევრობის კოლინეარულია, ანუ ერთმანეთის შესაბამისია.

ტრანსლაციის პროცესი მოიცავს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შენებისათვის საჭირო *ამინოჟავების აქტივაციისა* და თავად პოლიპეპტიდის შენების პროცესებს, რომელიც, თავის მხრივ, მოიცავს: *ტრანსლაციის ინიციაციის, ელონგაციისა და ტერმინაციის სტადიებს.*

ამინომჟავების აქტივაცია

პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შენების პროცესში ჩართვის წინ, ამინომჟავები უნდა გააქტიურდეს შესაბამის ტ-რნმ-თან კოვალენტური ბმის წარმოქმნით. ამ პროცესს ფერმენტი ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზა აკონტროლებს. ამ ფერმენტის ფუნქცია ტ-რნმ-ისა და ამინომჟავების სპეციფიკურ დაკავშირებაში მდგომარეობს. ის უზრუნველყოფს ამინომჟავების კავშირს ტ-რნმ-ის მოლეკულებთან, რის შედეგად წარმოიქმნება ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მოლეკულები, რომლებიც მზად არიან ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ჩასართავად.

თითოეულ ტ-რნმ-ს შეუძლია, მიიერთოს მხოლოდ ის ამინომჟავა, რომელიც მის ანტიკოდონს შეესაბამება. მაგალითად, მ-რნმ-ის *გგუ* კოდონს შეესაბამება მხოლოდ ის ტ-რნმ, რომელსაც აქვს *ცცა* ანტიკოდონი. ამ კონკრეტულ ტ-რნმ-ს მხოლოდ ამინომჟავა გლიცინის მიერთება შეუძლია. კოდონში ამინომჟავა უკავშირდება ტ-რნმ-ის აქცეპტორული *ცცა* თანამიმდევრობის ბოლო ნუკლეოტიდს - ადენინს. (სურ. 2.25-ბ). ამ დროს ამინომჟავას კარბოქსილის ჯგუფსა და ტ-რნმ-ის ბოლო ნუკლეოტიდის რიბოზას ჰიდროქსილის (2'-OH ან 3'-OH) ჯგუფებს შორის წარმოიქმნება მაღალენეგული ფოსფოდიესტერული ბმა.



სურ. 5.78. ტ.რნმ-ის მოლეკულის ამოცნობა ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზის მიერ

ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის წარმოქმნა კატალიზდება ფერმენტ ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზის მეშვეობით (სურ. 5.78). ყოველი ამინომჟავასთვის უჯრედში არსებობს თავისი ფერმენტი, რომელიც ამოიცნობს მხოლოდ ერთ ამინომჟავას და ტ-რნმ-ს, რომელსაც შეუძლია ამ ამინომჟავას დაკავშირება. გენეტიკური კოდის თვისებებიდან გამომდინარე, ზოგ ამინომჟავას მხოლოდ ერთი ტ-რნმ შეესაბამება, ზოგს კი რამდენიმე (კოდონ-სინონიმები). უჯრედში მსგავსი მესამეული სტრუქტურის მქონე ტ-რნმ-ის 20 ჯგუფი არსებობს, რომელსაც იზოაქცეპტორულს უწოდებენ. იზოაქცეპტორული ჯგუფის ყველა ტ-რნმ ერთსა და იმავე ამინომჟავას იკავშირებს.

დადგენილია, რომ ბაქტერიულ უჯრედში ყოველი ამინომჟავასათვის თავისი, სპეციფიკური ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზა არსებობს. ამასთან, ერთი ფერმენტი ამოიცნობს ყველა იზოაქცეპტორულ ტ-რნმ-ს. ანალოგიური სიტუაციაა ევკარიოტულ ციტოპლაზმაშიც. თუმცა, ზოგჯერ გამონაკლისის სახით, ამინომჟავასა და ტ-რნმ-ის მიერთების მექანიზმს შეიძლება აკონტროლებდეს ერთზე მეტი ფერმენტი. სინთეტაზები შეიძლება არსებობდეს მონომერების სახით, რომელთა მოლ. მასა 50 000-120 000 დალტონს შეადგენს ან სხვადასხვა პეპტიდური ჯაჭვისგან შემდგარი, დაახლოებით 300 000 დალტონი მასის მულტიმერული ცილების სახით. ნებისმიერ შემთხვევაში, ამინოაცილირების რეაქციის პირველ ეტაპზე კავშირი მყარდება ამინომჟავასა და ატფ-ს შორის ამინოაცილადენილატის წარმოქმნით. ამის შემდეგ, გააქტიურებული ამინომჟავა გადაიტანება ტ-რნმ-ზე. ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზას ფუნქცია მდგომარეობს სამი განსხვავებული სუბსტრატის ამოცნობაში: ტ-რნმ-ს, ამინომჟავასა და ატფ-ის. ჰიდროლიზით (ატფ-ის მოლეკულიდან ხდება პიროფოსფატის მოხლეჩა) გამოთავისუფლებული ენერგია ხმარდება ამინომჟავას გააქტიურებასა და ტ-რნმ-თან დაკავშირებას. ამ რეაქციის შუალედურ პროდუქტს წარმოადგენს ამინომჟავა-ამფ-ის კომპლექსი. ამინომჟავების აქტივაციის და ტ-რნმ-ზე გადატანის ჯამური რეაქცია შეიძლება შემდეგნაირათ გამოვხატოთ:

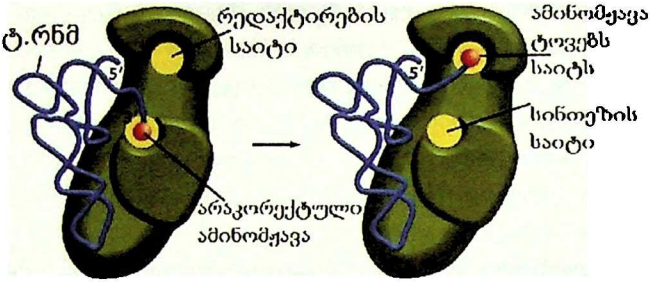
ამინომჟავა + ატფ → ამინოაცილ-ამფ +ფ.

ამინოაცილ-ამფ + ტ-რნმ → ამინოაცილ-ტ-რნმ + ამფ

ამინოაცილირების რეაქცია ძალიან მაღალი სიზუსტით მიმდინარეობს. მიუხედავად ამისა, რეაქციის მსვლელობისას მოსალოდნელია გარკვეული შეცდომები, რომელთა კორექციას უჯრედული სისტემა ახერხებს არასწორი ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მოლეკულების რიბოსომურ კომპლექსში ჩართვამდე. ამ მიზნით, უჯრედში ფუნქციონირებს კორექციის ორი - ჰიდროლიზური რედაქტირებისა და კორექციის ქიმიური მექანიზმები.

ჰიდროლიზური რედაქტირებისთვის ამინოაცილსინთეტაზას, ამინომჟავასთან დაკავშირების (სინთეზის) საიტის გარდა, აქვს მეორე რედაქტირების ცენტრი. არასწორად დაკავშირებულ ამინოაცილ-ტ-რნმ-ს მაღალი თვისობა აქვს ამ საიტის მიმართ. ამიტომ, შეცდომით მოტანილი ამინომჟავა, დაკავშირების საიტიდან სწრაფად გადადის რედაქტირების საიტში, სადაც ჰიდროლიზის რეაქციით ის სცილდება ტ-რნმ-ის მოლეკულას. ხშირად, ამ პროცესს დნმ-ის რეპლიკაციის პროცესში არასწორად ჩართული ნუკლეოტიდების კორექციის ანლოგიურ რეაქციად მიიჩნევენ (სურ. 5.79).

ქიმიური კორექცია ამინოაცილირების რეაქციის არასწორი შუალედური პროდუქტის - ამინოაცილადენილატის წარმოქმნის შემდეგ ხდება. ქიმიურ კორექციას საფუძვლად უდევს ამინოაცილადენილატის არამდგრადობა წყალხსნარში. ამასთან, „სწორ“ პროდუქტთან შედარებით, განსაკუთრებით მაღალია „არასწორი“ პროდუქტის დისოციაციის კონსტანტა. აქ გადამწყვეტ როლს ასრულებს ამინოაცილადენილატის დისოციაციისა და ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის წარმოქმნის სიჩქარეებს შორის თანაფარდობა. ვინაიდან, ეს უკანასკნელი უფრო დაბალია, ვიდრე “არასწორი“ ამინოაცილადენილატის დისოციაციის სიჩქარე, ის ჰიდროლიზდება და ვეღარ წარმოქმნის კავშირს ტ-რნმ-თან. „სწორი“ შუალედური პროდუქტი კი უფრო მდგრადია - მისი დისოციაციის სიჩქარე ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის წარმოქმნის სიჩქარეზე დაბალია. ამიტომ, სწორად წარმოქმნილი ამინოაცილადენილატი ახერხებს ტ-რნმ-თან დაკავშირებას.



სურ. 5.79. არასწორად დაკავშირებული ამინომჟავას ჰიდროლიზური რედაქტირება

ინიციაცია

ტრანსლაციის ინიციაციის სტადია მოიცავს მთელ რიგ პროცესებს, რომლებიც ცილის სინთეზის დაწყებას განაპირობებს. ამ სტადიაზე, რიგი რეაქციებისა კატალიზდება ცილის მოლეკულაში პირველი პეპტიდური ბმის, ანუ პირველი ორი ამინომჟავას დაკავშირებამდე. ინიციაციის ეტაპი ტრანსლაციის პროცესში ყველაზე ნელა მიმდინარეობს.

ტრანსლაციის ინიციაცია საჭიროებს რიბოსომის მცირე სუბერთეულის, მ-რნმ-ისა და მაინიცირებელი ამინომჟავას ტ-რნმ-ის ორიენტირებულ დაჯგუფებას. ინიციაციური კომპლექსის ჩამოსაყალიბების საწყის ეტაპზე აუცილებელია:

- რიბოსომის დაკავშირება მ-რნმ-თან და მისი მორგება საინიციაციო კოდონთან;
- ინიციაციური ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ-ის განთავსება რიბოსომის აქტიურ უბანში.

ამის შემდეგ ხდება დიდი და მცირე სუბერთეულების ასოციირება და ყალიბდება სრულყოფილი ინიციაციური კომპლექსი. ამ პროცესებს წარმართავს სპეციფიკური ცილოვანი ფაქტორები, ე.წ. ინიციაციის ფაქტორები, რომლებიც ფუნქციონირებს მხოლოდ ტრანსლაციის საწყის სტადიაზე.

რიბოსომის დაკავშირება მ-რნმ-თან და მისი განთავსება მ-რნმ-ის საინიციაციო კოდონში

რიბოსომასთან დასაკავშირებლად მ-რნმ-ს უნდა ჰქონდეს ორი მნიშვნელოვანი თვისება:

პირველი - მ-რნმ-ის მოლეკულა უნდა შეიცავდეს სპეციფიკურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას, რომელიც ასრულებს სასიგნალო როლს რიბოსომასთან კავშირის დასამყარებლად. ეს ნუკლეოტიდური უბანი, როგორც წესი, განლაგებულია გენის კოდირებადი თანამიმდევრობის წინ.

მეორე - მ-რნმ-ის მოლეკულაში უნდა იყოს სპეციალური კოდონი, რომელიც ცილის სინთეზის სასტარტო წერტილს წარმოადგენს და განსაზღვრავს გენის წასაკითხ ჩარჩოს. ეს კოდონი შედგება *აუგ* ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისაგან, ბაქტერიებში საინიციაციო კოდონი შეიძლება იყოს *გუგ*.

ტრანსლაციის ინიციაციის საწყის ეტაპზე რიბოსომა უკავშირდება მ-რნმ-ის მოლეკულას, რათა ამოიცნოს კოდირებადი გენის სასტარტო წერტილი (სასტარტო კოდონი). ამ კავშირის წარმოქმნაში მნიშვნელოვანი ფუნქცია გენის არაკოდირებად უბნებს აკისრია, რომლებიც სასტარტო წერტილის მახლობლად არის განლაგებული. ბაქტერიებში მ-რნმ-ის რიბოსომასთან კავშირის წარმოქმნაში მონაწილეობს კოდირებადი გენის 5'-ბოლოს წინ რამდენიმე ნუკლეოტიდის დაცილებით განლაგებული მოკლე პურინული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა. ამ უბანს რიბოსომასთან დამაკავშირებელი RBS საიტი (ინგლ. Ribosom Binding Site) ეწოდება. ეს საიტი აღმომჩენთა სახელით, შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობის სახელწოდებითაც არის ცნობილი (სურ. 5.77). შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობა *აუგ* კოდონის 4-7 ნუკლეოტიდით წინ (აღმა) მდებარეობს და შეიცავს კონსენსუსურ *5'გგაგგა3'* საიტს. რიბოსომის მცირე სუბერთეულის 16S რ-რნმ-ის 3'-ბოლოზე განლაგებულია პირიმიდინული თანამიმდევრობა *5'ცცუცცუ3'*. ეს უბნები ერთმანეთს კომპლემენტურობის პრინციპით უკავშირდება და წარმოქმნის 3-9 ნუკლეოტიდურ წყვილს. ბაქტერიულ გენომში შაინ-დალგარნოს თანმდევრობასა და 16S რნმ-ას 3'-ბოლოს შორის კომპლემენტური დაკავშირება წარმოადგენს საინიციაციო კოდონის ამოცნობის პირობას. აღსანიშნავია, რომ რიბოსომის დამაკავშირებელ უბანში გაწყვილებული ნუკლეოტიდების სიგრძე,

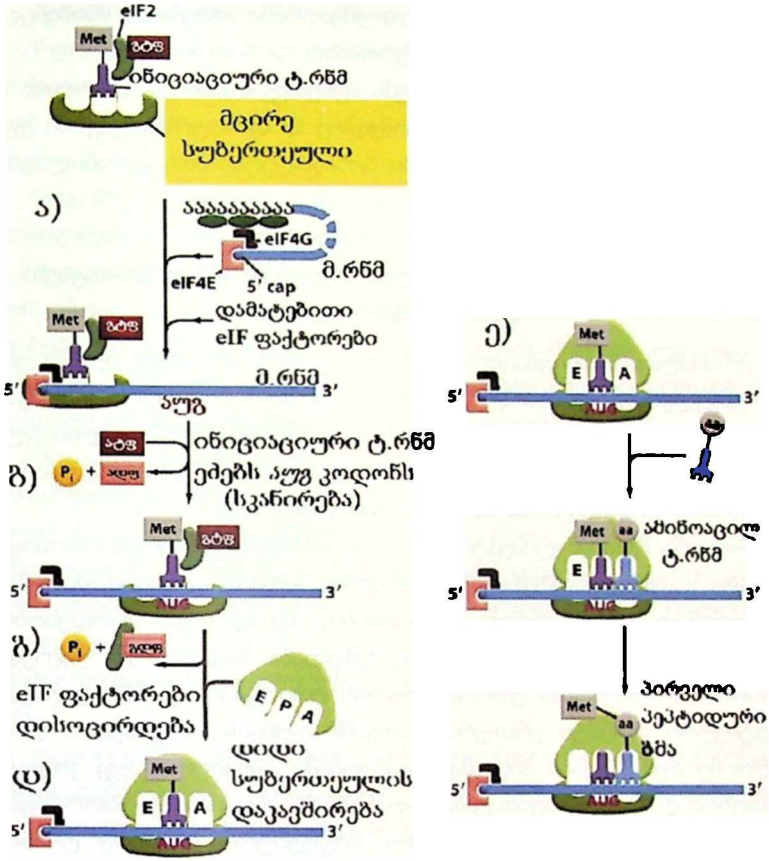
ხშირად, განსხვავებულია. ასევე, იცვლება მანძილი შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობასა და სასტარტო კოდონს შორის (სპეისერი). ეს ფაქტორები გავლენას ახდენს სტაბილური საინიციაციო კომპლექსის ჩამოყალიბებაზე. კომპლემენტურობის მაღალი ხარისხი და ოპტიმალური დაცილება ზრდის ტრანსლაციის ეფექტურობას და, პირიქით.

შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობასა და 16S-რნმ-ს 3'-ბოლოს კომპლემენტური დაკავშირება განსაზღვრავს რიბოსომის მცირე სუბერთეულზე ინიციაციური კოდონის სწორ განლაგებას და, შესაბამისად, წასაკითხი ჩარჩოს სწორ ორიენტაციას.

ევკარიოტული მ-რნმ რიბოსომასთან კავშირის დასამყარებლად 5'-ბოლოს ქიმიურ მოდიფიკაციებს - კეპებს იყენებს (სურ. 5.80-ა). როგორც ვიცით, 5'-ბოლოზე კეპების წარმოქმნა რნმ-ის მომწიფების პოსტრანსკრიფციულ ეტაპზე, მ-რნმ-ას 5'-ბოლოზე განლაგებული გუანინის მეთილირებით ხდება. კეპ-სტრუქტურა მ-რნმ-ს საშუალებას აძლევს, დაიკავშიროს რიბოსომა. მ-რნმ-თან კომპლექსის ფორმირებისთანავე, რიბოსომა მოძრაობს მასზე 5'---3' მიმართულებით, პირველი საინიციაციო *აუგ* კოდონის შეხვედრამდე. ამ პროცესს *სკანირებას* უწოდებენ (სურ. 5.80-ბ).

ზოგჯერ სკანირების პროცესში რიბოსომა გამოტოვებს პირველ შემხვედრ საინიციაციო კოდონს და მეორე ან მესამე შემხვედრ *აუგ*-ს უკავშირდება. ამ თავისებურებას, რომელსაც ევკარიოტული უჯრედი ტრანსლაციის ინიციაციის ეტაპზე იყენებს, *შესუსტებული სკანირება* ეწოდება. ამ დროს მცირდება სკანირების ეფექტურობა. სამაგიეროდ, ერთ მ-რნმ-ზე სხვადასხვა პოზიციაში მყოფი *აუგ* კოდონის საინიციაციო წერტილად გამოყენების შესაძლებლობას იძლევა და ამით ერთსა და იმავე მატრიცზე ორი ან მეტი განსხვავებული ცილის მოლეკულის სინთეზია შესაძლებელი.

ტრანსლაციის ინიციაციის ეფექტურობაზე მ-რნმ-ის სხვა სტრუქტურული თავისებურებებიც ახდენს ზეგავლენას. მაგალითად, სასტარტო კოდონის წინ განლაგებული კონსენსუსური *5'-ცაააცაუგ-3'* თანამიმდევრობა, რომელიც *კოზაკის თანამიმდევრობად* იწოდება. ეს კონსენსუსური უბანი უკავშირდება ტ-რნმ-ს და არა რ-რნმ-ს, როგორც ეს ბაქტერიების შემთხვევაშია. *კოზაკის თანამიმდევრობა* არ არის სავალდებულო



სურ. 5.80. ტრანსლაციის ინიციაციის სქემა ევკარიოტულ უჯრედში (Alberts, 2008).

ა) ინიციაციური კომპლექსის ჩამოყალიბებაში მონაწილეობს ინიციაციის ფაქტორები (eIF), მ-რნმ-ის 5'-კეპირებული ბოლო და 3 -პოლი-ა კუდი; ბ) ინიციაციური ტ-რნმ ახდენს მ-რნმ-ის სკანირებას და ეძებს საინიციაციო აუგ კოდონს; გ) ინიციაციურ აუგ კოდონთან ტ-რნმ-ის დაკავშირების შემდეგ eIF ტოვებს მ-რნმ-ის მატრიცს; დ) რიბოსომის დიდი სუბერთეული უკავშირდება მცირე სუბერთეულს; ე) საინიციციო საიტში შედის ამინოაცილ-ტ-რნმ, ყალიბდება პირველი პეპტიდური ბმა.

ყველა ევკარიოტული გენისათვის, თუმცა, მისი არსებობა მნიშვნელოვანად ზრდის ტრანსლაციის ეფექტურობას.

ინიციაციაზე ზეგავლენას ახდენს აგრეთვე მ-რნმ-ის 3'-ბოლოს მოდიფიცირებული პოლი-ა კუდი, რომელიც ზრდის ტრანსლაციის ეფექტურობას. იმავდროულად, ეს უბანი მონაწილეობს პოსტტრანსლაციურ პროცესებშიც (სურ. 5.80-ა).

საინიციაციო ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ-ის განთავსება რიბოსომის აქტიურ უბანში

ტრანსლაციის ინიციაციის ამ ეტაპზე, ტ-რნმ-ის მოლეკულებმა უნდა უზრუნველყოს ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის პირველი ამინომჟავას ამოცნობა და მისი განთავსება რიბოსომის მცირე სუბერთეულის ფუნქციურად აქტიურ P-უბანში. ამ მიზანს უჯრედის გენეტიკური აპარატი აღწევს საინიციაციო ტ-რნმ-ის მეშვეობით (სურ. 5.80).

როგორც წესი, პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზი იწყება საინიციაციო *აუგ* კოდონის (ბაქტერიებში, შესაძლოა, *გუგ*) შესატყვისი ამინომჟავა *მეთიონინით.* ამავე დროს, მეთიონინი, სხვადასხვა რაოდენობით, პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შიგნითაც გვხვდება. ბაქტერიულ უჯრედში მეთიონინის ამოცნობას უზრუნველყოფს ორი ტიპის ტ-რნმ. უჯრედის გენეტიკური აპარატი ერთ-ერთ მათგანს იყენებს ინიციაციის დროს, ხოლო მეორეს - გენის შიგა მდგომარეობაში არსებული *აუგ* კოდონის ამოსაცნობად. საინიციაციო ტ-რნმ აღინიშნება, როგორც ტ-რნმ^{ფმეთ} (ფმეთ -ფორმილმეთიონინი), ხოლო მეორე, შიგაგენური, როგორც ტ-რნმ^{მეთ}. საინიციაციო ტ-რნმ უკავშირდება მეთიონილს, მიიღება მეთიონილ-ტ-რნმ^{ფმეთ}, რეაქცია ატფ-ის ენერგიას მოიხმარს ისევე, როგორც ზოგადად, ყველა ამინომჟავას აქტივაციის დროს. მისი ჰიდროლიზის შედეგად ამფ და პიროფოსფატი წარმოიქმნება.

მეთიონილი +ტ-რნმ^{ფმეთ} + ატფ → მეთიონილ-ტ-რნმ^{ფმეთ} +ამფ+ფ

შემდეგ ეტაპზე მეთიონილ-ტ-რნმ^{ფმეთ}-ს ფორმილირებით ფორმილმეთიონილ-ტ-რნმ^{ფმეთ} მიიღება. მეთიონინის ფორმილირების რეაქციას (ფორმილის ჯგუფის გადატანას) აკატალიზებს სპეციალური ფერმენტი N^{10}-ფორმილტეტრაჰიდროფოლატი. რაქციას თან ახლავს თანაპროდუქტების წარმოქმნა ტეტრაჰიდროფოლატის სახით:

მეთიონილ-ტ-რნმ+*10*–ფორმილტეტრაჰიდროფოლატი +H_2O →

N-ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ + ტეტრაჰიდროფოლატი.

თავისუფალ მდგომარეობაში მეთიონილის ფორმილირება არ ხდება. ეს რეაქცია მხოლოდ ტ-რნმ-ის დაკავშირების შემდეგ არის შესაძლებელი.

როგორც ვხედავთ, *საინიციაციო ამინომჟავას ბაქტერიებში ფორმილმეთიონილი წარმოადგენს.* ფორმილირების რეაქციის შედეგად, მას ბლოკირებული აქვს N-ტერმინალური ბოლო (ამინოჯგუფი), რაც ხელს უშლის, მონაწილეობა მიიღოს ელონგაციის პროცესში, მაგრამ არ აფერხებს ცილის სინთეზის ინიციაციას. გენის შიგნით *აუგ* კოდონის ამოიცნობა მეორე ტიპის ტ-რნმ-ით, მეთიონილ-ტ-რნმ-ით და მის მიერ მიერთებული ამინომჟავა არ ექვემდებარება ფორმილირებას.

ამრიგად, კოდონი *აუგ*, მ-რნმ-ის რომელ უბანშიც არ უნდა იყოს განთავსებული, ერთსა და იმავე ამინომჟავას აკოდირებს. თუმცა, მისი გამოცნობა სხვადასხვა ტ-რნმ-ით ხდება. როცა ბაქტერიულ გენომში საინიციაციო კოდონს ტრიპლეტი *გუგ* წარმოადგენს, მის მიერ ამონომჟავას კოდირების უნარი დამოკიდებულია კოდონის მ-რნმ-ში ლოკალიზაციის ადგილზე. თუ ის საინიციაციო კოდონია, იკითხება, როგორც ფორმილმეთიონინი, ხოლო გენის შიგნით ამოიცნობა ვალინის ტ-რნმ-ის მიერ.

ევკარიოტებს ცილის სინთეზის ინიციაციის სტადია რამდენადმე განსხვავდება ბაქტერიებისაგან. ჯერ ერთი, საინიციაციო კოდონის ფუნქციას მხოლოდ ტრიპლეტი *აუგ* ასრულებს. თუ ეს კოდონი მუტაციის შედეგად *გუგ*-ტრიპლეტით შეიცვალა, ინიციაცია არ ხდება, ანუ *გუგ* ევკარიოტებში საინიციაციო კოდონი აღარ არის. ინიციაციასა და ელონგაციაში მონაწილე მეთიონილ-ტ-რნმ-ს შორის განსხვავება თვით ტ-რნმ-ის სტრუქტურაში მდგომარეობს. საინიციაციო მეთიონინი ამოიცნობა ტ-რნმ^{მმ}-ს, ხოლო ელონგაციური ტ-რნმ^{მ}-ს მიერ. თითოეულ მათგანთან მეთიონინის მიერთების რეაქციას სპეციფიკური ამინოსინთეტაზა უზრუნველყოფს.

საინიციაციო კოდონს მიტოქონდრიებში, ასევე, ორი ტიპის ტ-რნმ ამოიცნობს. ბაქტერიების მსგავსად, მათი საინიციაციო ტ-რნმ ფორმულირებულია. თუმცა, საინიციაციო კოდონის სპეციფიკურობა რამდენადმე

შეცვლილია და გარდა *აუგ*-ტრიპლეტისა, საინიციაციო კოდონი შეიძლება იყოს *აუა, აუც ან აუუ*.

ტრანსლაციის ინიციაციის დამატებითი ცილოვანი ფაქტორები

ტრანსლაციის საინიციაციო კომპლექსის ჩამოყალიბების პროცესი საჭიროებს დროებით ცილოვან ფაქტორებს, რომლებიც სპეციფიკურად აკატალიზებს მხოლოდ ინიციაციის რეაქციებს. მათ ტრანსლაციის *ინიციაციის ფაქტორებს* უწოდებენ. ბაქტერიების ინიციაციის ფაქტორებს აღნიშნავენ IF-ით (ინგლ. Inititation Factors), ხოლო ევკარიოტებისას - eIF-ით (ინგლ. eukaryotic Inititation Factors). ამ ცილოვან ფაქტორებს ყველა ცოცხალ უჯრედში ანალოგიური ფუნქციები აქვს, იმ განსხვავებით, რომ ევკარიოტებში ინიციაციის ფაქტორების უფრო დიდი ნაკრები გვხვდება.

ინიციაციის სხვადასხვა ეტაპის აქტივაციას ბაქტერიულ უჯრედში სამი ტიპის ინიციაციის ფაქტორი ემსახურება: IF1, IF2 და IF3:

- IF1 ფაქტორი ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ-ის A-საიტთან დაკავშირებას უშლის ხელს;
- IF2 ფაქტორი მცირე სუბერთეულის ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ-ის P- უბანთან დაკავშირებას უზრუნველყოფს;
- IF3 უკავშირდება მცირე სუბერთეულს, რითაც ხელს უშლის დიდ სუბერთეულთან გაერთიანებას და სხვა ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის შესვლას აქტიურ უბანში.

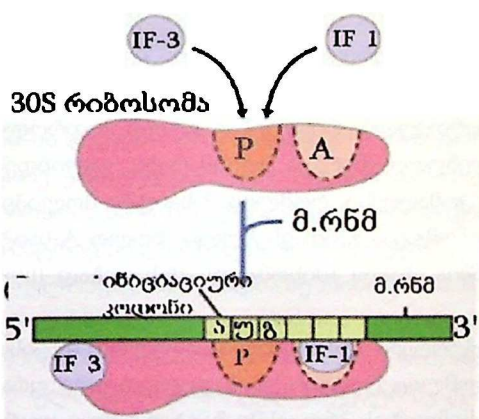
როგორც ვხედავთ, ინიციაციის ფაქტორები მონაწილეობას იღებს ინიციაციის სხვადასხვა რეაქციაში. ისინი სპეციფიკურად არის ჩართული ინიციაციური კომპლექსის ჩამოყალიბების სხვადასხვა ეტაპზე (სურ. 5.80).

საინიციაციო კომპლექსის ჩამოყალიბების წინაპირობას წარმოადგენს რიბოსომის სუბერთეულების დისოციაცია. ამ პროცესს IF3 უზრუნველყოფს. ამიტომ, მას დისოციაციის ფაქტორსაც უწოდებენ. IF3 უკავშირდება რიბოსომის მცირე სუბერთეულს, რითაც ხელს უშლის სუბერთეულების რეასოციაციას. აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ უჯრედში რიბოსომები დინამიკურ წონასწორობაში იმყოფება. ისინი შეიძლება, არსებობდნენ მთლიანი (70S) ან სუბერთეულების (50S და 30S) სახით. სანამ IF3 მცირე სუბერთეულთან კავშირშია, წონასწორობა დარღვეულია,

რადგან რიბოსომის სუბერთეულები ვეღარ უკავშირდება ერთმანეთს. ამის შემდეგ IF3 ფაქტორი მ-რნმ-ის საინიციაციო უბანთან რიბოსომის მცირე სუბერთეულის დაკავშირებას უზრუნველყოფს - კავშირი მ-რნმ-ის შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობისა და 16S რ-რნმ-ის კომპლემენტური გაწყვილებით წარმოიქმნება. ამ პროცესების შედეგად საინიციაციო კოდონის ზუსტი ამოცნობა ხდება. ის იკავებს მცირე სუბერთეულის P-საიტს, სადაც შეუძლია შესვლა ამინომჟავათი დატვირთულ საინიციაციო ტ-რნმ-ის (სურ. 5.81).

მომდევნო ეტაპზე IF2 ფაქტორი აკატალიზებს ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ-ს მცირე სუბერთეულის P-უბანთან დაკავშირებას. ამ პროცესში აუცილებლად მონაწილეობს გტფ. ჯერ წარმოქმნება IF2-გტფ ბინარული კომპლექსი, შემდეგ ის უკავშირდება ფორმილ-მეთ-ტ-რნმ-ს. წარმოქმნილი სამმაგი კომპლექსი ზუსტად ჩაჯდება საინიციაციო (P) საიტში. აქ უკვე ვეღარ განთავსდება სხვა ამინოაცილტ-რნმ.

ამ პირობებში, IF1 ფაქტორს დაკავებული აქვს მცირე სუბერთეულის A- უბანი და ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ-ის ამ საიტში შესვლას უშლის ხელს (სურ. 5.81).



სურ. 5. 81. ტრანსლაციის საინიციაციო კომპლექსის ფორმირება პროკარიოტულ უჯრედში ინიციაციის ფაქტორების (IF) მონაწილეობით

ყოველი IF ფაქტორი მცირე სუბერთეულის განსაზღვრულ აქტიურ საიტს უკავშირდება და აბრკოლებს საინიციაციო ამინომჟავათი დატვირ-

თული ტ-რნმ-ის შესვლას A-საიტში: IF1 ფაქტორი უშუალოდ A-საიტთან რთიერთქმედებს; IF2 უკავშირდება IF1-ს და A-საიტის გავლით ჩაჯდება P-საიტში, სადაც უერთდება ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ-ს; IF3 იკავებს E-საიტს.

მაშასადამე, მაინიციაციორებელი ფაქტორების თანამყოფობისას, მცირე რიბოსომის სამი აქტიური უბნიდან, მხოლოდ P-საიტს შეუძლია, დაიკავშიროს გააქტიურებული ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ (ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ). რიბოსომის სხვა ცენტრები ამ მომენტისათვის დაკავებულია და „ვაკანტურ“ მდგომარეობაში იმყოფება მხოლოდ P-საიტი.

P-საიტში ინიციაციური ამინომჟავათი დატვირთული ტ-რნმ-ის შესვლის შემდეგ, რაც ინიციაციურ კოდონსა და ტ-რნმ-ს შორის კოდონ-ანტიკოდონური ურთიერთქმედებით მიიღწევა, შესაძლებელი ხდება მასთან დიდი სუბერთეულის მიერთება. ამ ეტაპზე, საინიციაციო კომპლექსის ყველა კომპონენტი (მცირე სუბერთეული, მ-რნმ, IF2- გტფ კომპლექსი, ფორმილ-მეთ-ტ-რნმ) კონფორმაციულ ცვლილებებს განიცდის. ყალიბდება სტაბილური საინიციაციო კომპლექსი. სტაბილური საინიციაციო კომპლექსის ჩამოყალიბებისთანავე IF2 აქტიური ფორმიდან არააქტიურ IF2-გდფ ფორმაში გადადის და კომპლექსიდან გამოთავისუფლებული IF1 და IF3 ფაქტორები ტოვებს რიბოსომის მცირე სუბერთეულს. IF3 ფაქტორიდან გათავისუფლებულ მცირე სუბერთეულს შეუძლია დაიკავშიროს დიდი სუბერთეული, რისთვისაც გტფ-ს ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებული ენერგია მოიხმარება. ყალიბდება ინტაქტური 70S რიბოსომური კომპლექსი, რომლის P-საიტში პოლიპეპტიდური ჯაჭვის პირველი ამინომჟავაა განთავსებული, ხოლო A-საიტი თავისუფალია და მზადყოფნაშია ახალი ამინომჟავას მისაღებად (სურ. 5.80; 5.81).

ინიციაციის ცილოვანი ფაქტორები აღმოჩენილია მხოლოდ თავისუფალ 30S სუბერთეულებზე, რომლიც რიბოსომების უჯრედული ფრაქციის 20%-ს შეადგენს. ცილის სინთეზის პროცესში ბაქტერიული უჯრედის რიბოსომების 80%-ია ჩართული. მაშასადამე, ინიციაციის ცილოვანი ფაქტორების რაოდენობა უჯრედში შეზღუდულია და მრავალჯერ გამოიყენება საინიციაციო კომპლექსების წარმოქმნის დროს. რიბოსომის

ინტაქტური მოლეკულის აღდგენის შემდეგ ცილოვანი ფაქტორები თავისუფლდება და შემდგომ პროცესებში აღარ ღებულობს მონაწილეობას, რითაც განსხვავდება რიბოსომების სტრუქტურული ცილებისაგან. ამრიგად, საინიციაციო ცილოვანი ფაქტორები მხოლოდ საინიციაციო კომპლექსის წარმოქმნის პროცესშია საჭირო, ხოლო ელონგაციის სტადიაზე ტოვებს რიბოსომას და შემდეგ რეაქციებში აღარ მონაწილეობს.

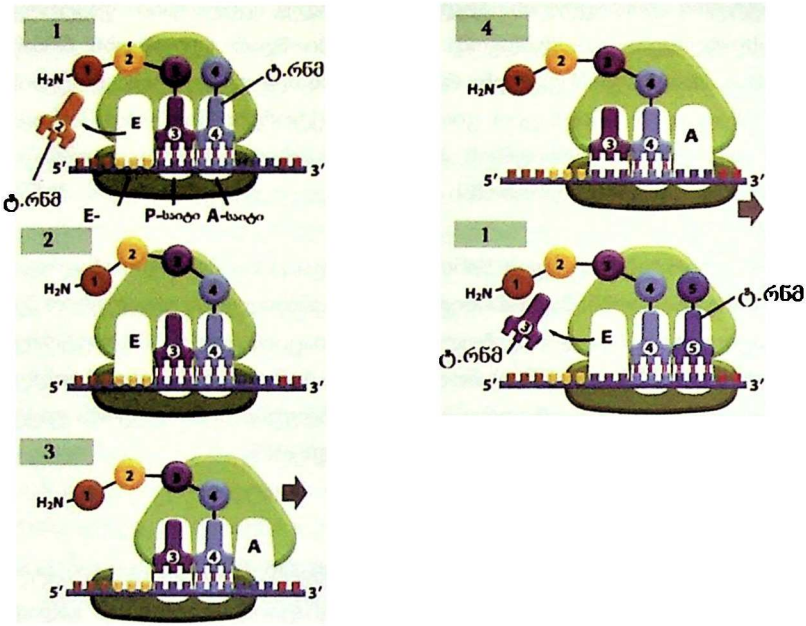
ევკარიოტებში ცილის სინთეზის ინიციაციის პროცესი ანალოგიურად მიმდინარეობს, მაგრამ ინიციაციაში მონაწილეობს გაცილებით მეტი და გაცილებით რთული აგებულების ინიციაციის ცილოვანი ფაქტორები. მაგალითად, eIF2 და eIF3-ის მოლეკულები რამდენიმე პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან შედგება. ერითროციტების სინთეზში მონაწილეობს ფაქტორები: eIF1, eIF2, eIF4A, eIF4B, eIF4C, eIF4D და eIF5.

ელონგაცია

როგორც კი საინიციაციო კოდონში აეწყობა რიბოსომის ინტაქტური მოლეკულა, ტრანსლაციის პროცესი ინიციაციის სტადიიდან გადადის ელონგაციის სტადიაში. ეს სტადია, პირველი პეპტიდური ბმის წარმოქმნიდან ბოლო ამინომჟავას მიერთებამდე, ეტაპობრივად წარიმართება. ელონგაციის პროცესში მზარდ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვზე ახალი ამინომჟავების მიერთების რეაქციები მოიცავს ოთხ ძირითადად საფეხურს: ტ-რნმ-ის დაკავშირება, პეპტიდური ბმის ფორმირება, რიბოსომის დიდი და მცირე ერთეულების ტრანსლოკაცია. ამ ციკლის დასრულების შემდეგ რიბოსომა სამი ნუკლეოტიდით (ერთი კოდონი) გადაინაცვლებს მ-რნმ-ის მატრიცზე და მზადაა ახალი ციკლის დასაწყებად (სურ. 5.82).

ელონგაციის სტადიაზე რიბოსომის P აქტიური უბანი დაკავებული აქვს ტ-რნმ-თან კოვალენტური ბმით დაკავშირებულ ერთ (ამინოაცილ-ტრნმ) ან რამდენიმე (პეპტიდილ-ტ-რნმ) ამინომჟავას.

ელონგაციის პირველ საფეხურზე ტ-რნმ-ს მოაქვს შემდეგი ამინომჟავა A-საიტში და კოდონ-ანტიკოდონური ურთიერთქმედებით უკავშირდება მ-რნმ-ის შესაბამის კოდონს. ამრიგად, P- და A-საიტებში ტ-რნმ-ის მოლეკულები მეზობლად არის განლაგებული (სურ. 5.82-1).



სურ. 5.82. ტრანსლაციის ელონგაციის სტადია.
1-ამინოაცილ-ტ-რნმ უკავშირდება თავისუფალ A-საიტს, თავისუფალი ტ-რნმ ტოვებს მატრიცს; 2-ახალი პოლიპეპტიდური ბმის ფორმირება მეზობელ ამინომჟავებს შორის; 3-დიდი სუბერთეულის ტრანსლოკაცია ერთი კოდონით; 4-მცირე სუბერთეულის ტრანსლოკაცია სამი კოდონით, A -საიტი მზადაა ახალი ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მისაღებად.

მეორე საფეხურზე მიმდინარეობს ტრანსპეპტიდაციის რეაქცია. P-საიტში განლაგებული პეპტიდილის (მზარდი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი) ბოლო ამინომჟავას კარბოქსილური ბოლო სცილდება ტ-რნმ-ს და უკავშირდება A-საიტში შემოსული ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის N-ბოლოს (ტრანსპეპტიდაციის რეაქცია). წარმოიქმნება ახალი პეპტიდური ბმა. ტრანსპეპტიდაციის რეაქციის შედეგად დეაცილირებული (ამინოჟავასაგან გათავისუფლებული) ტ-რნმ რჩება P-საიტში, ხოლო ახლად ჩამოყალიბებული პეპტიდილ-ტ-რნმ აღმოჩნდება A-საიტში. ის ერთი ამინომჟავათი გრძელი იქნება წინა მოლეკულასთან შედარებით. რეაქციას

აკატალიზებს ფერმენტი პეპტიდილტრანსფერაზა. ეს რეაქცია მიმდინარეობს რიბოსომის დიდ სუბერთეულზე (სურ. 5.82-2).

მესამე საფეხურზე რიბოსომის დიდი სუბერთეული გადაინაცვლებს მ-რნმ-ზე, ხოლო მცირე სუბერთეული იმავე პოზიციაში რჩება. დიდი სუბერთეულის ეს გადაადგილება აქტიურ საიტებში განლაგებული ორივე ტ-რნმ-ის აქცეპტორული ღერძების დიდი სუბერთეულის E- და P-საიტებში გადანაცვლებას განაპირობებს (სურ. 5.82-3).

მეოთხე საფეხურზე, უკვე, რიბოსომის მცირე სუბერთეული გადაინაცვლებს მ-რნმ-ზე იგივე სამი ნუკლეოტიდით, აღდგება რიბოსომის სტრუქტურა, რომელიც მზადაა ციკლის თავიდან დასაწებად (სურ. 5.82-4).

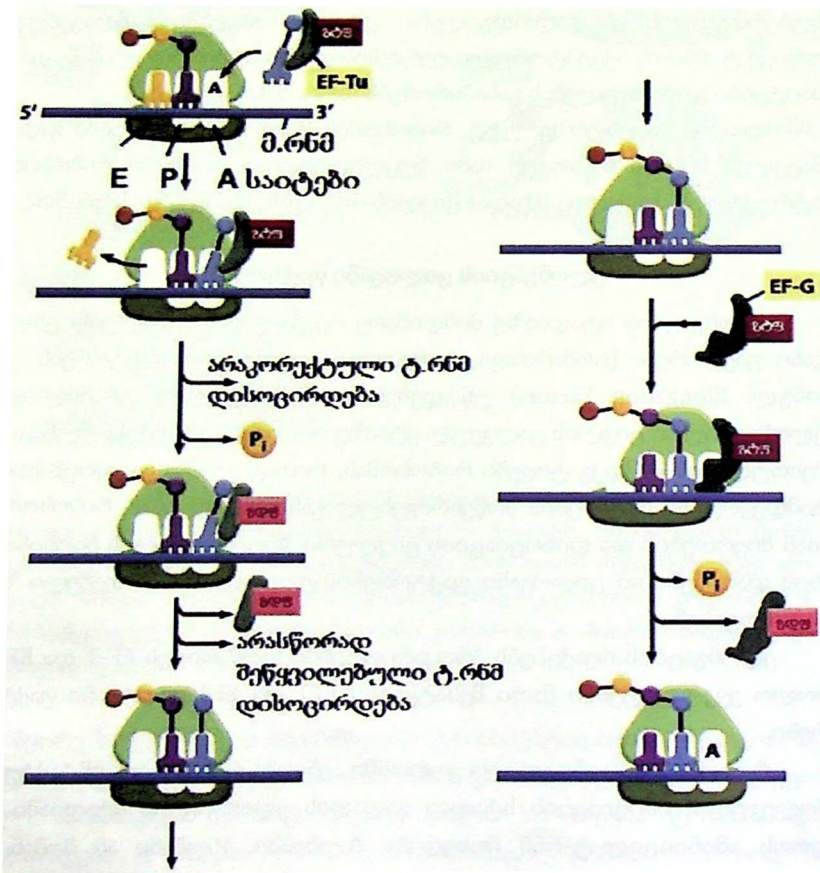
ელონგაციის ცილოვანი ფაქტორები

ელონგაციის სტადიაზე მიმდინარე რეაქციებს სპეციალური ცილოვანი ფაქტორები წარმართავს, რომელთაც ელონგაციის ფაქტორებს - EF (ინგლ. Elongation Factors) უწოდებენ. ისინი პროცესში ტრანსლაციის ელონგაციური ციკლის ცალკეულ ეტაპზე ერთვება და თავისი ფუნქციის შესრულების შემდეგ ტოვებს რიბოსომას, რითაც უზრუნველყოფს თანამიმდევრული რექციების მოწესრიგებულ განხორციელებას. რიბოსომასთან მიერთების და დისოციაციის ციკლური პროცესი ცილის ბიოსინთეზის დამატებითი ცილოვანი ფაქტორებისათვის დამახასიათებელი ზოგადი თვისებაა.

ელონგაციის რეაქციებს პროკარიოტებში წარმართავს EF-T და EF-G, ხოლო ევკარიოტებში მათი შესატყვისი EF1 და EF2 ცილოვანი ფაქტორები.

როგორც კი საინიციაციო კოდონში აეწყობა რიბოსომის ინტაქტური მოლეკულა, ინიციაციის სტადია გადადის ელონგაციის სტადიაში. ამ დროს ამინოაცილ-ტ-რნმ მოხვდება A-უბანში. P-უბანი ამ მომენტისათვის დაკავებული აქვს პეპტიდილ-ტ-რნმ-ს. პირველი პეპტიდური კავშირის წარმოქმნისათვის საინიციაციო ტ-რნმ ასრულებს პეპტიდილ-ტ-რნმ-ის ფუნქციას. ამ დროს P-უბანში შესვლა შეუძლია ნებისმიერ ტ-რნმ-ს, გარდა მაინიცირებელისა. ამ პროცესს EF ფაქტორი აკატალიზებს. ვინაიდან EF ფაქტორი რიბოსომაში ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის გადატანას ემსახურება, მას გადამტანი (ინგლ. transfer), ანუ T ფაქტორები უწოდეს.

შემდგომში ეს ფრაქცია დაყვეს ორ კომპონენტად: EF-Tu და EF-Ts. EF-Ts ფაქტორი მდგრადია ტემპერატურის მიმართ (ინგლ. stabule), ხოლო EF-Tu ფაქტორი კი - არამდგრადი (ინგლ. unstable).



სურ. 5.83. ტრანსლაციის ელონგაციის ციკლოვანი ფაქტორების მოქმედების მექანიზმის სქემა.

EF, EF-Tu ,EF-G – ტრანსლაციის ელონგაციის ციკლოვანი ფაქტორები.

ელონგაციის ციკლოვანი ფაქტორის მოქმედების მექანიზმი მოიცავს რამდენიმე სტადიას (სურ. 5.83). თავდაპირველად, EF-Tu ფაქტორი უერთდება გუანინიან ნუკლეოტიდს. მისი აქტიური ფორმა შეიცავს გტფ-ს (GTP), ანუ მიიღება ბინარული კომპლექსი EF-Tu-გტფ, რომელიც ურთიერთქმედებს ამინოაცილ-ტ-რნმ-თან. ამ პროცესის შედეგად ყალიბდება სამმაგი კომპლექსი - ამინოაცილ-ტ-რნმ-EF-Tu-გტფ. ეს კომპლექსი სპეციფიკურად უკავშირდება რიბოსომის მხოლოდ A-უბანს. რიბოსომის P-უბანი ამ დროს დაკავებული აქვს პეპტიდილ-ტ-რნმ-ს. ეს სტადია განაპირობებს ტ-რნმ-ის სწორ ორიენტაციას ამინომჟავებს შორის პეპტიდური ბმის წარმოსაქმნელად.

ამის შემდეგ, არსებულ კომპლექსში მიმდინარეობს გტფ-ის ჰიდროლიზი, გამოთავისუფლდება ბინარული კომპლექსი - EF-Tu-გდფ. რეაქციას წარმართავს EF-Tu ციტოვანი ფაქტორი, მაგრამ მას არ შეუძლია ამონოაცილ-ტ-რნმ-ის დაკავშირება. ფიქრობენ, რომ EF-Tu ციტოვანმა ფაქტორმა, ამონოაცილ-ტ-რნმ-თან დაკავშირებისათვის საჭირო კონფორმაცია რომ მიიღოს, აუცილებელია ტრიფოსფატის თანამონაწილეობა. სწორედ ამიტომ მიმდინარეობს უკვე გამოყენებული გდფ-დან გტფ-ის რეგენერაცია. ამ პროცესში მონაწილეობს EF-Ts ფაქტორი. ის EF-Tu-გდფ კომპლექსიდან გამოაძევებს გდფ-ს, თვითონ კი უკავშირდება კომპლექსის მეორე ნაწილს - EF-Tu ფაქტორს. წარმოიქმნება EF-Tu - EF-Ts, ანუ სრული T-ფაქტორი. შემდეგ ხდება EF-Ts -ის ჩანაცვლება გტფ-ით და კვლავ მიიღება EF-Tu-გტფ კომპლექსი, რომელსაც კვლავ შეუძლია ამონოაცილ-ტ-რნმ-თან დაკავშირება. EF-Ts ფაქტორი კი თავიდან ერთვება შემდეგ ციკლში.

EF-Tu – გდფ +EF-Ts → **EF-Tu –EF-TS** + გდფ

EF-Tu –EF-TS +გტფ → **EF-Tu – გტფ** + EF-Ts

უჯრედში EF-Tu ფაქტორის რაოდენობა დაახლოებით ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მოლეკულების ტოლია. ისინი უჯრედში, უმეტესწილად, არა თავისუფალი სახით, არამედ ამინოაცილ-ტ-რნმ-EF-Tu-გტფ-ს სამმაგი კომპლექსის სახით არსებობს. EF-Ts ციტოვანი ფაქტორების რაოდენობა უჯრედში ნაკლებია და დაახლოებით რიბოსომების რიცხვს შეესაბამება.

ამინოაცილ-ტ-რნმ-EF-Tu-გტფ-ს სამმაგი კომპლექსის ჩამოყალიბებაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ტ-რნმ-ის აქცეპტორული ღერძის

სტრუქტურას. აქცეპტორული ღერძის ბოლოზე განლაგებულ *ცცა* თანამიმდევრობაში კიდურა ადენოზინის ცვლილებამ, შესაძლებელია, დააბრკოლოს ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის ამოცნობა. იმისდა მიუხედავად, ამინომჟავა რომელ მდგომარეობაში (2'OH თუ 3'OH) არის დაკავშირებული პენტოზის ნაშთთან. მაშასადამე, ამ კავშირის ჩამოყალიბებისათვის არ აქვს გადამწყვეტი მნიშვნელობა, რომელი მდგომარეობით დაუკავშირდება ამინომჟავა პენტოზის ბირთვს. შემდეგ ეტაპზე, რიბოსომასთან დაკავშირების წინ, სამმაგ კომპლექსსა და ამინოაცილ-ტ-რნმ-ს შორის ხდება ესტერული კავშირის სტაბილიზება 2'OH მდგომარეობაში.

ერთადერთი ამონოაცილ-ტ-რნმ, რომელსაც ვერ ამოიცნობს EF-Tu-გტფ ბინარული კომპლექსი, არის ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ. ამიტომაც ის ვერ რეაგირებს კოდის შიგა *აუგ* და *გუგ* კოდონებთან. იმის მიხედვით, თუ სად არის ეს კოდონები განლაგებული, გენის დასაწყისში თუ მის შიგნით, მათი ამოცნობა სხვადასხვა ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მეშვეობით ხდება. საინიციაციო ტ-რნმ-სა და EF-Tu-გტფ ბინარულ კომპლექსს შორის კავშირის წარმოქმნას, შესაძლებელია, ხელს უშლის ტ-რნმ-ის აქცეპტორული ღერძის სპეციფიკური სტრუქტურა, სადაც მის დაბოლოებაზე განლაგებული აქცეპტორული *ცცა* ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის წინ განლაგებულია *ც* და *ა* არაკომპლემენტური წყვილი. ყველა სხვა ტ-რნმ-ში ამ ადგილას ნუკლეოტიდების კომპლემენტური წყვილი იმყოფება. არანაკლები მნიშვნელობა აქვს ბლოკირებული NH ჯგუფის არსებობას, ვინაიდან ასეთ ამინოაცილ-ტ-რნმ-ს არ შეუძლია, დაუკავშირდეს EF-Tu-გტფ-ს.

ტრანსლაციის შემდეგ ეტაპზე ადგილი აქვს ტრანსლოკაციის რეაქციებს: პეპტიდილ-ტ-რნმ A-საიტიდან P-საიტში გადაინაცვლებს; დეაცილირებული ტ-რნმ P-საიტიდან გადადის E-საიტში; მ-რნმ ერთი კოდონით გადაადგილდება. ამ ეტაპზე ტრანსლაციის პროცესებს EF-G ფაქტორი წარმართავს. EF-G რიბოსომას უკავშირდება, რაც გტფ-ს ჰიდროლიზით გამოთავისუფლებული ენერგიის ხარჯზე მიმდინარეობს. ელონგაციის ამ ეტაპზე ჯერ აქტიური კომპლექსი - EF-G-გტფ ყალიბდება, რომელიც რიბოსომაში მნიშვნელოვან კონფორმაციულ გარდაქმნებს იწვევს და ტრანსლოკაციის რეაქციების განხორციელებას უზრუნველყოფს. ტრანსლოკაციის პროცესის დასრულების შემდეგ, EF-G ფაქტორი

რიბოსომიდან გამოთავისუფლდება არააქტიური EF-G-GDP კომპლექსის სახით.

აღსანიშნავია, რომ EF-G ფაქტორს, მხოლოდ მას შემდეგ შეუძლია, დაუკავშირდეს რიბოსომას, რაც მას EF-Tu ფაქტორი დატოვებს, ვინაიდან რიბოსომას არ შეუძლია ორივე ელონგაციურ ფაქტორთან ერთდროული კავშირის წარმოქმნა. ეს ფაქტი კიდევ ერთხელ ადასტურებს, რომ ტრანსლაციის პროცესი მკაცრად განსაზღვრული თანმიმდევრობით მიმდინარეობს.

ევკარიოტებში აღმოჩენილია ორი ელონგაციური ცილოვანი ფაქტორი - EF1 და EF2. მათი ფუნქციები EF-T და EF-G ცილოვანი ფაქტორების ანალოგიურია. EF1 ფაქტორის ფუნქციას წარმოადგენს რიბოსომაში ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის გადატანა. ამ პროცესს, ისევე, როგორც პროკარიოტებში, თან ახლავს გტფ-ის მაღალენერგეტიკული მოლეკულის ჰიდროლიზის რეაქცია არააქტიური გდფ-ის (გუანოზინდიფოსფატის) წარმოქმნით. აქტიური EF1 ცილოვანი ფაქტორის შედგენილობაში შედის სხვადასხვა ზომის რამდენიმე პოლიპეპტიდური ჯაჭვი. თვლიან, რომ სავსებით შესაძლებელია, ეს ფაქტორი შეიცავდეს EF-Tu და EF-Ts ანალოგიურ კომპონენტებს. ამიტომ eEF1 ფაქტორს განიხილავენ, როგორც პროკარიოტების EF-T-ის ანალოგს.

ევკარიოტების EF-2 ფაქტორის სტრუქტურა მნიშვნელოვნად განსხვავდება ბაქტერიული EF-G-ის ანალოგისგან. მიუხედავად ამისა, მათ ტრანსლაციის ელონგაციის პროცესში მსგავსი ფუნქციები ახორციელებენ - ძირითადად აკატალიზებენ ტრანსლოკაციის რეაქციებს.

ელონგაციის თითოეულ ეტაპზე პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ერთი ამონომჟავით იზრდება. ამ დროს რიბოსომის P-უბანში განლაგებულ ტ-რნმ-თან დაკავშირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი გადაიტანება A-უბანში მყოფ ამინოაცილ-ტ-რნმ-ზე. პოლიპეპტიდური კავშირის წარმოქმნას უზრუნველყოფს ფერმენტი პეპტიდილტრანსფერაზა. ეს ფერმენტი უპირატესობას ანიჭებს ამინოაცილ-3'-ტ-რნმ-ს. შესაძლებელია, ამას წინ უსწრებდეს ამონომჟავას გადატანა რიბოზული რგოლის 2'OH მდგომარეობიდან 3'OH მდგომარეობაში.

მიუხედავად იმისა, რომ ფერმენტის აქტიური ცენტრი მთლიანად რიბოსომის დიდ სუბერთეულზე მდებარეობს, მისი ფერმენტული აქტი-

ვობა მხოლოდ მაშინ მჟღავნდება, როცა აეწყობა მთლიანი რიბოსომა. პეპტიდილტრანსფერაზული აქტივობა წარმოადგენს რიბოსომის დიდი (50S ან 60S) სუბერთეულის ფუნქციას. ეს მექანიზმი თავისუფალ მდგომარეობაში მყოფ დიდ სუბერთეულს იცავს ამინოაცილ-ტ-რნმ-ს უსისტემო დაკავშირებისგან.

ტერმინაცია

ტრანსლაციის საბოლოო სტადიას ტერმინაცია წარმოადგენს. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ელონგაცია გრძელდება მანამ, სანამ მ-რნმ-ზე განლაგებული ტერმინალური კოდონი არ მიაღწევს რიბოსომის აქტიურ საიტს. ტერმინალური (სტოპ) კოდონები - *უაგ, უაა და უგა* მოქმედებს, როგორც ტრანსლაციის დასრულების სიგნალი. ეს ტრიპლეტები არ აკოდირებს არც ერთ ამინომჟავას. ტრანსლაციის ტერმინაცია სპეციფიკური რეაქციაა, რომელიც საჭიროებს ცილოვანი ფაქტორების მიერ კოდონ-ტერმინატორების ამოცნობას (სურ.5.84).

მუტაციის შედეგად, შესაძლოა, ტერმინალური კოდონი აღმოჩნდეს მ-რნმ-ის კოდირებადი უბნის შიგნით. მაგალითად, *უაც* კოდონის მესამე პოზიციაში მუტაციის შედეგად ის *უაა* კოდონად გარდაიქმნება. ამ დროს ტიროზინის მაკოდირებელი კოდონის ნაცვლად ტერმინალური კოდონი მიიღება. მსგავსი ტიპის ნონსენს-მუტაციები იწვევს ცილის სინთეზის ნაადრევ შეწყვეტას.

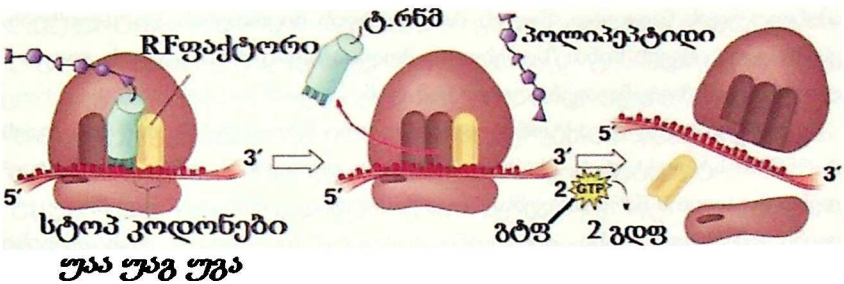
უჯრედი არ შეიცავს არც ერთ ისეთ ტ-რნმ-ს, რომლის ანტიკოდონი იქნებოდა ტერმინალური კოდონის კომპლემენტური. აქედან გამომდინარე, არც ერთ ტ-რნმ-ს არ ძალუძს ტერმინალური კოდონის ამოცნობა. მაშასადამე, ტერმინალური კოდონების შეცნობა ვერ ხერხდება ტ-რნმ-ის მეშვეობით. რიბოსომის აქცეპტორულ უბანში ტერმინალური კოდონის მოხვედრის შემდეგ აქ ვეღარ განთავსდება ვერც ერთი ამინოაცილ ტ-რნმ.

ტრანსლაციის ტერმინაციის სტადია შემდეგ ეტაპებს მოიცავს:

- დასრულებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ჰიდროლიზი ტრანსლაციური ციკლის ბოლო ტ-რნმ-დან;
- ტ-რნმ ტოვებს რიბოსომას;
- სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი დიდი სუბერთეულის გასასვლელი გვირაბიდან გადის ციტოპლაზმაში;

- რიბოსომა ტოვებს მ-რნმ-ის მოლეკულას.

მიტოქონდრიულ გენომში ტერმინალური კოდონების ფუნქციას, გარდა ***უაგ, უაა, უგა*** ტრიპლეტებისა, კიდევ ერთი - ***აგგ*** კოდონი ასრულებს.



სურ. 5.84. ტრანსლაციის ტერმინაციის სქემა

ტერმინაციის ცილოვანი ფაქტორები

ცილოვან ფაქტორებს, რომლებიც ტრანსლაციის ტერმინაციის რეაქციებში მონაწილეობს გათავისუფლების, ანუ **RF** (ინგლ. Release Factors) ფაქტორებს უწოდებენ. ევკარიოტული ტერმინაციის ფაქტორები, ცნობილია, როგორც eRF. ტერმინაციის ფაქტორები უკავშირდება რიბოსომის A-საიტზე განლაგებულ სტოპ-კოდონს და პოლიპეპტიდურ ჯაჭვთან ამინომჟავას ნაცვლად წყლის მოლეკულას მიერთებას ახდენს (სურ. 5.84).

ბაქტერიულ უჯრედში ტერმინაციული ***უაა*** და ***უაგ კოდონების ამოცნობას*** უზრუნველყოფს RF1 ფაქტორი, ხოლო RF2 ***უგა*** და ***უაა*** კოდონებს ამოიცნობს. ეს ცილოვანი ფაქტორები ურთიერთქმედებს რიბოსომის A-უბანთან. ამასთან, ტერმინაციის აუცილებელი პირობაა, რიბოსომის P-უბანში განთავსებული იყოს პეპტიდილ-ტ-რნმ. RF1 და RF2 ფაქტორების სტიმულირება RF3 ტერმინაციული ფაქტორით ხდება. ტერმინაციის კიდევ ერთი, RF4 ფაქტორის ფუნქციას წარმოადგენს რიბოსომების რეციკლირება. ის დეაცილირებული ტ-რნმ-ის P-საიტიდან E-საიტში გადანაცვლების რეაქციას და A-საიტში დარჩენილი RF ფაქტორების დისოციაციის რეაქციებს ასტიმულირებს. ეს რეაქციები ტრანსლაციური კომპლექსიდან რიბოსომის დისოციაციას უწყობს ხელს. ტერმინა-

ციის რეაქციებში RF ფაქტორებთან ერთად EF-G ფაქტორიც მონაწილეობს, გტფ-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებული ენერგია ხმარდება ტრანსლაციური ანსამბლის საბოლოო დაშლას.

ევკარიოტულ უჯრედში სამივე ტერმინალური კოდონის ამოცნობას eRF1 ფაქტორი აწესრიგებს. ის პეპტიდილ-ტ-რნმ-ის მოლეკულასთან ამინოჯგუფის ნაცვლად, წყლის მოლეკულის მიერთებას აკატალიზებს. ეს რეაქცია იწვევს სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ჰიდროლიზს P-საიტზე განლაგებული ტ-რნმ-დან.

ტერმინაციული ფაქტორების მესამეული სტრუქტურა ძალიან ჰგავს ტ-რნმ-ის სტრუქტურას. ეს მოლეკულური მიმიკრიის ერთ-ერთ საუკეთესო მაგალითს წარმოადგენს, როცა ქიმიურად განსხვავებულ მოლეკულებს (ამ შემთხვევაში, ცილოვანი ფაქტორი და ტ-რნმ) აქვს მსგავსი სივრცითი კონფორმაცია. ასეთი კონფორმაციული მსგავსება RF ფაქტორს საშუალებას აძლევს შევიდეს და განთავსდეს რიბოსომის A-საიტში და დაასრულოს ტრანსლაციის პროცესი.

ტრანსლაციის რეაქციების შედეგად სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი გადაადგილდება რიბოსომის დიდი სუბერთეულის წყლით სავსე „გვირაბში". გვირაბის კედლები ძირითადად 23S რ-რნმ-ის მოლეკულებით არის აგებული. მის აგებულებასა და პოლიპეპტიდების სტრუქტურას შორის არ აღინიშნება რაიმე სახის კომპლემენტური მსგავსება. ამდენად, პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ადვილად მისრიალებს რიბოსომურ გვირაბში. მიუხედავად იმისა, რომ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის პროცესში უკვე იწყება ცილის გარკვეული უბნების კონფორმაციული გარდაქმნები, პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს ამ ეტაპზე ჯერ კიდევ არა აქვს ჩამოყალიბებული საბოლოო სივრცითი სტრუქტურა. ამ დასკვნის გაკეთების საფუძველს ძლევა გვირაბის ზომები, რომელშიც თავისუფლად მოძრაობს ახლად სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი.

ტრანსლაციის პროცესის ენერგეტიკული უზრუნველყოფა

ტრანსლაცია ძალიან ზუსტი და მოწესრიგებული პროცესია. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის პროცესში ყოველ 10 000 მიერთებულ ამინომჟავაზე მხოლოდ ერთი შეცდომა ხდება. იმავდროულად, ტრანსლაციის პროცესი ძალიან მაღალი სიჩქარით მიმდინარეობს. მაგალითად,

ბაქტერიულ უჯრედში წმ-ში დაახლოებით 20 ამინომჟავას ტრანსლაცია ხდება. ამ რეაქციების განხორციელება მოითხოვს ენერგიის ხარჯვას, რაც ამინომჟავებს შორის პოლიპეპტიდური ბმის ჩამოყალიბებისთვის მოიხმარება.

ერთი პეპტიდური ბმის წარმოქმნაზე, სულ მცირე, ოთხი მაღალენერგეტიკული ბმაა საჭირო: ორი მოიხმარება ამინოაცილ-ტ-რნმ-ის მოლეკულის სინთეზისთვის (ატფ-ის ორი ფოსფატური ბმა); ერთი - ტრანსლაციის ელონგაციის საწყის ეტაპზე და ერთიც - ტრანსლოკაციის რეაქციაზე. ეს ორი უკანასკნელი რეაქცია გტფ-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებულ ენერგიას მოიხმარს. ენერგიის ხარჯი შეიძლება გაიზარდოს არასწორად ჩართული ამინომჟავების კორექციის დროს.

უჯრედი, ტრანსლაციის პროცესში, ნებისმიერი სხვა ბიოსინთეზის რეაქციებთან შედარებით, გაცილებით მეტ ენერგიას მოიხმარს, რაც კიდევ ერთხელ მიუთითებს უჯრედის მეტაბოლიზმში მის განსაკუთრებულ მნიშვნელობაზე. საბოლოო ჯამში, მაღალი ენერგეტიკული ბალანსი მ-რნმ-ში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაციის ამინომჟავურ თანამიმდევრობად უზრუნველყოფს ტრანსლაციის დიდ სიზუსტეს.

ცილების მომწიფება

ტრანსლაციის რეაქციების შედეგად სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ფუნქციურად აქტიური ცილის მოლეკულა რომ გახდეს, მან უნდა მიიღოს დამახასიათებელი სივრცითი კონფორმაციები. მ-რნმ-ში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაცია განსაზღვრავს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის პირველად სტრუქტურას, ხოლო ეს უკანასკნელი, თავის მხრივ, ცილის შემდგომ კონფორმაციას. ზოგიერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ფოლდინგი (აწყობა) სპონტანურად მიმდინარეობს, უმეტესად კი, ფუნქციურად აქტიური სტრუქტურის ჩამოყალიბებას ესაჭიროება დამატებითი პირობები. ხშირად, სივრცითი კონფორმაციის სწორად ჩამოყალიბებაში შაპერონული (თანმხლები) ცილებია ჩართული. შაპერონები ცილებს ძირითადად ფოლდინგის შუალედურ სტადიაზე უკავშირდება, თუმცა, მათი გარკვეული ფორმები პოსტტრანსლაციურ ეტაპზე ახდენს ცილის მოლეკულების კონფორმაციულ გარდაქმნებს. შაპერონებს შეუძლია: ინტერმედიატების სტაბილიზება; ცილების გაშლილ მდგომარეო-

ბაში შენარჩუნება, რათა მისცეს მათ მემბრანებში გასვლის საშუალება; ეხმარება არასწორად დახვეულ ცილის სეგმენტებს გაშლაში; ახდენს მათი აგრეგაციისა და სხვა ცილებთან არასწორი ურთიერთქმედების პრევენციას. ეს ქმედებები ხელს უწყობს ცილის კომპაქტური, ფუნქციურად აქტიური კონფორმაციების ჩამოყალიბებას.

ცილის მოლეკულის არასწორი ფოლდინგი ძირითადად მის დეგრადაციას იწვევს. არასწორად დახვეული ცილების აკუმულაციამ, შესაძლოა, ცილების აგრეგაცია გამოიწვიოს, რაც სერიოზული ნეიროდეგენერაციული დაავადებების მიზეზი ხდება.

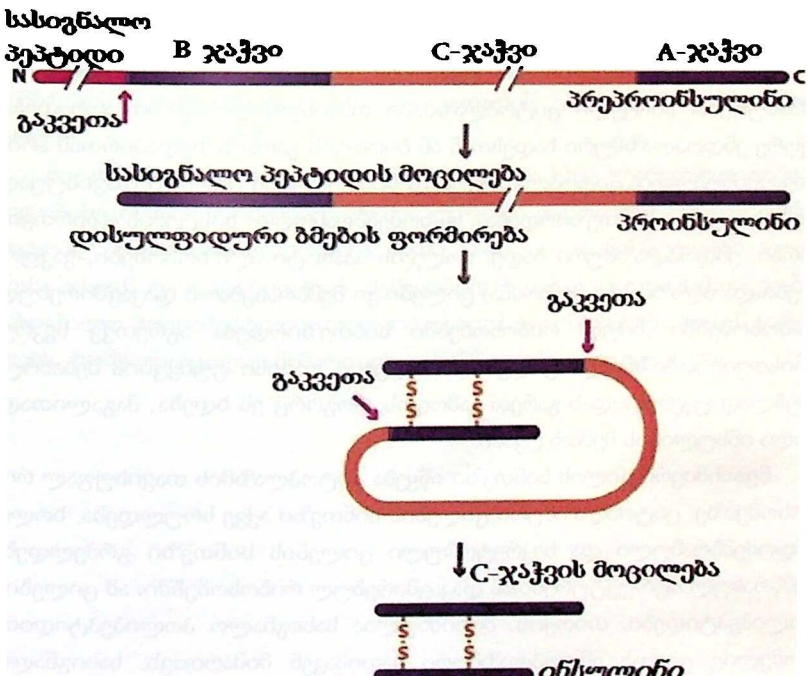
პოსტრანსლაციური გარდაქმნები

ტრანსლაციის რეაქციების შედეგად სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ხშირად, ჯერ კიდევ არ არის მზად უჯრედში თავისი ფუნქციის შესასრულებლად. უმეტესად ახალად სინთეზირებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ნატივური სტრუქტურის ჩამოყალიბება დასრულებული არ არის. ასეთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ტრანსლაციის შემდგომ გარდაქმნებს, ანუ პროცესინგს ექვემდებარება. ამ ეტაპზე პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში მიმდინარე ცვლილებებს პოსტტრანსლაციურ მოდიფიკაციებს უწოდებენ.

ყველა შემთხვევაში, ბაქტერიებსა და მიტოქონდრიებში მოქმედებს ფერმენტი, რომელიც მეთიონინის დეფორმილირებას ახდენს. ვინაიდან ყველა პოლიპეპტიდი ამინომჟავა მეთიონინით იწყება, თუ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში პირველი ფუნქციური ამინომჟავა მეთიონინია, საკმარისია მხოლოდ ამ სახის მოდიფიკაცია. ხოლო, თუ ცილის მოლეკულამ ფუნქციონირება სხვა ამინომჟავით უნდა დაიწყოს, მაშინ მოქმედებას იწყებს ფერმენტი ამინოპეპტიდაზა, რომელიც აწარმოებს მეთიონინის მოცილებას პოლიპეპტიდური ჯაჭვიდან. ამ ფერმენტის მოქმედების მექანიზმი მსგავსია, როგორც პრო-, ისე ევკარიოტებში. საინტერესოა, რომ ამინომჟავას ჩამოცილების რეაქციები ცილის სინთეზის დასრულებამდე იწყება, ჯერ კიდევ მაშინ, როცა პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში 15-დან 30-მდე ამინომჟავაა ჩართული.

პოსტტრანსლაციური პროტეოლიზის განსხვავებული მექანიზმი მოქმედებს, მაგალითად, ფაგ T4-ის კაფსიდიდან ცილის ჩამოყალიბების

პროცესში. ეს ცილა თავდაპირველად სინთეზირდება 529 ამინომჟავური ნაშთისაგან შემდგარი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სახით. შემდეგ დაახლოებით 63 ამინომჟავური ნაშთი ფერმენტების მოქმედების შედეგად სცილდება მას და ყალიბდება კაფსიდის სტაბილური სტრუქტურა. ჰორმონ ინსულინის შემთხვევაში, ცილის ნატივური სტრუქტურის ჩამოყალიბება თავდაპირველად ერთიანი პოლიპეპტიდური წინამორბედიდან ხდება, რომელსაც თითქმის არ გააჩნია ჰორმონული აქტივობა. მხოლოდ გარკვეული ამინომჟავური ნაშთების მოხლეჩის შემდეგ იძენს იგი დამახასიათებელ სტრუქტურას და ჰორმონულ აქტივობას (სურ. 5.85).



სურ. 5.85. ინსულინის ჩამოყალიბება პროინსულინიდან პოსტტრანსლაციური გარდაქმნების გზით

სხვადასხვა ტიპის ცილა საჭიროებს განსხვავებული ტიპის პოსტტრანსლაციურ მოდიფიკაციებს. უჯრედში მოქმედებს ფერმენტული სისტემა, რომელიც უზრუნველყოფს ცილის მოლეკულის სტრუქტურის კორექციას, ზედმეტი ამინომჟავური ნაშთების მოცილების, ფოსფორილირების, კარბოქსილირების, მეთილირების რეაქციებს, ზოგიერთი ცილისათვის დამახასიათებელი სასიგნალო პოლიპეპტიდური თანამიმდევრობის მოცილებას და ა.შ. პოსტტრანსლაციურ ეტაპზე ხდება აგრეთვე დამოუკიდებლად სინთეზირებული ორი ან მეტი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დაკავშირებით მულტიმერული ცილების მეოთხეული სტრუქტურის ჩამოყალიბება.

პოლიპეპტიდების გადატანა დანიშნულების ადგილზე

ცილის ტრანსლაციის პროცესს უჯრედში რიბოსომების ორი ტიპი ემსახურება. პირველი ციტოპლაზმაში თავისუფალი სახით გვხვდება, მეორე ენდოპლაზმური ბადესთან ან ბირთვის გარსის ზედაპირთან არის დაკავშირებული. ციტოპლაზმური დანიშნულების ცილები თავისუფალ რიბოსომებში სინთეზირდება. ენდომემბრანული სისტემის (ბირთვის გარსი, ენდოპლაზმური ბადე, გოლჯის აპარატი, ლიზოსომები, ვაკუოლები და პლაზმური მემბრანა) ცილები კი მემბრანებთან დაკავშირებულ რიბოსომებში. ბმულ რიბოსომებში სინთეზირდება აგრეთვე სეკრეციისთვის გამიზნული ცილები, რომლებიც თავისი ფუნქციის შესასრულებლად უჯრედიდან გარეთ გამოდის, როგორც ეს ხდება, მაგალითად, ცილა ინსულინის შემთხვევაში.

ნებისმიერი ცილის სინთეზი იწყება ციტოპლაზმის თავისუფალ რიბოსომებზე. ციტოპლაზმური ცილების სინთეზი აქვე სრულდება, ხოლო ენდომემბრანული და სეკრეტორული ცილების სინთეზი გრძელდება მემბრანულ სტრუქტურებთან დაკავშირებულ რიბოსომებში. ამ ცილების პოლიპეპტიდები, თითქოს, მონიშნულია სასიგნალო პოლიპეპტიდით, რომელიც ცილას ენდოპლაზმური ბადისაკენ მიმართავს. სასიგნალო პეპტიდი განლაგებულია სინთეზირებადი ცილის ამინოტერმინალურ ბოლოზე ან მის ახლოს. ეს არის დაახლოებით 15-30 ამინომჟავასაგან შემდგარი არაკონსერვატიული თანამიმდევრობა. სასიგნალო პოლიპეპტიდს

აქვს დადებითად დამუხტული N-ბოლო და C-ტერმინალური სეგმენტი, რომელიც მისი ამოჭრისათვის გახლეჩის ადგილს წარმოადგენს.

ამ ცილების ტრანსლაციის ინიციაციის სტადია თავისუფალ რიბოსომებში მიმდინარეობს. აქვე იწყება ელონგაციის პროცესი, მაგრამ, როგორც კი სასიგნალო პოლიპეპტიდი წარმოიქმნება და რიბოსომიდან გამოვა, ის ამოიცნობა სასიგნალო პოლიპეპტიდის ამომცნობი ნაწილაკის - SRP (ინგლ. Signal Recognition Particle) მიერ. ტრანსლაციის პროცესი ჩერდება და ამომცნობ ნაწილაკს სასიგნალო პოლიპეპტიდი გადააქვს ენდოპლაზმურ ბადეზე, სადაც ის უკავშირდება SRP რეცეპტორს. ფერმენტების ზემოქმედებით სასიგნალო პეპტიდი ძირითად პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს ჩამოსცილდება და გრძელდება ცილის სინთეზი. დასრულებული პოლიპეპტიდი, როცა ის მემბრანული ცილაა, რჩება ნაწილობრივ ჩაშენებული ენდოპლაზმური ბადის მემბრანაში. პირიქით, თუ სინთეზირებული პოლიპეპტიდი სეკრეტორული ცილაა, ის გაძვრება მემბრანის ცილოვან ფორებში და გადადის ენდოპლაზმური ბადის ღრუში.

მიტოქონდრიების, ქლოროპლასტებისა და სხვა უჯრედული ორგანელების ცილები, რომლებიც არ მიეკუთვნება ენდომემბრანულ ცილებს, ციტოპლაზმაში სინთეზირდება. მათი გადატანა დანიშნულების ადგილას სასიგნალო პეპტიდების მეშვეობით ხდება. ყველა შემთხვევაში, სასიგნალო პოლიპეპტიდი, თითქოს, „საფოსტო ინდექსის“ როლს ასრულებს, რომელიც ცილას მიმართავს დანიშნულების ადგილისკენ.

თავი 6. გენის ექსპრესიის რეგულაცია

ნებისმიერი უჯრედი, რომელ ფუნქციასაც უნდა ასრულებდეს ის ორგანიზმში, შეიცავს ამ ორგანიზმისთვის დამახასიათებელი გენების სრულ კრებულს. იმავდროულად, ერთი ორგანიზმის სხვადასხვა ქსოვილისა და ორგანოს უჯრედები ცილების განსხვავებულ ნაკრებს ატარებს. მეტიც, ერთსა და იმავე უჯრედშიც კი, განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე სხვადასხვა ცილოვანი მოლეკულა სინთეზირდება და ფუნქციონირებს. ამრიგად, ნებისმიერი უჯრედი ორგანიზმის სრულ გენეტიკურ ინფორმაციას ფლობს, მაგრამ განვითარების გარკვეულ სტადიაზე მხოლოდ იმ ნაწილს იყენებს, რომელიც მოცემულ მომენტში არის აუცილებელი. სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, უჯრედში მხოლოდ იმ გენების ტრანსკრიფცია ხდება, რომლებიც მისი ფუნქციონირებისათვის მოცემულ მომენტში არის საჭირო. აქედან გამომდინარე, უჯრედში ფუნქციონირებს გენის ექსპრესიის რეგულაციის სპეციალური სისტემა, რომელიც განსაზღვრავს, რომელი გენების ტრასკრიფცია უნდა განხორციელდეს და რა თანმიმდევრობით. პროკარიოტულ და ევკარიოტულ ორგანიზმებში გენის ექსპრესია განსხვავებული მოლეკულური მექანიზმებით რეგულირდება.

6.1. გენის ექსპრესიის რეგულაცია პროკარიოტებში

ინდუქცია და რეპრესია

მიკროორგანიზმებს ესაჭიროება ძალიან სწრაფი რეაგირება გარემო პირობების შეცვლაზე. მათი სიცოცხლისუნარიანობა იმაზეა დამოკიდებული, თუ რამდენად დროულად შეძლებენ მეტაბოლური პროცესების გადართვას. მეტაბოლური გზების შეცვლა დიდი რაოდენობით ენერგიას მოითხოვს. ამიტომ, გარემო პირობების ცვლილებებთან შეგუების მაღალ უნართან ერთად, ბაქტერიული გენომი, აუცილებლად, ეკონომიურ ენერგეტიკულ რეგულაციას უნდა ექვემდებარებოდეს. ბაქტერიულ გენომს, ევოლუციურად, ფუნქციონირების კომპრომისული გზა აქვს „არჩეული“. ერთი მხრივ, მის უჯრედში ზოგიერთი ფერმენტი

სინთეზირდება განუწყვეტლივ და საკვები არის შედგენილობა მათს სინთეზზე გავლენას არ ახდენს (ამ ფერმენტებს კონსტიტუციურს უწოდებენ). მეორე მხრივ, ზოგიერთი ფერმენტის სინთეზი იწყება მხოლოდ შესაბამისი სუბსტრატის არსებობის პირობებში და მათ ინდუქციურ ფერმენტებს უწოდებენ.

ჯერ კიდევ მე-20 საუკუნის დასაწყისში იყო ცნობილი, რომ საფუვრების უჯრედებში გარკვეული ტიპის ფერმენტები წარმოიქმნება მხოლოდ შესაბამის სუბსტრატზე. ამ მოვლენას ფერმენტების ინდუქცია უწოდეს. ანალოგიური მოვლენა შესწავლილ იქნა ბაქტერიულ ორგანიზმებშიც, კერძოდ, *E.coli*-ს უჯრედებში აღმოჩენილ იქნა ლაქტოზური სისტემის გენები, რომელთა მოქმედება ინდუქციური მექანიზმით რეგულირდება.

როდესაც ბაქტერიას ამრავლებენ ისეთ სუბსტრატზე, რომელიც არ შეიცავს *β*-გალაქტოზას, უჯრედში სინთეზირდება ფერმენტ *β*-გალაქტოზიდაზის (ფკ. 3.2.1.23) ძალზე უმნიშვნელო რაოდენობა. ფერმენტის ფუნქციას წარმოადგენს ლაქტოზის ჰიდროლიზი. მაგალითად, ლაქტოზა იშლება გლუკოზად და გალაქტოზად. ცხადია, საკვებ არეში სუბსტრატის (*β*-გალაქტოზის) არარსებობის გამო უჯრედში არ არის მისი დამშლელი ფერმენტის (*β*-გალაქტოზიდაზის) საჭიროება.

ახალი სუბსტრატის დამატებისას ბაქტერიულ უჯრედში სინთეზირდება ფერმენტის ახალი მოლეკულები. დაახლოებით 2-3 წთ-ის შემდეგ, უკვე, დაახლოებით 5000 ფერმენტის მოლეკულაა დასინთეზებული. სუბსტრატის მოცილებისას ფერმენტის სინთეზი ისევე სწრაფად წყდება, როგორც დაიწყო.

ასეთივე რეაქცია შეინიშნება არა მარტო ახალი სუბსტრატის გამოყენებისას, არამედ ენდოგენური შენაერთების სინთეზის გამოთიშვის მიზნით, თუკი ის მოულოდნელად გაჩნდა საკვებ არეში. მაგალითად, ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ამინომჟავას - ტრიპტოფანის სინთეზში მონაწილეობს ფერმენტი ტრიპტოფან-სინთეტაზა. მაგრამ თუ ბაქტერიის საკვებ არეში არის ტრიპტოფანი, ფერმენტის საჭიროება არ არის და მისი სინთეზი წყდება. მაშასადამე, მიკროორგანიზმების საკვებ არეში ფერმენტის მოქმედების პროდუქტის არსებობა ფერმენტის აქტივობას არეგულირებს. ამ მოვლენას რეპრესიას უწოდებენ. რეპრე-

სიის უნარი ბაქტერიულ უჯრედს იცავს შინაგანი რესურსების გადახარჯვისაგან.

ინდუქცია და რეპრესია ერთი და იგივე მოვლენის სხვადასხვა მხარეს წარმოადგენს. ორივე ტიპის რეგულაციის ფუნქციონირება მცირე მოლეკულებით (დაბალმოლეკულური ნაერთებით) ხდება. მოლეკულები, რომლებიც ფერმენტების წარმოქმნის ინდუქციას განაპირობებს, ინდუქტორებად იწოდება, ხოლო მოლეკულები, რომლებიც ხელს უშლის ფერმენტების სინთეზს - რეპრესორებად.

ინდუქციის და რეპრესიის მოვლენის ახსნა მოახერხეს ფრანგმა მეცნიერებმა *ფრანსუა ჟაკობმა და ჟან მონომ.* 1961 წელს მათ ჩამოაყალიბეს თეორია, რომლის მიხედვითაც ბაქტერიული გენომის რეგულაციის მექანიზმი შესაბამისი გენების ჩართვა-გამორთვით უნდა რეგულირდებოდეს.

პროკარიოტული ოპერონის ორგანიზაცია და ფუნქციონირების რეგულაცია

გენის ექსპრესიის რეგულაცია შედარებით დეტალურად იქნა შესწავლილი პროკარიოტულ ორგანიზმებში ფერმენტის ადაპტური სინთეზის მაგალითებზე, რომლებიც რეგულირდება გენების ოპერონული სისტემით. განვიხილოთ რამდენიმე მათგანი.

***E.coli*-ს ლაქტოზური ოპერონი.** ბაქტერიული გენომის ოპერონული ორგანიზაციის მთავარ უპირატესობა გენთა აქტიურობის კოორდინაციული რეგულაციაა. ყველა გენი შეთანხმებულად, ერთდროულად ექსპრესირდება ან არ ექსპრესირდება. მონოცისტრონული მ-რნმ-ის ტრანსლაცია ხორციელდება თანმიმდევრულად, გენის 5'-ბოლოდან. ეს საშუალებას გვაძლევს, ავხსნათ, ინდუქციის დროს რატომ წარმოიქმნება თანმიმდევრულად *β*-გალაქტოზიდაზა, *β*-გალაქტოზიდპერმეაზა და *β*-გალაქტოზიდ-ტრანსაცეტილაზა (იხ. თავი 4. 3 - პროკარიოტული გენების სტრუქტურული ორგანიზაცია). ბაქტერიული გენების ერთდროული გამოვლინება ერთიანი მ-რნმ-ის სახით, ასევე, ხსნის, თუ რატომ რჩება სამივე ფერმენტის შეფარდებითი რაოდენობა ერთნაირი ცვალებად პირობებშიც კი. ინდუქტორი ფაქტობრივად მხო-

ლოდ სიგნალის როლს ასრულებს გენების ამოქმედების ან უმოქმედობისათვის.

სტრუქტურული გენების ფუნქციონირება ბაქტერიულ გენომში, როგორც წესი, გენების მეორე ჯგუფის - რეგულატორული გენების მეშვეობით კონტროლდება. სწორედ რეგულატორული გენების პროდუქტი - ცილა-რეპრესორი განაპირობებს სტრუქტურული გენების გამოვლენას. სტრუქტურული გენების ფუნქციონირების რეგულაცია ხორციელდება დნმ-ის განსაზღვრულ საიტთან რეპრესორის დაკავშირებით.

რეგულატორული გენების მიერ კოდირებული ცილოვანი პროდუქტები თავისუფლად დიფუნდირებს, პოულობს შესაბამის გენებს და ახდენს მათ აქტივაციას. ურიერთქმედების ამ ფორმას *ტრანს*-რეგულაცია ეწოდება. *ტრანს*-რეგულატორული ცილა უკავშირდება სამიზნე გენის ან გენთა კლასტერის *ცის*-რეგულირებად თანამიმდევრობას, რომელიც, ჩვეულებრივ (მაგრამ არა ყოველთვის), სტრუქტურული გენების გვერდითაა განლაგებული. *ტრანს*-რეგულატორულ ცილას შეუძლია განახორციელოს სტრუქტურული გენის პოზიტიური ან ნეგატიური რეგულაცია. თუ ურთიერთქმედების შედეგად გენის ექსპრესიის მექანიზმი ირთვება, საქმე პოზიტიური რეგულაციის ტიპთან გვაქვს. პირიქით, თუ ამ ურთიერთქმედებით გენების ექსპრესია ითრგუნება, მოქმედებს რეგულაციის ნეგატიური ტიპი.

სტრუქტურული და რეგულატორული გენების განსხვავება შესაძლებელია მუტაციის ეფექტის მიხედვით. მაგალითად, სტრუქტურულ გენებში მომხდარი მუტაცია განაპირობებს მხოლოდ კონკრეტული გენის მიერ კოდირებული ცილის სინთეზის შეწყვეტას. გენი-რეგულატორის მუტაცია კი განაპირობებს ყველა იმ სტრუტტურული გენის გამოვლენას, ანუ ყველა იმ ცილის სინთეზის შეწყვეტას, რომელსაც ის აკონტროლებს. ალბათ, ამით აიხსნება, რომ რეგულატორულ გენებში მომხდარი მუტაციების ფენოტიპური ეფექტი გაცილებით ძლიერია, ვიდრე სტრუქტურულ გენებში მომხდარი მუტაციებისა.

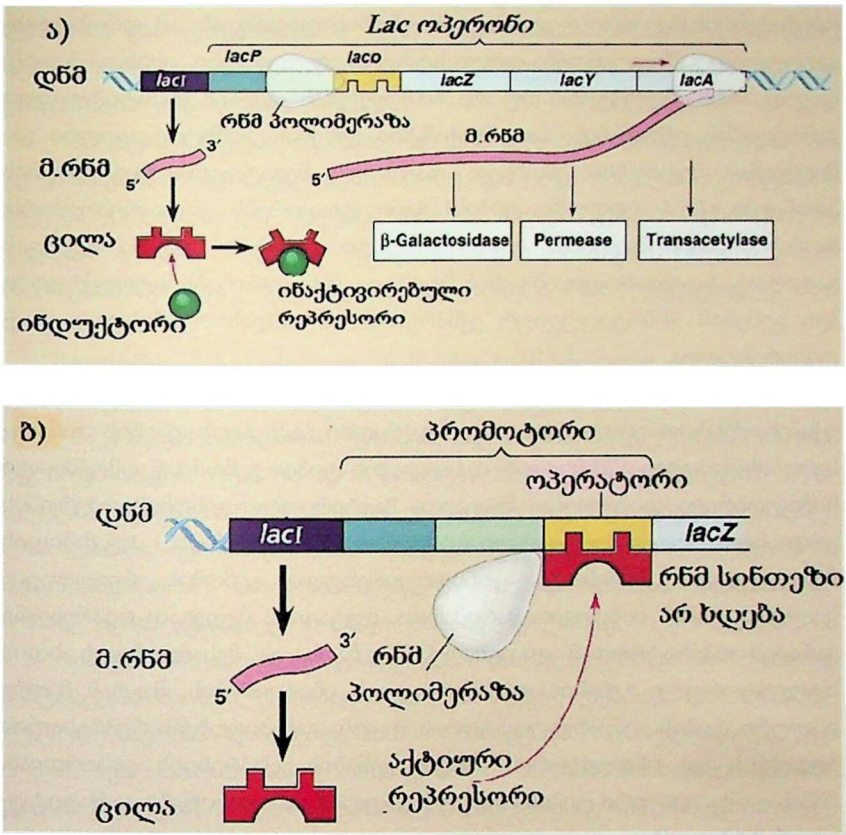
ლაქტოზური გენების შემთხვევაში საქმე გვაქვს გენების ნეგატიურ რეგულაციასთან - სტრუქტურული გენები ტრასკრიბირდება მხოლოდ მაშინ, თუ ისინი არ არის გამორთული რეგულატორული

ცილა-რეპრესორით. მის საპირისპიროდ, ბაქტერიულ გენომში გვხვდება პოზიტიური რეგულაციის ტიპიც. პოზიტიური რეგულაციის დროს რეგულატორული ცილის არსებობა, პირიქით, აუცილებელია სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფციის რეაქციებისათვის.

როგორც პროკარიოტული გენების სტრუქტურის განხილვისას ვნახეთ, ლაქტოზური ოპერონი მოიცავს სტრუქტურულ ***Lac ZYA*** გენებს. სტრუქტურული გენების წინ, ტრანსკრიფციის მიმართულების საწინააღმდეგოდ განლაგებულია დნმ-ის უბანი, რომელიც იწოდება ოპერატორად და აღინიშნება, როგორც ***LacO.*** სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფციის ინიციაციას საკუთარი ***LacP*** პრომოტორი არეგულირებს. პრომოტორი (*LacP) LacZ* სტრუქტურული გენის მარცხნივ (აღმა) მიმდებარე უბანშია განლაგებული (სურ.6.1).

რეგულატორული გენი LacI განლაგებულია კიდევ უფრო დაცილებით, მარცხვნივ და რეგულირდება საკუთარი პრომოტორით. ის ტრანსკრიბირდება მონოცისტრონული რნმ-ის სახით, რომელიც აკოდირებს ცილა-რეპრესორს. რეპრესორს აქვს ორმაგი ფუნქცია. ერთი მხრივ, მას შეუძლია, დაუკავშირდეს ოპერატორს და დაბლოკოს სტრუქტურული გენების ფუნქციონირება. მეორე მხრივ, რეპრესორს შეუძლია, დაუკავშირდეს ინდუქტორს და ასეთი კომპლექსი კარგავს ოპერატორთან დაკავშირების უნარს. ამ პირობებში რნმ-პოლიმერაზას საშუალება ეძლევა, მოახდინოს ტრანსკრიფციის ინიციაცია, ეს კი განაპირობებს სტრუქტურული გენების გამოვლენას. რეპრესორის ორმაგ თვისებას უზრუნველყოფს ამ ცილის სტერეოქიმიური აგებულება. მას აქვს დაკავშირების ორი ცენტრი. ერთით ის უკავშირდება ოპერატორს, მეორეთი - ინდუქტორს. როცა რეპრესორი უკავშირდება ინდუქტორს, იცვლება ცილა-რეპრესორის კონფორმაცია და მას აღარ შეუძლია ოპერატორთან კომპლექსის წარმოქმნა (სურ.6.1-ა). შედეგად, რეპრესორს აღარ ძალუძს ტრანსკრიფციის შეჩერება და იწყება ტრანსკრიფციის რეაქციები. ინდუქტორის მოცილებისას რეპრესორი კვლავ განთავსდება ოპერატორზე და თრგუნავს ტრანსკრიფციის პროცესს. ურთიერთქმედების ასეთ ტიპს ალოსტერულ კონტროლს უწოდებენ. (სურ. 6.1-ბ). ალოსტერია, ზოგადად, გულისხმობს რეგულატო-

რული (ალოსტერული) ფერმენტების აქტიურობის ცვლილებით ბიოქიმიური პროცესის ინტენსივობის კონტროლს.



სურ. 6.1. ლაქტოზური ოპერონის მოქმედების რეგულაციის სქემა.
ა) რეპრესორი ინაქტივირებულია, ოპერატორი - ღიაა და მიმდინარეობს სტრუქტურული გენების ექსპრესია (რნმ-ის სინთეზი). ბ) რეპრესორი აქტიურია, ოპერატორი დახურულია და გენების ექსპრესია არ ხდება - გენის ექსპრესიის ალოსტერული კონტროლი.

LacI რეგულატორული გენი პირევლად შესწავლილ იქნა ამ გენში მომხდარი მუტაციების საფუძველზე, რაც სტრუქტურული გენების გამოვლენას უწყობდა ხელს. *LacI* მუტანტური გენოტიპი განაპირობებს ოპერატორის ჩვეული რეგულაციის უნარის დაკარგვას. ამ დროს ერთდროულად გამოვლინდება ყველა სტრუქტურული გენი, იმისდა მიუხედავად, არის ინდუქტორი თუ არა. ამ მოვლენას გენების კონსტიტუციურ გამოვლენას უწოდებენ. *LacI* მუტანტში გენების კონსტიტუციური გამოვლენის მექანიზმი ემთხვევა ოპერონის ნეგატიური რეგულაციის პრინციპს. *LacI+* (ველური ტიპის) გენი აკოდირებს ცილა-რეპრესორს, რომლის ზემოქმედებით სტრუქტურული გენების მთელი ჯგუფის გამორთვა ხდება, ხოლო ამ გენის მუტაცია განაპირობებს სტრუქტურული გენების კონსტიტუციურ ექსპრესიას, ვინაიდან რეპრესორი ინაქტივირებულია.

ასეთი დასკვნის გაკეთება შესაძლებელი გახდა გენეტიკური ექსპერიმენტით. ერთსა და იმავე უჯრედში *LacI⁻ LacI⁺* გენების თანაარსებობის შემთხვევაში მიიღებოდა ველური ტიპის გენომი. წარმოქმნილი ნაწილობრივი დიპლოიდი შეიცავდა ბაქტერიული გენომის ოპერონის ერთ ასლს, ხოლო მეორე ასლი დამოუკიდებელი დნმ-ის - პლაზმიდის მოლეკულას ეკუთვნოდა. კონსტრუირებული გენომის რეგულაცია ველური ტიპის მიხედვით წარიმართა. მუტაციის შედეგად რეპრესორი კარგავს ოპერატორთან დაკავშირების უნარს. ეს შესაძლებელს ხდის სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფციის ინიციირებას, მაგრამ მეორე ველური ტიპის გენი-რეგულატორის შეყვანა განაპირობებს რეპრესორის აღდგენას და ინდუქტორის გარეშე გენების ექსპრესიის გამორთვას. მაშასადამე, ველური ტიპის ინდუცირებულობა დომინირებს კონსტიტუციურ მუტაციაზე.

რეგულატორული *LacI* გენი ლოკალიზებულია სტრუქტურულ გენებთან საკმაოდ ახლოს, მაგრამ ამას არა აქვს გადამწყვეტი მნიშვნელობა, ვინაიდან ის ადეტერმინირებს ტრანს-დიფუზიურ პროდუქტს. მართლაც, როგორც განხილულ ექსპერიმენტში გამოჩნდა, დამოუკიდებელ დნმ-ს (პლაზმიდი) შეუძლია გავლენა მოახდინოს *LacZYA* სტრუქტურული გენების ფუნქციონირებაზე.

ოპერატორის (*LacO*) იდენტიფიკაცია, ისევე, როგორც რეგულატორისა, კონსტიტუციური მუტაციებით გახდა შესაძლებელი. ოპერატორში მომხდარი მუტაცია განაპირობებს მიმდებარე გენების კონსტიტუციურ რეგულაციას. ამის მიზეზი ოპერატორის მუტაციური შეცვლაა, რის გამოც რეპრესორი ვეღარ ამყარებს მასთან კონტაქტს, ვერც სტრუქტურული გენების ბლოკირება ხერხდება და მათი ტრანსკრიფციაც თავისუფლად წარიმართება.

ოპერატორს შეუძლია მხოლოდ მის გვერდით განლაგებული *Lac* გენების კონტროლი. უჯრედში მეორე, დამოუკიდებელი ოპერატორის შეყვანა გავლენას ვერ ახდენს სტრუქტურული გენების ექსპრესიაზე. ველური ტიპის ოპერონი ფუნქციონირებს მისთვის ჩვეული გზით (რეპრესიის გზით), ხოლო მუტაციური ოპერატორი უწყვეტად ტრასკრიბირდება.

მოვლენას, როცა ესა თუ ის საიტი აკონტროლებს მიმდებარე გენებს, მიუხედავად იმისა, არსებობს თუ არა უჯრედში ამ საიტის სხვა ალელი, *cის*-დომინანტობას უწოდებენ. *cის*-დომინანტური საიტი იმაზე მიუთითებს, რომ ის აკონტროლებს რომელიმე გენეტიკური პროდუქტის (ცილა, რნმ) სინთეზს. *cის*-დომინანტობის ცნება მართებულია დნმ-ის ნებისმიერი თანამიმდევრობისათვის, რომლის ფუნქცია მდგომარეობს არა საბოლოო პროდუქტის კოდირებაში, არამედ, ამოცნობილ იქნეს გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესში.

რეპრესორი თავდაპირველად *E.coli*-ის უჯრედებიდან გამოყოფილ ექსტრაქტში შეიწავლეს. ცილა-რეპრესორი, ჩვეულებრივ, დაბალმოლეკულური ნაერთია და უჯრედში მისი რაოდენობა საკმაოდ მცირეა. უჯრედში რეპრესორის რაოდენობის გაზრდის მიზნით მოახდინეს პრომოტორის მუტაცია, რომელმაც გამოიწვია *LacI* გენის ტრანსკრიფციის ეფექტის გაზრდა. ამის შემდეგ *LacI* მუტანტური ლოკუსი დნმ-ის მოლეკულაში შეიყვანეს, რის შედეგადაც რეპრესორის რაოდენობამ მოიმატა 100-1000-ჯერ.

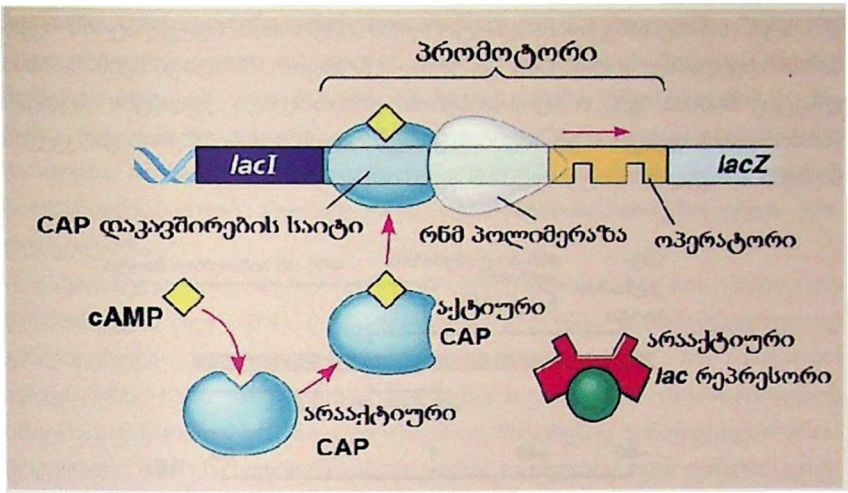
რეპრესორის დნმ-ის მოლეკულასთან დაკავშირების მექანიზმი კი პირველად ფილტრზე შებოჭვის მეთოდის გამოყენებით იქნა შესწავლილი. ნიტროცელულოზის ფილტრი უზრუნველყოფს ცილის მოლეკულების შებოჭვას, ხოლო დნმ-ის მოლეკულები მასში თავისუფლად

გადის. ფილტრზე რჩება დნმ-ის ის მოლეკულებიც, რომლებიც ცილასთან კომპლექსში იმყოფება. ამ მეთოდით შესაძლებელი გახდა დნმ-ის სპეციფიკური თანამიმდევრობების გამორჩევა, რომლებსაც შეუძლია რეპრესორთან კავშირის დამყარება. რეპრესორი უკავშირდება ველური ტიპის *Lac* ოპერატორს. ამასთან, დნმ ორჯაჭვიანი სტრუქტურით უნდა იყოს წარმოდგენილი. თუ დნმ-ის მოლეკულა მუტანტიდან არის გამოყოფილი, კავშირი არ წარმოიქმნება. რეპრესორის *LacO* დაკავშირების უნარი შემდგომში გამოყენებულ იქნა რეპრესიის მექანიზმების შესასწავლად.

პრომოტორი (*LacP*) განლაგებულია *Lac* ოპერატორის *(LacO)* მიმდებარედ (აღმა) და შეიცავს რნმ-პოლიმერაზას და კატაბოლიზმის გამააქტიურებელი ცილის CAP (ინგლ. Catabolic Activator Protein) გამააქტიურებელ საიტებს. CAP-აქტივატორის გარეშე რნმ–პოლიმერაზა ვერ უკავშირდება ოპერონს. ამავე დროს, CAP-ცილა თვითონ უნდა იყოს გააქტიურებული უჯრედში არსებული ციკლური ადენოზინმონოფოსფატით (ციკლური ამფ - cAMP). ციკლური ამფ წარმოქმნის კომპლექსს CAP-ცილასთან და უკავშირდება პრომოტორის CAP-რეგულირებად საიტს. პრომოტორის მეორე ნაწილს უკავშირდება რნმ-პოლიმერაზა, რომელიც განახორციელებს სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფციას (სურ. 6.2).

ციკლური ამფ-ის წარმოქმნას ატფ-დან აკატალიზებს ფერმენტი ადენილატციკლაზა. აღსანიშნავია, რომ *E.coli* ნახშირბადის წყაროდ გამოყენებისას სხვა ნახშირწყლებთან შედარებით უპირატესობას გლუკოზას ანიჭებს. ამიტომ, თუ არეში არის გლუკოზა, ლაქტოზის ოპერონის ინდუქცია არ ხდება მანამ, ვიდრე გლუკოზა არ გაიხარჯება. თუ უჯრედი შეიცავს გლუკოზას, ფერმენტი ადენილატციკლაზა ურთიერთქმედებს მასთან და ინაქტივირდება. ასეთ პირობებში ფერმენტი ვერ უზრუნველყოფს ციკლური ამფ-ის წარმოქმნას და, შესაბამისად, რნმ-პოლიმერაზის დაკავშირებას პრომოტორთან. ამრიგად, ციკლური ამფ-ის ბლოკირებით გლუკოზა ხელს უშლის ლაქტოზას ოპერონის ინდუქციას. ამ მოვლენას ***კატაბოლურ რეპრესიას*** უწოდებენ, ვინაიდან ის გლუკოზას კატაბოლიზმის დროს ხდება. ამ სისტემას ბაქტერიული უჯრედი სხვა ინდუცირებადი ოპერონების შემთხვევაშიც იყენებს, მაგალითად, გალაქტოზისა და არაბინოზის ოპერონების შემთხვევაში. როგორც ჩანს, გლუ-

კოზის არსებობისას არასაჭირო ფერმენტების სინთეზის გამოსართავად ის ზოგად მაკოორდინირებელ სისტემას წარმოადგენს.



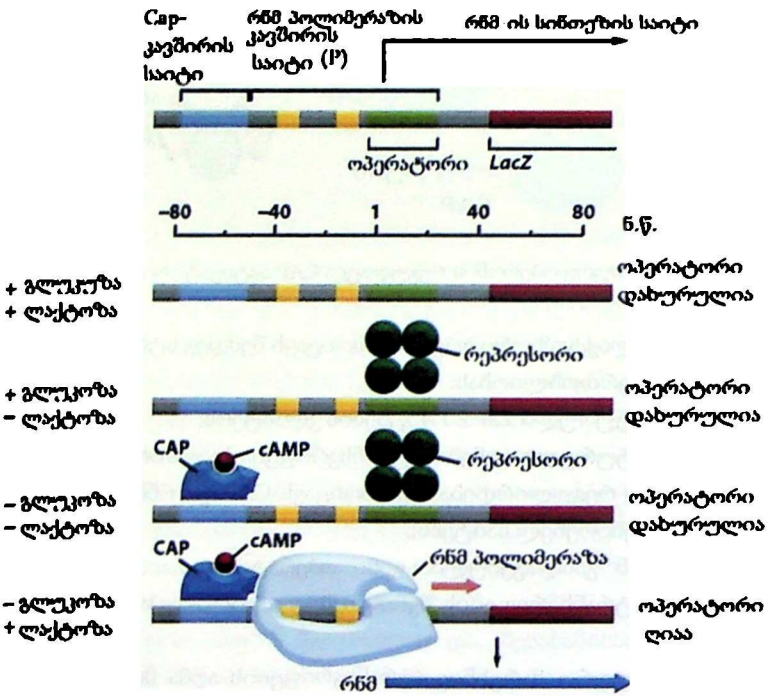
სურ. 6.2. ლაქტოზური ოპერონის რეგულაცია CAP აქტივატორის მონაწილეობით

ამრიგად, ლაქტოზური ოპერონი მოიცავს შემდეგ სტრუქტურებსა და გარდაქმნების ერთობლიობას:

- სტრუქტურული *Lac ZYA* გენების კლასტერს;
- სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფცია საკუთარი *LacP* პრომოტორით რეგულირდება. იგი მოიცავს CAP და რნმ-პოლიმერაზის დამაკავშირებელ საიტებს;
- მათ წინ განლაგებულია გენი ოპერატორი *LacO*, რომელთანაც ხდება ტრანსკრიფციის შემაჩერებელი ცილა-რეპრესორის დაკავშირება;
- კიდევ უფრო მარცხნივ (ტრანსკრიფციის აღმა მიმართულებით) განლაგებულია გენი რეგულატორი - *LacI*, რომელიც რეგულირდება საკუთარი პრომოტორით, ტრანსკრიბირდება მონოცისტრონული რნმ-ის სახით, რომელიც აკოდირებს ცილა-რეპრესორს;
- სტრუქტურული გენების კლასტერის მიმდებარედ (დაღმა) განლაგებულია რეგულატორული უბანი - ტერმინატორი, რომელიც

სტრუქტურულ გენებზე ტრანსკრიბირებული მ-რნმ-სინთეზის შეწყვეტას და დნმ-დან რნმ-პოლიმერაზის ჩამოშორებას უზრუნველყოფს.

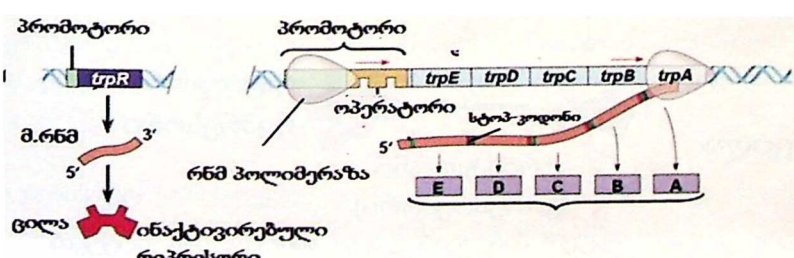
სურ. 6.3-ზე ნაჩვენებია ლაქტოზური ოპერონის რეგულაციის მექანიზმი სხვადასხვა პირობებში. ამ, ერთი შეხედვით, მარტივი სქემის ახსნა გენეტიკოსებისა და ბიოქიმიკოსების ერთობლივი კვლევის შედეგს წარმოადგენს და გენის ექსპრესიის კონტროლის მექანიზმების გარკვევის საქმეში პირველ წარმატებულ ნაბიჯად ითვლება.



სურ. 6.3. ლაქტოზური ოპერონის რეგულაციის მექანიზმის სქემა განსხვავებულ პირობებში

***E.coli*-ს ტრიპტოფანის ოპერონი.** ბაქტერიულ უჯრედს ცილების შემადგენელი 20 ამინომჟავას სათანადო რაოდენობა და ბალანსი ესაჭიროება. ტრიპტოფანი ერთ-ერთ ამინომჟავას წარმოადგენს, რომელიც აუცილებელია ყველა იმ ცილის სინთეზისათვის, რომლებიც ამ ამინომჟავას შეიცავს. თუ ბაქტერიის საკვებ არეში ტრიპტოფანის საკმარისი რაოდენობა არ არის, ბაქტერიულ უჯრედს თავად უხდება მისი წარმოება. ამისათვის უჯრედის გენეტიკურმა აპარატმა ტრიპტოფანის ბიოსინთეზისათვის აუცილებელი ფერმენტების სინთეზი უნდა უზრუნველყოს.

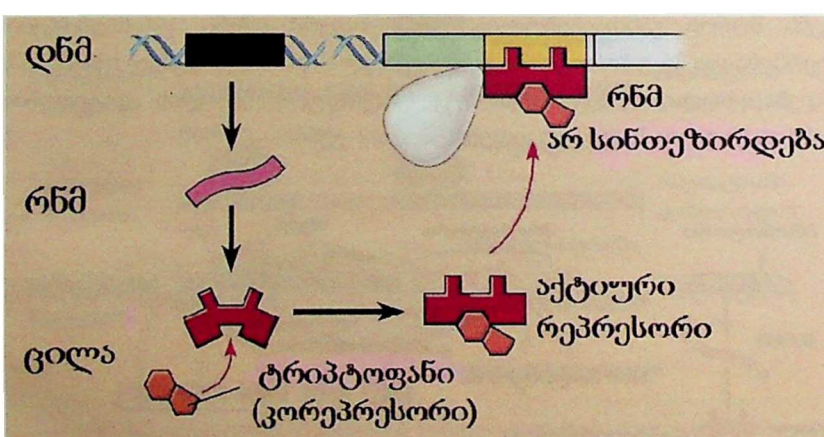
ტრიპტოფანის ოპერონი მარეპრესირებელი ოპერონის მაგალითს წარმოადგენს (სურ. 6.4). ტრიპტოფანის ოპერონში თანამიმდევრულად განლაგებული ხუთი სტრუქტურული გენი – *trE, trD, trS, trB* და *trA* აკოდირებს სამი სხვადასხვა ფერმენტის სინთეზს. ტრანსკრიფციის ინიციაცია წარმოებს გენთა კლასტერის მარცხვნივ განლაგებულ პრომოტორში. მას ესაზღვრება ოპერატორი, რომელსაც აქვს უნარი, დაუკავშირდეს ცილა-რეპრესორს. თავის მხრივ, ცილა-რეპრესორს აკოდირებს არაჭდომილი *trpR*-გენი. ოპერატორსა და პირველ სტრუქტურულ გენს შორის განთავსებულია, ე.წ. ლიდერი უბანი. ტრანსკრიფციის ტერმინაცია 26-ე პოზიციაში განლაგებულ P-დამოუკიდებელ trpt-საიტში ხდება, ხოლო კიდევ 250 ნუკლეოტიდური წყვილის დაცილებით განლაგებულია P-დამოუკიდებელი *trpt1* გენი.



სურ. 6.4. ტრიპტოფანის ოპერონის სტრუქტურა

ტრიპტოფანური ოპერონის ფერმენტების სინთეზი უჯრედში ტრიპტოფანის შემცველობით კონტროლდება. ტრიპტოფანური ოპერონის ფუნქციონირება კლასიკური უკუკავშირით რეგულირდება, ანუ ფერმენტის სინთეზის ინჰიბირება საბოლოო პროდუქტით წარმოებს. ფერმენტული ბიოსინთეზის გზის პირველი ფერმენტის კატალიზური აქტივობა ითრგუნება ბიოსინთეზის საბოლოო პროდუქტის, ტრიპტოფანის ზემოქმედებით. ეს ნიშნავს, რომ როცა უჯრედში ტრიპტოფანის საკმარისი რაოდენობაა, უჯრედს შეუძლია, გამორთოს სხვა ამინომჟავების სინთეზი ბიოსინთეზის საწყის ეტაპზე.

ტრიპტოფანს შეუძლია შეასრულოს აგრეთვე კორეპრესორის ფუნქცია, რომელიც განაპირობებს ცილა რეპრესორის აქტივაციას (სურ. 6.5). როცა უჯრედში ტრიპტოფანის საკმარისი რაოდენობაა, კომპლექსი ცილა რეპრესორი-კორეპრესორი უკავშირდება ოპერატორს. იმ შემთხვევაში, როცა ტრიპტოფანის რაოდენობა არ არის საკმარისი, კორეპრესორი აღარ ააქტიურებს ცილა-რეპრესორს და, შესაბამისად, რეპრესორი აღარ უკავშირდება ოპერატორს.



სურ. 6.5. ტრიპტოფანის ოპერონის რეგულაციის სქემა.
რეპრესორი აქტიურია, ოპერატორი - დახურული, გენების ექსპრესია არ ხდება.

ტრიპტოფანული ოპერონის ფუნქციონირების დროს, პრომოტორისა და ოპერატორის კომპლექსის გარდა, მონაწილეობს დნმ-ის სხვა რეგულატორული საიტი, რომელიც არ გვხვდება ლაქტოზის ოპერონში. ამ დასკვნამდე მეცნიერები მივიდნენ ცდით, როდესაც ოპერატორსა და კოდირებად საიტს შორის განლაგებული უბნის დაკარგვა სტრუქტურული გენების გაძლიერებულ ექსპრესიას იწვევდა. ამ რეგულატორულ საიტს *ატენუატორი* უწოდეს. ის ლოკალიზებულია ინიციაციური trpE კოდონის წინ განლაგებულ, 162 ნუკლეოტიდური წყვილისგან შემდგარი, ე.წ. ლიდერი უბნის საზღვრებში.

ატენუატორი რნმ-პოლიმერაზას, თითქოს, მეორე შანსს აძლევს, რომ დაარეგულიროს ტრიპტოფანის ოპერონის ტრანსკრიფცია. ატენუატორი ასრულებს ტრანსკრიფციის ბარიერის როლს. ტრანსკრიფცია იწყება, მაგრამ ნაადრევად წყდება ატენუატორის ბოლოს. მიიღება მოკლე, 140 ნ.წ. სიგრძის ტრანსკრიფტი. ტერმინაციის აქტი აღნიშნულ საიტში დამოკიდებულია უჯრედში ტრიპტოფანის შემცველობაზე. ტრიპტოფანის საკმარისი რაოდენობის დროს ტერმინაცია ეფექტურად მიმდინარეობს, წინააღმდეგ შემთხვევაში, რნმ-პოლიმერაზა განაგრძობს სტრუქტურული გენების ტრანსკრიფციის პროცესს. ამ მოვლენას *ატენუაცია* ეწოდება.

როგორც ვხედავთ, ატენუაციის დროს საქმე გვაქვს კონტროლის იმავე ტიპის მექანიზმებთან, რასაც ადგილი აქვს ოპერატორში. ტრიპტოფანის საკმარისი რაოდენობის დროს ოპერონი რეპრესირებულია და რნმ-პოლიმერაზა, რომელიც უკვე გადაადგილდა პრომოტორიდან, ატენუატორში ტრანსკრიფციის პროცესის დასრულებას განაპირობებს. ტრიპტოფანის მოცილების შემთხვევაში, რნმ-პოლიმერაზა თავისუფლად განაგრძობს ტრანსკრიფციის პროცესს და ნაადრევი ტერმინაცია აღარ ხდება.

გენების აქტივობის რეგულაცია ბაქტერიების ფაგებით ინდუქციის დროს

ბაქტერიული გენომის ფუნქციონირების ჩვეული სისტემა ირღვევა ფაგებით ინფიცირების დროს. ამ დროს მასპინძელი ბაქტერიის უჯრედში იქმნება პირობები ფაგური შთამომავლობის მისაღებად. ამ პროცესს ლითიური ციკლი (ბერძ. Lyticos - გათავისუფლების, გახსნის

უნარის მქონე) ეწოდება. ტიპური ლითიური ციკლის დროს ფაგური დნმ (ან რნმ) შეაღწევს ბაქტერიის უჯრედში, სადაც მიმდინარეობს ფაგის გენეტიკური მასალის რეპლიკაცია. წარმოიქმნება ფაგის ცილოვანი კომპონენტები და, საბოლოო ჯამში, ბაქტერიის უჯრედი განიცდის ლიზისს (იშლება), ხოლო ფაგური თაობა გამოთავისუფლდება.

არსებობს ისეთი ფაგებიც, რომლებისთვისაც დამახასიათებელია არსებობის ორი ფორმა. პირველი სქემის მიხედვით, ფაგების გამრავლება ჩვეულებრივი ლითიური ციკლით მიმდინარეობს, რაც უზრუნველყოფს ფაგური თაობის მრავალი ასლის ჩამოყალიბებას. მეორე სქემის მიხედვით კი, ბაქტერიის უჯრედში შეჭრილი ფაგური გენომი, შეიძლება, არსებობდეს ლატენტურ მდგომარეობაში. ფაგის ამ ფორმას პროფაგს უწოდებენ, ხოლო უჯრედის ასეთ მდგომარეობას - *ლიზოგენიას* (ბერძ. lysis - დაშლა genia - წარმოქმნა). ლიზოგენურ ბაქტერიებში პროფაგი ინტეგრირებულია ბაქტერიულ გენომთან და მისი დამემკვიდრება ისეთივე წესით მიმდინარეობს, როგორც დონორი ბაქტერიული გენებისა. ლიზოგენური ბაქტერია, მასში არსებული პროფაგის წყალობით, რეზისტენტული ხდება ნებისმიერი მსგავსი ტიპის ფაგით ინფიცირების მიმართ. ამდენად, ბაქტერიული გენომი შეიცავს ერთი ტიპის პროფაგის მხოლოდ ერთ ასლს.

ლიზოგენიასა და ლითიურ ციკლს შორის გადასვლები, შეიძლება, განხორციელდეს ნებისმიერი მიმართულებით. მაგალითად, თუ ლითიური ციკლის დროს წარმოქმნილი ფაგი შეიჭრა ახალი პატრონი ბაქტერიის უჯრედში, მას უნარი შესწევს, კვლავ გაიმეოროს ლითიური ციკლი ან გადავიდეს ლიზოგენურ მდგომარეობაში. არჩევანი ამ ორ მდგომარეობას შორის დამოკიდებულია ინფექციის პირობებსა და ფაგისა და ბაქტერიის გენოტიპზე. პროფაგის ლიზოგენური მდგომარეობიდან გამოყვანა სხვადასხვა ფაქტორით ინდუქციის გზით ხდება. ამ შემთხვევაში ის გამოეყოფა ბაქტერიის გენომს თავისუფალი დნმ-ის სახით და ამის შემდეგ ერთვება ლითიურ ციკლში.

ფაგების მიერ ბაქტერიის უჯრედის დასნებოვნება იწყება ფაგური ნაწილაკის ბაქტერიის უჯრედზე მიმაგრებით. როგორც წესი, ფაგი ბაქტერია-პატრონის უჯრედს იყენებს თავისი გენეტიკური მასალის

რეპროდუქციის მიზნით. ინფიცირებული პატრონის უჯრედში ბაქტერიის გენების ნაცვლად ფაგის გენები რეპლიცირდება. ეს პროცესი, შესაძლებელია, განვითარდეს ახალი დნმ-პოლიმერაზის ან რნმ-პოლიმერაზის ჩამოყალიბების გზით. ყველა შემთხვევაში შედეგი ერთია - ტრანსკრიბირდება ფაგის მ-რნმ. რაც შეეხება ცილოვან კაფსულას, რომელშიც უნდა შეიფუთოს ფაგის დნმ, ძირითადად ბაქტერიის მ-რნმ-ის ფაგის მ-რნმ-ით შეცვლის გზით წარიმართება.

ლითიური ციკლის დროს ფაგის ფუნქციების განხორციელება გარკვეული თანმიმდევრობით მიმდინარეობს. ის შეიძლება დავყოთ ორ ეტაპად: ადრეული ინფექცია, რომელიც მოიცავს პერიოდს ფაგის დნმ-ის პატრონ-უჯრედში შეჭრიდან რეპლიკაციის დაწყებამდე და გვიანი ინფექცია, რომელიც მოიცავს პერიოდს რეპლიკაციის დასაწყისიდან ბაქტერიის უჯრედის ლიზისითა და ფაგური თაობის გამოთავისუფლებით დამთავრებული.

ადრეული ფაზის დროს ინტენსიურად წარმოებს რეპლიკაციისათვის საჭირო ფერმენტების სინთეზი. ამ ფერმენტების ზემოქმედების შედეგად, უჯრედში გროვდება ფაგური გენომების დიდი რაოდენობა. ეს გენომები განუწყვეტელ რეპლიკაციებსა და რეკომბინაციებს ექვემდებარება.

გვიანი ფაზის დროს სინთეზირდება ფაგური ნაწილაკების ცილოვანი კაფსულები. იმ პერიოდისათვის, როცა ცილოვანი კომპონენტები წარმოქმნის ფაგის თავებსა და გამონაზარდებს, რეპლიკაციის პროცესი პიკს აღწევს. ამის შემდეგ ფაგური გენომი იფუთება ცილოვანი თავით, უერთდება გამონაზარდები, ხოლო ბაქტერიული უჯრედი განიცდის ლიზისს.

ლითიური ციკლი ექვემდებარება პოზიტიურ კონტროლს და მიმდინარეობს კასკადური რეგულაციის პრინციპით. ამ დროს გენომის ოპერონული სტრუქტურა მაქსიმალურად ორგანიზებულია და მსგავსი ფუნქციის მქონე ცილების მაკოდირებელი გენები დაჯგუფებულია იმგვარად, რომ გენეტიკური კონტროლი მაქსიმალურად ეკონომიურად წარიმართოს. გამომდინარე აქედან, ლითიური ციკლის მიმდინარეობისას რეგულატორული გადართვების რიცხვი მინიმუმამდეა დაყვანილი.

პატრონი უჯრედის მეშვეობით ფაგური გენების მხოლოდ მცირე რაოდენობის გამოვლინებაა შესაძლებელი. ამ გენების პრომოტორი, როგორც წესი, მსგავსია. გენების ამ კლასს, უმეტეს შემთხვევაში, ადრეულ გენებს უწოდებენ, ხოლო ფაგი ლამბდას შემთხვევაში - პრეადრეულს, ან წინადრეულს. ეს გენები აკონტროლებს ადრეული პერიოდის დასაწყისს ან მხოლოდ გარდამავალ ეტაპს. ყველა შემთხვევაში, ამ კლასის ერთ-ერთი გენი აუცილებლად აკოდირებს გენების ახალი კლასის ტრანსკრიბირებისათვის აუცილებელ ცილას.

გენების მეორე კლასს დაგვიანებულ ადრეულ ან შუალედურს უწოდებენ. ამ გენების ფუნქციონირება, როგორც სახელწოდებიდანაც ჩანს, იწყება ადრეულ პერიოდში, როგორც კი აეწყობა რეგულატორული ცილა. ამ სტადიაზე ადრეული გენები ან აგრძელებს ფუნქციონირებას, ან გამოირთვება ფაგის გენომის მაკონტროლებელი სისტემის თავისებურების მიხედვით. მოცემულ ეტაპზე ბაქტერიის გენების ფუნქციონირება შესუსტებულია. ყველა შემთხვევაში, გენების ეს ორი კლასი მონაწილეობს ფაგის ყველა ფუნქციის განხორციელებაში, ცილოვანი კაფსულის აწყობისა და უჯრედის ლიზისის გარდა.

ფაგის დნმ-ის რეპლიკაციის დაწყების შემდეგ (რაც ადრეული გენების ფუნქციონირების შედეგია) მოქმედებას იწყებს, ე.წ. გვიანი გენები. მათი ტრანსკრიფციის დასაწყისს განაპირობებს მეორე კლასის (დაგვიანებული ადრეული ან შუალედური) გენებში შემავალი, უკვე სხვა რეგულატორული გენი.

როგორც ვხედავთ, ლითიური ციკლის კონტროლი თანმიმდევრულად წარიმართება. გენების ყოველ კლასში შედის რეგულატორული გენი, რომელიც გენების შემდეგი რიგის ამოქმედებას უზრუნველყოფს, ანუ მოქმედებს გენების რეგულაციის კასკადური პრინციპი. ამ დროს გენების გარკვეული ჯგუფის ჩართვა (შესაძლებელია გამორთვაც) ხორციელდება გარკვეული თანამიმდევრობით. ლითიური ციკლის კასკადური რეგულაციის პრინციპი ფაგური გენომისათვის დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს, თუმცა, ყველა კონკრეტულ შემთხვევაში, შესაძლებელია, განსხვავებული აღმოჩნდეს რეგულაციის დეტალები.

ფაგის ლიზოგენურ მდგომარეობას უზრუნველყოფს ცილა-რეპრესორის არსეობობა, რომელიც უკავშირდება პრომოტორს და აბრკოლებს ლითიური ციკლის ინიციაციას. ლითიური ციკლის რეპრესია კი ფაგის ინერტულ მდგომარეობაში შენარჩუნებას განაპირობებს. თუ ლიზოგენურ უჯრედში შეაღწევს სხვა, მისი მსგავსი ფაგის დნმ-ის მოლეკულა, პირველი ფაგის მიერ გამომუშავებული ცილა-რეპრესორი უკავშირდება ახალი ფაგის გენომის ოპერატორს, რაც უზრუნველყოფს მის გადაყვანას ლიზოგენურ მდგომარეობაში. ამიტომ, ლიზოგენური ბაქტერიები იმუნური ხდება მსგავსი ტიპის სხვა ფაგების ინფექციური ზემოქმედების მიმართ.

ლიზოგენური მდგომარეობიდან ლითიურ ციკლში გადასვლა კი მაშინ ხდება, როცა ირღვევა ლიზოგენური სისტემა და რეპრესორი ინაქტივირდება.

6.2. გენის ექსპრესიის რეგულაცია ევკარიოტებში

მაღალგანვითარებული ევკარიოტული ორგანიზმების დიფერენცირებულ უჯრედებს აქვს სპეციფიკური სტრუქტურა და, ხშირად, სპეციალიზებული ბიოლოგიური ფუნქცია, რაც მათი გენების რეგულირებადი ექსპრესიით არის დეტერმინირებული. მაგალითად, პრეპროინსულინის გენს შეიცავს ადამიანის ყველა უჯრედის ბირთვი, მაგრამ პრეპროინსულინი მოლოდ პანკრეასის β-უჯრედებში სინთეზირდება. ევკარიოტების უჯრედების დიფერენციაციის და ფუნქციების სპეციალიზაციის საფუძველს გენის ექსპრესიის რეგულაციის რთული მექანიზმები წარმოადგენს.

ევკარიოტული გენომის ფუნქციონირების მექანიზმებში წვდომისათვის, აუცილებელია, გაირკვეს, როგორ ახერხებს ევკარიოტული გენომი, ერთი ტიპის უჯრედში გენების განსაზღვრული ნაკრების ექსპრესია განახორციელოს, ხოლო მეორე ტიპის უჯრედში - სხვა გენებისა. ევკარიოტული გენომი გაცილებით რთულადაა ორგანიზებული და გენების ექსპრესიის რეგულაციის მექანიზმებიც გაცილებით რთულადაა

მოწყობილი, ვიდრე პროკარიოტულ გენომში. ევკარიოტული გენების ექსპრესია არ გულისხმობს გამოუყენებელი გენეტიკური ინფორმაციის ელიმინაციას. გენის ექსპრესიის რეგულაცია, საჭირო გენების სპეციფიკური ლოკუსების აქტივაციითა და სხვა, მოცემული უჯრედისათვის არასაჭირო გენების რეპრესიით ხდება. აქტიური და რეპრესირებული გენების ბალანსი ორგანიზმისთვის აუცილებელია, რადგან ნორმალური სტრუქტურის გენების არადროული ან ანომალური ექსპრესია, ხშირად, იწვევს ფენოტიპურ ანომალიებს ან სიკვდილს.

ამჟამად ცნობილია რამდენიმე ფაქტორი, რომლებიც განაპირობებს ევკარიოტულ გენომში გენის ექსპრესიის უფრო რთულ რეგულაციას:

- ევკარიოტული გენომი გაცილებით მეტ დნმ-ს შეიცავს, ვიდრე პროკარიოტული. ამასთან, ევკარიოტებში დნმ ჰისტონურ ცილებთან კომპლექსში წარმოქმნის ქრომატინს. ქრომატინის შემადგენელი დნმ ტრანსკრიბირდება მხოლოდ დეკონდენსირებულ მდგომარეობაში. მაშასადამე, დნმ-ის დეკონდესაციის პროცესი უზრუნველყოფს ტრანსკრიფციის რეგულაციას;
- ევკარიოტებში ტრანსკრიფციის და ტრანსლაციის პროცესები გამიჯნულია ერთმანეთისგან, როგორც დროში ასევე სივრცობრივად. დნმ-ში ჩაწერილი ინფორმაცია ჯერ მ-რნმ-ის მოლეკულად ტრანსკრიბირდება, შემდეგ ის ტრანსპორტირდება ციტოპლაზმაში და მხოლოდ ამის შემდეგ ხდება მისი ტრანსლაცია;
- ციტოპლაზმაში ტრანსპორტირებამდე ხდება ევკარიოტული გენების ტრანსკრიფტების მომწიფება და დამოკლება;
- ევკარიოტული მ-რნმ-ის სიცოცხლის ხანგრძლივობა გაცილებით მეტია პროკარიოტულთან შედარებით. ტრანსკრიფციის პროცესის დასრულების შემდეგ პროკარიოტული მ-რნმ რამდენიმე წუთში იშლება და ცილის სინთეზი წყდება, ევკარიოტული მ-რნმ უჯრედში გაცილებით დიდხანს რჩება;
- ევკარიოტული ორგანიზმების დიფერენცირებული უჯრედების უმეტესობას სპეციალიზებული ბიოლოგიური ფუნქცია აქვს. ამ უჯრედებში განსხვავებული ცილების სინთეზი ხდება, მიუხედავად იმისა, რომ მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების ყოველი უჯრედი გენების ერთნაირ კრებულს შეიცავს.

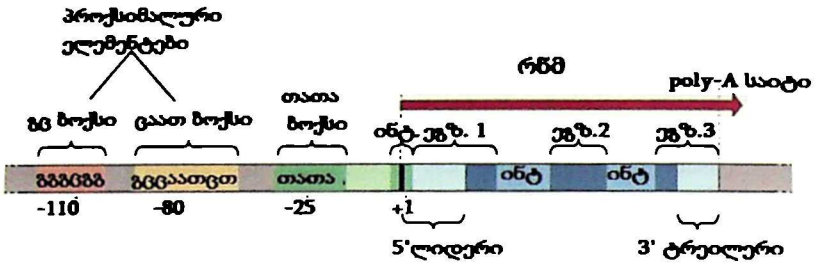
ჩამოთვლილი და, ასევე, მთელი რიგი სხვა ფაქტორებიდან გამომდინარე, ევკარიოტული გენომის ექსპრესიის რეგულაცია წარმოებს ტრანსკრიფციის, პოსტტრანსკრიფციულ (პირველადი ტრანსკრიფტის პროცესინგისა და სპლაისინგის), მ-რნმ-ის ციტოპლაზმაში ტრანსპორტირების, ტრანსლაციისთვის მ-რნმ-ის შერჩევის და გენების ცილოვანი პროდუქტების პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციის ეტაპებზე.

რეგულატორული ელემენტები, ტრანსკრიფციის ფაქტორები და სტრუქტურული გენები

ევკარიოტული გენების ფუნქციონირების რეგულაციას რამდენიმე რეგულატორული ელემენტი აკონტროლებს. რეგულატორული უბნები, შესაძლოა, განლაგებული იყოს გენის შიგნით - მიმდებარედ ან გარკვეულად დაცილებული იყოს მათგან. ისინი ურთიერთქმედებს სპეციფიკურ ცილებთან - ტრანსკრიფციის ფაქტორებთან, რომლებიც რეგულატორული უბნების მოდულირებას ახდენს და, საბოლოო ჯამში, გენის ექსპრესიის კონტროლს ახორციელებს. რეგულატორული ელემენტების სტრუქტურას ტრანსკრიფციის მექანიზმების განხილვისას ჩვენ გარკვეულწილად უკვე შევეხეთ (იხ. თავი 5.6 - ტრანსკრიფციის რეგულატორული თანამიმდევრობები). ამჯერად განვიხილავთ მხოლოდ მათ როლს გენის ექსპრესიის ეტაპობრივი რეგულაციის პროცესში.

ევკარიოტული გენების პრომოტორი

ევკარიოტული პრომოტორები, პროკარიოტულის მსგავსად, *ცის*-მოქმედ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს შეიცავს. ეს უბნები რნმ-პოლიმერაზების ან მათი დამაკავშირებელი საიტების ამოცნობას ემსახურება. პრომოტორებში გენის ტრანსკრიფციის ინიციირება ხდება და იმ გენების მიმდებარე უბნებში არის განლაგებული, რომელთა ექსპრესიის რეგულაციასაც ემსახურება (სურ. 6.1). პრომოტორის 5'-ბოლოზე განლაგებულია 100 ნ.წ. სიგრძის კოდირებადი თანამიმდევრობა.



სურ. 6.6. ევკარიოტული პრომოტორის სტრუქტურა

პრომოტორის შიგნით, ტრანსკრიფციის სასტარტო წერტილიდან დაახლოებით -25 -30 პოზიციაში, განლაგებულია კონსენსუსური ***თათა-ბოქსი***. მისი როლი ტრანსკრიფციის რეგულაციის პროცესში გამოვლენილი იქნა ამ თანამიმდევრობის შიგნით განხორციელებული მუტაციების საფუძველზე. ეს მუტაციები იწვევს ტრანსკრიფციის ეფექტურობის მკვეთრ დაქვეითებას.

ევკარიოტული ტრანსკრიფციული გენების ინიციაციის რეგულაციაში მონაწილეობს, აგრეთვე, სხვა თანამიმდევრობებიც. ერთ-ერთი მათგანი - ***CAAT -ბოქსი*** შეიცავს ***CAAT*** ან ***CCAAT*** კონსენსუსურ თანამიმდევრობას და ლოკალიზებულია სასტარტო წერტილიდან -70-80 პოზიციაში. ***CAAT***-ბოქსში განხორციელებული მუტაციები, ასევე, იწვევს ტრანსკრიფციის ეფექტურობის შემცირებას.

პრომოტორის ყველაზე პროქსიმალურ კონსენსუსურ თანამიმდევრობას წარმოადგენს ***GC-ბოქსი***, რომელიც ლოკალიზებულია -110 პოზიციაში და წარმოდგენილია ***GGGCGG*** თანამიმდევრობით. ევკარიოტული გენომი ამ ელემენტის მრავალრიცხოვან ასლს შეიცავს, რომელთა გავლენა ტრანსკრიფციის რეგულაციაზე, ასევე, მუტაციური ანალიზით არის დადასტურებული.

სხვადასხვა გენის პრომოტორები, ხშირად, ერთმანეთისგან კონსენსუსური თანამიმდევრობის რაოდენობითა და განლაგებით განსხვავდება.

გამაძლიერებლები, შემასუსტებლები და იზოლატორები

ევკარიოტული გენების აბსოლუტური უმრავლესობის ექსპრესიის ტრანსკრიფციული ეტაპის რეგულაციაში მონაწილეობს რეგულატორული ელემენტები, რომლებსაც **გამაძლიერებლებს** (ინგლ. enhancer) უწოდებენ. გამაძლიერებელი, *cis*-მოქმედ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას წარმოადგენს, რომლიც აძლიერებს გენის ექსპრესიას და აკონტროლებს ტრანსკრიფციის სისწრაფეს და ეფექტურობას.

გამაძლიერებელი უბანი, რიგი თავისებურებებით ხასიათდება:

- არ გააჩნია ფიქსირებული პოზიცია. შეიძლება, ლოკალიზებული იყოს გენის, როგორც 5'-, ისე 3'- ბოლოებზე;
- უმეტესად, სამიზნე გენიდან 50 ნ.წ.-ით არის დაცილებული;
- ერთსა და იმავე გამაძლიერებელს სხვადასხვა გენის აქტივაცია შეუძლია;
- გამაძლიერებლის ზემოქმედება შესაძლოა იყოს ქსოვილ- ან სახეობასპეციფიკური.

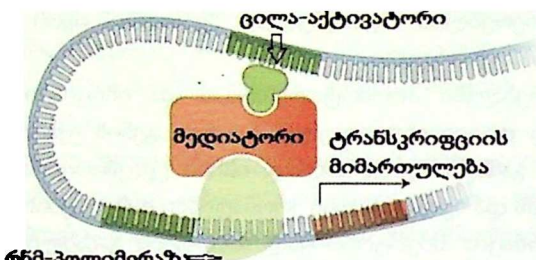
გამაძლიერებლები პრომოტორებისგან და ინიციაციის საიტიდან სივრცობრივად დაცილებული ელემენტებია. გენის ექსპრესიაზე მათი ზემოქმედების განსახორციელებლად, ისინი უკავშირდება ტრანსკრიფციის ფაქტორებს და ხელს უწყობს ქრომატინში მარყუჟების ფორმირებას. ასეთი კონფორმაცია სივრცობრივად აახლოებს გამაძლიერებელსა და პრომოტორს (სურ. 6.7). წარმოქმნილი აქტიური კომპლექსი, ახდენს რა ზეგავლენას ტრანსკრიფციის პროცესზე, იწვევს ტრანსკრიფციის ეფექტურობისა და სიჩქარის გაზრდას.

შემასუსტებლები (ინგლ. silencer) ევკარიოტული გენის ექსპრესიას ტრანსკრიფციის პროცესის შესუსტებით არეგულირებს. ისევე, როგორც გამაძლიერებლები, შემასუსტებელი თანამიმდევრობა *cis*-რეგულატორული ელემენტია და საკმაოდ დიდ მანძილზე შეუძლია სამიზნე გენზე ზემოქმედება.

გენის ექსპრესიის კონტროლში მონაწილეობს კიდევ ერთი რეგულატორული ელემენტი – ***იზოლატორი*** (ინგლ. insulater). მის გარეშე გამაძლიერებელ რეგულატორულ ელემენტს შესაძლებლობა ექნებოდა, დაკავშირებოდა ნებისმიერ, თუნდაც, ძალიან დაცილებულ პრომოტორს. ამასთან, ყოველი კონკრეტული პრომოტორი გენომში გაბნეული გამაძ-

ლიერებლის განუსაზღვრელი რაოდენობის კონტროლის ქვეშ აღმოჩნდებოდა. იზოლატორის ფუნქციას წარმოადგენს გამაძლიერებელსა და არასასურველ პრომოტორს შორის ურთიერთქმედების შეზღუდვა, რაც მეზობელი გენების იზოლირებას განაპირობებს. მხოლოდ ორ იზოლატორს შორის არსებულ გამაძლიერებელ თანამიმდევრობას შეუძლია პრომოტორთან დასაახლოებლად მარუჟის წარმოქმნა და ტრანსკრიფციის აქტივაცია.





სურ. 6.7. გამაძლიერებელი ელემენტის ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმის სქემა

ტრანსკრიფციის ფაქტორები

ევკარიოტული გენის ექსპრესიის რეგულაცია საკმაოდ რთული პროცესია, რომელშიც მონაწილეობს მრავალი ცილა. მათ ტრანსკრიფციის ფაქტორებს TF (ინგლ. Transcription Factores) უწოდებენ. ტრანსკრიფციის ფაქტორები გენის ექსპრესიის ადგილს, დროსა და დონეს აკონტროლებს. მათი ფუნქციონირების მექანიზმები უფრო დეტალურადაა განხილული ტრანსკრიფციის მექანიზმების აღწერისას (იხ. თავი 5.6 - გენის ექსპრესიის მოლეკულური მექანიზმები).

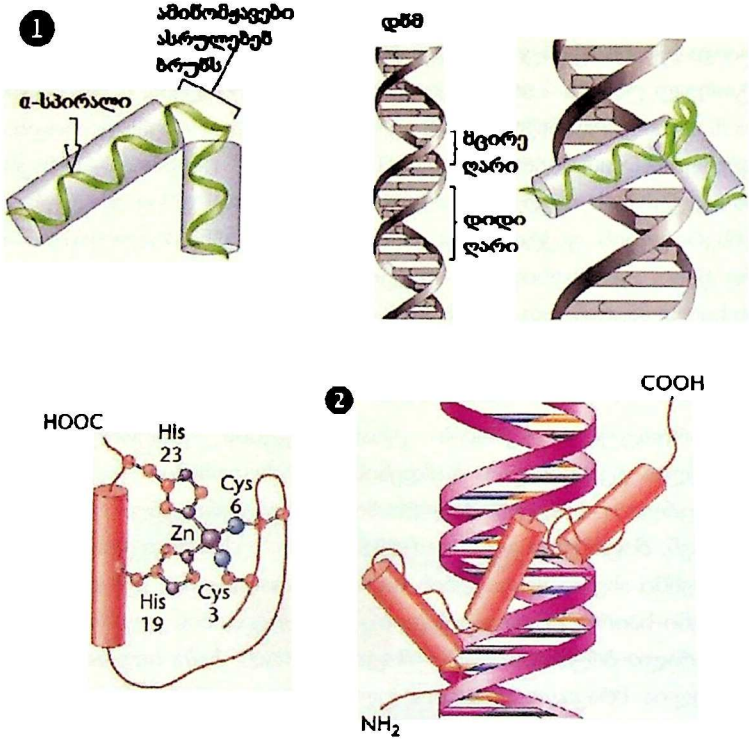
ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს აქვს ორი დომენი - დნმ-დამაკავშირებელი და ტრანს-აქტიური დომენები. პირველი უკავშირდება გენის რეგულატორულ უბნებს - პრომოტორებს, გამაძლიერებლებს, იზოლატორებს და ა.შ. მეორე, ტრანსკრიფციის აქტივაციას აკატალიზებს ცილოვან მოლეკულებთან ურთიერთქმედების მეშვეობით. მაგალითად, ტრანსკრიფციის ფაქტორის ფუნქციურ დომენს შეუძლია, დაუკავშირდეს სხვა ტრანსკრიფციის ფაქტორს და პრომოტორს ან რნმ-პოლიმერაზას. როგორც წესი, ტრანსკრიფციის ფაქტორები პოზიტიურ რეგულაციას უწყობს ხელს, მაგრამ მათ შორის არის ტრანსკრიფციის რეპრესორებიც.

ტრანსკრიფციის ფაქტორების სტრუქტურული მოტივები

ევკარიოტული გენომის ტრანსკრიფციის ფაქტორები დნმ-ის მოლეკულას უკავშირდება რამდენიმე ტიპის დომენით. ყველა მათგანს განსაზღვრული სამგანზომილებიანი სტრუქტურა, ანუ, როგორც მათ უწოდებენ, ***მოტივი*** (ინგლ. motif) აქვს. ყველაზე ხშირად ტრანსკრიფციის ფაქტორებში ასეთი მოტივების სამი ძირითადი ტიპი გვხვდება: სპირალი-ბრუნი-სპირალი, თუთიის თითები და ლეიცინის ელვა (შესაკრავი).

სპირალი-ბრუნი-სპირალი მოტივი (ინგლ. helix-turn-helix) დამახასიათებელია მრავალი ევკარიოტული დნმ-დაკავშირებადი ცილებისთვის. ორი მეზობელი α-სპირალი განცალკევებულია რამდენიმე ამინომჟავასაგან შემდგარი „ბრუნით“, რაც ცილას საშუალებას აძლევს დნმ-ის მოლეკულას დაუკავშირდეს (სურ. 6.8-1).

თუთიის თითები (ინგლ. zinc finger) ევკარიოტების ტრანსკრიფციის ფაქტორების დიდი ჯგუფია, რომლებიც გენის ექსპრესიის რეგულაციაში მონაწილეობს. ეს სტრუქტურები პირველად აღმოჩენილ იქნა ბაყაყის *(Xenopus leavis)* გენომში, შემდეგ პროონკოგენების შედგენილობაში, დროზოფილას ზრდისა და დიფერენცირების პროცესებზე პასუხისმგებელ გენებში და ა.შ.



სურ. 6.8. ტრანსკრიფციის ფაქტორების სტრუქტურული მოტივები.
1-სპირალი-ბრუნი-სპირალი;
2- თუთიის თითები;
3-ლეიცინის ელვა (შესაკრავი)

ამ ტიპის მოტივი შეიცავს ორი ცისტეინისა და ორი ჰისტიდინისაგან შემდგარ განმეორებებს. სივრცობრივად დაცილებული ცისტეინი და ორი ჰისტიდინი კოვალენტურად უკავშირდება თუთიის ატომებს და ე.წ. „თუთიის თითების“ სტრუქტურას წარმოქმნის. ასეთ სტრუქტურაში შემავალ ამინომჟავებს შეუძლია დაუკავშირდეს დნმ-ის სპეციფიკურ თანამიმდევრობებთან (სურ. 6.8-2). ცნობილია, რომ „თუთიის თითები“ ურთიერთქმედებს დნმ-ის დიდ ღართან და იწვევს მის ნაწილობრივ გახსნას. დიდი ღარის შიგნით „თითები“ წყალბადურ ბმებს წარმოქმნის გუანინით მდიდარ უბნებთან. ტრანსკრიფციის ფაქტორები, დაახლოებით, 12-13 „თუთიის თითს“ შეიცავს.

მესამე ტიპის მოტივი არის *ლეიცინის ელვა (შესაკრავი) bZIP (ინგლ. Basic Leucine Zipper).* პირველად იგი იდენტიფიცირებულ იქნა ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების ბირთვის გენომში. ამ სტრუქტურაში ლეიცინით მდიდარი თანამიმდევრობებისგან სპირალის ფორმირება ხდება, რომლის ყოველ ხვიაზე ლეიცინის ნაშთია გამოშვერილი. ორი ასეთი სპირალის დიმერიზაციით წარმოიქმნება ელვა-შესაკრავის მსგავსი სტრუქტურა ლეიცინის კბილანებით (სურ. 6.8-3).

დნმ-დაკავშირებადი დომენებისგან დაცილებით, ტრანსკრიფციის ფაქტორები შეიცავს ტრანსკრიფციის გამააქტიურებელ საიტებსაც. ეს საიტები წარმოდგენილია 30-100 ამინომჟავური თანამიმდევრობით და შეუძლია ტრანსკრიფციის სხვა ფაქტორებთან დაკავშირება, მაგალითად, *თათა*-ბოქსთან დაკავშირებად ფაქტორს ან რნმ-პოლიმერაზებს.

გენის ექსპრესიის პოსტტრანსკრიფციული რეგულაცია

გენის ექსპრესიის კონტროლი პოსტტრანსკრიფციულ ეტაპზე ალტერნატიული სპლაისინგის გზით რეგულირდება. ალტერნატიული სპლაისინგის მოლეკულური მექანიზმები აღწერილია პროცესინგის განხილვის დროს (იხ. თავი 5.7 - პროცესინგი).

ალტერნატიული სპლაისინგის რეაქციების შედეგად ერთი გენის ექსპრესია განაპირობებს რნმ-ის მოლეკულების განსხვავებული ფორმების და, შესაბამისად, მის მიერ კოდირებული ცილის მოლეკულების დიდ ცვალებადობას.

დნმ-ის მეთილირება და მისი როლი გენის ექსპრესიის რეგულაციაში

მეთილირება წარმოადგენს დნმ-ის მოლეკულის კოვალენტურ მოდიფიკაციას, რომელიც S-ადენოზილმეთიონინიდან ციტოზინის რგოლზე მეთილის ჯგუფის გადატანით ხდება. მეთილირილებული დნმ ნაპოვნია ევოლუციური განვითარების სხვდასხვა დონეზე მყოფ თითქმის ყველა შესწავლილ ორგანიზმში, იშვიათი გამონაკლისების გარდა.

პროკარიოტებში მეთილირებას ექვემდებარება, აგრეთვე, ადენინის ფუძეც. დნმ-ის მეთილირება პროკარიოტებში გენომის ფუნქციური ორგანიზაციის და რეპლიკაციის რეაქციების სიზუსტეს უწყობს ხელს. აღსანიშნავია, რომ ბაქტერიების დნმ-ის მეთილირება დამატებით ფუნქციას ასრულებს, რომელიც უცხო დნმ-ის ამოცნობაში მდგომარეობს. უცხო, მეთილირებული დნმ ამოიცნობა რესტრიქციული ენდონუკლეაზების მიერ, რომლებიც ჭრის და ანადგურებს მას.

ევკარიოტულ გენომში მხოლოდ მეთილირებული ციტოზინი გვხვდება. მეთილირების რეაქციას იმ შემთხვევაში აქვს ადგილი, თუ ციტოზინის გვერდით გუანინის ფუძეა განლაგებული (CpG). რეაქცია კატალიზდება ფერმენტ მეთილტრანსფერაზით (ფკ. 2.1.1.). მისი ზემოქმედებით, ციტოზინსა და გუანინს შორის წყალბადური ბმები წყდება და მეთილის ჯგუფი უერთდება ციტოზინს. ამის რეაქციის შემდეგ ციტოზინის ადგილს იკავებს მეთილციტოზინი, რომელიც წყალბადური ბმებით უკავშირდება კომპლემენტურ გუანინს. მეთილირებული დნმ-ის რეპლიკაციის შედეგად მიიღება ნახევრად მეთილირებული დნმ, სადაც ერთი ჯაჭვი მეთილირებული იქნება, ხოლო მეორე - არამეთილირებული. ნახევრად მეთილირებული დნმ კვლავ ექვემდებარება მეთილტრანსფერაზის ზემოქმედებას. დნმ-ის მეთილირება მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გენის ექსპრესიის რეგულაციაში.

მეთილირებული ციტოზინი (მეთილციტოზინი) წარმოადგენს ევკარიოტული დნმ-ის მე-5 აზოტოვან ფუძეს. დადგენილია, რომ მეთილციტოზინი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ევკარიოტული გენომის ფუნქციურ ორგანიზაციაში და რეპრესორის ფუნქციას ასრულებს გენის ექსპრესიის რეგულაციაში. ჩვეულებრივ, გენის მეთილირებული უბნები ევკარიოტულ გენომში არ ტრანსკრიბირდება. დნმ-ის დემეთილირება წარმოადგენს გენის ტრანსკრიფციული აქტივობის აუცილებელ პირობას.

ვინაიდან მეთილირება შექცევადი პროცესია და არ არის დამოკიდებული დნმ-ის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობაზე, ის მიჩნეულია გენის ექსპრესიის ეპიგენეტიკურ მექანიზმად.

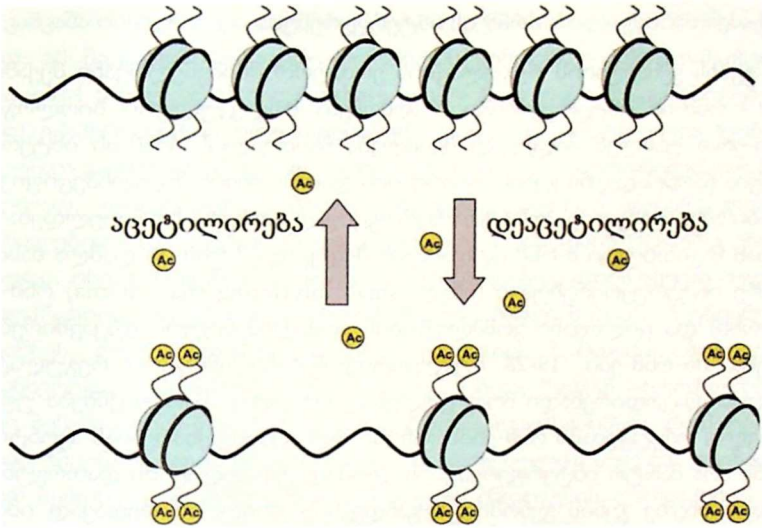
გენომის ნორმალური ფუნქციონირებისათვის არანაკლებ მნიშვნელოვანია CpG დინუკლეოტიდების გადანაწილება გენში. ფიქრობენ, რომ ევოლუციის პროცესში CpG თანამიმდევრობების უმეტესობა გენომში დაიკარგა მეთილციტოზინის დეზამინირებისა და თიმინად გარდაქმნის გამო. ამიტომ, მათი რაოდენობა ევკარიოტულ გენომში მოსალოდნელზე ნაკლებია, თუმცა, ევკარიოტული გენომის გარკვეულ უბნებში შენარჩუნებულია CpG დინუკლეოტიდების მაღალი შემცველობა. ამ უბნებს CpG კუნძულებს უწოდებენ. შედარებით ხშირად, CpG კუნძულები გვხვდება გენების 5'-რეგულირებად უბნებში. ფიქრობენ, რომ აქტიური გენების რეგულატორული უბნები მეთილირებას არ ექვემდებარებოდა და ევოლუციის პროცესში გადაურჩა ციტოზინის თიმინით ჩანაცვლების პროცესებს. მაგალითად, ადამიანის გენომის 70-80%-ის CpG დინუკლეოტიდები მეთილირებულია. ეს უბნები ტიპურია არატრანსკრიბირებადი ჰეტეროქრომატინული უბნებისათვის. როგორც წესი, პრომოტორში CpG დინუკლეოტიდების შემცველობა გენის ტრანსკრიფციულ აქტივობას ასახავს. აქტიურად ტრანსკრიბირებადი გენების პრომოტორებში ისინი არამეთილირებულია, ხოლო არაექსპრესირებადი გენების პრომოტორებში - მეთილირებული.

ქრომატინის კონფორმაციული ცვლილებები და გენების ექსპრესია

ევკარიოტული გენომის ბირთვის ქრომატინის ნუკლეოპროტეინული კომპლექსი მაღალი კონდენსაციის გამო მიუწვდომელია ტრანსკრიფციის ფაქტორებისთვის და, ამდენად, ფუნქციურად არააქტიურია. გენების აქტივაციისთვის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ქრომატინის კონფორმაციული ცვლილებები. ქრომატინის რეკონსტრუქციის შედეგად, ნუკლეოსომის სტრუქტურაში შემავალი დნმ თავისუფლდება ჰისტონებისაგან. ტრანსკრიფციულ ფაქტორებსა და რნმ-პოლიმერაზას საშუალება ეძლევათ, დაუკავშირდნენ მას და განახორციელონ გენების ექსპრესია.

კონდენსირებულ ქრომატინში ნუკლეოსომების დაშლას სპეციალიზებული ცილები წარმართავს. მაგალითად, საფუვრებში რამდენიმე ასეთი ცილაა ცნობილი. ეს ცილები ერთი დიდი კომპლექსის შედგენილობაში შედის და ნუკლეოსომებიდან ჰისტონების განდევნის გზით ტრანსკრიფციის პროცესის განხორციელებას უწყობს ხელს. მსგავსი კომპლექსები სხვა ევკარიოტულ გენომებშიც არის ნაპოვნი.

ევკარიოტულ გენომში გენების აქტივაციის სხვა მექანიზმებიც მოქმედებს, რომლებიც ჰისტონური ცილების მოდიფიკაციურ ცვლილებებთან არის დაკავშირებული. ჰისტონების მოდიფიკაციური გარდაქმნები წარმოებს აცეტილირების ან მეთილირების რეაქციებით. ამ რეაქციებს აკატალიზებს ტრანსფერაზების კლასის ფერმენტები. ცნობილია, რომ შედარებით აქტიურად ტრანსკრიბირებადი ქრომატინის ჰისტონები ჰიპერაცეტილირებულია. იმისთვის, რომ ტრანსკრიფციის ფაქტორებმა შეძლოს, დაუკავშირდეს დნმ-ს და განახორციელოს ტრანსკრიფციის პროცესი, საჭიროა დნმ-ისა და ჰისტონებს შორის არსებული კავშირის შესუსტება. ამ მიზნით, უჯრედში სპეციალური ფერმენტები - აცეტილტრანსფერაზები (ფკ. 2.3.) ჰისტონების N-ბოლოზე განლაგებული ლიზინის აცეტილირებას ახდენს (სურ. 6.9). ეს იწვევს დადებითი მუხტის ნეიტრალიზებას, რაც, თავის მხრივ, ასუსტებს დნმ-ჰისტონურ კავშირს, იწვევს ნუკლეოსომის დეკომპაქტიზაციას და დნმ-ის მოლეკულა მისაწვდომი ხდება ტრანსკრიფციის ფაქტორებისთვის. გენის აქტივობის რეგულაციაზე საპირისპიროდ მოქმედებს ჰისტონების დეაცეტილირება. ამ პროცესს ფერმენტი დეაცეტილაზა აკატალიზებს. დეაცეტილირებისას, პირიქით, გენის ტრანსკრიფციული აქტივობა რეპრესირდება. მაშასადამე, ჰისტონების მოდიფიკაციური ცვლილებები გავლენას ახდენს ქრომატინის კონდენსაცია-დეკონდენსაციაზე. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით, 2000 წელს *ბრიან სტრალისა და დევიდ ელისის (Brian D.Strahl, David Allis)* მიერ შემოთავაზებული იქნა „ჰისტონური კოდის“ ჰიპოთეზა, რომლის თანახმად, ჰისტონების მოდიფიკაციებში, შესაძლოა, კოდირებული იყოს მოცემული გენის ტრანსკრიფციის ეფექტურობა.



სურ. 6.9. ჰისტონური ცილების აცეტილირებით გამოწვეული მოდიფიკაციური ცვლილებები

ჰისტონების მოდიფიკაციის კიდევ ერთ სახეს მეთილირება წარმოადგენს. მოდიფიკაციის ეს ტიპი შედარებით ნაკლებადაა შესწავლილი. ცნობილია, რომ მეთილირების რეაქციებს ექვემდებარება ლიზინისა და არგინინის ნაშთები. მეთილირების რეაქციებს ფერმენტი მეთილტრანსფერაზა (ფკ. 2.1.1.) აკატალიზებს. ამასთან, ლიზინი შეიძლება იყოს მონო-, დი- ან ტრიმეთილირებული, ხოლო არგინინი მონო- ან დიმეთილირებული. აცეტილირებისგან განსხვავებით, მეთილირებული ჰისტონები დემეთილირებას არ ექვემდებარება. ცნობილია მეთილირების არაერთგვაროვანი, ზოგჯერ ურთიერთგამომრიცხავი ზეგავლენა გენის ექსპრესიის რეგულაციის პროცესებზე. მაგალითად, H3 ჰისტონის მე-9 არგინინის (K9) მეთილირება ქრომატინის კონდენსაციასა და ტრანსკრიფციის დათრგუნვას იწვევს. H3 ჰისტონის (K3) დიმეთილირება საფუვრების პრომოტორის რეპრესიას, ხოლო ტრიმეთილირება აქტივაციას განაპირობებს.

რნმ-ის ინტერფერენცია

გენის ექსპრესიის რეგულაციის ერთ-ერთ მნიშვნელოვანი მექანიზმის - რნმ-ის ინტერფერენციის აღმოჩენა მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთ უახლეს მიღწევად შეიძლება ჩაითვალოს. რნმ-ის ინტერფერენცია წარმოადგენს გენის ექსპრესიის დათრგუნვის მაღალსპეციფიკურ მექანიზმს, რომელიც პოსტტრანსკრიფციულ დონეზე ხორციელდება გენიდან წაკითხული მ-რნმ-ის დაშლის შედეგად. მ-რნმ-ის დაშლა მასთან მცირე ინტერფერირებული (ინგლ. small interfering rna - si rna) რნმ-ისა (მი-რნმ) და ცილოვანი კომპლექსების კომპლემენტური დაკავშირებით ხდება. მი-რნმ-ები, 19-28 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი რეგულატორული, არაკოდირებადი მოლეკულებია, რომელიც წარმოიქმნება უფრო გრძელი, ორჯაჭვიანი რნმ-ებისაგან. მი-რნმ გენის ექსპრესიას აკონტროლებს არა მარტო ინტერფერენციის, არამედ ტრანსლაციის დათრგუნვის ან სამიზნეზე გენის გენომიდან განდევნის გზით. მიუხედავად იმისა, რომ ზოგიერთი მი-რნმ-ის ფუნქცია ჯერ კიდევ შეუსწავლელია, არსებობს მოსაზრება, რომ ისინი ძირითადად უჯრედის გენომის მობილური ელემენტებისაგან (ვირუსები, ტრანსპოზონები) დაცვას უწყობს ხელს. ფიქრობენ, რომ მცირე რნმ-ები მონაწილეობს მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების დიფერენციაციის რეგულირების პროცესში.

ინტერფერირებული რნმ აღმოჩენილია ერთუჯრედიანებში, უდაბლეს სოკოებში, მცენარეებსა და ხერხემლიანებში, თაგვისა და ადამიანის ჩათვლით, რაც ცოცხალ სამყაროში ინტერფერენციის მექანიზმის კონსერვატიულობასა და მნიშვნელობაზე მიუთითებს.

ინტერფერენციის მოვლენის აღმოჩენის ისტორია

უჯრედში მცირე ინტერფერირებული რნმ-ების არსებობა დაახლოებით სამი ათეული წელია, რაც ცნობილია, მაგრამ თავდაპირველად მათ სხვა ტიპის რნმ-ის დეგრადაციის პროდუქტად თვლიდნენ და მეცნიერები დიდ მნიშვნელობას არ ანიჭებდნენ. რნმ-ის ინტერფერენციის მოვლენის აღმოჩენის შემდეგ ნათელი გახდა, რომ მი-რნმ-ის მოლეკულები ასრულებს წამყვან როლს ევკარიოტული ორგანიზმების განვითარებაში.

ყველაფერი კი იმით დაიწყო, რომ 1990 წელს *რიჩარდ იორგენსენისა (Richard Jorgensen)* და მისი თანამშრომლების მიერ ჩატარდა ექსპერიმენ-

ტი კაშკაშა იისფერი ყვავილების მქონე პეტუნიას ახალი ჯიშის შესაქმნელად. ამ მცენარეში იისფერი პიგმენტის სინთეზზე პასუხისმგებელია გენი *chsA* (ინგლ. chalcone synthase gene - ხალკონის მასითეზირებელი გენი). ექსპერიმენტის დროს მცენარეში შეიყვანეს კონსტრუქცია, რომელსაც უნდა გაეძლიერებინა *chsA* გენის ექსპრესია. მოსალოდნელი ეფექტის ნაცვლად, ფენოტიპურად მიიღეს იისფერყვავილიანი მცენარე თეთრი წინწკლებითა და სექტორებით, ანუ მოხდა *chsA* გენის როგორც ენდოგენური, ისე ეგზოგენური აქტივობის დათრგუნვა. ცდის ასეთი შედეგი კოსუპრესიის მოვლენით იქნა ახსნილი. მოგვიანებით, მეცნიერებმა შენიშნეს, რომ ასეთი მცენარეების უჯრედის ბირთვში *chsA* გენის ტრანსკრიფცია ნორმალურად მიმდინარეობდა, მაგრამ ციტოპლაზმაში მისი შესაბამისი მ-რნმ არ ფიქსირდებოდა. ასევე შენიშნეს, რომ ტრანსგენის (მცენარეული, ბაქტერიული ან ვირუსული) შეყვანა უჯრედში ხშირ შემთხვევაში იწვევს ჰომოლოგიური ენდოგენის დათრგუნვას და რნმ-ის პოსტტრანსკრიფციულ დაშლას უწყობს ხელს. ამ მოვლენას მაშინ გენის პოსტტრანსკრიფციული დუმილი (ინგლ. silencing) უწოდეს. როგორც გაირკვა, ტრანსგენის ექსპრესიის შედეგად შეიძლება ჩამოყალიბდეს ორჯაჭვიანი რნმ, რომელიც იწვევს გენის პოსტტრანსკრიფციული დუმილის ინიციაციას.

ცხოველთა სამყაროში ეგზოგენური ორჯაჭვიანი რნმ-ის ზემოქმედებით გენის ფუნქციის დაკარგვის მოვლენა დადგინდა *ენდრიუ ფაიერისა (Andrew Fire)* და მისი თანამშრომლების მიერ. მათ ნემატოდების ორგანიზმში შეჰყავდათ გენ unc22-ის 742 ნუკლეოტიდის სიგრძის შესაბამისი ორჯაჭვიანი რნმ-ის სეგმენტი. ეს გენი აკონტროლებს გონადებში მიოფილამენტის ცილის სინთეზს, რომელიც პასუხისმგებელია სხეულის კუმშვადობაზე. ამ გენის აქტივობის შემცირება იწვევს ჭიის სხეულის კუმშვადობის გაძლიერებას. საექსპერიმენტო ნიმუშებში, რომლებსაც სუსტი კუმშვადობა ახასიათებდათ, შეიყვანეს ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულა, რის შემდეგად შთამომავლობაში ეს თვისება გაძლიერდა და შენარჩუნდა რამდენიმე თაობაში. მეცნიერთა ამ ჯგუფმა, ეგზოგენური ორჯაჭვიანი რნმ-ის ზეგავლენით, ნემატოდებში კიდევ ოთხი გენის ფუნქციის დათრგუნვის მოვლენა აღმოაჩინა. გენის ექსპრესიის დათრგუნვას ამ გენის ჰომოლოგიური ეგზოგენური ორჯაჭვიანი რნმ-ით, რნმ-ის ინტერფერენცია ან რნმ-ის ჩახშობა (ინგლ. silencing) ეწოდა. ამ დროს

უჯრედში ყალიბდება მცირე ზომის რნმ-ის მოლეკულები, რომლებიც საკონტროლო ობიექტებში არ შეინიშნება და მათ მცირე ინტერფერირიბული რნმ (მი-რნმ) ეწოდება.

ინტერფერენციის მოვლენის აღმოჩენისთვის, 2006 წელს, ენდრიუ ფაიერსა და კრეიგ მელოუს (Andrew Fire, Craig Mello) ნობელის პრემია მიენიჭათ.

რნმ-ის ინტერფერენციის მოლეკულური მექანიზმები

რნმ-ის ინტერფერენციისათვის სიგნალს წარმოადგენს ეგზოგენური (მაგ., ვირუსული) ან ენდოგენური ორჯაჭვიანი რნმ. ამასთან, ინტერფერენციის ეფექტურობა პირდაპირ კავშირშია ორჯაჭვიანი რნმ-ის სიგრძესთან - რაც უფრო გრძელია ორჯაჭვიანი რნმ, მით მეტი მცირე ინტერფერირებული რნმ (მი-რნმ) ყალიბდება მასზე და მით მეტი სამიზნე საიტია მატრიცულ რნმ-ზე. ინტერეფერენციის ინდუქციისათვის ორჯაჭვიანი რნმ-ის მინიმალური ზომა 26 ნუკლეოტიდურ წყვილს შეადგენს, რომლის ამოცნობას და დაჭრას უზრუნველყოფს ე.წ. Dicer (ფკ. 3.1.26.3.) ფერმენტი, რომელიც რიბონუკლეაზა III ტიპის ფერმენტებს განეკუთვნება. ფერმენტი წარმოადგენს ევოლუციურად კონსერვატიულ ცილას. იგი აღმოჩენილია თითქმის ყველა ცოცხალ ორგანიზმში - საფუვრებიდან დაწყებული ძუძუმწოვრებით (თაგვისა და ადამიანის ჩათვლით) დამთავრებული. ფერმენტს N-ბოლოზე აქვს PAZ ჰელიკაზური დომენი, რომლის ფუნქცია ჯერ კიდევ შეუსწავლელია, ხოლო C-ბოლოზე განლაგებული დომენის ფუნქციას ორჯაჭვიანი რნმ-ის ამოცნობა წარმოადგენს.

ფერმენტის ატფ-დამოკიდებული ტრანსლოკაცია ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულაზე იწყება და მისი დაშლა თანამიმდევრულად წარმოეპს ერთ-ერთი ბოლოდან. ამ პროცესის შედეგად წარმოიქმნება 20-25 ნ.წ.-გან შემდგარი მი-რნმ-ები დისკრეტული 3'OH- და 5'OH-ბოლოებით და ორი გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდით 3'-ბოლოზე. ინტერფერენციის პროცესის შემდეგი ეტაპების წარმართვისათვის სწორედ ასეთი სტრუქტურაა აუცილებელი (სურ. 6.10).

ინტერფერენციის მეორე სტადიაზე მი-რნმ უკავშირდება ციღების ჯგუფს და წარმოქმნის ნუკლეოპროტეინურ კომპლექსს RISC (ინგლ. RNA-Induced Silencing Complex - რნმ-ინდუცირებული ჩამხშობი კომპ-

ლექსი). მის შედგენილობაში შედის ე.წ. Argonaute ოჯახის ცილები Ago 2, რომელსაც აქვს PIWI და PAZ დომენები. PIWI (ინგლ. P-element induced wimpy testis in *Drosophila* - P-ელემენტი ინდუცირებული *დროზოფილას* სათესლე ჯირკვლებში) დომენი, როგორც რეგულატორული ელემენტი, პირველად დროზოფილის სათესლე ჯირვლებში იქნა იდენტიფიცირებული და სახელწოდებაც აქედან მიიღო. PIWI დომენის სტრუქტურა რნმ-პოლიმერაზის მსგავსია და განაპირობებს RISC კომპლექსის ენდონუკლეაზურ აქტივობას. PAZ ჰელიკაზური აქტივობის მქონე დომენია. სახელწოდება PIWI/Argonaute/Zwille ცილების აბრევიატურაა. ის ამოიცნობს და უკავშირდება 3'-ბოლოს გაუწყვილებელ ნუკლეოტიდებს. ორჯაჭვიან მი-რნმ-თან დაკავშირებული RISC კომპლექსი არააქტიურია. მისი გააქტიურებისათვის აუცილებელია ჯაჭვის გახსნა. ამ ფუნქციას ფერმენტი ჰელიკაზა ასრულებს. გააქტიურებული RISC კომპლექსი შეიცავს არამაკოდირებელი მი-რნმ-ის ჯაჭვს. ეს ჯაჭვი მ-რნმ-სამიზნის კომპლემენტურია, საშუალებას აძლევს, დაუკავშირდეს მას. ამის შემდეგ RISC კომპლექსში შემავალი ენდონუკლეაზა შლის მ-რნმ-სამიზნეს მოკლე ფრაგმენტებად.

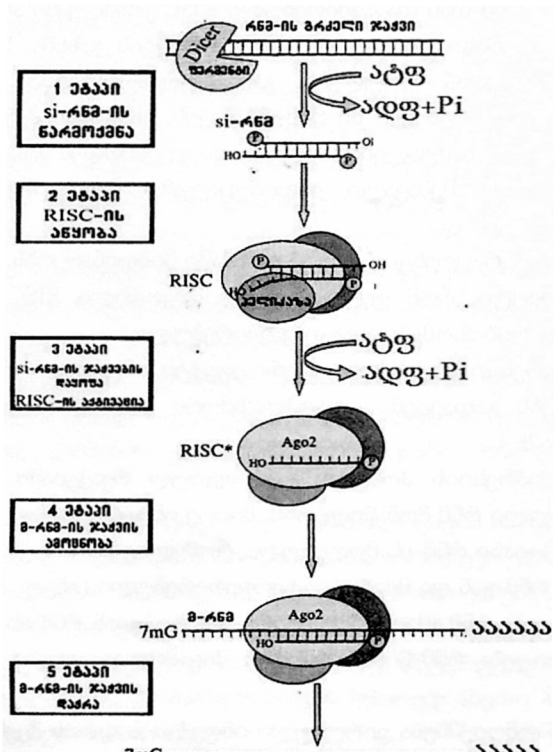
რნმ-ის ინტერფერენცია ციტოპლაზმაში მიმდინარეობს. ამაზე მეტყველებს ის ფაქტი, რომ უჯრედიდან გამოყოფილი RISC კომპლექსი, როგორც წესი, რიბოსომებთანაა დაკავშირებული.

ინტერფერენციას აქვს სისტემური ეფექტი. ინტერფერირებული რნმ-ები უჯრედებს გადაეცემა ციტოპლაზმური ხიდაკებით, მემბრანული არხებით და ა.შ.

გენის ექსპრესიის პოსტტრანსკრიფციულ რეაქციაში ორი ტიპის რეგულატორული რნმ მონაწილეობს: მცირე ინტერფერიბული (მი) რნმ - მცირე ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულა, რომელიც წარმოიქმნება გრძელი ორჯაჭვიანი რნმ-გან და მიკრო ინტერფერირებული (ინგლ. micro interfering rna –mi-rna) რნმ (მჯი-რნმ). მცირე ერთჯაჭვიან რნმ-ის მოლეკულა, რომელიც მიიღება რნმ-წინამორბედის შიგამოლეკულური ორჯაჭვიანი სარჭებისაგან.

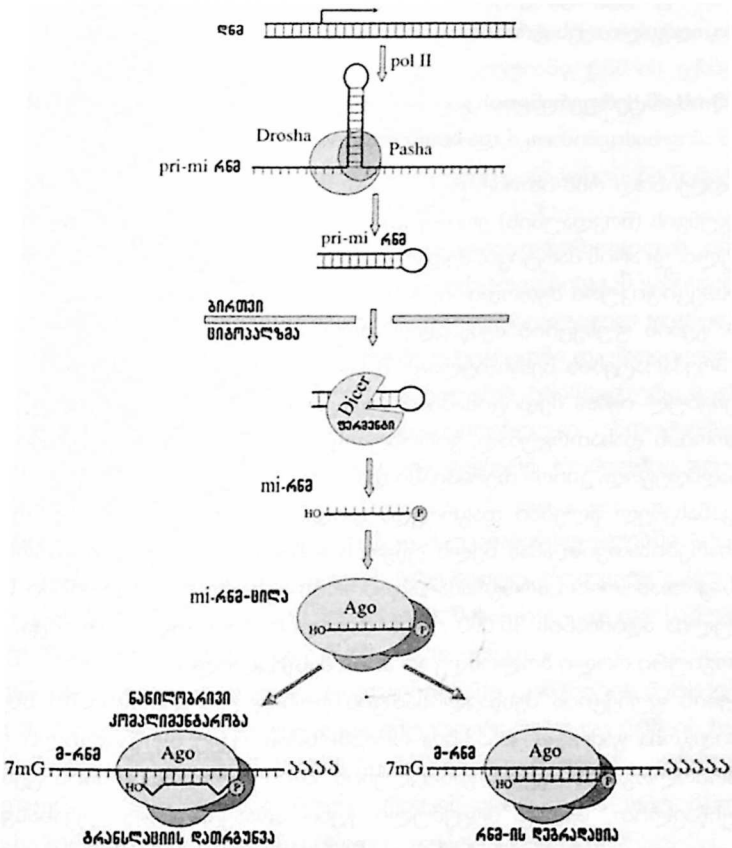
მი-რნმ წარმოიქმნება ვირუსული ინფექციის დროს მცენარეებში და პოსტტრანსკრიფციული ჩახშობის მექანიზმი მცენარეს იცავს ვირუსული ინფექციისგან. უჯრედის დასნებოვნებისას, ვირუსული რნმ-ის მატრიცზე, სინთეზირდება ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულები. ამის შემდეგ Dicer

ფერმენტი შლის ორჯაჭვიან რნმ-ს და წარმოიქმნება მი-რნმ, რომლებიც, თავის მხრივ, ასრულებს პრაიმერის როლს ახალი ორჯაჭვიანი რნმ-ის სინთეზისათვის. ეს უკანასკნელი კვლავ იშლება მეორად მი-რნმ-ად და RISC კომპლექსთან კავშირის წარმოქმნით მონაწილეობს ვირუსული მ-რნმ-ის დაშლაში. მსგავსი მექანიზმი ძუძუმწოვრებში ნაპოვნი არ არის. უნდა აღინიშნოს, რომ ვირუსებს, თავის მხრივ, აქვთ პატრონის პოსტ-ტრანსკრიფციული საილესინგის დათრგუნვის მექანიზმები. მაგალითად, პომიდვრის ჯუჯიანობის გამომწვევი ვირუსი აკოდირებს ცილას, რომელიც უკავშირდება მი-რნმ-ს და ხელს უშლის მის ინტეგრაციას RISC კომპლექსთან.



სურ. 6.10. მი-რნმ-ის ზემოქმედებით მიმდინარე ინტერფერენციის მოლეკულური მექანიზმის სქემა

მიკროინტერფერირებული რნმ აღმოჩენილია როგორც მცენარეთა, ისე ცხოველთა სამყაროში. ამ მოლეკულების ბიოგენეზი შედარებით უკეთაა შესწავლილი ცხოველებში. მკი-რნმ-ის გენების ტრანსკრიფციით მიიღება პირველადი ტრანსკრიფტი შიგამოლეკულური კომპლემენტური უბნებით, რომლისგანაც ყალიბდება სარჭები. რნმ-სარჭები წარმოადგენს სამიზნეს, ე.წ. მიკროპროცესორული ფერმენტული კომპლექსისათვის (სურ. 6.11).



სურ. 6.11. მიკრო (mi) რნმ-ის ზემოქმედებით მიმდინარე ინტერფერენციის მოლეკულური მექანიზმის სქემა

ეს კომპლექსი მოიცავს რიბონუკლეაზების კლასის ორ ფერმენტს (Drosha და Pasha), ეს ფერმენტები, ამოიცნობს რა რნმ სარჭებს, შლის მას და ყალიბდება პრე-მკი-რნმ-ის მოლეკულები. პრე-მკი-რნმ გადადის ციტოპლაზმაში, სადაც მიმდინარეობს პროცესინგის შემდეგი ეტაპი - ორჯაჭვიანი მკი-რნმ-ის ჩამოყალიბება. ინტერფერენციის შემდგომი განვითარება დამოკიდებულია ამ მოლეკულების სამიზნე მ-რნმ-თან ჰომოლოგიურობის ხარისხზე. თუ ჰომოლოგიურობა მაღალია, იწვევს სრულ დაშლას, ანუ ინტერფერენციას. თუ ჰომოლოგიურობის ხარისხი არ არის მაღალი, ადგილი აქვს ტრანსლაციის ინჰიბირებას.

რნმ-ის ინტერფერენციის გამოყენების პერსპექტივები გენომიკასა და ბიომედიცინაში

სადღეისოდ რნმ-ის ინტერფერენცია გენის ექსპრესიის ამორჩევითი დათრგუნვის (ნოკდაუნის) ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურ მეთოდად არის მიჩნეული. ეს არის მარტივი, შედარებით იაფი, ნაკლებად ტოქსიკური და მაღალსპეციფიკური მეთოდი. იგი რამდენიმე წელია, გამოიყენება გენომიკაში, გენის ფუნქციის შესწავლის მიზნით, აგრეთვე, ახალი სამკურნალო პრეპარატების შესასწავლად. შესაძლოა, მომავალში ეს მეთოდები გამოყენებულ იქნას მედიცინაში მუტირებული პათოლოგიური გენების აქტიურობის დასათრგუნად, ვირუსული და პარაზიტული ინფექციების საწინააღმდეგოდ, კიბოს თერაპიაში და ა. შ.

უკანასკნელ წლებში დაგროვდა დიდძალი ინფორმაცია გენომიკის განვითარებისათვის. ამას ხელს უწყობს გენომის სექვენირების პროგრამები. საერთაშორისო პროგრამა „ადამიანის გენომის“ ფარგლებში სექვენირებულია ადამიანის 30 000 ცილა-მაკოდირებელი გენი. თუმცა, მათი ბიოლოგიური როლი ბოლომდე არ არის შესწავლილი.

გენის ფუნქციის შესწავლისათვის ფუნქციურ გენომიკაში სხვადასხვა მიდგომა გამოიყენება: სხვა ორგანიზმის უკვე შესწავლილი ფუნქციის ჰომოლოგიური გენის გამოვლენის ან ისეთი ორგანიზმის ფენოტიპის შესწავლით, სადაც მოცემული გენი არააქტიურია. უკანასკნელი მეთოდის გამოყენება ხდება გენის ფუნქციის მოშლით (გენის ნოკაუტით) ან გენის ექსპრესიის დათრგუნვით (გენის ნოკდაუნით) მისი დაშლის გარეშე. გენის ნოკაუტის მეთოდი რთული და შრომატევადია, გენის

ნოკდაუნის მეთოდები კი შედარებით მარტივი, მაგრამ ნაკლებად ეფექტურია. რნმ-ის ინტერფერენციის მოვლენის აღმოჩენით, მეცნიერებს მიეცათ გენის ფუნქციის შესწავლის მიზნით გენის ექსპრესიის დათრგუნვის სწრაფი, ეფექტური და შედარებით იაფი მეთოდის გამოყენების საშუალება.

მცირე ინტერფერირებული რნმ უკვე გამოყენებულია ნემატოდების გენების ფუნქციონირების შესასწავლად. ინტერფერენციის ინდუცირებას სხვადასხვა გზით ახდენენ - გონადებში ორჯაჭვიანი მიკ-რნმ-ის ინიექციით, ნემატოდების მკი-რნმ-ის შემცველ ხსნარში მოთავსებით, ბაქტერიებით მათი გამოკვებით, რომელიც ორჯაჭვიანი რნმ-ის ექსპრესიას უწყობს ხელს. ეს მეთოდი არა მარტო ცალკეული გენის შესასწავლად გამოიყენება, არამედ ორგანიზმის მასშტაბური სკრინინგისათვის. შექმნილია ბაქტერიული კლონოთეკები, რომლებიც განაპირობებს ნემატოდის 16000-მდე გენის ინაქტივაციას.

რნმ-ის ინტერფერენცია გამოყენებულია დროზოფილას ინდივიდუალური გენების შესწავლის მიზნით. ნემატოდებისაგან განსხვავებით, რნმ-ის ინტერფერენცია აქ ლოკალურად ხდება ცალკეულ უჯრედში და გენის ნოკდაუნი არ ვრცელდება მეზობელ უჯრედში და ქსოვილში.

რნმ-ის ინტერფერენცია კარგი საშუალებაა ტრანსგენური მცენარეების შესაქმნელად, რომლებშიც ინაქტივირებულია ენდოტოქსინების გენები. ასეთი გზით მიღებულია ყავის მცენარე, რომელშიც არ ხდება კოფეინის სინთეზი.

ინიექციით რნმ-ის ინტერფერენციამ უკანასკნელ წლებში სტანდარტული ლაბორატორიული მეთოდის სახე მიიღო, რომელიც გამოიყენება დიდი რაოდენობით გენების ფუნქციის შესასწავლად და საშუალებას იძლევა, ჩატარდეს ადამიანის გენომის სკრინინგი.

რნმ-ის ინტერფერენციას აქვს მედიცინაში დანერგვის პერსპექტივები. ამ მიმართებით, აუცილებელია ინტერფერირებული რნმ-ის სამიზნე უჯრედში შეყვანის ორგანიზების მეთოდიკის დამუშავება. ეგზოგენური სინთეზური ინტერფერირებული რნმ-ის გამოყენება ოპტიმალურია, როცა საჭიროა ხანმოკლე ან სწრაფი ეფექტი. ასეთი მი-რნმ-ები, შესაძლოა, შეიცავდეს მოდიფიცირებულ რიბონუკლეოტიდებს, რაც ზრდის მათი სიცოცხლის ხანგრძლივობას ბიოლოგიურ სითხეებში. ამის მიზეზი რიბონუკლიდების მიმართ გამძლეობაა, მაგრამ მათი გამოყენება არა-

ეფექტურია ქრონიკული პათოლოგიების დროს, ვინაიდან მოითხოვს მი-რნმ-ის რეგულარულ შეყვანას. ეს აქვეითებს სიცოცხლის ხარისხს და, ამასთან, ასეთი თერაპია ძვირადღირებულია. ამ შემთხვევაში ეფექტურია ენდოგენური მი-რნმ-ები, რომელთა ექსპრესია რეგულირდება რნმ-პოლიმერაზას პრომოტორით. სასურველი ეფექტის მისაღწევად ხშირად მიმართავენ ადენოვირუსებს, თუმცა, მათი გამოყენება გართულებულია ტოქსიკურობის და მაღალი იმუნური პასუხის გამო.

პრაქტიკულ მედიცინაში რნმ-ის ინტერფერენციის ტექნოლოგიის დანერგვის მიზნით, უნდა განისაზღვროს, რამდენად ეფექტურია მი-რნმ-ის მოქმედება ცოცხალ ორგანიზმში. ამ მიზნით, ინტერფერენციული რნმ-ის აღმოჩენიდან ერთი წლის შემდეგ დაიწყეს მისი აპრობირება თაგვებზე. ინიექციის გზით თაგვების ორგანიზმში შეიყვანეს მი-რნმ, რომელიც განაპირობებდა ფერმენტ ლუციფერაზას გენის ექსპრესიის დათრგუნვას. ახალშობილ თაგვებში მი-რნმ-ის შეყვანით დადგინდა, რომ ის განსაკუთრებით ეფექტურად მოქმედებს ღვიძლის, თირკმლების, ელენთის, ფილტვების და კუჭქვეშა ჯირკვლის უჯრედებზე.

ვირუსული ინფექციისას ან ტრანსპლანტაციისას შეუთავსებლობის დროს ორგანიზმში ვითარდება Fas ლიგანდებით (FASL-ტრანსმემბრანული ცილა) ინდუცირებული აპოპტოზი. Fas ანტისხეულების შეყვანით რამდენიმე საათში ორგანიზმში ვითარდება ღვიძლის მწვავე უკმარისობა. თაგვის ორგანიზმში Fas საწინააღმდეგო მი-რნმ-ის შეყვანა თაგვის ორგანიზმს იცავდა ამ მოვლენისაგან. Fas-ლიგანდების სინთეზი ითრგუნებოდა 10 დღის განმავლობაში. მოგვიანებით დადგინდა, რომ ღვიძლის მწვავე უკმარისობის დათრგუნვა შესაძლებელია, აგრეთვე, კასპაზა 8-ის დამთრგუნველი მი-რნმ-ითაც. კასპაზა 8 აუცილებელია არა მარტო Fas-დამოკიდებული, არამედ სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორ TNF-a-თი გამოწვეული აპოპტოზის დროსაც. ამგვარად, კასპაზა-8 წარმოადგენს სამიზნეს ღვიძლის მწვავე უკმარისობის დასათრგუნად.

სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი TNF-a (Tumor Necrosis Factor) მონაწილეობს მრავალი ანთებითი და იმუნური დაავადების პათოგენეზში. TNF-a, უკავშირდება რა თაგვის რეცეპტორს, იწვევს ანთების გამომწვევი მრავალი ფაქტორის გენების ტრანსკრიფციის გააქტიურებას. ამდენად, TNF-a ითვლება ანთებითი პროცესების საწინააღმდეგო ფარმაკოლოგიური პრეპარატების ძირითად სამიზნედ. თაგვებში ლიპოსაქარიდებით

გამოწვეული სეფსისის დროს, ანტი-TNF-a მი-რნმ-ის შეყვანისას, აღმოჩნდა, რომ დაავადება გაცილებით მსუბუქად მიმდინარეობდა (ნაკლებად გამოხატული კლინიკური სიმტომებით), ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში. დადგინდა, რომ TNF-a გადამწყვეტ როლს ასრულებს რევმატოიდული ართრიტის დროს. მეცნიერები თვლიან, რომ ანტი TNF-a-ს მი-რნმ რევმატიული ართრიტის მკურნალობაში ეფექტურად იქნება გამოყენებული.

სისხლმბადი ღეროვანი უჯრედების მოდიფიკაცია

სისხლმბადი ორგანოების გენეტიკური პათოლოგიების კორექციის დროს და იმუნური პასუხის გასაძლიერებლად საინტერესო მეთოდს წარმოადგენს გენეტიკურად მოდიფიცირებული ღეროვანი უჯრედების შეყვანა ორგანიზმში. ორგანიზმიდან გამოყოფილი ღეროვანი უჯრედები ადვილად სნებოვნდება მი-რნმ-ის მაექსპრესირებელი კონსტრუქციის შემცველი რეკომბინანტული ვირუსებით. მაგალითად, შესაძლოა ანტი-HIV-ს მი-რნმ-ის შეყვანა HIV პოზიტიური პაციენტის ღეროვან უჯრედში, ამის შემდეგ კი, მათი გადატანა მასპინძლის ორგანიზმის უჯრედში. ფიქრობენ, რომ ეს გამოიწვევს სისხლმბად უჯრედებში HIV (ინგლ. Human Immunodeficiency Virus - ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსი) არამგრძნობიარე თვისების გაძლიერებას. ცნობილია, აგრეთვე, რომ ქრონიკული მიელოლეიკოზითა და მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკოზით დაავადებულთა უმეტესობაში შერწყმული ტრანსკრიფტიდან ერთ-ერთი ექსპრესირდება, რომელიც აკოდირებს ონკოგენურ ცილას. ასეთი ავადმყოფების სამკურნალოდ პერსპექტიულია ღეროვანი უჯრედების მოდიფიცირებული მი-რნმ-ები.

რნმ-ის ინტერფერენცია მცენარეთა ვირუსებისაგან დაცვის ეფექტური საშუალებაა. ანალოგიური მექანიზმი ცხოველებში არ მოქმედებს. ძუძუმწოვრებში ვირუსებისგან დაცვის ფუნქციას ასრულებს ინტერფერონის სისტემა. მიუხედავად ამისა, არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ მი-რნმ-ს შეუძლია, დათრგუნოს ადამიანის ჯანმრთელობისათვის მავნე მრავალი ვირუსის მოქმედება. დღეისათვის ჩატარებულია ცდები HIV რეპლიკაციის, A, B, C ჰეპატიტის ვირუსის, ვირუსული გრიპის და სხვათა მოქმედების დასადგენად. ამასთან, ინტერფერირებული რნმ-ის შეყვანა შეიძლება, როგორც ვირუსით დასნებოვნებამდე, ასევე დასნებოვნების

შემდეგ. ადამიანის პაპილომის HPV ვირუსის (ინგლ. Human Papiloma Virus) ერთ-ერთი გენი (E6) ონკოგენია, რომლის პროდუქტი აპოპტოზის დათრგუნვას და სიმსივნის განვითარებას უწყობს ხელს. ამ გენის მ-რნმ-ის სპეციფიკური მი-რნმ-ის შეყვანა სიმსივნურ უჯრედში იწვევს აპოპტოზის ინდუქციას.

ვირუსის რეპლიკაციის დათრგუნვა მი-რნმ-ით დაფიქსირდა *in vivo* პირობებშიც. კერძოდ, გრიპის ვირუსული შტამით თაგვების დასნებოვნების წინ ვენური ინიექციით ამ შტამის სპეციფიკური მი-რნმ-ის შეყვანისას მიიღწეოდა დაავადების განვითარების დათრგუნვა და ვირუსის ტიტრის შემცირება ფილტვებში, მიუხედავად იმისა, რომ ინტერფერირებულ რნმ-ს ახასიათებს ვირუსების რეპლიკაციის დათრგუნვის მაღალი სპეციფიკურობა და ამასთან, არ ზემოქმედებს უჯრედულ კომპონენტებზე. საყურადღებოა ისიც, რომ ვირუსებს ახასიათებთ მუტირება (მაგ., HIV), რაც ინტერფერენციულ მოქმედებას არაეფექტურს ხდის. ამ პრობლემის გადასაჭრელად გამოიყენება რამდენიმე მი-რნმ სხვადასხვა სამიზნის მიმართ, ან სამიზნედ გამოყენებული უნდა იქნას ვირუსული გენომის კონსერვატიული თანამიმდევრობები.

ამჟამად უამრავი ვირუსული დაავადებაა ცნობილი, მაშინ, როცა მათი საწინააღმდეგო პრეპარატები ცოტაა. ამდენად, ანტივირუსული მი-რნმ-ის ინტერფერენციაზე დაფუძნებული მეთოდის დანერგვა ძალიან ეფექტური იქნებოდა. მაგრამ ჯერჯერობით მი-რნმ-ის სამკურნალო პრეპარატად გამოყენებაზე საუბარი ნაადრევია. ამ ეტაპზე მიმდინარეობს დასნებოვნებულ უჯრედში მი-რნმ-ის შეყვანის ეფექტური მეთოდების ძიება, თუმცა, ზოგიერთი მათგანი უკვე კლინიკური გამოცდის სტადიაზეა.

რნმ-ის ინტერფერენციით მიღწეული შედეგების გამოყენების შესაძლებლობები ონკოლოგიურ თერაპიაში

რნმ-ის ინტერფერენციის მაღალი სპეციფიკურობა მუტანტური გენების მიზანმიმართული ნოკდაუნის მიზნით გამოყენების საშუალებას იძლევა.

ადამიანის სიმსივნურ უჯრედში მცირე ორჯაჭვიანი რნმ-ის ექსპრესიით შესაძლებელია მუტანტური ონკოგენური ალელის K-RAS (V12)

აქტივობის დათრგუნვა თაგვების ხაზში, როგორც *in vitro*, ისე *in vivo* პირობებში.

ონკოგენების აქტივაცია ქრომოსომური ტრანსლოკაციების დროს არაჰდომილი გენების შერწყმას განაპირობებს. ამ დროს ფორმირებული შერწყმული ონკოციდის მიმართ სპეციფიკური რნმ-სარჭის შეყვანით მოხერხდა ლეიკოზური უჯრედის დაღუპვა.

სიმსივნური ტრანსფორმაციის ერთ-ერთი მიზეზი, ასევე, შეიძლება იყოს ონკოგენების გაძლიერებული ექსპრესია. მი-რნმ-ის გამოყენება ასეთ დროსაც კარგ ეფექტს იძლევა. ორგანიზმში P გლიკოპროტეინების სინთეზის გაძლიერება, რომელიც წარმოადგენს სხვადასხვა პრეპარატის მიმართ მრავლობითი მდგრადობის გენის პროდუქტს, იწვევს სიმსივნური უჯრედის მიერ სამკურნალო პრეპარატების მიმართ მდგრადობის შეძენას. რნმ-ის ინტერფერენციით შესაძლებელი ხდება P გლიკოპროტეინების (სხვადასხვა სამკურნალო პრეპარატებისადმი მდგრადობის ცილა) შემცველობის შემცირება, რაც უზრუნველყოფს უჯრედის მგრძნობელობის აღდგენას სამკურნალწამლო პრეპარატების მიმართ.

როგორც ვხედავთ, რნმ-ის ინტერფერენციის შესწავლა მნიშვნელოვანია როგორც ფუნდამენტური მეცნიერებების, ისე მედიცინისათვის. რნმ-ის ინტერფერენციას რამდენიმე წელია, იყენებენ გენების ფუნქციისა და მათ მიერ კოდირებული ცილოვანი პროდუქტების შესწავლის მიზნით. რნმ-ის ინტერფერენციის ინდუქცია ადამიანის ორგანიზმში ვირუსული, ონკოლოგიური და გენეტიკური დაავადებების თერაპიის მიზნით, ამჟამად იმყოფება აქტიური კლინიკამდელი გამოცდის პროცესში. ამასთან, ძირითადი პრობლემა მცირე ინტერფერირებული რნმ-ის მოლეკულების სამიზნე უჯრედში ზუსტად მოხვედრაში მდგომარეობს.

ამრიგად, შეიძლება ითქვას, რომ მცირე ინტერფერირებული რნმ-ის ბიოლოგია და ტექნოლოგია გამოკვლევათა ფართო ინტერესებისის სფეროს განეკუთვნება. მოლეკულური ბიოლოგიის ეს ნაწილი ერთ-ერთი ყველაზე პერსპექტიული და სწრაფად განვითარებადი მიმართულებაა და მსოფლიო მეცნიერების დიდ დაინტერესებას იწვევს, რაც საფუძველს იძლევა, უახლოეს მომავალში ამ სფეროში ახალ აღმოჩენებს ველოდოთ.

თავი 7. უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი

ადრე თუ გვიან, ყველა ცოცხალი უჯრედის არსებობა სიკვდილით მთავრდება. უჯრედის სიკვდილის მიზეზი და მისი მექანიზმები განსხვავებულია. არსებობს უჯრედის სიკვდილის ორი ფორმა - ნეკროზი და აპოპტოზი (სურ. 7.1).

ნეკროზი

ნეკროზის (ბერძ. nekros - მკვდარი) მიზეზს უჯრედის მოულოდნელი ფიზიკური ან ქიმიური დაზიანებები, ან კიდევ, უჯრედის საარსებო პირობების უხეში დარღვევა წარმოადგენს, როგორიცაა: დამწვრობა, მოყინვა, მოწამვლა, ჰიპოქსია, ვირუსული დაზიანებები და ა.შ. უჯრედის კვდომის ეს ფორმა განიხილება, როგორც მეტაბოლური კატასტროფა. ამ დროს ირღვევა უჯრედული მემბრანის მთლიანობა. დაზიანების კერისკენ ხდება იმუნური უჯრედების მიგრაცია, რის შედეგად, დაზიანების ზონაში ვითარდება ანთებითი პროცესი. ამ დროს უჯრედის ბირთვი მცირდება ზომაში, აღინიშნება ქრომატინის კონდენსაცია, დნმ-ის დენატურაცია და დაშლა. ციტოპლაზმაში მიმდინარეობს ცილების კოაგულაცია და დენატურაცია, მემბრანული სტრუქტურები იშლება, ირღვევა ჟანგვა-აღდგენითი პროცესები და ატფ-ის სინთეზი მიტოქონდრიებში, უჯრედი განიცდის ენერგეტიკულ შიმშილს. ის თანდათან იშლება ფრაგმენტებად, რომლებიც შთაინთქმება მაკროფაგების მიერ. ფუნქციურად აქტიური უჯრედის ადგილას ხდება შემაერთებელი ქსოვილის ფორმირება.

ნეკროზის დროს, ხშირად, უჯრედების დიდი ჯგუფი იღუპება (მაგალითად, გულის კუნთის ჟანგბადით მომარაგების უკმარისობის გამო განვითარებული მიოკარდიუმის ინფარქტის დროს).

აპოპტოზი

უჯრედის სიკვდილის მეორე ფორმას წარმოადგენს აპოპტოზი (ბერძ. ფოთოლცვენა). ყველა მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის, მათ შორის ადამიანის გენომში გენეტიკურად დაპროგრამებულია უჯრედის თვითლიკვიდაციის უნარი. მისი ინდუცირება, შესაძლოა, მოხდეს სხვა-

დასხვა შინაგანი და გარეგანი ფაქტორების (ვირუსები, ტოქსინები, უჯრედული ონკოგენები, დნმ-დამაზიანებელი აგენტები და ა.შ.) ზემოქმედებით. აპოპტოზს, უფრო ხშირად, პროგრამირებულ უჯრედულ სიკვდილს (ინგლ. Programmed Cell Death - PCD) ან უჯრედის თვითმკვლელობასაც უწოდებენ. ის წარმოადგენს ენერგეტიკულად აქტიურ, გენეტიკურად კონტროლირებად პროცესს, რომელის არსი ორგანიზმიდან დაზიანებული ან არასაჭირო უჯრედების მოცილებაში მდგომარეობს. აპოპტოზის თვალსაჩინო მაგალითია შემოდგომის ფოთოლცვენა. ეს პროცესი, „უჯრედის პროგრამირებული დაღუპვის“ სახელწოდებით, პირველად აღწერილ იქნა 1972 წელს ბრიტანელი მკვლევრის, ჯონ კერის მიერ.

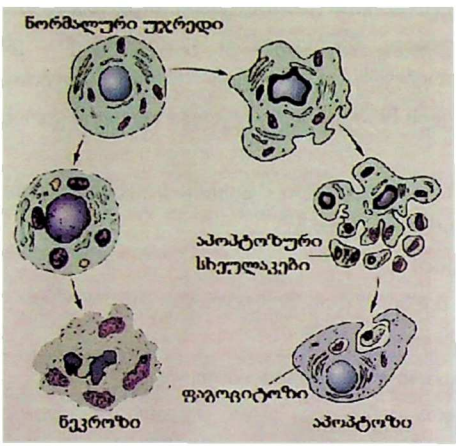
მორფოლოგიურად აპოპტოზური უჯრედი მკვეთრად განსხვავდება ნეკროზული უჯრედისაგან. აპოპტოზის დროს:

- უჯრედი მცირდება ზომაში;
- უჯრედის გარე და შიგა მემბრანების მთლიანობა შენარჩუნებულია, მაგრამ შემჭიდროვებული;
- ზედაპირზე ვითარდება გამობერილობები - ბუშტუკები;
- მიმდინარეობს დნმ-ის ფრაგმენტაცია, ჯერ, შედარებით დიდი ზომის (50-200კდალტონი), ხოლო შემდეგ უფრო მცირე ზომის ფრაგმენტების (180-190 ნ.წ.) წარმოქმნით;
- აპოპტოზისათვის დამახასიათებელ ნიშანს წარმოადგენს მიტოქონდრიული მემბრანების დეპოლარიზაცია. აპოპტოზის პროცესის შედეგად წარმოიქმნება, ე.წ. „აპოპტოზური სხეულაკები“ - მემბრანით შემოსაზღვრული ბირთვის ფრაგმენტები.

დაღუპული უჯრედები ფაგოციტოზს ექვემდებარება, რის შედეგადაც უჯრედის დაშლის პროდუქტები ვეღარ ხვდება უჯრედშორის სივრცეში. ნეკროზისგან განსხვავებით, აპოპტოზი არ იწვევს ანთებით პროცესს. აპოპტოზის განვითარება ნეკროზთან შედარებით რამდენადმე გვიან ხდება და იწყება დამაზიანებელი ფაქტორების ზემოქმედებისთანავე.

აპოპტოზი აუცილებელი ბიოლოგიური მოვლენაა, რომელიც ცოცხალ ორგანიზმებს საშუალებას აძლევს, გათავისუფლდნენ არასაჭირო და ორგანიზმისთვის პოტენციურად საშიში უჯრედებისაგან (დაბერებული,

ავადმყოფი, მუტაციების შედეგად დაზიანებული და ა.შ.). ორგანიზმიდან ამ უჯრედების მოცილების აუცილებლობა ორი მიზეზით არის განპირობებული: პირველი, შენარჩუნებული იქნეს ბალანსი პროლიფერირებად (გამრავლების უნარის მქონე) და მომაკვდავ უჯრედებს შორის; მეორე, მუტაციების სიმრავლემ არ დაარღვიოს ორგანიზმის ნორმალური განვითარება.



სურ. 7.1. უჯრედის სიკვდილის ორი გზა - ნეკროზი და აპოპტოზი

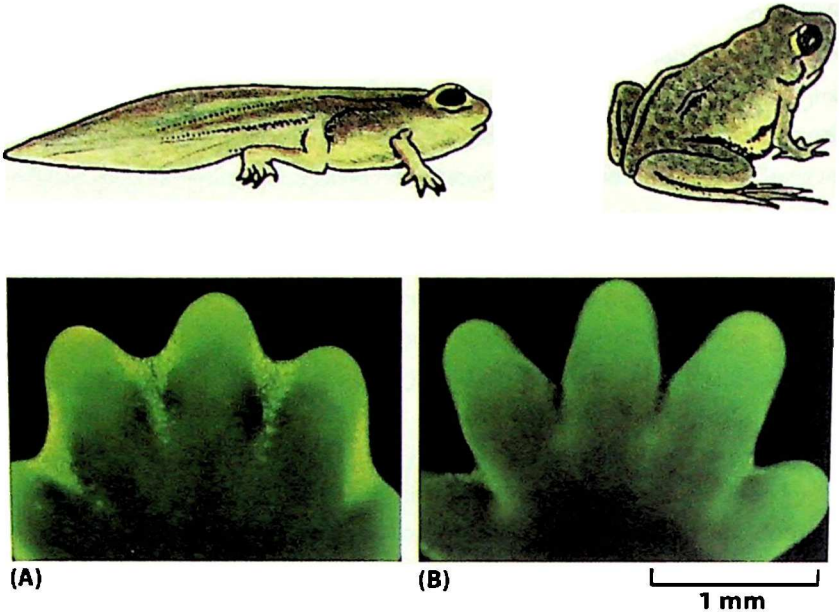
ამრიგად, უჯრედის პროგრამირებულ სიკვდილს აქვს ორმაგი დანიშნულება. ერთი მხრივ, ის წარმოადგენს ორგანიზმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნების საშუალებას, როგორც უჯრედების საერთო რაოდენობის შენარჩუნებისა და უჯრედების დიფერენციაციის აუცილებელი ელემენტი. მეორე მხრივ, მოსალოდნელი საშიშროებისაგან უჯრედისა და მისი შთამომავლობის თვითდაცვის ფუნქციას ასრულებს.

უჯრედების დაღუპვა ორგანიზმის ონტოგენეზური განვითარების პრაქტიკულად ყველა სტადიაზე ხდება. ემბრიონული განვითარების ადრეულ სტადიაზე აპოპტოზის უამრავი მაგალითია ცნობილი. უჯრედის პროგრამირებულ სიკვდილს ადგილი აქვს ორგანოთა ფორმირების, ერთი სახის ქსოვილის მეორეთი შეცვლის, დროებითი ორგანოების შთანთქმისა და სხვა პროცესების დროს, რომელებიც თან ახლავს დიფერენციაციისა და განვითარების პროცესებს (სურ. 7.2). მაგალითად, ამ გზით ხდება კუდის მოცილება თავკომბალას ბაყაყად მეტამორფოზის

დროს; თითების ჩამოყალიბებისას თითებშორის აპკის მოცილება; ტრიტონის ლაყუჩების გაქრობა; ხერხემლიანთა ემბრიონული განვითარების პროცესში ადგილი აქვს შარდ-სასქესო სისტემის ვოლფისა და მიულერის არხების უჯრედების, ნეირობლასტებისა და გონადოციტების ნაწილის აპოპტოზს და ა.შ. ზრდასრულ ორგანიზმშიც ასევე მუდმივად წარმოებს უჯრედების გენეტიკურად პროგრამირებული კვდომა. იღუპება მილიონობით სისხლის უჯრედი - ნეიტროფილები, კანის ეპიდერმისის უჯრედები, წვრილი ნაწლავის უჯრედები - ენტეროციტები. ოვულაციის შემდეგ იღუპება საკვერცხეების ფოლიკულური უჯრედები, ლაქტაციის შემდეგ - სარძევე ჯირკვლების უჯრედები და ა.შ. ზრდასრულ ორგანიზმში აპოპტოზი, ისევე, როგორც მიტოზი, მონაწილეობას ღებულობს უჯრედული პოპულაციის რეგულაციაში. მაგალითად, ორგანიზმის პათოგენებით ინფიცირებისას წარმოქმნილი ლიმფოციტების ჭარბი რაოდენობის განადგურება სწორედ ამ გზით ხდება. იმავდროულად, აპოპტოზის მექანიზმი აუცილებელია ისეთი უჯრედების ელიმინაციისთვის, რომლებმაც განიცადა გენეტიკური დაზიანებები ან დაადგა სიმსივნურ უჯრედებად გარდაქმნის გზას. აპოპტოზის მექანიზმების მოშლა ორგანიზმში პათოლოგიური პროცესების განვითარების მიზეზი შეიძლება გახდეს, რასაც, ხშირად, ანტიაპოპტოზური აქტივობის გენების მქონე ვირუსებით ინფიცირება უწყობს ხელს. ამრიგად, აპოპტოზის უჯრედული და მოლეკულური ასპექტები გადაჯაჭვულია ვირუსული პათოგენეზისა და ონკოგენეზის პროცესებთან და უშუალო კავშირშია მიტოზის რეგულაციის ნატიფი მექანიზმებთან.

გადაწყვეტილებას თვითმკვლელობის შესახებ უჯრედი „იღებს“ მთელი ორგანიზმის სასარგებლოდ. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორები საკმაოდ მრავალფეროვანია. მიუხედავად ამისა, მიღებულია მათი დაყოფა ორ ჯგუფად:

- უჯრედის არადამაკმაყოფილებელი მდგომარეობით, ანუ შინაგანი სიგნალებით გამოწვეული აპოპტოზი, რომელიც ხშირად მოიხსენიება, როგორც „აპოპტოზი შიგნიდან“;
- გარედან მიღებული სიგნალებით გამოწვეული აპოპტოზი, ე.წ. „აპოპტოზი ბრძანებით“.



სურ. 7.2. აპოპტოზის მაგალითები:
კუდის მოცილება თავკომბალას ბაყაყად მეტამორფოზის დროს;
თითებშორის აპკის მოცილება ემბრიონის თითების ჩამოყალიბების დროს.

შინაგანი სიგნალებით გამოწვეული აპოპტოზი. ამ შემთხვევაში აპოპტოზის მიზეზს უჯრედის არადამაკმაყოფილებელი მდგომარეობა წარმოადგენს, რაც გამოიხატება:

1. ქრომოსომების დაზიანებებით, რომლებიც არ იქნა რეპარირებული. ეს შეიძლება იყოს დნმ-ის წყვეტა, დნმ-ის კონფორმაციული ცვლილებები, ქრომოსომების არასწორი სეგრეგაცია (გადანაწილება) და ა. შ.

2. შიგაუჯრედული მემბრანების, განსაკუთრებით, მიტოქონდრიული მემბრანების სერიოზული დაზიანებით.

ამ ტიპის დაზიანებათა მიზეზი, შესაძლოა, იყოს სხვადასხვა ფაქტორი. მაგალითად, ტემპერატურის ცვლილება, სხვადასხვა ტიპის გამოსხივება, ქიმიური ნაერთები. ყველა ისინი დნმ-ის კონფორმაციულ ცვლილებებს იწვევს. აპოპტოზის მექანიზმის ჩართვა, შესაძლოა, ენდოგენური ნაერთებითაც იქნეს სტიმულირებული. მაგალითად, როგორიცაა: აზო-

ტის ოქსიდი, ზეჟანგის რადიკალები და ა.შ. დაბოლოს, უჯრედში სხვადასხვა სახის დაზიანებების მიზეზი შეიძლება იყოს მისი კვების დარღვევა. ამ ტიპის აპოპტოზის მაგალითს წარმოადგენს ნეირონების რაოდენობის ასაკთან დაკავშირებული შემცირება თავის ტვინში. თუ ტვინის რომელიმე უბანში აპოპტოზი განსაკუთრებით ინტენსიურად მიმდინარეობს, ის სხვადასხვა დაავადების გამომწვევი მიზეზი ხდება. აპოპტოზის მექანიზმს უკავშირდება, მაგალითად, პარკინსონის დაავადება.

მართალია, უჯრედის თვითმკვლელობას უჯრედის სტრუქტურების სერიოზული დაზიანებები უდევს საფუძვლად, მაგრამ ეს დაზიანებები არ უნდა იყოს ძალიან მძიმე. სხვა სიტყვებით, უჯრედს უნდა დარჩეს მატერიალური და ენერგეტიკული რესურსი აპოპტოზის გენების ექსპრესიისათვის. თუ დაზიანება იმდენად დიდია, რომ მას ეს რესურსი აღარ გააჩნია, უჯრედის სიკვდილის პროცესი არამართვადი ხდება და ვითარდება უჯრედის სიკვდილის ნეკროზული ფორმა.

გარეგანი სიგნალებით გამოწვეული აპოპტოზი. ამ შემთხვევაში აპოპტოზის განვითარების მიზეზს წარმოადგენს გარედან მიღებული უარყოფითი სიგნალები. ეს სიგნალები უჯრედს გადაეცემა სპეციალური რეცეპტორების მეშვეობით. ასეთ შემთხვევაში კონკრეტული ტიპის უჯრედი სრულიად სიცოცხლისუნარიანია, მაგრამ ორგანიზმის მთლიანობის თვალსაზრისით, ის ზედმეტია ან საზიანოც კი. ამიტომ, ორგანიზმის სასარგებლოდ მიიღება გადაწყვეტილება მისი სიკვდილის შესახებ.

აღსანიშნავია, რომ უარყოფითი სიგნალის ქვეშ იგულისხმება საკუთრივ უარყოფითი სიგნალი ან დადებითი სიგნალის უარყოფა. აპოპტოზის ამ ფორმის რამდენიმე განსხვავებული ტიპის მაგალითის დასახელება შეიძლება:

- უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი, დაკავშირებული ონტოგენეზის განსაზღრულ სტადიებთან (მწერების ჭუპრების მეტამორფოზთან, თითებშორის აპკის მოცილებასთან და ა.შ.). ითვლება, რომ ემბრიონის კიდურების ჩამოყალიბების პროცესში მილიონობით ახალი უჯრედი ყალიბდება და მილიონობით არსებული უჯრედი თვითმკვლელობით ამთავრებს სიცოცხლეს;

- მაგალითების მეორე ჯგუფი დაკავშირებულია იმუნური სისტემის ფუნქციონირებასთან. მაგალითად, ანტიგენების ხანგრძლივი არარსებობის დროს T - და B-ლიმფოციტების აუტორეაქციული კლონების განადგურებასთან და ანტიგენებით სტიმულირებული ლიმფოციტების დაღუპვასთან;
- სისხლმბადი უჯრედების აპოპტოზი. მათი განვითარებისთვის განსაზღვრული ციტოკინებია აუცილებელი. ამ ფაქტორების არარსებობა იწვევს მათ დაღუპვას, ანუ აპოპტოზს;
- ქალის რეპროდუქციული სისტემის უჯრედების აპოპტოზი. მაგალითად, ფოლიკულებისა და ოოციტების, ენდომეტრიუმის (საშვილოსნოს შიგა შრე) მოცილება მენსტრუაციის წინ, სარძევე ჯირკვლების უჯრედების - ლაქტოციტების დაღუპვა ლაქტაციის შეწყვეტის შემდეგ და ა.შ.

აპოპტოზის მოლეკულური მექანიზმები

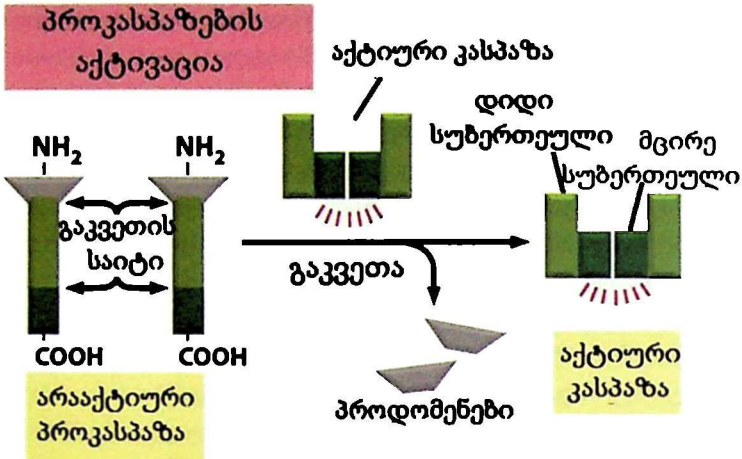
მოლეკულური თვალსაზრისით, აპოპტოზი მრავალსაფეხურიანი, კასკადური პროცესია. განასხვავებენ უჯრედის აპოპტოზური კვდომის პროცესის სამ სტადიას: ინდუქციურს, ეფექტორულს და დეგრადაციულს. პროცესი იწყება გარკვეული სიგნალის მიღებით და ლითიური ფერმენტების - პროტეაზების, ნუკლეაზების და სხვათა ზემოქმედებით უჯრედის დესტრუქციით მთავრდება. სიგნალების მიღება გარკვეული რეცეპტორების მიერ ხდება და მოლეკულა-შუამავლებით (მესენჯერებით) გადაეცემა უჯრედის ბირთვს. მიღებული სიგნალი აქ აპოპტოზის გენების ექსპრესიის ინდუქციას და, შესაბამისად, უჯრედის თვითმკვლელობის პროგრამის რეალიზაციას უწყობს ხელს.

ამჟამად იდენტიფიცირებულია აპოპტოზის პროცესში ჩართული მოლეკულების ოთხი ფუნქციური ჯგუფი. ესენია: პროტეოლიზური ფერმენტების განსაკუთრებული ჯგუფი - კასპაზები; კასპაზების აქტივაციის მაკონტროლებელი ადაპტორული ცილები; სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის TNF (ინგლ. Tumor Necrosis Factor) რეცეპტორების ცილების სუპეროჯახი და ცილების ოჯახი - Bcl2 (ინგლ. B-cell limphoma - ლიმფომის B-უჯრედები).

კასპაზები განეკუთვნება ევოლუციურად კონსერვატიული ცილების - ცისტეინური პროტეინაზების (ფკ. 3.4.22.) ჯგუფს. მათს ფუნქციას წარმოადგენს ცილების გახლეჩა ასპარაგინის მჟავას კარბოქსილის ჯგუფის შემდეგ. ძუძუმწოვრებში კასპაზების 14 სახეობაა ნაპოვნი. კასპაზებს შეუძლია სპეციფიკური ტეტრაპეპტიდური ბლოკების (მოტიფები) ამოცნობა და პეპტიდური ბმის გაწყვეტა ასპარაგინის მჟავას კარბოქსილის ჯგუფთან. მათი სინთეზი დაბალი აქტივობის მქონე პროკასპაზების სახით ხდება. აქტიური პროკასპაზას მოლეკულა ტეტრამერია, რომელიც ორი მცირე (10კდალტონი) და ორი დიდი სუბერთეულისაგან (20 კდალტონი) შედგება. პროკასპაზასაგან აქტიური კასპაზების ჩამოყალიბება პროტეოლიზური გახლეჩის გზით ხდება. ამ პროცესში პროკასპაზასგან (მოლეკულა წინამორბედი 50 კდალტონი მასით) მოიკვეთება N-ბოლოზე არსებული დომენი. დარჩენილი მოლეკულა ორ (მცირე და დიდ) სუბერთეულად იშლება, რომელიც შემდეგში ტეტრამერის სახით ასოციირდება (სურ. 7.3).

მიღებულია კასპაზების აღნიშვნა დანომვრით. მათ ნუმერაციას აღმოჩენის ქრონოლოგიის მიხედვით აწარმოებენ. ფუნქციური თვალსაზრისით, არჩევენ ინიციაციურ კასპაზებს (კასპაზა 2,8,9,10), ეფექტორულ კასპაზებს (კასპაზა 3,6,7) და აქტივატორებს - კასპაზა 1,4,5,13). მაგალითად, ინიციაციური კასპაზა-8 ააქტიურებს პროკასპაზა-3-ს, რომლისგანაც ყალიბდება ეფექტორული კასპაზა-3. აპოპტოზის საწყისი სტადიები შექცევადია. ეფექტორული კასპაზების აქტივაცია აპოპტოზის პროცესს შეუქცევადს ხდის.

აპოპტოზის შესწავლის საქმეში ყველაზე მნიშვნელოვანი შედეგები მიღებულ იქნა ნემატოდებზე *(Caenorhabditis elegans)* ჩატარებული ექსპერიმენტებით, რისთვისაც *2002 წელს სიდნეი ბრენერი, რობერტ ჰორვიზი და ჯონ სალსტონი (Sydney Brenner, Robert Horvitz, John E. Sulston) ნობელის პრემიით დააჯილდოვეს.* ნემატოდის განვითარების სრული ციკლი სამ დღე-ღამეს მოიცავს, მისი მცირე ზომები კი ორგანიზმის ყველა უჯრედის განვითარებაზე დაკვირვების საშუალებას იძლევა.



სურ. 7.3. პროკასპაზების აქტივაციის სქემა

აღმოჩნდა, რომ *C. Elegans-ის* ორგანიზმი 1090 უჯრედისგან შედგება, რომელთაგან 131 ნერვული უჯრედი სპონტანურად იღუპება აპოპტოზის შედეგად და ნემატოდის ორგანიზმში რჩება 959 უჯრედი. ამჟამად იდენტიფიცირებულია ამ უჯრედების აპოპტოზის გამომწვევი ***ced-3*** და ***ced-4*** გენები (კასპაზების მაკოდირებელი გენები ნემატოდებში). მუტანტურ ორგანიზმებში, რომელთაც ეს გენები არ გააჩნია ან მუტირებული აქვს, აპოპტოზი არ ვითარდება და ზრდასრული ორგანიზმი ყველა 1090 უჯრედს უცვლელად შეიცავს. აგრეთვე, დადგინდა, რომ ერთ-ერთი გენი ***ced-9*** აპოპტოზის სუპრესორს წარმოადგენს. ამ გენის მუტაციის შემთხვევაში, იღუპება ნემატოდების ყველა უჯრედი. დეტალური მოლეკულურ-გენეტიკური ანალიზის საფუძველზე ნემატოდებში სულ აპოპტოზზე პასუხისმგებელი 14 გენი გამოვლინდა, რომელთა ანალოგები მოგვიანებით ძუძუმწოვარებშიც დააფიქსირეს. მაგალითად, ***ced-9*** გენის ანალოგი - ***bcl-2*** (B cell limphoma-2) ნაპოვნია ადამიანის ორგანიზმშიც. ამ ოჯახის გენები ორი ტიპის სტრუქტურულად მონათესავე ცილებს აკოდირებს. პირველი ტიპის ცილები - ***Bcl-x, Bcl-w, Bfl1*** და სხვ. ძუძუმწოვრებში აპოპტოზის სუპრესორს წარმოადგენს, მეორე ტიპისა -

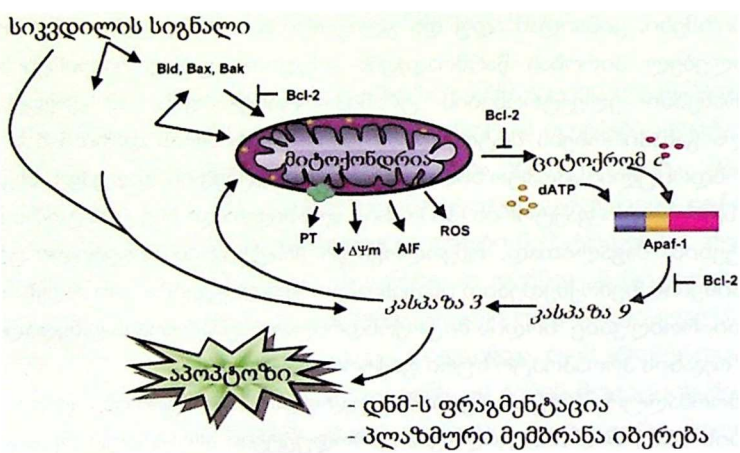
Bax, Bak, Bad, Bid და სხვ., პირიქით, აპოპტოზის აქტივაციას განაპირობებს.

ამჟამად ცნობილია უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის რეალიზაციის რამდენიმე სასიგნალო გზა. აპოპტოზის მოლეკულურ მექანიზმებზე წარმოდგენის შესაქმნელად განვიხილავთ ორ ძირითად სასიგნალო გზას - შინაგანი ფაქტორებით გამოწვეული (მიტოქონდრიული გზა) და გარეგანი ფაქტორების ზემოქმედებით გამოწვეული (სასიკვდილო რეცეპტორების მეშვეობით რეალიზებული) აპოპტოზის მექანიზმებს.

მიტოქონდრიული გზა. აპოპტოზის რეალიზაციის „მიტოქონდრიული“ გზა უჯრედის არადამაკმაყოფილებელი მდგომარეობის, მაგალითად, ზრდის ფაქტორების დეფიციტის დროს ვითარდება. სასიცოცხლო სიგნალების დეფიციტი იწვევს მიტოქონდრიების ფუნქციის მოშლას. კერძოდ, ირღვევა ატფ-ის გლიკოლიზისა და დეფოსფორილირების მექანიზმები. ვინაიდან ადფ და გლიკოლიზის პროდუქტი - პირუვატი აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ჟანგვითი ფოსფორილირების და მემბრანებში ელექტრონების ტრანსპორტირესათვის, ამ პროცესების მოშლა განაპირობებს მიტოქონდრიული მემბრანების დაზიანებას. „მიტოქონდრიული“ აპოპტოზის რეალიზაცია უჯრედის დაღუპვას სხვადასხვა სტრესული ფაქტორის (ჰიპოქსია, დასხივება და სხვ.) და ტოქსიკური აგენტების, მაგალითად, ონკოლოგიურ პრაქტიკაში მიღებული ციტოტოქსინების ზემოქმედებით იწვევს. ასეთ შემთხვევებში ვითარდება პროცესები, რომლებიც ზრდის მიტოქონდრიული მემბრანების განვლადობას ***bcl-2*** ოჯახის პროაპოპტოზური ფაქტორებისთვის.

ნორმალურ მდგომარეობაში უჯრედში აპოპტოზის აქტივაციის გენების *(Bad, Bik, Bid)* ცილოვანი პროდუქტები არააქტიურ (ფოსფორილირებულ) მდგომარეობაში იმყოფება. ზრდის ფაქტორების დეფიციტის, ციტოტოქსიკური აგენტების ან რადიაციული ფაქტორების ზემოქმედების, ასევე, *p53* გენის აქტივაციის პირობებში ხდება მათი დეფოსფორილირება და მიტოქონდრიული მემბრანის ზედაპირზე **bcl-2** ცილასთან დაკავშირება. ამით ითრგუნება **bcl-2** ცილის ანტიაპოპტოზური მექანიზმი. შემდეგ ეტაპზე აქტიურდება მემბრანული პროაპოპტოზური ***Bax/Bak*** ცილა, რომელიც ტრანსმემბრანული ფორების წარმოქმნას უწყობს ხელს.

იზრდება რა მემბრანების განვლადობა, ციტოპლაზმაში გადადის ***ციტოქრომი-c*** (მიტოქონდრიული მემბრანის ცილა), რომელიც უკავშირდება ადაპტორულ ცილა - ***Apf-1-ს*** (ინგლ. Apoptose protease activation factor - აპოპტოზური ფაქტორების გაამაქტიურებელი ფაქტორი). ***ციტოქრომ-c Apf-1,*** ატფ-ის თანაარსებობის პირობებში უკავშირდება არააქტიურ კასპაზას - ***პროკასპაზა-9-ს.*** ამ კომპლექსს აპოპტოსომა ეწოდება. აპოპტოსომის კომპლექსში ***Apf-1*** ამოიცნობს ***პროკასპაზას.*** ხდება ***კასპაზა-9***-ის აქტივაცია, რასაც მოსდევს კასპაზების კასკადური მექანიზმი. წარმოებს სხვა კასპაზების, მათ შორის ***კასპაზა-3***-ის გააქტიურება, რომელიც, პროტეაზული აქტივობის მეშვეობით, იწვევს სტრუქტურული ცილების მონელებას. შედეგად, წარმოქმნება აპოპტოზური ფრაგმენტები და ვითარდება უჯრედის სიკვდილი (სურ. 7.4).



სურ. 7.4. აპოპტოზის მიტოქონდრიული გზა.
Bid Bax, Bak- აპოპტოზის აქტივაციის გენების ცილოვანი პროდუქტები;
Apf-1-ადაპტორული ცილა; dATP -დეზოქსიადენოზინტრიფოსფატი

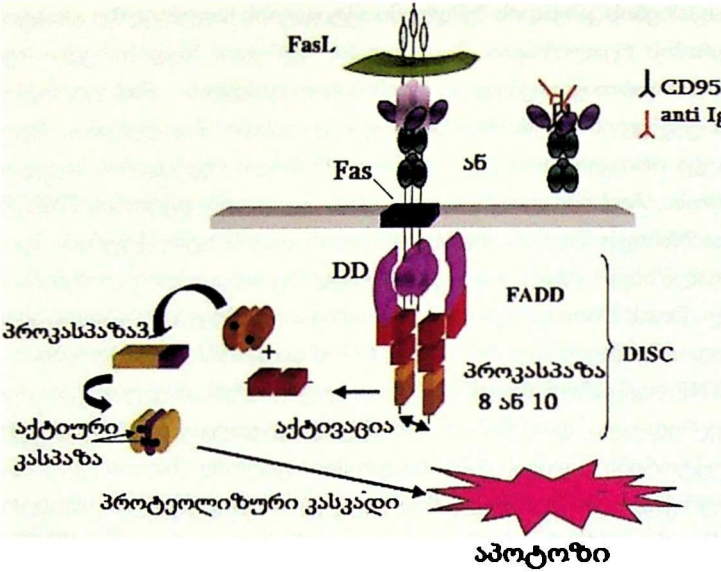
რეცეპტორული გზა. ცნობილია, რომ უჯრედის ზედაპირზე არსებობს სიკვდილის განსაკუთრებული რეცეპტორები, რომლებსაც შეუძლია შესაბამისი ლიგანდისაგან (ინდუქტორი) სპეციფიკური სიგნალის მიღება

და კასპაზების კასკადის შემდგომი აქტივაციის საფუძველზე აპოპტოზის პროგრამის რეალიზაცია. მაგალითად, უჯრედის ზედაპირული რეცეპტორი ***Fas*** ურთიერთქმედებს შესაბამის ლიგანდთან - ***FasL*** (ციტოტოქსიკური უჯრედების ტრანსმემბრანული ლიგანდი, T-კილერები), აქტიურდება და ირთვება ვირუსებით ინფიცირებული უჯრედების სიკვდილის პროგრამა. ***FasL*** მიეკუთვნება სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის ***TNF*** (ინგლ. Tumor Necrosis Factor) ოჯახს, ვინაიდან თავის სტრუქტურაში შეიცავს ციტოპლაზმურ უბანს (დომენს), რომელსაც სიკვდილის დომენებს - ***DD*** (ინგლ. Death Domain) უწოდებენ. ასეთი ტიპის რეცეპტორებიდან ამჟამად კარგადაა შესწავლილი ***Fas, APO-I, CD-95*** და ***TNFR1 რეცეპტორები.***

TNF რეცეპტორები ტრანსმემბრანულ ცილებს მიეკუთვნება. თავისი არაუჯრედული დომენებით მას შეუძლია, დაუკავშირდეს აპოპტოზის ინდუქტორებს - ლიგანდებს, ხოლო მისი ციტოპლაზმური უბნები აპოპტოზურ კასკადში მონაწილე მოლეკულებთან დაკავშირებას ემსახურება.

Fas -რეცეპტორი, რომელიც, ასევე, ცნობილია, როგორც ***CD-95*** (Cell Death), ციტოპლაზმური სიკვდილის დომენებით - ***DD*** უკავშირდება ადაპტორს - ***FADD*** (Fas-Associated Death Domain Protein), შიდაუჯრედულ ცილას. ადაპტორი მესენჯერის როლს ასრულებს სიგნალის რეცეპტორიდან კასპაზებისთვის გადაცემის პროცესში. ხდება პროკასპაზა-8-ის აქტივაცია, ყალიბდება კომპლექსი ***FasL*** - ***FADD*** - პროკასპაზა-8, რომელსაც აპოპტოსომას უწოდებენ. კასპაზა-8-ს აქტივაცია იწვევს კასპაზური კასკადის განვითარება და მთავრდება უჯრედის სიკვდილით (სურ. 7.5).

რიგ შემთხვევებში აპოპტოზის რეალიზაციისთვის ორივე აღწერილი მექანიზმის (მიტოქონდრიული და რეცეპტორული) გამოყენება ხდება.



სურ. 7.5. აპოპტოზის რეცეპტორული გზა.
FasL -ციტოტოქსიკური უჯრედების ტრანსმემბრანული ლიგანდი,
T-კილერები; Fas, CD95, antiIg -რეცეპტორი; DD- ციტოპლაზმურიდომენი;
FADD-ადაპტორი

გენი p53-ს როლი აპოპტოზში. საყურადღებოა, რომ უჯრედში არსებობს ცილები, რომლებიც „თვალყურს ადევნებენ" როგორც უჯრედის გაყოფის, ისე უჯრედის სიკვდილის პროცესებს. ამჟამად ცნობილია, რომ უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის რეალიზაციაში *p53*-გენის ცილოვანი პროდუქტი - ცილა P53 ღებულობს მონაწილეობას. ადამიანის გენომში *p53*-გენი ლოკალიზებულია მე-17 ქრომოსომის მოკლე მხარზე და აკოდირებს ცილას, რომლის მოლ. მასა 53კდალტონს შეადგენს. აქედან წარმოდგება მისი სახელწოდებაც. P53 ბუძუმწოვრების მთავარ ანტისიმსივნურ ცილად არის მიჩნეული. საინტერესოა, რომ შესწავლილი სიმსივნური უჯრედების 50%-ში *p53* გენი ინაქტივირებული აღმოჩნდა.

ცუდად რეპარირებული ან დაზიანებული დნმ-ის არსებობის შემთხვევაში უჯრედში გროვდება P53-ცილა, რომელსაც შეუძლია, შეაჩეროს უჯრედის გაყოფის პროცესები და/ან გამოიწვიოს აპოპტოზის ინდუქცია.

დნმ-ის დამაზიანებელი აგენტების შემცველი უჯრედების წარმოქმნა იწვევს P53-ცილის დაგროვებას და უჯრედული ციკლის გაჩერებას G1-ფაზაში. ამრიგად, P53-ცილა ორგანიზმს იცავს საშიში დაზიანებების (მუტაციების) შემცველი უჯრედების პროლიფერაციისაგან.

P53 წარმოადგენს ტრანსკრიფციის ფაქტორს, რომელიც არეგულირებს რიგი გენების ექსპრესიას. საყურადღებოა, რომ ის წარმოადგენს Cdk-ფერმენტის (ციკლინდამოკიდებული პროტეოკინაზის) მაკოდირებელი გენის ტრანსკრიფციის ინდუქტორს. როგორც უჯრედული ციკლის რეგულაციის პირობების განხილვისას გავეცანით, ციკლინდამოკიდებული კინაზები (Cdk) წარმოადგენს მიტოზის პროცესში მონაწილე ცილების ფუნქციონირების აუცილებელ პირობას (იხ. თავი 1- უჯრედული ციკლი). მთელი მიტოზური ციკლის განმავლობაში Cdk ინარჩუნებს აქტიურ მდგომარეობას, მიტოზის დასრულების შემდეგ მას უერთდება სპეციფიკური ცილა-ინჰიბიტორი, რომელსაც ის გადაჰყავს არააქტიურ მდგომარეობაში.

ფიქრობენ, რომ P53-ცილის წარმოქმნაზე უჯრედის საპასუხო რეაქცია დამოკიდებულია დნმ-ის დაზიანების ხარისხზე. სხვა სიტყვებით, უჯრედი ამ ნიშნით იღებს გადაწყვეტილებას, რომელი გზით წავიდეს - შეაჩეროს უჯრედული ციკლი თუ განახორციელოს აპოპტოზი. თუ გენომის დაზიანება არ არის ძალიან მნიშვნელოვანი, უჯრედული ციკლი დროებით ჩერდება, წარმოებს დნმ-ის რეპარაცია. ამის შემდეგაც უჯრედი აგრძელებს არსებობას - ახორციელებს რეპლიკაციის პროცესებს, რასაც მიტოზური გაყოფა მოსდევს.

გენომის მასიური დაზიანების შემთხვევაში, როცა დნმ-ის დაზიანებათა რეპარაცია ვეღარ ხერხდება, ირთვება აპოპტოზის პროგრამა და კასპაზური აქტივაციის კასკადი მთავრდება უჯრედის სიკვდილით.

ზოგიერთი სიმსივნის გამომწვევი ვირუსი აღჭურვილია აპოპტოზის მაინჰიბირებელი მექანიზმებით. კერძოდ, ონკოვირუსები გამოიმუშავებს სპეციფიკურ ცილებს, რომლებიც ცილა P53-ის ნორმალურ ფუნქციონირებას უშლის ხელს. მაგალითად, ადამიანის პაპილომის ვირუსის E6

და ადენოვირუსების bcl-2 ცილები. ნაპოვნია აგრეთვე კასპაზების ინჰიბიტორი ვირუსული გენები, რომლებიც CD-95-ით ინდუცირებული აპოპტოზის დათრგუნვას ემსახურება.

აღსანიშნავია, რომ ადამიანის ავთვისებიანი სიმსივნის უჯრედებში საკმაოდ ხშირად *p53*- გენის მუტაცია შეინიშნება. ასეთ დროს უჯრედი, ნაცვლად იმისა, რომ დაიღუპოს, უკონტროლოდ იზრდება და სიმსივნის წარმოქმნა ხდება. ნორმალური *p53*-გენის არსებობის შემთხვევაში უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის მექანიზმი მკვეთრად ამცირებს ავთვისებიანი სიმსივნით დაავადებათა სიხშირეს. ამრიგად, აპოპტოზი წარმოადგენს ავთვისებიანი სიმსივნის ბუნებრივი პროფილაქტიკის ძლიერ და მნიშვნელოვან იარაღს. სადღეისოდ შექმნილი მრავალი ანტისიმსივნური პრეპარატი სწორედ აპოპტოზის სტიმულირებისკენ არის მიმართული.

აპოპტოზის მნიშვნელობა შიდსისა და სხვა ინფექციურ დაავადებათა განვითარებაში

უჯრედულ გაყოფასა და უჯრედების პროგრამირებულ დაღუპვას შორის ფიზიოლოგიური ბალანსის დარღვევა ზოგიერთი სხვა, არასისიმსივნური დაავადების განვითარების საფუძველს წარმოადგენს. მაგალითად, ითვლება, რომ შიდსის (შეძენილი იმუნური დეფიციტის სინდრომი) დროს განვითარებული ლეიკოციტების განსაზღვრული კლასის შემცირება, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ორგანიზმის იმუნიტეტში, მათი აპოპტოზით არის განპირობებული. ამდენად, აივინფიცირებული (აივ - ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსი) უჯრედების შესწავლას დიდი მნიშვნელობა აქვს. დადგენილია, რომ ამ რნმშემცველი ვირუსით დაზიანებისას დაღუპული უჯრედების მნიშვნელოვან წილს არაინფიცირებული T-ლიმფოციტები წარმოადგენს. აღსანიშნავია, რომ ინფიცირებული უჯრედების რაოდენობა ძალიან მცირეა. აივვირუსის რიგი ცილები აპოპტოზის აქტივაციას განაპირობებს. მაგალითად, ვირუსის TAT-ცილა (ინგლ. Trans-Activator of Transcription – ტრანსკრიფციის ტრანს-აქტივატორი) ახდენს T-ლიმფოციტების აპოპტოზის ინდუქციას. დაავადების მსვლელობისას მნიშვნელოვნად მატუ-

ლობს Fas-რეცეპტორით ექსპრესირებული T-ლიმფოციტების რაოდენობა.

ვირუსის ცილები (TAT და gp-120 - გარსის გლიკოპროტეინი) განაპირობებს, ასევე, გაზრდილი რაოდენობის FasL ექსპრესიის ინდუცირებას, რაც Fas-დამოკიდებული აპოპტოზის გაძლიერებას უწყობს ხელს. HIV ვირუსის gp-120 (Envelope glycoprotein - გარსის გლიკოპროტეინი) ცილა უკავშირდება T-უჯრედების CD4 რეცეპტორს და, ასევე, ამ უჯრედების აპოპტოზის ინიცირებას ახდენს. საბოლოო ჯამში, აივ-ინფექციის დროს იმუნურ პასუხზე პასუხისმგებელი T-უჯრედების დიდი რაოდენობით დაღუპვა იმუნური სისტემის გამოფიტვას იწვევს.

აპოპტოზი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სხვადასხვა ტიპის ვირუსებით. გამოწვეული ინფექციური დაავადებების დროს. ბევრი ვირუსი უჯრედის დასნებოვნებისას ნივთიერებათა ცვლის ისეთ ღრმა დაზიანებებს წარმოქმნის, რომ უჯრედი „სიკვდილის გადაწყვეტილებას“ ღებულობს. ამ მოვლენის ბიოლოგიური მნიშვნელობა სრულიად ნათელია. ორგანიზმი ცდილობს, მოიცილოს დაზიანებული უჯრედი ვირუსების ახალი თაობის წარმოქმნასა და ინფექციის გავრცელებამდე. თუმცა, ზოგიერთ ვირუსს გამომუშავებული აქვს სპეციალური საშუალებები დასნებოვნებული უჯრედების აპოპტოზის დასათგუნად. ეს, შესაძლოა, იყოს გენეტიკურად კოდირებული ნივთიერებები, რომლებიც აგებულებითა და ფუნქციით ძალიან ჰგავს ანტიაპოპტოზურ ცილებს, მაგალითად, Bcl-2 ოჯახის ცილები ან პროტეაზული აქტივობის დამთრგუნველი ცილები, ან კიდევ, თავად ახდენს ანტიაპოპტოზური ცილების სინთეზს. ასეთ შემთხვევაში ვირუსის გამრავლებისთვის შეუფერხებელი პირობები იქმნება.

აპოპტოზის ბიოლოგიური მნიშვნელობა

ამრიგად, მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის ყველა უჯრედს აქვს სპეციალური პროგრამა, რომელიც გარკვეულ პირობებში მის სიკვდილს განაპირობებს. ნორმალურ პირობებში აპოპტოზი ორგანიზმისთვის არასაჭირო ან დაზიანებული უჯრედების სიკვდილს იწვევს. ესენია „უსაქმური“ და „პენსიონერი“ უჯრედები, რომლებიც „საზოგადოებრივ საქმეს“ ვეღარ ასრულებენ. „ინვალიდები“ და „დისიდენტები“, რომლებსაც

დარღვეული აქვთ გენეტიკური აპარატის სტრუქტურა ან ფუნქციები. კერძოდ, აპოპტოზი წარმოადგენს ონკოლოგიურ დაავადებათა თვით-პროფილაქტიკის ერთ-ერთ ძირითად ბიოლოგიურ მექანიზმს.

უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი იმუნიტეტის მნიშვნელოვანი ფაქტორია, ვინაიდან ინფიცირებული უჯრედების დაღუპვა ორგანიზმში ინფექციის გავრცელებას უშლის ხელს.

აპოპტოზის სისტემის დარღვევა სერიოზული დაავადებების მიზეზი შეიძლება იყოს. კერძოდ, მისი შესუსტება ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარების მიზეზად შეიძლება იქცეს, ხოლო გაძლიერება, ხშირ შემთხვევაში, ნეიროდეგენერაციული დაავადებების განვითარების მიზეზი ხდება.

საბოლოო ჯამში, აპოპტოზის ბიოლოგიური მნიშვნელობა ორგანიზმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში განუზომლად დიდია.

თავი 8. მოლეკულური ბიოლოგიის კვლევის ზოგიერთი თანამედროვე მეთოდი

მოლეკულური ბიოლოგია 21-ე საუკუნის ყველაზე სწრაფად განვითარებადი ბიოლოგიური დარგია, რაც, უპირველეს ყოვლისა, კვლევის მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდების განვითარებით არის განპირობებული. სწორედ მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდები დაედო საფუძვლად ბიოლოგიური ინფორმაციის განუხრელ ზრდას უკანასკნელი წლების განმავლობაში. სადღეისოდ, მოლეკულური ბიოლოგიის მეთოდები აქტიურად გამოიყენება არა მარტო ბიოლოგიაში, არამედ მედიცინის, სოფლის მეურნეობის, ეკოლოგიის, კრიმინალისტიკისა და არქეოლოგიის თეორიული და პრაქტიკული საკითხების გადასაწყვეტად.

მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში დაიწყო რეკომბინანტული დნმ-ტექნოლოგიების, ანუ დნმ-მანიპულაციის მეთოდების დანერგვა, რაც დნმ-ის მოლეკულის ნუკლეოტიდური შედგენილობისა და თანამიმდევრობების სხვადასხვა გზით შეცვლის საშუალებას იძლევა. ეს მეთოდები, სადღეისოდ, გაცილებით დაიხვეწა და გართულდა.

ამ თავში მოლეკულური ბიოლოგიისა და გენეტიკური ინჟინერიის ყველაზე საკვანძო მეთოდების ძირითად ასპექტებს განვიხილავთ. გავეცნობით დნმ- და რნმ-მანიპულაციის მეთოდებს, გარკვეულწილად, შევეხებით ცილებსაც. მართალია, ცილების კვლევის მეთოდები, უფრო, ბიოქიმიის სფეროს წარმოადგენს, თუმცა, ეს ზღვარი უკანასკნელ პერიოდში თითქმის აღარ არსებობს.

რესტრიქციული ენდონუკლეაზები

მოლეკულური ბიოლოგიის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიღწევად ითვლება დნმ-მოლეკულების მკაცრად განსაზღვრულ საიტებში გაჭრის შესაძლებლობის გაჩენა. 1950-1970 წ.წ.-ში ჩატარებული ექსპერიმენტებით გამოვლენილი იქნა, რომ ზოგიერთი ბაქტერია სხვა დნმ-ის შემცველ არეზე მოხვედრისას ამ უკანასკნელის დაშლას იწვევს მაშინ, როცა მათი საკუთარი დნმ დაუზიანებელი რჩება. აღმოჩნდა, რომ უცხო დნმ-ის დასაშლელად ეს ბაქტერიები იყენებენ სპეციალურ ფერმენტებს, რომ-

ლებსაც მოგვიანებით რესტრიქციული ენდონუკლეაზები ან რესტრიქტაზები უწოდეს.

რესტრიქტაზები დნმ-ს მოლეკულას ჭრის სპეციფიკურ საიტებში, მოლეკულის შიგნით (სურ. 8.1). ამით ისინი განსხვავდება სხვა, მსგავსი ფუნქციის ფერმენტების, ეგზონუკლეაზებისაგან, რომლებიც ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების გაჭრას და ჩამოცილებას აწარმოებს დნმ-ის ორმაგი სპირალის ბოლოებზე. დნმ-ის თანამიმდევრობებს, რომლებიც სპეციფიკურად ამოიცნობა რესტრიქტაზების მიერ, სამიზნე საიტებს უწოდებენ. რესტრიქციის სამიზნე საიტი შეიძლება იყოს სიმეტრიული (პალინდრომები) ან ასიმეტრიული. არ არის სავალდებულო, რესტრიქციულმა ფერმენტმა დნმ-ის მოლეკულა ზუსტად ამოცნობის საიტში გაჭრას, შესაძლოა, გაჭრის საიტი იყოს მისი მიმდებარე უბანი.

გამოყოფენ რესტრიქტაზების სამ ძირითად კლასს: რესტრიქტაზები I, რესტრიქტაზები II და რესტრიქტაზები III.

- პირველი კლასის რესტრიქტაზები (მაგ., *EcoK* – მიღებულია E.*coli k12*-დან) დნმ-ის ჯაჭვს ჭრის ამოცნობის საიტის მიმდებარე უბანში. გაჭრის საიტი არ არის მკაცრად განსაზღვრული თანამიმდევრობა;
- მეორე კლასის რესტრიქტაზები (მაგ., *EcoRI*) დნმ-ის მოლეკულას სპეციფიკურ, მკაცრად განსაზღვრულ უბანში ჭრის. ამოცნობის საიტს ამ კლასის ფერმენტებისათვის წარმოადგენს სიმეტრიული უბნები, პალინდრომები;
- მესამე კლასის რესტრიქტაზები (მაგ., *EcoPI*) დნმ-ის მოლეკულას ჭრის ამოცნობის საიტიდან რამდენიმე ნუკლეოტიდის დაცილებით. ისინი ზემოქმედებს ასიმეტრიულ თანამიმდევრობებზე. მიღებული ფრაგმენტები შეიძლება იყოს თანაბარი, ე.წ. ბლაგვი (ინგლ. bunt) ბოლოებით, ან გამოშვერილი 5'---3', ე.წ. წებვადი (ინგლ. sticky) ბოლოებით.

ამჟამად ათასობით სხვადასხვა სახის რესტრიქციული ენდონუკლეაზაა ცნობილი. დაახლოებით, 600-ზე მეტი სახის ასეთი ფერმენტი ფართოდ გამოიყენება მოლეკულური კვლევებისათვის.



სურ. 8.1. რესტრიქციის საიტები.

1- რესტრიქტაზა SmaI-ის მოქმედების საიტი, რომლის ზემოქმედებით „ბლაგვი“ ბოლოების მქონე ფრაგმენტი მიიღება;

2- რესტრიქტაზა EcoRI-ის მოქმედების საიტი, რომლის ზემოქმედებით „წებვადი“ ბოლოების მქონე ფრაგმენტების მიღება ხდება.

რესტრიქტაზები საკუთარი უჯრედის დნმ-ზე ვერ ზემოქმედებს, ვინაიდან ისინი ისეთნაირადაა მოდიფიცირებული, რომ ვეღარ ამოიცნობა საკუთარი რესტრიქტაზების მიერ.

სამიზნე საიტები, როგორც წესი, სხვადასხვა სიგრძისაა და მათი შეხვედრის ალბათობაც სამიზნე დნმ-ის შედგენილობაში განსხვავებულია. ამ მიზეზით, რესტრიქტაზებით დამუშავებისას სხვადასხვა სიგრძის დნმ-ის ფრაგმენტების მიღება ხდება.

პირველი რესტრიქტაზების გამოყოფის, მათი შესწავლისა და ქრომოსომათა კარტირებაში პირველად მათი გამოყენებისათვის 1978 წელს ვერნერ არბერს, დანიელ ნატანსა და ჰამილტონ სმიტს (Werner Arber, Daniel Nathans,Hamilton Smith) ნობელის პრემია მიენიჭათ.

დნმ-ლიგაზები

დნმ-ის ახალი მოლეკულების მისაღებად აუცილებელ პირობას ორი ჯაჭვის გაკერვის მეთოდის ფლობაც წარმოადგენს. ამ პროცესის განხორციელება ფერმენტ დნმ-ლიგაზების გამოყენებით მიიღწევა. ამ ფერმენტს უნარი შესწევს, გაკეროს დნმ-ის ორი მოლეკულის შაქარ-ფოსფატური ღერძები. როგორც ცნობილია, სხვადასხვა ორგანიზმის დნმ-ის ქიმიური შემადგენილობა უნივერსალურია. ამდენად, სხვადასხვა წყაროდან მიღებული დნმ-ის გაკერვა თავისუფლად არის შესაძლებელი და უჯრედი ვეღარ შეძლებს, განასხვაოს მიღებული დნმ საკუთარისაგან.

გელ-ელექტროფორეზი

ხშირად, დნმ-მანიპულაციების დროს, დნმ-ის სხვადასხვა სიგრძის ფრაგმენტებთან გვაქვს საქმე. მაგალითად, ორგანიზმიდან ქიმიურად გამოყოფილი დნმ-ის რესტრიქტაზებით დამუშავებისას, უმეტესწილად, მიიღება სხვადასხვა სიგრძის დნმ-ფრაგმენტების ნარევი.

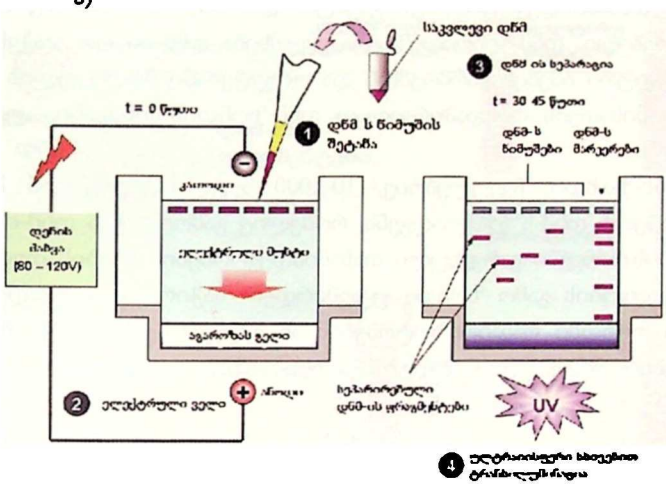
დნმ-ის ნებისმიერი მოლეკულა წყალხსნარში უარყოფითი მუხტის მატარებელია. ეს მახასიათებელი საშუალებას იძლევა, მოხდეს განსხვავებული სიგრძის ფრაგმენტების ელექტროფორეზული დაყოფა. გელ-ელექტროფორეზის მეთოდი დნმ-ფრაგმენტების სიგრძის მიხედვით დალაგების საშუალებას იძლევა. ამისათვის დნმ-ს ათავსებენ გელში. უმეტესად, გამოიყენება აგაროზის გელი. ამოცანიდან გამომდინარე, შესაძლებელია, პოლიაკრილამიდის გელის გამოყენებაც. გელს ათავსებენ მუდმივ ელექტრულ ველში. უარყოფითი მუხტის გამო დნმ-ის მოლეკულები გადაადგილდება ანოდისკენ (დადებითი ელექტროდი). ამასთან, გადაადგილების სიჩქარე დამოკიდებული იქნება მოლეკულის სიგრძეზე: მოკლე ფრაგმენტები გელში უფრო სწრაფად გადაადგილდება, გრძელი ფრაგმენტები უფრო ნელა. ელექტროფორეზის დასრულების შემდეგ, სხვადასხვა სიგრძის ფრაგმენტები გელში წარმოქმნის ზოლებს, ე. წ. „ბენდებს“, რომელთა სიგრძის განსაზღვრა შესაძლებელია სპეციალური მარკერების მეშვეობით (სურ. 8.2). მარკერებად იყენებენ უკვე ცნობილი სიგრძის დნმ-ფრაგმენტების ნარევს.

ელექტროფორეზის შედეგების ვიზუალიზაცია ორი გზით არის შესაძლებელი. პირველი, გელს უმატებენ ფლუოროსცენციულ ნივთიერებებს. ამ მიზნით, ტრადიციულად, ეთიდიუმის ბრომიდის გამოყენება ხდება, რომელიც იძლევა ნარინჯისფერ ნათებას. ეთიდიუმის ბრომიდით ვიზუალიზაცია ყველაზე ხშირად გამოყენებადი მეთოდია. მეორე მეთოდი რადიოაქტიური იზოტოპებით დანიშვნას გულისხმობს. ამისათვის იზოტოპები წინასწარ ემატება საანალიზო ნიმუშს. გელს ზემოდან ფოტოფირფიტას აფარებენ, რომელიც რადიოაქტიური გამოსხივების გამო დნმ-ის ზოლების ნათებას იძლევა. ვიზუალიზაციის ამ მეთოდს რადიოავტოგრაფირება ეწოდება.

გარკვეულ შემთხვევებში, იმავე მიზნით, გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გარდა, კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდსაც იყენებენ.

ჩვეულებრივ, კაპილარები პოლიაკრილამიდის გელით ივსება. ეს მეთოდი გაცილებით მგრძნობიარეა და ერთი ნუკლეოტიდით განსხვავებული სიგრძის დნმ-ის მოლეკულების იდენტიფიკაციის საშუალებასაც კი იძლევა.

ა)



ბ)



სურ. 8.2. დნმ-ის ელექტროფორეზის სქემა აგაროზის გელში(ა). ელექტროფორეგრამა (ბ)

ჰიბრიდიზაცია დნმ-ზონდებით

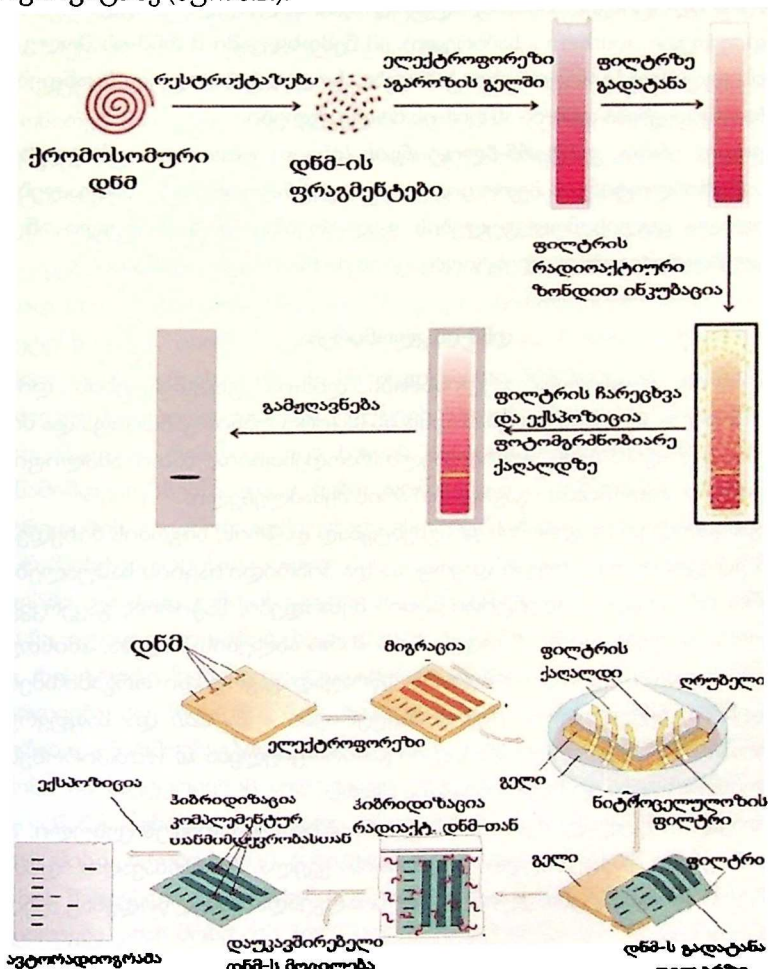
ელექტროფორეზის მეთოდი ნარევში დნმ-ის მოლეკულების სიგრძის იდენტიფიკაცის საშუალებას იძლევა, მაგრამ ვერ ხერხდება მათი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის დადგენა. ელეტროფორეზის გზით დაყოფილი დნმ-ის რომელი ზოლი შეიცავს განსაზღვრული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ფრაგმენტს, დნმ-ის ჰიბრიდიზაციით არის შესაძლებელი. დნმ-ჰიბრიდიზაცია ეფუძნება დნმ-ის ორ ჯაჭვს შორის წყალბადური ბმების წარმოქმნას და ორჯაჭვიანი მოლეკულის ფორმირებას. ამისათვის, თავდაპირველად, დნმ-ზონდის სინთეზია აუცილებელი.

დნმ-ზონდი, ჩვეულებრივ, 10-1000 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარ ერთჯაჭვიან დნმ-ს წარმოადგენს, რომელიც გამოიყენება დნმ-ის მოლეკულების ნარევში გარკვეული თანამიმდევრობების ძიებისათვის. კომპლემენტარობის გამო ზონდი უკავშირდება საჭირო თანამიმდევრობას, ხოლო ზონდში რადიოიზოტოპების ან ფლუროსცენციული მარკერის ჩაშენებით, მიღებული შედეგების ვიზუალიზაციაც ხერხდება.

საუზერნ-ბლოტინგი

ელექტროფორეზის გზით დაყოფილი დნმ-ფრაგმენტების იდენტიფიკაციის ყველაზე ეფექტურ მეთოდს წარმოადგენს საუზერნ-ბლოტინგი (ინგლ. sauthern blotting). ეს მეთოდი აღმოჩენილ იქნა 1975 წელს და აღმომჩენის, *ედვინ საუზერნის (Edwin Southern)* სახელს ატარებს. პროცედურის განხორციელება დნმ-ფრაგმენტების ელექტროფორეზით იწყება, შემდეგ ის გადააქვთ მყარ მატარებელზე - ნიტროცელულოზის ფილტრზე ან ნეილონის მემბრანაზე. ამისთვის გელს ადებენ ნიტროცელულოზის ან ნეილონის ფურცელს და დნმ-ის დაყოფილი ფრაგმენტები გადააქვთ მასზე. დნმ-ის ფრაგმენტების გადასატანად, გელი განთავსებულია ტუტის შემცველ აბაზანაში. კაპილარული ეფექტით ფრაგმენტები გაედინება გელსა და ნიტროცელულოზაში, ზემოდან განთავსებული ფილტრის ქაღალდის მეშვეობით. ტუტე დნმ-ის დენატურაციას იწვევს. მიღებული ერთჯაჭვიანი ფრაგმენტები გადაიტანება და მაგრდება ნიტროცელულოზის მემბრანაზე (ბლოტზე). ნიტროცელულოზას ხსნიან გელს და დაამუშავებენ საკვლევი დნმ-ის მიმართ სპეციფი-

კური, რადიაქტიურად დანიშნული დნმ-სინჯით. ნიტროცელულოზას კარგად გადარეცხავენ, რათა მასზე დარჩეს მხოლოდ რადიოაქტიურ ზონდთან ჰიბრიდიზებული დნმ-ის მოლეკულები. ავტორადიოგრაფირების შემდეგ, დნმ-ის ეს მოლეკულები ზოლების სახით ჩანს ფოტოფირფიტაზე (სურ. 8.3.).



სურ. 8.3. საუზერნ-ბლოტინგის ჩატარების სქემა

ნოზერნ-ბლოტინგი

საუზერნ ბლოტინგის მეთოდიკის ადაპტაციით შესაძლებელი გახდა მისი გამოყენება რნმ-სპეციფიკური თანამიმდევრობების განსაზღვრის მიზნით. ამ მეთოდს **ნოზერნ-ბლოტინგი** ეწოდება. სახელწოდება საუზერნ-ბლოტინგის საწინააღმდეგოდ იქნა მიღებული (ინგლ. northern - ჩრდილოეთი; southern - სამხრეთი). ამ შემთხვევაში მ-რნმ-ის მოლეკულების გელ-ელექტროფორეზი ტარდება, ხოლო ჰიბრიდულ ზონდებად ხდება გამოიყენება დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულები.

კიდევ ერთი, *ვესტერნ-ბლოტინგის* (ინგლ. western - დასავლეთი), ანუ *იმუნობლოტინგის* მეთოდი, გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით დაყოფილი ცილის მოლეკულების ფილტრებზე ფიქსირებული ანტისხეულების მეშვეობით იდენტიფიკაციის მიზნით გამოიყენება.

დნმ-ის კლონირება

დნმ-ის კლონირება გულისხმობს დნმ-ის ფრაგმენტების დიდი რაოდენობით ასლების მიღებას. დნმ-ის საჭირო უბნის გამოყოფა და მისი მიღება, კვლევისათვის აუცილებელი რაოდენობით, მათი ამპლიფიკაციით (ლათ. amplificatio - გავრცობა) არის შესაძლებელი.

განვიხილეთ რა გენომის ფრაგმენტებად დაჭრის, სიგრძის მიხედვით მათი ელექტროფორეზული დაყოფისა და ჰიბრიდიზაციის საშუალებით საჭირო ფრაგმენტის იდენტიფიკაციის მეთოდები, საჭიროა, გავერკვეთ, როგორ შეიძლება დიდი რაოდენობით მათი ასლების მიღება. ამისთვის ორი ძირითადი მეთოდი არსებობს: სწრაფად გაყოფადი ორგანიზმების გამოყენება (ჩვეულებრივ, ესენია ბაქტერიები - *E. Coli* და საფუვრები *S.Serevisiae*) ან ანალოგიურ პროცესის განხორციელება *in vitro* პირობებში - პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ).

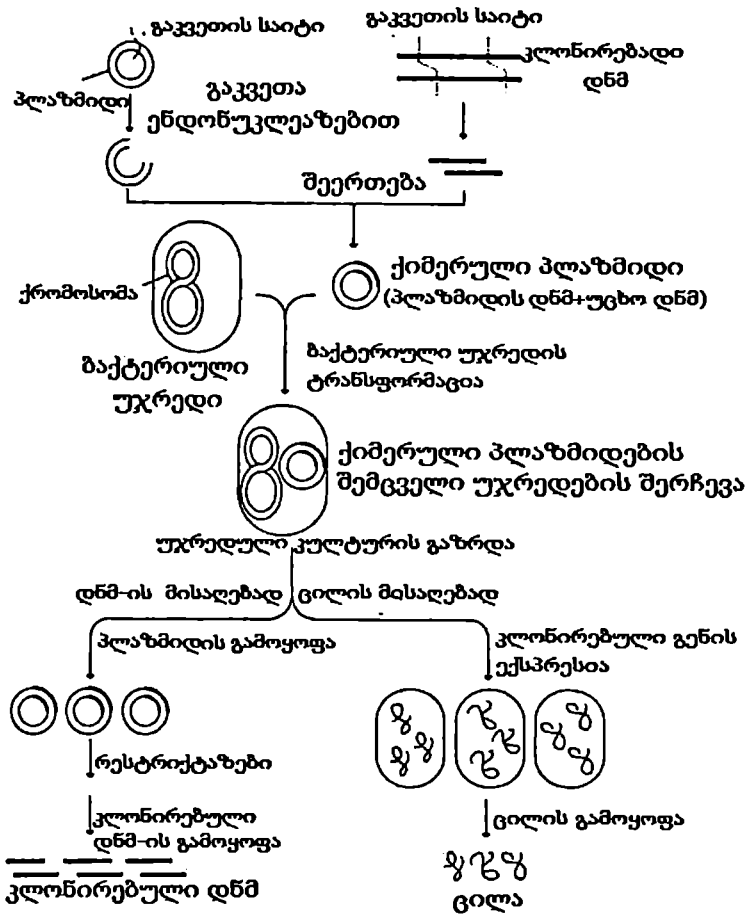
თავდაპირველად, მეთოდი ბაქტერიებზე იქნა დამუშავებული. ვინაიდან ერთი ბაქტერიული კოლონიის ყველა შთამომავალი დნმ-ის იდენტურ ფრაგმენტებს, კლონებს წარმოადგენდა, სახელწოდებაც აქედან დამკვიდრდა.

ბაქტერიის ყოველი უჯრედული ციკლის შედეგად (ისევე, როგორც ნებისმიერი უჯრედის, სასქესო უჯრედების გარდა) დნმ-ის გაორმაგება ხდება. ეს ფაქტი, შესაძლებელია, გამოყენებულ იქნას საჭირო დნმ-ის გამრავლების მიზნით. რეკომბინანტული დნმ-ის გადასატანად გამოიყენება სპეციალური ვექტორული სისტემა.

ვექტორი წარმოადგენს დნმ-ის მოლეკულას, რომელსაც შეუძლია კლონირებადი დნმ-ის ფრაგმენტის გადატანა. ჩვეულებრივ, ვექტორებად იყენებენ პლაზმიდებსა და ბაქტერიოფაგებს. როგორც ვიცით, პლაზმიდი ბაქტერიული ქრომოსომისაგან დამოუკიდებლად რეპლიცირებად დნმ-ის წრიულ მოლეკულას წარმოადგენს. პლაზმიდები საკმაოდ ხშირად გვხვდება ბაქტერიებში. მათი გადატანა სხვა ბაქტერიულ შტამებსა და სხვადასხვა სახეობის ბაქტერიებშიც კი „ჰორიზონტალურად“ ხდება. უმეტესწილად, ისინი ანტიბიოტიკებისადმი და ბაქტერიოფაგებისადმი გამძლეობის გენებს შეიცავს. სწორედ ასეთი პლაზმიდები გამოიყენება მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევებისათვის. პლაზმიდები, როგორც წესი, შეიცავს რეპლიკაციის საწყის საიტებს, რესტრიქტაზის სამიზნე თანამიმდევრობებსა და გენებს, რომლებსაც პლაზმიდების შემცველი უჯრედების ამოცნობა (უმეტესად, ეს არის რომელიმე ანტიბიოტიკისადმი რეზისტენტობის მაკოდირებელი გენი) შეუძლია. გარკვეულ შემთხვევებში, კერძოდ, დნმ-ის დიდი ფრაგმენტების შესწავლისას, პლაზმიდების ნაცვლად გამოიყენება ხელოვნური ბაქტერიული ქრომოსომები.

რესტრიქტაზებისა და ლიგაზების საშუალებით, დნმ-ის ფრაგმენტი ჩაერთვება პლაზმიდში, რის შემდეგაც ის ემატება ბაქტერიულ კულტურას და წარმოებს ტრანსფორმაცია (სურ. 8.4). შემდეგ ეტაპზე მიმდინარეობს იმ ბაქტერიების სელექციური გადარჩევა, რომელთა ტრანსფორმაცია წარმატებით დასრულდა. ამისთვის მას ემატება პლაზმიდის გენის შესაბამისი ანტიბიოტიკი. გასაგებია, რომ ცოცხალი მხოლოდ რეზისტენტობის შემცველი გენის მქონე უჯრედები და, შესაბამისად, პლაზმიდები გადარჩება. ამას მოსდევს პლაზმიდების გამოყოფა და რესტრიქტაზების საშუალებით მათგან დნმ-ის საკვლევი ფრაგმენტის მიღება. თუკი გენის პლაზმიდში გადატანა მისი ცილოვანი პროდუქტის გამოყოფის მიზნით მოხდა, საჭიროა, ბაქტერიული კულტურის გაზრდა, ანუ კლონირებული

გენის ექსპრესია განხორციელდეს, ხოლო შემდეგ გამოიყოს საჭირო ცილა.



სურ. 8.4. დნმ-ის ფრაგმენტის ბაქტერიულ უჯრედში კლონირების სქემა

ამრიგად, დნმ-ის ფრაგმენტების კლონირება რამდენიმე ეტაპს მოიცავს:

- კლონირებადი ფრაგმენტების ჩართვა ვექტორული დნმ-ის მოლეკულაში (პლაზმიდში); მიიღება რეკომბინანტული, ქიმერული მოლეკულა - პლაზმიდი, რომელიც უცხო დნმ-ს შეიცავს;
- ეს კონსტრუქცია გადაიტანება მასპინძელი ბაქტერიის უჯრედში;
- რეკომბინანტული დნმ-ის შემცველი უჯრედების იდენტიფიკაცია;
- რეკომბინანტული დნმ-ის საჭირო რაოდენობის მიღება;
- საჭიროების შემთხვევაში, კლონირებული გენის ექსპრესია და ცილოვანი პროდუქტის გამოყოფა.

გენომის გაშიფვრამდე გენური კლონების იდენტიფიკაცია რთულ, ძვირადღირებულ და შრომატევად პროცესს წარმოადგენდა.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ) წარმოადგენს მოლეკულურ-ბიოლოგიურ მეთოდს, რომელიც დნმ-ის ფრაგმენტის კოლოსალური რაოდენობის (მილიონობით) ასლების მიღების საშუალებას იძლევა. *პჯრ მეთოდი პირველად 1983 წელს იქნა შემოთავაზებული კერი მულისის (Kary Mullis) მიერ, რისთვისაც მას, მაიკლ სმიტთან (Michael Smith) ერთად, 1993 წელს ნობელის პრემია მიენიჭა.* პჯრ მეთოდი საუკუნის აღმოჩენადაა მიჩნეული. ეს მეთოდი საშუალებას იძლევა, *in vitro* პირობებში დნმ-ის საკვლევი ფრაგმენტის რაოდენობა 10^{12}-ჯერ გავზარდოთ.

მეთოდი ემყარება ფერმენტების მეშვეობით დნმ-ის გარკვეული უბნების შერჩევით კოპირებას ხელოვნურ პირობებში. ცოცხალ უჯრედში მიმდინარე რეპლიკაციისგან განსხვავებით, პჯრ მეთოდის გამოყენებით დნმ-ის შედარებით მოკლე მონაკვეთების (ჩვეულებრივ, არაუმეტეს 3000 ნ.წ.) მრავალი ასლი მიიღება. არსებობს სხვა მეთოდებიც, კერძოდ, გრძელი რიგის ფრაგმენტების პჯრ-მეთოდი, ე.წ. LRP (ინგლ. Long Range PCR), რომელიც 20000 ნ.წ.-მდე დნმ-ის ფრაგმენტების ანალიზის საშუალებასაც კი იძლევა.

ფაქტობრივად, პჯრ წარმოადგენს დნმ-ის ფრაგმენტის მრავალჯერად ხელოვნურ რეპლიკაციას. როგორც რეპლიკაციის მექანიზმებიდან ვიცით, რეპლიკაციის პროცესის განხორციელებას, რეპლიკაციური ფერ-

მენტების გარდა, პრაიმერები სჭირდება, რომლებიც უჯრედში პრაიმაზეების მეშვეობით სინთეზირდება. პჯრ-ის დროს პრაიმერები ამპლიფიცირებად (გამრავლებად) უბანს ორივე მხრიდან შემოსაზღვრავს.

პჯრ ჩასატარებლად, თავდაპირველად, მზადდება სარეაქციო ნარევი, რომელშიც შედის: დნმ-მატრიცა; პრაიმერები; დნმ-პოლიმერაზა; თავისუფალი ნუკლეოტიდები და ნივთიერებები, რომლებიც აუმჯობესებს დნმ-პოლიმერაზის ეფექტურობას. ისინი ემატება სპეციალურ ბუფერს, რომელიც რეაქციის ჩატარებას უწყობს ხელს.

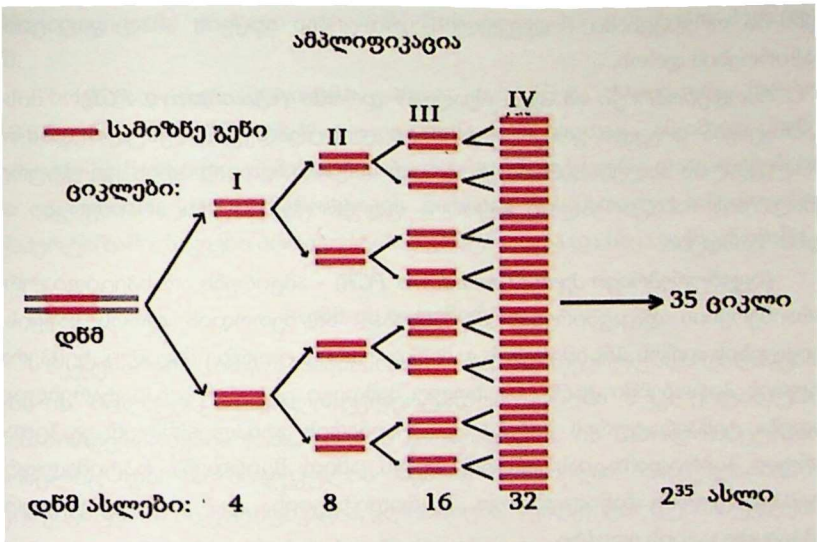
პირველი სტადია მოიცავს დნმ-ის დენატურაციას (ლღობას). დნმ-ის ჯაჭვებს შორის არსებული წყალბადური ბმების გაწყვეტა დაახლოებით 95°C-მდე ტემპერატურის პირობებში წარმოებს. იმისათვის, რომ მოხდეს პრაიმერების დნმ-ის მატრიცასთან დაკავშირება (გამოწვა), საჭიროა, ტემპერატურის დაწევა 50–65°C-მდე; ამ პროცესს გამოწვა (ინგლ. annealing) ეწოდება. შემდეგ ტემპერატურას ზრდიან დნმ-ის აქტივაციისთვის ოპტიმალური პირობების შესაქმნელად (ჩვეულებრივ, დაახლოებით 72 °C-მდე); იწყება ელონგაციის სტადია. ეს პროცესები სპეციალურ ხელსაწყოში - ამპლიფიკატორში ტარდება.

დნმ-ფრაგმენტების ამპლიფიკაციისთვის თერმოფილური ბაქტერიებიდან *(thermus aquaticus)* მიღებული დნმ-პოლიმერაზები, ე.წ. taq-პოლიმერაზები გამოიყენება, რომელიც კარგად უძლებს პჯრ-ის ჩატარებისთვის საჭირო ტემპერატურულ რეჟიმს და, ამდენად, მნიშვნელოვნად აადვილებს რეაქციის ჩატარებას.

პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციას ციკლური ხასიათი აქვს. პირველი ციკლის შემდეგ ფრაგმენტების რაოდენობა ორმაგდება. მეორე ციკლის შემდეგ კვლავ ორმაგდება და ასე მეორდება ყოველი ციკლის შემდეგ. სინთეზირებული ფრაგმენტების, ე.წ. ამპლიკონების რაოდენობა გეომეტრიული პროგრესიით იზრდება, ვინაიდან ახლად სინთეზირებული დნმ-ფრაგმენტები თავად წარმოადგენს მატრიცს მომდევნო ციკლში (სურ. 8.5).

ამპლიფიკაციის ციკლის მრავალჯერადი განმეორების შედეგად, რომელიც ზემოთ აღნიშნული ტემპერატურის ფარგლებში სინჯის გახურებისა და გაცივების პირობებში წარმოებს, დნმ-ის სპეციფიკური ფრაგმენტების რაოდენობა ექსპოტენციალურად იზრდება. ციკლის 30-

40-ჯერ განმეორებისას, დაახლოებით 1,5-3 სთ-ის შემდეგ საკვლევი ფრაგმენტების მილიონობით ასლი მიიღება.



სურ. 8.5. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის სქემა.
ყოველი ციკლის შემდეგ დნმ-ის რაოდენობის გაორმაგება ხდება.

პჯრ შედეგების გამოვლინებას (დეტექციას) მიღებული სარეაქციო ნარევის ელექტროფორეზული დაყოფით ახდენენ, ელექტროფორეგრამაზე დნმ-ის ასლები ნათელი ზოლების სახით გამოჩნდება.

ამჟამად პჯრ-მეთოდის მრავალი სახე არსებობს:

ინვერტირებული პჯრ (Inverse PCR) - გამოიყენება იმ შემთხვევაში, როცა ცნობილია საკვლევი მოლეკულის მხოლოდ მცირე უბანი. ეს მეთოდი აქტულურია, დნმ-ში ხელოვნურად გადატანილი უბნის მიმდებარე თანამიმდევრობების შესწავლის მიზნით;

პჯრ უკუტრანსკრიფციით (Reverse Transcription PCR, RT-PCR) - ატარებენ რნმ-ბიბლიოთეკებიდან ცნობილი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ამპლიფიკაციისა და იდენტიფიკაციის მიზნით. ჯერ მ-რნმ-ის მატრიცზე ფერმეტ რევერტაზის მეშვეობით ხდება დნმ-ის სინთეზი,

მიიღება ერთჯაჭვიანი კდნმ (კ-კლონირებული), ხოლო შემდეგ ტარდება ჩვეულებრივი პჯრ.

ასიმეტრიული პჯრ (Asymmetric PCR) - უპირატესად გამოიყენება დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის ერთ-ერთი ჯაჭვის ამპლიფიკაციის საჭიროების დროს.

რაოდენობრივი ან პჯრ რეალურ დროში (Quantitative PCR) - მისი გამოყენება ყოველი კონკრეტული ციკლის შემდეგ მიღებული დნმ-ის მოლეკულის ასლების რაოდენობრივი ანალიზისათვის არის ეფექტური. ანალიზის ჩასატარებლად საჭიროა ფლუროესენციური პრაიმერები ან დნმ-ზონდები.

საფეხურებრივი პჯრ (Touchdown PCR) - ამცირებს არასპეციფიკური პრაიმერების დაკავშირების ალბათობას. ამ მეთოდის დროს საწყისი ციკლების დროს პრაიმერების გამოწვა ოპტიმალურზე მაღალი ტემპერატურის პირობებში ტარდება, ხოლო შემდეგი ციკლების ჩასატარებლად ხდება ტემპერატურის მატება. ეს პრაიმერის კომპლემენტურ ჯაჭვთან სრულ ჰიბრიდიზაციას უწყობს ხელს. ამით მცირდება ოპტიმალური ტემპერატურის ნაწილობრივი ჰიბრიდიზაციისა და არასპეციფიკური ამპლიფიკაციის ეფექტი.

მოლეკულური კოლონიების პჯრ (molecular Colony - PCR Colony) - წინასწარ ტარდება აკრილამიდის გელის პოლიმერაზაცია და მას ემატება ყველა პჯრ-კომპონენტი. იმ წერტილებში, რომლებიც საანალიზო დნმ-ს შეიცავს, წარმოიქმნება მოლეკულური კოლონიები.

პჯრ ცხელი სტარტით (Hot-start PCR) - წარმოადგენს პჯრ მეთოდის მოდიფიკაციას, რომლის დროსაც საანალიზოდ გამოიყენებული დნმ-პოლიმერაზის აქტივობა ბლოკირებულია ანტისხეულებით.

რაპიდ-პჯრ RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) - პჯრ დნმ-ის შემთხვევითი ამპლიფიკაციის გზით. გამოიყენება გენეტიკურად მსგავსი უბნების გამოსავლენად. მაგალითად, მცენარეების, ცხოველების, მიკროორგანიზმების გენომების შესადარებლად და ა. შ. ამ მეთოდისთვის უმეტესწილად ერთი, მოკლე თანამიმდევრობის პრაიმერი გამოიყენება. მეთოდის ნაკლი იმაში მდგომარეობს, რომ შესაძლებელია შემთხვევითი უბნების ნაწილობრივი ჰიბრიდიზაცია, მაგრამ ოპტიმალური

პირობების შერჩევა (პრაიმერის სიგრძე, შედგენილობა და ა.შ.) იძლევა სასურველი შედეგის მიღწევის შესაძლებლობას;

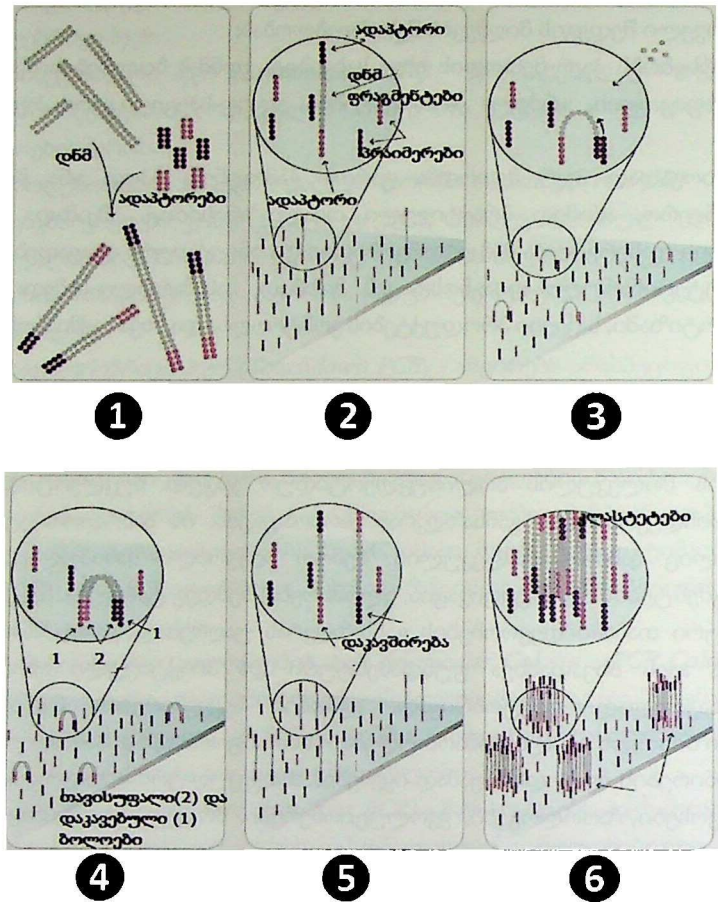
არსებობს პჯრ-მეთოდის სხვა სახეებიც; კდნმ-ს ბოლოების სწრაფი ამპლიფიკაციის, გრძელი ფრაგმენტების, ჯგუფ-სპეციფიკური პჯრ და ა.შ.

ზოგადად პჯრ მეთოდმა ფართო გამოყენება ჰპოვა არა მარტო სამეცნიერო, არამედ პრაქტიკული თვალსაზრისითაც. ამჟამად, პჯრ-მეთოდი დანერგილია მემკვიდრეობითიი და ინფექციური დაავადებებისა და ვეტერინარული დიაგნოსტიკის მიზნით, სასამართლო-სამედიცინო ექსპერტიზაში, საკვები პროდუქტების კონტროლსა და სხვა საქმიანობაში.

დნმ-ის სექვენირება

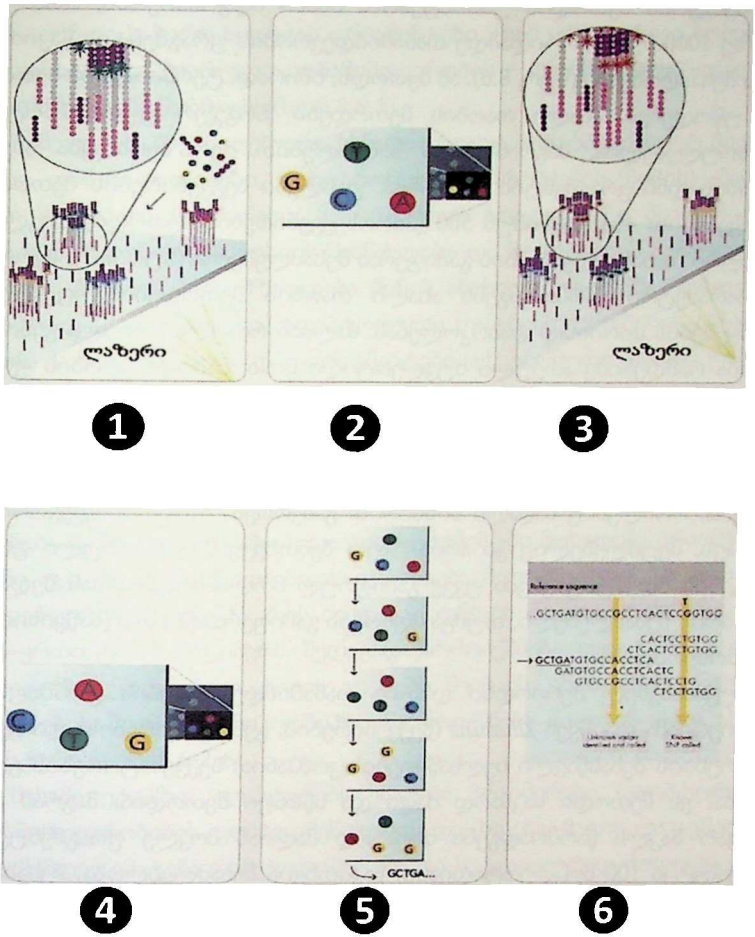
სექვენირება (ინგლ. Sequencing - თანამიმდევრულად დალაგება) დნმ-ის მოლეკულის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების განსაზღვრას წარმოადგენს. ის საბოლოო ეტაპია, რომელიც დნმ-ის მოლეკულის ზემოთ აღწერილი მანიპულაციების (ფრაგმენტების იდენტიფიკაცია, კლონირება) შემდეგ ტარდება. ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების განსაზღვრას უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს სხვადასხვა ფუნდამენტური და პრაქტიკული ამოცანის გადასაჭრელად. ფაქტობრივად, გენომის სექვენირების შედეგების ანალიზისთვის ახალი მიმართულება - ბიოინფორმატიკა ჩამოყალიბდა. სექვენირების მეთოდს ამჟამად იყენებენ მოლეკულური ბიოლოგები, გენეტიკოსები, ზოოლოგები, ევოლუციონერები. პრაქტიკულ მედიცინაში დნმ-ის სექვენირებას ატარებენ გენეტიკური დაავადებების ძიებისა და ინფექციურ დაავადებათა შესწავლის მიზნით.

ამჟამად დამუშავებულია დნმ-ის სექვენირების მრავალი მეთოდი, რომლებსაც, პირობითად, ორ კატეგორიად: „კლასიკურ“ და „ახალი თაობის“ მეთოდებად ყოფენ. კლასიკური მეთოდებიდან, ფაქტობრივად, სენგერის მეთოდი გამოიყენება. *ეს მეთოდი ინგლისელი მეცნიერის, ფრედერიკ სენგერის (Frederick Sanger) მიერ იქნა შემუშავებული, რისთვისაც მან 1980 წელს მეორედ მიიღო ნობელის პრემია (პირველი ნობელის პრემია სენგერს 1950 წელს, ინსულინის ამინომჟავური შედგენილობის გაშიფვრისთვის მიენიჭა).*



სურ. 8.6. მომზადება Illumina სექვენირებისთვის.

1. დნმ-ის საკვლევი ნიმუშების მომზადება, ფრაგმენტების რანდომული შერჩევა და ადაპტორების (პრაიმერების) მიმაგრება ფრაგმენტის ბოლოებზე; 2. დნმ-ის დაკავშირება მიკრო-ჩიპის ზედაპირთან; ამპლიფიკაცია; 3. ორმაგი ჯაჭვების შენება: დნმ-პოლიმერაზა კომპლენტურობის პრინციპით აშენებს დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვის ხიდებს; 5. მიღებული ორმაგი სპირალის დენატურაცია. 6.ამპლიფიკაციის დასრულება: მიიღება მილიონობით დნმ-კლასტერი.



სურ. 8.7. სექვენირება Illumina.

1. პირველი ფლუორესცენტულად მინიშნული ნუკლეოტიდების მიერთება კლასტერთან (სექვენირების პირველი ციკლი; 2. პირველი ციკლის შემდეგ მიერთებული ნუკლეოტიდების გამოვლენა; 3. მეორე ციკლი; 4. მეორე ციკლის შემდეგ მიერთებული ნუკლეოტიდების იდენტიფიკაცია; 5. მრავალი ციკლის შემდეგ მიერთებული ფრაგმენტის წაკითხვა; 6. სკანირების მონაცემების დამუშავება

სენგერის მეთოდის უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ ერთ ჯერზე 1000 ნუკლეოტიდამდე თანამიმდევრობის ფრაგმენტის წაკითხვა არის შესაძლებელი (სურ. 8.6). ამ მეთოდს, ხშირად, ტერმინაციის მეთოდსაც უწოდებენ. ახალი თაობის მეთოდები ზოგჯერ უფრო მარტივი შესასრულებელია, მაგრამ მათი საშუალებით ვერ ხერხდება ასეთი სიგრძის დნმ-ფრაგმენტის წაკითხვა. უახლესი სექვენირების მეთოდის გამოყენებით 454, მაქსიმუმ 500 (პიროსექვენირების მეთოდი) ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის გაშიფვრაა შესაძლებელი (სურ. 8.7). სწორედ ეს პარამეტრი წარმოადგენს ახალი თაობის მეთოდების ეფექტური გამოყენების ძირითად დაბრკოლებას. ძალიან რთულია მთელი გენომის აწყობა რამდენიმე ათეული ნუკლეოტიდიანი თანამიმდევრობის ფრაგმენტიდან. ამისათვის ბიოინფორმატიკოსების ძალიან დიდი ძალისხმევა და, როგორც მინიმუმ, სუპერკომპიუტერების გამოყენებაა აუცილებელი. ცალკეულ შემთხვევაში კი, მაგალითად, გენომის იმ ადგილების გაშიფვრა, რომლებიც მაღალი სიხშირით გამეორებად თანამიმდევრობებს შეიცავს, შეუძლებელიც კი არის. ასეთ შემთხვევაში, მიღებული ფრაგმენტების იდენტიფიკაცია უკვე გაშიფრულ მთლიან გენომთან შედარებით არის შესაძლებელი, თუმცა, გენომის გაშიფვრა ***de novo*** (საწყისიდან) ვერ მოხერხდება.

უკანასკნელ პერიოდში დნმ-ის თანამიმდევრობების გასაშიფრად მეცნიერებმა დაიწყეს ***Illumina*** (სექვენირების, გენოტიპირებისა და გენის ექსპრესიის შესასწავლი ხელსაწყოების კომპანია) სექვენატორების გამოყენება. ეს მეთოდი საკმაოდ იაფი და სწრაფი მეთოდია, მაგრამ აქაც მთავარ ნაკლს წარმოადგენს მხოლოდ ძალიან მოკლე ფრაგმენტების (არაუმეტეს 100 ნუკლეოტიდიანი) წაკითხვის შესაძლებლობა. შესაბამისად, რთულდება გენომის ***de novo*** გაშიფვრა.

მეთოდი სამ სტადიას მოიცავს:

- ფრაგმენტების ბიბლიოთეკების შექმნა;
- კლასტერების გამოყოფა;
- საკუთრივ სექვენირება.

პირველ ეტაპზე, სექვენირებული გენომიდან ან ნებისმიერი სხვა წყაროდან მიღებული დნმ-ის ფრაგმენტების ბიბლიოთეკის შექმნა ხდება. დნმ-ის მოლეკულა ულტრაბგერების ან სპეციალური ფერმენტების მეშვეობით იშლება რამდენიმე ასეული თანამიმდევრობის სიგრძის

შემთხვევით ფრაგმენტებად. ამ ფრაგმენტებიდან ექსპერიმენტატორის მიერ აირჩევა საჭირო სიგრძის ფრაგმენტები, რომელთა ორივე ბოლოზე სხვადასხვა ადაპტორული თანამიმდევრობის - პრაიმერების კოვალენტური მიერთება წარმოეებს (სურ.8.6-1).

შემდეგ ეტაპზე, მიღებული ხსნარი გადაიტანება სპეციალურ მიკროჩიპზე. დნმ-მიკროჩიპები, ელექტრონული მიკროსქემის (ჩიპის) ანალოგიით შექმნილი ხელსაწყოა. მოლეკულურ ბიოლოგიაში მიკროჩიპები გამოიყენება გენის ექსპრესიის შესწავლისა და მუტაციების გამოვლენის მიზნით. მიკროჩიპები მზადდება მინის ან სილიკონისგან, რომელზეც ქიმიურად „მიკერებულია“ ადაპტორული თანამიმდევრობების (პრაიმერების) კომპლემენტური დნმ-ფრაგმენტები. აქ გენომური დნმ-ის უბნები ადაპტორული თანამიმდევრობების მეშვეობით ემაგრება დნმ-ის მოლეკულებს მიკროჩიპზე. დნმ-პოლიმერაზას კატალიზური აქტივობა ხელს უწყობს ყველა ამ ფრაგმენტის მეორე, კომპლემენტური ჯაჭვის აგებას, რომელიც უკვე კოვალენტურად იქნება დაკავშირებული პრაიმერთან. ის იღუნება შემთხვევითი გზით და რაღაც მომენტში მოხვდება პრაიმერზე. ისინი უკავშირდება ერთმანეთს და აიგება მეორე ჯაჭვი. ეს პროცესი რამდენჯერმე მეორდება, რის შემდეგაც დნმ-ის მოლეკულას მოკვეთენ ერთ-ერთი ტიპის პრაიმერს. შედეგად წარმოიქმნება კლასტერები, რომლებიც მხოლოდ ერთი ტიპის ჯაჭვებს შეიცავს. ამ თანმიმდევრული რეაქციების შედეგად, მიკროჩიპზე წარმოიქმნება მილიონობით ასეთი კლასტერი (სურ. 8.6-2-6).

მესამე ეტაპზე, კლასტერებს ემატება პრაიმერები (ადაპტორული თანამიმდევრობების კომპლემენტური) და ხდება მათი დაკავშირება. ამის შემდეგ ემატება დნმ-პოლიმერაზა და სპეციალურად მოდიფიცირებული ნუკლეოტიდები. თითოეული ნუკლეოტიდი ფლუოროსცენტულად, სხვადასხვა ფერითაა მონიშნული. ამის შემდეგ ხდება სინთეზის ბლოკირება. ნუკლეოტიდები კომპლენტურობის წესით უკავშირდება დნმ-ის მოლეკულას. შემდეგ კამერა ახდენს სკანირებას და ყოველ კლასტერში ჩნდება სპეციფიკური ფლუოროსცენციული ნათება. ამ სპეციფიკური ნათებით შესაძლებელია იმის გარჩევა, თუ რომელი ნუკლეოტიდი ჩაერთვება პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში. მომდევნო პროცედურა მოიცავს ნუკლეოტიდებიდან ფლუოროფორის მოხლეჩის რეაქციებსა და პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის შემდეგი სინთეზის ბლოკირებას.

აღწერილი პროცედურა კვლავ მეორდება. წარმოებს მიკროჩიპის სკანირება, რათა შესაძლებელი იყოს იმის განსაზღვრა, თუ რომელი ნუკლეოტიდი რომელ კლასტერს მიუერთდა და ა.შ. (სურ. 8.7). ამ გზით, ყოველ კლასტერში 100-მდე ნუკლეოტიდის სექვენირებაა შესაძლებელი. ასეთი კლასტერების რაოდენობა კი ასობით მილიონს შეადგენს. საბოლოო ჯამში, ათობით მილიარდი ნ.წ.-ის სექვენირება ხდება.

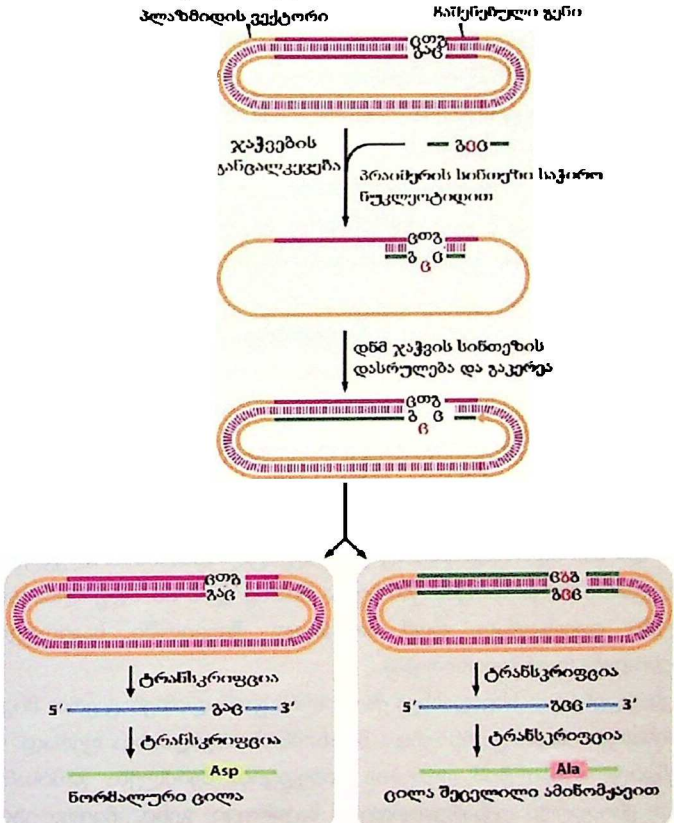
უახლესი ***Illumina*** სექვენატორები საშუალებას იძლევა, მნიშვნელოვნად გაუმჯობესდეს კვლევების ხარისხობრივი და რაოდენობრივი მაჩვენებლები და გამოყენებული იქნეს არა მარტო სამეცნიერო მიზნით, არამედ პერსონალიზებულ მედიცინაში, ონკოლოგიურ დავაადებათა დიაგნოსტიკაში და ა. შ.

In vitro მუტაგენეზი

გენის ფუნქციის შესასწავლად მნიშვნელოვანია გენში მუტაციის გამოწვევის მეთოდების ფლობა. მაგალითად, თუ მოხერხდა ისეთი ორგანიზმის მიღება, რომელშიც არ მუშაობს ესა თუ ის ფერმენტი, ბიოქიმიური განსხვავებების საფუძველზე შესაძლებელი გახდება ნორმალური ფერმენტის ფუნქციის დადგენა. ამისათვის საჭიროა შესაბამისი გენის ფუნქციის დათრგუნვა.

გენის ფუნქციის დათრგუნვის სხვადასხვა ხერხია ცნობილი. ერთერთ ასეთ მეთოდს წარმოადგენს დნმ-ის გარკვეული ფრაგმენტის ჩაშენება გენომში. თუკი ინსერცია საკვლევ გენში მოხდა, მაშინ ის ნორმალურად ვეღარ იფუნქციონირებს. ამჟამად დამუშავებულია მეთოდები, რომლებიც გენის თანამიმდევრობის და, შესაბამისად, მის მიერ კოდირებული ცილის შეცვლას უზრუნველყოფს საკმაოდ დიდი სიზუსტით. ერთ-ერთ ასეთ ცნობილ მეთოდია საიტ-სპეციფიკური მუტაგენეზი. მეთოდის არსს წარმოადგენს კონკრეტული გენის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობაში ერთი, კონკრეტული ნუკლეოტიდის შეცვლა. ამისათვის, პირველ ეტაპზე საჭიროა პლაზმიდში მოხდეს საკვლევი გენის კლონირება. ამის შემდეგ უნდა ჩატარდეს პჯრ რეაქცია ერთი პრაიმერით. ამასთან, პრაიმერი უნდა შეიცავდეს თანამიმდევრობას, რომლის ჩანაცვლებაც არის დაგეგმილი მოცემული ცდის მიხედვით. მაგალითად, სურათზე 8.8. ნაჩვენებია, რომ ა-თან შეწყვილებული თ-ის ნაცვლად, პრაიმერში ციტოზინიანი ნუკლეოტიდია. პლაზმიდის დნმ-ის მეორე ჯაჭვის სინთე-

ზის შემდეგ დაფიქსირდება მუტაცია - ადენინი ჩაინაცვლებს ციტოზინით. შემდეგ ასეთი პლაზმიდები გადაიტანება უჯრედში, სადაც გაყოფის შემდეგ ორჯაჭვიანი დნმ-ის თითოეული ჯაჭვი სხვადასხვა უჯრედში აღმოჩნდება. ამრიგად, მოცემული უჯრედის შთამომავლობის ნახევარში პლაზმიდის საწყისი ვარიანტი აღმოჩნდება, ნახევარში მუტანტური. შესაბამისად, უჯრედების ნახევარი საკვლევი გენის მიერ კოდირებულ ნორმალურ ცილას დაასინთეზირებს, ნახევარი - მუტანტურს. სურათზე აღწერილ შემთხვევაში მუტანტური ცილის მოლეკულის შედგენილობაში ამინომჟავა ასპარაგინის ნაცვლად ალანინი აღმოჩნდება.



სურ. 8.8. საიტ-სპეციფიკური მუტაგენეზის სქემა

გენის ექსპრესიის შესწავლა: დნმ-მიკროჩიპები

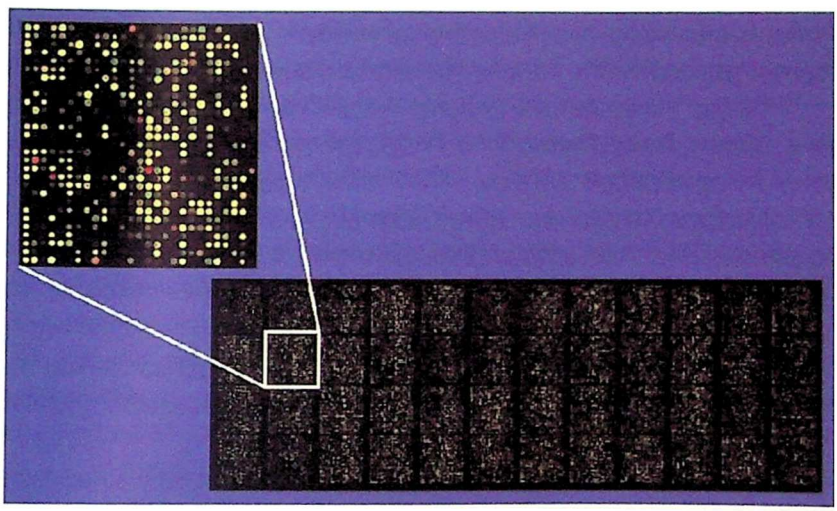
გენის ფუნქციის შესწავლისთვის მნიშვნელოვანია იმის ცოდნა, ორგანიზმის რომელ ქსოვილში და რომელ გენებთან ერთად ხდება მათი ფუნქციონირება (ექსპრესირება). როცა საკითხი ეხება გენებისა და ქსოვილების შედარებით მცირე რაოდენობას, გენის ფუნქციის შესასწავლად საკმარისია: ქსოვილიდან გამოიყოს რნმ, ჩატარდეს უკუტრანსკიფცია კომპლემენტური დნმ-ის (კდნმ) მოლეკულების მისაღებად და ჩატარდეს პჯრ ანალიზი. თუ პჯრ რეაქცია წარიმართა, შესაძლებელია, დავადგინოთ, არის თუ არა ქსოვილში საკვლევი გენის მ-რნმ.

მრავალი ქსოვილისა და გენის კვლევისას ეს მეთოდიკა არ გამოდგება. ის ძალიან ხანგრძლივი და ძვირადღირებულია. ასეთ შემთხვევაში, გამოიყენება დნმ-მიკროჩიპები - მცირე ზომის ფირფიტები, რომლებზეც დატანილია საკვლევი გენების შესატყვისი რნმ-ის კომპლემენტური დნმ-ის მოლეკულები. ამასთან, წინასწარაა ცნობილი, სად და რომელი მოლეკულაა დამაგრებული ფირფიტაზე. დნმ-მიკროჩიპის შექმნის ერთ-ერთ მეთოდს წარმოადგენს დნმ-ის სინთეზი უშუალოდ ჩიპზე რობოტის მეშვეობით.

მიკროჩიპების მეშვეობით გენის ექსპრესიის შესასწავლად საჭიროა, აგრეთვე, მოხდეს მათი კდნმ-ის სინთეზირება და მოინიშნოს ისინი ფლუორესცენციული საღებარით. ამ დროს სხვადასხვა გენის კდნმ-ის დაყოფა არ ხდება. ეს ნარევი გადაიტანება მიკროჩიპზე, რათა კდნმ-ისა და მიკროჩიპზე დატანილი დნმ-ის მოლეკულების ჰიბრიდიზაცია მოხდეს. ამის შემდეგ აკვირდებიან, სად ხდება ფლუორესცენციული ნათება და მას ადარებენ ჩიპზე განლაგებულ დნმ-ის მოლეკულებს. იმ შემთხვევაში, როცა ნათება ემთხვევა ჩიპზე დნმ-ის ადგილსამყოფელს, შეიძლება დავასკვნათ, რომ მოცემულ ქსოვილში საკვლევი გენი ექსპრესიდება (ფუნქციონირებს).

შესაძლებელია სხვადასხვა ქსოვილის გაანალიზებაც ერთ მიკროჩიპზე. ამისათვის მათი კდნმ უნდა მოინიშნოს სხვადასხვა ფერად. ფლუორესცენციული ნათების ფერების მიხედვით შეიძლება განისაზღვროს რომელ ქსოვილში ექსპრესირდება საკვლევი გენი. ჩვეულებრივ, ეს მეთოდი ვარგისია ორი განსხვავებული ნიმუშის იდენტიფიკაციისთვის. რამდენიმე ნიმუშის შედარების დროს ფერების შერევა ხდება (სურ. 8.9).

უკანასკნელ პერიოდში, დნმ-მიკროჩიპების ნაცვლად, სულ უფრო ხშირად მიმართავენ ქსოვილის მთლიანი კდნმ-ის სექვენირებას, ე.წ. ტრანსკრიპტომების შექნის მეთოდს. ამას სექვენირების მეთოდების გამარტივებამ შეუწყო ხელი. ეს მეთოდი უფრო იაფი და ეფექტურია, ვინაიდან მ-რნმ-ის სრული თანამიმდევრობების ცოდნა გაცილებით სრულ ინფორმაციას იძლევა, ვიდრე იმის იდენტიფიცირება, ფუნქციონირებს თუ არა ესა თუ ის გენი მოცემულ ქსოვილში.



სურ. 8.9. ფლუორესცენცია დნმ-მიკროჩიპზე კდნმ-ის შემცველი ხსნარით დამუშავების შემდეგ. წარმოდგენილ ფოტოზე მიკროჩიპზე დაახლოებით 37 500 დნმ-ის მოლეკულაა მიმაგრებული.

თავი 9. გენეტიკური ინჟინერია და ბიოტექნოლოგია

მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში, მოლეკულური ბიოლოგიის სფეროში დაგროვილი ფუნდამენტური მეცნიერული მიღწევებისა და მოლეკულური კვლევის მეთოდების განვითარების საფუძველზე ჩამოყალიბდა მოლეკულური ბიოლოგიის პრაქტიკული დარგები. შეიქმნა ახალი მიმართულება - გენეტიკური ინჟინერია და ბიოტექნოლოგია, რომლიც ამჟამადაც ისე მძლავრად ვითარდება, რომ 21-ე საუკუნის მეცნიერულ-ტექნიკური პროგრესის საფუძვლად არის მიჩნეული.

1972 წელს *პოლ ბერგმა, ჰერბერტ ბოიერმა და სტენლი კოენმა (Paul Berg, Herbert Boyer, Stanley Cohen)* მოლეკულური კლონირების ტექნოლოგიები დაამუშავეს. სწორედ მაშინ იქნა მიღებული პირველი რეკომბინანტული (სხვადასხვა ფრაგმენტისაგან ხელოვნურად კომბინირებული) დნმ. მათ მიერ კონსტრუირებული დნმ-ის მოლეკულა შეიცავდა მაიმუნის ონკოგენური ვირუსის SV40 (*Simian vacuolating virus)* მთლიან გენომს, λ - ბაქტერიოფაგის გენომის ნაწილსა და *E.coli*-ს გალაქტოზური ოპერონის გენებს. ამ გენიალური ექსპერიმენტებით საფუძველი ჩაეყარა მოლეკულური ბიოლოგიის ახალ მიმართულებას - *გენეტიკურ ინჟინერიას.*

გენეტიკური ინჟინერია (ბიოტექნოლოგია) წარმოადგენს გენეტიკური მასალის ახალი კომბინაციების მიღების ტექნოლოგიას, რომელიც საშუალებას იძლევა, სპეციალური გენეტიკური კონსტრუქციების მეშვეობით ერთი ორგანიზმის გენეტიკური მასალა ხელოვნურად იქნეს გადატანილი მეორე ორგანიზმში. წინასწარ განსაზღვრული გენეტიკური თვისებების მქონე რეკომბინანტული დნმ-ის მოლეკულების *in vitro* პირობებში სინთეზი გენეტიკური ინჟინერიის ძირითად საფუძველს წარმოადგენს. ამიტომაც, ხშირად გენეტიკურ ინჟინერიას რეკომბინანტული დნმ-ის ტექნოლოგიასაც უწოდებენ. გენებს, რომლთა გადატანა სხვა ორგანიზმში ხელოვნურად ხდება, *ტრანსგენებს* უწოდებენ, ხოლო ორგანიზმებს, რომლებშიც უცხო ორგანიზმის გენებია შეყვანილი, *ტრანსგენურ ორგანიზმებს.*

გენეტიკური ინჟინერია საშუალებას იძლევა, გენეტიკური მანიპულაციები განხორციელდეს გენურ (მათ შორის გენის ცალკეული ფრაგმენტების), ქრომოსომურ და უჯრედულ დონეზე. ამჟამად გენეტიკური ინჟინერიის მიღწევები გამოიყენება ტრანსგენური მცენარეების, ცხოველების, მიკროორგანიზმების შტამების შექმნის, ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების სინთეზის, ადამიანისა და ცხოველთა მემკვიდრეობითი დაავადებების დიაგნოსტიკის, ცალკეული ორგანიზმის, ორგანოებისა და უჯრედების კლონირების, გენური თერაპიის პრინციპების შემუშავების მიზნით, ეთნოგრაფიის, კრიმინალისტიკის და მრავალი სხვა სფეროს საკითხების გადასაწყვეტად. გენეტიკურ ინჟინერიაში ამჟამად გამოყოფენ ორ ძირითად მიმართულებას - გენური და უჯრედული ინჟინერია. გენური ინჟინერიის ცნება მოიაზრებს მანიპულაციებს დნმ-ის რეკომბინანტული მოლეკულების შექმნის მიზნით. გენური ინჟინერიის მანიპულაციის ობიექტს წარმოადგენს დნმ-ის მოლეკულები, ცალკეული გენები ან გენის ცალკეული ფრაგმენტები. უჯრედული ინჟინერიის დროს კი გენეტიკური მანიპულაციები ტარდება მცენარეული ან ცხოველური ორგანიზმების იზოლირებულ უჯრედებზე ან უჯრედთა ჯგუფებზე.

გენური ინჟინერია გენეტიკური ინჟინერიის ერთ-ერთ ყველაზე განვითარებად და პერსპექტიულ მიმართულებად მიიჩნევა. გენური ინჟინერიის მანიპულაციების პროცესი სამ ძირითად ეტაპს მოიცავს:

1. საჭირო გენის მიღება ტრანსგენეზის შემდგომი საფეხურების ჩასატარებლად. ამ მიზნით, გენი შეიძლება მიღებული იქნეს ბუნებრივი წყაროდან (რომელიმე ორგანიზმის გენომიდან) ან ხელოვნურად იქნეს დასინთეზებული;

2. რეკომბინანტული კონსტრუქციის მიღება და გადატანა რეციპიენტის სამიზნე უჯრედში;

3. სამიზნე უჯრედში ტრანსგენის არსებობის შემოწმება.

გენების იზოლირება. აღნიშნული მანიპულაციებიდან ყველაზე რთულად შესასრულებელი სწორედ ეს ეტაპია, ვინაიდან გენომში არსებული ათასობით გენიდან უნდა მოხდეს ერთი გენის გამოყოფა, რომელიც კონკრეტული ცილის სინთეზს უზრუნველყოფს. გარკვეულ შემთხვევებში, შედარებით მცირე ზომის გენების მისაღებად, შესაძლებელია,

გენის ხელოვნურად მიღება. გენის ხელოვნური სინთეზი, შესაძლოა, ქიმიური ან ფერმენტული გზით განხორციელდეს.

გენის ქიმიური სინთეზი პირველად 1967 წელს ჩატარდა გობინდ ქორანას (აშშ) ლაბორატორიაში. მან შეძლო 77 ნ.წ. სიგრძის დნმ-ის მოლეკულის ქიმიური სინთეზი, რომელიც საფუვრების გენომში ალანინის ტრნმ-ის მაკოდირებელ გენს წარმოადგენდა. მართალია, ეს გენი ფუნქციურად არააქტიური აღმოჩნდა, ვინაიდან არ გააჩნდა რეგულატორული უბანი, მაგრამ ეს ექსპერიმენტი უდიდეს მიღწევად ითვლება გენის ხელოვნური სინთეზის მეთოდების შემდგომი განვითარებისათვის. გენის ხელოვნური სინთეზის შესაძლებლობები გაცილებით სრულყოფილი გახდა მას შემდეგ, რაც 1970 წელს *ჰოვარდ თემინის, დევიდ ბალტიმორისა და რენატო დულბეკოს (Howard Martin Temin, David Baltimore and Renato Dulbecco)* მიერ აღმოჩენილ იქნა უკუტრანსკრიფციის მოვლენა და ფერმენტი უკუტრანსრიფტაზა. ეს ფერმენტი საშუალებას იძლევა, მრნმ-ის მატრიცზე, უკუტრანსკრიფციის გზით, კდნმ-ის ჯაჭვის სინთეზი განხორციელდეს, მიიღება დნმ-რნმ ჰიბრიდი. შემდეგ ეტაპზე შესაბამისი აგენტების ზემოქმედებით დნმ-ისა და რნმ-ის ჯაჭვები ერთმანეთს სცილდება, ხოლო დნმ-ის ჯაჭვზე მისი კომპლემენტური მეორე ჯაჭვი აიგება. საბოლოოდ მიიღება დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულა - იზოლირებული გენი. ზოგადად, გენის ხელოვნური სინთეზის განსახორციელებლად აუცილებელია გენის ნუკლეოტიდური შედგენილობის ცოდნა. ამ მიზნით, თავდაპირველად იშიფრება ცილის მოლეკულების ამინომჟავური შედგენილობა, ხოლო შემდეგ, ამ მონაცემების საფუძველზე, მისი მაკოდირებელი გენის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა.

მოგვიანებით შემუშავებული იქნა გენომიდან გენების იზოლირების ტექნოლოგიები. ამისათვის რესტრიქტაზების ზემოქმედებით დნმ-ის მოლეკულას ჭრის მკაცრად განსაზღვრულ საიტებში. ასეთი გზით მიღებული გენები არ შეიცავს ინტრონებს (მათი ამოჭრა რესტრიქტაზებით ხდება). იზოლირებული გენები, შესაძლებელია, გამოყენებულ იქნას საკვლევი და ბაქტერიული დნმ-დნმ ჰიბრიდების მისაღებად. ბაქტერიული გენების რეგულატორული ოპერონებით ტრანსკრიბირდება „ახალი" გენები.

გენური ინჟინერიის გზით უკვე მიღებულია და ბაქტერიულ უჯრედში ფუნქციონირებს ადამიანის ინსულინის, α, β, γ- ინტერფერონის, ზრდის ჰორმონის, სისხლის შედედების ფაქტორის, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორისა და სხვა მრავალი გენი.

მიღებული გენის გამრავლება. გენური ასლების მიღება შესაძლებელია პჯრ მეთოდით ან რნმ-მატრიცაზე უკუტრანსკრიფციის გზით.

რეკომბინანტული კონსტრუქციის მიღება და გადატანა რეციპიენტის უჯრედში. გენომიდან საჭირო გენის გამოყოფის ან მისი სინთეზის შემდეგ წარმოებს ვექტორის (გადამტანი გენის) შერჩევა და კლონირებადი გენის ჩართვა მასში - რეკომბინანტული კონსტრუქციის შექმნა. ვექტორებად, უმეტესად, პლაზმიდები და ზომიერი ფაგები გამოიყენება. პლაზმიდში გენის ჩაშენებამდე პლაზმიდის წრიული მოლეკულა იჭრება ენდონუკლეაზური რესტრიქტაზებით და წრიულიდან წრფივ მდგომარეობაში გადაჰყავთ. დნმ-ის წრფივი სტრუქტურა აადვილებს მასზე კლონირებადი გენის მიერთების რეაქციებს. ამასთან, კლონირებადი გენისა და ვექტორის დამუშავება წარმოებს ერთი და იმავე რესტრიქტაზებით, რაც წებვადი ბოლოების წარმოქმნას და ლიგაზებით მათ გაკერვას უწყობს ხელს. წებვადი ბოლო დნმ-ის ერთ ჯაჭვზე რამდენიმე გაუწყვილებელი ნუკლეოტიდით არის წარმოდგენილი.

რეკომბინანტული კონსტრუქცია „კლონირებადი გენი-პლაზმიდი" შედის ბაქტერიის უჯრედში და გენეტიკურ სტრუქტურად იქცევა. ბაქტერიის უჯრედის გამრავლებასთან ერთად კლონირებადი გენის მრავალი ასლი წარმოიქმნება. ვინაიდან დონორი და ვექტორის მოლეკულები ერთი და იგივე რესტრიქტაზებით იჭრება, ბუნებრივია, მათი გაკვეთა მხოლოდ ერთნაირი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის მქონე უბნებში არის შესაძლებელი. შესაბამისად, დონორისა და ვექტორის წებვად ბოლოებზე წარმოიქმნება კომპლემენტური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები სწორედ ამ უბნებით ხდება დონორისა და ვექტორის (დნმ-ის ფრაგმენტის) ერთმანეთთან დაკავშირება. რეკომბინანტული გენები შემდგომი კლონირებისთვის (ასლების მისაღებად) ბაქტერიულ უჯრედში შეჰყავთ, სადაც მათი მრავალჯერადი კვლავგანახლება ხდება.

შემდეგ ეტაპზე, კლონირებული გენის ევკარიოტულ ორგანიზმში გადატანის (ტრანსდუქციის) მიზნით იყენებენ მიკროინიექციის,

ელექტროფორაციის, ტრანსფექციის, ლიპოსომებში შეფუთვის, მიკრონაწილაკებით დაბომბვისა და სხვა მრავალ მეთოდს.

მიკროინიექციის გზით, შესაძლებელია, ცხოველური უჯრედების ბირთვსა და მცენარეულ უჯრედში ვექტორში ჩართული ტრანსგენის შეყვანა. ტრანსფორმაციის ეფექტურობა ამ მეთოდის გამოყენებით ცხოველებში 50%-ს, ხოლო მცენარეულ უჯრედებში დაახლოებით 20%-ს შეადგენს.

ელექტროფორაციის მეთოდი მაღალი ძაბვის პირობებში უჯრედული მემბრანების განვლადობის გაზრდის თვისებას ემყარება. მაგალითად, მაღალი ძაბვის იმპულსით ზემოქმედებისას დროებით გახსნილი ფორებიდან მცენარეული პროტოპლასტების დნმ-ის მოლეკულები ადვილად შეაღწევს მასში.

ტრანსფექციის მეთოდი ტრანსგენის კულტივირებადი ევკარიოტული უჯრედების გენომში ჩაერთვის მიზნით გამოიყენება. ამისათვის დნმ-ს უმატებენ კალციუმის იონებს. უჯრედი შთანთქავს დნმ-ის კალციუმიან ნალექს ფაგოციტოზის პრინციპით, რომელიც შემდეგ ჩაერთვება უჯრედის გენომში.

დნმ-ის ლიპოსომურ კაფსულებში შეფუთვის მეთოდი გამოიყენება ტრანსფორმირებადი დნმ-ის ნუკლეაზების ზემოქმედებისაგან დასაცავად. ტრანსფორმაციის დროს კაფსული გარეთ რჩება, ხოლო დნმ შეაღწევს უჯრედში.

მიკრონაწილაკებით დაბომბვის მეთოდი ძირითადად გამოიყენება ერთლებნიან მცენარეთა უჯრედებში ტრანსგენის შეყვანის მიზნით. რეციპიენტად იღებენ სუსპენზიურ კულტურას, კალუსურ ქსოვილს ან 4-5 დღიანი ჩანასახების კულტურას. დასაბომბად იყენებენ ოქროს ან ვოლფრამის 0,6-3 მკმ ზომის მიკრონაწილაკებს, რომელშიც შეტანილია ტრანსგენის შემცველი ვექტორი. სპეციალური „გენური ზარბაზნიდან“ ამ ნაწილაკების გამოსროლით ტრანსგენი შეაღწევს უჯრედის ბირთვში. მეთოდის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ გასროლის ცენტრში უჯრედების უმეტესობა იღუპება, თუმცა, ცენტრიდან დაახლოებით 0,6-1 სმ-ის რადიუსში ტრანსფორმაციის პროცესი შედარებით წარმატებით ხორციელდება.

სამიზნე უჯრედში ტრანსგენის არსებობის შემოწმება. ამ მიზნით იყენებენ მარკერულ გენებს, რომლებიც ვექტორში ტრანსგენებთან ერთად იმყოფება უჯრედში. მარკერული გენები ანტიბიოტიკებისა და ჰერბიციდების მიმართ მდგრადობის მაკონტროლებელ გენებს წარმოადგენს. ამდენად, ანტიბიოტიკებისა და ჰერბიციდების შემცველ არეში მხოლოდ ის უჯრედები გამრავლდება, რომელებიც მდგრადობის გენებს შეიცავს, რაც ადასტურებს მასში ტრანსგენების არსებობას.

სომატურ უჯრედთა ჰიბრიდიცია თანამედროვე გენეტიკური ინჟინერიის სადღეისოდ საკმაოდ კარგად აპრობირებულ მიმართულებას წარმოადგენს, რომელმაც უკვე პოვა პრაქტიკული გამოყენება, განსაკუთრებით, მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის სფეროში. ეს მიმართულება სომატური უჯრედებიდან იზოლირებული პროტოპლასტების შერწყმის მეთოდს ეფუძნება და გამოიყენება ახალი გენოტიპის მქონე ორგანიზმების მისაღებად. ტერმინი „სომატური ჰიბრიდიზაცია“ პირველად 1974 წელს იქნა შემოღებული.

სომატური უჯრედების ჰიბრიდიზაციის ჩასატარებლად გამოიყენება ვირუსი „სენდაი“ (SeV). ვირუსის სახელწოდება იაპონიის ქალაქ სენდაიდან წარმოდგება, სადაც ის პირველად იქნა აღმოჩენილი. ვირუსის გენეტიკურ მასალას წარმოადგენს რნმ, ახასიათებს მაღალი ფუზოგენური (შერწყმის) თვისებები. ჰიბრიდიზაციის მიზნით, წინასწარ ახდენენ ვირუსის გენეტიკური მასალის (რნმ-ის) ინაქტივაციას ულტრაიისფერი სხივებით ან ალკილური მუტაგენებით. შედეგად, ზიანდება ვირუსის რნმ, ხოლო ცილოვანი გარსი არ ზიანდება. ორი განსხვავებული ტიპის უჯრედის ნარევში ინაქტივირებული ვირუსის შეტანისას, იღუპება უჯრედების დიდი ნაწილი, მაგრამ წარმოიქმნება გარკვეული რაოდენობის მრავალბირთვიანი უჯრედები - ჰეტეროკარიონები. ისინი საერთო ციტოპლაზმაში ორივე მშობლის ბირთვებს შეიცავს. ზოგჯერ, ბირთვები ერწყმის ერთმანეთს და მიტოზური გაყოფის შემდეგ მიიღება ორი უჯრედი ერთი ბირთვით (სინკარიონები). ეს უჯრედები ჰიბრიდულ სომატურ უჯრედებს წარმოადგენს.

„სენდაი“ ვირუსის გამოყენებით მოხერხდა სრულიად განსხვავებული სახეობის ორგანიზმებისა და ქსოვილების უჯრედების ჰიბრიდიზაცია. მიღებულია თაგვისა და ადამიანის, ადამიანის და ქათმის, ვირ-

თაგვისა და თაგვის, ადამიანისა და კოღოს და ადამიანისა და სტაფილოს და მრავალი სხვა, ფილოგენეტიკურად განსხვავებული ორგანიზმების უჯრედების ჰიბრიდები. ასევე, შესაძლებელი აღმოჩნდა განსხვავებული ქსოვილების უჯრედების, ნორმალური და სიმსივნური უჯრედების ჰიბრიდიზაცია და ა. შ. ეს ჰიბრიდული უჯრედები, ხშირად, სიცოცხლისუნარიანია და საკმაოდ ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ინარჩუნებს გამრავლების უნარს.

ამჟამად მეცნიერები ცდილობენ, სომატური ჰიბრიდიზაციით მიღებული უჯრედები გამოიყენონ სხვადასხვა ბიოლოგიური პრობლემის გადასაჭრელად. ამ გზით შესაძლებელი აღმოჩნდა ადამიანის ქრომოსომების კარტირება (გენების ლოკალიზაციის ადგილის განსაზღვრა) და გენეტიკური ანალიზი. ჰიბრიდული უჯრედების შთამომავლობაში, ხშირად, ადგილი აქვს, ე.წ. ქრომოსომურ სეგრეგაციას - თანდათან იკარგება ერთ-ერთი საწყისი უჯრედის ქრომოსომა. მაგალითად, ადამიანისა და თაგვის ჰიბრიდული უჯრედებში, დაახლოებით ასი თანამიმდევრული უჯრედული გაყოფის, ანუ სამი თვის განმავლობაში მთლიანად ქრება ადამიანის ქრომოსომები. თუ რომელიმე ქრომოსომის დაკარგვის შემდეგ გარკვეული ფერმენტის გამომუშავება წყდება, ნათელია, რომ მოცემული ფერმენტის მაკოდირებელი გენი დაკარგულ ქრომოსომასთანაა ჯდომილი.

სომატური უჯრედების ჰიბრიდები პერსპექტიულია გენის ექსპრესიის რეგულაციის, ბირთვულ-ციტოპლაზმური ურთიერკავშირის, უჯრედების დიფერენცირების, ავთვისებიანი სიმსივნისა და სხვა პრობლემური საკითხების შესწავლის საქმეში.

მცენარეთა სომატური უჯრედების ჰიბრიდიზაცია მეცნიერთა განსაკუთრებული ინტერესის სფეროს წარმოადგენს და მიღებული შედეგებიც გაცილებით მნიშვნელოვანია პრაქტიკული თვალსაზრისით. მცენარეთა ჰიბრიდული უჯრედების მისაღებად გამოიყენება პროტოპლასტები, რომელთა გარსის დაშლა სპეციალური ფერმენტებით წარმოებს. პროტოპლასტების შერწყმას პოლიეთილენგლიკოლის (პეგ) ან სხვა ქიმიური აგენტებით დამუშავებით ახდენენ. ამ მეთოდით უკვე მიღებულია თამბაქოს ორი განსხვავებული სახეობის, ბარდისა და სოიის, თამბაქოსა და სტაფილოს და სხვა შორეული ჰეტეროკარიონები. ჰიბრიდულ უჯრე-

დებს აქვს უჯრედული გარსის აღდგენის უნარი და მრავლდებიან გაყოფის გზით. წარმოიქმნება არადიფერენცირებული მცენარეული ქსოვილი (კალუსი), რომელიც კარგად იზრდება ჰორმონებით მდიდარ საკვებ არეზე. ყლორტებისა და ფოთლების წარმოქმნის შემდეგ მათ ამყნობენ ერთ-ერთი მშობლისეული სახეობის მცენარეზე. ამ მეთოდით ზრდასრული მცენარის მიღებაც არის შესაძლებელი.

მცენარეთა ბიოტექნოლოგია

შეიძლება ითქვას, რომ გენეტიკური ინჟინერიისა და ბიოტექნოლოგიის მიღწევებმა პრაქტიკული გამოყენება ყველაზე მეტად სოფლის მეურნეობის სფეროში პოვა. პირველი ტრანსგენური მცენარე - თამბაქოს გენომში ჩაშენებული ბაქტერიის გენით, 1983 წელს იქნა მიღებული. ტრანსგენური მცენარეების (ვირუსული ინფექციებისადმი მდგრადი თამბაქო) პირველი წარმატებული საველე გამოცდა 1986 წელს ჩატარდა აშშ-ში, ხოლო 1994 წელს ბიოტექნოლოგიურმა ფირმებმა სამომხმარებლო ბაზარზე გაიტანეს პირველი ტრანსგენური პომიდორი და ჰერბიციდებისდამი მდგრადი სოია. 1999 წელს ტრანსგენური მცენარეები, უკვე, 40 მლნ. ჰა ფართობზე იყო გაშენებული, რაც დიდი ბრიტანეთის მიერ დაკავებულ ტერიტორიაზე მეტია.

ამჟამად სხვადასხვა სახის (სიმინდი, თამბაქო, კარტოფილი, ბრინჯი, ყაბაყი, ბამბა და სხვა) გენეტიკურად მოდიფიცირებულ მცენარეთა წარმოებას მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნის ასობით კომერციული ფირმა ემსახურება. ამჟამად აშშ-ში გენეტიკურად მოდიფიცირებული მცენარეების წილი სიმინდისა და სოიის ნათესების 50%-ს, ხოლო ბამბის ნათესების 30-40%-ს შეადგენს. მთლიანობაში, გენმოდიფიცირებულ მცენარეებს აშშ-ს სასოფლო-სამეურნეო სავარგულების 80% უკავია. ეს მონაცემები იმაზე მიუთითებს, რომ მცენარეთა ბიოტექნოლოგია შეადგენს პროდუქციის წარმოების მნიშვნელოვან წილს.

გენეტიკური ინჟინერიის განვითარების თანამედროვე ეტაპზე, ახალი ტრანსგენური მცენარეების შექმნა, არა მარტო მცენარის უკვე არსებული ნიშან-თვისებების გაუმჯობესებისკენ არის მიმართული, არამედ ისეთი მცენარეების გამოყვანას ისახავს მიზნად, რომლებიც ასინთეზირებს სრულიად ახალ ნაერთებს მედიცინაში, ქიმიურ წარმოებასა და

სხვა სფეროებში გამოყენების მიზნით. ასეთი ნაერთები შეიძლება იყოს: ცხიმოვანი მჟავები; შეუცვლელი ამინომჟავების დიდი რაოდენობით შემცველი ცილები; მოდიფიცირებული პოლისაქარიდები; ვაქცინები, რომელთა მიღება საკვების სახით იქნება შესაძლებელი; ანტისხეულები; ინტერფერონი და სხვა „სამკურნალო" ცილები; ახალი პოლიმერები, რომლებიც არ დააბინძურებს გარემოს და ა.შ. პერსპექტივაში, მასშტაბურმა და იაფმა ბიოტექნოლოგიურმა წარმოებამ უნდა უზრუნველყოს ტრანსგენური მცენარეების ხელმისაწვდომობა მომხმარებელთა ფართო წრისათვის.

პირველი ცდა გენური ინჟინერიის გზით მცენარის კვებითი ღირებულების გაუმჯობესების მიზნით, 1983 წელს განხორციელდა *დ. კემპისა და თ. ჰოლის* მიერ აშშ-ში. პარკოსნების სამარაგო ცილა ფაზეოლინის მაკოდირებელი გენი Ti-პლაზმიდური ვექტორებით გადატანილი იქნა მზესუმზირას გენომში. მიღებულ ქიმერულ მცენარეს *„სანბინი"* (ინგლ. sunbeen - sunflower and bean – მზესუმზირა და პარკოსნები) უწოდეს. მოგვიანებით, ფაზეოლინის გენი თამბაქოს გენომში იქნა შეტანილი, სადაც ტრანსგენის ექსპრესიის პროდუქტი მცირე რაოდენობით, მაგრამ ყველა ქსოვილში დაფიქსირდა.

იმავე მეთოდით მოახერხეს სიმინდის სამარაგო ცილა ზეინის მაკოდირებელი გენის ინტეგრაცია მზესუმზირას გენომში, რაც ერთლებნიანი მცენარის გენის ორლებნიანთა გენომში ინტეგრაციის პირველი წარმატებული მცდელობა იყო.

შეიძლება ითქვას, რომ მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის ყველაზე რეალურ შედეგს გაუმჯობესებული ამინომჟავური შედგენილობის ცილების შემცველი ტრანსგენური მცენარეები წარმოადგენს. ცნობილია, რომ მარცვლოვნების სამარაგო ცილებში აღინიშნება ლიზინის, ტრეონინისა და ტრიპტოფანის დეფიციტი, ხოლო ორლებნიანებში - მეთიონინისა და ცისტეინის. გენეტიკური ინჟინერიის გზით ამ ცილებში დეფიციტური ამინომჟავების დამატებითი შეყვანა ამინომჟავური დისბალანსის გამოსწორებას უზრუნველყოფს.

ტრანსგენურ მცენარეებს ცხოველური ცილების სინთეზიც შეუძლია. მაგალითად, ენკეფალინის მაკოდირებელი გენის ჩაშენებით ქიმერულ მცენარეებში *(Arabidopsis thaliana და Brassica napus)* მოხერხდა ნეიროპეპ-

ტიდ ენკეფალინის სინთეზი. სხვა შემთხვევაში შეჯვარებულ იქნა ორი ტრანსგენური მცენარე, რომელთაგან ერთში იმუნოგლობულინის გამა-სუბერთეულის, ხოლო მეორეში - კაპა-სუბერთეულის მაკოდირებელი გენი იყო შეყვანილი. ჰიბრიდულ შთამომავლობაში დასინთეზირდა იმუნოგლობულინის ორივე ჯაჭვი. ასევე, შესაძლებელი გახდა ტრანსგენური თამბაქოს მიღება, რომელიც სეკრეტორული მონოკლონურ იმუნოგლობულინებს აკოდირებს. ჩვეულებრივ, სეკრეტორული მონოკლონური იმუნოგლობულინები გამოიყოფა ადამიანისა და ცხოველების პირის ღრუსა და კუჭში და ნაწლავური ინფექციის განვითარების გზაზე პირველ ბარიერს წარმოადგენს. აღნიშნული ტრანსგენური მცენარის მიერ ხდება კბილის კარიესის გამომწვევი ბაქტერიების *(Streptococcus mutans)* მიმართ სპეციფიკური მონოკლონური ანტისხეულების სინთეზი. ფიქრობენ, რომ ასეთი ტრანსგენური მცენარეებიდან შესაძლებელია ანტიკარიესული კბილის პასტის შექმნა. უკვე გენეტიკური ინჟინერიის გზით მიღებულია და სამედიცინო თვალსაზრისითაც საინტერესოა, აგრეთვე, ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ინტერფერონის ასინთეზირებს. ასევე, ტრანსგენური კარტოფილი, რომელშიც მიღწეულია ქოლერის გამომწვევი β-ტოქსინის არატოქსიკური სუბერთეულის სინთეზი, რომელიც შეიძლება ქოლერის საწინააღმდეგო იაფი ვაქცინის მისაღებად იქნეს გამოყენებული.

მცენარეულ ბიოტექნოლოგიაში ჩატარებული კვლევებით მოხერხდა მათში ცხიმოვანი შედგენილობის შეცვლა, რომელთა გამოყენება უკვე ხდება სარეცხი საშუალებების, შამპუნების, კოსმეტიკური საშუალებების კომერციულ წარმოებაში.

მიმდინარეობს სამუშაოები კარტოფილისა და სხვა ისეთი ტრანსგენური მცენარეების მისაღებად, რომლებიც ინტენსიურად აგროვებენ სახამებელს. ამ კვლევების მიზანია, ტრანსგენურ მცენარეებში ძირითადად ამილოპექტინების შემცველი სახამებლის სინთეზის უზრუნველყოფა. ფიქრობენ, რომ მან სამომავლოდ კვების მრეწველობაში ამჟამად გამოყენებადი მოდიფიცირებული სახამებელი უნდა ჩაანაცვლოს.

მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ ყველაზე პერსპექტიულ მიმართულებად ჰერბიციდებისადმი და მავნებლებისადმი მდგრადი ტრანსგენური მცენარეების შექმნა არის მიჩნეული. თანამედროვე სოფ-

ლის მეურნეობა წარმოუდგენელია ჰერბიციდების გამოყენების გარეშე. მუდმივად ხდება ძველი, ეკოლოგიურად საშიში პრეპარატების ჩანაცვლება შედარებით ნაკლებად ტოქსიკური შენაერთებით. მიუხედავად ამისა, ნებისმიერი ჰერბიციდი გავლენას ახდენს არა მარტო სარეველას, არამედ კულტურული მცენარის ზრდა-განვითარებაზე. გენეტიკური ინჟინერიის გზით ჰერბიციდებისადმი მდგრადი ტრანსგენური მცენარეების მიღება შემდეგ ეტაპებს მოიცავს: ჰერბიციდების უკრედზე ზემოქმედების ბიოქიმიური სამიზნის გამოვლენა; კონკრეტული ჰერბიციდებისადმი მდგრადი ორგანიზმების შერჩევა მდგრადობის გენის წყაროდ გამოყენების მიზნით; ამ გენების კლონირება; მათი გადატანა საცდელ მცენარეში და მათი ფუნქციონირების შესწავლა. ცნობილია, რომ ჰერბიციდებისდმი მდგრადობა მონოგენური ნიშანია, ანუ უმეტესად, მხოლოდ ერთი გენით რეგულირდება. ეს ფაქტი მნიშვნელოვნად აადვილებს რეკომბინანტული დნმ-ტექნოლოგიების გამოყენებას მოცემული ნიშნის მქონე ტრანსგენური მცენარეების შექმნის საქმეში. ამჟამად მცენარის გენომში, გენური ინჟინერიის მეთოდით, ჰერბიციდების დესტრუქციისა და მოდიფიკაციის ფერმენტების მაკოდირებელი გენების შეტანის გზით, ჰერბიციდების ზემოქმედებისადმი მდგრადი მრავალი კულტურული მცენარეა მიღებული.

აღსანიშნავია მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის მიღწევები მავნებლებისადმი მდგრადი ტრანსგენური მცენარეების შექმნაში. ამ მიზნით აქტიურად გამოიყენება ბაქტერია *Bacillus thuringiensis*-ს სხვადასხვა შტამი, რომლებიც ცილა-ენდოტოქსინებს ასინთეზირებს. ეს ტოქსინები სპეციფიკურად ზემოქმედებს სხვადასხვა სასოფლო-სამეურნეო მავნებელ მწერზე. მათი უვნებლობა კი ადამიანისა და ცხოველებისთვის მრავალრიცხოვანი ცდებით არის დადასტურებული. ამ ცილის მაკოდირებელი გენის ჩაშენება ტრანსგენური მცენარის გენომში მავნებელი მწერებისაგან თავდაცვის საუკეთესო საშუალებას წარმოადგენს. ამ გზით უკვე მიღებულია და იწარმოება კოლორადოს ხოჭოსადმი მდგრადი კარტოფილი, პეპელა *Manduca sexta*-ს მუხლუხოების მიმართ მდგრადი ტრანსგენური თამბაქო. სულ ახლახან მიღებული იქნა ბარდისებრთა ოჯახის ტრანსგენური მცენარეები. ტრანსგენის მიერ სინთეზირებული ტოქსინი

გრძელცხვირა მატლების კვების ინჰიბირებას ახდენს. მაგალითად, ბრაზილიაში ეს მატლები ლობიოს მოსავლის 20-40%-ს ანადგურებდნენ.

მიმდინარეობს კვლევები სტრესებისადმი გამძლე ტრანსგენური მცენარეების მიღების, ფოტოსინთეზური პროდუქტიულობის გაზრდის, ბიოლოგიური აზოტფიქსაციის ეფექტურობის ამაღლების მიზნით და ა. შ.

ცხოველთა ბიოტექნოლოგია

გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენებით, მე-20 საუკუნის 80-იანი წლებიდან მეცნიერებმა დაიწყეს მუშაობა პირველი ტრანსგენური ცხოველების შესაქმნელად.

1979 წელს ოქსფორდის უნივერსიტეტის პროფესორმა, *ჯონ გერდონმა (John Gurdon)* გამოაქვეყნა ბაყაყის კლონირების სამეცნიერო კვლევის შედეგები. ექსპერიმენტი ჩატარდა კვერცხუჯრედიდან ბირთვის მოცილებისა და უბირთვო უჯრედში სომატური უჯრედების ბირთვის გადანერგვის გზით. ამ გზით მიღებული უჯრედებიდან ზრდასრული ბაყაყების მიღება მოხდა. 1997 წლის თებერვალში, სამეცნიერო ჟურნალ „Nature"-ში გამოქვეყნდა სტატია პირველი კლონირებული ძუძუმწოვრის - კლონირებული ცხვრის წარმატებული ექსპერიმენტის შესახებ. ცდის დროს 277 ენუკლირებულ კვერცხუჯრედში გადატანილ იქნა დონორის (6 წლის ცხვრის) სარძევე ჯირკვლის უჯრედებიდან აღებული ბირთვი. ჩამოყალიბდა 29 ემბრიონი, რომელთაგან მხოლოდ ერთი გადარჩა. ამ უჯრედიდან განვითარდა კლონირებული ცხვარი, რომელსაც სახელად დოლი უწოდეს. ზრდასრული სომატური უჯრედებიდან შთამომავლობის კლონირების მეთოდოლოგია შემდგომში წარმატებით დაინერგა მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის, თაგვებისა და მაიმუნების კლონების მისაღებად. კლონირების ექსპერიმენტები გრძელდება თერაპიაში მათი გამოყენების პერსპექტივების გამო.

უკანასკნელ პერიოდში გენური ინჟინერიის გზით, გენური იმპრიტინგის გარეშე, შეიქმნა მდედრი თაგვი ორი კვერცხუჯრედიდან. იმპრიტინგი ეპიგენეტიკური პროცესია, რომელიც არ არის გამოწვეული გენეტიკური მასალის სტრუქტურული ცვლილებით და გენების გამოვლინება ქრომოსომების წარმოშობაზე (დედისეული ან მამისეული) არის

დამოკიდებული. ამ დროს ექსპრესირდება ერთი გენის მხოლოდ დედისეული ან მამისეული ალელი. ჩვეულებრივ, იმპრიტინგი მოითხოვს აქტიური გენების ნაწილს მამრი, ნაწილს - მდედრი ორგანიზმისგან. მოცემულ შემთხვევაში ეს წინააღმდეგობა დაძლეულ იქნა და ხელოვნურად შექმნილი მდედრი თაგვი შთამომავლობასაც კი იძლეოდა.

ტრანსგენური ცხოველების მიღება ხდება ქსენოტრანსპლანტაციის (ქსენო - უცხო ორგანოს ან ქსოვილის ტრანსპლანტაცია სხვა, ბიოლოგიური სახეობის ცხოველიდან) მიზნითაც. ორგანოთა ანატომიური და იმუნოლოგიური მსგავსების გამო დონორებად, უმეტესად, ღორები განიხილება. ჰისტოშეუთავსებლობის რეაქციის ერთ-ერთ სიგნალად ითვლება მემბრანის ზედაპირზე განლაგებული ცილები. ტრანსგენურ ცხოველებში ეს ცილები ადამიანის ანალოგიური ცილებითაა ჩანაცვლებული.

ტრანსგენეზის კიდევ ერთ მიმართულებად დაავადებების მიმართ გამძლე ცხოველების მიღება ითვლება. ამ მიზნით, ტრანსგენური ცხოველების გენომში ცილა ინტერფერონის მაკოდირებელი გენის ჩართვას ახდენენ, რომელიც დამცველობითი უნარის მქონე ცილის წარმოქმნას უწყობს ხელს.

უკანასკნელ პერიოდში, ცხოველთა ბიოტექნოლოგიაში დაავადებათა გენეტიკური საფუძვლების შესწავლის მიზნით, დნმ-ის არამაკოდირებელი ჯაჭვისა და რნმ-ის გამოყენება ხდება. მათ ანტისენს ნუკლეინის მჟავებს უწოდებენ. ანტისენს ნუკლეინის მჟავები (დნმ, რნმ) - ეს არის გენეტიკური ინჟინერიის გზით მიღებული, მ-რნმ-ის კომპლემენტური ერთჯაჭვიანი დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულები. ანტისენს-მოლეკულები უკავშირდებიან მ-რნმ-ს, ახდენს მის ინაქტივაციას და ფიზიკურ ბარიერს ქმნის მ-რნმ-ის ტრანსლაციისათვის, რითაც გენის აქტივობის დათრგუნვას უწყობს ხელს. ამ მეთოდის გამოყენება სცადეს მეცხოველეობის ერთ-ერთი მწვავე პრობლემის - ცხოველებში გავრცელებული ლეიკოზის წინააღმდეგ, რომელიც ვირუსული რნმ-ით არის გამოწვეული. ტრანსგენური ბოცვრები, რომლებშიც შეყვანეს ანტისენს-რნმ-ის გენი, მდგრადი აღმოჩნდა ამ დაავადების მიმართ.

მიმდინარეობს ტრანსგენური სამოდელო ცხოველების გამოყენება ადამიანებში გავრცელებული დაავადების, მაგალითად, ნერვული სისტე-

მის მემკვიდრეობითი დაავადებების, ონკოლოგიურ დაავადებათა, რევმატოიდული ართრიტის, ლიპიდური ცვლის დარღვევით გამოწვეული დაავადებების შესწავლის მიზნით.

მიკროორგანიზმების ბიოტექნოლოგია

მიკროორგანიზმების, როგორც ბიოლოგიური აგენტების გამოიყენება, ბიომასის, ორგანული მჟავების, სპირტების, ამინომჟავების, ფერმენტების, ჰორმონების და სხვა ნაერთების მიღების მიზნით; ორგანულ ნაერთთა ტრანსფორმაცია - ბიოგაზის მიღება, გამდინარე წყლების გაწმენდა და სხვ. - ბიოტექნოლოგიის მნიშვნელოვან შემადგენელ ნაწილს წარმოადგენს. მიკრობული მეტაბოლიზმის მაღალი ინტენსივობა ბაქტერიული უჯრედის უნიკალურ თვისებაა. შესაბამისად, ბაქტერიულ უჯრედში გაცილებით სწრაფად მიმდინარეობს ნივთიერებათა სინთეზი. ეს საგრძნობლად აიაფებს სხვადასხვა ძვირფასი პროდუქტის - ცილების, ვიტამინების, ცხიმების, ფერმენტების, ანტიბიოტიკების წარმოების ღირებულებას. მათი წარმოებისათვის სუბსტრატად შეიძლება გამოყენებულ იქნეს სოფლის მეურნეობისა და წარმოების ნარჩენები, რაც, თავის მხრივ, მოგებიანია ეკოლოგიური თვალსაზრისითაც. რიგი პროდუქციის მიკრობიოლოგიური წარმოება ნაკლებად ენერგოტევადია, ქიმიურ წარმოებასთან შედარებით.

უკანასკნელ პერიოდში, გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით მიღებული სასარგებლო შტამების შექმნის შედეგად, გაცილებით გაიზარდა მიკროორგანიზმთა ბიოტექნოლოგიის ეფექტურობა. დაინერგა გენური ინჟინერიის გზით მიღებული ვაქცინების წარმოებაც. ტრადიციული ვაქცინების მიღება ვირუსებზე თერმული ან სხვა ფაქტორების ზემოქმედებით ინაქტივაციის გზით ხდება. ერთეულ შემთხვევებში, ამ დროს შესაძლოა, ვირუსი ცოცხალი გადარჩეს და ვაქცინაციის შემდეგ დაავადების განვითარება გამოიწვიოს. ასეთი რამ პრაქტიკულად გამორიცხულია გენური ინჟინერიის გზით მიღებული ვაქცინების გამოყენების დროს. მაგალითად, გენური ინჟინერიის გზით შექმნილია ჰეპატიტის ვირუსის დამცავი კაფსულის პროდუცენტი. ეს ცილა ადამიანის ორგანიზმში ჰეპატიტის ვირუსის მიმართ იმუნიტეტის გამომუშავებას უწყობს ხელს და, შესაბამისად, ასეთი ვაქცინაცია ინფექციას ვერ გამოიწვევს.

ამჟამად აქტიურად მიმდინარეობს ექსპერიმენტები შიდსის საწინააღმდეგო გენურ-ინჟინერული ვაქცინის შექმნის მიზნით.

გენური თერაპია

ევკარიოტული გენების ნატიფი სტრუქტურის შესწავლაში მოლეკულური ბიოლოგიის და გენეტიკის მიღწევების, მათი კარტირების, იდენტიფიკაციისა და კლონირების წარმატებული პროექტების, განსაკუთრებით კი, რეკომბინანტული დნმ-ტექნოლოგიების დახვეწის შემდეგ, მნიშვნელოვანი წინაპირობები შეიქმნა ცხოველებზე განხორციელებული კვლევებიდან ადამიანის დაავადებების მკურნალობის პირველ მცდელობაზე გადასვლისათვის. ადამიანის დაავადებების მკურნალობის ეს ახალი მიმართულება გენური თერაპიის სახელწოდებით დამკვიდრდა.

თანამედროვე გაგებით, გენური თერაპია განიხილება, როგორც გენეტიკური და არაგენეტიკური (ინფექციური) დაავადებების მკურნალობის ახლებური მიდგომა, რაც პაციენტის უჯრედებში გენების შეყვანის გზით დეფექტური გენების შეცვლას ან უჯრედებისათვის ახალი ფუნქციის მინიჭებას ისახავს მიზნად.

გენური თერაპიის მეთოდების პირველი წარმატებული კლინიკური გამოცდა 1990 წლის 14 სექტემბერს განხორციელდა აშშ-ში. პირველი პაციენტი, ოთხი წლის ამერიკელი გოგონა მემკვიდრეობითი კომბინირებული იმუნოდეფიციტით იყო დაავადებული, რაც ადენოზინდეზამინაზის (ფკ. 3.5.4.4.) მაკოდირებელი გენის (ADA) დეფექტით იყო განპირობებული. ამ დაავადების გამო ნებისმიერი ინფექცია ავადმყოფისთვის სასიცოცხლოდ საშიში იყო. მკურნალობა შემდეგი სქემით ჩატარდა: პაციენტის ორგანიზმიდან აღებული უჯრედების (T-ლიმფოციტები) *in vitro* პირობებში ტრანსფორმირების შემდეგ, გენომი ADA (გენი ADA + გენი *neo* + რეტროვირუსული ვექტორი) დააბრუნეს ორგანიზმში. ADA გენომის *neo* -გენი ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადი ნეომოცინფოსფოტრანსფერაზის (ფკ. 2.7.1.95.) მაკოდირებელ გენს წარმოადგენს. პროცედურა გაიმეორეს 3-5-თვიანი ინტერვალით. სამი წლის განმავლობაში ჩატარებული თერაპიის შედეგად გოგონა სრულიად გამოჯანმრთელდა. იგივე დაავადების მატარებელი მეორე პაციენტის გენური

თერაპიით მკურნალობის მცდელობაც, ასევე, წარმატებული აღმოჩნდა. ანალოგიური მკურნალობა შედეგიანად ჩატარდა იტალიაში, საფრანგეთში, დიდ ბრიტანეთსა და იაპონიაში.

პირველი წარმატებები სხვა მემკვიდრეობითიი დაავადებების გენოთერაპიული მკურნალობის სტრატეგიების შემუშავების მძლავრი სტიმული აღმოჩნდა. ამჟამად მეცნიერთა მიერ შედგენილია მემკვიდრეობით დაავადებათა საკმაოდ დიდი ნუსხა, რომელთა განკურნების შესაძლებლობას გენური თერაპიის გზით ისინი რეალურ პერსპექტივად მიიჩნევენ. მათი ნაწილი იმყოფება კლინიკური გამოცდის სხვადასხვა სტადიაზე (ცხრ. 3).

გარკვეული წარმატებებია მიღწეული გენური თერაპიით ზოგიერთი დაავადების, განსაკუთრებით, ონკოლოგიური დაავადებების მკურნალობაში. ამჟამად შემუშავებულია ონკოგენებისა და სიმსივნის სუპრესორების მოქმედების ნორმალიზაციის გარკვეული სტრატეგიები. მაგალითად, პროსტატის კიბოს მკურნალობისთვის პერსპექტიულად ითვლება *p53* (უჯრედული ციკლის რეგულაციის ტრანსკრიფციის ფაქტორის), *H-ras* (უჯრედულ ციკლში მონაწილე კინაზების) *Rb* (სიმსივნის სუპრესორის), *p21* (ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების ჰიგაუჯრედული ინჰიბიტორების) გენების ჩანაცვლების, *Bcl2* გენის ანტისენს-ოლიგონუკლეოტიდების (ანტიაპოპტოზური გენების სუპრესიის), ე.წ. გენითვითმკვლელების [ვირუსული თიმიდკინაზა (ფკ. 2.7.12) და ციტოზინდეზამინაზა (ფკ. 3.5.4.1)] გამოყენების სტრატეგიები.

კლინიკური გამოცდის სტადიას გადის ზოგიერთი ნეიროდეგენერატიული დაავადების (პარკინსონი, გენტიგტონის ხორეა) გენური თერაპიით მკურნალობის მეთოდი. მკურნალობის სტრატეგია ტვინის განსაზღვრულ ქერქქვეშა უბნებში უჯრედული კულტურის შეყვანას ეფუძნება, რომელთა მიერ გამომუშავებული ცილები ნერვული უჯრედების დეგენერაციის დამაბრკოლებელ ფაქტორს წარმოადგენს.

ცხრილი 3

მემკვიდრეობითი დაავადები, რომელთა მკურნალობა პერსპექტივაში გენური თერაპიით იგეგმება

დაავადება	დეფექტური გენი	სამიზნე უჯრედი
იმუნოდეფიციტი იმუნოდეფიციტი	ადენოზინდეზამინაზა პურინნუკლეოზიდფოსფორილაზა	ლიმფოციტი ლიმფოციტი
ოჯახური ჰიპერქოლისტერინემია	ლიპოპროტეინების რეცეპტორი	ჰეპატოციტები
ჰემოფილია B ჰემოფილია A გოშეს დაავადება (სფინგოლიპიტოზი)	ფაქტორი IX ფაქტორიVIII გლუკოცერებრიზიდაზა	ფიბრობლასტები მიობლასტები, მაკროფაგები, ღეროვანი უჯრედები
ჰანტერის დაავადება	იდურონატსულფატაზა	მაკროფაგები, ღეროვანი უჯრედები.
გურლერის სინდრომი	L-იდურონიდაზა	მაკროფაგები, ღეროვანი უჯრედები
ფილტვების ემფიზემა	ანტიტრიფსინი	ლიმფოციტები ბრონქების ეპითელიუმი
მუკოვასციდოზი ფენილკეტონურია	ტრანსმემბრანული რეგულატორი ფენილალანინჰიდროქსილაზა	ჰეპატოციტები

ჰიპერამონემია	ორნითინტრასკრაბამილაზა	ჰეპატოციტები
ციტრულინემია	არგინინოსუქცინატსინთაზა	ჰეპატოციტები
დუშესის კუნთის დისტროფია	დისტროფინი	მიობლასტები, მიოფიბრილები
თალასემია	გლობინი	ერითრობლასტები
ნამგლისებური ანემია რესპირატორული დისტსტრეს სინდრომი	გლობინი	ერითრობლასტები
ქრონიკული გრანულემატოზი	NADPH-ოქსიდაზა	ბრონქების ეპითელიუმი
ალცჰეიმერის დაავადება	ამილოიდის წინამორბედი ცილა	გრანულოციტები
პარკინსონის დაავადება მეტაქრომატული	ტიროზინჰიდროქსილაზა	ნერვული უჯრედები
ლეიკოდისტროფია	არისულფატაზა A	მიობლასტები, ფიბრობლასტები, ნერვული უჯრედები
ლეშ-ნიხანის სინდრომი	ჰიპოქსანტინფოსფორიბოზილტრანსფერაზა	ღეროვანი უჯრედები, ნერვული უჯრედები

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის პრობლემები და ეთიკური ასპექტები

გენური თერაპიისა და თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის სხვა სფეროს მიღწევები მჭიდრო კავშირშია ეთიკურ პრობლემატიკასთან. გენეტიკური ინჟინერიის გზით ახალი გენოტიპების შექმნა და გენური მანიპულაციები დეტალურ და ყოველმხრივ გააზრებას მოითხოვს. ჯერ კიდევ მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარების ადრეულ ეტაპზე, ამ დარგის კორიფე, კოლუმბიის უნივერსიტეტის პროფესორი, ერვინ ჩარგაფი აღნიშნავდა: „ათას ცდაში შეიძლება არაფერი დაშავდეს, მაგრამ ერთ რომელიმე შემთხვევაში, შესაძლოა, რაღაც ძალიან უსიამოვნო მოხდეს“. ის წერდა, რომ „ბუნების გარდაქმნისა და მოტყუების მცდელობა ოდესმე მის დაღუპვას გამოიწვევს“.

უდავოა, რომ გენური მანიპულაციებისა და გენეტიკური ინფორმაციის გენომის განსაზღვრულ უბანში მიზანმიმართული გადატანის ახალი ტექნოლოგიების გამოყენების შესაძლებლობების გაჩენა ბიოლოგიისა და მედიცინის უდიდეს მიღწევას წარმოადგენს. მეორე მხრივ, ბიოტექნოლოგიისა და გენეტიკური ინჟინერიის მიღწევებს თან ახლავს მთელი რიგი პრობლემები, მათ შორის, მორალურ-ეთიკური. გენური მანიპულაციების პირველი მსხვერპლი აღმოჩნდა მეხორცული ჯიშის ღორები, რომელშიც ადამიანის ზრდის გენი ჰქონდათ შეყვანილი. ცხოველებს განუვითარდათ ბევრი „ადამიანური“ დაავადება, მათ შორის, ართრიტი, რის გამოც მათ უჭირდათ გადაადგილება და მოძრაობა მხოლოდ ხოხვით შეეძლოთ. ხორცის მასის გაზრდა მათში სიმსივნური ზრდის ხარჯზე მოხდა. მეორე მაგალითს წარმოადგენს ტრანსგენური ბელგიური ცისფერი ჯიშის ძროხა. ექსპერიმენტულ ცხოველებს ჩვეულებრივთან შედარებით ძალიან ვიწრო მენჯი აქვთ, ხოლო ხბოები გაცილებით დიდი წონისანი იბადებიან. შესაბამისად, მათ ძალიან უჭირთ მშობიარობა, რასაც თან ახლავს აუტანელი ტკივილი და საკეისრო კვეთის გარეშე მასიურად იღუპებიან. მეცნიერებისა და საზოგადოების პროტესტის მიუხედავად, ამ ცხოველებზე აღნიშნული მანიპულაციები დღესაც გრძელდება. შვეიცარიული ყავისფერი მერძეული ჯიშის ძროხებში ტრანსგენის შეყვანით მნიშვნელოვნად გაიზარდა წველადობა, მაგრამ გამოვლინდა გენეტიკური დეფექტი, რომელიც იწვევს ტვინის დაავადებას. მიუხედავად იმისა, რომ მეცნიერებმა დეფექ-

ტური გენის იდენტიფიცირება შეძლეს, ექსპერიმენტი არ შეწყვეტილა. ფინანსური მოგება უფრო ღირებული აღმოჩნდა.

დაფიქსირდა შემთხვევები, როცა გენმოდიფიცირებული პროდუქციის მიღება ადამიანისთვის საზიანო აღმოჩნდა. მაგალითად, გენმოდიფიცირებული პროდუქციის მწარმოებელი ცნობილი ფირმის „Pioneer Hybrid International"-ის მიერ წარმოებულ გენმოდიფიცირებულ სოიაში ცილის შემცველობის გაზრდის მიზნით შეყვანილი ჰქონდათ ბრაზილიური კაკლის ტრანსგენი. ამ პროდუქტის მიღებამ მომხმარებლებში მასიურად გამოიწვია ალერგიული რეაქცია. ფირმა იძულებული გახდა შეეწყვიტა პროდუქციის წარმოება. არსებობს მონაცემები, რომ ერთ-ერთი იაპონური ფირმის მიერ წარმოებული გენმოდიფიცირებული საკვები დანამატის - „ტრიპტოფანის" მიღების შედეგად 5000 ადამიანი დაავადდა, ხოლო 37 დაიღუპა.

მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში მოქმედებს გენმოდიფიცირებული პროდუქციის ეტიკეტირების წესი. საქართველში გენმოდიფიცირებული პროდუქციის მარკირება სავალდებულოა და საქართველოს მთავრობის 2013 წლის 31 დეკემბრის N144 დადგენილებით რეგულირდება.

დღეს თითქმის ყველა თანხმდება გენური თერაპიის უდიდეს მნიშვნელობაზე თანამედროვე და მომავლის მედიცინაში. მიუხედავად ამისა, ამ დარგის განსაცვიფრებელ შედეგებს ზოგჯერ სავალალო წარუმატებლობაც ახლავს. 2003 წელს კომბინირებული იმუნოდეფიციტის მძიმე ფორმის გენოთერაპიით მკურნალობის ქვეშ მყოფი 10 ბავშვიდან ორი ლეიკემიით დაავადდა. დადგინდა, რომ თერაპევტული გენის გადამტანი ვირუსით ონკოგენის აქტივაცია მოხდა, რამაც გამოიწვია მძიმე გვერდითი ეფექტის განვითარება. ამ მიზეზით, 2003 წელს ამერიკის პროდუქტებისა და სამკურნალო პრეპარატების ხარისხის სააგენტომ აკრძალა კლინიკური ექსპერიმენტები ღეროვანი უჯრედების გადასატანად რეტროვირუსების გამოყენებით. 2004 წელს ეს აკრძალვა შერბილებული იქნა გენეტიკური ინჟინერიის სფეროში მიღებული მიღწევების გათვალისწინებით. რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენება დაუშვეს მხოლოდ ისეთ პაციენტებზე, რომელთა განკურნებისათვის არაეფექტური აღმოჩნდება ყველა სხვა მეთოდი.

მიუხედავად იმისა, რომ, სადღეისოდ, გენური თერაპიის სტრატეგიები სხვადასხვა დაავადების მკურნალობაში მიზანშეწონილად არის მიჩნეული, არსებობს შეზღუდვებიც. კერძოდ, ყველა მანიპულაცია მხოლოდ კონკრეტული პაციენტის და მხოლოდ სომატურ უჯრედებზე შეიძლება იყოს ჩატარებული. ადამიანის სასქესო უჯრედებისა და ემბრიონის უჯრედების გენების კორექცია აკრძალულია ხელოვნური გენური კონსტრუქციებით გენოფონდის „დანაგვიანებისა“ და არაპროგნოზირებადი შედეგების მომტანი მუტაციების შეტანის მაღალი რისკის გამო.

მიუხედავად უამრავი სიძნელისა, მეცნიერება აუცილებლად შეძლებს გენეტიკური ინჟინერიის დადებითი და უარყოფითი მხარეების იმგვარ დაბალანსებას, რომ ეს მიმართულება მომავალში უდიდეს სამსახურს გაუწევს კაცობრიობას.

შემოკლებანი

Alu - *Artropobacter luteus* - Alu- ოჯახი, დნმ-ის ზომიერად განმეორებადი თანამიმდევრობები

ARS - Autonomously Replicating Sequences - ავტონომურად რეპლიცირებადი თანამიმდევრობები

ATP-Adenosine triphosphate -- ადენოზინტრიფოსფატი (ატფ)

AMP - Adenosine monoohosphaate - ადენომონოფოსფატი (ამფ)

Bcl2- B-cell limphoma - ლიმფომის B-უჯრედები

CBC - Cap-Binding Complex - კეპ-დამაკავშირებელი კომპლექსი

cdk - Ciklin dependent kinase - ციკლინდამოკიდებული კინაზა

DD - Death Domain სიკვდილის დომენი

dATP - Deoxyadenosine triphosphate - დეზოქსიადენოზინტრიფოსფატი

dGTP - Deoxyguanosine triphosphate - დეზოქსიგუანოზინტრიფოსფატი

dTTP- Deoxyadenosine triphosphate - დეზოქსითიმიდინტრიფოსფატი

dCTP - Deoxycytidine triphosphate - დეზოქსიციტიდინტრიფოსფატი

EF - Elongation Factors - ელონგაციის ფაქტორები

eIF -eukaryotic Inititation Factors - ევკარიოტების ინიციაციის ფაქტორები

IF - Inititation Factors - ინიციაციის ფაქტორები

IS - Insercion Sequence - ინსერციული თანამიმდევრობები

ITR - Iinverted Terminal Repeats - ინვერტირებული ტერმინალური განმეორებები

FADD - Fas-Associated– Fas ასოცირებული სიკვდილის დომენი

GTP - Guanosinetriphosphate - გუანოზინტრიფოსფატი (გტფ)

HIV - Human Immunodeficiency Virus - ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსი (აივ)

hnRNP - Heterogeneous Nuclear Rbonucleoproteins - ჰეტეროგენური ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინები (ჰბ-რნპ)

hsp – heatshockproteins - სითბური შოკის ცილები

LINE -Long Interspersed Repeated Sequences- -გრძელი დისპერგირებული განმეორებები

MCM - Minichromosom Maintenance Proteins – მინიქრომოსომის შემანარჩუნებელი ცილები

mi rna – mikro interfering rna - მიკრო ინტერფერირებული რნმ (მკი-რნმ)

NADH - Nicotinanmide Adenine Dinucleotide - ნიკოტინამიდდინუკლეოტიდფოსფატი (ნადH)

PAP - Polyadenylate polymerase - პოლიადენილპოლიმერაზა

PCNA - Proliferating Cell Nuclear Antigen - პროლიფერირებადი უჯრედების ბირთვის ანტიგენი ე.წ. „მოსრიალე დამჭერი"

PCR - polymerase chain reaction - პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ)

Poly-A – Poly A tail - პოლი-ა კუდი

Pu – Purine - პურინი

Py – pyrimidine - პირიმიდინი

RISC - RNA-Induced Silencing Complex - რნმ-ინდუცირებული ჩამხშობი კომლექსი

RNP - Rbonucleotid Protein - რიბონუკლეოპროტეინული ნაწილაკები (რნპ)

RF - Release Factors - გათავისუფლების ფაქტორები (ტრანსლაციის ტერმინაციის)

SINE - Short Interspersed Repeated Sequences - მოკლე დისპერგირებული განმეორებები

si rna - small interfering rna - მცირე ინტერფერირებული რნმ (მი-რნმ)

snRNAs - small nuclear RNAs - მცირე ბირთვულi რნმ-ები (მბ-რნმ)

snoRNAs - Small Nucleolar RNAs - მცირე ბირთვაკული რნმ-ები (მბ-რნმ)

SSLPs - Simple Sequence Length Polymorphisms - მარტივ თანამიმდევრობათა სიგრძის პოლიმორფიზმსაც

TBP - TATA-Binding Protein - თათა ბოქსთან დაკავშირებული ცილა

Tn - Transposon- ტრანსპოზონები

TNF-a - Tumor Necrosis Factor - სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი)

TF - Transcription Factor- ტრანსკრიფციis ფაქტორი (ცილა)

VNTR - Variable Number of Tandem Repeats - ტანდემურ გამეორებების ცვლადი რაოდენობის ასლები

აბსორბციის სპექტრი - დაცემული სინათლის შთანთქმის პარამეტრთა ერთობლიობა, დაფიქსირებული სპექტროსკოპით ან სპექტროფოტომეტრით კვლევის შედეგად.

ადენოზინტრიფოსფორმჟავა (ატფ) - უჯრედის ნებისმიერი ფუნქციის ენერგიით უზრუნველყოფის უშუალო წყარო. უჯრედის ყოველგვარი აქტივობა - მოძრაობა, ბიოსინთეზი, ელექტრობის გენერაცია და სხვ. ხორციელდება ატფ-ის ჰიდროლიზის შედეგად გათავისუფლებულ ენერგიის ხარჯზე.

ამბერ-კოდონი - ერთ-ერთი უშინაარსო ტრიპლეტი (უაგ), რომელიც ცილის სინთეზის ტერმინაციას განაპირობებს.

ამბერ-მუტაცია - ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის ცვლილება გენის ტრიპლეტში, რომელიც იწვევს ამ ამინომჟავას მაკოდირებელი ტრიპლეტის შეცვლას ამბერ (უაგ) კოდონად.

ალელი - გენის ორი ან რამდენიმე ალტერნატიული ფორმა.

ალოსტერული კონტროლი - ეფექტორის უნარი, ფერმენტის ერთ უბანზე ზემოქმედებით გამოიწვიოს სხვა უბნის აქტივაციაც.

ალტერნატიული სპლაისინგი - ალტერნატიული ეგზონების გაერთიანება პრე-მ-რნმ-ის სპლაისინგის დროს. ამ პროცესის შედეგად შესაძლებელია პირველადი ტრანსკრიფტიდან ერთზე მეტი მ-რნმ-სა და შესაბამისად ცილის მოლეკულების სინთეზი.

Alu-ოჯახი - დნმ-ის ჰომოლოგიური თანამიმდევრობები, დისპერგირებული (გაბნეული) ადამიანის გენომის სხვადასხვა ნაწილში.

ამინოაცილ-ტ.რნმ - ტ.რნმ, რომელსაც მიაქვს ამინომჟავა სინთეზირებად პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ჩასართავად.

ამინოაცილ-ტ-რნმ სინთეტაზა - ფერმენტი, რომლის ფუნქციას წარმოადგენს ტ.რნმ-ის 2'OH ან 3'OH ბოლოსთან ამინომჟავების კოვალენტური დაკავშირება.

ამფლიპიკაცია - დნმ-ის ერთი და იგივე უბნის მრავალჯერადი განმეორება, რომელიც იწვევს გენური ასლების რიცხვის ზრდას.

ანტიგენი - ორგანიზმში მოხვედრილი მოცემული გენოტიპისათვის უცხო მოლეკულა, რომელიც ორგანიზმში იწვევს ანტისხეულების (იმუნოგლობულინების) სინთეზს.

ანტიკოდონი - ტრიპლეტი, რომელსაც უკავია ფიქსირებული პოზიცია ტ.რნმ-ის მოლეკულაში და შეუძლია კომპლემენტური დაკავშირება მ-რნმ-ის კოდონთან.

ანტისხეული - იმუნოგლობულინური ბუნების ცილა, რომელიც წარმოიქმნება ორგანიზმში ანტიგენის მოხვედრის საპასუხოდ, სპეციფიკურად ურთიერთქმედების მასთან და განსაზღვრავს ორგანიზმის ჰუმორულ იმუნურ თვისებებს.

ანტიტერმინაციული ცილები - ცილები, რომლებიც ხელს უწყობს რნმ-პოლიმერაზას გადალახოს ტრანსკრიფციის ტერმინაციული საიტები და განაგრძოს ტრანსკრიფციის პროცესი.

აპირიმიდინული (AP) საიტი - დნმ-ის თანამიმდევრობა, რომელსაც აკლია პირიმიდინული ფუძე.

აპურინული (AP) საიტი - დნმ-ის თანამიმდევრობა, რომელსაც აკლია პურინული ფუძე.

აპოპტოზი - (ლათ. **Apoptosis**) - უჯრედის გენეტიკურად დაპროგრამებული სიკვდილი, დამოკიდებულია კასპაზების კასკადის გააქტიურებაზე.

არაგანმეორებადი დნმ - დნმ-ის უნიკალური თანამიმდევრობები, რომლებიც არ მეორდება დნმ-ის მოლეკულაში.

არალეგიტიმური რეკომბინაცია - რეკომბინაციის ერთ-ერთი სახე, რომელიც არ ითხოვს ჰომოლოგიას რეკომბინირებად საიტებს შორის.

არატრანსკიბირებადი სპეისერი - მონაკვეთი ტრანსკრიბირებად უბნებს შორის გენურ კლასტერში.

არამაკოდირებელი ჯაჭვი - დნმ-ის ჯაჭვი, რომლის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა ტრანსკრიბირდება მ-რნმ-ის მოლეკულის სახით.

ატენუაცია - ტრანსკრიფციის პროცესის რეგულაცია ტერმინაციის სტადიაზე ზოგიერთი ბაქტერიული ოპერონის ექსპრესიის დროს.

ატენუატორი - ტერმინატორული თანამიმდევრობა, რომელზეც წარმოებს ატენუცია.

აუტოსომები - ყველა ქრომოსომა, გარდა სასქესო ქრომოსომისა.

აუტოიმუნური დაავადება - დაავადება, როდესაც იმუნური სისტემა მოქმედებს ანომალიურად იმ ანტიგენებზე რეაგირებით, რომლებიც

ინდივიდის უჯრედებისა და ქსოვილების ნორმალური ფიზიოლოგიური კომპონენტია.

აქცეპტორული ღერო (შტო) - ტ-რნმ-ის უბანი, რომელსაც 3'-ბოლოზე აქვს *CCA* თანამიმდევრობა - ამინომჟავას მიმაგრების საიტი.

აცეტილილირება - მოლეკულაზე აცეტილის ჯგუფის დამატება.

ბ

ბაქტერიოფაგი (ფაგი) - ვირუსი, რომელიც მრავლდება ბაქტერიის უჯრედში და იწვევს მის ლიზისს (დაშლას).

ბივალენტი - უჯრედის მეიოზური დაყოფის პროფაზაში კონიუგირებულ ქრომოსომათა ჰომოლოგიური წყვილი. სტრუქტურა, რომელიც შეიცავს ოთხ ქრომატიდს.

ბლოტინგი - დნმ-ის- დენატურირებული დნმ-ის აგაროზის გელიდან ნიტროზოცელულოზის ფილტრზე გადატანის პროცედურა კომპლემენტურ ნუკლეოტიდებთან ჰიბრიდიზაციის მიზნით.

ბლოტინგი რნმ-ის - რნმ-ის გადატანა აგაროზის გელიდან ნიტროზოცელულოზის ფილტრზე კომპლემენტურ ნუკლეოტიდებთან შემდგომი ჰიბრიდიზაციის მიზნით.

ბუფერი - სუსტი მჟავასა და მისი მარილის თითქმის თანაბარი რაოდენობის ნარევი, რომელიც წყალბადის იონების გამოყოფით ან მოცილებით ხსნარში pH-ის მაჩვენებლის სტაბილიზაციას უზრუნველყოფს.

გ

გამაძლიერებლები - (ინგლ. **enhancer**) - ტრანსკრიფციის გამაძლიერებელი. დნმ-ის უბანი, რომელიც ზემოქმედებს ევკარიოტულ პრომოტორზე და ზრდის ტრანსკრიფციის ინტენსივობას.

გამეტა - სასქესო უჯრედი, შეიცავს ქრომოსომების ჰაპლოიდურ კრებულს.

გენის (დნმ-ის) კლონირება - რეპლიცირებული გენის შემცველი უჯრედების კლონის წარმოქმნა რეკომბინანტული ვექტორით შეყვანილი უცხო გენის მატარებელი ბაქტერიის საშუალებით.

გენომი - გენთა ერთობლიობა ქრომოსომების ჰაპლოიდურ კრებულში.

გენოფონდი - სახეობის ან პოპულაციის გენების ერთობლიობა.

გენოტიპი - ორგანიზმის ყველა გენის ერთობლიობა.

გენომიკსი - გენომის დნმ-ის თანამიმდევრობებისა და თვისებების შესწავლა.

გენი (ცისტრონი) - დნმ–ს მონაკვეთი, რომელიც მოიცავს ფუნქციური ცილის ან რნმ–ის სინთეზისათვის საჭირო ყველა ინფორმაციას. კერძოდ, გენის დნმ–ის ნუკლოტიდური თანამიმდევრობა. მოიცავს ეგზონებს, ინტრონებს და არაკოდირებად, ტრანსკრიფციის რეგულატორულ ელემენტებს.

გენის კონვერსია - გენის დუპლიკაციისას ასლის შექმნის პროცესის დარღვევა, რის გამოც მისი ერთ-ერთი მონაკვეთი გაორმაგებულია, მეორის ასლი კი არ არის წარმოქმნილი.

გენი ოპერატორი - ბაქტერიული ოპერონის გენი, რომელიც ააქტიურებს სტრუქტურულ გენებს.

გენი რეგულატორი - გენი, რომელიც უზრუნველყოფს ბაქტერიული გენომის სტრუქტურული გენების ფუნქციურ რეგულაციას გენ-ოპერატორის ჩართვა-გამორთვის (ინდუქცირება ან სუპრესირება) საშუალებით.

გენი სტრუქტურული - გენი, რომელშიც ჩაწერილია ინფორმაცია პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავების თანამიმდევრობისა და რაოდენობის შესახებ. წარმოადგენს მატრიცას, მ-რნმ-ის სინთეზისათვის.

გირაზა - *E.coli-ს* ტოპოიზომერაზა II. ფერმენტი, რომელსაც შეუძლია დნმ-ის მოლეკულაში უარყოფითი სუპერხვიების წარმოქმნა.

დ

დნმ-ის მეთილირება - დნმ-ის მოლეკულის ადენინზე ან ციტოზინზე მეთილის ჯგუფის ფერმენტული გადატანა.

დნმ-ის მოლეკულის გახსნა - უარყოფითი სუპერსპირალიზაციის შედეგი, გამომდინარე იქიდან, რომ დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვი გადახვეულია დნმ-ის ჯაჭვების სპირალიზაციის საწინააღმდეგო მიმრთულებით.

დნმ-მიკროჩიპი - მცირე ზომის ფირფიტა, რომელზეც დატანილია საკვლევი გენების შესატყვისი რნმ-ის კომპლემენტური დნმ-ის მოლეკულები; გამოიყენება გენის ექსპრესიის შესასწავლად.

დნმ-პოლიმერაზა - რეპლიკაციის ძირითადი ფერმენტი.

დნმ-ის რეასოციცია - დნმ-ის ორმაგი სპირალის ფორმირება კომპლემენტური ჯაჭვების ურთიერთქმედების შედეგად.

დელეცია - ქრომოსომების სტრუქტურული აბერაციის ერთ-ერთი სახესხვაობა, როდესაც ქრომოსომაში დნმ-ის გარკვეული სეგმენტის დაკარგვა ხდება;

დენატურაცია - ცილის მოლეკულის, ნუკლეინის მჟავას და სხვ. ბიოპოლიმერების ბუნებრივი სტრუქტურის ცვლილება, რაც იწვევს ბიოპოლიმერის ფიზიკური, ქიმიური და ბიოლოგიური თვისებების ცვლილებებს. შესაძლოა იყოს სრული ან ნაწილობრივი, შექცევადი და შეუქცევადი.

დივერგენცია - განსხვავება დნმ-ის ორი მოლეკულის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს ან ცილის ორი მოლეკულის ამინომჟავურ თანამიმდევრობებს შორის.

დისეული ქრომატიდები - რეპლიკაციის შედეგად წარმოქმნილი ქრომოსომის ასლები.

დისპერგირებული გამეორებები - მაღალი სიხშირით გამეორებადი თანამიმდევრობები, რომლებიც „მიმოფანტულია" მთელ გენომში. ევკარიოტული გენომში შეიძლება იყოს მოკლე (SINE) და გრძელი (LINE) დისპერგირებული ელემენტები.

დომენი - პოლიპეპტიდური ჯაჭვის უბანი, რომელსაც შეუძლია შეასრულოს ცილის მოლეკულის დანარჩენი ნაწილისგან განსხვავებული ფუნქცია.

ე

ეგზონი - ევკარიოტების გენის (დნმ-ის) უბანი, რომელიც ატარებს გენეტიკურ ინფორმაციას, აკოდირებს გენის პროდუქტის (ცილის) სინთეზს.

ეგზონუკლეაზა - ფერმენტი, რომლის მოქმედების მექანიზმი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის 5'- ან 3'-ბოლოდან ნუკლეოტიდების თანამიმდევრულ ჩამოცილებაში მდგომარეობს.

ეგზოსომა - ცილოვანი კომპლექსი, რომელიც არასწორად დამუშავებული რნმ-ის მოლეკულების დაშლას უწყობს ხელს.

ელონგაციის ფაქტორები (EF) - ცილები, რომლებიც მონაწილეობს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შენების პროცესში და ყოველი ახალი ამინომჟავას ჩართვასთან ერთად ასოცირდება რიბოსომოსთან.

ენდონუკლეაზა - ფერმენტი, რომელსაც შეუძლია ნუკლეინის მჟავების პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის შიგნით არსებული ბმების დაშლა. შესაძლოა ახასიათებდეს სპეციფიკური მოქმედება რნმ-ის, ერთ-ჯაჭვიანი ან ორჯაჭვიანი დნმ-ის მოლეკულების მიმართ.

ენდოპლაზმური რეტიკულუმი (ბადე) - უჯრედის ციტოპლაზმაში არსებული მემბრანული არხების ვრცელი ქსელი.

ევქრომატინი - ქრომატინის უბნები, რომლებიც დეკონდენსირებულ უბნებს - ქრომოცენტრებს შეიცავს; გენეტიკურად აქტიური უბანია.

ეპისომა - პლაზმიდი, ბაქტერიული ქრომოსომისაგან იზოლირებულად არსებული მემკვიდრული მასალა, რომელსაც აქვს ბაქტერიულ ქრომოსომაში ჩართვის უნარი.

ეპიგენეტიკური ცვლილებები - გენოტიპის შეცვლის გარეშე განხორციელებული ფენოტიპის ცვლილება.

ერთმიმართულებიანი რეპლიკაცია - რეპლიკაციის პროცესი, როცა რეპლიკაციის საწისი საიტიდან ერთადერთი რეპლიკაციური ჩანგალი მოძრაობს.

ევკარიოტი - ბირთვის მქონე უჯრედი (ორგანიზმი).

ევქრომატინი - ქრომოსომის უბანი, რომელიც დესპირალიზებულია ინტერფაზაში, შეიცავს აქტიურ გენებს და აქვს ტრანსკრიფციის უნარი.

ექსციზიური რეპარაცია - რეპარაციის ფორმა, რომელის მექანიზმი მდგომარეობს დნმ-ის ჯაჭვში დაზიანებული ან არასწორად შეწყვილებული უბნის მოცილებასა და ახლის სინთეზში მეორე, დაუზიანებელი ჯაჭვის მატრიცაზე.

3

ვექტორი (კლონირების) - პლაზმიდი ან ფაგი, რომელშიც შესაძლოა კლონირების მიზნით ჩაშენდეს უცხო დნმ.

ზ

ზიგოტა - გამეტების (სასქესო უჯრედების) შერწყმით მიღებული უჯრედი.

თ

თათა თანამიმდევრობა - ა-თ მდიდარი შვიდწევრიანი თანამიმდევრობა, რომელიც განლაგებულია ტრანსკრიფციის სასტარტო (ori) საიტიდან დაახლოებით 10 ნ.წ. დაცილებით პროკარიოტებში (პრიბნოუს ბლოკი) და 25 ნ.წ. დაცილებით ევკარიოტებში (ჰოგნისის ბლოკი); ამოიცნობა რნმ-პოლიმერაზა II-ის მეშვეობით.

თალასემია - ადამიანის დაავადება გამოწვეული ერითროციტებში α- ან β-გლობინების ნაკლებობით.

ი

იმუნიტეტი - ორგანიზმის სენშეუვალობა ინფექციურ დაავადებათა გამომწვევების მიმართ, აგრეთვე, ნებისმიერი უცხო ანტიგენის წინააღმდეგ. ცნობილია უჯრედული და ჰუმორული, აქტიური და პასიური, ხელოვნური და ბუნებრივი, ტრანსპლანტაციური და სხვა სახის იმუნიტეტები.

ინდუქტორი - მცირე მოლეკულა, რომელსაც აქვს უნარი დაუკავშირდეს რეგულატორულ ცილას და განახორციელოს გენის ტრანსკრიფციის ჩართვა.

ინდუქცია - ბაქტერიების ან საფუვრების უჯრედების თვისება დაასინთეზოს ფერმენტი შესაბამისი სუბსტრატის არსებობის პირობებში. გენის ექსპრესიის დროს ტერმინი ინდუქცია გულისხმობს გენის ექსპრესიის ჩართვას ინდუქტორის რეგულატორულ ცილისთან ურთიერთქმედების შედეგად.

ინსერცია - დნმ-ის მოლეკულაში დამატებითი ნუკლეოტიდების ჩართვა.

ინტრონი - ევკარიოტული გენის (დნმ-ის) არამაკოდირებელი (უშინაარსო) უბანი, რომელიც სინთეზირდება პირველად ტრანსკრიფტში, ხოლო შემდეგ რნმ-ის მოლეკულის მომწიფების პროცესში სპლაისინგის შედეგად ამოიჭრება.

ინვერტირებადი განმეორებები - დნმ-ის მოლეკულაში ურთიერთსაწინააღმდეგო ორიენტაციით განლაგებული ნუკლეოტიდური

თანამიმდევრობის ორი ასლი. ერთმანეთთან მიჯრით განლაგებული ინვერტირებადი თანამიმდევრობები წარმოქმნის პალინდრომს.

ინიციაციის ფაქტორები (IF) - ცილები, რომლებიც ტრანსკრიფციის ინიციაციის სტადიაზე სპეციფიკურად უკავშირდება რიბოსომის მცირე სუბერთეულს და გავლენას ახდენს ტრანსკრიფციის ინიციაციის პროცესზე.

ინტერფაზა - უჯრედული ციკლის ფაზა უჯრედის ორ გაყოფას შორის. მოიცავს G_1 S და G_2 ქვეფაზებს.

ინტერფერენცია - გენის ექსპრესიის დათრგუნვა ტრანსკრიფციის სტადიაზე მცირე ინტერფერირებული (მი-რნმ-ს) ზემოქმედებით.

ინტეგრალური ცილა - იგივე ტრანსმემბრანული ცილა, რომელიც გადაკვეთს უჯრედის მემბრანას. მისი გამოყოფა მემბრანიდან მოლოდ მემბრანის დარღვევით შეიძლება.

იზოაქცეპტორული ტ-რნმ - ერთი და იგივე ამინომჟავის შესაბამისი ტ.რნმ-ის მოლეკულები.

კ

კასკადი - პროცესი, რომელიც მოიცავს სასიგნალო სისტემის კომპონენტების მზარდი რაოდენობის თანამიმდევრულ აქტივაციას ამ სიგნალის გაძლიერების მიზნით.

კასპაზა - აპოპტოზის პროცესში ჩართული პროტეოლიზური აქტივობის ფერმენტი, რომელიც აქტივირდება პროკასპაზას მიერ; თავის აქტიურ საიტში შეიცავს ცისტეინს და ჭრის სუბსტრატს ასპარტატის ნაშთის კარბოქსილური ბოლოს მხარეზე.

კასპაზური კასკადი - გაძლიერებული პროტეოლიზური კასკადი ციტოპლაზმაში, სადაც აპოპტოზის ინიციატორის მიერ ხდება პროკასპაზის გააქტიურება, შემდგომ სხვა პროკასპაზის და ა. შ. ვიდრე არ მოხდება უჯრედის სიკვდილი (აპოპტოზი).

კარიოტიპი - ამა თუ იმ ორგანიზმის უჯრედებისათვის დამახასიათებელი ქრომოსომების ნიშან-თვისებების (რიცხვი, ზომა. მორფოლოგია) ერთობლიობა, მათი დიპლოიდური ნაკრები. კარიოტიპი სტაბილური სახეობრივი თვისებაა.

კარცინომა - სიმსივნის ყველაზე გავრცელებული ადამიანებში, რომელიც ეპითელური უჯრედებიდან აღმოცენდება.

კაფსიდი - ვირუსული ნაწილაკის ცილოვანი გარსი.

კდნმ - იგივე „კოპირებული“ დნმ. ერთჯაჭვიანი დნმ, რომელიც სინთეზირებულია *in vitro* შებრუნებითი ტრანსკრიფციის გზით. კდნმ რნმ-ის კომპლემენტურია.

კდნმ კლონი - ორჯაჭვიანი დნმ კლონირებადი ვექტორის შედგენლობაში. შეიცავს რნმ-ის შესაბამის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას.

კეპი - (ინგლ. cap) სტრუქტურა ევკარიოტული მ-რნმ-ის 5'-ბოლოზე; წარმოიქმნება ტრანსკრიფციის პროცესის დასრულების შემდეგ მ-რნმ-ის ბოლოზე გუანინის მიერთების შედეგად. მიერთებული გუანინის ნუკლეოტიდი მეთილირებას ექვემდებარება. კეპის სტრუქტურა - $^{მეთ}G^{5'}ppp^{5'}Np$

კინეტოქორი - (იგივე ცენტრომერა) სტრუქტურა ქრომოსომაში, რომელზედაც მიმაგრებულია მიკრომილაკები ან დაყოფის თითისტარა.

კლონი - იდენტური უჯრედების ან მოლეკულების ჯგუფი, მიღებული ერთი საწყისი უჯრედისგან ან მოლეკულისგან.

კოდონი - ნუკლეოტიდური ტრიპლეტი, რომელიც შესაბამება ერთ ამინომჟავას ან ტერმინალურ სიგნალს.

კოდომინანტობა - ორივე დომინანტური ალელის ერთდროული გამოვლინება ჰეტეროზიგოტურ ორგანიზმში.

კოდის წასაკითხი დახურული ჩარჩო - შეიცავს ნაადრევი ტერმინაციის კოდონებს და არ აძლევს საშუალებას მ-რნმ-ს განახორციელოს ტრანსლაციის პროცესი.

კოინტეგრატი - რეპლიკონების შერწყმის პროდუქტი.

კოლინეარობა - პოლიპეპტიდში ამინომჟავების განლაგების თანამიმდევრობის შესაბამისობა მ-რნმ-ში ტრიპლეტების თანამიმდევრობასთან.

კომპლემენტური ჯაჭვი - დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვი, რომელიც წარმოადგენს მატრიცს მ-რნმ-ის სინთეზის დროს და მისი კომპლემენტურია.

კონსტიტუციური გენები - გენები, რომელთა ექსპრესია ეფუძნება მხოლოდ რნმ-პოლიმერაზის ურთიერთქმედებას პრომოტორთან და არ რეგულირდება დამატებითი ფაქტორებით. ზოგჯერ ასე უწოდებენ გენებს, რომლებიც სუსტად ექსპრესირდება ყველა ტიპის უჯრედში.

კონსენსუსური თანამიმდევრობა - ნუკლეოტიდების ან ამინომჟავების თანამიმდევრობა, რომელიც ყველაზე ხშირად გვხვდება ნუკლეინის მჟავების ან პოლიპეპტიდის სხვადასხვა უბანში.

კორეპრესორი - მცირე მოლეკულა, რომელიც უკავშირდება რეგულატორულ ცილას და უზრუნველყოფს ტრანსკრიფციის დათრგუნვის მექანიზმის ჩართვას.

კროსინგოვერი - მეიოზის პროფაზაში შეწყვილებულ ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს შორის გენებისა და მთელი სეგმენტების ორმხრივი გაცვლა. საფუძველად უდევს გენეტიკურ რეკომბინაციას.

ლეიცინის ელვა (შესაკრავი) - დნმ-ის შემაკავშირებელი მრავალი ცილის სტრუქტურული მოტივი.

ლიგაზა - ფერმენტი, რომელიც დნმ-ის ფრაგმენტების შეკვრას ახდენს მოსაზღვრე ნახშირწყლებს შორის ფოფესტერული ბმით დაკავშირების შედეგად.

ლიდერი თანამიმდევრობა - ინიციაციური კოდონის წინ განლაგებული თანამიმდევრობა, რომელსაც შეიძლება ჰქონდეს მაკოდირებელი, მარეგულირებელი ან სამიზნე ფუნქციები.

ლიდერი ჯაჭვი - დნმ-ის ჯაჭვი, რომელიც სინთეზირდება უწყვეტად 5'—3' (რეპლიკაციური ჩანგლის ზრდის) მიმართულებით.

ლიზისი - ბაქტერიული უჯრედის დაშლის პროცესი ფაგებით ინფიცირების შედეგად, რასაც მოსდევს მოსდევს ფაგური ნაწილაკების გამოსვლა.

ლიზოგენია - ბაქტერიების გენეტიკურად განპირობებული თვისება განიცადოს ლიზისი და ამავე დროს გამოყოს ბაქტერიოფაგების დიდი რაოდენობა. ლიზოგენია დაკავშირებულია ბაქტერიაში ინფექციური სტრუქტურის, პროფაგის არსებობასთან.

ლიზოგენური ბაქტერია - ბაქტერია, რომელიც თავის გენომში შეიცავს პროფაგს რეპრესირებულ მდგომარეობაში.

ლითიური ინფექცია - ფაგური ინფექცია, რომელიც იწვევს ბაქტერიის უჯრედის დაშლას და ფაგური თაობის გამოთავისუფლებით სრულდება.

ლინკერი - 146 ნ.წ. სიგრძის ნუკლეოსომის დნმ, რომელიც აკავშირებს ნუკლეოსომის გულებს.

ლოკუსი - გენის ლოკალიზაციის ადგილი ქრომოსომაში.

ლღობის ტემპერატურა - ტემპერატურული ინტერვალი, რომლის დროსაც დნმ-ის დენატურაცია ხდება.

მ

მაკოდირებელი ჯაჭვი - იგივე არატრანსკრიბირებადი ჯაჭვი. დნმ-ის მოლეკულის ერთ-ერთი ჯაჭვი, რომელშიც ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა იდენტურია მეორე, ანტიპარალელური ჯაჭვის იმავე უბნის ტრანსკრიფციის შედეგად წარმოქმნილი მ-რნმ-ის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობისა.

მარკერი (გენეტიკური) - გენეტიკურ ექსპერიმენტში გამოყენებული ნებისმიერი ალელი.

მარკერი (დნმ) - ცნობილი ზომის დნმ-ის ფრაგმენტი, რომელითაც ელექტროფორეზულ სპექტრში დნმ-ის ფრაგმენტების იდენტიფიკაცია ხდება.

მარტივი ცილა - ცილა, რომელიც შედგება მხოლოდ α-ამინომჟავებისაგან.

მარყუჟი - ერთჯაჭვიანი უბანი სარჭის ბოლოებზე რნმ-ის ან ერთჯაჭვიანი დნმ-ის მოლეკულაში; შეესაბამება დნმ-ის ორმაგ სპირალში ინვერტირებად თანამიმდევრობებს შორის განლაგებულ უბანს.

მატრიცული ჯაჭვი - დნმ-ის მოლეკულის ერთ-ერთი ჯაჭვი, რომელიც წარმოადგენს მატრიცს

მ-რნმ-ის პირველადი ტრასკრიფტის სინთეზისათვის და მისი კომლემენტურია.

მეგზური (გიდი) დნმ - (ინგლ. **gide dna**) პატარა ზომის რნმ-ის მოლეკულები, რომლებიც მონაწილეობს პრემ-რნმ-ის და რ-რნმ-ის სტრუქტურული გარდაქმნების პროცესში.

მეიოზი - განვითარებადი სასქესო უჯრედებისათვის დამახასიათებელი გაყოფის ტიპი. ამ პროცესის დროს ქრომოსომების რაოდენობა ორჯერ მცირდება და ქრომოსომების კომპლექტი გარდაიქმნება ჰაპლოიდურად.

მეტაბოლოტი - სუბსტრატი, რომელიც მეტაბოლოზმში მონაწილეობს, როგორც შუალედური პროდუქტი.

მიელომა - ლიმფოციტის პროლიფერაციით წარმოქმნილი სიმსივნური უჯრედების ხაზი. როგორც წესი, ასინთეზებს ერთი ტიპის იმუნოგლობულინებს.

მისენს მუტაცია - მუტაცია, რომლის დროსაც მაკოდირებელი ტრიპლეტის ნუკლეოტიდური შედგენილობა იცვლება, რაც სხვა (ახალი კოდონის შესაბამისი) ამინომჟავას სინთეზს იწვევს.

მიტოზი - ევკარიოტების სომატური უჯრედების გაყოფა.

მოდიფიცირებული აზოტოვანი ფუძეები - ყველა აზოტოვანი ფუძე, გარდა კანონიკური ფუძეებისა, რომლებიც დნმ-ის (ა,გ,ც,თ) ან რნმ-ის (ა,გ,ც,უ) აწყობაში მონაწილეობენ. ჩვეულებრივ, მოდიფიცირებული ფუძეები ნუკლეინის მჟავაში მომხდარი ცვლილებების შედეგად წარმოიქმნება მისი სინთეზის დასრულების შემდეგ.

მოდიფიკაცია - დნმ-ის ან რნმ-ის ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის შეცვლა პირველადი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის აწყობის შემდეგ.

მონოცისტრონული მ-რნმ - მ-რნმ, რომელიც აკოდირებს ერთ მოლეკულა ცილას.

მოსრიალე დამჭერი - რეპლიკაციის პროცესში მონაწილე ცილა; წარმოქმნის რგოლს დნმ-ის გარშემო და უკავშირდება დნმ-პოლიმერაზას.

მოსრიალე დამჭერის დამჭერის დამტვირთავი - რეპლიკაციური ცილა. უკავშირდება დამჭერს და დნმ-ის გარშემო რგოლის აწყობას უწყობს ხელს.

მოტივი - სხვადასხვა პოლიპეპტიდის სუპერ-მეორეული სტრუქტურა, ანუ ნაკეცი (თუთიის თითები, ლეიცინის ელვა და ა. შ.).

მულტიმერული ცილა - იგივე ოლიგომერული ცილა. ცილის მოლეკულა, რომელიც ერთზე მეტ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს შეიცავს.

მუტაგენი - მუტაციების (დნმ-ის დაზიანებების) წარმოქმნის სიხშირის ზრდის გამომწვევი ფაქტორები.

მუტაცია - მემკვიდრული ინფორმაციის (დნმ-ის) სტრუქტურის უეცარი თვისობრივი ცვლილება, გამოწვეული ბუნებრივი ან ხელოვნური ფაქტორების ზემოქმედებით.

მუტანტი - გენი ან ინდივიდი, რომელმაც განიცადა მუტაცია.

მუტაცია წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებით - ნუკლეოტიდების დელეცია (ამოვარდნა) ან ინსერცია (ჩამატება), რომელთა ზომა სამის

ჯერადი არ არის, რაც იწვევს კოდის წასაკითხი ჩარჩოს გადანაცვლებას ტრიპლეტების ცილის მოლეკულებად ტრანსლაციის დროს.

ნ

ნახევრად კონსერვატიული რეპლიკაცია - დნმ-ის რეპლიკაციის ტიპი. მისი განხორციელება ხდება საწყისი ორჯაჭვიანი მოლეკულის დაცილებისა და თითოეული ჯაჭვის მატრიცად გამოყენების გზით.

ნახევრად წყვეტილი რეპლიკაცია - დნმ-ის ერთ-ერთი (ჩამორჩენილი) სინთეზი ჯაჭვის წყვეტილად, ფრაგმენტების სახით.

ნეკროზი - უჯრედის ან ქსოვილის სიკვდილი სხეულის გარკვეული ნაწილის დაზიანების გამო.

ნონსენს (უშინაარსო) კოდონი - ერთ-ერთი იმ სამი ტრიპლეტიდან (უაა, უაგ, უგა), რომელიც განაპირობებს ცილის სინთეზის ტერმინაციას (შეწყვეტას).

ნონსენს-მუტაცია - მუტაცია, რომლის დროსაც შინაარსიანი (ამინომჟავას მაკოდირებელი) ტრიპლეტი გარდაიქმნება ტერმინალურ, უშინაარსო ნონსენს-კოდონად. ასეთი მუტაცია იწვევს ცილის სინთეზის შეწყვეტას.

ნუკლეოიდი - დნმ-ის შემცველი კომპაქტური წარმონაქმნი ბაქტერიებში, რომელსაც გარსი არ გააჩნია.

ნუკლეოსომა - ევკარიოტული უჯრედის ქრომატინის ძირითადი სტრუქტურული ერთეული, რომელიც წარმოადგენს რვა ჰისტონური ცილის ირგვლივ გარშემოხვეულ დნმ-ის დაახლოებით 150-200 ნ.წ. სიგრძის მონაკვეთს.

ნუკლეოტიდური წყვილი (ნ.წ.) - კომპლემენტური წყვილები დნმ-ის ორმაგ სპირალში. ა-თ და გ-ც წარმოადგენს კანონიკურ ნუკლეოტიდურ წყვილებს, სხვა ტიპის წყვილები შესაძლოა შეგვხვდეს რნმ-ის მოლეკულაში განსაზრული პირობების დროს.

ო

ოკაზაკის ფრაგმენტები - დნმ-ის მოკლე ფრაგმენტები (1000-2000ნ.წ.). წარმოიქმნება წყვეტილი რეპლიკაციის დროს, ხოლო სინთეზის დასრულების შემდეგ კოვალენტურად უკავშირდება ერთმანეთს.

ოლიგომერული ცილა - იხ. მულტიმერული ცილა.

ოპერონი - ტრანსკრიფციის და გენეტიკური რეგულაციის სტრუქტურული ერთეული ბაქტერიებში, რომელიც შედგება სტრუქტურული და რეგულატორული გენებისაგან.

ოპერატორი - დნმ-ის უბანი, რომელთან ცილა-რეპრესორის დაკავშირება მიმდებარე პრომოტორში ტრანსკრიფციის ინიციაციის დათრგუნვას იწვევს.

ოხრა კოდონი - ტრიპლეტი უაა, ერთ-ერთი ტერმინალური კოდონი, რომელიც ცილის სინთეზის პროცესის შეწყვეტას იწვევს.

პ

პალინდრომი - დნმ-ის თანამიმდევრობა, რომელიც უცვლელია, თუ დნმ-ის ერთ ჯაჭვზე წავიკითხავთ მარჯვნიდან მარცხნივ, ხოლო მეორეზე მარცხნიდან მარჯვნივ ან პირიქით; შედგება მიმდებარედ განლაგებული ინვერტირებადი თანამიმდერობებისაგან.

P (Rho)-დამოკიდებელი ტერმინატორი - საიტი, სადაც რნმ-პოლიმერაზა წყვეტს ტრანსკრიფციას დამატებითი ცილოვანი ფაქტორის (p-ფაქტორი) მონაწილეობის გარეშე.

პეპტიდილ-ტ.რნმ - პოლიპეპტიდის სინთეზის დროს მზარდი პეპტიდის მატარებელი ტ-რნმ.

პერმისიული პირობები - პირობები, რომლის დროს ლეტალური მუტანტი შესაძლოა გადარჩეს.

პირდაპირი განმეორებები - დნმ-ის ერთსა და იგივე მოლეკულაში არსებული იდენტური ან მსგავსი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობები, წარმოდგენილი ორი ან მეტი ასლის სახით; არ არის აუცილებელი პირდაპირი განმეორებები მიჯრით იყოს განლაგებული.

პირველადი ტრანსკრიფტი - დნმ-ის მატრიცაზე დასინთეზირებული რნმ-ის პირველადი, არამოდიფიცირებული მოლეკულა.

პლაზმიდი - დამოუკიდელად რეპლიცირებადი, ავტონომიური (არაქრომოსომული) რგოლური (წრიული) დნმ.

პლაზმური მემბრანა - უჯრედის შემომსაზღვრელი მემბრანა, რომელიც გარედან ფარავს მას. მისი საშუალებით ხდება უჯრედის შემცველობის რეგულირება და უჯრედის ჰომეოსტაზის შენარჩუნება.

პლეიოტროპია - გენის მრავლობითი მოქმედება ანუ ერთი გენის მოქმედება ერთზე მეტი, ერთმანეთისგან დამოუკიდებელი ნიშნის განვითარებაზე.

პოლისომა (პოლირიბოსომა) - მ-რნმ-თან დაკავშირებული რიბოსომების წყება, რომლებიც ცილის სინთეზის პროცესში ღებულობენ მონაწილეობას.

პოლიადენილილირება - მ-რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის პროცესინგის დროს 3'-ბოლოზე პოლადენილის მჟავას მიერთება პოლიადენილის (პოლი-ა) კუდის ფორმირებით.

პოლიმორფიზმი - ერთი გენის რამდენიმე განსხვავებული ალელის არსებობა პოპულაციაში; მათი აღმოჩენა ხდება განსხვავებული ან ფენოტიპური ვარიანტების გამოვლენით, ან დნმ-ის რესტრიქციის გზით.

პოლიტენური ქრომოსომა - ქრომოსომის მრავალძაფიანობა, გამოწვეული დნმ-ის მოლეკულის მრავალჯერადი რეპლიკაციით, შემდგომი გაყოფის გარეშე, რის შედეგად ყალიბდება გიგანტური ქრომოსომა.

პრაიმერი (რნმ) - რნმ-ის მოკლე მონაკვეთი, რომელიც რეპლიკაციის მაინიცირებელ თანამიმდევრობას წარმოადგენს.

პრაიმოსომა - ცილოვანი კომპლექსი, რომელიც რეპლიკაციის დროს მონაწილეობს ოკაზაკის ფრაგმენტების სინთეზის ინიცირებაში.

პრაიმაზა - პრაიმერის მასინთეზირებელი ფერმენტი.

პრიბნოუს ბლოკი - ბაქტერიული გენების სასტარტო წერილიდან დაახლოებით 10 ნ.წ.-ით წინ განლაგებული კანონიკური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა - თათაათ; წარმოადგენს პრომოტორის ნაწილს, რომელიც პასუხისმგებელია დნმ-პოლიმერაზასთან დაკავშირებაზე.

პროვირუსი - ვირუსის გენომის არსებობის ფორმა, როდესაც ეს გენომი გაერთიანებულია უჯრედის გენეტიკურ მასალასთან, კერძოდ, დნმ-თან, და მასთან ერთად რეპლიცირდება. პროვირუსის მდგომარეობაში შეიძლება არსებობდეს ზოგიერთი ბაქტერიოფაგი.

პროკარიოტი - უმარტივესი ორგანიზაციის უჯრედი (ბაქტერიები, ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეები), რომელსაც არ გააჩნია ბირთვი.

პრომოტორი - დნმ-ის მოლეკულის უბანი, რომელიც პასუხისმგებელია დნმ-პოლიმერაზასთან დაკავშირებასა და ტრანსკრიფციის ინიცირებაზე.

პროფაგი - ფაგის გენომი, რომელიც ჩართულია ბაქტერიის უჯრედის ქრომოსომაში.

პროცესინგი - რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის მოდიფიკაცია მ-რნმ-ის, ტ-რნმ-ის და რ-რნმ-ის ფუნქციურ მოლეკულებად.

p-ფაქტორი - ცილა, რომელიც ეხმარება რნმ-პოლიმერაზას - მოახდინოს ტრანსკრიფციის ინიციაცია განსაზღვრულ (p-დამოკიდებულ) საიტში.

პჯრ - პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია - მეთოდი დიდი რაოდენობით დნმ-ის ფრაგმენტების მისაღებად.

რ

რადიოავტოგრაფია - რადიოაქტიურად ნიშანდებული მოლეკულების აღმოჩენა ფოტოფირფიტაზე მათ მიერ დატოვებული კვალის მიხედვით.

რეგულატოური გენი - გენი, რომლის მიერ კოდირებული რნმ-ის ან ცილის მოლეკულები სხვა გენის ექსპრესიას აკონტროლებს.

რედაქტირება - (ინგლ. **editing**) რნმ-ის პროცესინგის ერთ-ერთი სახე, რომლის დროს რნმ-ის ზოგიერთი ნუკლეოტიდი ქიმიურ მოდიფიკაციას განიცდის.

რეკომბინაციული რეპარაცია - რეპარაციის ფორმა, რომლის დროს დნმ-ის მოლეკულაში წარმოქმნილი დაზიანების აღდგენა ჰომოლოგიური მოლეკულის ნორმალურ ჯაჭვთან რეკომბინაციის შედეგად ხდება.

რენატურაცია - დნმ-ის ან ცილის მოლეკულის ნატივური სტრუქტურის აღდგენა.

რეპარაცია - დნმ-ის დაზიანებული მონაკვეთის აღდგენა.

რეპლისომა - დნმ-ის მოლეკულის რეპლიკაციურ ჩანგალში ფორმირებული მულტიფერმენტული კომპლექსი, მონაწილეობს დნმ-ის სინთეზში; შეიცავს დნმ-პოლიმერაზას და რიგ სხვა ცილებს.

რეპრესორი - ცილა, რომელიც პრომოტორთან ან მარეგულირებელ თანამიმდევრობასთან დაკავშირებით თრგუნავს გენის ან გენთა ჯგუფის ექსპრესიას.

რეპლიკაცია - დნმ-ის თვითგანახლების უნიკალური უნარი.

რეპლიკონი - ავტონომიურად რეპლიცირებადი დნმ-ის უბანი.

რეპლიკაციური თვალი - რეპლიცირებადი უბანი დნმ-ის მოლეკულაში.

რეპლიკაციური ჩანგალი - ადგილი დნმ-ის მოლეკულაში, სადაც ორმაგი სპირალი იხსნება, რათა წარიმართოს რეპლიკაციის პროცესი.

რეპლიკაციის საწყისი საიტი (ori) - დნმ-ის თანამიმდევრობა, საიდანაც იწყება რეპლიკაციის პროცესი.

რესტრიქციული რუკა - დნმ-ს მოლეკულის სქემა, რომელზეც მითითებულია სხვადასხვა რესტრიქტაზებით მისი შესაძლო დაჭრის საიტები.

რესტრიქციის საიტი - დნმ-ის სპეციფიკური თანამიმდევრობა, რომელიც ამოიცნობა და გაიჭრება რესტრიქციული ენდონუკლეაზების მიერ.

რესტრიქციული ფრაგმენტი - რესტრიქციული ენდონუკლეაზების მიერ დნმ-ის მოლეკულის გახლეჩით მიღებული ფრაგმენტი.

რეტროვირუსი - რნმ-ის შემცველი ვირუსი, რომლის დამახასიათებელი ნიშანია ვირიონში ფერმენტ რევერტაზის (უკუტრანსკრიფტაზის) არსებობა.

რეზოლვაზა - საიტსპეციფიკური რეკომბინაციის წარმმართველი ფერმენტი ორ ტრანსპოზონს შორის, რომლებიც კოინტეგრატში პირდაპირი განმეორებების სახით არის წარმოდგენილი.

რეცესიული გენი - გენი, რომელიც დათრგუნულია მისი ალელით - დომინანტური გენით და ნიშან-თვისებას განსაზღვრავს მხოლოდ ჰომო- ან ჰემიზიგოტურ მდგომარეობაში.

რეციპროკული შეჯვარება - ორი შეჯვარება, რომლის დროსაც ერთი ნიშანი მხოლოდ მამას ახასიათებს, ხოლო მეორეში მხოლოდ დედას. ტარდება ამა თუ იმ ნიშნის დამემკვიდრების მშობლის სქესზე დამოკიდებულების გასარკვევად.

რიბოზომი - კატალიზური რნმ. რნმ, რომელსაც ფერმენტული ფუნქცია აქვს.

რეკომბინაცია - გენთა ახალი კომბინაციების მიღება გენეტიკური მასალის (დნმ) გადანაწილებისა და გადაჯგუფების საფუძველზე.

RecA-ცილა - ახასიათებს ორი ტიპის აქტივობა: 1. პროტეაზული, 2. მონაწილეობს ჯაჭვების გაცვლაში დნმ-ის სხვადასხვა მოლეკულას შორის. ამ თვისებებიდან გამომდინარე, ჩართულია რეპარაციის და რეკომბინაციის პროცესების განხორციელებაში.

რნმ-პოლიმერაზა - ტრანსკრიფციის პროცესის ძირითადი ფერმენტი.

რეზისტენტობა - ბაქტერიების მდგრადობა ანტიბიოტიკებისადმი, რის შედეგადაც წარმოიქმნება თერაპიისადმი რეზისტენტული შტამები.

ს

საიტი - გენის უბანი ნუკლეოტიდების გარკვეული რაოდენობით და თანამიმდევრობით.

საიტსპეციფიკური რეკომბინაცია - რეკომბინაცია, რომელიც წარიმართება დნმ-ის ორ განსაზღვრულ თანამიმდევრობას შორის. ამასთან, არ არის აუცილებელი თანამიმდევრობები ჰომოლოგიური იყოს. მაგალითად, ადგილი აქვს ფაგის ინტეგრაციის ან გამოთავისუფლების დროს, ტრანსპოზიციის დროს (კოინტეგრატების გადაწყვეტისას).

სარჭი - დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულის ორჯაჭვიანი უბანი, რომელიც წარმოიქმნება ინვერტირებად, კომლემენტურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებს შორის.

სატელიტური დნმ - დნმ, რომელიც შედგება დიდი რაოდენობით ტანდემურად განმეორებადი (იდენტური ან მსგავსი) თანამიმდევრობებისაგან.

სასტარტო წერტილი (ინიციაციის საიტი) - დნმ-ის უბანი, რომელიც შეესაბამება რნმ-ის მოლეკულაში ჩართულ პირველ ნუკლეოტიდს.

საფეხურებრივი დაჭრა - დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის დაჭრა, რომელიც წარმოიქმნება ერთმანეთთან ახლოს განლაგებულ უბნებში.

სელექცია - ისეთი პირობების შექმნა, როცა მხოლოდ სასურველი ტიპის უჯრედებს შეუძლია გადარჩენა და ცხოველქმედება.

სექვენირება - (ინგლ. **sequencing**) დნმ-ის მოლეკულის პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების განსაზღვრა.

სიგმა-ფაქტორი - ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზას სუბერთეული. აუცილებელია ტრანსკრიფციის ინიციაციისთვის, მონაწილეობს პრომოტორის შერჩევაში.

სინდრომი - რაიმე დაავადებისათვის დამახასიათებელი სიმპტომების ერთობლიობა.

სინაფსისი - ქრომოსომის დისეული ქრომატიდების ორი წყვილის კონიუგაცია მეიოზის დროს ბივალენტების წარმოქმნით.

სოლიტერი გენი - უნიკალური ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, გენომში წარმოდგენილია მხოლოდ ერთი ასლით.

სომატური უჯრედები - ორგანიზმის ყველა უჯრედი გარდა სასქესო უჯრედებისა.

სპლაისინგი - ინტრონების მოცილების და ეგზონების გაერთიანების პროცესი რნმ-ის მოლეკულაში.

სპლაისოსომა - რნმ-სა და ცილების კომპლექსი, რომელიც ურთიერთქმედებს რნმ-ის პირველადი ტრანსკრიფტის ინტრონის ბოლოსთან და იწვევს ინტრონების გამოთავისუფლებასა და მოსაზღვრე ეგზონების თავისუფალი ბოლოების დაკავშირებას.

სპონტანური მუტაცია - ბუნებრივად აღმოცენებული მუტაცია; წარმოიქმნება მუტაციური ეფექტის მაპროვოცირებელი ფაქტორების ზემოქმედების გარეშე.

სტეკინგ-ურთიერთქმედება - დნმ-ის ჯაჭვების კომლემენტური დაკავშირება წყალბადური ბმების, ჰიდროფობური და ვანდერ-ვალსის ძალების ერთობლივი მოქმედების შედეგად.

სტრუქტურული გენი - გენი, რომელიც აკოდირებს რნმ-ის ან ცილის მოლეკულას.

სუპრესია - რაიმე პროცესის დათრგუნვა. მოცემულ შემთხვევაში ცვლილებები, რომლებიც იწვევს მუტაციის დათრგუნვას დნმ-ში მომხდარი ცვლილებების გასწორების გარეშე.

სუპერხვია - წარმოიქმნება დნმ-ის სუპერსპირალიზაციის შედეგად; ხელს უწყობს დნმ-ის მოლეკულის ჯაჭვების ერთმანეთის მიმართ შემდგომ დახვევას.

სუპერსპირალიზაცია - წრიული ორჯაჭვიანი მოლეკულის გადაგრეხა იმგვარად, რომ გადაიკვეთება დუპლექსის წარმოსახვითი ღერძი.

SOS-პასუხი - მრავალი ფერმენტის სინთეზის კოორდინირებული ინდუქცია, მათ შორის, რეპარაციული ფერმენტების, დნმ-ის რადიაციული ან სხვა ტიპის დაზიანებების პასუხად. რეპარაციის დროს წარმოადგენს LexA რეპრესორის RecA ცილის პროტეაზული აქტივობით დაშლის შედეგს.

SSB-ცილები - ცილები, რომლებიც უკავშირდება ერთჯაჭვიან დნმ-ს და გახსნილ მდგომარეობაში აკავებს მას.

ტ

ტანდემური განმეორებები - ერთმხრივ მიმართულ წყებად განლაგებული ერთნაირი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების მრავალი ასლი.

ტელომერაზა - ფერმენტი, რომელსაც ტელომერული უბნის რეპლიკაციის და შენარჩუნების ფუნქცია აქვს.

ტელომერი - ქრომოსომის ბოლო.

ტერმინატორი - ტრანსკრიფტის ბოლოზე განლაგებული თანამიმდევრობა, რომელიც პასუხისმგებელია ტრანსკრიფციის შეწყვეტაზე.

ტერმინალური კოდონი - ცილის სინთეზის ტერმინაციის გამომწვევი ერთ-ერთი ტრიპლეტი (უაგ, უგა, უაა). ასევე უწოდებენ სტოპ კოდონებს ან უშინაარსო (ნონსენს) კოდონებს.

ტოპოიზომერაზა - ფერმენტი, რომელის ფუნქციაა დნმ-ის მილეკულის რელაქსაცია; ჭრის დნმ-ის ჯაჭვს, რომელიც შემობრუნდება ღერძის გარშემო და კვლავ აღიდგენს ინტაქტურ სტრუქტურას. ტოპოიზომერაზა I ჭრის დნმ-ის ერთ ჯაჭვს, ტოპოიზომერაზა II - ორივეს

ტრანსვერსია - მუტაცია, რომლის დროს პურინული ფუძე პირიმიდინულით იცვლება ან პირიქით.

ტრანსდუქცია - ერთი ბაქტერიული გენის გადატანა მეორე ბაქტერიაში ფაგების მეშვეობით. ასეთ ფაგს ტრანსდუქციული ეწოდება. მისი გენომი შეიცავს როგორც საკუთარ, ისე პატრონი უჯრედის გენებს.

ტრანზიცია - მუტაცია, რომლის დროს ერთი პურინული ფუძე იცვლება მეორეთი ან ერთი პირიმიდინული ფუძე იცვლება მეორეთი.

ტრანსპოზონები - პრო- და ევკარიოტული გენომის ადგილმონაცვლე გენეტიკური ელემენტები.

ტრანსპოზიცია - რეკომბინაცია, მობილური გენეტიკური ელემენტების გადაჯგუფებით ან გადანაცვლებით.

ტრანსლაცია - ცილის სინთეზის პროცესი მ-რნმ-ის მატრიცაზე.

ტრანსპოზაზა - ფერმენტი, რომელიც მონაწილეობს ტრანსპოზონის ახალ საიტში ინტეგრაციის პროცესში.

ტრანსფერაზა - ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებს ფუნქციური ჯგუფების გადატანას ერთი მოლეკულიდან მეორეზე.

ტრანსკრიფცია - რნმ-ის სინთეზი დნმ-ის მატრიცაზე.

ტრანსკრიფციული ერთეული - დნმ-ის უბანი ინიციაციურ და ტერმინაციულ საიტებს შორის; შესაძლოა მოიცავდეს რამდენიმე გენს.

ტრანს-კონფიგურაცია - ორი საიტის განლაგება დნმ-ის ორ სხვადასხვა მოლეკულაზე.

ტრანსლოკაცია - რიბოსომის კოდონის გადანაცვლების პროცესი მ-რნმ-ის გასწვრივ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შენებაში მონაწილე ყოველი მომდევნო ამინომჟავას ჩართვის შემდეგ.

ტრანსლოკაცია - ქრომოსომის ქრომოსომური გარდაქმნები, რომლის დროსაც ქრომოსომას სცილდება გარკვეული უბანი და უერთდება სხვა ქრომოსომას.

უ

უარყოფითი სუპერსპირალიზაცია - ზესპირალიზაცია, წრიული ორჯაჭვიანი სპირალის რგოლის გადაგრეხა სპირალის ჯაჭვის დაგრეხის საწინააღმდეგო მიმართულებით.

უკუმუტაცია - მუტაცია, რომელიც იწვევს ველური ფენოტიპის აღდგენას.

უკუტრანსკრიფცია - დნმ-ის სინთეზი რნმ-ის მატრიცაზე. რეაქციას აკატალიზებს ფერმენტი უკუტრანსკიფტაზა.

ფ

ფაგი (ბაქტერიოფაგი) - ბაქტერიული ვირუსი.

ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინი - ქრომატინის არააქტიური მდგომარეობა.

ფენოტიპი - მემკვიდრულ ფაქტორთა გარეგანი გამოვლინება, რომელთა ფორმირება გენოტიპისა და გარემო ფაქტორების ზემოქმედებით ხდება.

ფოტორეაქტივაცია - პირდაპირი რეპარაციის ერთ-ერთი ფორმა; მიმდინარეობს ხილული სინათლის ზემოქმედებით.

ფოტოლიაზა - რეპარაციული ფერმენტი.

ფსევდოგენები - გენომის არააქტიური, მაგრამ სტაბილური ელემენტები, წარმოქმნილი ადრე მოფუნქციონირე გენის მუტაციის შედეგად.

ქ

ქიაზმა - უბანი, რომელშიც ჰომოლოგიური ქრომოსომები მემკვიდრულ ინფორმაციას ცვლის მეიოზის დროს. კონიუგირებული ქრომოსომების გადაჯვარედინების დამახასიათებელი ფიგურა, Χ(ბერძ. ხი)-მაგვარი სტრუქტურა.

ქრომოსომა - გენომის დისკრეტული ერთეული; შეიცავს დიდი რაოდენობით გენებს; შედგება დნმ-ისა და ცილისაგან; მათი რიცხვი განსაზღვრულია სახეობისათვის.

ქრომომერა - ევკარიოტული ქრომოსომის კომპაქტური უბანი. ადვილად იღებება და გარკვეულ პირობებში კარგად ფიქსირდება, როგორც ქრომოსომის შემადგენელი ნაწილი (განსაკუთრებით მეიოზის ადრეულ სტადიებზე).

ქრომატინი - დნმ-ის და ცილების კომპლექსი ინტერფაზულ ბირთვში, რომელიც ინტენსიურად იღებება ძირითადი საღებავებით. შედგება ორი განსხვავებული თვისებების მქონე უბნებისაგან: ევქრომატინისა და ჰეტეროქრომატინისაგან.

ქრომატიდები - ქრომოსომების გასწვრივი ნახევრები; რეპლიკაციის შედეგად წარმოქმნილი ქრომოსომური ასლები.

ღ

ღერძი - სარჭის ორჯაჭვიანი უბანი, წარმოქმნილი ნუკლეოტიდების გაწყვილების შედეგად.

ღიობი (ინგლ. gap) - ერთ ან რამდენიმე ნუკლეოტიდიანი წყვეტა (ღიობი, ხვრელი) დნმ-ის მოლეკულაში.

შ

შაპერონი - ცილა, რომელიც ეხმარება სხვა ცილის მოლეკულებს თავიდან აიცილოს გაშლა, არააქტიური ან აგრეგირებული ნაირსახეობების წარმოქმნა. ასევე ეწოდება სითბური შოკის ცილები.

შაინ-დალგარნოს თანამიმდევრობა - მ-რნმ-ში ინიციაციური აუგ კოდონის წინ განლაგებული პოლიპურინული ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა - აგგაგგ, რომელიც კომპლემენტურია 16S რ-რნმ-ის 3'-ბოლოს თანამიმდევრობის; მონაწილეობს რიბოსომის მ-რნმ-თან დაკავშირებაში.

შტოს მიგრაცია - ერთჯაჭვიანი დნმ-ის (დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის კომპლემენტურ ჯაჭვთან ნაწილობრივ დაკავშირებული) უნარი - განაგრძოს კომლემენტარული ურთიერთქმედება და გამოდევნოს ჰომოლოლოგიური ჯაჭვი დუპლექსიდან.

ჩ

ჩამორჩენილი ჯაჭვი - დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვი, რომელიც წყვეტილად (5'—3' ფრაგმენტებად) რეპლიცირდება, ხოლო შემდეგ კოვალენტურად უკავშირდება ერთმანეთს.

ჩუმი (მდუმარე) მუტაცია (ინგლ. silent) - მუტაცია, რომელიც არ იწვევს გენით კოდირებული პროდუქტის ცვლილებას.

ც

ცენტრომერი - იგივე კინეტოქორი. ქრომოსომის უბანი, რომელშიც შედის მიტოზურ ან მეიოზურ თითისტართან მიმაგრების უბანი.

ციკლინი - ცილა, რომლის კონცენტრაცია უჯრედში იცვლება უჯრედული ციკლის პერიოდში, ააქტიურებს ციკლინდამოკიდებულ პროტეოკინაზას და ამგვარად არეგულირებს უჯრედული ციკლის თანამიმდევრობას.

ციკლინდამოკიდებული კინაზა (cdk) - პროტეინკინაზა, რომლის აქტიურობა ციკლინის კონცენტრაციით რეგულირდება.

ცილა-რეპრესორი - ცილა, რომელსაც აქვს დნმ-ის ან რნმ-ის ოპერატორთან დაავშირების უნარი და თრგუნავს ტრანსკრიფციის ან ტრანსლაციის პროცესებს.

ცისტრონი - გენეტიკური ერთეული, გენის ეკვივალენტი. აღნიშნავს დნმ-ის მონაკვეთს, რომელიც აკოდირებს ცილის მოლეკულას.

ციტოკინი - იმუნური სისტემის უჯრედების მიერ სეკრეტირებული მცირე ზომის ცილა; მონაწილეობს უჯრედის ზრდის, დიფერენციაციის, სიცოცხლის ხანგრძლივობისა და აპოპტოზის პროცესებში.

ციტოქრომი c - ჰემის შემცველი ცილა, რომელიც ჩართულია ენდოპლაზმური ბადის ან მიტოქონდრიის შიგა მემბრანაში არსებული ელექტრონების სატრანსპორტო სისტემაში; მონაწილეობს აპოპტოზში.

ციტოჩონჩხი - ევკარიოტული უჯრედის ციტოპლაზმის სხვადასხვა მიმართულებით გადამკვეთი ფიბრილების რთული ბადისებრი სტრუქტურა; უზრუნველყოფს უჯრედის ფორმის შენარჩუნებას.

წ

წასაკითხი ჩარჩო - გენეტიკურ კოდში ტრიპლეტების წყების სახით წარმოდგენილი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის წაკითხვის სამი შესაძლო ვარიანტი.

წაკითხვის ღია ჩარჩო - ამინომჟავების მაკოდირებელი ტრიპლეტების წყება, რომელიც არ შეიცავს ტერმინალურ კოდონებს; პოტენციურად ამ თანამიმდევრობის ცილის მოლეკულად ტრანსლაცია ხდება.

წებვადი ბოლოები - დნმ-ის კომპლემენტური, ერთჯაჭვიანი უბნები, გამოშვერილი დნმ-ის ორჯაჭვიანი მოლეკულის საწინააღმდეგო ბოლოებზე; მათი წარმოქმნა ხდება დნმ-ის მოლეკულის ეტაპობრივი გაჭრის შედეგად.

წერტილოვანი მუტაცია - დნმ-ის მოლეკულის ერთი ნუკლეოტიდური წყვილის შეცვლა მეორით.

წყალბადური ბმა - სუსტი ელექტროსტატიკური კავშირი, სადაც წყალბადის ატომი, რომელიც კოვალენტურად არის დაკავშირებული ელექტროუარყოფით ატომთან, ნაწილობრივ, სხვა ელექტროუარყოფით ატომსაც უკავშირდება.

ჯ

ჯაჭვების გაცვლა - რეაქცია, რომლის დროს ორჯაჭვიანი დნმ-ის ერთი ჯაჭვი გამოთავისუფლდება დუპლექსიდან, ამყარებს კავშირს სხვა დნმ-ის კომპლემენტურ ჯაჭვთან და ჩაანაცვლებს თავის ჰომოლოგს.

ჯვრისმაგვარი სტრუქტურა (დნმ-ის) - დნმ-ის მოლეკულაში ინვერტირებადი განმეორებების გაწყვილებით წარმოქმნილი სტრუქტურა. დნმ-ის ორ ჯაჭვის შორის კომპლემენტური დაკავშირებისაგან განსხვავებით, ეს სტრუქტურა ყალიბდება დნმ-ის ერთი ჯაჭვის შიგნით.

ჰ

ჰაპლოიდური კრებული (ქრომოსომების) - ქრომოსომების კრებული, რომელიც შეიცავს ორგანიზმის ყველა აუტოსომის თითო ასლს და სასქესო ქროსომას. ქრომოსომების ჰაპლოიდური რიცხვი (n) გამეტის მახასიათებელს წარმოადგენს.

ჰელიკაზა - ფერმენტი, რომელიც რეპლიკაციის წინ დნმ-ის მოლეკულის ორჯაჭვიანი სტუქტურის გახსნას ახდენს მათ შორს არსებული წყალბადური ბმების გაწყვეტის შედეგად; რეაქციის განხორციელებისათვის გამოიყენება ატფ-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებული ენერგია.

ჰეტეროზიგოტა - ინდივიდი, რომელსაც ერთ რომელიმე ლოკუსში განსხვავებული ალელები აქვს.

ჰეტეროქრომატინი - ქრომოსომის კონდენსირებული, გენეტიკურად არააქტიური უბანი.

ჰეტეროგენური ბირთვული რნმ (ჰბ-რნმ) - ბირთვული გენების ტრანსკრიფციის პროდუქტი. ეს ტრანსკრიფტები განსხვავებული (ჰეტეროგენური) ზომებითა და არასტაბილობით ხასიათდება.

ჰეტერომულტიმერული ცილები - ცილის მოლეკულები, რომელთა სტრუქტურა განსხვავებული (სხვადასხვა გენის მიერ კოდირებული) სუბერთეულით არის წარმოდგენილი.

ჰიბრიდიზაცია (პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვების) - სხვადასხვა ორგანიზმის ნუკლეინის მჟავების პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვების (დნმ-დნმ; დნმ-რნმ) კომპლემენტური დაკავშირება.

ჰიდროლაზა - ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებს ჰიდროლიზური გახლეჩის რეაქციებს.

ჰიდროფილური - წყლის მოლეკულებთან შერწყმის უნარის მქონე.

ჰისტონები - ევკარიოტული ორგანიზმების ევოლუციურად კონსერვატიული ცილები. უკავშირდება დნმ-ის მოლეკულებს და მონაწი-

ლეობს ქრომატინის ძირითადი სტრუქტურული ერთეულის - ნუკლეოსომის ფორმირებაში.

ჰიპერპლაზია - უჯრედების რაოდენობის ზრდით გამოწვეული ორგანოს ან ქსოვილის ანომალიური გადიდება.

ჰიპერტროფია - უჯრედის ზომაში გაზრდით გამოწვეული ორგანოს ან ქსოვილის ანომალიური გადიდება.

ჰიპოქრომული ეფექტი - ულტრაიისფერი სხივების შთანქმის უნარის შემცირება დნმ-ის დენატურაციის დროს სტეკინ-ურთიერთქმედების შემცირების გამო.

ჰომოზიგოტა - ორგანიზმი, რომელიც ჰომოლოგიური ქრომოსომების განსაზღვრულ ლოკუსში ერთნაირ ალელებს შეიცავს.

ჰომომულტიმერული ცილები - ცილის მოლეკულები, რომელთა სტრუქტურა ერთნაირი სუბერთეულებისგან შედგება.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. Molecular Biology of the Cell. 5th Edition. 2008.
2. James D. Watson, Tania A. Baker, Stephen P. Bell, Alexander Gann, Michael Levine, Richard Losick - Molecular Biology of the Gene. 7th Edition. 2013.
3. Harvey Lodish, Arnold Berk, Chris A. Kaiser and Monty Krieger.- Molecular Cell Biology. 7th Edition. 2012
4. Peter Paolella. Introduction to Molecular Biology. 1998.
5. Benjamin Lewin Genes IX. 2008.
6. David L. Nelson, Michael M. Cox . Lehninger. Principles of Biochemistry, 6th Edition. .2013.
7. Molecular Genetic pathology . Ed. Liang Cheng, David Y. Zhang. 2008.
8. Cell Organelles .Ed. R.G. Herrmann. Wien; N.Y.1992
9. White, K., Grether, M. E., Abrams, J. M., Young, L., Farrell ,K. & Steller, H. (1994). Genetic control of programmed cell death in Drosophila, Science, 264, 677-678.
10. Iang, H., Yu, S. W., Koh, D. W., Lew, J., Coombs, C., Bowers, W., Federoff, H. J., Poirier, G. G., Dawson, T. M. & Dawson, V. L. (2004) Apoptosis-inducing factor substitutes for caspase executioners in NMDA-triggered excitotoxic neuronal death, J. Neurosci., 24, No. 48, 10963-10973.
11. Bredesen N. Neuronal apoptosis: genetic and biochemical modulation. Apoptosis II: The Molecular Basis of Apoptosis in Disease. - 1994. - P. 397-421
12. D.L. Vaux, A.Strasser. The molecularbiologyofapoptosis. Proc. 1Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93, pp. 2239-2244,
13. Cooper, D. L., Lahue, R. S., and Modrich, P. (1993). Methyl-directed mismatch repair is bidirectional. J Biol Chem 268, 11823-9.
14. Razin, A. and Cedar, H. (1993). DNA methylation and embryogenesis. EXS 64, 343-57.

15. Bird, A. P. (1995). Gene number, noise reduction and biological complexity. Trends Genet 11, 94-100.
16. Kass, S. U., Landsberger, N., and Wolffe, A. P. (1997). DNA methylation directs a time-dependent repression of transcription initiation. Curr Biol 7, 157-65.
17. Babu M., Luscombe N., Aravind L, Gerstein M, Teichmann S., (2004). Structure and evolution of transcriptional regulatory networks. Curr. Opin. Struct. Biol. 14 (3): 283–91.
18. Vaxillaire M., Froguel P., (2008). Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. Endocr. Rev. 29 (3): 254–64.
19. Страйер Л. – Биохимия (в 3 томах). 1984-1985.
20. Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. 2007.
21. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Изд. 4-е, 2007.
22. Коничев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология. Изд. 2-е 2007.
23. Спирин А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. 2011
24. Стент Г. Кеиндар Н. Молекулярная Генетика. М. 1981.
25. Терри А. Браун Геномы. 2011.
26. Иванов В.И., Барышникова Н.В., Билева Дж.С.- Генетика. 2006 г
27. Майкл Р. Каммингс, Уильям С. Клаг - Основы генетики (мир биологии и медицины). 2009.
28. Рис А., Стенберг М. – Введение в молекулярную биологию, Москва, Пер. с анг., 2002г.
29. Агол В. И., Генетически запрограммированная смерть клетки. 1996.
30. Примроуз С.,Тваймен Р. Геномика. Роль в медицине 2008 .
31. Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы. Структура и функции. 2009.
32. Разин С. В., Быстрицкий А. А.. Хроматин. Упакованный геном. 2009.

33. Скулачев В.П. Эволюция биологических механизмов запасания энергии. Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 5. С. 11-19.
34. ბიოქიმია კლინიკური კორელაციებით. რედ. თომას მ.დევლინი, თარგ. ინგლ. 2008.
35. თ. ლეჟავა, თ. ჯოხაძე, ნ. ჯანგულაშვილი. სამედიცინო გენეტიკა მოლეკულური გენეტიკის საფუძვლებით. 2011.
36. ა.დიასამიძე, ქ.დოლიძე. ზოგადი გენეტიკა. 2003.
37. ა.დიასამიძე. მემკვიდრეობისა და ცვალებადობის ბალანსის ბიოლოგიური რეგულაცია და ევოლუციური მნიშვნელობა. 1999.
38. ნ. კოტრიკაძე. უჯრედული და მოლეკულური ბიოლოგია. 2008.
39. ნ. კოშორიძე. ბიოქიმია. 2012.

გამომცემლობის დირექტორი – **ნანა ხახუტაიშვილი**
გამომცემლობის რედაქტორი – **ლალი კონცელიძე**
ტექნიკური რედაქტორი – **ედუარდ ანანიძე**

ხელმოწერილია დასაბეჭდად 24.06.2014
ქაღალდის ზომა 60X84 1/16
ფიზიკური თაბახი 25.2
ტირაჟი 100

დაიბეჭდა შპს „ირიდესში“
ქ. თბილისი, მირცხულავას 19
ტელ.: 032 234 22 40