საქართველოს მეცნიერებათა აკადემია

მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი

**დავით ჯოხაძე**

# მოლეკულური გენეტიკის შესავალი

თბილისი

„მ ე ც ნ ი ე რ ე ბ ა“

1992

28.04
575
ჯ 77

წიგნში განხილულია თანამედროვე ბიოლოგიის, კერძოდ გენეტიკის, უმნიშვნელოვანესი პრობლემები– ცოცხალი ორგანიზმებისათვის დამახასიათებელი ნიშან-თვისებების გამამპირობებელი მატერიალური საფუძვლების ბუნება და ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმები. სახელდობრ, აღწერილია ნუკლეინის მჟავების გენეტიკური როლის მტკიცებულობანი, მათი ფიზიკურ-ქიმიური ბუნება და მნიშვნელობა ცილების ბიოსინთეზში, სტრუქტურულ-ფუნქციური ორგანიზაცია უმდაბლეს და უმაღლეს ორგანიზმებში, გენის როგორც მემკვიდრეობის მატერიალური ერთეულის ნატივი სტრუქტურა, ცვლილებების მოლეკულური მექანიზმები, გენეტიკური ინჟინერიის საფუძვლები– ხელოვნური მანიპულაციები ნიშან-თვისებათა გამამპირობებელ ქიმიურ სუბსტრატზე, რაც უკანასკნელ ხანებში მეტად პერსპექტიულ მიმართულებად გამოისახა როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით, კერძოდ, სოფლის მეურნეობაში, მედიცინაში.

წიგნში დასმული ყველა საკითხი და დებულება ილუსტრირებულია სათანადო დაკვირვებებისა და ექსპერიმენტების ამსახველი სურათებით და სქემებით. ბოლოს ახლავს ტერმინთა ლექსიკონი. განკუთვნილია ბიოლოგიური პროფილის სტუდენტთათვის– უპირატესად გენეტიკოსებისა და ბიოქიმიკოსებისათვის, ამასთანავე გარკვეულ სამსახურს გაუწევს ასპირანტებს, მეცნიერ-მუშაკებს, პედაგოგებს.

რედაქტორი საქართველოს მეცნ. აკად. წევრ-კორესპონდენტი
თ. ბ ე რ ი ძ ე

რეცენზენტები: საქართველოს მეცნ. აკად. წევრ-კორესპონდენტები:
დ. ჯგრეხელიძე და ნ. აღექსიძე

ჯ 1903020000 56-91
М607(06)-92

© გამომცემლობა „მეცნიერება“ 1992

ISBN 5-520-01092-7

## ა ვ ტ ო რ ი ს ა გ ა ნ

წინამდებარე ნაშრომი პირველი ცდაა ქართულ ენაზე სახელმძღვანელოს შედგენისა ამ დარგში. მას საფუძვლად დაედო ჩანაწერები იმ ლექციებისა, რომელსაც ავტორი მრავალი წლის მანძილზე უკითხავდა თბილისის ივ. ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ბიოლოგიის ფაკულტეტის სტუდენტებს. მასზე მუშაობისას ვეცადეთ გვესარგებლა იმ უახლესი ლიტერატურული წყაროებით (სახელმძღვანელოები, მონოგრაფიები, ცალკეული სტატიები), რომლებიც უკანასკნელ წლებში გამოქვეყნდა და განხილული საკითხების თანამედროვე მდგომარეობას ასახავენ. ზოგიერთი ამ წყაროთაგანი მითითებულია წიგნის ბოლოში. დასაბეჭდად წარდგენამდე ტექსტი ნაწილობრივ ან მთლიანად წაიკითხეს და სასარგებლო შენიშვნები და რჩევები მომცეს საქართველოს მეცნ. აკადემიის წევრ-კორესპონდენტმა გ. თუმანიშვილმა, ბიოლოგიურ მეცნ. დოქტორმა დ. ფრანგიშვილმა, დოცენტმა ა. შათირიშვილმა, ბიოლოგიურ მეცნ. კანდიდატებმა რ. გოგლიძემ და ნ. შენგელიამ. ტექსტის ტექნიკურ გაფორმებაში დიდი დახმარება გამიწია ლ. ახალკაცმა. ყველა დასახელებულ პირს გულწრფელ მადლობას ვუხდი. ავტორს კარგად აქვს შეგნებული უიმედობა იმ ცდისა, რომ დასახულ მიზანს სრულყოფილად შეასრულებდა, ამიტომ ყოველგვარ საქმიან შენიშვნასა და კეთილ სურვილებს დიდი მადლობით მიიღებს.

დავით ჯოხაძე
1991 წ.

# შ ე ს ა ვ ა ლ ი

ჩვენი საუკუნის მეორე ნახევარი, სამყაროს უნიკალური ფენომენის — სიცოცხლის მოვლენის შესწავლის დარგში, მეტისმეტად დიდი მნიშვნელობის აღმოჩენებით აღინიშნა. ბუნებისმეტყველების სხვადასხვა დარგების ერთობლივი კვლევა-ძიების წყალობით შესაძლებელი გახდა სიცოცხლის ელემენტური სტრუქტურულ-ფუნქციური ერთეულის — უჯრედის მიკროსამყაროს საიდუმლოებებში ღრმად შეჭრა, რის შედეგადაც ჩამოყალიბდა ახალი დარგი — მოლეკულური ბიოლოგია. როგორც თვითონ სახელწოდება გვიჩვენებს, ეს დარგი სასიცოცხლო პროცესებსა და მათთან დაკავშირებულ სტრუქტურებს შეისწავლის ცალკეული მოლეკულების, ანუ სულ თავდაპირველ საწყისს, ელემენტურ დონეზე. სადღეისოდ ამ მხრივ ძირითადად უკვე გაშიფრულია ის ნატიფი მექანიზმები, რომლებიც საფუძვლად უდევს სასიცოცხლო პროცესებს — ზრდას, გამრავლებას, მოძრაობას, განვითარებას, მემკვიდრული ნიშნების შენახვასა და გადაცემას, ნერვულ პროცესებს, საერთოდ ორგანიზმის ბუნებასა და მისი ცხოველქმედების გამოვლინების ფორმებს. დიდი მიღწევებია მოპოვებული ისეთი პროცესებისა და ორგანიზმის ფუნქციური მოქმედების ინტიმური მექანიზმების გაშიფვრაში, როგორიცაა აცეტილსალიცილმჟავა ზრდა, იმუნიტეტი, მეხსიერება.

ბიოლოგიის საერთო პროგრესი განსაკუთრებით აისახა უმნიშვნელოვანეს დარგში — გენეტიკაში, რომელიც შეისწავლის ორგანიზმთა მემკვიდრულობასა და ცვალებადობას. ეს გამოიხატა იმაში, რომ დადგინდა და ზუსტად გაიშიფრა იმ ნივთიერების ბუნება, რომელიც განაპირობებს ორგანიზმის ნიშან-თვისებას, მათ შენახვასა და გადაცემას თაობიდან თაობაში, საფუძვლად უდევს ცვალებადობას; გამოვლინდა ამ ნივთიერების ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმები.

კლასიკურმა გენეტიკამ (მას ზოგჯერ ფორმალურ გენეტიკასაც უწოდებენ), რომელიც ცალკე დარგად სათავეს ჩვენი საუკუნის დასაწყისიდან იღებს, მტკი-

ცად დაამკვიდრა მემკვიდრეობის ქრომოსომული თეორია, შემოიტანა გენის როგორც მემკვიდრეობის დისკრეტული მატერიალური ერთეულის ცნება და რომ გენები განლაგებულია ქრომოსომებში, ამასთან ხაზობრივად. დადგინდა გენის ფუნქციონირების ბევრი მნიშვნელოვანი კანონზომიერება. მიუხედავად ამისა, ორმოციან წლებამდე თვით გენის მატერიალური ბუნება უცნობი რჩებოდა და მასზე წარმოდგენები საკმაოდ აბსტრაქტული იყო. ამ მხრივ გარდატეხა დაიწყო 1944 წლიდან, როდესაც ამერიკელი მკვლევარის ო.ეიეერისა და თანამშრომლების მიერ ბაქტერიების მაგალითზე სრულიად დამაჯერებლად იქნა ნაჩვენები, რომ მემკვიდრეობის მატერიალურ ქიმიურ სუბსტრატს წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავები, კერძოდ დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა. ამ დროიდან გენის შესახებ აბსტრაქტული მსჯელობანი ადგილს უთმობენ მემკვიდრეული სუბსტრატის ფიზიკურ-ქიმიური ბუნების ინტენსიურ კვლევას. ასეთი კვლევის შედეგები წარმატებით დააგვირგვინეს ჯ.უოტსონმა და ფ.კრიკმა, რომლებმაც 1953 წელს დაადგინეს დნმ-ს სტრუქტურა. შედეგად გამოიკვეთა ახალი დარგი — მოლეკულური გენეტიკა, რომელიც შეისწავლის გენეტიკურ სუბსტრატს და მისი ფუნქციონირების მექანიზმებს მოლეკულების დონეზე.

მოლეკულური გენეტიკა, რომელიც თავის კვლევებში, გარდა ბიოლოგიურისა, იყენებს ფიზიკის, ქიმიის, მათემატიკის, კიბერნეტიკის, ელექტრონიკისა და სხვა მეთოდებს,-კლასიკური გენეტიკის გაგრძელებაა; ფაქტიურად აქ ახალია არა იდეები, არამედ მეთოდები. იგი აღმოცენდა და განვითარდა უმთავრესად კლასიკური გენეტიკისა და ბიოქიმიის კავშირით, რის შედეგადაც გენეტიკა თვისებრივად ახალ საფეხურზე ავიდა. კლასიკური გენეტიკა, რომლის ძირითადი მეთოდია გენეტიკური ანალიზი, გამდიდრდა ბიოქიმიური ანალიზის მეთოდებით; ერთგვარად დაკონკრეტდა შეხედულება დისკრეტულ მემკვიდრულ ნიშან-თვისებაზე მეტაბოლური გზის ეტაპის შესახებ წარმოდგენის სახით. სხვადასხვანაირად რომ ვთქვათ, მოლეკულური გენეტიკა იკვლევს ბიოლოგიური სპეციფიკურობის მატარებელი მაკრომოლეკულების სტრუქტურისა

და ფუნქციის გენეტიკურ დეტერმინაციას. ყოველივე ამით კონკრეტული შინაარსი ეძლევა გენის როგორც მაკრომოლეკულის ცნებას.

მოლეკულური გენეტიკის მიერ დადგენილი ყველა დებულება — დნმ-ს სტრუქტურისა და რეპლიკაციის მექანიზმებიდან გენის ნატიფი სტრუქტურის ექსპერიმენტულ დასაბუთებამდე — საცსებით დაემახვა კლასიკური გენეტიკის წარმოდგენებს, დაადასტურა მემკვიდრეობის ქრომოსომული თეორია და აღმოაჩინა გენის თეორიის ლოგიკური გაგრძელება.

თანამედროვე ბიოლოგიის ერთ-ერთი მთავარი პოსტულატი მდგომარეობს იმაში, რომ ცოცხალი სისტემების რიგი ფუნდამენტური თავისებურებანი განისაზღვრება და წარმართება სპეციფიკური ბიოლოგიური მაკრომოლეკულებით, რომელთაც, მათი ასეთი ფუნქციის შესაბამისად, თავისებური სტრუქტურაც გააჩნიათ. ეს მოლეკულებია ცილები და ნუკლეინის მჟავები. საერთოდ, სიცოცხლის მოვლენა (რომლის ზუსტი განმარტება დღემდე ვერ ხერხდება), სიცოცხლის პროცესი სამ ძირითად წყაროს საჭიროებს და ეყრდნობა: მასალას (ნივთიერებას), ენერგიასა და ინფორმაციას. აქედან ერთის გამოკლებითაც კი ცოცხალი წყვეტს არსებობას, ისინი ცალკე გზებით საბოლოოდ თავს იყრიან ერთ წერტილში, რათა შექმნან სიცოცხლისათვის საჭირო ნივთიერება — ცილის მოლეკულა. ცილები უაღრესად ნაირგვარია, ნაირგვარია მათი ფუნქციებიც. მთავარი კი ისაა, რომ ისინი მონაწილეობენ ცოცხალი სისტემებისათვის დამახასიათებელი ნაირგვარი სტრუქტურების შექმნაში და ამასთანავე წარმართავენ და არეგულირებენ ორგანიზმში მიმდინარე ასევე უაღრესად ნაირგვარ სასიცოცხლო პროცესებს.

ცოცხალისათვის დამახასიათებელი ყოველგვარი სტრუქტურის წარმოქმნა და მათი ფუნქციონირება მიმდინარეობს არა უწესრიგოდ და ქაოსურად, არამედ ურთიერთშეწყობილად იმ ინფორმაციის შესატყვისად, რომელიც მოცემულ ორგანიზმშია დეტერმინირებული გარკვეული მატერიალური საწყისით. სიცოცხლისათვის ზემოთ დასახელებული სამი წყაროდან ენერგიისა და ნივთიერების

ნაკადი განისაზღვრება ციღებით, ხოლო ინფორმაციის მატერიალური სუბსტრატს წარმოადგენენ ნუკლეინის მჟავები. ნუკლეინის მჟავები ორი ძირითადი სახისაა: დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა (დნმ) და რიბონუკლეინის მჟავა (რნმ). ცოცხალ სისტემებში ძირითადი გენეტიკური სუბსტრატი დნმ-ა, თუმცა ზოგჯერ (მაგალითად, ზოგიერთ ვირუსში) ამ ფუნქციას ასრულებს რნმ. დნმ-ს თავისი გენეტიკური ფუნქციის განხორციელებაში ემსახურება განსხვავებული მოლეკულური და ფუნქციური ტიპის რნმ-ები. საბოლოოდ, თანამედროვე ბიოლოგიის ძირითადი პოსტულატი შეიძლება გამოეხატოთ ტრიადით: დნმ → რნმ → ცილა. თუმცა ინფორმაციის დეკოდირება და შედეგი ერთმანეთისგან ბრივია, მაგრამ აღმოჩნდა, რომ ზოგჯერ დნმ შეიძლება წარმოიქმნეს რნმ-ს საფუძველზე და ზემოთ გამოხატულ ტრიადს („ცენტრალურ დოგმას") საბოლოოდ ასეთი სახე შეიძლება მიეცეს: დნმ ⇄ რნმ → ცილა. ამრიგად, გენის, როგორც ნუკლეინის მჟავის მოლეკულის რომელიმე მონაკვეთის, საბოლოო ეფექტი ამა თუ იმ ცილის (ფერმენტის) სინთეზია.

როგორც აღვნიშნეთ, მოლეკულური გენეტიკა კლასიკური გენეტიკის გაგრძელება და განვითარებაა. მისი საყრდენი აღმოჩნდა ჯ.ბიდლისა და ბ.ეფრუსის ჰიპოთეზა — „ერთი გენი — ერთი ფერმენტი", რომლის მიხედვითაც ერთი გენი კონტროლირებს ერთი ფერმენტის სინთეზს. ამ ჰიპოთეზის დიდი მნიშვნელობა ის იყო, რომ დაისახა პრაქტიკული პერსპექტივა ცალკეული გენების იდენტიფიკაციისა თითოეული მათგანის მიერ კონტროლირებული შესაბამისი ქიმიური რეაქციების საფეხურებრივი შესწავლის გზით. ამ ჰიპოთეზის შემოწმებისათვის ნაკლებად ვარგისი აღმოჩნდა უმაღლესი ორგანიზმები: მათში სასიცოცხლო პროცესები გაცილებით რთული და ხანგრძლივია, რაც გაპირობებულია მათი მრავალუჯრედიანობით, ნაირგვარი უჯრედშორისი, ქსოვილთშორისი, ორგანოთაშორისი და ორგანოების სისტემათაშორისი ურთიერთობით. ამიტომ აუცილებელი გახდა უფრო მარტივად ორგანიზებული არსებების ძიება საათანადო დაკვირვებებისა და ექსპერიმენტების ჩასატარებლად. ამ მხრივ გაცილებით

მოხერხებული აღმოჩნდა მიკროორგანიზმები, რომელთა მემკვიდრეული სუბსტრატი შედარებით მარტივადაა ორგანიზებული, მარტივადვეა გამოხატული ნიშანთვისებანი და უმეტესად ბიოქიმიურნია. კარგი ობიექტები აღმოჩნდა ვირუსები და უმარტივესი სოკოები, ბევრი რამ დადგინდა ბაქტერიებისა და ბაქტერიოფაგების ურთიერთობის შესწავლით. ამ უკანასკნელთა გენომები წარმოადგენენ ნუკლეინის მჟავების — დნმ-ს ან რნმ-ს მოლეკულებს, რომლებიც თითქმის არ არიან დაკავშირებული ცილებთან. ამიტომ მათი გამოყოფა და ფიზიკურ-ქიმიური დახასიათება შედარებით ადვილია. ბევრად უფრო რთულია უმაღლესი ორგანიზმების გენომის ორგანიზაცია, სადაც მემკვიდრეული სუბსტრატი — დნმ, რომელიც აქ გარკვეულად თავისებურია, დაკავშირებულია ნაირგვარ ცილებთან, ლიპიდებთან, რნმ-სთან, პოლისაქარიდებთან და წარმოადგენება რთული სუბსტანცია — ქრომატინი. აქედან გამომდინარე, შესაბამისად გართულებულია ასეთი სუბსტანციის ფუნქციონირების მექანიზმები და მათი შესწავლაც. მიუხედავად ამისა, სადღეისოდ შემუშავებულია ახალი ხერხები და მეთოდები, რომლებითაც შესაძლებელი გახდა უმაღლეს ორგანიზმთა ესოდენ რთულად ორგანიზებული გენომის სტრუქტურისა და ფუნქციონირების მრავალი მხარის გამოცდენა.

მიღწევები, რომლებიც სადღეისოდ მოპოვებულია მოლეკულურ გენეტიკაში, უკვე წარმატებით გამოიყენება პრაქტიკაში, კერძოდ-მედიცინაში, სოფლის მეურნეობაში, გარემოს დაბინძურების გამოცდენაში. განსაკუთრებით აღსანიშნავია წარმატებანი და პერსპექტივები გენეტიკურ ინჟინერიაში — ახალ დარგში, რომელშიც ადამიანის ჩანაფიქრი ორგანიზმის ამა თუ იმ ნიშან-თვისების შეცვლისა თუ სხვა ორგანიზმში გადაცემის შესახებ ხორციელდება, უშუალოდ გენეტიკურ სუბსტრატზე ხელოვნური მანიპულაციების ჩატარებით.

# თ ა ვ ი I

## გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი  ს უ ბ ს ტ რ ა ტ ი ს  მ ა ტ ე რ ი ა ლ უ რ ი  ბ უ ნ ე ბ ი ს  შ ე ს წ ა ვ ლ ი ს  ძ ი რ ი თ ა დ ი  ე ტ ა პ ე ბ ი

მემკვიდრეობის კორპუსკულური თეორიის საფუძვლებთან. ჯერ კიდევ ჩ.დარვინმა (1809-1882), თავისი ევოლუციური თეორიის შექმნისას, სცადა პასუხი გაეცა კითხვაზე, თუ რა მატერიალური საწყისები განაპირობებენ ცოცხალი ორგანიზმებისათვის დამახასიათებელ უმნიშვნელოვანეს თვისებას — მემკვიდრეობას და ცვალებადობას. მანამდე წარმოდგენები მემკვიდრეობის დედაარსზე საკმაოდ ზერელე იყო და რაიმე მწყობრი თეორია არ არსებობდა. დარვინმა თავი მოუყარა იმდროინდელი გამოჩენილი სელექციონერების მიღწევების შედეგად გამოვლენილ კანონზომიერებებს, გაითვალისწინა საკუთარი დაკვირვებანიც და დაასკვნა, რომ „თუ ერთმანეთს შეეაჯვარებთ ორ მკვეთრად განსხვავებულ რასას, პირველი თაობის შთამომავლობა მკვეთრად ემსგავსება ერთ-ერთ მშობელს, ან უფრო ხასიათისაა, ან იშვიათად ახალი თვისებებიც წარმოიშობა“ (ჩ.დარვინი, თხზულებანი, ტ.III, გვ.123. რუს.ენაზე). მეორე თაობაში „შთამომავლობა ნაირგვარია, ხოლო ბევრი მათგანი წინაპართა ფორმებს უბრუნდება“. როგორც ჩანს, პირველ თაობაში ნიშან-თვისებათა დომინირებისა და მეორე თაობაში დათიშვის კანონების საწყისები დარვინთან უნდა ვეძებოთ.

ორგანიზმთა ნიშან-თვისებების მემკვიდრეობით გადაცემის ფაქტების ანალიზისა და მიზეზების ახსნისას დარვინი იმ დასკვნამდე მივიდა, რომ უნდა არსებობდეს ყოველი ნიშან-თვისების გამაპირობებელი რაღაც მატერიალური ერთეული. საამისოდ მან წამოაყენა ე.წ. „პანგენეზისის დროებითი ჰიპოთეზა“, რომლის მოკლე შინაარსი ასეთია: ნებისმიერი ორგანოს ყოველ უჯრედში არსებობენ უმცირესი ზომის ნაწილაკები — პემფეღები, რომლებსაც შეუძლიათ გამრავლება და კვება; ყოველი ორგანო მათ მრავლად გამოყოფს .

ჰემუღები ცვალებადია, ისინი იცვლებიან გარემოს ფაქტორების ზემოქმედებით. ცალკეული უჯრედების მიერ გამოყოფილი ჰემუღები გამოიტანებიან მთელს სხეულში. გააჩნიათ რა ურთიერთნათესაობა, ისინი სხეულის ყველა ნაწილიდან იკრიბებიან საერთო კომპლექსში და წარმოქმნიან გამრავლების უჯრედების (მათ შორის სასქესო უჯრედების) საერთო კომპლექსს. ორგანოებში წარმოქმნილი ცვლილებები აისახებიან ჰემუღებში და რადგან ეს უკანასკნელნი თავს იყრიან სასქესო უჯრედებში, მათგან წარმოშობილი შთამომავლობაც შეცვლილი იქნება.

პანგენეზისის ჰიპოთეზა, ცხადია, არასწორი და მიუღებელია, რადგან მის სასარგებლოდ არ ყოფილა ნანახი არც ერთი ექსპერიმენტული ფაქტი, მაგრამ ისტორიული მნიშვნელობა მაინც აქვს იმ თვალსაზრისით, რომ იგი პირველი ცდაა მემკვიდრეობის მატერიალური ბაზისის ახსნისა, თანაც დიდი ბუნებისმეტყველის მხრიდან. საყურადღებოა, რომ დარვინის ჰიპოთეზაში მინიშნებულია მემკვიდრულ ერთეულთა კორპუსკულური ბუნება.

მომდევნო პერიოდის შეხედულებანი მემკვიდრულობის დედაარსზე სხვადასხვაგვარი იყო, მაგრამ არსებითად ეყრდნობოდა იმ წარმოდგენას, რომ ორგანიზმთა ყოველ ნიშან-თვისებას განაპირობებს გარკვეული მატერიალური სხეულაკები — კორპუსკულები, რომ შთამომავლობაში ნიშნების გადაცემა სწორედ ამ კორპუსკულების მეოხებით ხორციელდება. მემკვიდრეობის კორპუსკულური თეორიის ჩამოყალიბებაზე დიდი გავლენა მოახდინა ა.ვეისმანისა (1834-1914) და ჰ.დე-ფრიზის (1848-1935) შეხედულებებმა, განსაკუთრებით კი, ცხადია, გ.მენდელის (1822-1884) მიერ აღმოჩენილმა კანონებმა.

1860 წლისათვის უკვე კარგად იყო ცნობილი, რომ სქესობრივი გამრავლებისას ახალი ორგანიზმის წარმოშობა, ორი განსხვავებული სასქესო უჯრედის, — სპერმატოზოიდისა და კვერცხუჯრედის ურთიერთშერწყმის შედეგად, საიდანაც გამომდინარეობდა, რომ მემკვიდრული ნიშნები შთამომავლობაში სწორედ ამ უჯრედებით გადაეცემა. 1868 წელს ე.ჰეკელი, იმ ფაქტზე დაყრდნობით, რომ სპერმატოზოიდი ძირითადად უჯრედის ბირთვის მასალისაგან შედგე-

ბა, იმ დასკვნამდე მივიდა, რომ მემკვიდრეობაზე პასუხისმგებელი ბირთ-ვია. ეს შეხედულება კიდევ უფრო განმტკიცდა მას შემდეგ, რაც გამოვლენილ იქნა მიტოზის, მეიოზისა და განაყოფიერების პროცესების დეტალები. აღმოჩნდა, რომ უჯრედის დაყოფისას ბირთვის კომპონენტები — ქრომოსომები ნაწილდებიან თანაბრად და უაღრესად კანონზომიერად შვილეულ უჯრედებს შორის. მეიოზის პროცესში ხდება ქრომოსომთა რიცხვის განახევრება — ორი ჰაპლოიდური კრებულის წარმოქმნა, განაყოფიერებისას კი დიპლოიდური კრებული კვლავ აღდგება. ეს ფაქტები, მართალია არაპირდაპირ, მაგრამ მაინც, საკმაოდ, სარწმუნოდ მიუთითებენ, რომ მემკვიდრული ფაქტორები უჯრედის ბირთვის ქრომოსომებში უნდა იყოს ლოკალიზებული. საამისო მტკიცებულებანი მიღებული იქნა მეცხრამეტე და მეოცე საუკუნეების მიჯნაზე, როდესაც აღმოაჩინეს მემკვიდრეობის ძირითადი კანონები. ეს კანონები, როგორც ცნობილია, პირველად ჩამოაყალიბა გ.მენდელმა 1865 წელს, მაგრამ ისინი შეუმჩნეველი დარჩათ თანამედროვეთ. 1900 წელს სამმა მეცნიერმა — ჰ.დეფრიზმა — ჰოლანდიაში, კ.კორენსმა — გერმანიაში და ე.ჩერმაკმა — ავსტრიაში ერთდროულად და ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად ხელახლა აღმოაჩინეს მენდელის მიერ 35 წლით ადრე დადგენილი კანონზომიერებანი, საიდანაც, ფაქტიურად საწყისს იღებს თანამედროვე გენეტიკური კონცეფციები.

<u>მენდელიზმის დედაარსი.</u> თანამედროვე გენეტიკას საფუძვლად უდევს გ.მენდელის მიერ დადგენილი მთავარი პრინციპი: მემკვიდრეობის დისკრეტულობა, მოწესრიგებულობა უჯრედის გენეტიკური აპარატისა, რომელზედაც დამოკიდებულია ნიშან-თვისებათა გარკვეული კომპოზიცია, მათი შენარჩუნებისა და თაობებში გადაცემის კანონზომიერებანი. მენდელამდე ორი განსხვავებული მშობლის ნიშან-თვისებებს თაობებში შეისწავლიდნენ ერთ მთლიანობაში. იმ დროს ჰიბრიდებში, ნიშან-თვისებათა დიდი ნაირგვარობის გამო, შეუძლებელი იყო შეემჩნიათ რაიმე კარგად გამოხატული და განმეორებადი კანონზომიერებანი. ნახულობდნენ მხოლოდ მშობლიურ ფორმებთან ნაშიერების საერთო მსგავსების ფაქტებს. დამკვიდრდა წარმოდგენა ე.წ. „შორეულ“ ანუ „შერწყ-

მულ" მემკვიდრეობაზე, რომ შეჯვარებისას ორივე მშობლის მემკვიდრეული საფუძვლები ისევე ერწყმის ერთმანეთს, როგორც შეერევა ორი სხვადასხვა ფერის ხსნარი, შუალედური შეფერილობის წარმოქმნით.

მენდელის ცდებში ორიგინალური ის იყო, რომ შეჯვარებისათვის მშობლიურ წყვილებად გამოიყენებოდა წმინდა ხაზები, ე.ი. ორგანიზმები, რომლებიც თვითდამტვერვისას მხოლოდ მშობლების მსგავს შთამომავლობას იძლევიან, დაკვირვება ხდებოდა მკვეთრად გამოხატულ ცალკეულ (ერთეულ) ნიშნებზე; შეჯვარების შედეგად მიღებული ჰიბრიდები აღირიცხებოდა ყოველი მოცემული ნიშნის მიხედვით — გაჩნდა თუ არა ამა თუ იმ ინდივიდს ეს ნიშანი. აღსანიშნავია რომ ამ პირობების მკაცრი გათვალისწინების გარეშე დღესაც შეუძლებელია გენეტიკური ანალიზი.

ცდებში მენდელი იყენებდა თვითმტვერია მცენარე ბარდას ( Pisum sativum) სხვადასხვა ჯიშებს, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან მნიშვნელოვანი კონტრასტული ანუ ალტერნატივული ნიშნით: თესლის ფერით (ყვითელი და მწვანე), ფორმით (გლუვი და ნაოჭებიანი ზედაპირი), ღეროს სიმაღლით (მაღალ და ქონდარა), ყვავილის ფერით (წითელი და თეთრი) და ა.შ. მენდელი დიდი გულმოდგინეობით შეისწავლიდა სხვადასხვა ჯიშების ნაჯვარებს (ჰიბრიდებს) და შეამჩნია, რომ ორი განსხვავებული ფორმის შეჯვარებისას ნიშან-თვისებანი გარკვეული წესით მემკვიდრეობენ. ასე, მაგალითად, ყვითელთესლიანი ფორმების წმინდა ჯიშების (ხაზების) შეჯვარებისას (შეჯვარება ერთი წყვილი ნიშნის მიხედვით ანუ მონოჰიბრიდული შეჯვარება) პირველ თაობაში ($F_1$) ყველა მცენარე ყვითელთესლიანი იყო. ამ მცენარეთა თვითდამტვერვით მიღებულ მეორე თაობაში ($F_2$) მიიღებოდა როგორც ყვითელთესლიანი, ისე მწვანეთესლიანი მცენარეები. ამასთან, შეიმჩნეოდა მკვეთრად გამოხატული თანაფარდობა: მცენარეთა 75% ყვითელთესლიანი იყო, ხოლო 25%-ს მწვანე თესლი ჰქონდა (მიღებული 8023 თესლიდან 6022 იყო ყვითელი, ხოლო 2001 მწვანე). ამრიგად, ნიშან-თვისება რომელიც $F_1$-ში არ გამოვლინდა და დაიფარა (თესლის მწვანე ფერი), $F_2$-ში კვლავ გამოჩნდა

და ამასთან ზუსტი რაოდენობრივი შეფარდებით — 1:3 გადამფარავ ნიშან-თვისებასთან (თესლის ყვითელი ფერი). მენდელმა ასეთნაირადვე შეისწავლა შვიდი წყვილი სხვადასხვა ნიშან-თვისება და აღმოჩნდა, რომ $F_1$-ში ერთი ნიშან-თვისება ყოველთვის გადაფარავდა მეორეს, ხოლო $F_2$-ში ხდება ნიშან-თვისებათა კანონზომიერი დათიშვა ისე, რომ სამი წყვილი პგავდა იმ მშობელს, რომლის ნიშანსაც $F_1$-ში გადაფარა მეორის ნიშანი, ხოლო ერთი წილი პგავდა მეორე მშობელს, რომლის ნიშანიც $F_1$-ში მთლიანად გადაიფარა. მაგალითად, წითელ-ყვავილა ბარდას შეჯვარებისას თეთრყვავილიანთან $F_1$-ში ყველა მცენარე წითელყვავილა იყო, ხოლო $F_2$-ში სამ წილს წითელი ყვავილი პქონდა, ხოლო ერთ წილს თეთრი; გლუვთესლიანი ბარდის შეჯვარებისას ნაოჭიანთან $F_1$-ში ყველა მცენარე გლუვთესლიანი იყო, $F_2$-ში მცენარეთა სამ წილს გლუვი თესლი პქონდა, ხოლო ერთ წილს ნაოჭიანი. ნიშანს, რომელიც გამოვლინდება $F_1$-ში და მთლიანად გადაფარავს საპირისპიროს, ეწოდა დომინანტური (თესლის ყვითელი ფერი, გლუვი ზედაპირი, ყვავილის წითელი ფერი და სხვ.), ხოლო რომელიც იფარება და გამოვლინდება $F_2$-ში — რეცესიული (თესლის მწვანე ფერი, ნაოჭიანი ზედაპირი, ყვავილის თეთრი ფერი და სხვ.). $F_2$-დან რეცესიული ნიშნის მქონე მცენარეთა თვითდამტვერვით მიღებულ მესამე თაობაში ($F_3$) ყველა მცენარე რეცესიული ნიშნებით იყო, მაშინ, როდესაც გარეგნულად დომინანტური ნიშნების მქონე მცენარეების სამი წილიდან ერთი წილი რჩებოდა ყვითელთესლიანი, ხოლო ორი წილი კვლავ ითიშებოდა ისე, რომ შთამომავლობაში სამი წილი იყო ყვითელთესლიანი და ერთი წილი მწვანეთესლიანი. ნიშანთა კანონზომიერ განაწილებას ვნახულობთ $F_4$-ში.

მენდელმა უაღრესად მახვილგონიერად გაიაზრა და ახსნა თავისი ცდების შედეგები. მან დაუშვა, რომ ყოველ ნიშან-თვისებას განაპირობებს ანუ განსაზღვრავს ერთი წყვილი მემკვიდრული ფაქტორი, დღევანდელი ტერმინით — გენი. ყოველი ნაშიერი ერთ ფაქტორს ღებულობს დედისაგან, ხოლო მეორეს—მამისაგან. მაგალითად, თუ ბარდას თესლის ყვითელი ფერის გამაპირობებელ გენს აღვნიშნავთ ლათინური დიდი ასოთი A, მაშინ წმინდა ჯიშის (ხაზის) ყოველ

შესაბამის მცენარეს მემკვიდრეულ საფუძველში — გენოტიპში იქნება ორი ასეთი გენი — AA . ანალოგიურად, თუ თესლის მწვანე შეფერილობის განმსაზღვრელ გენს აღვნიშნავთ ლათინური პატარა ასოთი — a , მაშინ შესაბამისი მცენარის გენოტიპში იქნება გენები aa . ყოველ სასქესო უჯრედში — გამეტაში მოცემული წყვილიდან თითო გენია, ე.ი. ყვითელთესლიანი ჯიშის გამეტა შეიცავს A -ს, ხოლო მწვანეთესლიანისა a -ს. ცხადია, რომ ასეთი მცენარეების შეჯვარებით მიღებული პირველი თაობის ( $F_1$) ინდივიდში იქნება ორივე გენი Aa . ამასთან, რადგან ყვითელი ფერის განმსაზღვრელი ფაქტორი ( A ) დომინანტობს მწვანეზე ( a ), ყველა მცენარეს ყვითელი ფერის თესლი იქნება.

ყოველი ორგანიზმის გარეგნული ნიშნების ერთობლიობას ეუწოდებთ ფენოტიპს, ხოლო გენეტიკურ კონსტიტუციას, მემკვიდრულ საფუძველს — გენოტიპს. ერთნაირი ფენოტიპის ინდივიდები გენოტიპურად შეიძლება განსხვავდებოდნენ. ამიტომ, მოცემული ინდივიდის გენოტიპის გარკვევისათვის, ხშირად საჭირო ხდება შეჯვარება რიგი თაობების მანძილზე. ამ დროს ზოგიერთი იფიშება და წარმოქმნის ნაირგვარობებს, ხოლო ზოგიერთი იგივე რჩება. ეს უკანასკნელნი ე.წ. წმინდა ხაზებია მემკვიდრეული ფაქტორების მიხედვით და მათ ჰომოზიგოტურ ინდივიდებს უწოდებენ. მათში დედისეული და მამისეული გენები ერთნაირია. თესლის ფერის შემთხვევაში ეს მდგომარეობა გამოისახება როგორც AA ან aa . როდესაც ინდივიდში დედისეული და მამისეული გენები განსხვავებულია, მას ჰეტეროზიგოტურს უწოდებენ. თესლის ფერის შემთხვევაში ეს მდგომარეობა გამოისახება როგორც Aa. ასეთი ინდივიდები ორი სახის გამეტას A -ს და a -ს წარმოქმნიან, ამასთან დაახლოებით თანაბარი რაოდენობით. შეჯვარებისას მათი შეხვედრა ზიგოტაში შეიძლება მოხდეს შემდეგი კომბინაციებით: AA , Aa , Aa და aa. თითოეული კომბინაციის აღბათობა დაახლოებით 25%-ია. ამასთანავე, ადვილი შესამჩნევია, რომ კომბინაციათა ასეთი განაწილება მით უკეთ იქნება გამოხატული, რაც მეტი იქნება ინდივიდთა რიცხვი. მიღებულ კომბინაციებში AA ყვითელთესლიანია და ჰომოზი-

გოტური, ხოლო მწვანეთესლიანია და აგრეთვე ჰომოზიგოტური. ასეთი მცენარეები შემდგომში აღარ იჩიშება. $A_2$ გენოტიპის მცენარეები ყვითელთესლიანია და ჰეტეროზიგოტური, რომლებიც შემდგომ კვლავ იჩიშებიან. ყოველივე აქედან ნათელია, რატომ ხდება $F_2$-შინიშან-თვისებათა კანონზომიერი დათიშვა შეფარდებით 3:1 ფენოტიპის მიხედვით. ჰეტეროზიგოტური ინდივიდი გენების მოცეშული წყვილიდან შეიცავს ერთს— დომინანტურს ან რეცესიულს, ხოლო მისგან წარმოქმნილ გამეტაში მხოლოდ ერთი ამ გენთაგანია. აქედან დასკვნა, რომ შეჯვარებისას ამა თუ იმ ნიშან-თვისების განმსაზღვრელი გენები არ ქრებიან, არ აღირეცვიან, ინარჩუნებენ თავიანთ ინდივიდუალობას და გამეტაში კვლავ ცალკეთდებიან. ეს ე.წ. გამეტათა სიწმინდის ჰიპოთეზა ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი დებულებაა მენდელის მოძღვრებაში. ძირითადი პოსტულატი კი დათიშვის კანონია.

ამრიგად, ყოველ ნიშან-თვისებას განსაზღვრავს ცალკეული დისკრეტული ფაქტორი, რომელიც გამეტების საშუალებით გადაეცემა თაობიდან თაობაში. ასეთი ფაქტორები— გენები, რომლებიც ურთიერთგამომრიცხველი ნიშნების განვითარებას განსაზღვრავენ, წყვილებს შეადგენენ. მათ აღელურ გენებს უწოდებენ. ჩვენ მიერ მოხსენებული მაგალითებიდან, ბარდას შემთხვევაში ასეთი აღელებია თესლის ყვითელი და მწვანე ფერის გამაპირობებელი გენები და ა.შ. აღელური გენები განლაგებულია ჰომოლოგიურ ქრომოსომებში და სასქესო უჯრედების წარმოქმნისას (მეიოზის შედეგად), ისინი სხვადასხვა გამეტებში ცალკეთდებიან.

ერთზე მეტი წყვილი ნიშნების განაწილების კვლევისას ( პოლიჰიბრიდული შეჯვარება) შთამომავლობაში მენდელმა მეტად მნიშვნელოვანი დასკვნა გამოიტანა. სახელდობრ, როდესაც იგი აკვირდებოდა ნიშნების განაწილებისას ჰიბრიდებში, ერთის მხრივ თესლის ფერის (ყვითელი-მწვანე), ხოლო მეორეს მხრივ, თესლის ზედაპირის ფორმის (გლუვი-ნაოჭიანი) მიხედვით (დიჰიბრიდული შეჯვარება); აღმოჩნდა, რომ სხვადასხვა წყვილი ნიშნები შთამომავლობაში ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად მემკვიდრეობენ. სახელდობრ, ბარდას

ყვითელი გლუვთესლიანი ჯიშის შეჯვარებისას მწვანე ნაოჭიანი თესლის მქონე ჯიშიან $F_1$-ში ყველა მცენარეს ყვითელი და გლუვი თესლი ჰქონდა. $F_2$-ში მიიღებოდა ოთხნაირი ფენოტიპის მცენარეები. ამასთან კარგად გამოხატული რაოდენობრივი შეფარდებით: ყვითელი-გლუვთესლიანი (9 წილი), ყვითელი-ნაოჭიანი თესლით (3 წილი), მწვანე-გლუვთესლიანი (3 წილი) და მწვანე-ნაოჭიანი თესლით (1 წილი). ამრიგად, თესლის ფერი და ფორმა ჰიბრიდებში ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად განაწილდა. ნიშან-თვისებათაპასეთი კანონზომიერი განაწილება ნათელი გახდება, თუ შეჯვარებისა და დათიშვის შინაარსსა და მსვლელობას განვიხილავთ მიღებული სიმბოლოების გამოყენებით (ეს შეიძლება ცნახოთ ზოგადი გენეტიკის ნებისმიერ სახელმძღვანელოში).

როგორც მონო,- ისე დიჰიბრიდული შეჯვარებისას ზემოთ აღწერილი კანონზომიერებანი გამოვლენილია მრავალნაირი მცენარისა და აგრეთვე ცხოველების მაგალითზე. ამ კანონზომიერებათა ანალიზისას კარგად ჩანს, რომ მონოჰიბრიდული შეჯვარებისათვის დამახასიათებელი თანაფარდობა შეიმჩნევა დიჰიბრიდული შეჯვარების დროსაც. სახელდობრ, დიჰიბრიდული დათიშვისას ყვითელთესლიან მცენარეთა რიცხვის შეფარდება მწვანეთესლიანთან არის 12:4, ე.ი. 3:1. ასევეა თესლის ფორმის მხრივაც. ამრიგად, დიჰიბრიდული დათიშვა ფაქტიურად ორი ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად მიმდინარე მონოჰიბრიდული დათიშვაა, რომლებიც თითქოს ერთმანეთზე მიეწყობიან. აქედან ადვილად შეიძლება წინასწარ განვსაზღვროთ შეჯვარების მოსალოდნელი შედეგები სამი ან მეტი წყვილი აღელის მიხედვით (ტრი -, ტეტრა - და ა.შ. - პოლიჰიბრიდული შეჯვარება), რაც ნიშან-თვისებათა წყვილების ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად განაწილების ანუ დამოუკიდებლად დათიშვის კანონს ემყარება.

<u>მემკვიდრეობის ქრომოსომული თეორიის განმტკიცება.</u> გ.მენდელის მიერ აღმოჩენილი კანონზომიერების დედაარსი ნათელი გახდა მას შემდეგ, რაც დადგინდა ქრომოსომების განაწილების სურათი მიტოზისა და მეიოზის დროს. ამასთანავე მინიშნებული იქნა, რომ ამა თუ იმ ნიშან-თვისებების განმსაზღვრელი ფაქტორები - გენები წარმოადგენენ ქრომოსომების გარკვეულ უბნებს,

მათ ნაწილებს. დიპლოიდურ ორგანიზმში ყოველი ქრომოსომა ორი ასლის სახითაა. გამონაკლისი მხოლოდ სასქესო ქრომოსომებია, რომლებიც ე.წ. დროზოფილას ჯგუფის ორგანიზმებში მდედრში ერთნაირია (XX), ხოლო მამრში განსხვავებულია (XY); ე.წ. პეპლების ჯგუფის ორგანიზმებში პირიქითაა. აქედან გამომდინარეობს, რომ დი - და პოლიჰიბრიდული შეჯვარებისას ნიშან - -თვისებანი შთამომავლობაში დამოუკიდებლად განაწილდებიან იმ შემთხვევაში, როცა მათი განმსაზღვრელი წყვილი, ანუ აღელური გენები ქრომოსომთა სხვადასხვა წყვილებშია განლაგებული. ამასთანავე ცხადი გახდა, რომ გენების რიცხვი ბევრად ჭარბობს ქრომოსომების რიცხვს, რის გამოც მემკვიდრული ფაქტორები, რომლებიც ერთ ქრომოსომაში არიან განლაგებულნი, ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად ვერ განაწილდებიან და ამ შემთხვევაში მენდელის მეორე კანონს ძალა არა აქვს. ეს საკითხი დეტალურად შეისწავლა ამერიკელმა მკვლევარმა ტ.მორგანმა (1866-1945) და მისმა თანამშრომლებმა. საამისოდ უალრესად ხელსაყრელი საცდელი ობიექტი აღმოჩნდა ხილის პაწია ბუზი დროზოფილა ( Drosophila melanogaster ). ამ მწერის, როგორც ლაბორატორიული ობიექტის, უპირატესობა იმაშია, რომ ადვილად მრავლდება: თაობას იძლევა 10-15 დღეში, ერთი წყვილი ბუზიდან იჩეკება ასეულობით ნაშიერი, ისე, რომ წლის განმავლობაში 30-ზე მეტი თაობა შეგვიძლია მივიღოთ. ეს მეტად აჩქარებს გენეტიკურ ცდებს (გარდასთან შედარებით არანაკლებ 25-ჯერ). დროზოფილას სულ ოთხი წყვილი ქრომოსომა აქვს, რაც ადვილებს დაკვირვებას. ბუზები მცირე ზომისაა და შესანახად მეტად პატარა ფართობს საჭიროებენ. ათეული ათასობით ინდივიდის მისაღებად საკმარისია რამდენიმე ასეული სინჯარა, რომელიც სულ 15 X 25 სმ ზომის ყუთში ჩაეტევა. მნიშვნელოვანია ის გარემოებაც, რომ არსებობს დროზოფილის მრავალნაირი ფორმა, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან სხეულის მოყვანილობითა და ფერით, თვალების ფორმითა და ფერით, ფრთების ფორმით და ა.შ. ამ ფორმათა შეჯვარებით და შედეგების ანალიზით მორგანმა და მისმა თანამშრომლებმა მრავალი გენეტიკური კანონზომიერება გამოიკვლიეს, რომელთა შორის აღსანიშნავია

ერთ ქრომოსომაში ლოკალიზებული გენების შეჭიდულობის მოვლენა (მორგანის კანონი). იგი მდგომარეობს იმაში, რომ ერთ ქრომოსომაში განლაგებული სხვადასხვა გენები დამოუკიდებლად განაწილების კანონს არ ექვემდებარებიან და უმეტესწილად ერთად - შეჭიდულად მემკვიდრეობენ. პირველად დროზოფილას მაგალითზე დადგინდა გენთა ჯგუფები, რომლებიც ამა თუ იმ ქრომოსომაში შედიან. დროზოფილაში, ქრომოსომთა წყვილის შესატყვისად, შეჭიდულ გენთა ჯგუფი ოთხია. ამასთანავე გაირკვა ისიც, რომ შეჭიდულობა სრული არ არის. ეს იმის შედეგია, რომ მეიოზის დროს ხდება ჰომოლოგიური ქრომოსომების გადაჯვარედინება (სინაპსისი) და უბნების გაცვლა ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს შორის — კროსინგოვერი. ამის შედეგია გენთა ახლებური შეპირისპირება (თანწყობა, კომბინაციები), რაც კარგად აისახება სათანადო ფორმათა ნაჯვარების ანალიზით. ყოველივე ამით შესაძლებელი გახდა გენთა კარტირება, ანუ ადგილმდებარეობისა და თანამიმდევნობის განსაზღვრა ამა თუ იმ ქრომოსომაში, ცალკეულ გენებს შორის მანძილის მითითებით. ამასთანავე დადგენილია, რომ, რაც მეტია მანძილი ქრომოსომაში გენთა შორის, მით მეტია მათი ახლებურად შეპირისპირების აღბეჭდობა. ყოველივე ამით მტკიცე საფუძველი შეექმნა მემკვიდრეობის ქრომოსომულ თეორიას, რომლის თანახმადაც ორგანიზმის ყველა ნიშან-თვისება განპირობებულია და კონტროლირდება შესაბამისი გენებით, და რომ გენები — მემკვიდრული ინფორმაციის ელემენტური ერთეულები — მდებარეობენ ქრომოსომებში, სადაც ისინი განლაგებულნია ხაზობრივად. დროზოფილაზე (ცხადია, სხვა ობიექტებზეც) ექსპერიმენტებით ნაჩვენები იქნა, რომ მრავალი ნიშან-თვისება განისაზღვრება და კონტროლირდება არა ერთი, არამედ რამდენიმე გენით.

1927 წელს ამერიკელმა გ.მელერმა პირველმა მიიღო ხელოვნური მუტაციები დროზოფილაზე რენტგენის სხივების ზემოქმედებით. მაღე ასევეთვე მუტაციები მიიღეს სხვადასხვა ფიზიკური და ქიმიური ფაქტორების გამოყენებითაც, რამაც არსებითი მნიშვნელობა იქონია გენის ცნების ჩამოყალიბებაში. კერძოდ, საფუძვლიანად შეირყა მანამდე გაბატონებული რწმენა გენის

დაუყოფადობის შესახებ და განმტკიცდა გენის დისკრეტული ბუნება. 40-იანი წლების დასაწყისში მიღებული შეხედულება გენის შესახებ გულისხმობდა, რომ: 1. ორგანიზმის ყოველი ნიშან-თვისება გაპირობებულია და კონტროლირდება შესაბამისი გენით; 2. გენები წარმოადგენენ მემკვიდრეობის ელემენტურ ერთეულებს და განლაგებულია ქრომოსომებში ხაზობრივად; 3. გენებს შეუძლიათ ცვალებადობა, ე.ი. აქვთ მუტაციებისა და აგრეთვე რეკომბინაციების უნარი; 4. ცალკეული გენის მუტაცია იწვევს შესაბამისი ნიშან-თვისებების ცვლილებებს.

ამრიგად, გენეტიკური ექსპერიმენტებით მოხერხდა დიდი სიზუსტით დადგენილიყო გენის მრავალი თვისება, მაგრამ მისი მატერიალური ბუნება და მოქმედების სპეციფიკურობა იმ დროისათვის ჯერ კიდევ თითქმის უცნობი დარჩა.

<u>გენის მატერიალური ბუნების დადგენის ბიოლოგიური წანამძღვრები.</u> მას შემდეგ, რაც ხელმეორედ აღმოაჩინეს მენდელის კანონები, ინგლისელმა ვ.ბეტსონმა მემკვიდრეობისა და ცვალებადობის დარგის გამოსახატავად შემოილო ტერმინი „გენეტიკა" (1906 წ.), ხოლო დანიელმა ვ.იოჰანსენმა — „გენი" (1909 წ.), გამოითქვა მრავალი ჰიპოთეზა გენის როგორც მემკვიდრეობის მატერიალური და ფუნქციური ერთეულის ქიმიური ბუნების შესახებ. ჯერ კიდევ ტ.მორგანი მიიჩნევდა, რომ „ორგანულ ნივთიერებაში მოლეკულაა რთული ჯაჭვის წარმოქმნის შესწავლა შესაძლებლობას მოგვცემს უკეთ წარმოვიდგინოთ გენის რთული სტრუქტურა და მისი დაყოფის ხერხი (ტ.მორგანი, ნობელის ლექცია, 1934 წ.).

გენის ადგილსამყოფელის — ქრომოსომების საერთოდ ქიმიური და აგრეთვე ფიზიკური (უმთავრესად ულტრაიისფერი ადსორბცია) მეთოდების ანალიზით დადგინდა, რომ უჯრედის ბირთვის ეს მთავარი წარმონაქმნები შედგებიან ცილებისა და ნუკლეინის მჟავებისაგან. დროზოფილას მატლების სანერწყვე ჯირკვლების გიგანტურ ქრომოსომებში ნახეს, რომ ნუკლეინის მჟავები კონცენტრირებულია მუქ დისკოებში. ამ ფაქტიდან თავდაპირველად არ გაკეთებულა

რაიმე მნიშვნელოვანი დასკვნა, რადგან, სხვა გარემოებებთან ერთად, ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა ჯერ კიდევ არ იყო გაშიფრული, თუმცა გენს რთულ ქიმიურ მოლეკულად მიიჩნევდნენ.

აღსანიშნავია, რომ გენის ბუნების შეცნობისადვის დიდი მნიშვნელობა იქონია მოსაზრებამ ამ წარმონაქმნების თვითგაორმაგების უნარის შესახებ, რომ ქრომოსომების რეპლიკაციის დროს ყოველი გენიდან წარმოიქმნება მისი ზუსტი ასლი. მაგრამ იდგა ძნელი საკითხი: როგორ ხდება ესოდენ რთული მოლეკულის ასლის წარმოქმნა ანუ კოპირება?

ჯერ კიდევ 1927 წელს ნ.კოლცოვმა ჩამოაყალიბა ჰიპოთეზა, რომლის თანახმადაც გენი ცილოვანი ბუნების წარმონაქმნია, კერძოდ, ქრომოსომაში შემავალი გიგანტური ცილის მოლეკულის გვერდითი რადიკალებია. ცილების მემკვიდრულ ნივთიერებად აღიარებას ხელი შეუწყო იმ გარემოებამ, რომ ამ ნივთიერებათა თვისებურებანი ყველაზე მეტად შეესაბამება იმ თვისებებს, რაც გენს უნდა გააჩნდეს. სახელდობრ, ეს ნაერთები შედიან ყველა ცოცხალი ორგანიზმის შემადგენლობაში, აქვთ დიდი მოლეკულური მასა და სახეობრივი სპეციფიკა. ამასთანავე, ცილების სტრუქტურულ შენებაში მონაწილეობს ოცნაირი ამინომჟავა. მათი ადგილმონაცვლეობით შეიძლება წარმოიქმნას მოლეკულათა ურიცხვი კომბინაცია, რომლებიც შეესაბამებიან გენების დიდი რაოდენობის ცალკეულ ფუნქციებს. საყურადღებოა, რომ ამ მხრივ ნაკლები მნიშვნელობა ეძლეოდა ნუკლეინის მჟავებს, რომელთა მიხედვითაც (იმდროინდელი მონაცემებით) დიდად არ განსხვავდებიან სხვადასხვა ორგანიზმების სახეობები და, ამასთან, ერთი და იგივე სახეობების გენეტიკურად განსხვავებულ ფორმებში მათი შემცველობა მსგავსია.

მაღე სრულიად აშკარა გახდა, რომ გენის ბუნების, მისი სტრუქტურისა და ფუნქციის დადგენისათვის, უშუალო გენეტიკურ ექსპერიმენტებთან ერთად, ერთ-ერთი ყველაზე ხელმისაწვდომი და რაციონალური გზაა გენის მიერ კონტროლირებული მეტაბოლური პროცესების კვლევა. საამისოდ და საერთოდ მოლეკულური გენეტიკის განვითარებისათვის დიდი მნიშვნელობა იქონია ჯ.ბიდლისა

და ნ.ეფრუსის ჰიპოთეზამ — „ერთი გენი — ერთი ფერმენტი“ (1941), რომლის მიხედვითაც ერთი გენი კონტროლირებს ერთი ცილა-ფერმენტის სინთეზს. ამ ჰიპოთეზის დიდი მნიშვნელობა ის იყო, რომ დაისახა კონკრეტული პერსპექტივა ცალკეული გენების იდენტიფიკაციისა მათი მიერ კონტროლირებული ქიმიური რეაქციების საფეხურებრივი შესწავლის გზით. ამ ჰიპოთეზის სასარგებლოდ თავდაპირველი ფაქტები უმაღლეს ორგანიზმებზე, კერძოდ ადამიანზე იყო შემჩნეული.

მედიცინაში ცნობილია დაავადება — აღკაპტონურია, რომელიც მემკვიდრეობით გადადის. ეს დაავადება აღწერილია 300-ზე მეტი წლის წინათ. იგი ართრიტულია და, როგორც ჩანს, დაკავშირებულია ორგანიზმში აზოტოვანი ცვლის მოშლასთან. დაავადების სიმპტომი საკმაოდ ადვილი შესამჩნეველია: ავადმყოფის შარდი წითელი ღვინისფერია და ჰაერზე სწრაფად მუქდება. 1859 წელს გერმანელმა ბიოქიმიკოსმა კ.ბედიკარმა აღმოაჩინა, რომ შარდის გამუქებას იწვევს პიგმენტი აღკაპტონი, რომელსაც ავადმყოფი გამოყოფს. 1909 წელს ინგლისელმა ექიმმა ა.ჰაროლდმა გააკვეთა, რომ აღკაპტონი წარმოიქმნება ჯანმრთელი ადამიანის ორგანიზმშიც, მაგრამ აქ იგი სწრაფად იშლება ნახშირორჟანგად და წყლად, რასაც გარკვეული ფერმენტი ახორციელებს. აღმოჩნდა, რომ ავადმყოფის ორგანიზმში ეს ფერმენტი არ არის და არ წარმოიქმნება სათანადო გენის „უწესივრობის“ გამო. ა.ჰაროლდმა გამოთქვა მოსაზრება, რომ აღკაპტონურია დაავადებული ადამიანი ჰომოზიგოტურია რეცესიული გენის მიმართ.

საერთოდ ჰიპოთეზის — „ერთი გენი — ერთი ფერმენტი“ ექსპერიმენტული შემოწმებისათვის უმაღლესი ორგანიზმები უვარგისი აღმოჩნდა პროკარიოტებთან შედარებით. მიზეზი ის იყო, რომ მათში სასიცოცხლო პროცესები გაცილებით რთული და ხანგრძლივია, რაც გაპირობებულია მათი მრავალუჯრედიანობით, ნაირგვარი უჯრედშორისი, ქსოვილთშორისი, ორგანოთაშორისი და ორგანოების სისტემათაშორისი ურთიერთობით. ამ მხრივ გაცილებით მოსახერხებელი აღმოჩნდა ქიმიურად შედარებით მარტივად ორგანიზებული ბიოლოგიური

სისტემები - სოკოები, ბაქტერიები და ვირუსები.

მიკროორგანიზმებისუპირატესობაუმაღლეს ორგანიზმებთან შედარებით ძირითადად შემდგომში მდგომარეობს: 1.ნიშან-თვისებანი გაცილებით 'მარტივია', მარტივადვეა დეტერმინირებულნი, მეტწილად ბიოქიმიურია და ადვილად აღმოსაჩენი; 2. პოპულაციები სწრაფად მრავლდებიან და სულ მოკლე ხანში შეიძლება მიაღწიონ $10^8$–$10^{12}$ ინდივიდს (ასეთი რაოდენობის პოპულაციებში შეიძლება მოვლენების იდენტიფიცირება $10^{-7}$–$10^{-11}$ აღბათობით), მაშინ, როდესაც, მაგალითად, დროზოფილას შემთხვევაში პოპულაციები იშვიათად აღემატება $10^4$ ინდივიდს; 3. მიკროორგანიზმები (ზოგიერთი განსაკუთრებული ფორმისა და უმაღლესი სოკოების გარდა) ჰაპლოიდურია, რაც საშუალებას იძლევა შევაფასოთ მათი ცვალებადობა ისე, რომ ახალი ვარიანტები არ გადავიტანოთ ჰომოზიგოტურ მდგომარეობაში. ამასთანავე. არსებობს ბაქტერიებისა და ფაგების მდგომარეობა, რომელიც დიპლოიდური მდგომარეობის ანალოგიურია. ეს საშუალებას იძლევა შევადგინოთ სპეციალური ფუნქციური ტესტები; 4. მიკროორგანიზმები მეტისმეტად სწრაფად მრავლდებიან. მაგალითად, ოპტიმალურ პირობებში ბაქტერია ნაწლავის ჩხირის ერთი გენერაცია სულ ოც წუთს საჭიროებს; ფაგის განვითარების ციკლი ბაქტერიულ უჯრედში შეღწევიდან ლიზისამდე სულ 20 წუთს გრძელდება, ამიტომაც შედარებით მოკლე დროში შეგვიძლია მრავალი თაობა მივიღოთ; 5. ბაქტერიებისა და განსაკუთრებით ფაგების გენეტიკური რუკები გაცილებით ნაკლებ ფუნქციურ ლოკუსებს შეიცავენ, ვიდრე უმაღლესი ორგანიზმების გენეტიკური რუკები, რაც საადვილებს გენომის ყოველმხრივ შესწავლას.

აღსანიშნავია, რომ ადრე მიკროორგანიზმებს გენეტიკურ ექსპერიმენტებში არ იყენებდნენ შემდეგ გარემოებათა გამო: 1. მიაჩნდათ, რომ ეს ორგანიზმები მეტისმეტად პლასტიკურნია და მათში არ არის მკვეთრად გამიჯნული მემკვიდრული ნივთიერება („ჩანასახოვანი პლაზმა") და სომა; 2. არ იყო ცნობილი, არსებობს თუ არა სქესობრივი პროცესი ბაქტერიებსა და მიკროსკოპულ სოკოებში, რაც შეუძლებელს ხდიდა ამ ორგანიზმთა გენეტიკურ ანა-

ღიზს.

პირველი მიკროორგანიზმი, რომელიც წარმატებით გამოიყენეს მოლეკულურ ენეტიკაში კვლევის ობიექტად, იყო ობი ნეიროსპორა (Neurospora crassa). ამ ორგანიზმზე რენტგენის სხივების ზემოქმედებით 1941 წელს ჰიპოთეზა — „ერთი გენი – ერთი ფერმენტი"-ს ავტორებმა მიიღეს ე.წ. აუქსოტროპული მუტანტები, რომლებსაც აღარ გააჩნდათ ზოგიერთი ამინომჟავისა და ვიტამინის სინთეზის უნარი. ამავე გზით მიღებული იყო ნაწლავის ჩხირის ბიოქიმიური მუტანტები. დიდი მნიშვნელობა ჰქონდა ბაქტერიებში სპონტანური მუტაციების აღმოჩენას (ს.ლურია, მ.დელბრიუკი. 1943 წ.).

1928 წელს ინგლისელმა ექიმმა და მიკრობიოლოგმა ფ.გრიფიტმა ნახა ერთი ფორმის ბაქტერიის გარდაქმნა მეორე ფორმის გავლენით, ხოლო 1944 წელს ო.ეიერმა და დანამშრომლებმა დაამტკიცეს, რომ ასეთი ტრანსფორმაცია გამოწვეულია დნმ-ს გავლენით (იხ. თავი II). 1946 წელს ჯ.დელბრიუკმა და ე.ტეიტემმა ბაქტერიებში აღმოაჩინეს სქესობრივი პროცესის ანალოგიური მოვლენა (კონიუგაცია). სახელდობრ, მათ აჩვენეს, რომ ნაწლავის ჩხირის K 12 შტამის ერთი უჯრედიდან მეორეში გენეტიკური მასალა გადაეცემა კონიუგაციის გზით, რასაც მოსდევს გენების დათიშვა და რეკომბინაცია. იმავე წელს მ.დელბრიუკმა და ბეიღმა დაამტკიცეს გენების დათიშვა და რეკომბინაცია ფაგებში. რამდენიმე წლის შემდეგ (1952) ნ.ცინდერმა და ჯ.ლედერბერგმა აღმოაჩინეს ტრანსდუქციის მოვლენა, სისტემა, რომლითაც ფაგის ნაწილებს გადააქვთ გენეტიკური მასალა ერთი ბაქტერიიდან მეორეში და წარმოიქმნება რეკომბინაციები. ამასთან მნიშვნელოვანი იყო იმ ფაქტის დადგენა, რომ ფაგური ინფექციისას ბაქტერიულ უჯრედში იჭრება მხოლოდ ფაგის დნმ. იმავე ხანებში პონტეკორვომ აღმოაჩინა პარასექსუალური განვითარების ციკლი ბაქტერიებში. ყოველივე ამით მნიშვნელოვანი წინამძღვრები შეიქმნა გენის, როგორც მემკვიდრეობის მატერიალური და ფუნქციური ერთეულის ბუნების დადგენისათვის. დაგროვდა სრულიად სარწმუნო ექსპერიმენტული მასალა, რომლის თანახმადაც ნიშან-თვისებათა შენახვისა და შთამომავლობაში გადაცემის გან-

მაპირობებელი ქიმიური სუბსტრატი ნუკლეინის მჟავებია. ეს ნაერთები პირველად აღმოაჩინა შვეიცარელმა ექიმმა ფ.მიშერმა 1865 წელს ჩირქის უჯრედთა ბირთვებში და სახელწოდება აქედან წარმოდგება (ლათ. nucleus -ბირთვი). შემდგომში დადგინდა, რომ ნუკლეინის მჟავები შედიან ციტოპლაზმაშიც, მაგრამ სახელწოდება თავდაპირველი დარჩა. მათი ქიმიური ბუნება შეისწავლებოდა მრავალი ათეული წლის განმავლობაში, მაგრამ გენეტიკური როლი ჩვენი საუკუნის 40-იან წლებში დადასტურდა.

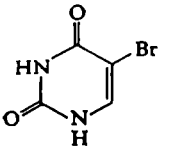
## თ ა ვ ი II

## ნ უ კ ლ ე ი ნ ი ს მ ჟ ა ვ ე ბ ი ს გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი · რ ო ლ ი ს მ ტ კ ი ც ე ბ უ ლ ო ბ ა ნ ი

დნმ- მემკვიდრეობის ძირითადი სუბსტრატი. ნუკლეინის მჟავების, კერძოდ დნმ-ს, გენეტიკურ ფუნქციაზე მრავალი ფაქტი მეტყველებს. ჯერ კიდევ ადრინდელმა მკვლევრებმა, დაადგინეს, რომ ყველა ქსოვილის უჯრედთა ბირთვებში დნმ-ს რაოდენობა მუდმივია, ამასთან ის რაოდენობა, რაც დიპლოიდურშია (2n), ჰაპლოიდურში (In) — კვერცხუჯრედში ან სპერმატოზოიდში — მისი ნახევარია. სასქესო უჯრედების შერწყმასა და ზიგოტაში ქრომოსომთა დიპლოიდური რიცხვის აღდგენისას დნმ-ს რაოდენობაც ჰაპლოიდურთან შედარებით სათანადოდ ორმაგდება. ეს ფაქტი მხოლოდ არაპირდაპირ მიანიშნებს, რომ დნმ მემკვიდრეობის ქიმიური სუბსტრატი შეიძლება იყოს; მიუთითებს, რომ ბირთვში, დნმ-ს მსგავსად, რაოდენობრივი შემცველობის მუდმივობას ამჟღავნებენ ქრომოსომის ფუძე ცილები — ჰისტონებიც. ამასთან, ყველა სახის ბირთვში დნმ-სა და ჰისტონების ურთიერთშეფარდება ყოველთვის არის I-: I. ნუკლეინის მჟავების გენეტიკურ როლზე სრულ რწმენას იძლევა სხვადასხვა არგუმენტთა ერთობლიობა.

მნიშვნელოვანი არგუმენტია ის გარემოება, რომ ორგანიზმში მემკვიდრეულ ცვლილებებს — მუტაციებს იწვევენ ფაქტორები, რომლებიც ზემოქმედებენ ნუკლეინის მჟავებზე. ამ ფაქტორთა შორის უ.ყ. აღსანიშნავია ულტრაიისფერი სხივები, რომელთა მუტანტური ეფექტი კორელირებს ნუკლეინის მჟავების მიერ ამ სხივების შთანთქმის სპექტრთან.

მუტაციებს იწვევს აზოტოვანი ფუძე 5 -ბრომურაციდი, რომელიც დნმ-ს

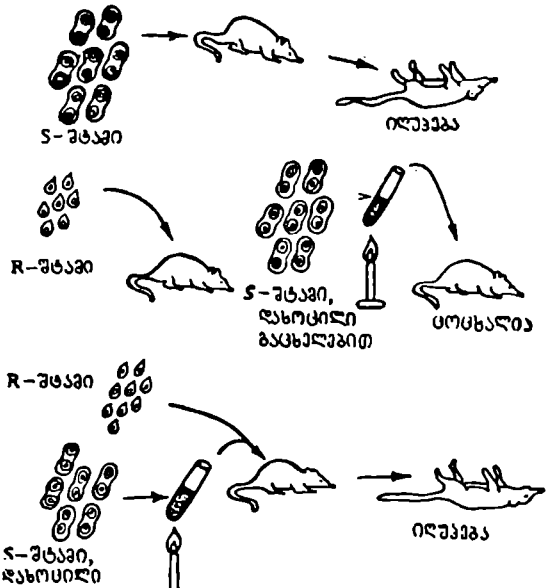



5I-ბრომურაციდი

ნორმალური კომპონენტის — თიმინის ანალოგს წარმოადგენს. ბაქტერიების გამოზრდისას ისეთ საკვებ არეზე, რომელიც თიმინის შეგიერ შეიცავს 5' -ბრომურაციდს, წარმოიქმნებიან მუტანტური ფორმები. როგორც ჩანს, ამ დროს, ახალ უჯრედთა დნმ-ში ჩაირთვება 5' -ბრომურაციდი, რომელიც უჩვეულოა ნორმალური დნმ-სათვის.

ნუკლეინის მჟავების გენეტიკური დანიშნულების ყველაზე სარწმუნო და დამაჯერებელი არგუმენტები მიღებულია ბაქტერიების ტრანსფორმაციაზე ცდებით, რაც პირველად ჩაატარეს ამერიკელმა მეცნიერებმა ო.ეივერმა, კ.მაკლეოდმა და მ.მაკ-კარტმა 1944 წელს. ისინი იკვლევდნენ პნევმოკოკების მანამდე საიდუმლოებით მოცული გარდაქმნების პროცესს, რომელიც 16 წლით ადრე, 1928 წელს, აღწერა ინგლისელმა ექიმმა და მიკრობიოლოგმა ფ.გრიფიტსმა. ამ უკანასკნელმა, კერძოდ, აღმოაჩინა, რომ პნევმოკოკთა შორის არსებობს ორი ტიპის ბაქტერიები — დიპლოკოკები (Diplococcus pneumoniae ): R -შტამი (ინგლ. rough - ხორკლიანი, ხაოიანი, მქისე, უხეში), რომელსაც აქვს უჯრედის კედელი-კაფსულა, წარმოქმნის „ხორკლიან" კოლონიებს და არაპათოგენურია (არავირულენტულია); S -შტამი (ინგლ. smooth - გლუვი), რომელსაც აქვს პოლისაქარიდოვანი კაფსულა, წარმოქმნის „გლუვ" კოლონიებს და პათოგენურია (ვირულენტულია) — იწვევს ფილტვების ანთებას. ცდისას (სურ. I), როდესაც თაგვებში ერთდროულად შეჰყავდა „R -შტამის (უკაფსულო) ცოცხალი და S -შტამის (კაფსულიანი) გაცხელებით დახოცილი ბაქტერიები, 3-5 დღის შემდეგ თაგვები იხოცებოდნენ. ყველაზე საინტერესო და გასაკვირი ის იყო, რომ ასეთნაირად დახოცილი თაგვების სისხლში ნახულობდნენ S -შტამის ცოცხალ, კაფსულიან პნევმოკოკებს. ამ ფაქტის ახსნა იმ დროისათვის ვერ მოხერხდა. თვითონ ფ.გრიფიტს არ უცდია იმ ნივთიერების იდენტიფიკაცია, რომელიც იწვევდა ბაქტერიების ცვლილებას. ერთი კი ცხადი იყო, რომ არსებობს რაღაც აქტიური (გენეტიკური?) ნივთიერება (...ნი?), რომელიც არ ზიანდება პათოგენური ბაქტერიების გაცხელებისას და ამით უჯრედთა დაღუპვისას. ამ ნივთიერებას შესწევს უნარი შეიჭრას არავირულენტურ უჯრედებში

და გამოიწვიოს მაში კაფსულის წარმოქმნა.

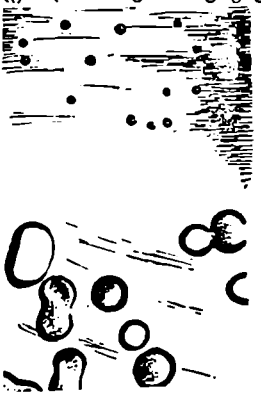



სურ. I. ფ.გრიფიტის ცდები ბაქტერიების ტრანსფორმაციაზე.

ო.ეივერმა და თანამშრომლებმა გულდაგული შეისწავლეს რა იწვევდა ბაქტერიების ზემოთ აღწერილ ტრანსფორმაციას. მან R-შტამის პნევმოკოკების საკვებ არეში შეუქონდა S-შტამის დახოცილი უჯრედების ექსტრაქტი. გარკვეული ხნის შემდეგ ბაქტერიების კულტურაში ნახულობდნენ S-შტამის ცოცხალ უჯრედებს. ამ უკანასკნელთა რაოდენობა, მართალია, მცირე იყო (R-შტამის დაახლოებით მილიონ უჯრედზე მოდიოდა S-შტამის ერთი უჯრედი), მაგრამ გააჩნდათ პოლისაქარიდოვანი კაფსულა და დასნებოვნების უნარი.

იმ საწყისების ძიებას, რომლებიც იწვევდა ბაქტერიების ტრანსფორმა-

ციას, ბაქტერიულ ექსტრაქტებს აციღებდნენ ციღას (ტრიპსინით და პეპსინ-ით დამუშავებით), რნმ-ს (რიბონუკღეაზათი დამუშავებით), გარსის პოლისა-ქარიდებს, მაგრამ ამით ექსტრაქტების მატრანსფორმირებელი აქტივობა არ კღებულობდა. სამაგიეროდ, ეს აქტივობა სწრაფად ქრებოდა ექსტრაქტის და-მუშავებისას დნმ-ის დამშღეღი ფერმენტით — დეზოქსირიბონუკღეაზით (დნმ-აზით). მომდევნო ცდებში R -შტამის საკვებ არეში შეპქონდათ S -შტამი-დან გამოყოფილი გასუფთავებული დნმ, რის შედეგადაც ბაქტერიების კულტუ-რაში ჩნდებოდა S -შტამის კაფსულიანი დიპლოკოკები (სურ. 2). ამ ცდებმა



სურ. 2. R-შტამის არაპათოგენური პნევ-მოკოკების (წვრილი კოლონიები) გარ-დაქმნა-ტრანსფორმაცია S -შტამის პათოგენური პნევმოკოკებად (მსხვი-ღი კოლონიები), გაცხელებით დახოცი-ღი S -შტამის პნევმოკოკებიდან გა-მოყოფილი დნმ-ს ზემოქმედებით R -შტამის პნევმოკოკებზე.

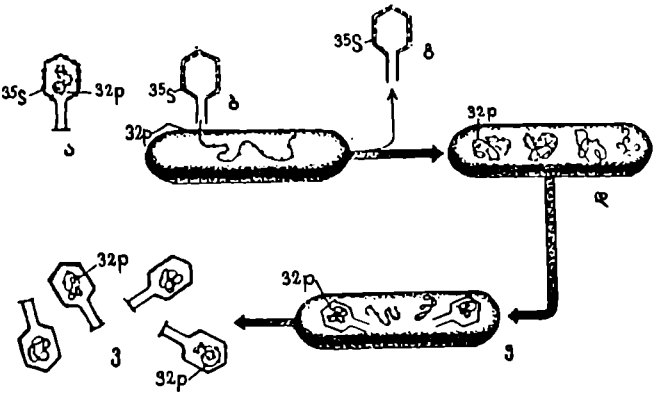
სრულიად სარწმუნოდ დაადასტურა, რომ ფაქტორი, რომელიც იწვევდა ერთი სა-ხის პნევმოკოკის ტრანსფორმაციას მეორედ, არის დნმ.

ეს აღმოჩენა საკმაოდ მოულოდნელი იყო განსაკუთრებით იმიტომ, რომ, მაშინ ჯერ კიდევ არ იყო ცნობილი დნმ-ს შემცველობა პნევმოკოკებში, თუმ-ცა იცოდნენ, რომ დნმ ეუკარიოტული ქრომოსომის ძირითადი კომპონენტია. ზო-გადი დასკვნა, რომ დნმ არის ტრანსფორმაციის ფაქტორი, დამტკიცდა იმითაც, რომ ამ ნივთიერებით განხორციელდა პნევმოკოკებისათვის დამახასიათებელი სხვა ტიპის პოლისაქარიდების წარმოქმნის უნარის გადაცემაც ერთი ფორმის ბაქტერიიდან მეორეში. ანალოგიური ცდები ჩატარდა სხვა მიკროორგანიზმებ-ზეც. ამასთან, აღმოჩენილ. იქნა ტრანსფორმაცია სხვა ნიშნების მიხედვი-თაც. ბაქტერია Haemophilus influencae -ის მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ

ერთი უჯრედის ტრანსფორმაციისათვის საჭიროა $10^{-8}$ მგ დნმ.

ნუკლეინის მჟავების გენეტიკურ როლზე მოწმობს დაკვირვებანი ფაგებსა და ვირუსებზე. ჯერ კიდევ 1952 წელს ა.ჰერშმა და მ.ჩეიზმა, რომლებიც მუშაობდნენ კოლდ-სპრინგ-ჰარბორის (აშშ) სამეცნიერო ცენტრში, ფაგებით ბაქტერიული უჯრედების დასნებოვნებისას საინტერესო ფაქტი აღმოაჩინეს. ფაგი T-2, რომელიც შეიცავს 40% დნმ-ს და 60% ცილას, ორმაგად მონიშნეს რადიოაქტიული იზოტოპებით: დნმ ფოსფორით ($P^{32}$) და ცილა – გოგირდით ($S^{35}$). ასეთი ფაგით ბაქტერია ნაწლავის ჩხირის დასნებოვნებისას უჯრედში აღმოჩნდა მხოლოდ ფოსფორის რადიოაქტივობა, რაც იმას ნიშნავს, რომ ამ დროს ბაქტერიაში იჭრება მხოლოდ ფაგის დნმ, ხოლო ცილოვანი გარსი – „ჩრდილი" რჩება გარეთ(სურ. 3). გარკვეული ხნის შემდეგ ბაქტერიის უჯრედში წყდება მისეული დამახასიათებელი ცილების წარმოქმნა და იწყება იმ ფაგის ცილების სინთეზი, რომლის დნმ-ც უჯრედში შეიჭრა. უფრო ზუსტი ანალიზით აღმოჩნდა,რომ უჯრედში შეჭრილი მაინფიცირებელი სუბსტანცია შეიცავს 97% დნმ-ს და 3% ცილას, მაგრამ ეს ცილა არ მონაწილეობს იმ შვილეული ფაგის ნაწილაკების შენებაში, რომელიც უჯრედში ინფიცირების შემდეგ წარმოიქმნება. შემდგომი გამოკვლევებით აღმოჩნდა, რომ ფაგის ცილების სინთეზს წინ უძღვის შეჭრილი დნმ-საგან დამოკიდებული რნმ-ს სინთეზი.

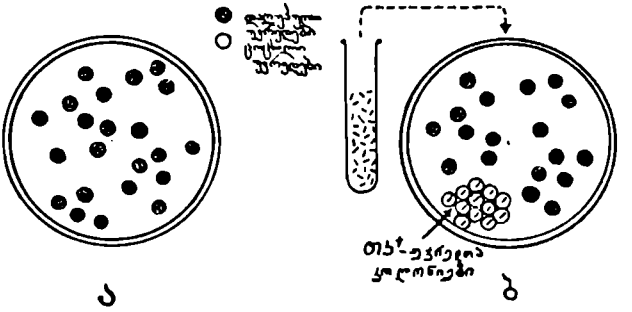
ზემოთ აღწერილი და სხვა ანალოგიური ექსპერიმენტების შედეგად განმტკიცდა შეხედულება, რომ ბაქტერიებსა და ბაქტერიოფაგებში მემკვიდრეობის მატერიალური ქიმიური სუბსტრატი დნმ-ა. შეიძლებოდა თუ არა იგივე თქმულიყო უმაღლესი ორგანიზმების შესახებაც? საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში ეს კითხვა უპასუხოდ რჩებოდა, თუმცა ცნობილი იყო, რომ დნმ შედის ქრომოსომების შედგენილობაში და რომ მისი რაოდენობა მუდმივია მოცემული ორგანიზმის ყველა სომატურ უჯრედში, ხოლო სასქესო უჯრედებში ამ რაოდენობის ნახევარია. პირველი სარწმუნო მტკიცებულება იმის შესახებ, რომ დნმ უმაღლეს ორგანიზმებშიც მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატია, ის იყო, რომ ერთი სახის უჯრედიდან გამოყოფილი ქრომოსომების შერევისას მეორე სა-




სურ. 3. ა.ჰერშისა და მ.ჩეიზის მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტის სქემა:ა.ფაგის ნაწილაკი, რომლის დნმ მონიშნულია $^{32}P$-ით,ხოლო ცილოვანი გარსი $^{35}S$-ით; ბ.ბაქტერიის დასნებოვნება ფაგით(უჯრედში შედის მხოლოდ ფაგის დნმ); გ.ფაგის ცარიელი ცილოვანი გარსი („ჩრდილი" ანუ კაფსიდი), რომელიც ბაქტერიული უჯრედის გარეთ რჩება; დ.ბაქტერიის უჯრედში შეჭრილი ფაგის დნმ-ს რეპლიკაცია, რომელიც მონიშნულია $^{32}P$-ით; ე.ფაგის შვილეული ნაწილაკების წარმოქმნა, $^{32}P$-ს შეიცავენ მხოლოდ მშობლებიდან მიღებული დნმ-ს ძაფები; ვ.ფაგის შვილეული ნაწილაკები.ზოგიერთი მათგანი შეიცავს რადიოაქტიურ ($^{32}P$) დნმ-ს.

ხის უჯრედებთან ამ უკანასკნელთა შორის ჩნდება იმ უჯრედების მსგავსი თვისებების მქონე უჯრედები (თუმცა ძალიან მცირე რაოდენობით), რომლებიდანაც მიღებული იყო ქრომოსომები. შემდგომში შესაძლებელი გახდა ასეთი ექსპერიმენტების განხორციელება გასუფთავებული დნმ-ით და ცალკეული გენებით. მაგალითად, თუ ჩვენს ხელთაა უჯრედები, რომელთაც დაკარგული აქვთ რომელიმე ცილა-ფერმენტის წარმომქმნელი გენი, ამ გენის შემცველი დნმ-ს მიმატებისას უჯრედები აღიდგენენ შესატყვისი ცილა-ფერმენტის წარმოქმნის უნარს. ასეთი პროცედურა შეგვიძლია გამოვიყენოთ ნებისმიერი გენის მიმ-

ართ, თუკი შესაძლებელია შესატყვისი ფერმენტის აქტივობის ტესტირება. ერთი ასეთი სტანდარტული სისტემის სქემა გამოხატულია სურ. 4-ზე. წინათ ასეთი ექსპერიმენტები ტრანსფექციის სახელწოდებით იყო ცნობილი, მაგრამ უეშველია, რომ ისინი შეესატყვისებიან ბაქტერიებში ნახული ტრანსფორმაციის სურათს.




სურ. 4. დნმ-თი ეუკარიოტული უჯრედების ტრანსფორმაციის სქემა.
ა. ეუკარიოტული უჯრედები, რომელთაც დაკარგული აქვთ ფერმენტ თიმიდინკინაზის წარმომქმნელი გენი (თკ-გენი). ისინი ვერ გამოიმუშავებენ ამ ფერმენტს და ილუპებიან საკვებ არეში თიმინის თანაობის გარეშე.
ბ. თკ-გენების შემცველი დნმ-ს პრეპარატის მოქმედებით უჯრედები ღებულობენ ამ გენებს, რის შედეგადაც იწყებენ ნორმალურ ზრდას და წარმოქმნიან კოლონიებს.

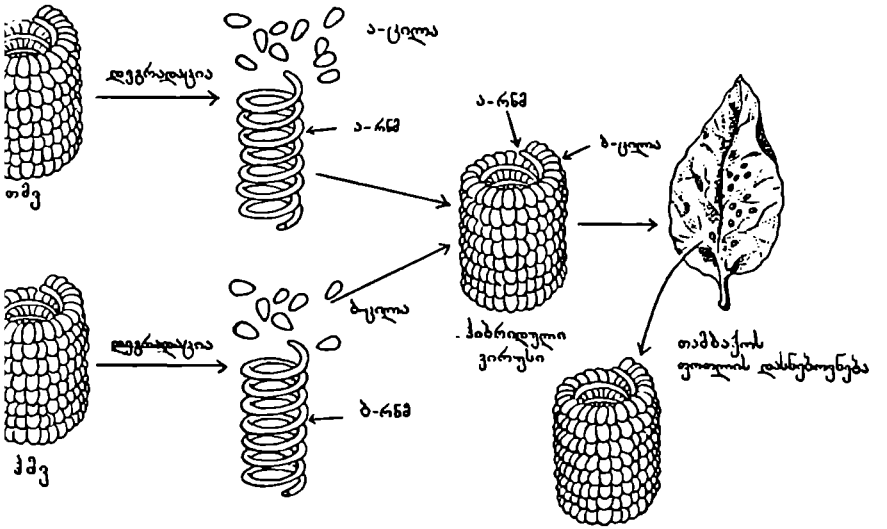
აღსანიშნავია, რომ თავდაპირველად ასეთი ექსპერიმენტების ჩატარება შეიძლებოდა მხოლოდ ისეთ უჯრედებზე, რომლებიც შეიძლება გვქონოდა კულტურაში. ამჟამად ცალკეული გენები შეიყვანეთ კვერცხუჯრედში სპეციალური მიკრომანიპულატორის საშუალებით და შემდეგ ნახულობენ სტაბილური კომპონენტის სახით უკვე ჩამოყალიბებული ორგანიზმის გენომში. ასეთი ექსპერიმენტები განხორციელებულია, მაგალითად, თაგვებზე.

ზოგიერთ ვირუსში გენეტიკური სუბსტრატი რნმ-ა. ზოგჯერ მემკვიდრეობის ქიმიური სუბსტრატის ფუნქციას ასრულებს რნმ. ეს ნაჩვენებია რნმ-ს შემცველ ვირუსებზე, კერძოდ თამბაქოს მოზაიკის ვირუსზე (თმვ). აღნიშნული ვირუსი შეიცავს 6% რნმ-ს (მოლ. მასა 2,5 ⋅ $10^6$ დალტონი) და 94% ცილას. ინფიცირებისას თმვ მთლიანად იჭრება უჯრედში. ამასთანავე, აღმოჩნდა, რომ მცენარის დასნებოვნება შეიძლება ამ ვირუსის რნმ-თი, თუმცა მთლიანად ვირუსი დაახლოებით 10 –100-ჯერ უფრო მეტად ინფექციურია, ვიდრე მისგან მიღებული და გასუფთავებული რნმ. რიბონუკლეაზის (რნმ-აზის) მიმატებისას ინფიცირების უნარი კლებულობს. ვირუსის ცილას $10^6$-ჯერ ნაკლები ინფიცირების უნარი აღმოაჩნდა, ვიდრე მთლიანად ვირუსს.

ჰ.ფრენკელ-კონრადმა თმვ-ს ცილა (ა-ცილა) შეუერთა ჰოლმსის მრავალძარღვას ვირუსის (ჰმვ) რნმ-ს (ბ-რნმ) და პირიქით – თმვ-ს რნმ (ა-რნმ) შეუერთა ჰმვ-ს ცილას (ბ-ცილა). ასეთი რეკონსტრუირებული ვირუსების ნაწილაკები მცენარეთა დასნებოვნებისას მხოლოდ იმ შტამის თვისებებს ამჟღავნებდნენ, საიდანაც რნმ იყო აღებული. სქემატურად ეს ექსპერიმენტი გამოხატულია მე-5 სურათზე.

აღსანიშნავია, რომ თმვ-დან გამოსუფთავებული რნმ შედარებით ნაკლებინფექციურია, ვიდრე ინტაქტური ვირუსი. ეს იმით აიხსნება, რომ ინტაქტურ ვირუსში ცილა იცავს რნმ-ს ამ უკანასკნელის დამშლელი ფერმენტის – რნმ-აზის ზემოქმედებისაგან. ბოლო ხანებში გენეტიკური ტრანსფორმაცია დნმ-ს საშუალებით განხორციელებულია საფუვრებში და ზოგიერთ მრავალუჯრედიან ორგანიზმშიც (აბრეშუმის ჭია, დროზოფილა).

ნუკლეინის მჟავების, როგორც მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატის, როლი საბოლოოდ დადასტურდა ცდებით გენეტიკური ინჟინერიის დარგში, როდესაც მოხერხდა დნმ-ს ცალკეული სპეციფიკური ფუნქციური ფრაგმენტების —გენების ხელოვნურად მიღება ან ფერმენტული ამოჭრა მოლეკულიდან და ჩაკერება სხვა დნმ-ს ე.წ. ვექტორულ მოლეკულაში (იხ. თავი – „გენეტიკური ინჟინერია“; „რეკომბინანტული დნმ“). ასეთი რეკომბინანტული დნმ-ებით უჯ-



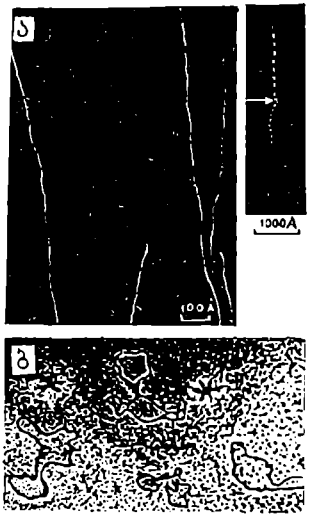

სურ. 5. თმვ-სა და ჰმვ-ს კომპონენტების - ციღისა და რნმ-ს გაცალკევება და ხელახალი შეერთება ჰმვ-ს ციღისა (ბ-ციღა) და თმვ-ს რნმ-სთან (ა-რნმ). ასეთი ჰიბრიდული ვირუსი ასნებოვნებს მხოლოდ თამბაქოს ფოთოლს. ამ ვირუსის შთამომავლობაც თმვ-ია, ე.ი. მათში ჰმვ-ს ციღა აღარ გვხვდება.

ნუკლეინის მჟავები თავიანთ სპეციალიზირებულ გენეტიკურ ფუნქციას ასრულებენ უჯრედში (ან ექვივალენტურ სისტემაში) სხვა აუცილებელი კომპონენტების, კერძოდ შესატყვისი ფერმენტებისა და გარკვეული სახის ციღების თანაობისას.

## თ ა ვ ი III

## ნ უ კ ლ ე ი ნ ი ს მ ჟ ა ვ ე ბ ი ს ფ ი ზ ი კ ო - ქ ი მ ი უ რ ი ბ უ ნ ე ბ ა

ზოგადი ცნობები. ნუკლეინის მჟავები საფუძვლიანად ცნობილ ქიმიურ ნაერთთა შორის ყველაზე დიდი მოლეკულებია და წარმოადგენენ ცალკეული მონომერებისაგან შემდგარ ბაზობრივ პოლიმერებს. დნმ-ს მოლეკულა ელექტრულ მიკროსკოპში ჩანს გრძელი ძაფის სახით, ან უსწორმასწორო რგოლის ფორმისაა (სურ. 6).




სურ. 6. დნმ-ს ელექტრონული მიკროფოტოგრაფიები: ა-ძაფისებრი დნმ ვირთაგვის ელენთიდან; ბ - რგოლის (წრიული) ფორმის დნმ პაპილომის ვირუსიდან.

რგოლური ანუ წრიული დნმ აქვთ, კერძოდ, ვირუსების უმეტესობას, აგრეთვე მიტოქონდრიებს, ქლოროპლასტებს, ბაქტერიულ პლაზმიდებს.

დნმ-ს მოლიკულის დიამეტრი 20Å -ს აღწევს, ხოლო სიგრძე დიდ ვარგულებში მერყეობს. უმარტივეს ვირუსებში დნმ-ს სიგრძე 5000Å აღმოჩნდა, ხოლო ზოგიერთ რთულ ვირუსში — $0,5.10^6$ — $2.10^7$Å-მდე (0,05-2 მმ), რაც შეესატყვისება $10^8$ - $4.10^9$ დალტონს. ნაწლავის ჩხირის დნმ 1,1 მმ სიგრძისაა ($2,8.10^9$ დალტონი). ეუკარიოტებში დნმ-ს მოლიკულის სიგრძე გიგანტურ ზომას — რამდენიმე სმ-ს აღწევს, რაც შეესატყვისება $10^{10}$—$10^{11}$ დალტონს. ცხრილში 1 მოყვანილია ზოგიერთი ორგანიზმიდან მიღებული დნმ-ს მოლიკულის თავისებურებანი.

ცხრილი 1

დნმ-ს მოლიკულის ზომები და კონფორმაცია

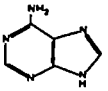
| წ ყ ა რ ო | მოლიკულური მასა (დალტონებში) | სიგრძე | ნუკლეოტიდური წყვილების რაოდენობა | კონფორმაცია |
|---|---|---|---|---|
| ნაწლავის ჩხირი | $1,9.10^9$ | 1მმ | $3.10^6$ | წრიული, ორძაფიანი |
| ბაქტერიოფაგი T4 | $1,3.10^8$ | 50 მკმ | $2.10^5$ | ხაზობრივი, ორძაფიანი |
| ბაქტერიოფაგი λ | $3,3.10^7$ | 13 მკმ | $5.10^4$ | ხაზობრივი, ორძაფიანი |
| ბაქტერიოფაგი ØX174 | $1,6.10^6$ | 0,6 მკმ | 5386ნუკლეოტიდი | წრიული, ერთძაფიანი |
| პოლიომის ვირუსი | $3,6.10^6$ | 1,1 მკმ | $4,6.10^4$ | წრიული, ორძაფიანი |
| მიტოქონდრიები (თაგვისა) | $9,5.10^5$ | 5 მკმ | $1,4.10^4$ | წრიული, ორძაფიანი |
| დროზოფილა | $4,3.10^{10}$ | 2 სმ | $6,5.10^7$ | ხაზობრივი, ორძაფიანი |
| ქლოროპლასტები (ევგლენისა) | $7.10^8$ | 430 მკმ | $1,5.10^4$ | წრიული, ორძაფიანი |
| ადამიანის ქრომოსომები(HeLa -ს სიმსივნის უჯრედებიდან) | $6.10^{10}$ | $3.10^4$მკმ | $9.10^7$ | ხაზობრივი, ორძაფიანი |

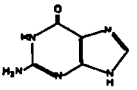
ადამიანის ყოველ უჯრედში შემავალი დნმ-ს სიგრძე (იგი დაგრეხილი ძაფის ფორმის მოლიკულაა) 1,8 მეტრს აღწევს. თუ ადამიანის მთელ ორგანიზმში

შემავალ დნმ-ს მოლეკულებს ერთ ხაზზე გაავრცელებთ, მისი სიგრძე 400-ჯერ გადააჭარბებს მანძილს დედამიწიდან მზემდე ან უკან.

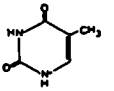
რნმ-ს მოლეკულა დნმ-სთან შედარებით გაცილებით წვრილია (~ 7 Å), ამასთან, ნაკლებად დრეკადი და მეტწილად ჩხირსებრი ფორმისა, ან წარმოქმნის გორგალს. სათანადო დამუშავებით გორგალი შეიძლება გაიშალოს ძაფად რომლის სიგრძე 400 — $4.10^6$ Å -ს შეიძლება აღწევდეს, ხოლო მოლეკულური მასა $25-10^3$ — $2.10^6$ დალტონს.

როგორც დნმ-ს, ისე რნმ-ს მოლეკულა შედგება შედარებით მცირე ზომის ნაერთებისაგან — ნუკლეოტიდებისაგან. ყოველი ნუკლეოტიდი თავის მხრივ შეიცავს სამ კომპონენტს: აზოტოვან ფუძეს, ხუთნახშირბადიან შაქარს (პენტოზას) და ფოსფორის მჟავას. დნმ-ს შედგენილობაში შედის ოთხი ტიპის აზოტოვანი ფუძე: ადენინი, გუანინი, ციტოზინი და თიმინი, ხოლო შაქროვანი კომპონენტი დეზოქსირიბოზაა, რნმ-ში ასეთივე ოთხი ტიპის აზოტოვანი ფუძეა, ოღონდ თიმინის ნაცვლად წარმოდგენილია მისი მსგავსი ფუძე ურაცილი.


ადენინი


გუანინი

ციტოზინი


თიმინი

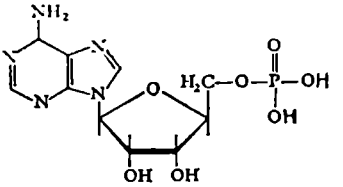
ურაცილი

დეზოქსირიბოზა

რიბოზა

ფოსფატი

ადენინი (6-ამინოპურინი) და გუანინი (2-ამინო-6-ოქსიპურინი) პურინის ფუძის ნაწარმოებია, ხოლო ციტოზინი (6-ამინო-2-ოქსიპირიმიდინი), თიმინი (2,6-დიოქსი-5-მეთილპირიმიდინი) და ურაცილი (2,6-დიოქსიპირიმიდინი) — პირიმიდინისა.

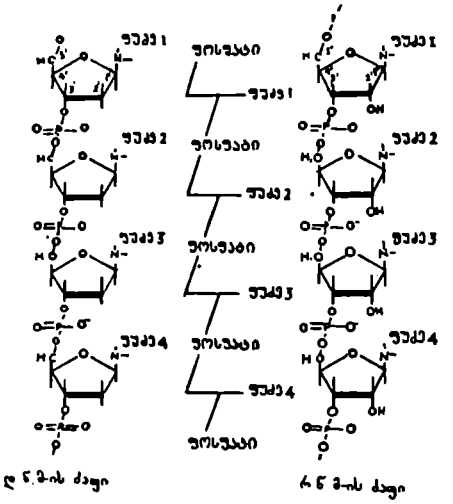



ადენინიანი ნუკლეოტიდი- ადენოზინმონოფოსფორის მჟავა

ზოგიერთი ორგანიზმის ნუკლეინის მჟავები შეიცავენ ჩვეულებრივი აზოტოვანი ფუძეების ნაწარმებს- მინორულ ფუძეებს,რომელთა რაოდენობა 10%-მდე შეიძლება აღწევდეს.მაგალითად,ფაგის დნმ-ში ციტოზინთან ერთად ცხვდებით $5^{I}$-მეთილციტოზინს,$5^{I}$- ოქსიმეთილციტოზინს;სხვადასხვა რნმ-ები შეიცავენ პურინის ან პირიმიდინის ფუძეების მეთილირებულ წარმოებულებს ($N^{6}$-მეთილადენინი,2-მეთილადენინი,I-მეთილგუანინი,$N^{2}$-დიმეთილგუანინი,ფსეევდურაციდი,ჰიდროურაციდი,I-მეთილურაციდი,$5^{I}$-მეთილციტოზინი და ა.შ.),ხოლო ბაქტერია თივის ჩხირის დნმ მცირე რაოდენობით შეიცავს ურაციდს.

როგორც დნმ-ს,ისე რნმ-ს მოლეკულის შემადგენელი მონომერები- ნუკლეოტიდებიერთმანეთთან დაკავშირებულია $3^{I}$- $5^{I}$-ფოსფორეთეროვანი ბმებით და წარმოქმნიან პოლინუკლეოტიდურ ძაფს (სურ.7).

პურინიანი ნუკლეოტიდების მოლეკულური მასა 350- 360 დალტონია,ხოლო პირიმიდიანებისა 330- 340 დალტონი.თუ ყოველი ნუკლეოტიდის მოლეკულურ მასას საშუალოდ 345 დალტონს მივიჩნევთ,ცხადი გახდება,რომ ნუკლეინის მჟავის გიგანტურ პოლინუკლეოტიდურ ძაფში თითოეული ნუკლეოტიდი მრავალჯერ შედის და მეორდება სხვადასხვა თანამიმდევნობით.ეს თანამიმდევნობა განსხვავებულია სხვადასხვა სახეობის ორგანიზმში,მაგრამ მუდმივია და მკაცრად სპეციფიკური მოცემული სახის ორგანიზმისათვის.როგორც გაირკვა,ორგანიზმის მემკვიდრეულ ნიშან-თვისებათა გამაპირობებელი მატერიალური საფუძვლები,ანუ გენეტიკური ინფორმაცია ჩაწერილია დნმ-ს (ან რნმ-ს) აზოტოვანი ფუძეების სპეციფიკურ თანამიმდევნობაში.ზოგჯერ დნმ-ში შედის ერთი და იგივე ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი სხვადასხვა ზომის მონაკვეთები - ბლოკები (იხ.ქვემოთ,




სურ. 7. დნმ-სა და რნმ-ს პოლინუკლეოტიდური ძაფების ქიმიური სტრუქტურა.

განმეორებადი თანამომდევნობანი, გვ. 46).

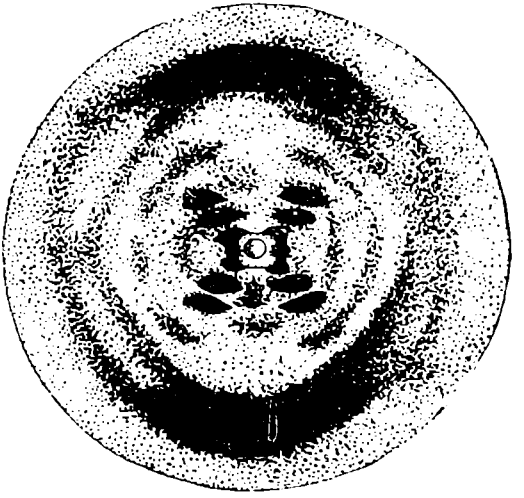
<u>დნმ.</u> ჯერ კიდევ 1949 წელს ა.ჩარგაფმა გაანალიზა სხვადასხვა წყაროდან მიღებული დნმ-ების ნუკლეოტიდური შედგენილობა და შეამჩნია გარკვეული კანონზომიერებანი, რამაც უდიდესი მნიშვნელობა იქონია ნუკლეინის მჟავების, კერძოდ დნმ-ს მოლეკულური სტრუქტურის დადგენაში. აღმოჩნდა, რომ აზოტოვანი ფუძეების შემცველობა დნმ-ში გარკვეულ კანონზომიერებებს ემორჩილება. კერძოდ: I. პურინების მოლური წილი პირიმიდინების მოლური წილის ტოლია, ანუ ა+გ : ც+თ = I; 2. კეტოჯგუფების $6^{I}$-მდგომარეობაში შემცველი ფუძეების რაოდენობა იმდენია, რამდენიც ამინოჯგუფების $6^{I}$-მდგო-

მარეობაში შემცველი ფუძეების რაოდენობა; 3. ადენინის მოლური წილი თიმინის მოლური წილის ტოლია, ციტოზინის მოლური წილი გუანინის მოლური წილის ტოლია. ამასთანავე, ა.ნ.ბელოზერსკისა და ა.ს.სპირინის, აგრეთვე სხვა მკვლევრების შრომებით დადგენილი იქნა, რომ ე.წ. სპეციფიკურობის კოეფიციენტი — ა+თ : გ+ც ტაქსონომიური მნიშვნელობისაა და სხვადასხვა ჯგუფების ორგანიზმებში მათთვის დამახასიათებელ მნიშვნელობას გამოსახავს. უმაღლეს მცენარეებში, ცხოველებში და ბევრნაირ მიკროორგანიზმში ეს შეფარდება ერთზე მეტია. მათ ე.წ. ა — თ ტიპის დნმ აქვთ. მიკროორგანიზმების უმეტესობაში, განსაკუთრებით ბაქტერიებში, აგრეთვე სოკოებში დნმ გ — ც-ტიპისაა.

გ — ც-წყვილების წილი, ანუ სპეციფიკურობის კოეფიციენტი შეიძლება გამოვიყენოთ რნმ-ს ნუკლეოტიდური შედგენილობის დამახასიათებლადაც, მაგრამ მხოლოდ ნაწილობრივ, რადგან ერთძაფიან რნმ-ში ზემოთ ხსენებული კანონზომიერებანი, როგორც წესი, არ შეიმჩნევა.

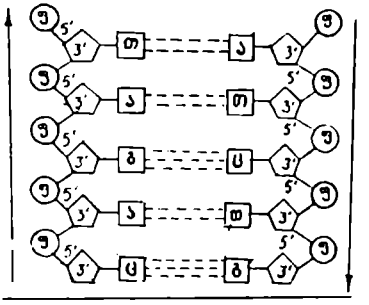
თანამედროვე ორგანიზმთა უმეტესობის უჯრედებში შემავალი დნმ ორძაფიანი მოლეკულაა, ხოლო რნმ ერთი ძაფია. 50-იანი წლების დასაწყისში მ.უილკინსმა და რ.ფრანკლინმა რენტგენო-სტრუქტურული გამოკვლევებით აჩვენეს, რომ დნმ მოწესრიგებული სტრუქტურაა: იგი შედგება განმეორებადი ელემენტებისაგან, რომლებიც განლაგებულია მოლეკულის ღერძის პერპენდიკულარულად, ერთმანეთისაგან 0,34 ნმ-ით დაშორებით (სურ. 8).

1953 წელს ჯ.უოტსონმა და ფ.კრიკმა რენტგენო-სტრუქტურული გამოკვლევებისა და ა.ჩარგაფის მიერ მიღებული ქიმიური ანალიზის შედეგებზე დაყრდნობით დაადგინეს ორძაფიანი დნმ-ს მოლეკულური სტრუქტურა. მათ მიერ მოწოდებული მოდელის თანახმად, რომელიც შემდგომში მრავალი მკვლევრის მიერ დადასტურდა, დნმ-ს ორი პოლინუკლეოტიდური ძაფი დაკავშირებულია ერთმანეთთან აზოტოვან ფუძეებს შორის წარმოქმნილი წყალბადური ბმებით. ამასთან, ერთი ძაფის ადენინი უკავშირდება მეორე ძაფის თიმინს, ხოლო გუანინი — ციტოზინს. ადენინსა და თიმინს შორის ორი წყალბადური ბმაა, ხოლო



სურ. 8. დნმ-ს რენტგენოგრამა. ჯვრისებრი ფიგურა ცენტრში მოწმობს მოლეკულის ორძაფიანობაზე. წრის ზემოთ და ქვემოთ გამოსახული მსხვილი შავი ძაფები შეესატყვისებიან ფუძეებს, რომლებიც განლაგებულია ღერძის მიმართ პერპენდიკულარულად და ერთმანეთისაგან დაშორებულია 0,34 ნმ-ით.

გუანინი და ციტოზინი დაკავშირებულია სამი ასეთი ბმით (სურ. 9). კავშირის სიგრძეა დაახლოებით 3Å ამრიგად აზოტოვანი ფუძეები წარმოქმნიან ზუსტად შესატყვის კომპლემენტურ წყვილებს, რაც კარგად შეესაბამება ჩარგაფის მიერ დადგენილ კანონზომიერებას: რაოდენობრივად ა=თ-ს და გ≡ც-ს. ფუძეთა კომპლემენტური შეწყვილების შედეგია ის, რომ ყოველი წყვილი შეიცავს თითო პურინსა და პირიმიდინს. ასეთი სპეციფიკურობა განისაზღვრება ფუძეთა სტრუქტურული კონფორმაციითა და მათი წყალბადური ბმების წარმოქმნის უნარით. წყალბადის ატომების მოძრაობა განსაზღვრავს ფუძეთა იზომერების ანუ ტაუტომერული ფორმების არსებობას, ერთი ფორმის გადასვლას მეორე-



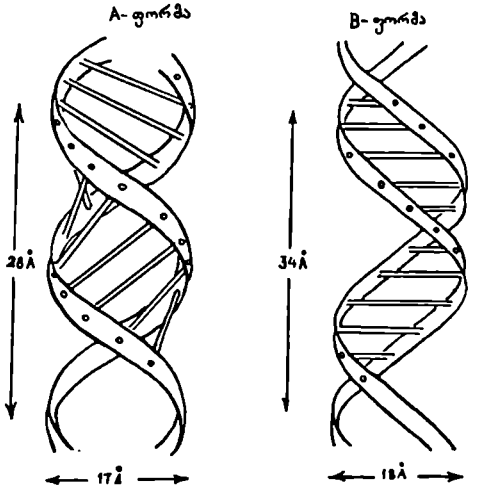
სურ. 9. დნმ-ს მოლეკულის ძაფების ქიმიური ორიენტაცია.

ში. ადენინის თიმინთან და გუანინის ციტოზინთან შეწყვილების სპეციფიკურობა განპირობებულია იმით, რომ ფუძეები დნმ-ში უმეტესწილად არსებობენ სტაბილურ ამინო-და კეტო ფორმებში, ე.ი. მე-6 მდგომარეობაში ატარებენ ამინის ( $NH_2$) ან კეტონის ( $C O$) ჯგუფს (სურ.10). ფუძეთა შეწყვილების აღნიშნული სპეციფიკურობა ზოგჯერ შეიძლება დაირღვეს, შედარებით იშვიათ ტაუტომერულ მდგომარეობაში — ენოლის ( $COH$ ) ან იმინის ( $NH$ ) ფორმებში გადასვლისას. ეს ძალიან იშვიათია და იწვევს სპონტანურ მუტაციებს. დნმ-ს მოლეკულის ჯაჭვების კომპლემენტარობა უზრუნველყოფს მის გენეტიკური ინფორმაციის მატერიალობისა და გადაცემის, აგრეთვე თვითგაორმაგების ანუ რეპლიკაციის უნარს.

როგორც მე-10 სურათზე გამოსახული სქემიდან ჩანს, დნმ-ს ძაფების შაქარ-ფოსფატული კარკასი ორიენტირებულია ერთმანეთის ანტიპარალელურად. საბოლოოდ ამ სტრუქტურის კიდევ ერთი განსაკუთრებული თავისებურება ისაა, რომ კიბე შემოგრეხილია ერთი ღერძის ირგვლივ და ხვეულ სახეს ღებულობს.

როგორც აღვნიშნეთ, ასეთი ორმაგი სპირალის სახის მოლეკულაში პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვებს შორის კავშირი ხორციელდება წყალბადური ბმებით, რაც

მოლეკულის სტაბილურობის ერთ-ერთი ძირითადი პირობაა. აზოტოვანი ფუძეების წყვილები განლაგებულია მოლეკულის ღერძთან, ხოლო პენტოზო ფოსფატური ჯაჭვები გარეთაა. სპირალის ხვია მარჯვნივია. მოლეკულის ზედაპირზე კარგად გამოიხატება ორი ღარი — დიდი და პატარა.




სურ. 10. დნმ-ს მოლეკულის A და B ფორმა.

დნმ-ს ორმაგსპირალოვანი მოლეკულის მახასიათებელი შემდეგია (სურ.10): სპირალის ყოველი ხვია შეიცავს 10 ნუკლეოტიდს, ხვიის პროექცია მოლეკულის ღერძის მიმართ შეადგენს 34,6Å -ს, ე.ი. ნუკლეოტიდებს შორის მანძილი 3,4 Å -ია; ფუძეთა წყვილები განლაგებულია სპირალის გრძელი ღერძის პერპენდიკულარულად; მოლეკულის დიამეტრია 20 Å (ფოსფორის ატომების მიმართ ორიენტაციისას — 18Å ). დიდი ღარის სიგანეა 17 Å , ხოლო პატარისაა 11Å . აღწერილი ფორმა გამოსახავს დნმ-ს ე.წ. β-კონფორმაციას, რომელიც ყველაზე გავრცელებულია და ამასთან სტაბილური. ასეთი კონფორმაცია მას ფი-

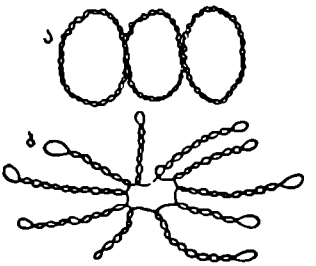
ზიოლოგიური კონცენტრაციის ხსნარში აქვს. ცნობილია დნმ-ს მოლეკულის A-ფორმაც, რომელიც, B ფორმისაგან განსხვავებით, ხვიაში შეიცავს II ნუკლეოტიდს, სპირალის ერთი ხვიის პროექციას უკავია მხოლოდ 28 Å, ნუკლეოტიდებს შორის მანძილია 2,5 Å, ფუძეთა წყვილების კუთხე ღერძის მიმართ შეადგენს $70^0$-ს და მოლეკულის დიამეტრია 19 Å

ცნობილია დნმ-ის კონფორმაციის სხვა, უფრო „უაშარი" ფორმებიც. მაგალითად, ლითიუმის მარილების ზემოქმედებით მიიღება C-ფორმა, რომელშიც ერთ ხვიაზე მოდის მხოლოდ 9 ნუკლეოტიდი. ვარაუდობენ, რომ ქრომოსომაში დნმ-ს ნაწილი C-ფორმაშია.

როგორც ირკვევა, ცოცხალ უჯრედში დნმ-ს მოლეკულის β-ფორმაში არის სპეციფიკური ე.წ. Z-დნმ უბნები. ისინი წარმოადგენენ გ—ც-წყვილების დაახლოებით 30 გამეორებებს და შემოგრეხილია მარცხნივ. დნმ-ში Z-ფორმის არსებობის ბიოლოგიური მნიშვნელობა ჯერ კიდევ დაუდგენელია, თუმცა ნაჩვენებია, რომ იგი ჩნდება კროსინგოვერის მსვლელობაში.

დნმ-ს ზემოთ აღწერილი სტრუქტურა სადღეისოდ არ შეიძლება ამომწურავად ჩაითვალოს. ხშირად დნმ-ს ორმაგსპირალიანი ძაფები წარმოქმნიან სხვადასხვა დონის სირთულის სტრუქტურებს. როგორც აღვნიშნეთ, პროკარიოტების უმეტესობაში, აგრეთვე მიტოქონდრიებში და ქლოროპლასტებში დნმ-ს მოლეკულები წრიული აღნაგობისაა. წრიული მოლეკულები ამასთანავე მრავალნაირად შეიძლება დაიგრიხონ, წარმოქმნან ბევრნაირი სახის მარყუჟი (სურ. II), როგორიცაა, მაგალითად, ზოგიერთ ვირუსში.

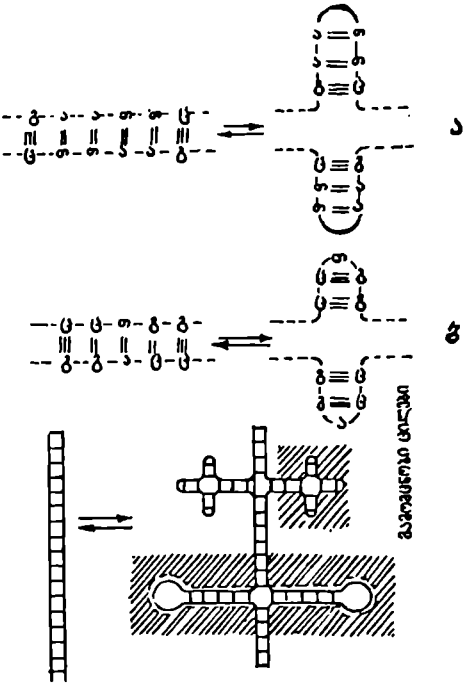
დიდხანს მიაჩნდათ, რომ დნმ-ს ორმაგი სპირალი მყარი და უცვლელი სტრუქტურაა. შემდგომში აღმოჩნდა, რომ მოლეკულა საკმაოდ დინამიურია და ზოგჯერ მოდიფიცირდება. მაგალითად, მოლეკულის გაორებისას (იხ. რეპლიკაცია), რაც წინ უძღვის უჯრედის დაყოფას, ან დნმ-ს ძაფზე რნმ-ს მატრიცული სინთეზისას (იხ. ტრანსკრიპცია) ორ ძაფს შორის არსებული კავშირები ირღვევა. ასეთი ე.წ. ღლობა შეიძლება მოხდეს ერთ რომელიმე უბანში და გაუყვეს მთელი მოლეკულის სიგრძეზე.




სურ. II. ზოგიერთი ვირუსის ნუკლეინის მჟავების მესამეული სტრუქტურის სქემა: ა — პოლიომის ვირუსის დნმ; ბ — რეოვირუსის დნმ.

უკანასკნელ წლებში აღმოჩნდა, რომ დნმ-ს მოლეკულის სიგრძეზე ფუძეთა გარკვეული თანამიმდევნობისას ადგილ-ადგილ წარმოიქმნება სიმეტრიული შვილილები, ნაკეცები — ე.წ. სარჭები ანუ პალინდრომული თანამიმდევნობანი (სურ. I2). ისინი წარმოადგენენ მიმართულ გამეორებების უბანს, რომელშიც პარალინდრომის ერთი ჯაჭვის ფუძეების თანამიმდევნობა ემთხვევა კომპლემენტური ძაფის ფუძეების თანამიმდევნობას ოლონდ, საპირისპირო მიმართულებით. ამრიგად, პალინდრომები ფუძეთა სიმეტრიული, ანტიპარალელური თანამიმდევნობანია. პალინდრომის ზომა დიდად ცვალებადობს და შეიძლება შეიცავდეს რამდენიმე ათეულ ან ასეულ ფუძეს. პალინდრომს შეიძლება ჰქონდეს ერთძაფიანი ზონა (სურ. I2,ა), ან ასეთი არ გააჩნდეს (სურ. I2,ბ). შესაძლოა პალინდრომები დამატებით მარყუჟებსაც წარმოქმნიდნენ.

პალინდრომების არსებობა დადასტურებულია დნმ-ზე სპეციფიკური დამშლელი ფერმენტებით — რესტრიქტაზებით ზემოქმედებისას. ყოველი რესტრიქტაზა (სადღეისოდ უკვე ცნობილია რამდენიმე ასეული ტიპის რესტრიქტაზა) ზუსტად




სურ. 12. დნმ-ს პაღინდრომული უბნების სტრუქტურა.

ცნობილობს მის შესატყვის ფუძეთა თანამომდევნობებს, ე.ი. დნმ-ს შლის მხოლოდ მის შესატყვის უბანში. სწორედ რესტრიქტაზების გამოყენებით ჩაეყარა საფუძველი დნმ-ს გიგანტურ მოლიკულაში ფუძეთა თანამომდევნობის— პირველადი სტრუქტურის შესწავლას, რაც მანამდე პრაქტიკულად შეუძლებლად ითვლებოდა.

როგორც ირკვევა, რესტრიქტაზის გარდა, პაღინდრომებს ცნობენ მეთილაზები, ნაირგვარი რეგულატორული ციღები, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს დნმ-ს როგორც გენეტიკური სუბსტრატის ფუნქციონირების რეგულაციაში.

დნმ-ს ტიპიური ხაზობრივი სტრუქტურა ირღვევა აგრეთვე ქრომატინის

სტრუქტურული კომპონენტების – ნუკლეოსომების წარმოქმნისას (იხ. თავი IX).

განმეორებადი თანამომდევნობანი დნმ-ს მოლეკულებში. როგორც აღვნიშნეთ, გაცხელებისას (80–100°C ±მდე) დნმ-ს ძაფებს შორის არსებული წყალბადური ბმები ირღვევა, ხდება მოლეკულის დენატურაცია. თუ ასეთ დნმ-ს ხსნარს სწრაფად გავაცივებთ, ძაფები გაცალკევებული რჩება, ხოლო ნელა გაცივებისას წყალბადური ბმები კვლავ აღდგება და მოლეკულა თავდაპირველ სახეს დებულობს, იგი რენატურირდება. რენატურაცია მით უფრო სწრაფად ხდება, რაც უფრო ერთგვაროვანია დნმ-ს ნუკლეოტიდური შედგენილობა (აღინიშნება სპეციალური კონსტანტით – K ) და დნმ-ს კონცენტრაცია ( Co ). რენატურაციის სიჩქარე შეიძლება განვსაზღვროთ დროში, ულტრაიისფერ სხივებში შთანთქმის ინტენსივობის მიხედვით. ნატივური დნმ უი-სხივებს შთანთქავს ნაკლები ინტენსივობით (~ 30%-ით), ვიდრე დენატურებული დნმ. ეს ე.წ. ჰიპერქრომული ეფექტია.

ამ მეთოდით ეუკარიოტული დნმ-ს შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ იგი ფუძეთა შემცველობისა და განაწილების მხრივ მეტად თავისებურია, რადგან სხვადასხვა სიჩქარით რენატურირდება. ამიტომ დაასკვნეს, რომ სწრაფადრენატურირებადი უბნები მრავალჯერ მეორდებიან მოლეკულის სიგრძეზე. ასეთი და აგრეთვე დენატურირებული ძაფების ერთმანეთთან წყალბადური ბმებით მიერთების – მოლეკულური ჰიბრიდიზაციის ცდების საფუძველზე სადღეისოდ გამოყოფილია განმეორებადი თანამომდევნობების სამი კლასი: სატელიტური ანუ ყვეელაზე ხშირად განმეორებადი, საშუალო სიხშირით განმეორებადი (შუალედი ანუ კინეტიკური ფრაქცია) და იშვიათად განმეორებადი ანუ უნიკალური თანამომდევნობანი.

სატელიტური უბნები გენომში $10^5$ და მეტჯერაც (შეიძლება $10^6$-ჯერაც) გვხვდება. იგი ადვილად ცალკევდება დნმ-ს ძირითადი მასიდან წონასწორობრივი ცენტრიფუგირებით ცეზიუმის ქლორიდის სიმკვრივის გრადიენტში. ზოგიერთი სატელიტური დნმ კარგად არის შესწავლილი. მაგალითად, თაგვში მის წილად მოდის გენომის 10% და 234 ნუკლეოტიდიანი უბნები მეორდება $10^6$-ჯერ,

ამასთან, ზოგჯერ დიდ ბლოკებად. ქრომოსომაში ისინი ლოკალიზებულია ჰეტერო-ქრომატინულ უბნებში, კონცენტრირებულია ცენტრომერებთან და სახეობრივ სპეციფიკურობას ამჟღავნებენ. სატელიტების ბიოლოგიური ფუნქცია ჯერჯერობით უცნობია, ისინი არ შეიცავენ რაიმე გენეტიკურ ფუნქციას, არ ტრანსკრიბირდებიან და უჯრედში მათი შესატყვისი რნმ ჯერჯერობით ნაპოვნი არ არის. ფიქრობენ, რომ მათ გარკვეული მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეთ უჯრედის დაყოფისას, ასრულებენ ე.წ. სპეისერების როლს სტრუქტურულ და რეგულატორულ გენებს შორის, იცავენ განმეორებად უბნებს ე.წ. წერტილოვანი მუტაციებისაგან და ა.შ. ზოგიერთი ავტორის თანახმად, არსებობს კორელაცია დნმ-ში განმეორებადი უბნების მაღალი სიხშირით შემცველობასა და ორგანიზმთა სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის.

შუალედი ტიპის განმეორებანი გვხვდება $10^2$ — $10^5$-ჯერ და სხვადასხვა სახეობებში გენომის 5 — 10-დან 60 - 70%-ს შეადგენენ, რაც მათ ჰეტეროგენულობაზე მოწმობს. თაგვის გენომში მათ წილად მოდის ~15%. ისინი შეიცავენ რამდენიმე განსხვავებულ კლასს, მათ შორის უბნებს(გენებს), რომლებიც წარმოქმნიან 28S, 18S და 5S რიბოსომულ რნმ-ებს, აგრეთვე ტრანსპორტულ რნმ-ებს; მრავლად შეიცავენ ჰისტონების გენებს. მაგალითად, ქსენოპუსის (აფრიკული დეზებიანი ბაყაყი) გენებში რიბოსომული რნმ-ს გენების რაოდენობა 1000-ზე მეტია და ჰისტონების გენების 400-მდე ასწია. შუალედი ტიპის განმეორებანი ინტენსიურად ტრანსკრიბირდებიან.

უნიკალური თანამომდევნობანი გენომში გვხვდება ერთჯერ ან მცირეჯერ ($< 10^2$). ისინი ცხოველებისა და ადამიანის გენომის ძირითად ნაწილს შეადგენენ, აქტიურად ტრანსკრიბირდებიან და, როგორც ჩანს, შეიცავენ სტრუქტურულ და რეგულატორულ უბნებს. უნიკალური უბნები შეიცავენ 900-1000 ნუკლეოტიდს, განლაგებულია მორიგეობით განმეორებად უბნებს შორის და მეორდება მაქსიმუმ 100-ჯერ, იშვიათად 200-ჯერ. ყოველ შემთხვევაში, 2000-3000 ნუკლეოტიდებიანი ფრაგმენტების 70% შეიცავენ როგორც უნიკალურ, ისე განმეორებად თანამომდევნობებს. დროზოფილას უნიკალურ განმეორებათა სიგრძე აღ-

მოჩნდა 12000—15000 ნუკლეოტიდი (6-ჯერ მეტი, ვიდრე სხვა სახეობებში), რომლებიც გენომში 50—100-ჯერ მეორდება.

განმეორებადი და უნიკალური თანამიმდევნობების სიგრძის მიხედვით ორგანიზმებს ორ ჯგუფად — ქსენოპუსისა და დროზოფილას ტიპებად ყოფენ. პირველი შეიცავს შედარებით მოკლე (~200 ნუკლეოტიდი) განმეორებებს და უნიკალურ გენებს (900—1000 ნუკლეოტიდი), მეორეში განმეორებანი შეიცავენ 5—6 ათას ნუკლეოტიდს, ხოლო უნიკალური თანამიმდევნობანი 12—15 ათას ნუკლეოტიდს. ადამიანი შედის დროზოფილას ტიპში. მის დნმ-ში 70% უნიკალური თანამიმდევნობანია, დანარჩენი კი სამი კატეგორიის თანამიმდევნობებს შეიცავს: ნაკლებად განმეორებადი უბნები გვხვდება არაუმეტეს 100-ჯერ შუალედი ტიპის განმეორებანი შეადგენენ 10%-ს და შეიცავენ ერთი გენის 100—1000 ასლს. მაგალითად ყველაზე ხშირია 100—200 ნუკლეოტიდიანი თანამიმდევნობანი ($10^4$ — $10^6$-ჯერ) შეადგენენ გენომის 8%-ს.

არსებობს დნმ-ს ერთძაფიანი ფორმაც. ასეთ დნმ-ს შეიცავს, მაგალითად, ფაგი Ø X174. იგი უმცირესი ზომის ვირუსია (შედგება 5386 ნუკლეოტიდისაგან), რომელიც ასნებოვნებს ბაქტერია ნაწლავის ჩხირს. ასეთი დნმ-ს აღმოჩენამ ემცი დაბადა დნმ-ს რეპლიკაციის ნახევრადკონსერვატული მექანიზმის სინამდვილეზე (იხ. თავი V). მაგრამ აღმოჩნდა, რომ ხსენებული ფაგის დნმ ერთძაფიან მდგომარეობაშია მხოლოდ არსებობის ციკლის გარკვეულ პერიოდში. დასნებოვნებული ბაქტერიის უჯრედები შეიცავენ ფაგის ორძაფიან ფორმას. ასეთ დნმ-ს რეპლიკაციურ ფორმას უწოდებენ, რადგან, იგი ემსახურება მატრიცად ვირუსული თაობის დნმ-ს სინთეზისათვის. ერთძაფიანი რნმ-ს შემცველი ვირუსები აგრეთვე რეპლიცირდებიან შუალედი ორძაფიანი რეპლიკაციური ფორმის გაცლით.

<u>რნმ.</u> როგორც აღვნიშნეთ, დნმ-საგან განსხვავებით, რნმ-ს მოლეკულები ერთძაფიანი პოლიმერებია. იშვიათად, მაგალითად, რნმ-ს შემცველ ვირუსში, ვხვდებით ორძაფიან რნმ-ს, რომელიც, დნმ-ს მსგავსად, ორი ანტიპარალელური და წყალბადური ბმებით (ა=უ, გ≡ც) დაკავშირებული ძაფებისაგან შე-

დგება. ერთძაფიანი შენების გამო, რნმ-ს მოლეკულის კონფორმაცია შედარებით ღაბილურია და ხსნარებში გორგლისებრ სტრუქტურებს წარმოქმნიან. ძაფში შეიძლება ეხვდებოდეთ ფუძეთა მსგავს, მაგრამ ურთიერთსაწინააღმდეგოდ ორიენტირებულ (პაღინდრომულ) თანამიმდევნობებს და „სარჭებს", რაც კარგად ჩანს ელექტრულ მიკროსკოპშიც. თუ მოლეკულაში რამდენიმე ასეთი „სარჭია", კონფორმაცია მეტ სიმტკიცეს იძენს, რაც განსაკუთრებით დამახასიათებელია ე.წ. ტრნმ-სათვის.

რნმ-ები, მოლეკულის თავისებურებისა და ფუნქციონირებისაგან დამოკიდებულებით, რამდენიმე ტიპისაა. მათგან მხოლოდ რნმ-ს შემცველი ვირუსების რნმ-ს გააჩნია მემკვიდრული ინფორმაციის შენახვისა და გადაცემის ანუ გენომური ფუნქცია. სხვა სახის რნმ-ები ემსახურებიან უმთავრესად დნმ-ში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციას.

სხვადასხვა ცხოველური, მცენარეული და ბაქტერიული უჯრედებიდან გამოყოფილი რნმ-ები სამი ძირითადი სახისაა (ცხრილი 2).

ცხრილი 2

რნმ-ს ტიპები და ზოგიერთი მახასიათებელი
(ნაწლავის ჩხირის მაგალითზე)

| რნმ-ს ტიპები | წილი უჯრედის მთელი რნმ-დან, % | მოლეკულური მასა (დალტონებში) | სედიმენტაციის კონსტანტა (S) |
|---|---|---|---|
| რიბოსომული რნმ (რ-რნმ) | 70 - 80 | $1,2.10^6$; $55.10^6$; $3.10^4$ | 23<br>16 |
| ინფორმაციული ანუ მატრიცული რნმ (მ-რნმ) | 5 -10 | $2.10^6$-მდე (ჰეტეროგენულია) | 5 |
| ტრანსპორტული რნმ (ტ-რნმ) | 10 - 15 | $2,5.10^3$ | 4,5 |

როგორც ცხრილიდან ჩანს, უჯრედის მთელი რნმ-ს ძირითადი წილი — 75—80% ე.წ. რ-რნმ-ს წილად მოდის. იგი შედის რიბოსომების შედგენილობაში.

მისი ფუნქცია ჯერჯერობით გარკვეული არ არის და ძირითადად სტრუქტურულ როლს მიაწერენ.

როგორც ბაქტერიული, ისე ცხოველური და მცენარეული უჯრედების რიბოსომები შეიცავენ სამივე ტიპის რნმ-ს, თუმცა მათი მოლეკულური მასა რამდენადმე განსხვავებულია. კერძოდ, ძუძუმწოვრების და საერთოდ იუკარიოტების რიბოსომები ოდნავ მარბობენ ბაქტერიების რიბოსომებს და შესაბამისად მათი რნმ-ებიც უფრო დიდი მოლეკულებია: დიდ და პატარა სუბერთეულში შემავალი რნმ-ს სედიმენტაციის კონსტანტაა შესაბამისად 28S და 18S . ყოველ რიბოსომაში თითო მოლეკულა 5 S -რნმ-ა. მისი ფუნქცია აგრეთვე უცნობია.

უჯრედის მთელი რნმ-ს 10-15%-ს შეადგენს ტ-რნმ. სხვადასხვა წყარო-დან მიღებული ტრნმ-ს მოლეკულები მსგავსი ზომისაა, შეიცავენ 75-80 ნუკლეოტიდს და აქვთ მოლეკულური მასა დაახლოებით $2,5.10^3$ დალტონი, რაც შეესატყვისება სედიმენტაციის კონსტანტას 4S . ტრნმ-ს ფუნქცია და აღნაგობა კარგად არის შესწავლილი: იგი იკავშირებს ამინომჟავებს და გადააქცევს ცილის სინთეზის ადგილიდან - რიბოსომებზე. ყველა ამინომჟავას აქვს ორი ან მეტი სპეციფიკური ტ-რნმ ისე, რომ არსებობს 40-მდე სახის ტ-რნმ. ისინი განსხვავდებიან ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობით, თუმცა მოლეკულის $3^I$-ბოლო, რომელიც ამინომჟავას იკავშირებს, ყველა სახის ტრნმ-ში ერთნაირია — ცცა, ხოლო $5^I$- ბოლო უმეტესად გუანინია. ტ-რნმ-ს მოლეკულის ფორმა ნაირგვარია და აქვს ოთხი ფუნქციური ჯგუფი (იხ. ქვემოთ, ცილების ბიოსინთეზი).

რნმ-ს მესამე და მეტად მნიშვნელოვანი ტიპია ინფორმაციული ანუ მატრიცული რნმ (მ-რნმ), რომელიც უჯრედის მთელი რნმ-ს დაახლოებით 5%-ს შეადგენს. მას შუამავალ (ინგლ. messenger ) რნმ-საც უწოდებენ. მისი მოლეკულური მასა $2.10^6$ დალტონს აღწევს და სედიმენტაციის კონსტანტის ფართე დიაპაზონი აქვს. მისი ფუნქცია ის არის, რომ განლაგდება რა რიბოსომებზე, თავისი მოლეკულის ნუკლეოტიდური წყობის შესატყვისად განაპირობებს (კო-

დირებს) ამინომჟავების წყობას რიბოსომებზე მიმდინარე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის — ციღის აშენებაში.

რნმ-ების მოლეკულური ტიპების გამოცალკევება და შესწავლა ხდება სხვადასხვა უჯრედებიდან მიღებული ჯამური რნმ-ს ულტრაცენტრიფუგირებით საჭარბოზის სიმკვრივის გრადიენტში, ქრომატოგრაფირებით სპეციალურ სვეტებზე (კიზელგური მეთილირებული აღბუმინით), დნმ-ს გარკვეულ უბნებზე ჰიბრიდიზაციით, ელექტროფორეზით და ა.შ.

საჭიელ ტიპის რნმ-ები წარმოიქმნებიან დნმ-ს გარკვეულ უბნებზე — გენებზე. მათი სინთეზი ხდება მატრიცული პრინციპით — დნმ-ს ძაფის შესატყვისი უბნების კომპლემენტურად. სინთეზს განაპირობებენ განსაკუთრებული ფერმენტები — პოლიმერაზები. დადგენილია დნმ-ს უბნები, რომლებზეც ხდება სხვადასხვა ტიპის რნმ-ების წარმოქმნა. ეუკარიოტულ უჯრედში რ-რნმ-ს სინთეზი ხდება ბირთვაკში, ხოლო მ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს წარმოქმნა მიმდინარეობს ქრომოსომის ეუქრომატინულ უბნებში.

## თავი IV

## გენეტიკურ პროცესებში მონაწილე ფერმენტები

გენეტიკურ პროცესებში მონაწილეობს მრავალი ფერმენტი, რომელთაგან უმთავრესია და უკეთ შესწავლილი ქვემოთ აღწერილი ფორმები.

დნმ-საგან დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზები ანუ დნმ-პოლიმერაზები - ახორციელებენ უმნიშვნელოვანეს და რთულ პროცესს- დნმ-ს მოლეკულის სინთეზს. პირველად 1956 წელს ა.კორნბერგმა ნაწლავის ჩხირის ექსტრაქტში აღმოაჩინა ცილოვანი ფაქტორი, რომელსაც შესწევდა უნარი დეზოქსირიბონუკლეოტიდების დაკავშირებისა დნმ-დ. რეაქციის აუცილებელი პირობა იყო ოთხივე სახის დეზოქსირიბონუკლეოტიდის თანაობა ტრიფოსფატების სახით (დ-ატფ, დ-გტფ, დ-ცტფ და დ-თტფ), აგრეთვე $Mg^{2+}$ და დნმ, როგორც მატრიცა. ამ ფერმენტს ეწოდა დნმ-პოლიმერაზა და სადღეისოდ აღინიშნება როგორც ა.კორნბერგის დნმ-პოლიმერაზა I. შემდგომში აღმოჩნდა, რომ ნაწლავის ჩხირის ზოგიერთ მუტანტს არ გააჩნია ა.კორნბერგის ფერმენტი, მაგრამ დნმ კი ჩვეულებრივ რეპლიცირდება. სადღეისოდ ბაქტერიულ დნმ-პოლიმერაზებში სამ ძირითად ფორმას არჩევენ.

დნმ-პოლიმერაზა I მონაწილეობს დნმ-ს მოლეკულის რეპარაციასა და კორექციაში, სახელდობრ, აცილებს არასწორად მიერთებულ ფუძეს და ამზადებს მოლეკულას ლიგაზების მოქმედებისათვის. ამავე ფერმენტით დნმ-ს სცილდება მასზე სინთეზირებული რნმ, რითაც თავისუფლდება უბანი დეზოქსირიბონუკლეოტიდებისათვის; სინთეზს წარმართავს 5'-3' მიმართულებით. ცარაუდობენ, რომ იგი არ ქმნის დნმ-ს ახალ მოლეკულებს, არამედ ახდენს ე.წ. ოკაზაკის ფრაგმენტების მიშენებას (იხ. თავი V). გარკვეულ პირობებში მას შეუძლია დნმ-ს სინთეზი რნმ-ს მატრიცაზე და რნმ-ს სინთეზი დნმ-ს მატრიცაზე. აქვს ეგზონუკლეაზური აქტივობა და რამდენიმე აქტიური ცენტრი. დიდი მოლეკულაა (მოლ. მასაა $11.10^4$ დალტონი), აქვს სფერული ფორმა დიამეტრით 65 Å, წარმოადგენს ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს, შეიცავს ერთ დისულფიდურ ხიდაკს და

ერთ თავისუფალ SH ჯგუფს. ნაწლავის ჩხირის ერთ უჯრედში მისი 400-მდე მოლეკულაა.

<u>დნმ-პოლიმერაზა II</u> აღმოჩენილია 60-იანი წლების ბოლოს. იგი აგრეთვე რეპარაციული ფერმენტია და ფუნქციონირებს ერთძაფიან ან დეგრადირებულ ორსპირალიან დნმ-ზე. სინთეზს წარმართავს 5'— 3' მიმართულებით, საჭიროებს OH - ჯგუფებს 3' C-სთან; შეიცავს SH ჯგუფს და ინჰიბირდება P P-ქლორმერკურიბენზოატით $Mg^{2+}$-ის თანაობისას. რეაქციისათვის არ მოითხოვს ატფ-ს, აქვს 3'—5' - ეგზონუკლეაზური აქტივობა. დადგენილია მისი ორი - თავისუფალი და მემბრანასთან მიმაგრებული ფორმა.

<u>დნმ-პოლიმერაზა III</u> აღმოაჩინა ა.კორნბერგის შვილმა თ.კორნბერგმა 1971 წელს. როგორც ჩანს, იგი წარმოადგენს ჭეშმარიტ დნმ-პოლიმერაზას. შედგება ორი სუბერთეულისაგან და აქვს მოლეკულური მასა 15.10$^4$ დალტონი. დნმ-ს სინთეზს ახდენს დ-ნტფ-დან, შეიცავს SH-ჯგუფებს და საჭიროებს ატფ-ს; ენდონუკლეაზური აქტივობა არ გააჩნია, აქვს ეკზონუკლეაზური მოქმედების უბანი. ვარაუდობენ, რომ ეს თვისება საჭიროა დნმ-ს მზარდ ჯაჭვზე შემთხვევით მიერთებული არაკომპლემენტური ნუკლეოტიდების მოცილებისათვის (კორექციისათვის). ფერმენტი უკეთესად მოქმედებს ერთძაფიან ან 3'- OH - ბოლოებით მდიდარ მატრიცაზე. იდენტიფიცირებულია დნმ-პოლიმერაზა III-ის კოფაქტორული ცილა, რომლის მოლეკულური მასაა 77.10$^3$ დალტონი.

<u>ეუკარიოტების დნმ-პოლიმერაზა</u> გამოირჩევა მრავალფორმიანობით, რომელთაც ხშირად ქსოვილური და ორგანოსპეციფიური თავისებურებანი ახასიათებთ. ცხოველებში აღმოჩენილია დნმ-პოლიმერაზის ბირთვული, მიტოქონდრიული, რიბოსომული და ციტოპლაზმური ფორმები. ფერმენტი ნანახია მცენარეთა ქლოროპლასტებშიც. ბაქტერიული დნმ-პოლიმერაზის მსგავსად, ეუკარიოტული დნმ-პოლიმერაზებიც საჭიროებენ მატრიცას, მაგრამ არა აქვთ ეკზონუკლეაზური აქტივობა. დღემდე აღმოჩენილი ფორმები განსხვავდებიან ზომით, აღნაგობით, აგრეთვე მატრიცისა და პრაიმერის მიმართ სპეციფიკურობით.

ბირთვული დნმ-პოლიმერაზა ცნობილია სამი ფორმით — I, II, და III.

ფორმა I შეშმარიტი რეპლიკატორული ფერმენტია, ფუნქციონირებისათვის მოითხოვს ოთხივე დ-ნტფ-ს, ატფ-ს და SH-ჯგუფებს, ხოლო მატრიცად ბუნებრივ ორძაფიან დნმ-ს. მისი მოლეკულური მასაა 8—9.$10^4$ დალტონი, სედიმენტაციის კონსტანტა — 6—8 , ჰეტეროგენულია და ოლიგომერს წარმოადგენს. განსაკუთრებით აქტიურია სწრაფად მოზარდ უჯრედებში. ფორმა II-ს მოლეკულური მასაა 27—52.$10^3$ დალტონი, მისი ფუნქციონირება არაა დამოკიდებული მატრიცის მდგომარეობისაგან, თუმცა ამჯობინებს ნატივურ დნმ-ს ერთძაფიანი წყვეტილებით. არაა ნაპოვნი მისი აქტივობის კავშირი უჯრედის პროლიფერაციასთან, მასზე გავლენას არ ახდენენ SH-ჯგუფების ინჰიბიტორები. ფერმენტის ეს ფორმა არ გვხვდება უმდაბლეს ეუკარიოტებში, საფუვრებში, უმდაბლეს მცენარეებში, პროტისტებში. ფორმა III არაა დამოკიდებული ატფ-სა და SH-ჯგუფების თანაობისაგან, მაგრამ მგრძნობიარეა დნმ-ს მდგომარეობის მიმართ. მას რეპარაციულ ფუნქციას მიაწერენ.

მიტოქონდრიული დნმ-პოლიმერაზა ( γ-პოლიმერაზა) გამოყოფილია HeLa-ს, ვირთაგვის ღვიძლისა და სხვა უჯრედების მიტოქონდრიებიდან. მისი მოლეკულური მასაა 140-159.$10^3$ დალტონი, ფუნქციონირებს ოთხივე სახის დ-ნტფ-ის , აქტივირებული ორძაფიანი წრიული ან დენატურირებული დნმ-ს და $Mg^{2+}$-ის თანაობისას. იგი მეტად ღაბილურია და, ბირთვულისაგან განსხვავებით, მგრძნობიარეა მუტაგენური საღებავების — ეთიდიუმბრომიდისა და აკრიფლავინის მიმართ.

ციტოპლაზმური დნმ-პოლიმერაზა ნახულია ეუკარიოტული უჯრედების სხვადასხვა ფრაქციებში — ქსოვილთა ჰომოგენატის 105.$10^3$ g -ზე დაცენტრიფუგირებულ სუპერნატანტში, გლუვი მემბრანებისა და მიკროსომების ფრაქციებში, დახასიათებულია მისი ზოგიერთი თვისებაც.

<u>დნმ-ტოპოიზომერაზები</u> უზრუნველყოფენ დნმ-ს ორი ძაფის ლოკალურ გაცალკევებას, რომლებზეც შემდეგ მატრიცულად სინთეზირდება ახალი კომპლემენტური ძაფები; აკატალიზებენ სხვადასხვა ფორმების იზომერიზაციას, მონაწილეობენ ფოსფოდიეთერული კავშირების გაწყვეტასა და ხელახლა წარმოქმნაში. არჩევენ ფერმენტის ორ ფორმას.

<u>პოლინუკლეოტიდლიგაზები ანუ ლიგაზები</u> ერთმანეთს „აკერებენ" დნმ-ს

ფრაგმენტებს. ყველაზე უკეთ შესწავლილია ნაწლავის ჩხირის ღიგაზა, რომელიც აკატალიზებს რთული ეთერული კავშირების წარმოქმნას ორი დეზოქსირიბონუკლეოტიდური ძაფის 3'-OH -ისა და 5'-ფოსფორილურ ბოლოებს შორის. ცნობილია ორსპირალიანი ფრაგმენტების მიერთების მაგალითებიც. 1967 წელს ნაწლავის ჩხირიდან გამოყვეს ღიგაზა, რომელიც წარმოიქმნება ბაქტერიის უჯრედში ფაგი T4-ით ინფიცირებისას. მისი თვისებები განსხვავდება დაუსნებოვნებელი უჯრედებიდან გამოყოფილი ფერმენტისაგან. სახელდობრ, ნორმალური ნაწლავის ჩხირის ღიგაზა ენერგიის წყაროდ იყენებს ნად+-ს, ხოლო ფაგ T4-ის და აგრეთვე ძუძუმწოვართა უჯრედებიდან გამოყოფილი ღიგაზა — ატფ-ს. ნაწლავის ჩხირის ღიგაზა, დნმ-პოლიმერაზის მსგავსად, შედგება ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან, აქვს ასიმეტრიული ფორმა, მისი მოლეკულური მასაა $77.10^3$ დალტონი. ერთ უჯრედში 2000-მდე მოლეკულაა და ბევრად ჭარბობს დნმ-პოლიმერაზის რაოდენობას. მუტანტურ ფორმებში მისი რაოდენობა 100-ჯერ ნაკლებია, მაგრამ, მიუხედავად ამისა, მათ ცხოველუნარიანობა დაკარგული არა აქვთ. ეს იმას ნიშნავს, რომ ველურ შტამებში ფერმენტი ჭარბადაა. ტემპერატურისადმი მგრძნობიარე მუტანტებში მაღალი ტემპერატურისას ფერმენტული აქტივობა ქრება და უჯრედებიც კარგავენ ცხოველუნარიანობას.

ღიგაზები გამოყოფილია ეუკარიოტული უჯრედებიდანაც. ძუძუმწოვრებში აღმოჩნდა ფერმენტის ორი სეროლოგიურად განსხვავებული ტიპი: ღიგაზა I ლოკალიზებულია ძირითადად ციტოპლაზმეში, ხოლო ღიგაზა II-ბირთვში და მიტოქონდრიებში. ღიგაზა I შედარებით დიდი ციღაა, მოლეკულური მასით 175-220.$10^3$ დალტონი, ხოლო ღიგაზა II-ს შედარებით მცირე მოლეკულური მასა აქვს — $85.10^3$ დალტონი და, ნაწლავის ჩხირის ფერმენტის მსგავსად, ასიმეტრიული ფორმისაა.

არის ცნობები რნმ-ღიგაზების არსებობის შესახებაც.

რეპლიკაზები სინთეზირებენ რნმ-ს რნმ-საგან მატრიცაზე. ცხადია, რომ ისინი გააჩნიათ რნმ-ს შემცველ ვირუსებს და წარმოქმნიან უჯრედში ვირუსის შეღწევისთანავე. განსაკუთრებით საინტერესოა ფაგ Q -ს რეპლიკაზა.

იგი შედგება ოთხი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან, რომელთა მოლეკულური მასებია 65, 70, 35 და 40.$10^3$ დალტონი. საყურადღებოა, რომ ყველა მათგანის კოდირებისათვის თვით ამ ფაგის გენომში არსებული ინფორმაცია არ კმარა და ფაგის გენომით კოდირდება მხოლოდ ერთი სუბერთეული (65.$10^3$ დალტონი). დანარჩენი სამი სუბერთეულის წარმოქმნა კონტროლირდება მასპინძელი უჯრედის გენომით.

ჰელიკაზები დნმ-ს ძაფების გამაცალკევებელი ცილებია. ისინი კოოპერირებულად და მჭიდროდ არიან დაკავშირებული დნმ-ს ძაფებთან და დიდ როლს ასრულებენ რეპლიკაციის პროცესში. რეპლიკაციურ ჩანგალში ასეთი ცილის 200-მდე მოლეკულაა. ყოველი მათგანი კომპლექსირებულია 8-10 ნუკლეოტიდთან, თუმცა ასეთი კავშირი არაა სპეციფიკური. ნაწლავის ჩხირის ერთ უჯრედში ჰელიკაზის $10^5$-მდე მოლეკულაა. ჰელიკაზები გამოყოფილია სხვა ბაქტერიებიდანაც და აგრეთვე ფაგებიდან. ისინი სტიმულირებენ დნმ-პოლიმერაზა II-სა და III-ის აქტივობას, არ მოქმედებენ დნმ-პოლიმერაზა I-ზე, ინჰიბირებენ სამივე დასახელებული ფორმის ეკზონუკლეაზურ აქტივობას. ჰელიკაზების მიმატება ზრდის დნმ-ს სითბური ღლობის წერტილს. ჰელიკაზები აღმოჩენილია ეუკარიოტულ უჯრედებშიც. ამასთანავე ნაჩვენებია, რომ კროსინგოვერისას ჰელიკაზების რაოდენობა მატულობს, რაც მიუთითებს მათ დიდ მნიშვნელობაზე რეკომბინაციის პროცესებში.

როგორც პრო-, ისე ეუკარიოტებიდან გამოყოფილია ე.წ. მარელაქსირებელი ფერმენტები, რომლებიც ფუნქციონირებენ რეპლიკაციის პროცესში დნმ-ს ერთ-ერთი ძაფის გაწყვეტისა და ხელახლა მიერთებისას, რაც ხდება ხაზობრივი მოლეკულის საკუთარი ღერძის გარშემო ტრიალის დროს, ან წრიული მოლეკულის დამატებითი გრეხის გამო.

მეთილაზები ემსახურებიან ზოგიერთი ფუძის მეთილირებას ნუკლეინის მჟავების მოლეკულაში. მეთილირება, აგრეთვე ფოსფორილირება, გლუკოზილირება და აცეტილირება განსაკუთრებით კარგად ჩანს ტ-რნმ-ს მაგალითზე. მისი მესამეული სტრუქტურა, რომელიც საფუძვლად უდევს მოლეკულის ადაპტორულ

ფუნქციას, გაპირობებულია სწორედ ასეთი მოდიფიცირებული იშვიათი ფუძეებით. როგორც ირკვევა, მეთილირება იცავს დნმ-ს სპეციფიკურ უბნებს რესტრიქციული ენდონუკლეაზების დამშლელი მოქმედებისაგან. ამასთანავე, ემსახურება ამ უბნების გამოცნობას სპეციფიკური რეგულატორული ცილების მიერ. დნმ-ში ზოგიერთი ფუძე მეთილირდება როგორც მოლეკულის სინთეზის პროცესში, ისე პროცესის დამთავრების შემდეგ. ამ უკანასკნელ შემთხვევაში ციტოზინი გადაიქცევა ხოლმე 5'-მეთილციტოზინად, ხოლო ადენინი 6'-მეთილადენინად. 5' მეთილციტოზინი ფართოდაა გავრცელებული, ხოლო 6'-მეთილადენინი გვხვდება მხოლოდ უმდაბლეს ორგანიზმებში. ძუძუმწოვრებში მეთილირებული დნმ შეადგენს I—I,5%-ს, ხოლო მცენარეებში 5—6%-ს აღწევს. ზოგჯერ მეთილირება ორგანოსპეციფიკურია. მეთილირებისას მეთილის ჯგუფის წყაროა მეთიონინი, რომელიც ჯერ ენერგიით მდიდარ ფორმაში— 5-ადენოზილ- -მეთიონინში გადადის.

<u>დნმ-საგან დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზები ანუ რნმ-პოლიმერაზები</u>

ახორციელებენ ერთ-ერთ ცენტრალურ პროცესს— რნმ-ს სინთეზს (ტრანსკრიპციას) დნმ-ს მატრიცაზე. ისინი წარმოქმნიან პოლირიბონუკლეოტიდურ ძაფს რიბონუკლეოტიდებიდან. რნმ-პოლიმერაზები პირველად აღმოაჩინეს ს.ვეისმა ვირთაგვის ღვიძლში და ჯ.ჰურვიცმა და სხვებმა ნაწლავის ჩხირში 50-იანი წლების ბოლოს. როგორც შემდგომში გაირკვა, რნმ-პოლიმერაზები არის როგორც პრო-, ისე ეუკარიტულ უჯრედში. მათი ბუნებისა და ფუნქციონირების მექანიზმების შესახებ თავდაპირველად ძირითადი ცნობები მიღებული იყო ბაქტერიებიდან გამოყოფილი პრეპარატების შესწავლით, რადგან იქ ეს ფერმენტი უჯრედის წვენშია და შედარებით ადვილად სუფთაცდება. ეუკარიოტებში ფერმენტი ძირითადად ლოკალიზებულია უჯრედის ბირთვში და იმდენად მჭიდროდაა დაკავშირებული ქრომატინთან, რომ მისი სუფთა სახით მიღება და დახასიათება შედარებით გვიან მოხერხდა.

რნმ-პოლიმერაზის ფუნქციონირებისათვის აუცილებელია ოთხივე სახის რიბონუკლეოტიდის თანაობა ტრიფოსფატების სახით (ატფ, გტფ, ცტფ და უტფ),

აგრეთვე $Mg^{2+}$-სა და $Mn^{2+}$-ის იონები და დნმ-მატრიცა.

რნმ-პოლიმერაზები მატრიცად იყენებენ ერთძაფიან ან დენატურირებულ დნმ-ს. in vivo ტრანსკრიბირდება დნმ-ს მხოლოდ ერთი ძაფი, რაც ნაჩვენებია სინთეზირებული პროდუქტის ჰიბრიდიზაციით მატრიცასთან.

ფერმენტის გამოსუფთავებისას საჭიროა სულფჰიდრილური რეაგენტების ( β-მერკაპტოეთანოლი, დითიოტრეიტოლი) ხმარება, რადგან იგი ადვილად ინაქტივირდება მძიმე მეტალებით ან სულფჰიდრილური ნაერთების ინჰიბიტორებით (მაგალითად, პარაქლორმერკურიბენზოატით). სარეაქციო არიდან ერთ-ერთი ტრიფოსფატის გამოკლებით რნმ-ს სინთეზი თითქმის მთლიანად წყდება. რეაქცია ძალიან მგრძნობიარეა დნმ-აზისა და რნმ-აზის მიმართ, რადგან პირველი შლის მატრიცას, ხოლო მეორე რეაქციის პროდუქტს. რეაქცია სპეციფიკურად ინჰიბირდება აქტინომიცინ D-თი, რომელიც უკავშირდება დნმ-მატრიცის გ-ც წყვილებს და ამით ხელს უშლის ფერმენტის მოძრაობას მატრიცაზე.

პროკარიოტულ და ეუკარიტულ უჯრედში ფერმენტის სტრუქტურული ორგანიზაცია და ზოგიერთი თვისება განსხვავებულია. პროკარიოტებიდან ყველაზე უკეთ შესწავლილია ნაწლავის ჩხირის რნმ-პოლიმერაზა. როგორც ფ.ბურჯესმა აჩვენა (1969 წ.), ამ ბაქტერიის ფერმენტი დიდი ცილაა — შედგება 4000-ზე მეტ ამინომჟავისაგან და აქვს მოლეკულური მასა 48-50.$10^5$ დალტონი, შეიცავს თუთიას.

<u>ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზა.</u> მოლეკულა შედგება ორი განსხვავებული ფუნქციური კომპონენტის—კორ-ფერმენტის (ინგლ. core -შუაგული) ანუ მინიმალური ფერმენტისა და σ-ფაქტორისაგან. კატალიზურ ფუნქციას ასრულებს კორ-ფერმენტი, ხოლო σ-ფაქტორი განაპირობებს ფერმენტის დაკავშირებას მატრიცასთან. σ-ფაქტორი უკავშირდება მხოლოდ მატრიცის გარკვეულ უბანს— გენის პრომოტორს და ამით უზრუნველყოფს შერჩევითი ტრანსკრიპციის ინიციაციის დაწყებას. კომპონენტები ადვილად დისოცირდება ( შეთბობით, დეაე-ს ან ფოსფოცელულოზის სვეტებზე და ა.შ.) დასახელებულ ერთეულებად და კვლავ შეიძლება მათი შეერთება.

კორ-ფერმენტი დიდი და რთული ცილაა, რომელშიც შიდის ხუთი სუბერთეული:

2 α-ჯაჭვი (თვითეულის მოლ. მასა - $39.10^3$ დალტონი)

1 β-ჯაჭვი (მოლ. მასა - $155.10^3$ დალტონი)

1 $β_1$-ჯაჭვი (მოლ. მასა - $165.10^3$ დალტონი)

ამრიგად, მთლიანი ფერმენტი, რასაც ჰოლოფერმენტსაც უწოდებენ, სიმბოლოებით შეიძლება გამოვსახოთ, როგორც $2α, β, β_1$, წ.

აღსანიშნავია, რომ კორ-ფერმენტის ცალკეული სუბერთეულების ფუნქცია ბოლომდე არაა გარკვეული. დანამდვილებით დადგენილია, რომ β და $β_1$ კომპონენტები ემსახურება ფერმენტის კავშირს მატრიცასთან. რნმ-ს სინთეზი შეუძლია ცალკე კორ-ფერმენტსაც, მაგრამ ამ დროს პროცესი მიმდინარეობს ნელა და უწესრიგოდ, ვიდრე სრული ფერმენტით. კორ-ფერმენტს შეუძლია პომოპოლიმერების უმატრიცო სინთეზიც.

σ-ფაქტორი ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვია მოლ. მასით $95.10^3$ დალტონი. ფერმენტი ყველაზე მტკიცედ უკავშირდება პრომოტორის უბანს — რამდენიმე რიგით უფრო მტკიცედ, ვიდრე გენის სხვა უბანს. ფერმენტის ურთიერთობისას გენთან დნმ-ს ამ უბნის კონფორმაცია რამდენადმე იცვლება, ამასთანავე ხდება მისი ორმაგი სპირალის ლოკალური ღლობა.

რნმ-ს სინთეზის პროცესში რნმ-პოლიმერაზის σ-ფაქტორი თავისუფლდება მატრიცისაგან პირველი ფოსფოდიეთერული კავშირის წარმოქმნისთანავე და ელონგაციისათვის საჭირო აღარაა. ამ რეაქციაში მონაწილეობს ატფ და გტფ. ანტიბიოტიკი რიფამიცინი ინჰიბირებს რნმ-ს პოლინუკლეოტიდური ძაფის სინთეზის ინიციაციის სტადიას და ძაფის გაგრძელებაზე — ელონგაციაზე გავლენას არ ახდენს. დადგენილია, რომ ანტიბიოტიკი უკავშირდება β სუბერთეულს და ამით ბრკოლდება გტფ-სა და ატფ-ს რეკოგნაცია.

გარდა σ-ფაქტორისა, აღწერილია ტრანსკრიპციისათვის საჭირო სხვა ცილოვანი ფაქტორებიც. ასეთია მაგალითად, ρ -ფაქტორი, რომელიც არასპეციფიკურად სტიმულირებს რნმ-ს სინთეზს მატრიცის დიდ ნაწილზე. Ψ -ფაქტო-

რი, რომელიც არ ცვლის σ-ფაქტორს, მაგრამ მისი თანაობისას განსაკუთ-
რებული ინტენსივობით ტრანსკრიბირდებიან რიბოსომული გენები. როგორც
ჩანს, იგი სპეციფიკურია ნაწლავის ჩხირისათვის, ვარაუდობენ სხვა ციდოვანი
ფაქტორების არსებობასაც. უაღრესად საყურადღებოა ე.წ. CAP-ცილა, ანუ
ციკლური ამფ-ს (ც-ამფ) რეცეპტორული ცილა. მას კატაბოლური გენის ცილოვან
აქტივატორსაც უწოდებენ (catabolite gene activator protein). იგი
აუცილებელია ც-ამფ-ს მოქმედებისათვის ლაქტოზის ოპერონზე და, როგორც
ჩანს, სხვა კატაბოლურად ინდუცირებად ოპერონებზეც. ურთიერთობს გენ-ოპერ-
ატორთან. სადღეისოდ ცნობილია ლაქტოზის ოპერონის მაკონტროლირებელი სამი
ცილა: რნმ-პოლიმერაზა, CAP-ცილა და ცილა-რეპრესორი. CAP-ცილა დნმ-თან
ურთიერთობს მხოლოდ ც-ამფ-ს გარკვეული კონცენტრაციისას, რომელთანაც აქ-
ტიურ კომპლექსს წარმოქმნის.

ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზები განსხვავდებიან პროკარიტული რნმ-
პოლიმერაზებისაგან და გამოირჩევიან დიდი ჰეტეროგენულობით. ბირთვში ისი-
ნი მტკიცედ არიან დაკავშირებული ქრომატინის ცილებთან, რის გამოც მათი
სუფთა სახით მიღება საკმაოდ ძნელია. ეს მხოლოდ უკანასკნელ წლებში მოხე-
რხდა.

ბირთვში არჩევენ სამი სახის რნმ-პოლიმერაზას, რომელთაც სპეციფიკუ-
რი ფუნქცია აქვთ და ტრანსკრიბირებენ გენომის შესაბამის უბნებს. რნმ-პო-
ლიმერაზა I (A) ლოკალიზებულია ბირთვაკში და ტრანსკრიბირებს რ-რნმ-ს
შესატყვის ლოკუსებს. იგი ითრგუნება ციკლოჰეკსიმიდით (აქტიდიუმით) და
ფუნქციონირებს დაბალი იონური ძალის პირობებში $Mg^{2+}$-ის, აგრეთვე
$Mg^{2+}$-ის თანაობისას. უჯრედის რნმ-პოლიმერაზული აქტივობის 50-70% ამ
ფორმაზე მოდის.

რნმ-პოლიმერაზა II (B) ლოკალიზებულია კარიოპლაზმაში და წარმოქმ-
ნის ძირითადად ჰეტეროგენულ რნმ-ს (ჰგ-რნმ-ს), რომლისგანაც სათანადო
პროცესინგის შემდეგ მიიღება მ-რნმ. ფერმენტის ეს ფორმა ითრგუნება ბი-

ციკლური ოქტაპეპტიდით — α-ამანიტინით (მიიღება შხამიანი სოკოდან Amanita phalloides ) და ფუნქციონირებს მაღალი იონური ძალის პირობებში $Mn^{2+}$-ის თანაობისას. ფერმენტის ამ ფორმაზე მოდის უჯრედის მთელი რნმ-პოლიმერაზული აქტივობის 20-40%.

რნმ-პოლიმერაზა III (C ) სინთეზირებს ტ-რნმ-ს, 5 S რნმ-ს და ზოგიერთი სხვა უცნობი ფუნქციის რნმ-ებს. იგი ინჰიბირდება α-ამანიტინის შედარებით მაღალი დოზებით და ნაწილობრივ რიფამიცინით ან მისი დერივატებით. ამ ფორმის წილი უჯრედის მთელი რნმ-პოლიმერაზული აქტივობის 10%-ს შეადგენს. იგი ლოკალიზებულია ციტოპლაზმაში.

რნმ-პოლიმერაზის სამივე ფორმა რთული ცილებია და ყოველი მათგანი შედგება რამდენიმე, ძირითადად მაღალპოლიმერული სუბერთეულისაგან. საინტერესოა, რომ ზოგიერთი სუბერთეული სამივე ფორმაში შედის, და, როგორც ჩანს, მსგავს ფუნქციასაც ასრულებს.

ნაწლავის ჩხირის რნმ-პოლიმერაზის მსგავსად, ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზა I და II კოფერმენტად საჭიროებენ თუთიას. მათი მეოთხეული სტრუქტურა ბაქტერიულ ფერმენტთან შედარებით გაცილებით რთულია. თითოეული მათგანი შეიცავს 10-15 სუბერთეულს, რომელთაგან ზოგიერთის მოლეკულური მასა $2.10^5$ დალტონს ჭარბობს.

არც თუ ისე შორეულ წარსულში ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზის სხვადასხვა ფორმების გარჩევაში ძირითადად იყენებდნენ მათ დამოკიდებულებას ორვალენტიან კატიონებთან. სადღეისოდ ამ ფორმებს დიფერენცირებენ მათი მგრძნობელობის მიხედვით α-ამანიტინთან.

<u>უკუტრანსკრიპტაზა (რევერტაზა)</u> შედარებით ახლადაღმოჩენილი ფერმენტია. 60-იანი წლების ბოლომდე გაბატონებული იყო შეხედულება, რომ გენეტიკური ინფორმაცია გადაეცემა მხოლოდ ერთი მიმართულებით: დნმ→რნმ→ცილა. როგორც აღვნიშნეთ, ფ.კრიკმა მას ცენტრალური დოგმა უწოდა (1958 წ.) ლ.კავალერმა 1963 წელს პირველად ნახა, რომ დნმ-ს ფრაგმენტის მსგავსი პოლიმერის — პოლი (თ-ა)-ს სინთეზი შეიძლება პოლი (ა-უ)-ს მატრიცაზე

დნმ-პოლიმერაზით. 1964 წელს გ.ტემინმა აღმოაჩინა, რომ რნმ-ს შემცველი ონკოგენური ვირუსების (რაუსის სარკომის ვირუსი) განვითარება ითრგუნება დნმ-ს სინთეზის ინჰიბიტორებით. ამის საფუძველზე გამოთქმული იქნა ვარაუდი, რომ უნდა არსებობდეს პოლიმერაზა, რომელსაც შეუძლია დნმ-ს სინთეზი რნმ-ს მატრიცაზე. 1969-70 წლებში გ.ტემინმა, დ.ბალტიმორმა და ს.მიზუტანმა მართლაც აღმოაჩინეს ასეთი ფერმენტი ონკოგენური ვირუსებით ინფიცირებულ ქსოვილებში და თვით ვირუსებში. ფერმენტს დაერქვა უკუტრანსკრიპტაზა (უცნობი ავტორი) ანუ რევერტაზა (ვ.ინგელგარდტი).

როგორც სათანადო გამოკვლევებით აღმოჩნდა, ერთი ჯგუფის ონკოგენური ვირუსების უკუტრანსკიპტაზა შედგება ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან, რომლის მოლეკულური მასაა 65 – 70.$10^3$ დალტონი. მას გააჩნია დნმ-რნმ-ს ჰიბრიდული მოლეკულების გახლეჩის უნარი (რნმ-აზა H ). აღწერილია ორსუბერთეულიანი რევერტაზებიც. ამრიგად, ფუნქციის მრავალგვარობის მხრივ იგი ჰგავს დნმ-პოლიმერაზა I-ს. როგორც ირკვევა, რევერტაზის საშუალებით რნმ-ს შემცველი ვირუსები სინთეზირებენ დნმ-ს ფრაგმენტებს, რომლებიც ჩაეშენება მასპინძელი უჯრედის დნმ-ში და მასთან ერთად დიდხანს რეპლიცირდება პროვირუსის სახით. ვირუსის რნმ-ს მატრიცაზე რევერტაზით სინთეზირდება დნმ-ს ერთი ძაფი, ე.ი. იქმნება რნმ-დნმ-ს ჰიბრიდი, რომელიც ფუნქციონირებს ორძაფიანი დნმ-ს სინთეზში დნმ-პოლიმერაზით. რნმ-დნმ-ს კომპლექსში რნმ-ს ძაფი იშლება რევერტაზის რნმ-აზული აქტივობით. საინტერესოა, რომ უკუტრანსკრიპტაზით დნმ-ს სინთეზი რამდენიმე ასეულჯერ უფრო სწრაფად მიმდინარეობს ხელოვნურ პოლიდეზოქსინუკლეოტიდურ მატრიცაზე (პოლი-დც, პოლი-დთ, პოლი-თ, პოლი-ა, პოლი-გ), ვიდრე ბუნებრივ რნმ-ზე. ამით შესაძლებელი გახდა უკუტრანსკრიპტაზის მცირე რაოდენობის გამოვლენაც და, მაშასადამე, ონკოგენური ვირუსების აღმოჩენა, რასაც მნიშვნელობა აქვს სიმსივნური დაავადების დიაგნოსტიკაში. საინტერესოა, რომ გ.ტემინმა, ს.შპიგელმანმა და სხვებმა რევერტაზული აქტივობა აღმოაჩინეს უმაღლეს ორგანიზმთა ნორმალურ უჯრედებში, რომლებიც არავითარ ვირუსს არ შეიცავენ. ამიტომ ცხადია, რომ

ნორმალურ ქსოვილში ვირუსების თანაობაზე მსჯელობისას საჭიროა გარკვეული სიფრთხილე, რადგანაც უკუტრანსკრიპტაზები აქტიურობას ამჟღავნებენ სინთეზურ მატრიცებზეც. გარდა ამისა, როგორც ზევითაც აღვნიშნეთ, გარკვეულ პირობებში რნმ-მატრიცაზე დნმ-ს სინთეზის უნარი გააჩნიათ დნმ-პოლიმერაზა I-ს და ეუკარიოტულ დნმ-პოლიმერაზას. რევერტაზების ბუნებისა და მოქმედების მექანიზმების ცოდნას, თეორიულთან ერთად, დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობაც აქვს. ისინი უკვე გამოიყენება ტესტად სიმსივნური დაავადებებისა და ღეიკემიის დიაგნოსტიკისათვის. საყურადღებოა, რომ სხვადასხვა ონკოგენური ვირუსების რევერტაზები ანტიგენურად ძალიან პგვანან ერთმანეთს. ამიტომ, სავარაუდოა, რომ შეიძლება შეიქმნას უნივერსალური ანტიშრატი სიმსივნეების გარკვეული ფორმების წინააღმდეგ. რევერტაზების თანაობა არაა აბსოლუტურად სპეციფიკური ონკოგენური ვირუსებისათვის. აღწერილია ისეთი ვირუსების კულტურებიც, რომელთაც გააჩნიათ რევერტაზული აქტივობა, მაგრამ არ იწვევენ ავთვისებიან გადაგვარებას.

რევერტაზები მნიშვნელოვანი იარაღი აღმოჩნდა გენურ ინჟინერიაში., კერძოდ ნაირგვარი გენების ნატიფი სტრუქტურის გარკვევისა და გენების ხელოვნური სინთეზისათვის (იხ. თავი XIID.

<u>პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზა</u> ახორციელებს რნმ-ს სინთეზს 5-რიბონუკლეოზიდდიფოსფატებიდან და ამასთან მატრიცის გარეშე. იგი აღმოაჩინა 1955 წელს ფრანგმა მეცნიერმა მ.გრიუნბერგ-მონაგომ ამერიკელი მკვლევარის ს. ოჩოას ლაბორატორიაში.ფერმენტის მნიშვნელოვანი თვისებაა ის,რომ არ საჭიროებს ოთხივე დინუკლეოტიდს და მის მიერ სინთეზირებული პროდუქტის ნუკლეოტიდური შედგენილობა დამოკიდებულია საინკუბაციო არეში ნუკლეოტიდების შედგენილობისაგან.ამასთან,მას შეუძლია პოლირიბონუკლეოტიდური ძაფის სინთეზი ერთი რომელიმე დინუკლეოტიდიდანაც.ამ ფერმენტით სინთეზირებულია პოლიმერები—პოლი-ა,პოლი-უ,პოლი-გ,პოლი-ც და აგრეთვე მრავალნაირი შერეული შედგენილობის პოლირიბონუკლეოტიდი.ასეთი სინთეზირებული პოლიმერები

$3.10^4 - 2.10^5$ დალტოსს შეიძლება აღწევდნენ. გაუსუფთავებელი ფერმენტი მატრიცას არ საჭიროებს, ხოლო გასუფთავებული მოქმედებას იწყებს გარკვეული ლაგ-ფაზის შემდეგ. ლაგ-ფაზა შეიძლება მოვაშოროთ მცირე რაოდენობის პოლინუკლეოტიდის ან ოლიგონუკლეოტიდის მიმატებით, რომლებიც ირთვებიან სინთეზირებულ ძაფში. საყურადღებოა, რომ გასუფთავებული ფერმენტი შეიცავს 3%-მდე ნუკლეოტიდებს რთული ოლიგონუკლეოტიდების სახით. როგორც სჩანს, ისინი ჩაკერებულია ფერმენტის მოლეკულაში და ემსახურება რეაქციის დაწყებას.

უშუალოდ უჯრედში პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზის ჭეშმარიტი ფუნქცია ჯერ კიდევ ცნობილი არ არის. როგორც ჩანს, იგი უნდა ემსახურებოდეს ნაირგვარი რნმ-ების დაშლას ნუკლეოზიდდიფოსფატებამდე, რომლებიც შემდგომ დ-ნუკლეოტიდების წინამორბედები ხდებიან. აღსანიშნავია, რომ ამ ფერმენტმა უდიდესი მნიშვნელობა იქონია გენეტიკური კოდის მოლეკულური მექანიზმების დადგენაში.

ნუკლეინის მჟავების დამშლელი ფერმენტები გაერთიანებულია საერთო სახელწოდებით— ნუკლეაზები. ისინი ხლეჩენ ფოსფოდიეთერულ კავშირებს ნუკლეოტიდებს შორის, რაც ორნაირად ხდება. ერთ შემთხვევაში მიღებული პროდუქტი ბოლოდება $5^{I}$ ფოსფორილირებული ჯგუფით, ხოლო მეორე შემთხვევაში ფოსფორილირებული ჯგუფი $3^{I}$-ბოლოზეა.

არჩევენ ნუკლეაზების ოთხ ძირითად ჯგუფს: რიბონუკლეაზებს (რნმ-აზებს), დეზოქსირიბონუკლეაზებს (დნმ-აზებს), ენდონუკლეაზებს და ეკზონუკლეაზებს.

რნმ-აზები შლიან რნმ-ებს. ცხრილში 5 ჩამოთვლილია სადღეისოდ ცნობილი უმთავრესი რნმ-აზები და მათი ზოგიერთი თვისება.

რნმ-აზების ფუნქცია უჯრედში სხვადასხვაა. რნმ-აზა I გვხვდება ყველანაირ უჯრედში და შლის ჭარბ რნმ-ებს მონონუკლეოტიდებამდე, რომლებიც შემდგომში კვლავ გამოიყენებიან რნმ-ს სინთეზისათვის. ვირთაგვის ღვიძლში აღმოჩენილია ამ ფერმენტის დამთრგუნავი ცილა. განსხვავებულად მოქმედებენ რნმ-აზა II, III, IV, P, და H. ისინი შლიან სამივე ცნობილი ტიპის რნმ-ებს

ცხრილი 5

რიბონუკლეაზები და მათი ზოგიერთი თვისება

| სახელწოდება | ტიპი | სუბსტრატი | კოფაქტორები | დაშლის პროდუქტები |
|---|---|---|---|---|
| რნმ-აზა I | ენდონუკლეაზა | ერთძაფიანი რნმ | — | $3^{I}$-მონონუკლეოტიდები |
| რნმ-აზა II | ენდონუკლეაზა | ერთძაფიანი რნმ | $K^{+}$, $Mg^{2+}$ | $5^{I}$-მონონუკლეოტიდები და ოლიგონუკლეოტიდები |
| რნმ-აზა III | ენდონუკლეაზა | ორძაფიანი რნმ | $K^{+}$, $Mg^{2+}$ | $3^{I}$-ფოსფორილირებული ოლიგონუკლეოტიდები (10-25 წყვილი ფუძე) |
| რნმ-აზა-IV | ენდონუკლეაზა | RI7 რნმ | — | ორი სპეციფიკური ფრაგმენტი |
| რნმ-აზა P | ენდონუკლეაზა (სპეციფიკური) | ტ-რნმ-ს წინამორბედი | $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$, $K^{+}$, $NH_4^{+}$ | ტ-რნმ და ფრაგმენტები |
| რნმ-აზა H | ენდონუკლეაზა | რნმ-ს ძაფი დნმ-რნმ-ს ჰიბრიდში | $K^{+}$, $Mg^{2+}$ | $5^{I}$-ფოსფორილირებული ოლიგონუკლეოტიდები |
| ოლიგო-რნმ-აზა | ეკზონუკლეაზა | მოკლე ოლიგონუკლეოტიდები | $Mn^{2+}$ | $5^{I}$-მონონუკლეოტიდები |
| პოლინუკლეოტიდ-ფოსფორილაზა | ეკზონუკლეაზა ($3^{I} \rightarrow 5^{I}$) | ერთძაფიანი რნმ | $Mg^{2+}$ | $5^{I}$ ნუკლეოზიდ-დიფოსფატები |

ფუნქციურად მომქმედ ფორმებამდე, რადგან, როგორც ცნობილია, ზოგიერთი სახის რნმ თავდაპირველად გაცილებით დიდი მოლეკულების სახით ტრანსკრიბირდება, ვიდრე მათი საბოლოო ფუნქციური ფორმებია. რნმ-აზა H შედის ონკოგენურ ვირუსებში და რევერტაზის აუცილებელი ნაწილია. რნმ-აზა H -ის ერთ-ერთი ფორმა შედის თიმუსში, ღვიძლში, წიწილის ემბრიონულ უჯრედებში, ნაწლავის ჩხირში. ზოგიერთი რნმ-აზა მკაცრად სპეციფიკურია და რნმ-ს შლის გარკვეული ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის ადგილას. სპეციფიკურობა შეიძლება შეიცვალოს სხვადასხვა კოფაქტორებით.

დნმ-აზები შლიან დნმ-ს.ზოგიერთი მათგანი ხღეჩს ნებისმიერ ფოსფოდიეთერულ კავშირს დნმ-ს ძაფში,ხოლო ზოგიერთი მხოლოდ ზუსტად განსაზღვრულ უბანზე მოქმედებს.პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება დნმ-აზა I და დნმ-აზა II. ცხრილში 6 მოყვანილია მათი ზოგიერთი თვისება.

ცხრილი 6

დეზოქსინუკლეაზები (დნმ-აზები) და მათი ზოგიერთი თვისება

| ფერმენტი | სუბსტრატი | pH-ოპტიმუმი | აქტივატორები | ინჰიბიტორები | პროდუქტი |
|---|---|---|---|---|---|
| დნმ-აზა I | ორძაფიანი | 7—8 | $Mg^{2+}$; $Mn^{2+}$; $Co^{2+}$ | ციტრატი, EDTA | 5'-ფოსფორილოლიგონუკლეოტიდები |
| დნმ-აზა II | „—„ | 4—5 | 0,3 M $Na^{+}$ | $Mg^{2+}$ | 3'-ფოსფორილოლიგონუკლეოტიდები |

დნმ-აზა I-ს ჩვეულებრივ კუჭქვეშა ჯირკვლიდან გამოყოფენ და ამიტომაც პანკრეასულ დნმ-აზას უწოდებენ.დნმ-აზა II შედის უმთავრესად ელენთაში და თიმუსში.დნმ-აზა I უფრო ეფექტურად შლის ნატიურ დნმ-ს,ვიდრე დენატურირებულს.დნმ-ში იგი წარმოქმნის მრავალ ერთძაფიან წყვეტილს და შლის უმთავრესად კავშირს პურინსა და პირიმიდინს შორის.მისი ბუნებრივი და სპეციფიკური ინჰიბიტორია კუნთის ცილა აქტინი.

დასახელებული ორი დნმ-აზის გარდა,რომლებიც ეუკარიოტულ უჯრედში გვხვდება,ნორმალური და ფაგით ინფიცირებული ბაქტერიებიდან გამოყოფილია რამდენიმე ენდონუკლეაზა:სტრეპტოკოკული დნმ-აზა,ნაწლავის ჩხირის დნმ-აზა I, ნაწლავის ჩხირის დნმ-აზა II,ატფ-საგან დამოკიდებული ენდონუკლეაზა,ფაგებით ინდუცირებული ენდონუკლეაზები და ა.შ.ცნობილია ისეთი ენდო- და ეკზონუკლეაზებიც,რომლებსაც არ გააჩნიათ სპეციფიკური მოქმედების უნარი და შლიან როგორც დნმ-ს,ისე რნმ-ს.ასეთია,მაგალითად,მიკროკოკული ნუკლეაზა,

რომელიც მიღებულია სტაფილოკოკებიდან.იგი კარგად შლის დნმ-ს და რნმ-ს, რისთვისაც აუცილებელი კოფაქტორია კალციუმის იონები,ამჯობინებს გათბობით დენატურირებულ დნმ-ს. მსგავსი ნუკლეაზა გამოყოფილია ასპერგილებიდან,იგი შლის მხოლოდ ერთძაფიან დნმ-სა და რნმ-ს,კოფაქტორად საჭიროებს თუთიას.ბერნაირი ნუკლეაზაა გამოყოფილი გველის შხამიდან.

მრავალი სახის ეკზონუკლეაზიდან ყველაზე ცნობილია და დიდმნიშვნელოვანი გველის შხამის ფოსფოდიესთერაზა.როგორც სახელწოდებიდან ჩანს,ეს ფერმენტი შედის გველის შხამში და გამოიყენება ლაბორატორიულ და საწარმოო პირობებში ნუკლეოზიდ-$5^{I}$-მონოფოსფატების მისაღებად.ფერმენტი დნმ-სა ან რნმ-ს მოლეკულას ხლეჩს მონონუკლეოტიდის $3^{I}$-ჰიდროქსილური ბოლოდან.ელენთის ფოსფოდიესთერაზა შლის რნმ-ს ნუკლეოზიდ-$3^{I}$-მონოფოსფატებამდე;შეუძლია რნმ-ს ან დნმ-ს მოლეკულის დაშლის დაწყება $5^{I}$-ჰიდროქსილური ბოლოდან.

ეკზონუკლეაზები გამოიყენება დნმ-სა და რნმ-ს ანალიზურ კვლევებში,რადგანგანაც მათით შესაძლებელია მოლეკულის ძაფის სასურველ ადგილებზე დახლეჩილი ფრაგმენტების მიღება საჰიბრიდიზაციოდ,ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობების დასადგენად,გენების გამოსაყოფად და ა.შ.

<u>რესტრიქციული ენდონუკლეაზები ანუ რესტრიქტაზები</u> ენდოდეზოქსირიბონუკლეაზებია,ე.ი.შლიან დნმ-ს მოლეკულებს და გამოირჩევიან სუბსტრატისადმი უალრესად დიდი სპეციფიკურობით.ჯერ კიდევ 50-იანი წლებში ს.ლურიამ და თანამშრომლებმა შეამჩნიეს,რომ ზოგიერთი ფაგი ერთნაირად კარგად არ იზრდება მოცემული ბაქტერიის სხვადასხვა შტამებზე.საფანადო გენეტიკური ანალიზით აღმოჩნდა,რომ ეს გარემოება გაპირობებულია მასპინძელი უჯრედის განსაკუთრებული თვისებებით.დადგინდა,მაგალითად,რომ ნაწლავის ჩხირის შტამები B და K შეიცავენ რესტრიქციულ ფერმენტებს,რომლებიც შლიან შეჭრილი და უცხო დნმ-ს მოლეკულებს და სკუთარ დნმ-ზე არ მოქმედებენ.მიზეზი აღმოჩნდა ის გარემოება,რომ ამ უკანასკნელთა ცალკეული ფუძეები მეთილირებულია და ამით დაცულია ენდონუკლეაზების მოქმედებისაგან.პირველი რესტრიქციული ფერმენტი

გამოყოფილი იქნა 1968 წელს. საფუძველად სხვადასხვა ბაქტერიებიდან მიღებული და დახასიათებულია რამდენიმე ასეული სახის რესტრიქტაზა. მათი სახელწოდება შედგენილია იმ ბაქტერიებისა და შტამების შემოკლებული სახელწოდებებიდან, საიდანაც ესა თუ ის რესტრიქტაზა არის მიღებული. მე-7 ცხრილში ჩამოთვლილია ზოგიერთი რესტრიქტაზა და დნმ-ს ის უბნები, ოომლებსაც ისინი სპეციფიკურად ხლეჩენ.

ცხრილი 7

ზოგიერთი რესტრიქტაზა, მათი მიღების წყარო და სპეციფიკურობა

| აღნიშვნა | საიდან მიიღება | სპეციფიკურობა |
|---|---|---|
| Ecor I | E. coli | გ↓აათთც |
| Ecor I | | ↓ცც($\frac{ა}{თ}$)ბბ |
| Hae I | Haemophilus aegypticus | ($\frac{ა}{თ}$)ბბ↓ცც$\frac{თ}{ა}$ |
| Hae II | | $p_u$ბცბბ↓$p_y$ |
| Hae III | | ბბ↓ცც |
| Hha I | Haemophilus Hoemolyticus | ბცც↓ც |
| Hind III | Haemophilus influenzae | ა↓აბცთთ |
| Hpa I | Haemophilus parainfluenzae | ბთთ↓ააც |
| Hpa I | | ც↓ცბბ |
| Mbo I | Moraxella bovis | ↓ბათც |
| Mno I | Moraxella nonliquefaciens | ც↓ججبب |
| Sma I | Serratia marascens | ججج↓ببب |
| BSVR I | Bacillus subtilis | ببب↓ججب |

რესტრიქტაზების აღმოჩენისთანავე გაჩნდა მათი მრავალმხრივი გამოყე-

ბის შესაძლებლობა. უკვე 1971 წელს Haemophilus influenceae -დან გამოყოფილი ფერმენტით პირველად იქნა სპეციფიკურად ფრაგმენტირებული ონკოგენური ვირუსის SV40-ის გენომი. მაღე ცნობილი გახდა სხვადასხვა სუბსტრატული სპეციფიკურობის მქონე რესტრიქტაზები და უკვე 1974 წელს პირველად შეადგინეს ვირუსი SV40-ის რესტრიქციული რუკა. საამისოდ გამოყენებული იყო ექვსნაირი რესტრიქტაზა, რომლებიც გენომს სხვადასხვა ადგილას ხლეჩენ. გადახურვადი უბნებიდან ფრაგმენტების შედარებით განსაზღვრული იქნა გენომში ფუძეების ერთადერთი ჭეშმარიტი თანამიმდევნობა.

რესტრიქტაზებმა, დნმ-ს დიდი მოლეკულების პატარა სპეციფიკურ ფრაგმენტებად დახლეჩვის უნარის გამო, გადამწყვეტი მნიშვნელობა იქონიეს როგორც პრო-, ისე ეუკარიოტული ორგანიზმების გენომების ნატიფ სტრუქტურების დადგენაში. განსაკუთრებით აღსანიშნავია მათი როლი გენეტიკური ინჟინერიის განვითარებაში (იხ. თავი XIII).

რესტრიქტაზებით დახლეჩილი დნმ-ს ფრაგმენტების გაცალკევება ხდება გელელექტროფორეზით. გელებს ღებავენ ბრომიანი ეთიდიუმით, რის შემდეგაც ულტრაიისფერ სინათლეზე ნათლად ჩანს ცალკეული ზოლები, რომლებიც მოცემული რესტრიქტაზით დნმ-ს სპეციფიკურად დახლეჩილ ფრაგმენტებს წარმოადგენენ.

იმ გარემოების ასახსნელად, რომ რესტრიქტაზები არ შლიან საკუთარ დნმ-ს, არსებობს სამი შესაძლო პასუხი: 1. ამავე უჯრედის დნმ-ში არაა მისივე შესატყვისი სპეციფიკური თანამიმდევნობანი; 2. ასეთი თანამიმდევნობანი არის, მაგრამ დაცულია— შეიცავენ მეთილირებულ ან გლიკოზილირებულ ფუძეებს; 3. უჯრედში არის რესტრიქტაზების დამთრგუნველი ანტაგონისტები. როგორც ირკვევა, ძირითადად მოქმედებს მეორე მექანიზმი. მესამე მექანიზმი ნახულია ბაქტერიებში მათი ინფიცირებისას ფაგი T7-ით.

ჯერჯერობით რესტრიქტაზები გამოყოფილია პროკარიოტებიდან, მაგრამ, როგორც ჩანს, ისინი ეუკარიოტულ ორგანიზმებშიც უნდა არსებობდნენ.

## თ ა ვ ი V

## მ ე მ კ ვ ი დ რ უ ლ ი ს უ ბ ს ტ რ ა ტ ი ს რ ე პ ლ ი კ ა-
## ც ი ა დ ა ტ რ ა ნ ს კ რ ი პ ც ი ა

**დ ნ მ-ს რეპლიკაცია.** უჯრედის დაყოფას და შვილეული უჯრედების წარმოქმნას წინ უძღვის მისი მემკვიდრული სუბსტრატის გაორმაგება,რაც აუცილებელია შვილეული უჯრედებისათვის. ჯერ კიდევ ჯ.უოტსონმა და ფ.კრიკმა აღნიშნეს,რომ დნმ-ს მოლეკულას აქვს თვითგაორმაგების უნარი. ცხადია,რომ ამ დროს უნდა წარმოიქმნებოდეს დნმ-ს საწყისი მოლეკულის ზუსტი ასლი. თეორიულად ეს კარგად გამოისახება დნმ-ს ცნობილი სტრუქტურული მოდელიდან: თუ ორმაგი ძაფი გაცალკევდება და თვითეულ ძაფზე მიშენდება გაცილებულის ვსგავსი ასლი-ძაფი,მაშინ წარმოიქმნება საწყისი მოლეკულის ორი ზუსტი ასლი. ეს უნდა ხდებოდეს აზოტოვან ფუძეთა კომპლემენტარობის საფუძველზე,ე.ი. გაცილებული საწყისი ძაფის ადენინის პირდაპირ ახალ ძაფში ჩადგება თიმინი,ხოლო გუანინის პირდაპირ ციტოზინი. ასეთი მოსაზრება შემდგომში მრავალგვარი ექსპერიმენტით დადასტურდა.

პირველად დნმ-ს ხელოვნური სინთეზი შემადგენელი ნუკლეოტიდებიდან განასორციელა ა.კორნბერგმა 1956 წელს მის მიერვე აღმოჩენილი ფერმენტით – დნმ-პოლიმერაზით (იხ.თავი IV). ამ რეაქციისათვის აუცილებელი პირობაა სისტემაში დნმ-ს საწყისი ძაფის,როგორც მატრიცისა, და ოთხივე სახის ნუკლეოტიდის (დ-ნტფ-ების სახით) არსებობა. სინთეზირებული პროდუქტი ზუსტად დნმ-ს საწყისი ძაფის თვისებებისაა. საინტერესოა,რომ შემდგომში იგივე მკვლევარმა შეძლო ერთ-ერთი ვირუსის დნმ-ს სინთეზი,რომელსაც ამ ვირუსის ციტასთან მიერთებისას ვირუსისათვის დამახასიათებელი ინფიცირების უნარი შეენარჩუნა. ამ ცდებით საფუძველი ჩაეყარა რეპლიკაციის მექანიზმების ექსპერიმენტულ შესწავლას.

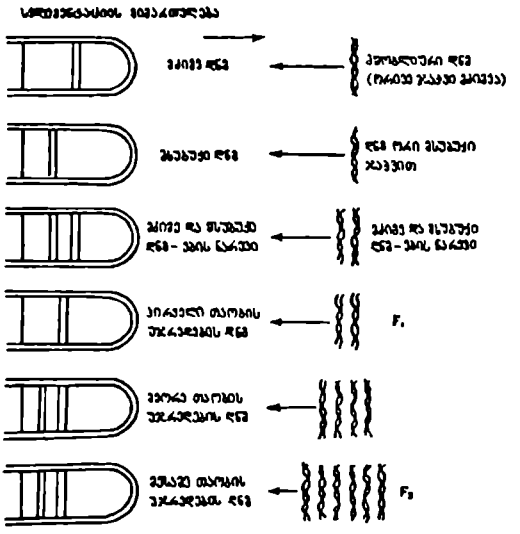
1958 წელს მ.მეიზელსონმა და ფ.სტალმა ნატიფი ცდებით დაამტკიცეს,რომ დნმ-ს რეპლიკაცია ხდება ნახევრად-კონსერვატულად,რაც იმას ნიშნავს,რომ ახლადწარმოქმნილ მოლეკულაში ერთი ძაფი ძველია და ერთი ახალი. მათი ცდე-

ბი შემდეგი შინაარსისა იყო.

დნმ-ები ცეზიუმის ქლორიდის გარკვეული კონცენტრაციის ხსნარში (ჩვეულებრივ 7,7M ) ანალიზურ ულტრაცენტრიფუგაში ხანგრძლივი ცენტრიფუგირებისას სინჯარის გარკვეულ ზონაში შეტივტივტებიან,რაც საათანადო ულტრაიისფერი ოპტიკის გამოყენებისას ზოლის სახით მოჩანს.მეიზელსონმა და სტალმა ამ გზით შეისწავლეს ნაწლავის ჩხირის დნმ-ს პრეპარატები,რომლებიც გამოყვეს სხვადასხვა პირობებში გამოზრდილი ბაქტერიებიდან.ჩვეულებრივი აზოტის ($N^{14}$) შემცველ არეზე გამოზრდილი ბაქტერიებიდან გამოყოფილი პრეპარატები იკავებდნენ ზოლს,რომელიც შეესატყვისებოდა ცეზიუმის ქლორიდის კონცენტრაციას 1,709 გრ/მლ,ხოლო სატივტივე სიმკვრივე იმ დნმ-სა,რომელიც მიიღებოდა მძიმე აზოტისგ—$N^{15}$-ის შემცველ არეზე გამოზრდილი ბაქტერიებიდან,აღმოჩნდა 1,725 გრ/მლ,ე.ი. ამ უკანასკნელის ზოლმა მეტი სიმძიმის გამო (~ 1%) ცენტრიფუგის სინჯარის ფსკერისაკენ გადაინაცვლა.$N^{15}$-იანი და $N^{14}$-იანი დნმ-ების ხელოვნური შენარევების იმავე პირობებში ცენტრიფუგირება ორ მათთვის შესატყვის ზოლს იძლეოდა (სურ.13).როდესაც დნმ გამოყვეს $N^{15}$-ის შემცველ არეზე გამოზრდილი ბაქტერიებიდან,რომლებიც შემდგომ ერთი გენერაციის განმავლობაში ჩვეულებრივი ($N^{14}$) აზოტის შემცველ არეზე იყვნენ,ასეთი დნმ იკავებდა ზოლს 1,709-ისა და 1,725 გრ/მლ-ის სიმკვრივეებს შორის.უალრესად საყურადღებოა,რომ $N^{15}$-ის შემდეგ $N^{14}$-იან არეში ბაქტერიების დაყოვნებისას ორი ან მეტი გენერაციის განმავლობაში, მათი დნმ-ების ზოლები თანდათან სინჯარის ზედაპირისაკენ მიიწევდა.ცხადია,რომ ეს ხდებოდა ყოველი მომდევნო გენერაციისას $N^{15}$-იანი დნმ-ების ხვედრითი წილის შემცირების გამო (სურ.13).

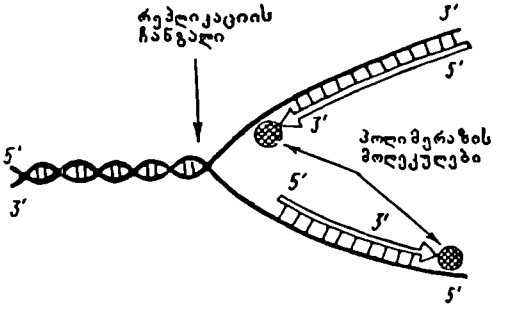
შემდგომში დნმ-ს რეპლიკაციის ნახევრად-კონსერვატულობა ნაჩვენები იქნა არამარტო ბაქტერიებზე,არამედ მრავალუჯრედიან ორგანიზმთა ქრომოსომებზე რადიოაქტიურაფიული მეთოდის გამოყენებით.

დნმ-ს რეპლიკაციის აღწერილი მექანიზმიდან გამომდინარე,დასაწყისში ხდება ორი კომპლემენტური ძაფის გაცალკევება,რათა თითეულ მათგანზე მი-



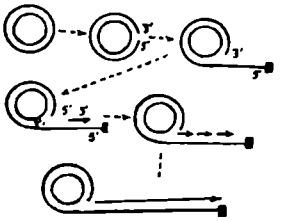

სურ.13.მ.მეიზელსონისა და ფ.სტალის ექსპერიმენტის სქემა (განმარტებანი—ტექსტში).

შენდეს ახალი კომპლემენტური ძაჯ.გაცალკევება ხდება თანდათან,მიყოლებით.წარმოიქმნება თავისებური „ჩანგალი" („ორკაპი"),რომლის გაცალკევებულ ძაჯებზე მატრიცულად სინთეზირდება ახალი კომპლემენტური ძაჯები ერთმანეთის საპირისპირო მიმართულებით (სურ.14).




სურ.14. დნმ-ს რეპლიკაციის „ჩანგლის"(„ორკაპის")სქემა.

თავისებურად მიმდინარეობს დნმ-ს წრიული მოლეკულების რეპლიკაცია, რომ-ლებიც გააჩნიათ ბაქტერიებს, ზოგიერთ ცირუსს, მიტოქონდრიებსა და პლასტიდებს. ასეთი მოლეკულების რეპლიკაცია ხდება ე.წ. „მგორავი რგოლის" სახით (სურ.15).




სურ.15. წრიული დნმ-ს რეპლიკაცია „მგორავი რგოლის" სახით.

დასაწყისში დედისეული მოლეკულის ერთ-ერთი ძაფი („პლუს-ძაფი") ერთ ადგილას წყდება. გაწყვეტილი ძაფის ერთი ბოლო ემაგრება უჯრედის მემბრანას, ხოლო მეორე ბოლოდან წყვეტილად სინთეზირდება ახალი ძაფი. ამასთან, მატრიცად გამოიყენება მეორე გაუწყვეტელი ძაფი („მინუს-ძაფი"). ბორბალი ტრიალებს ახალი ძაფის წარმოქმნის საწინააღმდეგო მიმართულებით. ასეთი ტრიალისას წრიულ „მინუს-ძაფს" სცილდება წარმოქმნილი ახალი ძაფი, როგორც ეს ხდება ქაღალდის ხვეულის გაშლისას. საბოლოოდ, წრიული მოლეკულა სათანადოდ იკვრება.

როგორც აღვნიშნეთ, ა. კორნბერგის მიერ აღმოჩენილ დნმ-პოლიმერაზას ამჟამად დნმ-პოლიმერაზა I-ს უწოდებენ. შემდგომში გაირკვა, რომ ფერმენტის ეს ფორმა კატალიზირებს დ-რიბონკულეოტიდების თანამომდევნობით მიერთებას დნმ-ს ძაფთან და რომ არსებობს დნმ-პოლიმერაზის სხვა ფორმები, კერძოდ ფორმა II და ფორმა III, რომლებიც დნმ-ს ახალი მოლეკულის წარმოქმნაში გასხვავებულ ფუნქციას ასრულებენ. ფერმენტი მატრიცად იყენებს როგორც ერთ-ძაფიან, ისე ორძაფიან დნმ-ს, ამასთან, ორძაფიანი დნმ გამოიყენება უკეთესად, თუკი მისი შაქარ-ფოსფოროვანი ღერძი გაწყვეტილია ერთ ან რამდენიმე ადგილას. უაღრესად საყურადღებო მომენტია ის გარემოება, რომ დნმ-ს ახალი ძაფის მატება-ელონგაცია ხდება $5^{I} \rightarrow 3^{I}$ მიმართულებით. არსებობს დამადასტურებელი ფაქტები იმისა, რომ დნმ-პოლიმერაზა I-ის ფუნქციონირება წარიმართება მატრიცით. მას კიდევ ერთი საყურადღებო თვისება გააჩნია: გარკვეულ პირობებში შეუძლია დნმ-ს ძაფის გახლეჩვაც, რასაც ახორციელებს მოლე-

კუნის $3^{I}$-ჰიდროქსილური ბოლოდან. მოხდეჩილი ნაწილი მონონუკლეოტიდია. ამ-
რიგად, დნმ-პოლიმერაზა I ერთდროულად $3^{I}$-$5^{I}$-ეკზონუკლეაზაცაა. როგორც
ირკვევა, ამ უნარით იგი დნმ-ს პოლიმერიზაციის პროცესში ერთგვარი რედაქ-
ტორიცაა, რაც იმაში გამოიხატება, რომ ამ დროს იგი ახორციელებს არაკომპ-
ლემენტური მინაერთების მოცილებას, ვიდრე პოლიმერიზაცია გაგრძელდება.

დნმ-პოლიმერაზა I კატალიზირებს მხოლოდ დ-ნუკლეოტიდების მიერთებას
და არ შესწევს დნმ-ს ძაფების მიერთების ან ძაფის რგოლად შეკვრის უნა-
რი. რგოლური დნმ-ს აღმოჩენამ საკვარაუდო გახადა, რომ უნდა არსებობდეს
ასეთი ფერმენტიც. მართლაც, 1967 წელს რამდენიმე ლაბორატორიაში ერთდრო-
ულად აღმოაჩინეს დღეს კარგად ცნობილი დნმ-ლიგაზა, რომელსაც შეუძლია
ფოსფოდიეთერული კავშირების წარმოქმნა დნმ-ს ორ ძაფს შორის, ე.ი. მათი
გადაბმვა. ფერმენტი აქტიურია დნმ-ს (ან მისი ფრაგმენტის) ერთი ძაფის
$3^{I}$-ბოლოზე OH-ის ჯგუფისა და $5^{I}$-ბოლოზე ფოსფატის ჯგუფის თანაობისას. ნა-
ჩვენებია, რომ ნაწლავის ჩხირში ამ რეაქციისათვის ენერგიად გამოიყენება
ნიკოტინამიდდინუკლეოტიდი (ნად-ი), ხოლო ცხოველებში და ფაგით დასნებოვ-
ნებულ უჯრედში—ატფ. დნმ-ლიგაზას არ შეუძლია მიაერთოს ერთძაფიანი დნმ-ს
ორი მოლეკულა, იგი აერთებს მხოლოდ ორძაფიანი დნმ-ს ნაწილებს, ამასთანავე
აცსებს ერთძაფიან წყვეტილებს ორსპირალიანი დნმ-ს მოლეკულაში, ე.ი. მო-
ნაწილეობს დაზიანებული უბნების რეპარაციის პროცესში და, როგორც ირკვე-
ვა, გენეტიკურ რეკომბინაციებშიც (იხ. თავი XII). ზემოთ ჩამოთვლილი თვისე-
ბების გამო დნმ-ლიგაზები აუცილებელი კომპონენტია გენეტიკურ ინჟინერი-
აში, როდესაც საჭირო ხდება დნმ-ს სხვადასხვა ფრაგმენტების მიერთება
სასურველი შეპირისპირებით და რეკომბინანტული დნმ-ების მიღება (იხ.
თავი XIII, გენეტიკური ინჟინერია).

დნმ-ს ბიოსინთეზში, დნმ-პოლიმერაზებისა და ლიგაზების გარდა, მონაწი-
ლეობენ სხვა ფერმენტებიც, რომელთა შორის აღსანიშნავია ორმაგი ძაფის გა-
მაცალკევებელი ფერმენტები—ჰელიკაზები. მათ ციდა rep-საც უწოდებენ.

დნმ-ს ორმაგი ძაფის გაცალკევება რეპლიკაციის საწყისი პროცესია,რაც რეპლიკაციის ჩანგალთან ხდება.ამ პროცესისათვის ენერგიად გამოიყენება ატფ. ყოველი წყვილი ნუკლეოტიდის გაცალკევებას ატფ-ს ორი მოლეკულა სჭირდება. საერთოდ,დნმ-ს რეპლიკაციაში არანაკლებ 15-ნაირი ციდა მონაწილეობს.

ნაწლაკის ჩხირის მაგალითზე დნმ-ს რეპლიკაცია იწყება მოლეკულის ზუსტად განსაზღვრულ ერთ ადგილზე და თანამომდევნობით გრძელდება ორივე მიმართულებით რეპლიკაციის ჩანგლის მიდამოში.ახალი დნმ-ს სინთეზი ორივე ძაფზე ხდება.თუ გავითვალისწინებთ,რომ ჯედისეული (საწყისი) დნმ-ს ორი ძაფი ერთმანეთის ანტიპარალელურია,ახალი მოლეკულის სინთეზის მიმართულება ერთი ძაფისათვის უნდა იყოს $5^{I} \rightarrow 3^{I}$,ხოლო მეორისათვის $3^{I} \rightarrow 5^{I}$.მაგრამ დადგენილია,რომ ყველა დღემდე ცნობილი დნმ-პოლიმერაზა დნმ-ს სინთეზირებს მხოლოდ $5^{I} \rightarrow 3^{I}$ მიმართულებით.მაგრამ როგორღა ხდება მეორე ძაფის მატება $3^{I} \rightarrow 5^{I}$ მიმართულებით? ამ კითხვაზე პასუხი გასცა იაპონელი მკვლევრის რეიძი ოკაზაკის აღმოჩენამ,რაც იმაში მდგომარეობს,რომ ახლადსინთეზირებული დნმ-ს მნიშვნელოვანი ნაწილი თავდაპირველად არსებობს მოკლე ფრაგმენტების სახით.მათ ახლა ოკაზაკის ფრაგმენტებს უწოდებენ. თითოეული მათგანი შეიცავს დაახლოებით 1000 ნუკლეოტიდს.მათი არსებობა ხანმოკლეა და ახლოს არიან რეპლიკაციის ჩანგალთან.რეპლიკაციის მსვლელობასთან ერთად ფრაგმენტები კოვალენტურად უერთდებიან ერთმანეთს დნმ-პოლიმერაზით და წარმოქმნიან დნმ-ს მოლეკულის ერთ-ერთ შვიდეულ ძაფს.მეორე ახალი ძაფი სინთეზირდება განუწყვეტლივ.ოკაზაკის ფრაგმენტებიდან წარმოქმნილ ძაფს ჩამორჩენილ ძაფს უწოდებენ,ხოლო იმ ძაფს,რომელიც წყვეტილების გარეშე წარმოიქმნება,წამყვანი ძაფი დაარქვეს.ოკაზაკის ფრაგმენტები და წამყვანი ძაფი სინთეზირდებიან $5^{I} \rightarrow 3^{I}$ მიმართულებით.ჩამორჩენილი ძაფის წყვეტილი შეკრება საშუალებას იძლევა $5^{I} \rightarrow 3^{I}$ პოლიმერიზაციის გზით წარმართოს ატომურ დონეზე ძაფის საერთო ზრდა $3^{I} \rightarrow 5^{I}$ მიმართულებით.

ყველა სახის დნმ-პოლიმერაზა სინთეზის ინიცირებისათვის საჭიროებს დამწყებ ფაქტორს —დედოს,რომელსაც აქვს თავისუფალი OH —ჯგუფი.როგორც

ირკვევა, დნმ-ს საწყისი ძაფისა და ოკაზაკის ფრაგმენტების სინთეზისას ამ ფუნქციას ასრულებს სპეციალური რნმ, რომელიც სინთეზირდება განსაკუთრებული რნმ-პოლიმერაზით— პრაიმაზით. აღნიშნული რნმ შეიცავს სულ 10 ნუკლეოტიდს და დნმ-ს ერთ-ერთი ძაფის კომპლემენტურია.

<u>დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრა</u> (სეკვინირება). გამომდინარე იქიდან, რომ ორგანიზმისათვის დამახასიათებელ მემკვიდრულ ნიშანთვისებათა განმსაზღვრელი ინფორმაცია დნმ-ში (ზოგჯერ რნმ-ში) ჩაწერილია ნუკლეოტიდების (აზოტოვანი ფუძეების) თანამიმდევნობის სახით, მოლეკულაში ამ თანამიმდევნობის ცოდნას უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს. დნმ-ს მოლეკულა სულ ოთხნაირი მონომერისაგან არის აგებული, რომელთა საშუალო მოლეკულური მასა რამდენიმე ასეული დალტონია, მაშინ, როდესაც თვით დნმ-ს მოლეკულური მასა, მაგალითად ძუძუმწოვრებში, $10^{11}$ დალტონს აღწევს, ე.ი. მოლეკულა შეიცავს მრავალ მილიონ ნუკლეოტიდს. ბუნებრივია, რომ ასეთ ვითარებაში მოლეკულის პირველადი სტრუქტურის განსაზღვრა დიდ სიძნელეს წარმოადგენს და სულ ცოტა ხნის წინათ ამაზე ოცნებაც კი არ შეიძლებოდა. მის განხორციელებისათვის გადამწყვეტი აღმოჩნდა განსაკუთრებული ფერმენტების—რესტრიქციული ენდონუკლეაზების აღმოჩენა, რომლებიც წინა თავში მოვიხსენიეთ. ეს ფერმენტები ცნობენ ზუსტად მათთვის შესატყვის ადგილებს დნმ-ს მოლეკულის ნუკლეოტიდურ თანამიმდევნობებში და ამის მიხედვით ორივე ძაფს წყვეტენ ცალკეულ მონაკვეთებად (ოლიგონუკლეოტიდებად), რომელიც შემდგომ შეგვიძლია გავაცალკევოთ გელ-ელექტროფორეზით. საფლეისოდ გელ-ელექტროფორეზის მეთოდი იმდენადაა დასრულყოფილებული, რომ შეგვიძლია ზუსტად დავაცალკევოთ დნმ-ს დენატურირებული ფრაგმენტები, რომელებიც სიგრძეში სულ ერთი ნუკლეოტიდით განსხვავდებიან, მაგალითად, შეიცავენ 98, 99 და 100 ნუკლეოტიდს. ცხადია, რომ ეს ძალიან კარგი ხერხი აღმოჩნდა როგორც მოლიანი ქრომოსომის აღნაგობის, ისე ცალკეული გენების გამოყოფისა და მათი ნატივი სტრუქტურის კვლევისათვის.

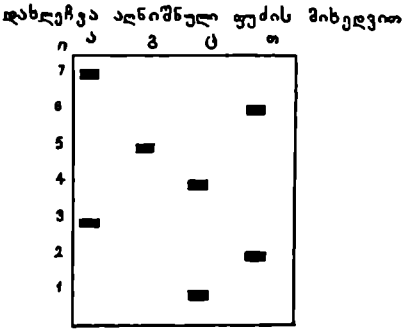
დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრის—სეკვენირებისათვის მოწოდებულია რამდენიმე მეთოდი, რომელთაგან საფეხურად ყველაზე გავრცელებულ და ეფექტურია ა.მაქსამისა და უ.ჯილბერტის მიერ შემოთავაზებული ხერხი, რომელიც შედარებით ხელმისაწვდომიცაა. ამ მეთოდის მიხედვით დნმ-ს რესტრიქციული ფრაგმენტის ერთ 5'- პიდროქსილურ ბოლს მონიშნავენ რადიოაქტიური ფოსფორით ($^{32}P$), რაც ხორციელდება ატფ-სა და ფერმენტ პოლინუკლეოტიდკინაზის გამოყენებით. მონიშნულ დნმ-ს შერჩევით ხლეჩენ ოთხიდან ერთ-ერთი ნუკლეოტიდის მიხედვით. რეაქციის პირობებს შეარჩევენ ისეთნაირად, რომ ყოველ ძაფზე მოდიოდეს ერთი გაწყვეტა. ასეთი ნაწილობრივი დაწყვეტა ყოველი ფუძის მიხედვით იძლევა რადიოაქტიულ ფრაგმენტებს, რომლებიც იწყებიან $^{32}P$ – ნიშნით და მთავრდებიან ამ ფუძის ერთ-ერთი მდებარეობით. მაგალითად, თუ საკვლევ დნმ-ში ფუძეთა თანამიმდევნობაა

5' – $^{32}P$ – გ ც თ ა ც გ თ ა – 3'

სპეციფიკური დახლეჩვის შედეგად ყოველი ოთხი ფუძის მხრივ მივიღებთ შემდეგ რადიოაქტიურ ფრაგმენტებს:

| | | |
|---|---|---|
| დახლეჩვა ადენინის მიხედვით: — | $^{32}P$ | –გცთ |
| | $^{32}P$ | –გცთაცგთ |
| დახლეჩვა გუანინის მიხედვით: — | $^{32}P$ | – გცთაგ |
| დახლეჩვა ციტოზინის მიხედვით: — | $^{32}P$ | – გ |
| | $^{32}P$ | – გცთა |
| დახლეჩვა თიმინის მიხედვით — | $^{32}P$ | – გც |
| | $^{32}P$ | – გცთაცგ |

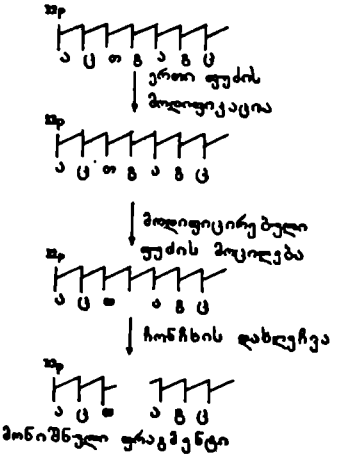
მიღებულ ფრაგმენტებს აცალკევებდნენ ელექტროფორეზით პოლიაკრილამიდის გელში, რომლის დროსაც ფრაგმენტები იყოფიან მათი სიდიდის მიხედვით, თუნდაც ისინი ერთი ფუძით განსხვავდებოდნენ. შემდგომი ეტაპია მიღებული გელის რადიოავტოგრაფია იმ სქემის მიხედვით, როგორც ეს გამოსახულია სურ. 16 -ზე. სქემაზე სულ ქვედა ზოლი განლაგებულია იმ პოლიაკრილამიდის




სურ. I6 . სქემატური გამოსახულება გელისა, რომელზეც ნაჩვენებია 5' -$^{32}$P - გცთაცგთა - 3' თანამიმდევნობის სპეციფიკური დახლეჩვისას წარმოქმნილი რადიოაქტიური ფრაგმენტები ყველა ოთხივე ფუძის (ბილიკები — ა,გ,ც და თ ) მიხედვით. მარცხნივ მინიშნებულია ნუკლეოტიდების რიცხვი '( n ) ყოველ ფრაგმენტში. ფუძეთა თანამიმდევნობა წაიკითხება ზემოდან ქვემოთ უშუალოდ გელიდან.

შეესატყვისება გახლეჩას ც-ის მიხედვით, მომდევნო ზოლი თ-ს ბილიკზეა, ხოლო მისი მომდევნო — ა-ს ბილიკზე . ამრიგად, პირველი სამი ფუძის თანამიმდევნობაა 5'- ცთა-3' თუ წავიკითხავთ ყველა შვიდივე ზოლს ზემოდან ქვემოთ, მივიღებთ თანამიმდევნობას 5' -ცთაცგთა - 3' ამრიგად,გელის რადიოავტოგრაფი, რომელიც მიიღება დნმ-ს ქიმიური დახლეჩის ოთხი სხვადასხვა რეაქციის შემდეგ, გვაძლევს ზოლებს, რომელთა მიხედვითაც შეგვიძლია უშუალოდ წავიკითხოთ ფუძეთა საჭირო თანამიმდევნობა.

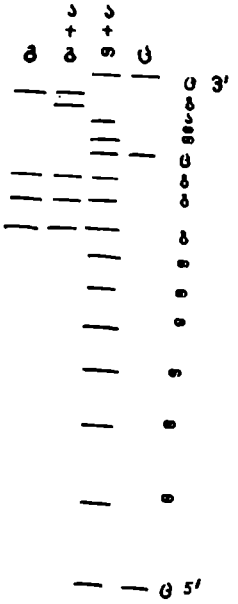
დნმ-ს სპეციფიკურ დახლეჩვასახერხებენ ისეთი ნაერთების გამოყენებით, რომლებითაც შეიძლება ფუძეთა მეთილირება და შემდგომში მათი მოხლეჩვა შაქროვან კომპონენტთან ერთად ( სურ.I7 ). ამისათვის პურინებს მეთილირებენ დიმეთილსულფატით (გუანინს — N 7-თან, ადენინს— N 3-თან). მეთ-




სურ. 17 . ფუძის მეთილირებისა და მოხლეჩვის სქემა დნმ-ში ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრისას.

ლირებული პურინის გლიკოზიდური კავშირის გაწყვეტა ადვილად ხერხდება გაცხელებით ნეიტრალური pH -ის პირობებში. შედეგად ფუძე სცილდება შაქრის შესაბამის ნარჩენებს. შემდეგ ნარევს აცხელებენ ტუტეში, რაც შლის დნმ-ს შაქარ-ფოსფატიან ჩონჩხს და გამოაცალკევებს შაქარს. წარმოიქმნება ფრაგმენტი, რომლის ბოლო რადიოაქტიურია. ამ ფრაგმენტებს აცალკევებენ პოლიაკრილამიდის გელში და ღებულობენ სხვადასხვა ინტენსივობის ზოლების სურათს. მუქი ზოლები შეესატყვისებიან გუანინის მიხედვით დაშლილ ფრაგმენტებს, რადგან გუანინი მეთილირდება გაცილებით სწრაფად, ვიდრე ადენინი, ამასთანავე, მეთილირებულ ადენოზინში გლუკოზიდური კავშირი ნაკლებად სტაბილურია, ვიდრე მეთილირებულ გუანოზინში. ამიტომ მეთილირების შემდეგ განზავებული მჟავათი დამუშავებისას ხდება ადენინის უპირატესი ჩამოცილება(მიიღება ბილიკი A+G).

ბილიკის შედარება გ-ს პარალელურ ბილიკთან იმავე გელზე გვიჩვენებს — ხდება თუ არა გახლეჩვა ა-ს ან გ-ს მიხედვით ( სურ.18 ). ციტოზინის მი-




სურ.18 გელის რადიოავტოგრაფი, რომელზეც ზოლების სახით მოჩანს დნმ-ს ქიმიური დახლეჩვისას წარმოქმნილი $^{32}P$ -ით მონიშნული ფრაგმენტები (მონიშნული იყო დნმ-ს 5'- ბოლო). ყველაზე მოკლე ფრაგმენტი გელის ფუძესთანაა. გელზე ნუკლეოტიდების თანამიმდევნობა შემდეგნაირად წაიკითხება:
5 - ცთთთთგგგცთთაგც-3

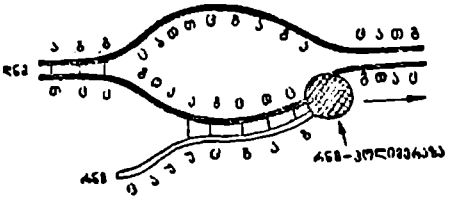
ხედვით გახლეჩვას ახდენენ ჰიდრაზინით. ჩონჩხს ხლეჩენ პიპერიდინით, რომელიც ჰიდრაზინიდან გამოდევნის რეაქციის პროდუქტებს და კატალიზირებს ფოსფატების ელიმინაციას. ციტოზინებისა და თიმინების მიხედვით დახლეჩვის შედეგად ღებულობენ დაახლოებით თანაბარი ინტენსივობის ზოლების სერიას ( ბილიკი ც+თ). ამ პირიმიდინებს გაარჩევენ ჰიდროლიზით 2 M NaCl -ის თანაობისას, რომელიც თრგუნავს რეაქციას თიმინთან (ბილიკი-ც). ახლა უკვე ფუძეთა თანამიმდევნობა შეგვიძლია წავიკითხოთ გელის რადიოავტოგრაფის მიხედვით გ, ა+გ, ც+თ და ც-ბილიკების შეპირისპირებით ( სურ. 18 ). ყველაზე მოკლე ფრაგმენტი ელექტრო-

ფორმირებას სხვებზე სწრაფად გადაადგილდება ისე, რომ 3′- ბოლოს შეესატყვისება გენის ძირი. თუ ყველა მონიშნული ფრაგმენტის გაცალკევებისათვის გამოვიყენებთ რამდენიმე სხვადასხვა გენს, ადვილად შეიძლება გაეშიფროთ 150 წყვილი ფუძის შემცველი ფრაგმენტი.

დნმ-ს ნუკლეოტიდურ თანამიმდევნობას საზღვრავენ ფ.სენგერის მიერ მოწოდებული მეთოდითაც. ამ მეთოდის მისედვით, რომელიც ზოგჯერ პოლიმერაზული კოპირების მეთოდსაც უწოდებენ, ერთძაფიანი დნმ-ს სეკვენირებისათვის გამოიყენება დნმ-პოლიმერაზა I. ამ ფერმენტით თავდაპირველად სინთეზირებენ ფრაგმენტს, რომლის მატრიცად შეგვიძლია გამოვიყენოთ დნმ-ს სათანადო რესტრიქციის პროდუქტების კრებულიდან გამოცალკევებული კომპლემენტური მონაკვეთი. სინთეზის სარეაქციო არეში ოთხი რადიოაქტიური დ-ნტფ-ს გარდა შეაქვთ ერთ-ერთი მათგანის 2,3-დიდეზოქსიანალოგი. ამ ანალოგის ჩართვა სინთეზირებად ძაფში ბლოკირებს ძაფის შემდგომ ზრდას, რადგან იგი არ შეიცავს 3′- ჰიდროქსილურ ბოლოს, რომელიც შემდგომში აუცილებელია ფოსფოდიეთერული კავშირის წარმოქმნისათვის. ასე მიიღება ფრაგმენტები, რომელთა 3′- ბოლოები დიდეზოქსიანალოგით მთავრდებიან. შემდგომში ფრაგმენტების ოთხ კრებულს, რომლებიც წარმოიქმნენ ძაფების ტერმინირებით, აცალკევებენ გელელექტროფორეზით და გელის რადიოავტოკრაფიის მიხედვით წაიკითხავენ სინთეზირებული დნმ-ს ფუძეთა თანამიმდევნობას. საინტერესოა, რომ თვითონ ფ. სენგერმა ამ მეთოდით, რომლის მიხედვითაც I პკმოლი დნმ საკმარისია 200 ნუკლეოტიდის სეკვენირებისათვის, შეძლო ØXI74 ფაგის ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის სრული გაშიფვრა (5375 ფუძე). ეს თავის დროზე მოლეკულური ბიოლოგიის უდიდესი მიღწევა იყო. სადღეისოდ დნმ-ს სეკვენირებისათვის შექმნილია სპეციალური ავტომატური ხელსაწყოები ( სეკვინატორები).

ტრანსკრიპცია. დნმ-ს შემადგენელი ნუკლეოტიდების თანამიმდევნობაში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პირველი ეტაპია ტრანსკრიპცია ანუ მისი ძაფების ცალკეულ უბნებზე რნმ-ს მოლეკულების წარმოქმნა. ტრანს-

კრიპცია ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი პროცესია, რომელიც გენების მოქმედებას გამოხატავს. იგი ხორციელდება განსაკუთრებული ფერმენტით— დნმ-საგან დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზით. ზოგადად ეს პროცესი შემდეგნაირად ხდება. ტრანსკრიპციის დასაწყისში რნმ-პოლიმერაზა უკავშირდება დნმ-ს გაცალკევებული ძაფის ერთ გარკვეულ უბანს ( პრომოტორს) და გადააადგილდება მის გასწვრივ, რასაც თან ახლავს დნმ-ს მოცემული ძაფის კომპლემენტური რნმ-ს ძაფის სინთეზი. რნმ-პოლიმერაზის გადაადგილებასთან ერთად წარმოქმნილი რნმ-ს ძაფი თანდათან სცილდება დნმ-ს ძაფს, რომლის მიხედვითაც იგი სინთეზირდება, ხოლო ფერმენტის უკან დნმ-ს ორმაგი ძაფი კვლავ აღდგება ( სურ. 19 ).

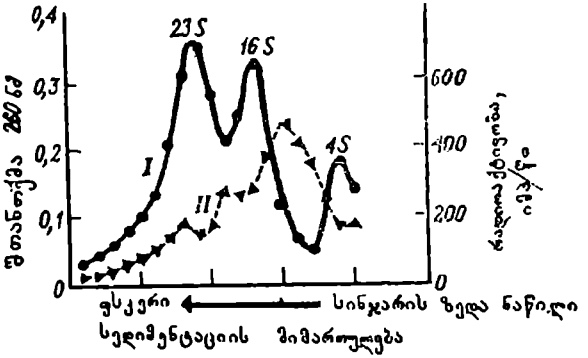



სურ.19 რნმ-პოლიმერაზით დნმ-ს ტრანსკრიპციის ზოგადი სქემა.

როდესაც რნმ-პოლიმერაზა მიაღწევს დნმ-ს იმ მონაკვეთის ბოლოს, რომელსაც ტრანსკრიბირებს, წარმოქმნილი რნმ-ს ძაფი საბოლოოდ სცილდება დნმ-ს ძაფს. ამრიგად, რნმ-ს სინთეზირებული ძაფი წარმოადგენს ზუსტ ასლს, რომელიც გადაიწერა რნმ-პოლიმერაზით, რადგანაც რნმ-ს ძაფის წარმოქმნისას კომპლემენტარობის პრინციპის საფუძველზე დნმ-ს ადენინის პირდაპირ ყოველთვის ჩაშენდება ურაცილი, ხოლო გუანინის მიმართ ციტოზინი.

იმის მიხედვით, თუ დნმ-ს რომელი უბანი— გენი ან გენების ჯგუფი ტრანსკრიბირდება, ტრანსკრიპციის პროდუქტი შეიძლება იყოს რნმ-ს შესაბამისი ფუნქციური სახეობა— რ-რნმ, ტ-რნმ ან მ-რნმ. ასეთი რნმ-ების არსებობა,

რომელთა ზოგიერთი დამახასიათებელი თვისებებია [illegible] ( ცხრილი III), პირველად მიიღეს და ექსპერიმენტალურად დადასტურეს 50-იანი წლების ბოლოს და 60-იანი წლების დასაწყისში. [illegible] აღმოაჩინეს რ-რნმ და ტ-რნმ, ხოლო მ-რნმ-ს არსებობა, რომლის მინაწერიერობა ტრანსლაციაში გადასწვლეტია, შეუძლებელ გვიან შეამჩნიეს. ეს იმიტომ მოხდა, რომ მ-რნმ-ს რაოდენობა უკრედში შეუარებელ მცირეა ( მთელი რნმ-ს ~ 5%), სწრაფად იშლება და სხვა ტიპის რნმ-ების შორის ძნელი შესამჩნევია. პირველი ზუსტი ცნობები რნმ-ს სხვადასხვა მოლეკულური ტიპების ბუნებისა და ფუნქციური ცვლილებების შესახებ მიღებული იქო ულტრაცენტრიფუგის გამოყენებითა და ნუკლეოტიდური შედგენილობის შესწავლით. თუ, მაგალითად, ნაწლავის ჩხირის აქტიურად მოზარდი უჯრედებიდან ერთიანად გამოვყოფდა ჯამურ რნმ-ს და ჩავატარებდა მის სედიმენტაციურ ანალიზს ულტრაცენტრიფუგირებით, ცალკეული ფრაქციების ანალიზი უ-სხვავების შეანთქმის ინტენსივობის მიხედვით სამ კარგად გამიჯნულ ტიპს იძლევა ( სურ.20 ): 23 S ,16 S და 4 S [illegible] ( სურ.[illegible] [illegible] [illegible] [




სურ. 20 .სედიმენტოგრამა, რომელიც მიღებულია ნაწლავის ჩხირის აქტიურად მოზარდი უჯრედებიდან გამოყოფილი ჯამური რნმ-ს ულტრაცენტრიფუგირებით მიღებული ფრაქციების ანალიზით. I—შთანთქმა 260 ნმ-ზე; II—რადიოაქტივობა. რნმ-ს გამოყოფამდე ბაქტერიებს ამყოფებდენ $^{14}C$ -ურაციღის შემცველ არეზე 30 სეკუნდს. რნმ-ს გამოყოფდნენ ფენოლით,ნატრიუმის დოდეცილსულფატის თანაობისას,რაც აქტივობას უკარგავს რნმ-ს დამშლელ ფერმენტს და იფარავს რნმ-ს დაშლისაგან. სედიმენტაციური ანალიზი ჩატარებულია საქაროზის გრადიენტში (5--დან 20 %-მდე). ცენტრიფუგირება— II საათის განმავლობაში, $4^0C$ -ზე. შთანთქმა 260 ნმ-ზე გვიჩვენებს რ-რნმ-ს (23 s და 16 s ) და ტ-რნმ-ს ( 4 s ) ფრაქციების განაწილებას. რადიოაქტივობა შეესაბამება მ-რნმ-ს სწრაფადმონიშნული ფრაქციის პროფილს.

დან. ცნობილია, რომ თუ ორსპირალიან დნმ-ს გავაცხელებთ $100^0$ c-მდე,ძაფები ცალკევდებიან.(ლღვება წყალბადური ბმები). ასეთი ხსნარის ნელი გაცივებისას ძაფები კვლავ კავშირდებიან ( რეასოცირდებიან) და ორმაგი სპირალი კვლავ აღდგება. აქედან გამომდინარე, დნმ-ს ორსპირალიანი მოლეკულა შეგვიძლია მივიღოთ ერთი სახეობის ან მსგავსი სახეობების დნმ-ს გაცალკევებული ძაფებიდან მათი გაცხელებით და შემდგომი თანდათანობითი გაცივებით.ასეთი ჰიბრიდები წარმოიქმნება დნმ-სა და მისი მატრიცობით სინთეზირებულ მ-რნმ-ს შორის. ამ ხერხით ნაჩვენებია, რომ დნმ-ში არსებობს რ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს შესატყვისი

უბნები, თუმცა მათი ხვეულრითი წილი განსხვავებულია. ამრიგად, ყველა ტიპის წარმოქმნება რნმ-მატრიცაზე.

ადრე აღვნიშნეთ ( თავი IV), ყველა ტიპის რნმ სინთეზირდება სპეციფიკური ფერმენტით— რნმ-პოლიმერაზით. რნმ-ს სინთეზი გარკვეულად წააგავს დნმ-ს სინთეზს, იმ მხრივ, რომ ორივე მიმდინარეობს 5′—3′ - მიმართულებით. მსგავსია სინთეზირებადი ძაფის ელონგაციის მექანიზმიც და ორივე შემთხვევაში მამოძრავებელი ძალაა პიროფოსფატის მოხლეჩვა ნუკლეოზიდტრიფოსფატებიდან. ძირითადი განსხვავება მდგომარეობს იმაში, რომ რნმ-პოლიმერაზას არ სჭირდება სპეციალური დამწყები ფაქტორი ( დედო), რნმ-ს სინთეზისას დნმ-მატრიცა მოლიანად შენარჩუნდება, ხოლო დნმ-ს სინთეზისას ახალ მოლეკულაში რჩება დნმ-მატრიცის ნახევარი. საყურადღებოა, რომ რნმ-პოლიმერაზას არ გააჩნია რაიმე ნუკლეაზური აქტივობა,რაც,როგორც აღვნიშნეთ, დამახასიათებელია დნმ-პოლიმერაზისათვის.

ნაწლავის ჩხირში სამივე ტიპის რნმ-ს სინთეზირებს ერთი სახის რნმ-პოლიმერაზა დნმ-ში კოდირებული ინფორმაციის მიხედვით. პროკარიოტებისაგან განსხვავებით, ეუკარიოტულ უჯრედებში რამდენიმე სახის რნმ-პოლიმერაზაა, რომლებიც შესაბამისი მოლეკულური ტიპის რნმ-ებს წარმოქმნიან. ამასთანავე, ზოგიერთ ვირუსში არის მასპინძლის უჯრედისაგან განსხვავებული რნმ-პოლიმერაზა.

გენომის მოცემულ უბანში ტრანსკრიბირდება ორსპირალიანი დნმ-ს ერთი ძაფი, ამასთანავე ისე, რომ ერთი უბანი შეიძლება ტრანსკრიბირდებოდეს მოცემული ძაფიდან, ხოლო სხვა უბანი მეორე ძაფიდან.

რნმ-ს სრული ძაფი-ტრანსკრიპტის წარმოქმნაში გამოირჩევა სამი ეტაპი: ინიციაცია ( დაწყება), ელონგაცია ( გაგრძელება) და ტერმინაცია (დამთავრება).

საინტერესოა,რომ ტრანსკრიპციის პროცესი დანახულია ელექტრონული მიკროსკოპითაც (სურ.21)

სურ. 21. რ-რნმ-ა ტრანსკრიპტის [illegible] ფუნქციის [illegible] ტოტოგრაფია. ცესი ხდება ბირთვეკში. [illegible] ჩანს რნმ-ს მოლეკულები მაგი წარმოქმნის სივდადასაცა სეკვენატე. მატრიცის შიშველი უბნები სპეისერებია.

<u>პრომოტორი</u>. ტრანსკრიპციის პროცესი — ინიციაცია იწყება მატრიცული დნმ-ს (გენის) განსაკუთრებული უბნიდან, რომელსაც სავდაირეველად უკავშირდება მატრანსკრიბირებელი ფერმენტი — რნმ-პოლიმერაზა. ამ უბნებს პრომოტორს უწოდებენ. მასი სიგრძე ნმ-მდე წყნ-ს აღწევს და აუცილებელი კომპონენტია როგორც პრო-, ისე ეუკარიოტული გენისათვის. პრომოტორი იკავშირებს რნმ-პოლიმერაზას და განსაზღვრავს რა მიმართულებით უნდა გადაადგილდეს ფერმენტი დნმ-ს მოლეკულის გაყოლებით.

პირველი ცნობები პრომოტორის ბუნების შესახებ მიღებული იყო პროკარიოტებზე, სადღეისოდ საკმაოდ ბევრია ცნობილი ეუკარიოტებზეც. პრომოტორების კვლევაში გამოიყენება ორი ძირითადი მეთოდი. ერთი მდგომარეობს იმაში, რომ გენებს გამოყოფენ კლონირებით, შემდეგ აფრაგმენტებენ რესტ-

[illegible] ბოლოკვლევა ცენტრიდ[illegible] შეპირის-
[illegible] ილი გამოლაღკეთება და [illegible]
[illegible] [illegible]
(ის. თავი XIII, [illegible]ილი"). ასევე [illegible] [illegible]
ტრანსკრიპციას [illegible] [illegible] [illegible]
[illegible] [illegible]
[illegible] [illegible] [illegible] [illegible]
[illegible] [illegible] [illegible] [illegible]
[illegible] [illegible] [illegible] [illegible]

(ინიციატორი) თანამომდევნობებს გარკვეულ მანძილზე ტრანსკრიპციის სასტარტო წერტილიდან. ეს თანმომდევნობები [illegible]ებიდ[illegible] როგორც პრომოტორული უბნები, ან ყოველ შემთხვევაში ისეთი ფუნქციური უბნები, რომლებიც მონაწილეობენ გენთა შერჩევითი მოქმედების რეგულაციაში. პრომოტორისა და ტრანსკრიპციის საწყის (სასტარტო) წერტილს აღნიშნავენ როგორც +1, მის მარჯვნივ გაყოლებით — +2, +3 და ა.შ., ხოლო მარცხნივ — -1, -2, -3 ა.შ. დადგენილია, რომ +1 მდგომარეობაში ყოველთვის არის აღენინი, მას მოსდევს ოთხი-ხუთი პირიმიდოვანი ფუძე თიმინი ან ციტოზინი. ამ თანამომდევნობის დარღვევისას ირღვევა ტრანსკრიპციის სწორი მავალობაც, ე.ი. პროცესი იწყება არა სასტარტო წერტილიდან, არამედ მის მეზობლად. ბაქტერიებში სასტარტო წერტილის მარცხნივ -10 მდგომარეობაში განლაგებულია მონაკვეთი თითაათა — თანამომდევნობით, რასაც, აღმოჩენის პატივსაცემად, პრიბნოვის თანამომდევნობას უწოდებენ. როგორც ირკვევა, ეს ის ადგილია, სადაც „ჯდება" ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზა, უფრო ზუსტად — ფერმენტის აქტიური ცენტრი, რასაც მოჰყვება ტრანსკრიპციის დაწყება სასტარტო წერტილიდან.

ეუკარიოტების სტრუქტურულ გენებში —10 მდგომარეობაში ანალოგიური რამ ჯერჯერობით ნაპოვნი არ არის. სამაგიეროდ მსგავსი სურათია აღმოჩენილი 30 უბანში (ზოგიერთი გენში —29—30 უბანში), რომელსაც შემდეგი სახე

აქვს: თათა („თათა- ბოქსი"). მას, აღმოჩენილია პატიესაცემად, გოლიბერგ-პოგნესის თანამომდევნობას უწოდებენ. ამ თანამიმდევნობის ღალღვა ან ამოღება ანელებს ან ამახინჯებს ტრანსკრიპციას— შეცვლის სასტარტო წერტილს რამდენიმე ნუკლეოტიდით წინ ან უკან. ვარაუდობენ, რომ ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზა, რომელიც ბაქტერიულთან შედარებით საგრძნობლად დიდია, მეტ ადგილს იკავებს დნმ-ზე. მანძილი „გამოცნობის ცენტრსა" (რომელიც უერთდება თათა— თანამომდევნობებს) და აქტიურ ცენტრს შორის (რომელიც სასტარტო წერტილის დასაწყისთანაა) დაახლოებით 30 წყ-ს (~10 ნმ) შეადგენს. როგორც ჩანს, ზემოაღწერილ უბნებს არ უნდა ჰქონდეთ დიდი მნიშვნელობა გენთა შერჩევით მოქმედებაში. მეტ ყურადღებას იმსახურებს სასტარტო წერტილიდან უფრო შორს მდებარე უბნები, ვიდრე „თათა - ბოქსია". ჯერ-ლაც აღმოჩნდა, რომ ეუკარიოტებში— 70-80 მონაკვეთში არის უბნები, რომლებიც მსგავსია სხვადასხვა გენისათვის. ამ უბნების როლი ჯერჯერობით კიდევ არ არის ნათელი. შესაძლოა მეტად საყურადღებოა ის ფაქტი, რომ ტრანსკრიპციის სიჩქარე ძლიერ იცვლება ( მიღულირდება) იმ უბნის თანაობისაგან დამოკიდებულებით, რომელიც მდებარეობს სასტარტო წერტილიდან 80-200 ნუკლეოტიდის მანძილზე. ვიქრობენ, რომ სწორედ აქაა გენის ის რეგულატორული ნაწილი, რომელსაც უერთდება რეგულატორული ცილა და ამით მატულობს ან კლებულობს გენის აქტივობა. ამჟამად ინტენსიურად შეისწავლება ნუკლეოტიდური თანამომდევნობანი იმ რეგულატორულ უბნებში, რომლებსაც ტრანსკრიპციის მოდულატორებს ანუ ენჰანსერებს უწოდებენ. ენჰანსერები არ შეიცავენ პრომოტორის შედგენილობაში. როგორია ცილების ურთიერთობის მექანიზმები რეგულატორულ უბნებში, ბოლომდე გარკვეული არ არის. ტრანსკრიპციის დამთავრება-ტერმინაცია ისევე ნატიდად რეგულირდება, როგორც ინიციაცია. კერძოდ, მატრიცული დნმ შეიცავს ე.წ. ტრანსკრიპციის სტოპ-სიგნალებს. ნაჩვენებია, რომ ყველა მათგანს ერთი საერთო თავისებურება გააჩნია: გ-ც-ით მდიდარი უბნის მიმდებარედ, ტერმინაციის უბნის შემდეგ, განლაგებულია ა-თ-ით მდიდარი თანამომდევნობა. მატერმინირებელ ბოლოს მეორე რიგის სიმეტრია აქვს. აღნიშნული გ-ც-ით მდიდარი

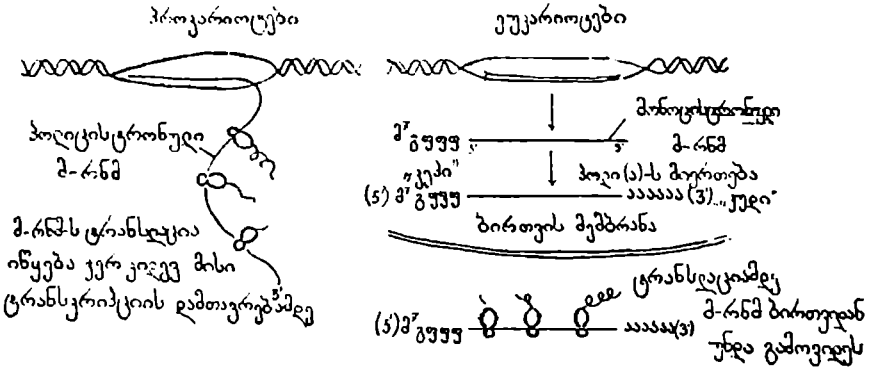
უბნის ახლადწარმოქმნილი რნმ-ს ძაფი მოთავრდება ურაცილის რამდენიმე ნაშთით, რომელიც კოფირდება დნმ-მატრიცის ა-თ-ით მდიდარი უბნით. ტრანსკრიპციის ტერმინაციაში მონაწილეობს სპეციფიკური ე.წ. ρ-ცილა. In vitro ცდებში ნაჩვენებია, რომ ეს ცილა იწვევს ტრანსკრიპციის ნაადრევ ტერმინაციას. ამ დროს რნმ-ს მოლეკულას უკვე წარმოქმნილი ნაწილი სცილდება მატრიცას, მაგრამ მატრასკრიპირებული ფერმენტი დაკავშირებული რჩება მატრიცასთან.

რნმ-ტრანსკრიპტები ტრანსკრიპციის შემდეგ გარკვეულად იცვლებიან, ამასთან ზოგჯერ მნიშვნელოვნად. პროკარიოტებში ტ-რნმ და რ-რნმ-ს მოლეკულები წარმოიქმნებიან ახლადსინთეზირებული გარკვეული რნმ-ს ძაფებისაგან ამ უკანასკნელთა დაფრაგმენტებისას და ქიმიური მოდიფიკაციებით. საყურადღებოა, რომ აქ პრაქტიკულად უცვლელი რჩება მ-რნმ - ტრანსკრიპტი. უფრო მეტიც: ზოგიერთი მ-რნმ ტრანსლაციას იწყებს ტრანსკრიპციის დამთავრებამდე.

რთულ გარდაქმნებს განიცდის ყველა ტიპის ეუკარიოტული რნმ-ტრანსკრიპტი. ამასთან, რ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს დაფრაგმენტება და მოდიფიკაცია ძლიერ წააგავს ანალოგიურ პროცესს პროკარიოტებში. უაღრესად რთულ გარდაქმნებს განიცდის ეუკარიოტული პირველადი მ-რნმ-ს ტრანსკრიპტი: იგი გიგანტური მოლეკულაა, რომელიც შემდეგ ფრაგმენტდება, დიდი ნაწილი ფრაგმენტებისა იშლება, ხოლო ნაწილი ფრაგმენტებისა ერთმანეთს უერთდება (ხდება სპლაისინგი; იხ. თავი II , „გენის ნატიფი სტრუქტურა") და წარმოიქმნება მ-რნმ-ს საბოლოო ფუნქციური ფორმა. გარდა ამისა, პროკარიოტულისაგან განსხვავებით, ეუკარიოტული მ-რნმ დასაწყისში, პირთვიდან გამოსვლამდე კომპლექსირებულია განსაკუთრებულ ცილებთან და წარმოქმნის ე.წ. ინფორმოსომებს. ასეთი კომპლექსი მეტაბოლურად სტაბილურია, მონოსისტრონულია და, როგორც წესი, აქვს სპეციფიკურად მოდიფიცირებული 5-ბოლო („კეპი"). იგი ემატება ტრანსკრიპციის შემდეგ და აქვს შემდეგნაირი სტრუქტურა:

მ'-გუანინ(7-მეთილგუანინის წარჩენი,რომელიც მიკავშირებულია ს-რნმ-ცთან [illegible] ).ეს პირველადი ტრანსკრიპტის სინთეზის შემდეგ წარმოიქმნება.ტრანსკრიპციის შემდეგ რნმ-ს ემატება რამდენიმე ათეული ადენინი და წარმოიქმნება თავისებური „კუდი"- პოლი-ა.ასეთი „კეპები"-სა და „კუდების"-ს ფუნქცია ჯერჯერობით უცნობია,თუმცა არსებობს მოსაზრება,რომ [illegible] ს-რნმ-ს წუალეადების ზემოქმედებისაგან.ექსპერიმენტატორები ხსენებულ პოლიებს იყენებენ ინდივიდური მ-რნმ-ების გამოყოფისას.

ნახ-22 სურათზე გამოსახულია პროკარიოტებში და ეუკარიოტებში მ-რნმ-ა სინთეზისა და ტრანსლაციის მოდელური მექანიზმების შედარებითი სქემა.




სურ.22 .პროკარიოტებსა და ეუკარიოტებში მ-რნმ-ს წარმოქმნისა და ტრანსლაციის მოდელური მექანიზმების შედარება.პოკარიოტების მ-რნმ ხშირად პოლიცისტრონულია ,ე.ი. კოდირებს რამდენიმე ცილას.მატრიცის $5^{I}$-ბოლო ნაწილის ტრანსლაცია (და,შესაძლოა, მისი დეგრადაციაც) იწყება ჯერ კიდევ $3^{I}$-ბოლო ნაწილის ტრანსკრიპციის დამთავრებამდე.ეუკარიოტული მ-რნმ-ები მონოცისტრონულია,ყოველი მ-რნმ კოდირებს მხოლოდ ერთ ცილას.ტრანსკრიპციის დროს რნმ-ს $5^{I}$-ბოლოს ემატება მეთილირებული „კეპი",ხოლო ტრანსკრიპციის დამთავრებისას $3^{I}$-ბოლოს მიებმება „კუდი"- პოლი-ა. შემდგომში მ-რნმ გაიელის ბირთვის მემბრანას,გადადის ციტოპლაზმაში,სადაც ხდება მისი ტრანსლაცია.

ტრანსკრიპციის მექანიზმების შესწავლაში წარმატებით გამოიყენება ინჰიბიტორები, რომლებიც, როგორც ცნობილია, სპეციფიკურად

რებენ) ბიოქიმიურ პროცესებს. მათგან ყველაზე საყურადღებოა აქტინომიცინი, რიფამიცინი (გამოყოფენ მიკროორგანიზმებიდან ) და α-ამანიტინი (გამოყოფენ შხამიანი სოკოდან ). მათი მოქმედების მექანიზმი განსხვავებულია. კერძოდ, აქტინომიცინი, რომელიც ქიმიურად წარმოადგენს ფენოქსაზური რგოლების სისტემით შეკრულ ორ იდენტურ ციკლურ პოლიპეპტიდს, სპეციფიკურად უკავშირდება დნმ-ს გ-ც წყვილებს და ამით ხურავს მატრიცას ტრანსკრიპციისათვის. უფრო ზუსტად, იგი ბლოკირებს ყოველგვარი რნმ-პოლიმერაზის მოქმედება-მოძრაობას დნმ-ს ძაფის გასწვრივ და რნმ-ს ძაფის გაგრძელებაც წყდება. აქტინომიცინი არსებით გავლენას არ ახდენს რეპლიკაციაზე და უშუალოდ არ მოქმედებს ცილის სინთეზზეც.

რიფამიცინი და მისი ნახევრად-სინთეზური ნაწარმი რიფამპიცინი მოქმედებს უშუალოდ მატრანსკრიბირებელ ფერმენტზე— რნმ-პოლიმერაზაზე, ამასთან, ინჰიბირებს მხოლოდ ტრანსკრიპციის ინიციაციას და ელონგაციაზე გავლენას არ ახდენს. მისით შეგვიძლია შევაჩეროთ რნმ-ს ახალი ძაფის სინთეზი ისე, რომ უკვე დაწყებული ძაფების წარმოქმნა არ შეჩერდეს.

α-ამანიტინი შესაძლებლობას იძლევა შერჩევით ვაფუნქციონიროთ ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზის ფორმები: გარკვეული კონცენტრაციისას იგი თრგუნავს ფორმა II-სა და ფორმა III-ს (ამ უკანასკნელს უფრო მაღალი კონცენტრაციისას), ხოლო ფორმა I-ზე გავლენას არ ახდენს. ფორმა I-ს ინჰიბირებს ციკლოჰექსიმიდი (აქტიდიონი).

ისევე, როგორც დნმ-სათვის, საღღეისოდ არსებობს ეფექტური მეთოდები რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის კვლევისათვის, რაც ძირითადად გელ-ელექტროფორეზის მაღალ გარჩევით უნარს ემყარება.

## თ ა ვ ი VI

## ც ი ღ ი ს ბ ი ო ს ი ნ თ ე ზ ი

ზოგადი ცნობები. თანამედროვე შეხედულებით, ორგანიზმის თვისებანი განისაზღვრება მისი შემადგენელი ციღების ბუნებით. ციღები წარმოადგენენ სასიცოცხლო პროცესების ძირითად სუბსტრატს, ამასთან, წარმართავენ და არეგულირებენ ცოცხად უჯრედში, ორგანიზმში მიმდინარე ყველა სასიცოცხლო რეაქციას. ციღოვანი ბუნებისაა, კერძოდ, ყველა ფერმენტი, რომლებიც უჯრედში ახორციელებენ სპეციფიკურ ბიოქიმიურ რეაქციებს. ასეთი რეაქციები კი რამდენიმე ათასი სახისაა. ყოველ რეაქციას მხოლოდ მისი შესატყვისი ფერმენტი წარმართავს.

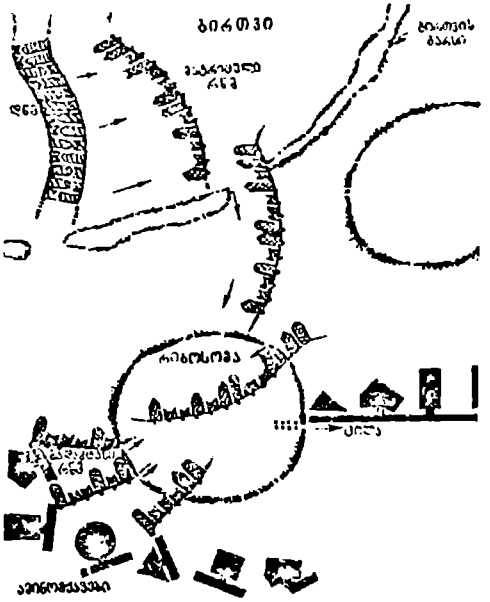
ციღები უშუალოდ მონაწილეობენ უჯრედის, ორგანიზმის სტრუქტურული კომპონენტების შენებაში, სუნთქვის, მოძრაობის, იმუნურ, გადატანით და სხვა პროცესებში. სხვადასხვა უჯრედები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან უ.ყ. ამა თუ იმ ციღის სინთეზის უნარით და სინთეზირებული ციღების თვისებებით.

ციღების ნაირგვარობა უაღრესად დიდია. მარტო ბაქტერია ნაწლავის ჩხირის ერთ უჯრედში 2000-მდე სხვადასხვანაირი ციღა შედის. სხვადასხვა ციღები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ამინომჟავური შედგენილობით და მათი თანამიმდევნობით მოლეკულაში. ამითაა გაპირობებული ციღების სტრუქტურა და ბიოლოგიური ფუნქციები. ფენოტიპური ნიშანთვისებების გენეტიკური კონტროლი უჯრედში, ორგანიზმში ხორციელდება სწორედ ციღების სტრუქტურით.

სხვადასხვა ციღის მოლეკულების შენებაში 20 სხვადასხვა სახის ამინომჟავას ვხვდებით. სხვადასხვა ციღებში ამინომჟავები სხვადასხვა რაოდენობით შედის და განსხვავებული თანმიმდევრობითაა დალაგებული. ამასთან, ესა თუ ის ამინომჟავა რამდენიმეჯერ შეიძლება მეორდებოდეს მოლეკულის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სიგრძეზე. 20-ნაირი ამინომჟავის სხვადასხვა თანამიმდევნობით წარმოქმნილი პოლიპეპტიდის შესაძლო ნაირგვარობა ასტრონომიურ ციფრს (2.432.902.008.176.644.000.) აღწევს. როგორ ხდება ამინომჟავების სათანადო თანმიმდევრობით დალაგება პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზისას და ამით მოცემული

კონკრეტული სახის ცილის მოლეკულის წარმოქმნა? როგორია ამ პროცესის გენეტიკური კონტროლის მოლეკულური მექანიზმი?

ცილის ბიოსინთეზი, საფეხურად დადგენილი ზოგადი სქემის მიხედვით (სურ. 23), მიმდინარეობს ციტოპლაზმაში, ხოლო გენეტიკური




სურ. 23. ცილის ბიოსინთეზის ზოგადი სქემა (ვანმარტებანი—ტექსტში).

ინფორმაცია, რომლის მიხედვითაც ხდება პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა, ბირთვშია. ამასთანავე, როგორც აღვნიშნეთ ორგანიზმებში, რომელთაც ბირთვს არ ვააჩნიათ (პროკარიოტები), მემკვიდრული სუბსტრატი არაა გამოცალკევებული ციტოპლაზმის მასისაგან და დიფუზურადაა გაბნეული უჯრედში. მემკვიდრეობის მატერიალურ (ქიმიურ) სუბსტრატში — დნმ-ში ინფორმაცია ჩაწერილია აზოტოვანი ფუძეების თანამიმდევნობის სახით. მოცემული ცილის მოლეკულის სინთეზი წარიმართება დნმ-ს გარკვეული უბნით-

გესით, რომელიც ტრიხლიაში გარკვეული შეფგენილობითა და თანამიმდევნობით დალაგებული რამდენიმე ასეული (ზოგჯერ ათასეული) აზოტოვანი ფუძისაგან შემდგარ მონაკვეთს წარმოადგენს. გენიდან ინფორმაცია შესაბამისი ცილების მოლეკულის სინთეზის ანუ ტრანსლაციისათვის (ინგ. translation -გადათარგმნა) გამოიტანება განსაკუთრებული ტიპის რნმ-ს — მატრიცული რნმ-ს (მ-რნმ) მიერ, რომელიც მატრიცულად წარმოიქმნება მოცემულ გენზე ამ უკანასკნელის აზოტოვანი ფუძეების თანამიმდევნობის შესატყვისად. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა — ცილის მოლეკულის სინთეზი ხდება ციტოპლაზმურ სტრუქტურაზე — რიბოსომებზე. მ-რნმ განლაგდება რამდენიმე რიბოსომისაგან შემდგარ ჯგუფზე, აერთიანებს ნას პოლისომებად და უშუალოდ წარმართავს ამინომჟავების ჩართვასა და სათანადო თანმიმდევნობით დალაგებას მომავალ პოლიპეპტიდში. ამასთან, მ-რნმ, ვიდრე რიბოსომებამდე მიაღწევს და მოფუნქციონირე მოლეკულაში ჩამოყალიბდება, რთულ გარდაქმნებს განიცდის. ეს განსაკუთრებით ითქმის ეუკარიოტულ მ-რნმ-ზე. რიბოსომებთან ამინომჟავები მიიტანება ტ-რნმ-ს მოლეკულების მიერ.

დნმ-ს გარკვეულ უბნებზე ხდება ცილის სინთეზის მონაწილე სხვა მოლეკულური ტიპის რნმ-ების — ტ-რნმ-სა და რ-რნმ-ს სინთეზიც. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნაში მონაწილეობს მრავალი ფერმენტი, ასზე მეტი სხვადასხვა მაკრომოლეკულა, ხოლო თვით ტრანსლაციის პროცესი რამდენიმე საფეხურისაგან შედგება.

ცილის მოლეკულის სინთეზის მთელი პროცესი მოიცავს სამ ძირითად სტადიას: ინიციაციას, ელონგაციასა და ტერმინაციას. ინიციაცია პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის დაწყებაა, ელონგაცია— გაგრძელება, ხოლო ტერმინაცია —დამთავრება.

<u>ნირენბერგის სისტემა ცილის სინთეზისათვის</u>. 50-იანი წლების მეორე ნახევარში სხვადასხვა მკვლევართა მიერ წაჩვენები იყო, რომ ამინომჟავების ინკუბაციით სათანადო პირობებში შეიძლება განვახორციელოთ პოლიპეპტი-

ღური ჯაჭვის- ცილის სინთეზი. ამერიკელმა მეცნიერმა ბ. სირენბერგმა დაამუშავა ცილის ანუ უჯრედგარეშე სინთეზის მეთოდი- სისტემა, რომელშიც უფრო მნიშვნელოვანი იერარქია ცილის ბიოსინთეზის მოლეკულური მექანიზმების, მათ შორის გენეტიკური კოდის (იხ. თავი VII) ვალიდურობა.

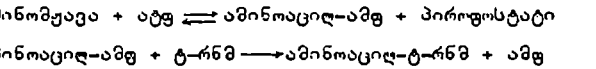
მეთოდურად ცილის უჯრედგარეშე სინთეზის შემამჯერებელი რეაქციის არსი შედგომარეობს იმაში, რომ საინკუბაციო არეში ერთ-ერთი ან ყველა ამინომჟავა მონიშნულია $^{3}$H-ით ან $^{14}$C-ით. სინჯი თავსდება 37$^{0}$-ზე 20-30 წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც ცივდება და ეფარება ცივი ტრიქლორძმარმეტავ ან ქლორის მჟავა. თუ ამინომჟავები დაკავშირდა ერთმანეთთან, ე.ი. წარმოიქმნა პოლიპეპტიდი, მჟავის დამატების შემდეგ წარმოიქმნება ნალექი. ნალექში იზომება რადიოაქტივობა, რომლის სიდიდის მიხედვითაც ვმსჯელობთ ცილის სინთეზის ინტენსივობაზე.

ცილის უჯრედგარეშე სინთეზისათვის საინკუბაციო არეში საჭიროა შეიტანოს შემდეგი კომპონენტები: ამინომჟავები, რიბოსომები, m-რნმ, t-რნმ, $tg^{2+}$, ატფ, გტფ, გამააქტივებელი ფერმენტები, $K^{+}$-ნაერთი (მაგ. პერიკაპტეინანილი), პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ინიციაციის, ზრდისა და ტერმინაციის

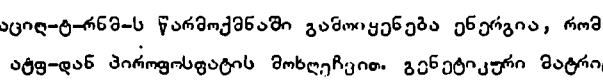
მ. სირენბერგმა ცილის სინთეზის უჯრედგარეშე სისტემაში, m-რნმ-ს ადგილზე გამოიყენა ხელოვნურად სინთეზირებული რნმ-ები, რომელთა მიღებაც შეიძლება სპეციალური ფერმენტის — პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზის მეშვეობით რიბონუკლეზიდდიფოსფატებიდან (მ. გრიუნბერგ-მანაგის ფერმენტი, გვ. 61) და რომლებიც, როგორც აღმოჩნდა, შეიძლება წარმმართველი იყვნენ ამინომჟავური შედგენილობის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა. საბოლოოდ შემუშავებულია უჯრედგარეშე სისტემები, რომლებიც საშუალებას იძლევა ერთად განსაბორციელოთ ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია, თავი ვაღიაროთ ამ პროცესების ურთიერთობის კანონზომიერებებს.

ტრნმ და მისი მნიშვნელობა. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის დასაწყის სტადიაზე, ინიციაციისას, თავდაპირველი მოქმედება ამინომჟავების გააქტიურებაა,

რაც ამაში მდგომარეობს, რომ ამინომჟავა უკავშირდება ატფ-სა და წარმოიქმნება ამინოაციდენილატი (ამინოაციდ-ამფ), არაორგანული პიროფოსფატის გამოთავისუფლებით. ამინოაციდენილატში კავშირი ამინომჟავასა და ნუკლეოტიდს შორის მყარდება კარბოქსილის ჯგუფსა და რიბოზული ნაშთის 3'-პიროქსილს შორის. ამ რეაქციას, რომელიც შექცევადია, ააქტივებს ფერმენტი ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზა. იგი უაღრესად სპეციფიკურია ყოველი ამინომჟავისათვის და, ამ უკანასკნელთა ნაირგვაროვნის შესაბამისად, 20-მდე სახისაა. ეუკარიოტებში ზოგიერთი ამინომჟავისათვის ნანახია ერთზე მეტი სახის ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზა. შემდგომ საფეხურზე ამინოაციდ-ამფ ურთიერთობს ამ კომპლექსში შემავალი ამინომჟავის შესატყვის ტ-რნმ-სთან და წარმოიქმნება ამინოაციდ-ტ-რნმ, რის დროსაც გამოთავისუფლდება ამფ. ეს რეაქციაც შექცევადია. ამინოაციდ-ამფ-დან ამინომჟავის მიერთებას შესატყვის ტ-რნმ-სთან განაპირობებს იგივე ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზა, რომელმაც თავდაპირველად წარმოქმნა ამინოაციდ-ამფ. ამრიგად, ჯაჭვური რეაქცია ამინომჟავის აქტივაციისა და ტ-რნმ-ზე გადატანისა შეიძლება შემდეგნაირად გამოვხატოთ:



ამინომჟავა + ატფ ⇌ ამინოაციდ-ამფ + პიროფოსტატი



ამინოაციდ-ამფ + ტ-რნმ → ამინოაციდ-ტ-რნმ + ამფ

ამინოაციდ-ტ-რნმ-ს წარმოქმნაში გამოიყენება ენერგია, რომელიც გამოიყოფა ატფ-დან პიროფოსფატის მოხლეჩვით. გენეტიკური მატრიცის სწორ ტრანსლაციას უზრუნველყოფს ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზების უაღრესად მაღალი სპეციფიკურობა. ტ-რნმ-ს მოლეკულები 40-ზე მეტი სახისაა, ისინი ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ფუძეთა თანამიმდევნობით (პირველადი სტრუქტურით), რის გამოც მათ ადვილად სცნობილობენ სპეციფიკური სინთეტაზები. დადგენილია, რომ ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზები, მასინთეზირებელ უბნებთან ერთად, შეიცავენ მაჰიდროლიზებელ უბნებსაც, რაც, როგორც ირკვევა, განაპირობებს ცილის სინთეზის პროცესის საიმედობას, კერძოდ,

საჭირო კორექციას პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის დროს.

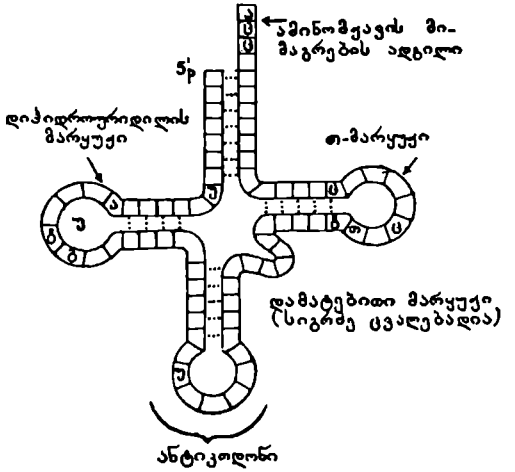
როგორც ადრეც აღვნიშნეთ ტ-რნმ-ები უჯრედში არსებული რნმ-ების ტიპთა შორის ყველაზე დაბალპოლიმერული მოლეკულებია. მათი მოლეკულური მასა 25-28 კდალტონია (სედიმენტაციის კონსტანტა — 4,35 s) და შეიცავენ 73-95 ნუკლეოტიდს. მიკროორგანიზმებიდან, ძუძუმწოვართა ღვიძლიდან თუ კურდღლის რედიკულოციტებიდან მიღებულ ტ-რნმ-ს მოლეკულებს მსგავსი მოლეკულური მასა აქვთ, მსგავსია ერთი და იგივე წყაროდან მიღებული სხვადასხვა ამინომჟავის შესატყვისი ტ-რნმ-ების ჰიდროდინამიკური თავისებურებანიც.

ტ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური შედგენილობისათვის დამახასიათებელია გუანინისა და ციტოზინის სიჭარბე ( 60%) და ე.წ. მინორული ფუძეების შემცველობა დიდი რაოდენობით. სხვადასხვა ტ-რნმ-ს მოლეკულაში 7-15 მინორული ფუძე შედის. 1965 წელს რ. ჰოლმა თანამშრომლებთან ერთად შვიდი წლის შეუპოვარი შრომის შედეგად შეძლო ერთ-ერთი ტ-რნმ-ის-ალანინის ტ-რნმ-ს პირველადი სტრუქტურის გაშიფვრა, ამასთანავე დაამუშავა ნუკლეინის მჟავების ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრის ზოგადი მეთოდები, რამაც განაპირობა ამ მიმართულებით კვლევის შემდგომი წარმატებანი. 1966 წლისათვის აკად. ა. ბაევმა თანამშრომლებთან ერთად მოახერხა ვალინის ტ-რნმ-ს პირველადი სტრუქტურის გაშიფრვა. სადღეისოდ ცნობილია 70-ზე მეტი სახის ტ-რნმ-ს პირველადი სტრუქტურა.

ნებისმიერი წყაროდან მიღებული და ნებისმიერი სახის ტ-რნმ-ს მოლეკულა ერთი პოლინუკლეოტიდური ძაფია, რომლის ერთი ბოლო თავდება $5^{I}$-გუანოზინფოსფატით, ხოლო მეორე— $3^{I}$-ბოლო წარმოადგენს (ც-ც-ა)-ს თავისუფალი ჰიდროქსილის ჯგუფით. სწორედ ამ ბოლოზე ემაგრება გააქტივებული ამინომჟავა, რომელიც ცილის სინთეზის ადგილთან — რიბოსომებთან მიიტანება. როგორც ირკვევა, სხვადასხვა ამინომჟავის შესატყვისი ტ-რნმ-ები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან მოლეკულის სხვა დანარჩენი

ნაწილების ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობით.

ჯერ კიდევ პირველად გაშიფრული ტ-რნმ-ს მეორეული სტრუქტურის შესწავლის საფუძველზე (რაც შემდგომ დადასტურდა ყოველნაირი სახის ტ-რნმ-ს შესწავლით) დადგინდა, რომ მოლეკულის პოლინუკლეოტიდური ძაფი მიმოკეცილია ისე, რომ წარმოქმნის მრავალნაირ მარყუჟს და ტიპიურად ნეკერჩხლის ფოთლის სახისაა (სურ. 24). ამის გამო მოლეკულის შედგენილობაში შემავალი ნუკლეოტიდების ნახევარზე მეტი შეწყვილებულია მოკლე კომპლემენტური უბნებით. ასევე შეწყვილებაზე მიუთითებს ის გარემოებაც, რომ ტ-რნმ-ს მოლეკულებს ხსნარებში ახასიათებთ ჰიპერქრომული ეფექტი, რის მიხედვითაც სპირალიზაცია 75%-ს შეიძლება აღწევდეს.




სურ. 24. ტ-რნმ-ს მოლეკულის მეორეული სტრუქტურის ზოგადი სქემა (ბაქტერიების, მცენარეებისა და ცხოველების 100-ზე მეტი ტ-რნმ-ს შესწავლის მონაცემების მიხედვით.).

სათანადო გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ტ-რნმ-ს მოლეკულაში შეწყვიტულია ფუძეთა 5 ჯგუფი: $3^{I}$-ბოლო-ცცა (აქცეპტორული ბოლო), ანუ თ-მარყუჟი (სახელწოდება წარმოდგება თანამომდევნობებისაგან რიბოთიმიდინი-ფსევდოურაციდი — ციტოზინი), დამატებითი ანუ ვარიაბილური მარყუჟი (მის შედგენილობაში შემავალი ფუძეების რიცხვის სხვადასხვა ტ-რნმ-ში განსხვავებულია), დიჰიდროურიდილის ანუ დ- მარყუჟი (როგორც სახელწოდება გვიჩვენებს, დიდი რაოდენობით შეიცავს დიჰიდროურიდილის მჟავას) და ანტიკოდონური მარყუჟი. ეს უკანასკნელი, რომელმაც უმნიშვნელოვანესი ფუნქცია - რიბოსომებზე განლაგებული მ-რნმ-ს სათანადო კოდონთან მიკავშირების ფუნქცია აკისრია, შედგება შვიდი ფუძისაგან, შემდეგნაირი განლაგებით:

$5^{I}$ — პირიმიდინი- პირიმიდინი-X-V-Z-მოდიფიცირებული პურინი-(ვარიაბილური) ფუძე — $3^{I}$
(ანტიკოდონი)

სადღეისოდ ტ-რნმ-ს მოლეკულათა სამგანზომილებიანი სტრუქტურა დეტალურადაა შესწავლილი სხვადასხვა მეთოდებით, მათ შორის რენტგენული-კრისტალოგრაფიული ანალიზით.

გამომდინარე უოტსონ-კრიკისეული კომპლემენტარობის პრინციპიდან, ყოველი ანტიკოდონი ერთ კოდონს უნდა ცნობილობდეს, მაგრამ ცნობილი გახდა რომ ზოგიერთი სუფთა სახით გამოყოფილი ტ-რნმ ერთზე მეტ კოდონს უკავშირდება. მაგალითად, საფუვრის აღანინის ტ-რნმ ესატყვისება და უკავშირდება სამ კოდონს: გცუ-ს, ggc-ს და gca-ს. ჩვეულებრივ ვხედავთ, ამ კოდონებში საერთოა პირველი ორი ფუძე, მესამე განსხვავებულია. ამით უნდა დავუშვათ, რომ კოდონის მესამე ფუძეს შეწყვეტილებაში შედარებით ნაკლები მნიშვნელობა აქვს და ამ შემთხვევაში შესაძლებელია ერთგვარი სტერიული თავისუფლება, სხვანაირად, ანტიკოდონის არაერთმნიშვნელოვანი შესატყვისობა კოდონთან ანუ „ქანაობა". ეს გარემოება გენეტიკური კოდის „სიმარტივის" ერთ-ერთ საფუძველს წარმოადგენს. საყურადღებოა, რომ ანტიკოდო-

ნებში ხშირად შედის უჩვეულო ნუკლეოზიდი – ინოზინი, რაც ზრდის იმ კოდონების რიცხვს, რომლებსაც შეიძლება დაუკავშირდეს ტ-რნმ-ს მოცემული სახის მოლეკულა. კერძოდ, „ქანაობის" შედეგად ინოზინი შეიძლება შეწყვილდეს ციტოზინთან, ადენინთან და ურაცილთან.

აღმოჩენილია ტ-რნმ-ს მუტანტური მოლეკულები, რომელთა ანტიკოდონშიც შეცვლილია ერთი ჩვეულებრივი ფუძე. ამით გარკვეული შუქი მოეფინა გენეტიკოსებისათვის ადრე კარგად ცნობილ დაქტს, რომ ზოგიერთი მუტაციის მაცნე მოქმედება შეიძლება დაიარგუნოს სხვა მუტაციით, მათ შორის ერთი მუტირებული გენის მოქმედებით მეორე მუტირებულ გენზე. როგორც ირკვევა ასეთი გენთშორისი სუპრესიისას სუპრესორები მოქმედებენ მ-რნმ-ს სხვანაირად „წაკითხვით". მაგალითად, თუ მუტაციის შედეგად წარმოიშვა ე.წ. სტოპ-კოდონი უაგ, რომელიც განაპირობებს ტერმინაციას, მაშინ პოლიპეპტიდი დაუმთავრებელი რჩება და ჩვეულებრივ აქტიური არ არის. ეს ე.წ. ნონსენს-მუტაციაა (ინგ. nonsense –უაზრო), რომლის მოქმედება შეიძლება დაიარგუნოს სხვა გენების მუტაციით. ერთ-ერთი ასეთი სუპრესორი უაგ-ს კითხულობს როგორც ტიროზინის კოდონს და ამით საბოლოოდ შეიძლება განაპირობოს აქტიური ციღის სინთეზი დაუმთავრებელი პოლიპეპტიდის მაგიერ.

ცნობილია ტ-რნმ-ს სხვა ტიპის მუტაციებიც. მაგალითად, ე.წ. მისენს-მუტაციის დროს იცვლება მ-რნმ-ს წაკითხვა ისე, რომ შედეგად ზოგიერთ კოდონზე ირთვება სხვა ამინომჟავა, მაგალითად, გლიცინის მაგიერ-არგინინი. აღმოჩენილია კოდონების ჩარჩოების გადაწევის სუპრესორი ტ-რნმ-ები. ისინი ანტიკოდის მარყუჟში შეიცავენ ზედმეტ ფუძეს, რის გამოც კოდონში სამის მაგიერ ოთხ ფუძე იკითხება. მაგალითად, უუც იკითხება როგორც ფენილალანინის კოდონი, უუუ-ს მაგიერ. ასეთ შეცვლილ ტ-რნმ-ს შეუძლია ზედმეტი ფუძის სუპრესირება.

ტ-რნმ-ს ადაპტორული ფუნქცია. როგორც აღვნიშნეთ, ტ-რნმ-ს ფუნქცია მდგომარეობს იმაში, რომ გააქტივებული ამინომჟავა, რომელიც აქცეპტო-

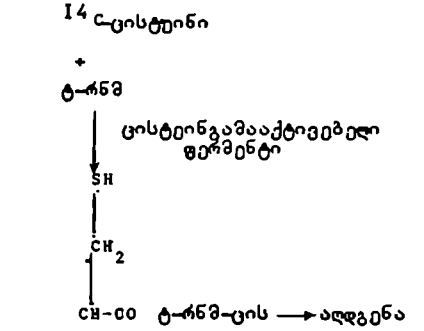
რულ ბოლოზეა მიერთებული, გადააქცს ციღის სინთეზის ადგილთან — რიბოსომებზე და თავისი ანტიკოდონური უბნით დროებით კავშირდება რიბოსომებზე განლაგებულ მ-რნმ-ს შესატყვის კოდონთან. ყოველ ამინომჟავას თავისი შესატყვისი ანტიკოდონის მქონე ტ-რნმ აქვს და, ბუნებრივია, რომ მხოლოდ შესატყვის კოდონსავე უკავშირდება. როგორც ირკვევა არც აქცეპტორული ბოლო და არც მასთან მიკავშირებული ამინომჟავა არ თამაშობს რაიმე როლს კოდონის გამოცნობაში. ტ-რნმ-ს ასეთი ადაპტორული ფუნქცია პირველად ივარაუდა ფ. კრიკმა, ხოლო ექსპერიმენტულად დაასაბუთეს ფ. შაპეველმა და ფ. ლიპმანმა მეტად მახვილგონიერი ექსპერიმენტით.

ფ. კრიკის ვარაუდი იმ წინააღმდეგობის ასახსნელად იყო გამოთქმული რომ სამი ნუკლეოტიდი (იმ დროისათვის კოდონის თეორიულად ყველაზე დასაშვები ზომა) სიგრძით 10 Å-ს უდრის, მაშინ როდესაც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ერთი ამინომჟავის შესატყვისი სეგმენტი 2-3Å -ს ტოლ აღემატება. ამიტომ, როგორც ჩანს, ამინომჟავასა და მ-რნმ-ს პოლინუკლეოტიდურ მატრიცას შორის კავშირი მყარდება არა პირდაპირ, არამედ ადაპტორებით - მცირე ზომის მოლეკულებით, რომლებიც სათანადო ფერმენტის საშუალებით უკავშირდებიან ამინომჟავის და შემდეგ სპეციფიკურად ურთიერთობენ მაღალპოლიმერულ მატრიცასთან. ასეთი ერთსაფეხურიანი რეაქციის შედეგად ამინომჟავა გადაიტანება და ჩაირთვება პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში, ამასთან ზუსტად განსაზღვრულ მდგომარეობაში.

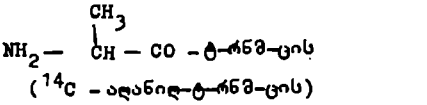
ფ. შაპვილი და ფ. ლიპმანი ნაწლავის ჩხირის ტ-რნმ-ს „ტვირთავდნენ" $^{14}C$-ცისტეინით, გამააქტივებელი ფერმენტის საშუალებით. შემდეგ სპეციალური კატალიზატორის - რენეს ნიკელის* ზემოქმედებით ცისტეინს

*ძლიერი აღმდგენელი, დაერქვა აღმომჩენის პატივსაცემად. წარმატებით გამოიყენება ხიერი მცენარეული ზეთების ჰიდროგენიზაციის პროცესში, როდესაც ორმაგი კავშირის აღდგენის გზით ღებულობენ მარგარინის ტიპის მკვრივ საკვებ ცხიმებს.

აღადგენდნენ აღანინად, ე.ი. ცისტეინ-ტ-რნმ-ს კომპლექსს აცილებდნენ გოგირდს და ღებულობდნენ აღანინ-ტ-რნმ-ს კომპლექსს, ამინომჟავასა და ტ-რნმ-ს შორის კავშირის დაურღვევლად.



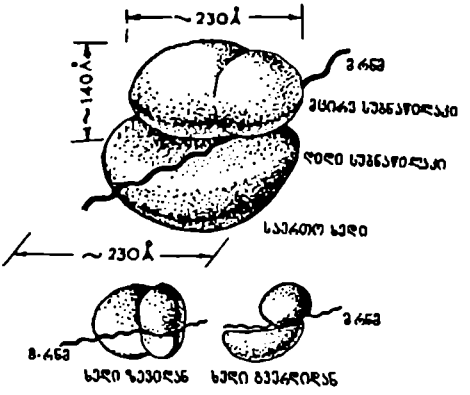

($^{14}$C - ცისტეინილ - ტ-რნმ-ცის)




($^{14}$C -აღანილ-ტ-რნმ-ცის)

მიღებული კომპლექსი - $^{14}$C -აღანინ-ტ-რნმ-ცის შეჰქონდათ ცილის სინთეზის მ. ნირენბერგის სისტემაში, სადაც სინთეზური პოლირიბონუკლეოტიდების დახმარებით შესაძლებელია in vitro დადგენილი იქნეს ამა თუ იმ ნუკლეოტიდებისაგან შემდგარი ფრაგმენტების კოდონური შესატყვისობა სათანადო ამინომჟავასთან. აღმოჩნდა, რომ უგ-სოპილიმერი, რომელიც ჩვეულებრივ არ სტიმულირებს აღანინ-სპეციფიკურ ტ-რნმ-სთან დაკავშირებული აღანინის ჩართვას პოლიპეპტიდში და შეესატყვისება მხოლოდ ცისტეინს, ზემოაღნიშნული წესით მიღებული $^{14}$C -აღანილ-ტ-რნმ-კომპლექსიდან ამინომჟავა (ე.ი. აღანინი) პოლიპეპტიდში ჩაირთო. ამ მახვილგონიერი ექსპერიმენტით დადასტურდა, რომ ამა თუ იმ ამინომჟავის ჩართვა პოლიპეპტიდში დამოკიდებულია სპეციფიკური ტ-რნმ- საგან

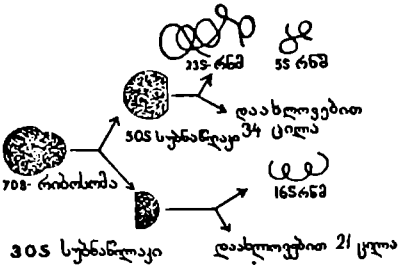
რიბოსომები და ციღის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა. ამინომჟავების დაკავშირება და პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა ხდება რიბოსომებზე — უწვრილეს წარმონაქმნებზე, რომლებიც განლაგებულია უჯრედის ენდოპლაზმური ბადის მემბრანების გარე ზედაპირზე. მათი რაოდენობა უჯრედში ძალიან დიდია და, მაგალითად, ნაწლავის ჩხირში 10000-ს აღემატება. რიბოსომა რთული და უაღრესად სპეციალიზირებული სტრუქტურაა (სურ. 25 ).




სურ. 25. რიბოსომის აღნაგობის სქემა.

პროკარიოტული რიბოსომის (ნაწლავის ჩხირის მაგალითზე) დიამეტრი დაახლოებით 200Å -ია, მოლეკულური მასა შეადგენს 2500 კდალტონს, ხოლო სედიმენტაციის კოეფიციენტი 70 s-ს. ელექტრონულ მიკროსკოპში რიბოსომაზე კარგად ჩანს ღარი, რაც მიუთითებს, რომ იგი შედგება ორი. დიდი (50s) და პატარა (30s) სუბერთეულისაგან. არეში მაგნიუმის იონების კონცენტრაციის ძლიერი შემცირებისას რიბოსომა დისოცირდება შემადგენელ

სუბერთეულებად და შეიძლება გავაცალკეოთ სათანადო ცენტრიფუგირებით სიმკვრივის გრადიენტში. დისოციაცია შექცევადია: არეში მაგნიუმის იონების კონცენტრაციის გაზრდით სუბერთეულები კვლავ რეასოცირდებიან მთლიან რიბოსომად.




სურ.26 პროკარიოტული რიბოსომის შედგენილობა.

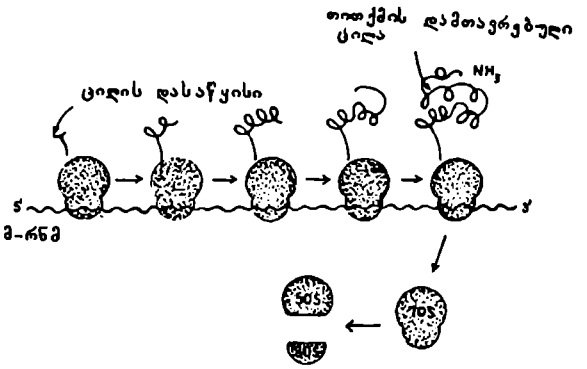
სურ. 26-ზე გამოსახულია პროკარიოტული რიბოსომის შედგენილობა. როგორც სურათიდანს ჩანს, რიბოსომის ორიოული სუბერთეული შედგება რ-რნმ-სა და ციღებისაგან. 30 s -სუბერთეული შეიცავს 21 მოლეკულა ციღასა და ერთ მოლეკულა 16s რნმ-ს; 50 s -სუბერთეული შეიცავს დაახლოებით 34 მოლეკულა ციღასა და 2 მოლეკულა რნმ-ს (23s და 5s). მთლიანად ნაწღავის ჩხირის რიბოსომაში ორი მესამედი რნმ-ა, ხოლო ერთი მესამედი ციღა.

ეუკარიოტული უჯრედის რიბოსომები ზომით ოდნავ ჭარბობენ პროკარიოტულ რიბოსომებს. მათი მოლეკულური მასაა 4500 კდალტონი, ხოლო სედიმენტაციის კოეფიციენტია 80s. ბაქტერიული რიბოსომის მსგავსად, ეუკარიოტული რიბოსომაც დისოცირდება (თუმცა შედარებით ძნელად) ორ დიდ (60s) და პატარა (40 s)სუბერთეულად. პატარა სუბერთეული შეიცავს ერთ მოლეკულა 18s რნმ-ს, ხოლო დიდი სუბერთეული სამ მოლეკულა რნმ-ს, რომელთა სედიმენტაციის კონსტანტებია 28s, 7s და 5 s. საყურადღებოა, რომ მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტების რიბოსომები განსხვავდებიან ეუკარიოტული უჯრედების რიბოსომებისაგან და მათი სედიმენტაციის კონსტანტა 55s და 80s -ს შორის

მერყეობს. საერთოდ, მიტოქონდრიებისა და ქloროპლასტების რიბოსომები მეტად ჰგვანან ბაქტერიების რიბოსომებს. დიდად მსგავსია ამ ორგანელებსა და ბაქტერიის უჯრედში მიმდინარე ციღის სინთეზის პროცესებიც.

1968 წელს იაპონელმა მკვლევარმა მ. ნომურამ შეძლო რიბოსომის 30S ფუნქციურად აქტიური სუბერთეულის რეკონსტრუქცია 16 s რნმ-სა და 21 მოლეკულა ციღისაგან. რამდენიმე წლის შემდეგ შეძლეს 50 s სუბერთეულის რეკონსტრუქციაც. ამ ცდებით ნათელი გახდა, რომ მთელი ინფორმაცია რიბოსომის აწყობისათვის ამავე წარმონაქმნის სტრუქტურაში შედის და რომ აწყობისათვის საჭირო არ არის სხვა არარიბოსომული ფაქტორები. ამრიგად, შეიძლება ითქვას, რომ რიბოსომების წარმოქმნა in vitro თვითაწყობის პროცესია. ამასთან, ადვილი შესამჩნევია, რომ რიბოსომების რეკონსტრუქციის პროცესის შეცვლით შეგვიძლია პასუხი გავცეთ მეტად მნიშვნელოვან კითხვას, სახელდობრ: რიბოსომის ესა თუ ის კომპონენტი საჭიროა აწყობისათვის თუ ფუნქციონირებისათვის.

მრნმ-ს ერთი მოლეკულის ტრანსლაციაში მონაწილეობს რამდენიმე რიბოსომა, რაც მნიშვნელოვნად ზრდის მრნმ-ს ფუნქციონირების ეფექტურობას. რიბოსომების ჯგუფს, რომელიც შეკრებილია ერთი მოლეკულა მ-რნმ-ით პოლირიბოსომებს ანუ პოლისომებს უწოდებენ. ამ კომპლექსში შემავალი რიბოსომები ფუნქციონირებენ ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად და ყოველი მათგანი სინთეზირებს ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს. რიბოსომები მოძრაობენ მ-რნმ-ს მოლეკულაზე 5' → 3' მიმართულებით. მ-რნმ-ს მოლეკულაზე რიბოსომების მაქსიმალური სიმჭიდროესას ერთ რიბოსომაზე მოდის დაახლოებით 80 ნუკლეოტიდი. სხვადასხვა ციღების სინთეზს სხვადასხვა რაოდენობის რიბოსომების შემცველი პოლისომები ემსახურება. ასე, მაგალითად, ჰემოგლობინის ერთი ჯაჭვის სინთეზს, რომელიც 145 ამინომჟავას შეიცავს, ხოლო მისი შესაბამისი მ-რნმ 500 ნუკლეოტიდისაგან შედგება, განაპირობებს 5 რიბოსომისაგან შემდგარი პოლისომა. ის რიბოსომები, რომლებიც უფრო ახლოს არიან მ-რნმ-ს 5' -ბოლოსთან, ყველაზე მოკლე პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს ატარებენ, ხოლო 3' - ბოლოსთან ახლოს განლაგებულ რიბო-




სურ. 27 პოლირიბოსომის ფუნქციონირებისა და ცილის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის სქემა

სომებთან თითქმის უკვე დასრულებული ჯაჭვებია. წარმოქმნილი დასრულებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მოცილების შემდეგ რიბოსომები დისოცირდებიან შემადგენელ სუბერთეულებად.

ცილის სინთეზისათვის დაწყების ადგილი განსიაზღვრება ორი ტიპის ურთიერთდამოკიდებულებით: მ-რნმ-ს შეწყვილებით რიბოსომის 16 s -რნმ-ს 3' - ბოლოსთან და ე.წ. ინიციატორულ ტ-რნმ-სთან. დადგენილია, რომ რიბოსომებზე განლაგებულ მ-რნმ-ს მოლეკულაში ინიციაციის სიგნალ-საწყისს წარმოადგენს კოდონი აუგ ან გუგ. ცილის სინთეზი იწყება მ-რნმ-ს ასოციაციით, რიბოსომის 30 S სუბერთეულით და ფორმილმეთიონინის ტ-რნმ-ით. ისინი წარმოქმნიან ე.წ. ინიციაციის 30 s კომპლექსს. ამ კომპლექსის წარმოქმნაში მონაწილეობს გტფ (როგორც ენერგიის წყარო) და სამი ცილოვანი ფაქტორი, რომლებიც აღინიშნება როგორც IF -1, IF -2 და IF -3. მათ გარდა აღწერილია ცილოვანი ბუნების ფაქტორი EF-Tu, რომელიც მონაწილეობს ელონგაციაში, კერძოდ განაპირო-

ბებს ამინოაციდ ტ-რნმ-ს კომპლექსის გადატანას რიბოსომის A უბანთან და აგრეთვე ფაქტორი EF-G , რომელიც მონაწილეობს ტრანსლოკაციაში. ტარანსლოკაციისას ხდება სამი გადაადგილება: დაუტვირთავი ტ-რნმ ტოვებს რიბოსომის P უბანს, პეპტიდილ-ტ-რნმ გადადის A -უბნიდან P-უბანზე და მ-რნმ გადაიწევს სამი ნუკლეოტიდით. შედეგად მომდევნო კოდონი იკავებს საჭირო ადგილს სათანადო ტრანსლაციისათვის. აღსანიშნავია, რომ ელონგაციის სტადია ინიციაციასთან შედარებით უფრო ჩქარა მიმდინარეობს.

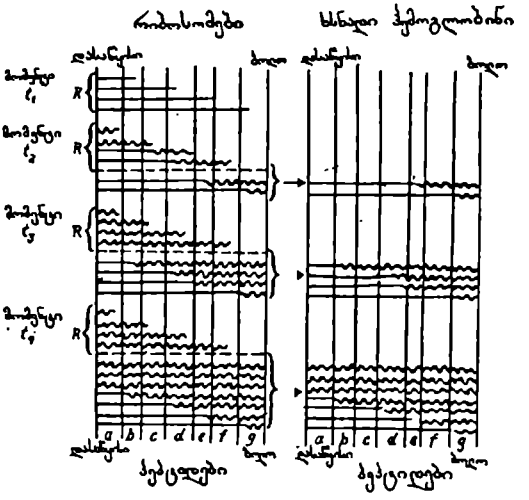
ტერმინაციისას ხდება პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დამთავრება, რასაც განაპირობებს ე.წ. სტოპ-კოდონი ანუ ტერმინაციის კოდონ-სიგნალი. დამთავრებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი სცილდება რიბოსომას. იდუნტიფიცირებულია პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ტერმინაციაში მონაწილე ზოგიერთი ფაქტორი, რომლებიც აგრეთვე ცილოვანი ბუნებისა აღმოჩნდა. ერთ-ერთი ასეთი ფაქტორია RF -I, რომელიც ცნობილობს კოდონებს უაა-ს ან უაგ-ს; ფაქტორი RF -2 ცნობილობს უაა-ს ან უგა-ს.

საინტერესოა, რომ ბევრი პოლიპეპტიდი მნიშვნელოვნად მოდიფიცირდება ტრანსლაციის შემდეგ. კერძოდ, მას შეიძლება მოცილდეს ფორმილური ჯგუფი ან რამდენიმე ამინომჟავა N-ბოლოზე, მოდიფიცირდეს ზოგიერთი ამინომჟავა- ჰიდროქსილირდეს, ფოსფორილირდეს, მიიერთოს შაქრები ან სხვა პროსტეტული ჯგუფები. ზოგჯერ ხდება პეპტიდური ჯაჭვის სპეციფიკური დახლეჩაც. მაგალითად, პროკოლაგენი გარდაიქმნება კოლაგენად, პროინსულინი— ინსულინად და ა.შ. პოლიომის ვირუსის მ-რნმ ტრანსლირდება ძალიან გრძელ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვად,რომელიც შემდეგში რამდენიმე ცალკეულ ცილად ჰიდროლიზდება.

<u>პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის მიმართულება.</u> ცილის ბიოსინთეზის მექანიზმში მნიშვნელოვანია პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის მიმართულება. შეიძლება წარმოვიდგინოთ, რომ ცილის ბიოსინთეზისას პოლიპეპტიდური ჯაჭვი მატულობს N-ბოლოდან C -ბოლოსაკენ ამინომჟავების მიკავშირებით, ან პირუკუ— C-ბოლოდან N -ბოლოსაკენ, ანდა ისე, რომ ერთი ცენტრალური წერტილიდან ამინომჟავები პოლიპეპტიდს ორივე მიმართულებით ემატება. ამ კითხვაზე

პასუხი გასცა ჰ.დინცისმა უაღრესად ნატიფი ექსპერიმენტებით. ექსპერიმენ-ტების წარმატების ერთ-ერთი ფაქტორი ის იყო,რომ პროცესი შეისწავლებოდა კურდღლის რეტიკულოციტებში. რეტიკულოციტები მოუმწიფებელი ერითროციტებია, რომლებშიც ერითროციტებისაგან განსხვავებით ინტენსიურად მიმდინარეობს ცი-ღლის სინთეზი. ამასთან აქ ძირითადად სინთეზირდება ერთი ცილა— ჰემოგლობი-ნი, რომლის სტრუქტურა კარგად არის შესწავლილი. რეტიკულოციტების მიღება საკმაოდ იოლია ცხოველებში ფენილჰიდრაზინის შეყვანით. ამ დროს ცხოველს ემართება ანემია: მომწიფებული ერითროციტები იშლება და სისხლში გროვდება რეტიკულოციტები. საყურადღებოა, რომ რეტიკულოციტებში რიბოსომები და პოლი-სომები თავისუფლადაა და მიმაგრებული არ არიან ენდოპლაზმური ბადის მემბ-რანაზე, როგორც ეს მაგალითად, ღვიძლის უჯრედებშია.

ჰ.დინცისი რეტიკულოციტებს აინკუბირებდა $37^0$ C -ზე რადიოაქტიურ ($^3$H) ამინომჟავებთან სხვადასხვა ხანგრძლივობით და გულდაგულ იკვლევდა სინთეზი-რებულ პროდუქტებს ჰემოგლობინის სინთეზის საწყისი ფრაგმენტებიდან დასრუ-ლებულ მოლეკულამდე. უპირველეს ყოვლისა ავტორი პოლიპეპტიდის C -ბოლოზე ნა-ხულობდა მიკავშირებულ ტ-რნმ-ს, რაც თავიდანვე მოწმობდა იმაზე, რომ პოლი-პეპტიდური ჯაჭვი იზრდება N -ბოლოდან C -ბოლოს მიმართულებით. სინჯები, რომელსაც მკვლევარი იღებდა ინკუბაციის დაწყებიდან სხვადასხვა დროის გას-ვლის შემდეგ, გამოყოფდა ჰემოგლობინს და აგრეთვე რიბოსომებს, რომლებსაც ჯერ არ ჰქონდა მოცილებული გლობინის დაუმთავრებელი ჯაჭვები. როგორც ჰემო-გლობინს- ისე მის დაუმთავრებელ ჯაჭვს, რომლებსაც აცილებდა რიბოსომებს, ცაღ-ცაღკე ამუშავებდა ტრიპსინით, რის შემდეგაც ჰიდროლიზის პროდუქტებს აანალიზებდა ქაღალდის ქრომატოგრაფიითა და ელექტროფორეზით. ქრომატოგრამა-ზე აღმოჩენილ ღაქებს, რომლებიც შეესატყვისება სხვადასხვა პეპტიდებს,ელუ-ირებდა ცაღ-ცაღკე და საზღვრავდა მათ რადიოაქტივობას. ამ ხერხით გაანალი-ზებული იყო ჰემოგლობინის 31 პეპტიდი. როგორც ჰემოგლობინში რადიოაქტივო-ბის ჩართვის საბოლოო ანალიზმა აჩვენა, (სურ. 28 ), ინკუბაციის პირველ




სურ. 28 პოლიპეპტიდური ჯაჭვის თანამომდევრობითი ზრდის სქემა

სწორი ხაზებით გამოსახულია პოლიპეპტიდების მოუნიშნავი ჯაჭვები, ხოლო ტალღური ხაზებით აღნიშნულია რადიოაქტიური პოლიპეპტიდები, რომლებიც წარმოიქმნება საინკუბაციო არეში რადიოაქტიული ამინომჟავების დამატების შემდეგ ინკუბაციის გარკვეულ მომენტში ($t_1$, $t_2$, $t_3$, $t_4$). R -ით აღნიშნულია დაუმთავრებელი პეპტიდური ჯაჭვები, რომლებიც ჯერ კიდევ რიბოსომებთან არიან დაკავშირებული. ასოებით a, b, c და ა.შ. აღნიშნულია პეპტიდური ფრაგმენტები, რომლებიც მიიღება ტრიპსინით ჰიდროლიზის შემდეგ. როგორც სათანადო ექსპერიმენტების ამსახველი სქემიდან ჩანს, საინკუბაციო არეში რადიოაქტიული ამინომჟავების შეტანის შემდეგ რადიოაქტივობას თავდაპირველად ვნახულობთ C -ბოლო პეპტიდებში, შემდეგ შუაში და ბოლოს - თავისუფალი გლობინის N-ბოლო პეპტიდებში. თუ საინკუბაციო არეში რადიოაქტიული ამინომჟავები შეტანილია დასაწყისშივე, მაშინ რიბოსომაზე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის N-ბოლო რადიოაქტიულია ჯაჭვის სინთეზის დაწყებისთანავე.

წუთებში ნიშანდებული აღმოჩნდა C-ბოლოსთან ახლოს მდებარე პეპტიდები. უფრო ხანგრძლივი ინკუბაციის შემდეგ რადიოაქტივობა ჩნდება ჯაჭვის შუა უბნებშიც,

ხოლო შემდეგ N-ბოლოსთან ახლოს მდებარე პეპტიდშიც.დაუმთავრებელი ჯაჭვის ჰიდროლიზით მიღებულ პეპტიდში ჩნდება პირუკუ სურათი:რადიოაქტიული ამინომჟავების დამატების შემთხვევაში რადიოაქტივობა იყო პოლიმერის N-ბოლო პეპტიდში.ყოველივე აქედან ავტორმა გააკეთა სრულიად ადეკვატური დასკვნა, რომ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა-ზრდა ხდება N-ბოლოდან C-ბოლოს მიმართულებით.

შემდგომში ანალოგიური ექსპერიმენტები ჩატარდა რიბონუკლეაზის წარმოქმნაზე კუჭქვეშა ჯირკვლის უჯრედებში და ლიზოციმის წარმოქმნაზე ქათმის კვერცხსაცლის უჯრედებში.ამ ცდების შედეგებმაც დაადასტურეს ზემოაღნიშნული დასკვნა.

ცილის ბიოსინთეზის მექანიზმების შესწავლისას წარმატებით გამოიყენება სხვადასხვა ანტიბიოტიკები,რომლებიც სპეციფიკურად თრგუნავენ ამ პროცესის გარკვეულ სტადიებს.მაგალითად,სტრეპტომიცინი,რომელიც ქიმიურად ფუძე ბუნების ტრისაქარიდს წარმოადგენს,ხელს უშლის ფორმილ-მეთიონილ-ტ-რნმ-ს დაკავშირებას რიბოსომასთან და ამით არღვევს ცილის სინთეზის სწორ ინიციაციას.იგი ამასთანავე იწვევს მ-რნმ-ს არასწორ წაკითხვას.ასე,მაგალითად,თუ ცილის სინთეზის სისტემაში მატრიცად გამოიყენება პოლი-უ-ს,რომელიც ,როგორც გენეტიკური კოდის დადგენილი ცხრილიდან ციცით (იხ.გვ.121 ), განაპირობებს ფენილალანინის ჩართვას (უუუ),სტრეპტომიცინის თანაობისას ირთვება იზოლეიცინი (ამ უკანასკნელის მაკოდირებელი ტრიპლეტია აუუ).ნაჩვენებია,რომ სტრეპტომიცინისადმი მგრძნობელობის დეტერმინანტი არის განსაკუთრებული ცილა,რომელიც შედის რიბოსომის 30 s სუბნაწილაკის შედგენილობაში.

ცილის სინთეზის სხვა ინჰიბიტორებიდან აღსანიშნავია ანტიბიოტიკი პუ-

---

+ ჰემოგლობინის ტრიპსინით ჰიდროლიზის შედეგად წარმოიქმნება 32 პეპტიდი, რომელთა თანამიმდევრობითი განლაგება და ცალკეული პეპტიდების შედგენილობა კარგად არის ცნობილი.

რომიცინი,რომელიც ქიმიურად ამინოაციდ-ადენოზინის ამინოაციდ ტ-რნმ-ს ბოლო უბნის ანალოგს წარმოადგენს.იგი უკავშირდება რიბოსომის A-უბანს და ამით ხელს უშლის ამინოაციდ-ტ-რნმ-ს დაკავშირებას.გარდა ამისა,იგი შეიცავს a-ამინოჯგუფს,რომელიც,ამინოაციდ-ტ-რნმ-ს მსგავსად,წარმოქმნის პეპტიდურ ბმას მზარდი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის კარბოქსილის ჯგუფთან,წარმოქმნილი პეპტიდილ-პურომიცინი სცილდება რიბოსომას.პურომიცინის გამოყენებამ მნიშვნელოვნად შეუწყო ხელი რიბოსომის ფუნქციური მდგომარეობის შესწავლას,კერძოდ,ამ უმნიშვნელოვანესი წარმონაქმნის A და P -უბნების არსებობის კონცეფციის დადგენას.

პროკარიოტებში ცილის სინთეზს თრგუნავს ტეტრაციკლინი,რომელიც უკავშირდება რიბოსომების 30s - სუბნაწილაკს და ამით ხელს უშლის ამ სუბნაწილაკთან ამინოაციდ-ტ-რნმ-ს დაკავშირებას.ქლორამფენიკოლი თრგუნავს რიბოსომის დიდი სუბნაწილაკის პეპტიდილტრანსფერაზულ აქტივობას პროკარიოტებში.იგივე მოქმედებას ამჟღავნებს ციკლოჰექსიმიდი ეუკარიოტების რიბოსომების დიდ სუბერთეულში.საინტერესოა ერითრომიცინი,რომელიც პროკარიოტებში სპეციფიკურად უკავშირდება რიბოსომების 50S სუბნაწილაკს და ინჰიბირებს ტრანსლაციას.

ამრიგად,ცილის სინთეზი წარიმართება დნმ-ში კოდირებული ინფორმაციის მიხედვით.ამ პროცესში მონაწილეობს 100-ზე მეტი სახეობის მაკრომოლეკულა. პროცესი იწყება ამინომჟავის აქტივაციით,რაც მდგომარეობს იმაში,რომ ამინომჟავა ჯერ უერთდება ატფ-ს (ამინოაციდ-ადენილატი),შემდეგ მოცემული ამინომჟავისადმი სპეციფიკურ ტ-რნმ-ს და წარმოიქმნება ამინოაციდ-ტ-რნმ.ორივე ამ რეაქციას განაპირობებენ სპეციალური გამააქტივებელი ფერმენტები - ამინოაციდ-ტ-რნმ-სინთეტაზები.ყოველი ამინომჟავისათვის არსებობს არანაკლებ ერთი სახის ასეთი ფერმენტი და სპეციფიკური ტ-რნმ.ყველანაირი სახის ტ-რნმ პრინციპულად მსგავსი აღნაგობისაა.მოლეკულა შეიცავს დაახლოებით 80 ნუკლეოტიდს და ზოგიერთ მოდიფიცირებულ აზოტოვან ფუძეს.ნუკლეოტი-

·დური ძაფი მრავალნაირად მიმოიხვევა და წარმოქმნის ნეკერჩხლის ფოთლის მსგავს ფორმას, რომელშიც ფუძეთა დაახლოებით ნახევარი შეწყვიტებულია. სხვადასხვა მეთოდებით, მათ შორის რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით, დადგენილია, რომ ტ-რნმ-ს მოლეკულას აქვს რამდენიმე ფუნქციური უბანი. 3' ბოლო, რომელიც ამინომჟავას იკავშირებს, ყოველთვის მთავრდება ცცა-ით. მ-რნმ-ს კოდონს გამოიცნობს და სპეციალურად უკავშირდება ტ-რნმ-ს ანტიკოდონური უბანი. ზოგიერთი ტ-რნმ ცნობილია ერთზე მეტ კოდონს. ეს იმიტომ ხდება, რომ მესამე ფუძეს შედარებით ნაკლები მნიშვნელობა აქვს („ქანაობა"). ციტის სინთეზი ხდება რიბოსომებზე, რომლებიც შედგება დიდი და პატარა სუბნაწილაკებისაგან. ყოველი მათგანის მასის ორი მესამედი რნმ-ს წილად მოდის, ხოლო ერთი მესამედი ცილაა. პროკარიოტების, კერძოდ ნაწლავის ჩხირის, რიბოსომა შედგება 30 s და 50 s სუბნაწილაკისაგან (70s, მოლ. მასა 2500 კდალტონი), ხოლო ეუკარიოტული რიბოსომების სუბნაწილაკებია 40 s და 60 s (80 s, მოლ. მასა 4500 კდალტონი).

ცილის სინთეზი მოიცავს სამ ძირითად ეტაპს- ინიციაციას, ელონგაციასა და ტერმინაციას. დასაწყისში მ-რნმ, ფორმილმეთიონინ-ტ-რნმ და რიბოსომის 30s სუბნაწილაკი წარმოქმნის ე.წ. ინიციაციის 30s -კომპლექსს. ტრანსლაციის დაწყების სიგნალია კოდონი აუგ (ან გუგ).

პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ზრდა ხდება N-ბოლოდან C-ბოლოსაკენ. ცილის სინთეზის ტერმინაციას განაპირობებენ სპეციალური ცილოვანი ფაქტორები, რომლებიც ცნობილობენ კოდონებს უაა-ს, უგა-ს და უაგ-ს. ცილის სინთეზის სხვადასხვა სტადიები შეგვიძლია შერჩევითად დავთრგუნოთ სხვადასხვა ტოქსინებით და ანტიბიოტიკებით, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს ამ პროცესის მექანიზმების შესწავლისათვის. საინტერესოა, რომ პეპტიდური ანტიბიოტიკები და ზოგიერთი მოკლე პეპტიდი სინთეზირდება რიბოსომებისა და მატრიცის გარეშე, რაც ქიმიურად ცხიმოვანი მჟავების სინთეზს წააგავს.

## თავი VII

## გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი  კ ო დ ი

ზოგადი ცნობები. უჯრედში სინთეზირებული ნებისმიერი ცილის ბუნება განისაზღვრება დნმ-ს გარკვეულ უბანზე წარმოქმნილი მ-რნმ-ს მოლეკულის ბუნებით. დანარჩენი სისტემები ემსახურება დნმ-ში ჩაწერილი გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციას.

როგორც დნმ-ს სტრუქტურიდან ვიცით, მისი (აგრეთვე რნმ-ს) მოლეკულა აშენებულია ოთხნაირი ტიპის მონომერებისაგან— ნუკლეოტიდებისაგან, ხოლო სხვადასხვა ცილებში ოცნაირი სახის ამინომჟავას ვხვდებით. როგორ ხდება ოთხნაირი ტიპის ნუკლეოტიდური წყობის მიერ ოცნაირი ამინომჟავის რიგითი წყობის შექმნა ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში? სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, როგორ კოდირდება ცილის მშენებარე პოლიპეპტიდში ამინომჟავების თანამიმდევნობის გაწყობა მ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური წყობით, რომელიც დნმ-ს გარკვეულ მონაკვეთზე ტრანსკრიბირდება? ნუკლეოტიდების რომელი ჯგუფი შეესაბამება ამა თუ იმ ამინომჟავას?

პირველი ჰიპოთეზები ამ ე.წ. გენეტიკური კოდის შესახებ გამოითქვა 50-იანი წლებში, ხოლო ექსპერიმენტულად გაირკვა და გადაწყდა 60-იანი წლების დასაწყისში გენეტიკური და ბიოქიმიური ცდებით.

უბრალო გათვლიდანაც აშკარაა, რომ რადგანაც ნუკლეოტიდები ოთხი სახისაა, ხოლო ამინომჟავების წაირგვარობა ოცია, ერთი ნუკლეოტიდი არ შეიძლება შეესაბამებოდეს ანუ კოდირებდეს ერთ ამინომჟავას. თუ დავუშვებთ, რომ ერთი ამინომჟავის რიგით ადგილს მომავალ პოლიპეპტიდში განაპირობებს ორი სხვადასხვა ნუკლეოტიდი, მაშინ ოთხნაირი ნუკლეოტიდის შესაძლო მეზობლობა შეიძლება იყოს $4^2=16$, რაც აგრეთვე არ კმარა 20 ამინომჟავის კოდირებისათვის, ე.ი. კოდი არ შეიძლება იყოს დიპლეტური. 1954 წელს გ. გამოვმა გამოთქვა ჰიპოთეზა, რომლის თანახმადაც ერთ ამინომჟავას უნდა შეესატყვისებოდეს არანაკლებ სამი ნუკლეოტიდი. თუ დავუშვებთ, რომ ყოველი ამინომჟავის

ადგილს მომაცად ციღაში განაპირობებს სამი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი ფრაგმენტი, ე.ი. კოდი ტრიპლეტურია, მაშინ მიიღება ნუკლეოტიდების 64 კომბინაცია, რადგან $4^3 = 64$, რაც 20-ნაირი ამინომჟავის კოდირებისათვის საჭირო რაოდენობას ბევრად სჭარბობს.

ასეთი ჭარბი ტრიპლეტების არსებობა ორნაირად შეიძლებოდა ახსნილიყო: ან მხოლოდ 20 ტრიპლეტს აქვს მნიშვნელობა, ე.ი. კოდირებს ამა თუ იმ ამინომჟავას და დანარჩენი 44 ტრიპლეტი „უაზროა", ან ესა თუ ის ამინომჟავა შეიძლება კოდირდებოდეს ერთზე მეტი ტრიპლეტით და ამ შემთხვევაში კოდი „გადაგვარებულია". გარდა ამისა, ტრიპლეტური კოდი შეიძლებოდა ყოფილიყო გადაუხურავი, როცა ერთი და იგივე ნუკლეოტიდი მონაწილეობს სამ და ორ მაკოდირებელ ტრიპლეტში (შესაბამისად-მეტად გადახურვადი და ნაკლებად გადახურვადი) ან ყოფილიყო გადაუხურვადი, როცა ნუკლეინის მჟავას ჯაჭვში დამოუკიდებლად მაკოდირებელი ტრიპლეტები ერთმანეთს ემეზობლება და გაყოფილიც კი შეიძლება იყვნენ არამაკოდირებელი ნუკლეოტიდებით. აქვე აღსანიშნავია, რომ იმ ფაქტის არსებობა, რომლის მიხედვითაც წერტილობრივი მუტაცია — ერთი ნუკლეოტიდის ცვლილება ნუკლეინის მჟავას ჯაჭვში, — როგორც წესი, იწვევს მხოლოდ ერთი ამინომჟავის შეცვლას, მიუთითებდა კოდის გადახურვადობის შეხედულების წინააღმდეგ. გადახურვადი კოდი უეჭველად გამოიწვევდა შეზღუდვებს პოლიპეპტიდში ამინომჟავების მეზობლობის შესაძლებლობაში, რაც სინამდვილეში არ შეიმჩნეოდა ცილების პირველადი სტრუქტურის ანალიზისას. ამრიგად, უფრო სარწმუნოდ ჩანდა, რომ კოდი გადაუხურვადი უნდა ყოფილიყო.

კოდის ბუნების დადგენისათვის ექსპერიმენტულად ყველაზე სწორი გზა უნდა ყოფილიყო ერთის მხრივ დნმ-ს გარკვეული მონაკვეთისა და მასზე ტრანსკრიბირებული მ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის, ხოლო მეორეს მხრივ შესაბამისად კოდირებულ პოლიპეპტიდში ამინომჟავების თანამიმდევნობის განსაზღვრა. ეს შესაძლებელს გახდიდა ყოველი ამინომჟავის მაკოდირებელი ნუკლეოტიდების რაობისა და რიცხვის დადგენას. ასეთი მოდელები მართლაც

შემუშავდა (თუმცა შეუარებით გვიან), რომელთაც უააუასტურეს, რომ,მაგალითად , ბაქტერიოფაგებში რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა შეესატყვისება მათ ციღებში (პოლიპეპტიდებში) ამინომჟავების რიგით წყობას. ეს გაკეთებული იქნა არაპირდაპირი, მაგრამ მახვილგონიერი ცდების საფუძველზე.

<u>კოდის გაშიფვრის გენეტიკური ექსპერიმენტები.</u> პირველი ექსპერიმენტული მონაცემები ეკუთვნის სტანფორდის უნივერსიტეტის (აშშ) პროფესორს ჩ.იანოვსკის, რომელმაც აღმოაჩინა, რომ გენში მუტაციის ადგილმდებარეობა ცვლის მის პოლიპეპტიდურ პროდუქტში ამინომჟავას. მკვლევარი შეისწავლიდა ფერმენტ ტრიპტოფანსინთეტაზის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის მაკოდირებელი გენის მუტაციას ნაწლავის ჩხირში. აღმოჩნდა, რომ პოლიპეპტიდში ამინომჟავის შეფარდებითი ადგილმდებარეობის შეცვლა ემთხვევა შესატყვისი მუტაციის ადგილმდებარეობას. მან გამოიყო მრავალი მუტანტი ამ ციღის მიხედვით და ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში საზღვრავდა მუტაციის შედეგად შეცვლილი ამინომჟავის მდებარეობას. ამასთან ერთდროულად ადგენდა მუტაციის ადგილს დნმ-ში მეტად ნატიფი გენეტიკური ცდებით, რომლებიც რეკომბინაციებს ემყარება. I6 შესწავლილ შემთხვევაში შესანიშნავად დაემთხვა წინასწარი ვარაუდები - მუტაცია გენში და ამინომჟავის პოზიციის შეცვლა შესატყვის მომენტში. ნატიფი გენეტიკური ცდებით, რომლებიც ჩაატარეს ინგლისელმა მკვლევარებმა ს.ბრენერმა და ფ.კრიკმა ბაქტერიოფაგ T 4-ის მუტანტებზე დამაჯერებლად იქნა ნაჩვენები კოდის ტრიპლეტურობა. ისინი შეისწავლიდნენ აღნიშნული დაგის ე.წ. ამბერ-მუტაციებს, რომლის დროსაც კაფსიდური ციღები ბოლომდე არ წარმოიქმნებიან. ამბერ-მუტაციები იწვევენ ციღის სინთეზის ნაადრევ ტერმინაციას. შესაბამის გენში მუტაციის ადგილმდებარეობასთან დამოკიდებულებით, სრული ციღის მაგიერ წარმოიქმნება მეტნაკლებად გრძელი ფრაგმენტები ს.ბრენერმა ზუსტად განსაზღვრა ყოველი მუტაციის ადგილმდებარეობა და შესაბამისი პოლიპეპტიდის სიგრძე, რომელიც ამა თუ იმ მუტანტს წარმოექმნება. აღმოჩნდა, რომ რაც უფრო ახლოა მუტაცია მოცემული ციღის მაკოდირებელი გენის

წაკითხვის დასაწყისთან, მით უფრო მოკლეა პოლიპეპტიდური ფრაგმენტი.

საერთოდ, ცდებში ბაქტერიოფაგების გამოყენებამ გაამარტივა ანალიზი, რადგანაც მათით ბაქტერიული უჯრედის ინფიცირების შემდეგ მასპინძელი უჯრედის ციღების სინთეზი წყდება და იწყება შეჭრილი ფაგის დნმ-ს მიერ გაპირობებული ციღების— ე.ი. ფაგის ციღების— წარმოქმნა. მუტანტური ფაგით დასნებოვნებისასაც ბაქტერიის უჯრედში თითქმის მთლიანად კაფსიდური ციღა წარმოიქმნება, რაც ადვილად ფიქსირდება რადიოაქტიური ამინომჟავების თანაბისას. საამისოდ საკმარისია უჯრედის ექსტრაქტი დამუშავდეს ტრიფსინით და შედარდეს მიღებული რადიოაქტიური პეპტიდები ნორმალური კაფსიდური ციღის ანალოგიური ხერხით დაშლილ პეპტიდებთან. ამ შედარებით მარტივი მეთოდით შესაძღებელი გახდა იმ პოლიპეპტიდური ჯაჭვების სიგრძის განსაზღვრა, რომლებიც სხვადასხვა მუტანტური ფაგებით წარმოიქმნება. ასეთი ექსპერიმენტებით დამაჯერებლად დადასტურდა გენებისა და მათით გაპირობებული ციღების კოლინეარობა.

უაღრესად საინტერესოა ხსენებული მკვლევრების ექსპერიმენტები ფაგი T4 -ის ე.წ. rII უბანზე. მათ ნახეს, რომ ფაგის გენომში ერთი ან ორი წყვილი ნუკლეოტიდის ჩამატებისას ან ამოგდების (დელეციის) შედეგად, რაც მეთოდურად ხორციელდება აკრიდინოვანი საღებავების, კერძოდ პროფლავინის, გამოყენებით, წარმოიქმნება ანომალური ციღა დარღვეული ფუნქციით. ამასთანავე, თუ ჩაუმატეთ ან ამოვაგდეთ სამი წყვილი ნუკლეოტიდი, სინთეზირებულ ციღებს უმეტესწილად შენარჩუნებული აქვთ ბიოლოგიური აქტივობა. ექსპერიმენტული მასალის ანალიზის საფუძველზე ავტორები იმ დასკვნამდე მივიდნენ, რომ გენეტიკური კოდი იკითხება დისკრეტული ჯგუფებით— სამ-სამი ნუკლეოტიდით. თუ სამეულში ჩამატებულია ან გამოკლებულია ერთი ან ორი ნუკლეოტიდი, ხდება წასაკითხი ჩარჩოს გადაწევა, რაც იწვევს კოდონების სრულიად ახალი თანამიმდევნობის გამოყენებას. ამას კი შედეგად მოჰყვება ამინომჟავების ფუნქციურ მნიშვნელობას მოკლებული თანამიმდევნობა. ხოლო იმ შემთხვევაში, თუ

მოხდება ჩამატება ან დელეცია სამი წყვილი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი ჯგუფისა, მაშინ წარმოქმნილ ცილაში ერთი ამინომჟავა იქნება მეტი ან ნაკლები და მისი ბიოლოგიური აქტივობაც შენარჩუნებული დარჩება.

<u>კოდის გაშიფვრის ბიოქიმიური ექსპერიმენტები.</u> გენეტიკური კოდისა და ნუკლეოტიდური ტრიპლეტების „აზრის" გაშიფვრაში უიფი მნიშვნელობა იქონია ბიოქიმიურმა ექსპერიმენტებმაც, რომელთა ავტორებმაც – მ.ნირენბერგმა და გ.მატეიმ 1961 წელს აღმოაჩინეს, რომ ხელოვნურად სინთეზირებული პოლინუკლეოტიდები შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს მ–რნმ–ს მაგიერ ცილის სინთეზის უჯრედგარე სისტემაში (იხ.გვ.94,ნირენბერგის სისტემა).მანამდე ს.ოჩოას ლაბორატორიაში მომუშავე სტაჟორმა საფრანგეთიდან მ.გრიუნბერგ–მონაგომ აღმოაჩინა ფერმენტი პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზა, რომელსაც შესწევს უნარი წარმოქმნას პოლირიბონუკლეოტიდი (რნმ) რიბონუკლეოზიდდიფოსფატებიდან (იხ.გვ. 63). რეაქცია არ მოითხოვს მატრიცას, მაგრამ ყველაზე საინტერესო ისაა,რომ ფერმენტს არ ესაჭიროება ოთხივე ნუკლეოტიდი და შეუძლია წარმოქმნას პოლირიბონუკლეოტიდი ერთი სახის რიბონუკლეოზიდდიფოსფატიდანაც, მაგალითად ადფ–დან — პოლიადენილის მჟავა (პოლი–ა), გდფ–დან — პოლიგუანილის მჟავა (პოლი–გ) და ა.შ., რაც ბუნებაში არ არსებობს. ტრანსლაციის უჯრედგარე სისტემაში პოლი–უ–ს შეტანისას მ.ნირენბერგმა და გ.მატეიმ მიიღეს მხოლოდ ფენილალანინისაგან შემდგარი პოლიპეპტიდი — პოლიფენილალანინი, რაც ბუნებაში აგრეთვე არ არსებობს. ასევე, პოლი–ა–თი მიიღეს პოლილიზინი, პოლი–ცთი – პოლიპროლინი. შემდგომში კვლევა გაგრძელდა იმ მიმართულებით, რომ გარკვეულიყო სხვადასხვა ესა თუ ის სინთეზური პოლიჰეტერონუკლეოტიდი რომელ ამინომჟავას კოდირებდა. საამისოდ გამოიყენებოდა გარკვეული შეფგენილობის სინთეზური სტატისტიკური ჰეტერონუკლეოტიდები, რომლებიც შეიცავენ სუბსტრატული ნუკლეოზიდფოსფატების წინასწარდადგენილ კრებულს სხვადასხვა შეფარდებით პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზურ რეაქციაში. ამ ხერხით, მაგალითად, ნაჩვენები იყო, რომ სტატისტიკური პოლიმერი პოლი – (უ–ც) კოდირებს ოთხი ამინომჟავის — ფენილალანინის ლეიცინის,

სერინისა და პროლინის ჩართვას პოლიპეპტიდში. ამასთან, თუ პოლინუკლეოტიდში შეფარდება უ:ც იყო I:I, მაშინ ამინომჟავები პოლიპეპტიდში ჩაირთვებოდა თანაბარი აღბათობით. თუ აღნიშნული შეფარდება იყო 5:I, მაშინ ამინომჟავების ჩართვის აღბათობა იყო ფენილალანინი > ლეიცინი= სერინი > პროლინი. ამრიგად, ფენილალანინი უნდა კოდირდებოდეს ტრიპლეტებით, რომლებიც შეიცავენ სამ უ-ს, ან ორ უ-სა და ერთ ც-ს; ლეიცინი და სერინი უნდა კოდირდებოდეს ტრიპლეტებით, რომლებიც შეიცავენ ორ უ-სა და ერთ ც-ს, ან ორ ც-სა და ერთ უ-ს; პროლინი უნდა კოდირდებოდეს ტრიპლეტებით, რომლებიც შეიცავენ სამ ც-ს, ან ორ ც-სა და ერთ უ-ს. ცხადია, რომ ამ მეთოდით შეიძლებოდა დადგენილიყო მხოლოდ მაკოდირებელი ტრიპლეტების შედგენილობა და არა მათი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რადგან გამოყენებული მატრიცული პოლინუკლეოტიდების თანამიმდევნობა სტატისტიკური იყო.

მაღე მ.ნირენბერგმა და ფ.ლედერმა შექმნეს ახალი ხერხი ტრიპლეტებში ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის გაშიფვრისათვის. აღმოჩნდა, რომ მაკოდირებელი თვისება გააჩნია ინდივიდურ ტრინუკლეოტიდებს. ამასთან, თუ ეს უკანასკნელი დაკავშირებულია რიბოსომასთან, იგი არედან არჩევითად აკავშირებს რიბოსომას ამინოაცილ-ტ-რნმ-სთან. ასე, მაგალითად, ტრიპლეტი უუუ და უუც რიბოსომასთან აკავშირებს ფენილალანინ-ტ-რნმ-ს, უცუ და უუც— სერილ-ტ-რნმ-ს, ცცუ და ცუც— ლეიცილ-ტ-რნმ-ს, ცცუ და ცცც—პროლილ-ტ-რნმ-ს.

სხვადასხვა კოდონების „აზრი" საბოლოოდ დადგინდა მას შემდეგ, რაც გ. კორანამ დაამუშავა ე.წ. პერიოდული თანაპოლიმერების ანუ სასურველი ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის მქონე პოლინუკლეოტიდების მიღების მეთოდი და გამოიყენა იგი მატრიცებად უჯრედგარე სისტემებში რიბოსომებზე პოლიპეპტიდების სინთეზისათვის. ასეთი თანაპოლიმერები შეიცავდა ორი ან სამი ტიპის კოდონებს (მაგალითად, გუგუგუ...., ააგააგ...., გუუგუუ....,). კოდთან სრული შესატყვისობით აღმოჩნდა, რომ პოლი-(უ-ც)-ის გამოყენება მატრიცად იძლეოდა პოლიპეპტიდს, რომელიც აგებული იყო სერინისა და ლეიცინის მორიგეო-

ბით, ხოლო პოლი-(უ-გ)-ით სინთეზირებულ პოლიპეპტიდში მორიგეობდა ცეცინი და ცისტეინი; პოლი-(ა-ა-გ) კოდირებდა სამ პომოპოლიმერს—პოლილიზინს, პოლიარგინინსა და პოლიგლუტამინის მჟავას.

მრავალნაირი გენეტიკური და ბიოქიმიური ექსპერიმენტით 1966 წლისათვის გენეტიკური კოდი მთლიანად იქნა გაშიფრული. მისი თანამედროვე სახე ცხრილის ფორმით მოყვანილია ცხრილში 8.

ცხრილი 8

გენეტიკური კოდის ცხრილი*

| პირველი ასო ($5^I$) | მეორე ასო | | | | მესამე ასო ($3^I$) |
|---|---|---|---|---|---|
| | უ | ც | ა | გ | |
| უ | ფენ | სერ | ტირ | ცის | უ |
| | ფენ | სერ | ტირ | ცის | ც |
| | ლეი | სერ | — | — | ა |
| | ლეი | სერ | — | ტრი | გ |
| ც | ლეი | პრო | ჰის | არგ | უ |
| | ლეი | პრო | ჰის | არგ | ც |
| | ლეი | პრო | გლმ | არგ | ა |
| | ლეი | პრო | გლმ | არგ | გ |
| ა | ილე | ტრე | ასპ | სერ | უ |
| | ილე | ტრე | ასპ | სერ | ც |
| | ილე | ტრე | ლიზ | არგ | ა |
| | მეთ | ტრე | ლიზ | არგ | გ |
| გ | ვალ | ალა | ასპ | გლი | უ |
| | ვალ | ალა | ასპ | გლი | ც |
| | ვალ | ალა | გლუ | გლი | ა |
| | ვალ | ალა | გლუ | გლი | გ |

* ცხრილში (აგრეთვე წრიულ ცხრილში, სურ. 29) აზოტოვანი ფუძეების სახელწოდებანი აღნიშნულია მათი პირველი ასოთი, ხოლო ამინომჟავებისა- პირველი სამი ასოთი.

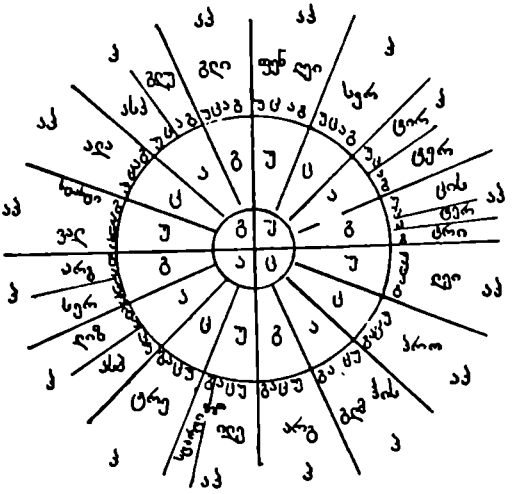
კოდის ზოგადი თვისებები. როგორც ტაბულიდან ჩანს, კოდის ზოგადი თვისებებიდან უ.ყ. გამოისახება მისი სპეციფიკურობა: ერთი და იგივე კოდონი კოდირებს მხოლოდ ერთ ამინომჟავას. მხოლოდ ორი შემთხვევაა ცნობილი, როცა ტრიპლეტი დამატებით დატვირთვას ატარებს. ეს ტრიპლეტებია გუგ (ვალინისა) და აუგ (მეთიონინისა), ისიც მაშინ, როცა ისინი რნმ-ს სატრანსლაციო მონაკვეთის დასაწყისში არიან განლაგებული. ნაჩვენებია, რომ 64 ტრიპლეტიდან სამი - უაა, უაგ და უგა არცერთ ამინომჟავებს არ კოდირებს, რისთვისაც მათ უაზრო ანუ ნონსენს-კოდონებს უწოდებენ. თუმცა ფუნქცია მაინც აქვთ: ემსახურებიან პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის დამთავრებას. მათზე მიერთებულია ცილოვანი ფაქტორები, რომლებიც განაპირობებენ მზა პოლიპეპტიდის მოცილებას რიბოსომიდან. ამრიგად, კოდირებაში მონაწილეობს 61 ტრიპლეტი.

კოდის შემდეგი თვისებაა მისი „გადაგვარებულობა", რადგან ზოგიერთი ამინომჟავას რამდენიმე ტრიპლეტი შეესაბამება. როგორც ირკვევა, ასეთი სიჭარბე ემსახურება ინფორმაციის სისტემის მდგრადობას, რაგანაც ტრიპლეტი შეიძლება დაზიანდეს სხვადასხვა მუტაციური ფაქტორების ზემოქმედებით.

ტაბულაში მოყვანილი ცნობები გენეტიკური კოდის შესახებ უფრო ნათელი გახდება, თუ მათ წრიული ტაბულის ფორმით გამოვსახავთ (სურ. 29).

როგორც მე-8 ცხრილში, ისე სურ. 29-ზე გამოსახული ტაბულიდან ჩანს, რომ კოდონის მესამე მუგომარეობაში ფუძის შეცვლა რვა ამინომჟავის კოდირებაზე რაიმე გავლენას არ ახდენს - არ იწვევს ამინომჟავის შეცვლას ციდაში. თუკი ეს მაინც მოხდა, ასეთი შენაცვლება არ ცვლის ამინომჟავის პოლარობას. კოდის ეს თავისებურებანი, როგორც ჩანს, ასახავს მის ევოლუციას. 26 ტრიპლეტში ერთი ერთი პირიმიდინის შეცვლა მეორეთი, ან ერთი პურინის შეცვლა მეორეთი ასევე არ მოქმედებს კოდის სპეციფიკაზე. უნივერსალურია მეთიონინისა და ტრიპტოფანის კოდონები.

ყველა კოდონი გამოიცნობა ტ-რნმ-ს ანტიკოდონის მიერ, გარდა ზემოხსენებული სამი ნონსენს-კოდონისა. როგორც ვთქვით, ეს უკანასკნელნი ტრანსლირების



სურ.29 .გენეტიკური კოდის ტაბულა წრიული ფორმით.ასოები შიგა წრეში გამოსახავენ კოდონების პირველ პოზიციას,მეორეში —მეორე პოზიციას, მესამეში— მესამეს. ტერ— ტერმინატორი,სტარტი— კოდონ—ინიციატორი, პ— პოლარული, აპ— არაპოლარული ამინომჟავების ნარჩენები.

ტერმინაციის ნიშნებს წარმოადგენენ.მ-რნმ-ს კოდონებისა და ანტიკოდონების ურთიერთობა ექვემდებარება არაერთმნიშვნელოვანი შესატყვისობის წესებს, რომელიც ფ.კრიკმა ჩამოაყალიბა.ამ წესის თანახმად,ზოგიერთ ანტიკოდონს შეუძლია გამოიცნოს ერთზე მეტი კოდონი იმის მიხედვით,თუ რომელი ფუძეა განლაგებული კოდონის მესამე მდგომარეობის შესატყვისი ანტიკოდონის პირველ მდგომარეობაში,მაგალითად ანტიპარალელური ურთიერთმოქმედების გამოვლისწინებით.

ერთი ტიპის ტ-რნმ-ს ურთიერთმოქმედებანი რამდენიმე კოდონთან აღმოჩენილია უჯრედგარე სისტემებში, ამასთანავე დადასტურებულია უშუალო გენეტიკური ექსპერიმენტებით.

პროკარიოტებში მ-რნმ-ს დასაწყისში განლაგებულია თანამიმდევნობა $5^{I}$-აგგაგგუ-$3^{I}$, რომელსაც შაინ-დელგარნოს თანამიმდევნობას უწოდებენ, მის აღმომჩენთა პატივსაცემად. როგორც ირკვევა, ეს თანამიმდევნობა აუცილებელია ტრანსლაციის ნორმალური დაწყებისათვის. აქვე აღსანიშნავია, რომ ტრანსლაციის ინიციაცია ჩვეულებრივ იწყება ამ თანამიმდევნობიდან 4—7 ნუკლეოტიდის შემდეგ, მიმართულების მიხედვით. როგორც ჩანს, შაინ-დელგარნოს თანამიმდევნობას ცნობილობს რიბოსომის მცირე სუბერთეული I6 s რ-რნმ-ს $3^{I}$-ბოლოთი, ფუძეთა კომპლემენტური თანამიმდევნობის მიხედვით.

შაინ-დელგარნოს თანამიმდევნობის დელეციები ან ცვლილებანი მკვეთრად ამცირებენ შესატყვისი მ-რნმ-ს ტრანსლაციის ეფექტურობას ბაქტერიებში. ნაჩვენებია, რომ როგორც პრო-, ისე ეუკარიოტებში ტრანსლაციის სიგნალად ფუნქციონირებს მეთიონინის კოდონი აუგ, თუკი იგი მ-რნმ-ს დასაწყისში მდებარეობს. ამ შემთხვევაში მას ცნობილობს სპეციალური მაინიცირებელი ფორმილმეთიონინის (ბაქტერიებში) ან მეთიონინის (ეუკარიოტებში) ტ-რნმ. ინიციაციის დაწყებას ემსახურება აგრეთვე გუგ და უგგ. ეს ურთიერთობა ხდება რიბოსომაზე, სახელდობრ მის ამინრაციულ ცენტრზე (ანუ ა-ცენტრზე), რომელიც უპირატესად რიბოსომის მცირე სუბერთეულზე მდებარეობს.

როგორც ადრე აღნიშნეთ, პოლიპეპტიდის ელონგაცია ხდება ამინომჟავათა შორის პეპტიდური ბმების წარმოქმნით, ამასთან, პოლიპეპტიდური ჯაჭვი იზრდება N-ბოლოდან C-ბოლოსაკენ. პროცესი გრძელდება მანამდე, ვიდრე რიბოსომა არ შეხვდება მ-რნმ-ში არსებულ ერთ-ერთ ტერმინატორს სამიდან. ტერმინაციის დასასრულს პოლიპეპტიდი და ტ-რნმ სცილდებიან ერთმანეთს, გამოთავისუფლებული მ-რნმ და რიბოსომის სუბერთეული ჩაირთვება ტრანსლაციის ინიციაციის ახალ ციკლში.

მ-რნმ-ს შედგენილობაში კოდონები ყოველთვის მიმართულია ნუკლეოტიდის $5^{I}$-ბოლოსაკენ. იგი ამასთანავე გადაუხურავია, ე.ი. კოდური ტრიპლეტები მთლიანად ტრანსკრიბირდებიან ისე, რომ თანამიმდევნო ტრიპლეტებში მოცემული ნ-

კლეოტიდი მეზობელი ტრიპლეტის შენებაში არ მონაწილეობს. ქვემოთ გამოსახულია გადაუხურვადი (ა) და გადახურვადი (ბ) კოდის სქემა:

ა. გადაუხურვადი კოდი  ბ. გადახურვადი კოდი

ტრიპლეტებს — უაა-სა და უაგ-ს, შესაბამისად, „ოხრასა" და „ქარვას" უწოდებენ, რადგანაც, როგორც ირკვევა, ისინი მონაწილეობენ ე.წ. სუპრესორულ მუტაციებში.

კოდის ცხრილში არაა აღნიშნული ტრიპლეტები ამინომჟავების — ოქსიპროლინისა და ოქსილიზინისათვის (შედიან ციდა კოლაგენში), ლიზინისა და სერინის ზოგიერთი აცეტილირებული ნაწარმი და ა.შ. ამ ამინომჟავათა მოდიფიცირება, როგორც ჩანს, ტრანსლაციის შემდეგ ხდება.

თავდაპირველად გენეტიკური კოდი დადგინდა ბაქტერია ნაწლავის ჩხირზე. შემდგომი გამოკვლევებით დადასტურდა, რომ კოდი ყველა სახის ცოცხალ ორგანიზმში — პროკარიოტში თუ ეუკარიოტში — პრინციპულად ერთნაირია. ეს იმას ნიშნავს, რომ ყველგან კოდური მნიშვნელობის ერთი და იგივე კრებულები გამოიყენება, ე.ი. კოდი უნივერსალურია. ასეთი დასკვნის სასარგებლოდ მრავალი არგუმენტი არსებობს. მაგალითად, ნაჩვენებია, რომ პოლი-უ ერთნაირად სტიმულირებს ფენილალანინის ჩართვას უჯრედგარე სისტემაში როგორც ბაქტერიული, ისე ცხოველური წარმოშობის რიბოსომებისა და ფერმენტების თანაობისას; ასევე, პოლი-ც უზრუნველყოფს პროლინის ჩართვას, პოლი-ა ჰისტიდინს ლიზინს და ა.შ., ციდის სინთეზის ყოველნაირი წარმოშობის სისტემაში.

პემოგლობინის სინთეზისას უჯრედგარე სისტემაში, რომელშიც რიბოსომები და მ-რნმ იყო კურდღლის რეტიკულოციტებიდან, ხოლო ტ-რნმ და ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზები — ბაქტერია ნაწლავის ჩხირიდან, სასანადო ექსპერიმენტული ანალიზით აღმოჩნდა, რომ სინთეზირებული პროდუქტი კურდღლის პემოგლობინის იდენტურია. გამომდინარე ტ-რნმ-ს ანტიკოდონებისა და მ-რნმ-ს კოდონების კო-

მპლემენტარობის პრინციპიდან, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ კურდღლის მ-რნმ-ს კოდონები შეესატყვისებიან იმავე ამინომჟავებს, რასაც ნაწლავის ჩხირის მ-რნმ-ს კოდონები.

თუ ნაწლავის ჩხირის იპისომებს, რომლებიც ფერმენტ ტუტე ფოსფატაზის გენს შეიცავენ, შევიყვანთ Serrutia marcescens -ის უჯრედში, სადაც ეს გენი არაა, მაშინ ამ უკანასკნელში სინთეზირდება ნაწლავის ჩხირის იდენტური ტუტე ფოსფატაზა. ცნობილია ასეთი მაგალითიც: ბაქტერიოფაგ ξg-ის რნმ წარმართავს ამ ფაგის გარსის სინთეზს უჯრედგარე სისტემაში. ამასთან, ფაგის ნორმალური ციკლი მიიღება მაშინაც, როცა ამ სისტემაში შეაქვთ საფუვრის უჯრედებიდან გამოყოფილი ამინოაცილ-ტ-რნმ.

საყურადღებოა ის გარემოება, რომ სხვადასხვა ორგანიზმთა გენომების ფუძეთა შედგენილობა გაცილებით მეტად განსხვავდება ერთმანეთისაგან, ვიდრე შესაბამისი ციკლების ამინომჟავური შედგენილობა. აქედან გამომდინარეობს, რომ სხვადასხვა სახეობების ორგანიზმებში კოდონი-სინონიმების განსხვავებული კრებულები გამოიყენება, ანუ, სხვანაირად, ერთი და იგივე ამინომჟავას რამდენიმე სხვადასხვა ტრიპლეტი კოდირებს. კოდის ამ თვისებას გადაგვარებულობას (ან სიმახინჯეს) უწოდებენ.

კოდის უნივერსალობაში ცხადდება გამონაკლისებს. კერძოდ, ცნობილია, რომ ესა თუ ის ტრიპლეტი ზოგიერთ სისტემაში ჩვეულებრივისაგან განსხვავებულად ფუნქციონირებს. მაგალითად, საფუვრების, ადამიანისა და ხარის მიტოქონდრიებში ტრიპლეტი უგა, რომელიც ჩვეულებრივ ტერმინატორია, ე.ი. განაპირობებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დამთავრებას, კოდირებს ტრიპტოფანს; საფუვრებში ტრიპლეტი ცუგ, რომელიც ჩვეულებრივ ლეიცინს შეესატყვისება, კოდირებს ტრეონინს; ძუძუმწოვრებში აუა-ს მნიშვნელობა იგივეა, რაც აუგ-ისა და კოდირებს მეთიონინს იზოლეიცინის მაგიერ; კოდონები აგა და აგგ ასრულებენ ტერმინატორის ფუნქციას, მაშინ, როდესაც ჩვეულებრივ არგინინს კოდირებენ. როგორც ჩანს, ეს გარემოება იმით აიხსნება, რომ მიტოქონდრიებში ციკლის სისტემა

გარკვეული თავისებურებით გამოირჩევა,რასაც უკავშირებენ ამ ორგანელთა ეგზოგენური წარმოშობის შეხედულებას უჯრედში.როგორც ცნობილია,მიტოქონდრიული გენომი შედარებით მცირე ინფორმაციული ტევადობისაა,იგი მთელი ორგანელის ციღების შედარებით მცირე ნაწილს კოდირებს,მიუხედავად ამისა,რომ მას გააჩნია საკუთარი ტ-რნმ (22 სახისა,დაახლოებით) და რ-რნმ.საყურადღებოა,რომ მიტოქონდრიებში ტრანსლაციის პროცესში ტ-რნმ-ს შერჩევისას რეალურად გამოიყენება კოდონის პირველი ორი ფუძე და მესამის მდგომარეობას მნიშვნელობა არა აქვს.

კოდის უნივერსალობიდან გადახრა აღმოჩენილია ერთუჯრედიან ორგანიზმში —ფოსტალაში ( Paramecium primaurelis ),სადაც უაა კოდირებს გლუტამინის მჟავას,ჩვეულებრივ კი ტერმინატორია.

მიუხედავად ზოგიერთი გადახრისა, გენეტიკური კოდის უნივერსალობა საყოველთაოა.ციღის სინთეზის მექანიზმები და მისი პროდუქცია,მ-რნმ-ს მონაწილეობის ჩათვლით ამ პროცესებშიანალოგიურ მეტყველებს,რომ ინიციაციისა და ტერმინაციის კოდონები განაპირობებენ გენეტიკური ინფორმაციის გენურ დისკრეტულობას.

## თ ა ვ ი VIII

## გ ე ნ ო მ ი ს ო რ გ ა ნ ი ზ ა ც ი ა დ ა ფ უ ნ ქ ც ი ო ნ ი- რ ე ბ ი ს რ ე გ უ ლ ა ც ი ა ე ი რ უ ს ე ბ ს ა დ ა პ რ ო კ ა რ ი ო ტ ე ბ შ ი

ზოგადი ცნობები. უჯრედის გენეტიკური პოტენციალის გამოვლენის საბოლოო ობიექტია ნაირგვარი ტიპის რნმ-ების სპეციფიკური მოლეკულებისა და მათი შესატყვისი სპეციფიკური ციღების სინთეზი. სადღეისოდ ციღის ბიოსინთეზის ნატიფი მექანიზმები კარგად არის შესწავლილი (იხ. თავი VI). მაგრამ ცოცხალ უჯრედში ერთდროულად არ სინთეზირდება ყველა ციღა, მათ შორის ფერმენტი, რომელთა წარმოქმნაც უჯრედს პოტენციურად შეუძლია. ცვალებადია უჯრედის ცალკეულ ციღათა რაოდენობაც. ამასთან, ზოგიერთი ფერმენტი წარმოიქმნება მხოლოდ მაშინ, როცა იგი უჯრედს სჭირდება. როგორც ირკვევა, ცოცხალი უჯრედისათვის საჭირო ნივთიერებათა ბიოსინთეზის რაოდენობრივ და თვისობრივ მხარეს განაპირობებენ განსაკუთრებული რეგულატორული მექანიზმები, რაც დაკავშირებულია გენომის ორგანიზაციასთან.

ციღების ნაირგვარობა უჯრედში ძალიან დიდია. მაგალითად, ნაწლავის ჩხირის ერთ უჯრედში 2000-ზე მეტი სახის ციღა შედის. რომელიმე მათგანი უკონტროლოდ რომ სინთეზირდებოდეს, მაღე მისი რაოდენობა 5%-ს მიაღწევდა, ე.ი. შეუძღებელი გახდებოდა სხვა ციღების წარმოქმნა.

ყოველ ერთუჯრედიან ორგანიზმს, ან მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის ყოველ უჯრედს გააჩნია ამ სახეობის შესატყვისი გენეტიკური საფუძვლების კრებული გარკვეული ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის მქონე დნმ-ს სახით. დნმ-ს მთელი მოლეკულა, მისი გენების კრებული — გენომი, ერთდროულად მთლიანად არ ფუნქციონირებს როგორც გენეტიკური სუბსტრატი — მატრიცა; სხვადასხვა პერიოდში, ან სხვადასხვა ტიპის სპეციალიზირებულ უჯრედებში, აქტიურად მოქმედებენ ანუ ტრანსკრიბირდებიან სხვადასხვა უბნები (ლოკუსები) სპეციფიკური ფუნქციური ტიპის რნმ-ების სახით, რის საბოლოო შედეგია უჯრედის სიცოცხლის მოცემული მომენტისა და საერთოდ ამ ტიპის უჯრედისათვის საჭირო ციღების

სინთეზი. ამრიგად, მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატის — დნმ-ს ამა თუ იმ უბნის, ე.ი. გენის ან გენების ჯგუფის აქტივაცია მდგომარეობს იმაში, რომ იგი იწყებს რნმ-ს სინთეზს.

როგორაა ორგანიზებული გენომი? რა ფაქტორები განაპირობებენ ამა თუ იმ გენის ან გენების ჯგუფების ამოქმედება - დათრგუნვას? როგორია ამ პროცესის მოლეკულური მექანიზმები?

საკითხის ექსპერიმენტული შესწავლისათვის ყველაზე მოხერხებული აღმოჩნდა ვირუსები და მიკროორგანიზმები. მიკროორგანიზმებს ეუკარიოტულ უჯრედთან შედარებით გაცილებით მარტივი აღნაგობა აქვთ. ე.ი., მათ არ გააჩნიათ ბირთვი და მემკვიდრეობის ქიმიური სუბსტრატი — დნმ დიფუზურადაა განლაგებული მთელს უჯრედში. ამიტომაცაა, რომ რეპლიკაციის, ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესები სიერცობრივად მკვეთრად არაა გამიჯნული. მნიშვნელოვანი ფაქტორია ისიც, რომ ეუკარიოტებისაგან განსხვავებით, მათში დნმ თითქმის არაა დაკავშირებული ცილებთან ან სხვა ნაერთებთან და პრაქტიკულად „შიშველია". ამასთან მთელი გენომი დნმ-ს ერთი მოლეკულაა,ნიშან-თვისებანიც ძირითადად ბიოქიმიურია და მათ უჯრედში ადვილი აღმოსაჩენია ამა თუ იმ ცილა-ფერმენტის თანაობა სპეციფიკური აქტივობის მიხედვით. ყველაზე ამან განაპირობა ის გარემოება, რომ ზემოხსენებული საკითხები პირველად მიკროორგანიზმებზე გაირკვა.

რაც შეეხება ვირუსებს, ისინი თავიანთი ბუნებით ცოცხალისა და არაცოცხალის მიჯნაზე დგანან და თავიანთ ცხოველქმედებას მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში მოხვედრისას ამჟღავნებენ. მათი გენომი, რომელიც დნმ-სა და ზოგჯერ რნმ-ს წარმოადგენს, ყველაზე მარტივი აღნაგობით გამოირჩევა. ამიტომ ისინი მეტად მოხერხებული ობიექტები აღმოჩნდნენ მემკვიდრეული სუბსტრატის სტრუქტურისა და ფუნქციონირების მექანიზმების შესწავლისათვის, თუმცა მათზე მიღებული ცნობები და კანონზომიერებანი არაა საკმარისი ეუკარიოტული გენომის შესახებ მსჯელობისათვის.

<u>ვირუსების გენომის ბუნება.</u> ვირუსები წარმოადგენენ უწვრილეს სხე-

ულაკებს (ისინი ადვილად გადიან ფილტრის ფორებს, მაშინ, როდესაც ბაქტერიები ფილტრზე რჩებიან), რომლებიც შედგებიან ნუკლეინის მჟავებისა და ცილებისაგან. უჯრედებისაგან განსხვავებით, მათ არ შესწევთ ენერგიის გამომუშავების უნარი თანმხლები მეტაბოლური რეაქციებით, არც ცილის სინთეზი შეუძლიათ და, როგორც აღვნიშნეთ, ცხოველქმედებას მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში ამჟღავნებენ. მას შემდეგ, რაც ვირუსი უჯრედში მოხვდება, ამ უკანასკნელში მთელი ნივთიერებათა ცვლა გარდაიქმნება იმგვარად, რომ იწყება ახალი ვირუსებისათვის საჭირო ნივთიერებების სინთეზი. ისეთ ვირუსებს, რომლებიც ერთუჯრედიან ორგანიზმებში, კერძოდ, ბაქტერიებში პარაზიტობენ, ფაგებს ანუ ბაქტერიოფაგებს უწოდებენ. ვირუსის უჯრედშიგა გამრავლების პროდუქტი ვირიონი ანუ ვირუსის ნაწილაკია. ვირიონის შემადგენელი ნუკლეინის მჟავა ჩაცმულია ცილოვანი კაფსიდით, რომელიც იცავს ფერმენტული დაშლისა და მექანიკური დაზიანებისაგან. კაფსიდი უზრუნველყოფს ნუკლეინის მჟავას ჩანერგვას მგრძნობიარე უჯრედ-მასპინძლის უჯრედებში. ზოგიერთი რთული აღნაგობის ვირუსში კაფსიდი შემოვლებულია ლიპიდისა და გლიკოპროტეიდის შემცველი გარსით.

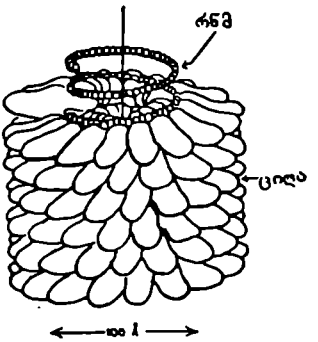
ვირუსების შემადგენელი ნუკლეინის მჟავა დნმ ან რნმ-ა. ორივე სახის ნუკლეინის მჟავას ერთდროულად არცერთი ვირუსი ან ფაგი არ შეიცავს.

ვირუსების შესწავლისადმი ინტერესი ძალიან დიდია განსაკუთრებით იმიტომ, რომ ისინი იწვევენ მრავალნაირ დაავადებას მცენარეებში, ცხოველებში და ადამიანებში. ზოგიერთი ვირუსი მონაწილეობს ავთვისებიანი ზრდის — კიბოს წარმოქმნაში. ამასთან, იმის გამო, რომ ვირუსების გენომი შედარებით მარტივი აღნაგობისაა, იგი მეტად მოხერხებული აღმოჩნდა საერთოდ მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატის ბუნების ნატიფი აღნაგობისა და ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლისათვის. ვირუსებში გენების რაოდენობა შედარებით ცოტაა. მაგალითად, კიბოს წარმომქმნელ ანუ ონკოგენურ ვირუსებში სულ 4–5 გენია, რომელთაგან უშუალოდ ავთვისებიანი ზრდის ინდუქციაში მონაწილეობს 1–2 გენი. ეს გარემოება

დიდ იმედებს იძლევა ავთვისებიანი ზრდის მექანიზმების საბოლო გარკვევაში, თუმცა საფლეისოდაც ამ მხრივ მიღწევები თვალსაჩინოა.

ვირუსის შეჭრა უჯრედში და სწრაფი გამრავლება, რასაც თან ახლავს გენების ფუნქციონირების თანამომდევნობის გამოხატულება და მაკრომოლეკულების წარმოქმნა შეწყობილ სტრუქტურებად, შესანიშნავი მოდელია უჯრედის განვითარების, მასპინძელი-პარაზიტის ურთიერთდამოკიდებულებისა და სხვა უმნიშვნელოვანესი საკითხების მოლეკულური ასპექტების კვლევისათვისაც.

წვრილი ვირუსების გარსი შედგება მრავალი იდენტური ცილოვანი სუბერთეულისაგან.ამ ცილების შემადგენელი ამინომჟავების რიცხვი ყოველთვის შეტია მისი გენომის ნუკლეოტიდთა რიცხვზე. მაგალითად,თამბაქოს მოზაიკის ვირუსის (თმვ) ცილოვანი გარსი შეიცავს 340000 ამინომჟავას, ხოლო რნმ, რომელიც ერთძაფიანი მოლეკულაა, სულ 6400 ნუკლეოტიდისაგან შედგება (სურ.30 ).




სურ. 30 . თმვ-ს ნაწილაკის მოდელი, რომელზეც ნაჩვენებია ცილოვანი სუბერთეულის სპირალური განლაგება რნმ-ს ერთძაფიანი მოლეკულის გარშემო.

ცხრილში 9 მოყვანილია ზოგიერთი ვირუსის გენომის დამახასიათებელი თავისებურებანი.

ცხრილი 9

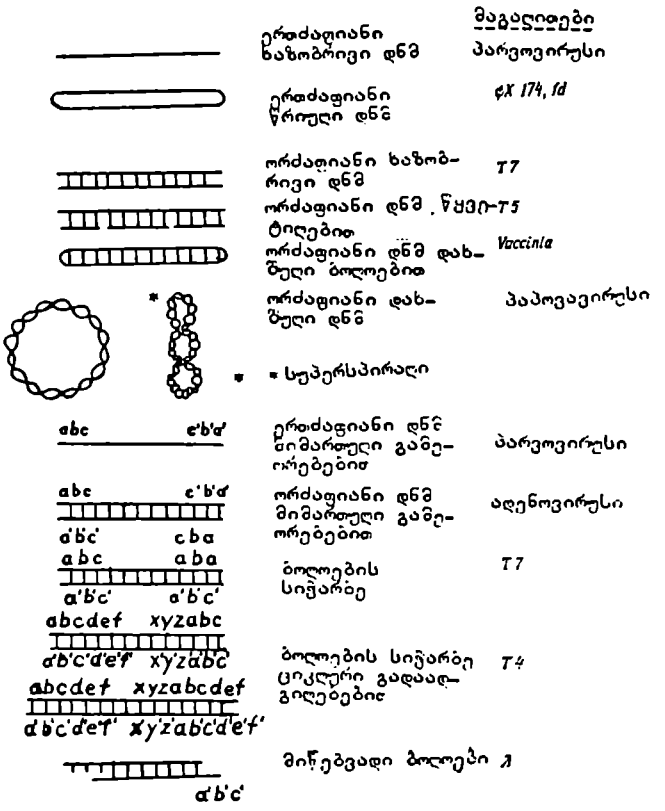
ზოგიერთი ვირუსის გენომი დამახასიათებელი თავისებურებანი

| წარმომდგენელი | მასპინძელი | შემადგენელი ნუკლეინის მჟავა | ფუძეთა რაოდენობა | მოლეკულური მასა, $X10^{-6}$ | გენების რიცხვი |
|---|---|---|---|---|---|
| ფაგი $\phi$X174 | ნაწლავის ჩხირი | დნმ, წრიული, ერთძაფიანი | 5386 | 1.7 | 5 (9) |
| პოლი ომის ვირუსი | ძუძუმწოვრები | ,, , წრიული, ორძაფიანი | 5292 | 3 | 6 |
| აღენოვირუსი 2 | ძუძუმწოვრები | | 3600 | 9.0 | 30 |
| ფაგი T 4* | ნაწლავის ჩხირი | | 182000 | 120 | 165 |
| ცრეხის ყვავილის ვირუსი | | | | | 240 |
| ფაგი ლამბდა | | | 49000 | | 60 |
| მაიმუნის ვირუსი ( SV-40) | | | 5243 | 30 | |
| პოლიომის ვირუსი | ძუძუმწოვრები | დნმ, ორძაფიანი, წრიული | | 3 | |
| ფაგი Qb | | რნმ, ორძაფიანი | | | 3(4) |
| რაუსის სარკომის ვირუსი (RSV ანუ AVS) | | | | | 4 |
| ლამპაქის მოზაიკის ვირუსი (ომე) | | რნმ, ხაზობრივი, ერთძაფიანი | 6400 | | 6 |
| პოლიომიელიტის ვირუსი | | რნმ, ერთძაფიანი | | 2.2 | 8 |
| გრიპის ვირუსი | | | | | 12 |
| რეოვირუსი | | ორძაფიანი | | 12 | 22 |

რეკომბინაციური ანალიზი (ე.წ.სამი და ოთხფაქტორიანი შეჯვარების გამოყენებით) ნაჩვენებია, რომ 4 ფაგის გენეტიკური რუკა რგოლური ფორმისა. წინააღმდეგობა ფაგის დნმ-ს ხაზობრივობისა და მისი გენეტიკური რუკის რგოლურ ფორმებს შორის გაირკვა გენეტიკური და ფიზიკური ექსპერიმენტებით, რომლებმაც აჩვენეს, რომ ფაგ 2-დან გამოყოფილი დნმ-ს ხაზობრივი მოლეკულები ორივე ბოლოზე შეიცავენ ერთნაირი ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის მქონე უბნებს (ბოლოების სიგრძე), ხოლო გენების წყობა მოლეკულაში იძლევა ციკლური გადაადგილებების შესაძლებლობას.

აღსანიშნავია, რომ ღამბდა ფაგისა და მაიმუნის ვირუსის გენომებს შეუძლიათ ჩაეშენონ მასპინძლის გენომში.

სხვადასხვა ვირუსების დნმ-ების ფორმა (აღნაგობა) ნაირგვარია (სურ 31).




სურ. 31. სხვადასხვა ვირუსების დნმ-ების ფორმა

განსაკუთრებით საინტერესოა ხაზობრივი მოლეკულის ბოლოები, რომლებსაც, როგორც წესი, ახასიათებთ ამა თუ იმ ტიპის გამეორებანი. ისინი შეიძლება იყოს შებრუნებული სახისა, ან პქონდეთ ბოლოების სიგრძეზე ციკლური გადაადგილებები (პერმუტაციები), ან მათს გარეშე.

ფაგ ლამბდას დნმ-ს აქვს ე.წ. მიწებვადი ბოლოები (სურ. 31), ე.ი. ერთძაფიანი და ერთმანეთის მიმართ კომპლემენტური ბოლოები. ეს თითქოსდა უცნაური გარემოება გასაგები ხდება დნმ-ს რეპლიკაციის პროცესის გათვალისწინებით: დნმ-პოლიმერაზას არ შეუძლია ფუნქციონირება დნმ-ს თავისუფალ ბოლოებზე. ცხადია, აქ საჭიროა დამატებითი მექანიზმები იმასათვის, რომ დაიწყოს და დამთავრდეს ხაზობრივი მოლეკულის რეპლიკაცია. აღსანიშნავია, რომ წრიული მოლეკულის შემთხვევაშიც დნმ-ში არის სპეციფიკური უბნები, სადაც იწყება რეპლიკაცია.

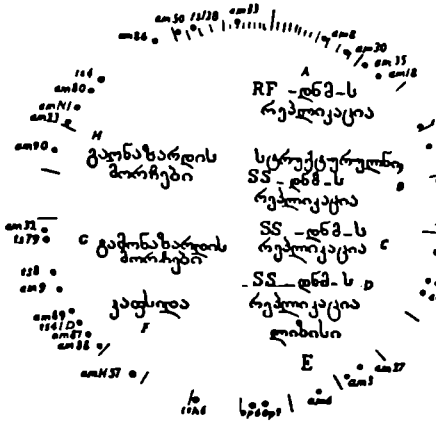
იმისათვის, რომ გაირკვეს რა ინფორმაციას შეიცავს ესა თუ ის გენი და როგორაა ისინი განაწილებული გენომში, გამოიყენება შესაფერისი მუტანტები და რეკომბინანტები. უკანასკნელ ხანებში კი ამისათვის ყველაზე ეფექტური აღმოჩნდა რესტრიქციული ფრაგმენტების კარტირება. ასეთ ფრაგმენტებს ღებულობენ ელექტროფორეზით.

ორძაფიანი მოლეკულის შემთხვევაში იბადება კითხვა, თუ რომელი ძაფია ინფორმაციის მატარებელი და რომელი ტრანსკრიბირდება. პირველად ფაგ ლამბდას მაგალითზე ნაჩვენები იქნა, რომ გენეტიკურ ინფორმაციას შეიცავს ორივე ძაფი და გენომის ერთ ნაწილში ტრანსკრიბირდება ერთი ძაფი, ხოლო მეორე ნაწილში — მეორე. ეს ფაქტი შემდგომში დადასტურდა როგორც სხვა ვირუსების დნმ-ზე, ასევე პრო- და ეუკარიოტების დნმ-ზე.

ერთძაფიანი დნმ-ს ან რნმ-ს შემცველი ვირუსების თავისებურებათა განხილვისას საინტერესოა, რომ ნუკლეინის მჟავების მოხვედრისას მასპინძლის უჯრედში ხდება მოლეკულაზე კომპლემენტური მეორე ძაფის — დნმ-ს ან რნმ-ს მიშენება, რომელიც შემდგომში გამოდის როგორც მატრიცა ახალი ვირუსული დნმ-ს (ან რნმ-ს) წარმოქმნისათვის. გენეტიკური ინფორმაციის

მატარებელ ძაფს ჩვეულებრივ „პლიუს-ძაფს" უწოდებენ. რეპლიკაციის პროცესში წარმოიშობა მეორე ძაფი, რომელიც აღინიშნება როგორც „მინუს-ძაფი". ორძაფიანი დნმ-ს მქონე ვირუსებში და ორგანიზმებში მატრიცად ორივე ძაფი ერთნაირად გამოიყენება.

საფლეისოდ საკმაოდ სრულადაა შესწავლილი სხვადასხვა ვირუსების გენომები, ცნობილია მათი გენეტიკური რუკები. ეს წარმატებები მიღწეულია განსაკუთრებით ე.წ. პეტეროდუპლექსური კარტირებით და რესტრიქციული კარტირებით. სურ. 32 -ზე გამოსახულია ფაგ ØX174-ის გენეტიკური რუკა.




სურ. 32. ფაგ ØX174-ის გენეტიკური რუკა. იგი დნმ-ის წრიული ფორმის მოლეკულაა და შეიცავს 5386 ნუკლეოტიდს. ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობა პირველად გაშიფრა ფ.სენგერმა 1975 წელს. სქემაზე მონიშნული ფუნქციური ერთეულები, რომლებიც გამოვლინდება ე.წ. კომპლემენტაციური ტესტით, ემთხვევა გენომის სტრუქტურულ ერთეულებს. ხაზებით გამოყოფილია საზღვრები ცალკეულ გენებს შორის, რომელთაც შესატყვისი ფუნქცია აქვთ. საზღვრები ცალკეულ ცისტრონებს შორის აღინიშნული პირობითად, ამასთან მითითებულია თითოეული ცისტრონის ფუნქცია. ( ფ.აიალასა და ჯ.კაიგერიდან, 1987 წ., რუს. გამოცემა)

აღსანიშნავია, რომ ვირუსების გენომს გააჩნია თავისებურება, რასაც ვერ ვხვდებით ბაქტერიების გენომში. ეს იმაში მდგომარეობს, რომ ვირუსე-

ბის გენომში ზოგიერთი გენი არსებობს არა მთლიანი მონაკვეთის ფორმით, არამედ მთელი გენომის გასწვრივ განლაგებული ფრაგმენტების სახით. ეს ფრაგმენტები იმიჯნებიან ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობებით, რომელთა შესატყვისი ტრანსკრიპტები იშლებიან და ტრანსლაციაში არ მონაწილეობენ (იხ. გენის ნატიფი სტრუქტურა: ინტრონები, ეგზონები და სპლაისინგი). ეს გარემოება, რომელიც თავდაპირველად კურიოზად მიიჩნიეს, დამახასიათებელი აღმოჩნდა საერთოდ ეუკარიოტების გენომისათვის.

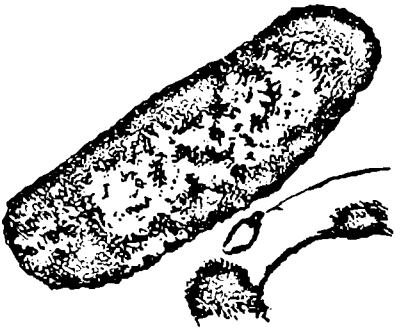
<u>რეტროვირუსები.</u> 1911 წელს ამერიკელმა მკვლევარმა რ.რაუსმა აღმოაჩინა, რომ ძლიერ ავთვისებიანი სიმსივნით — სარკომით დაავადებული ქათმის შემაერთებელი ქსოვილიდან მიღებული ექსტრაქტის შეყვანით წიწილებში რეციპიენტებს იმავე ტიპის სიმსივნე უჩნდებათ. სათანადო გამოკვლევებით დადგინდა, რომ სიმსივნეს იწვევს ვირუსი, რომელიც ამჟამად ცნობილია რაუსის სარკომის ვირუსის ან ფრინველთა სარკომის ვირუსის სახელწოდებით. რაუსის სარკომის ვირუსები შეიცავენ რნმ-ს, მაგრამ მრავლდებიან დნმ-შუამავლის მეშვეობით, რის გამოც რეტროვირუსები დაერქვათ. რეტროვირუსები ერთადერთი რნმ-ს შემცველი ვირუსებია, რომლებიც კიბოს იწვევენ. საერთოდ კი ავთვისებიანი სიმსივნის გამომწვევი ვირუსები — ონკოგენები შეიცავენ დნმ-ს, როგორიცაა, მაგალითად, მაიმუნის ვირუსი 40 ( SV-40) და პოლიომის ვირუსი. ასეთი ვირუსებისადმი ინტერესი განსაკუთრებით დიდია, რადგან, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, სულ რამდენიმე გენს შეიცავენ, რომელთაგან, როგორც ირკვევა, კიბოს ინდუქციაში მონაწილეობს სულ ერთი ან ორი გენი.

რაუსის სარკომის ვირუსი სულ 4 გენს შეიცავს, რომელთაგან სამი მონაწილეობს პროდუქტულ ინდუქციაში (გამრავლებაში), ხოლო ერთი ტრანსფორმაციაში. რეტრო-ვირუსების შემადგენელი ნუკლეინის მჟავების ტრანსფორმაცია ხდება მხოლოდ მის შემდეგ, როცა მასპინძელი უჯრედის გენომში (დნმ-ში) ჩაირთვება. რეტროვირუსები შეიცავენ რნმ-ს ერთძაფიან მოლეკულას. ამასთან, ვირუსის ყოველ ნაწილაკს აქვს რნმ-გენომის ორი ასლი, ე.ი. ამ ტიპის ვირუსები დიპლოიდური ვირუსების ერთადერთი ცნობილი ნაირსახეობაა.

რეტროვირუსები შეიცავენ ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას ანუ რევერტაზას, რომელიც განაპირობებს დნმ-ს სინთეზს რნმ-ს მატრიცაზე.

დნმ-ს შემცველ ვირუსებში გენები გაერთიანებულია ფუნქციურ ჯგუფებად მასპინძელ უჯრედში მოხვედრისას თავდაპირველად ფუნქციონირებას (ტრანსკრიპციას) იწყებს გენების პირველი ჯგუფი ე.წ. წინაადრეული და ადრეული გენები, რომლებიც კოდირებენ ვირუს-სპეციფიკურ ფერმენტებს. მათით რეპლიცირდება ფაგის დნმ და წარმოიქმნება ფაგის გენომის მრავალი ასლი. ამას მოსდევს გენების მეორე ჯგუფის — გვიანი გენების ტრანსკრიპცია, რომლებიც კოდირებენ ვირუსების სტრუქტურულ ცილებს.

<u>პროკარიოტების (ბაქტერიების) გენომის ზოგადი სტრუქტურა.</u> ყველაზე მარტივად ორგანიზებული, დამოუკიდებლად ცხოველმომქმები ცოცხალი სისტემა — პროკარიოტული ორგანიზმებია, რომელთაც მიეკუთვნება ბაქტერიები, ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეები, ზოგიერთი სოკო, მიკოპლაზმები, რიკეტსიები. მათგან მოლეკულური გენეტიკის თვალსაზრისით, ყველაზე უკეთ შესწავლილია ბაქტერიების გენომი. ბაქტერიული უჯრედის ზომა სახეობისა და განვითარების ფაზის მიხედვით 1–3 მკმ-ია. უჯრედის ცენტრში გამოირჩევა მკვრივი სხეულაკი- ნუკლეოიდი (ე.ი. „ბირთვის მსგავსი", სურ. 33 ), რომელიც, როგორც ირკვევა, წარმოადგენს დნმ-ის ერთადერთი უზარმაზარი მოლეკულის კომპაქტუ-

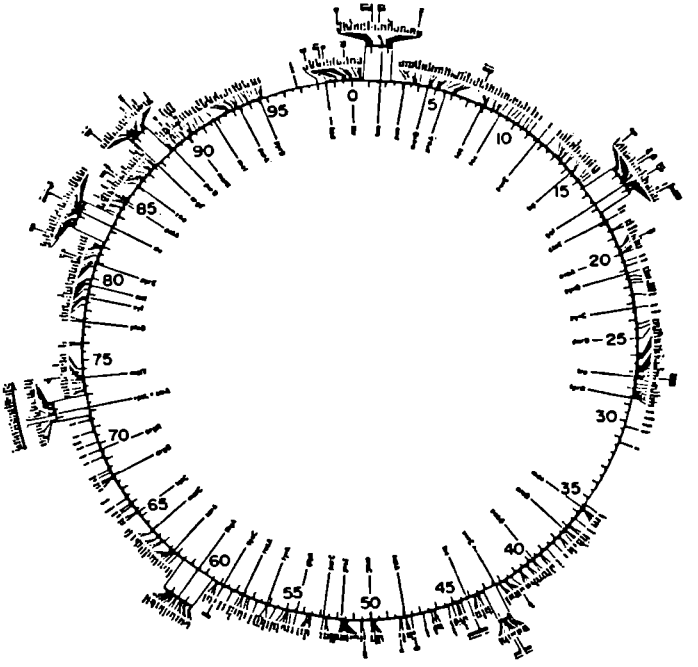


სურ. 33 . ნაწლავის ჩხირის თხელი ანათლის ელექტრონული მიკროფოტოგრაფია. ნათელი უბანი ნუკლეოიდია.

რად ჩახვეულ სუპერსპირალურ ძაფს. მას ზოგჯერ ბაქტერიულ ქრომოსომას უწოდებენ და მიიჩნიათ, რომ იგი ერთადერთია მთელს უჯრედში. ნაწლავის ჩხირის დნმ-ს ერთი მოლეკულის საერთო სიგრძე 1.3 მმ-ია, რაც 500-ჯერ ჭარბობს საკუთრივ ბაქტერიული უჯრედის სიგრძეს. სუპერსპირალური ძაფები ადგილ-ადგილ შეკრებილია უფრო დიდ მარყუჟებად — დომენებად, რომელთა რაოდენობას ნაწლავის ჩხირში 100-მდე ითვლიან. საინტერესოა, რომ აღნიშნული მარყუჟების წარმოქმნაში, რომელთა რაოდენობა ცვალებადია, მონაწილეობს რნმ. უკანასკნელ დროს ნაჩვენებია, რომ ბაქტერიული გენების მიკროსტრუქტურის ფორმირებაში მონაწილეობენ ჰისტონების მსგავსი ცილები. ბაქტერიული გენომის ერთი თავისებურება ისაა, რომ იგი გარკვეული წერტილებით მიმაგრებულია ციტოპლაზმის მემბრანასთან.

ნაწლავის ჩხირის გენომში დაახლოებით $4.2 \cdot 10^3$ წყვილი ნუკლეოტიდია, ხოლო მოლეკულური მასა $(2.5-2.8) \cdot 10^3$ მეგადალტონი. იგი შეიცავს დაახლოებით 2500 სტრუქტურულ გენს, რომელთაგან ამოჩენილი (1987 წლისათვის) და გენეტიკურ რუკაზე კარტირებულია 1000-ზე მეტი (სურ. 34). ზოგი მათგანი ტრანსკრიბირდება მარცხნიდან მარჯვნივ, ზოგი პირიქით. ბაქტერიულ გენომში შედარებით ცოტაა რეგულატორული თანამიმდევნობანი, ძირითადი ნაწილი სტრუქტურული გენების წილად მოდის, რაც ანსხვავებს ეუკარიოტული გენომისაგან. გენები შეჯგუფებულია ტრანსკრიპციის ერთეულებად — ოპერონებად, რომლებიც ერთიანად ტრანსკრიბირდებიან. აქ არაა ეუკარიოტებისათვის დამახასიათებელი ინტრონ-ეკზონური სტრუქტურა, სადაც მ-რნმ წარმოიქმნება გენომის საკმაოდ დიდი უბნების გამოტოვებით და ცალკეული ფრაგმენტების ხელახალი შეერთებით სპლაისინგის პროცესში.

დადგენილია, რომ ბაქტერიულ ქრომოსომაში არის უბნები, რომელთა ლოკალიზაცია მუდმივი არ არის. ესენია ე.წ. IS -ელემენტები (ინგლ. insertion sequence — თანამიმდევნობის ჩართვა) და ტრანსპოზონები. IS-ელემენტები ადგილმონაცვლეობენ გენომის ერთი უბნიდან მეორეზე საკმაოდ დიდი სიხშირითაც ($10^{-3}$ — $10^{-4}$) და შეუძლიათ გადავიდნენ ბაქტერიაში




სურ.34. ნაწლავის ჩხირის ( E.coli ) გენეტიკური რუკა;აგებულია რეკომბინაციული კარტირებით და ე.წ. წყვეტილი კონიუგაციის მეთოდით მიღებული შედეგების საფუძველზე (ფ.აიაღასა და ჯ.კაიგერის მიხედვით, 1987 წ.,ტ.I,რუს.გამოცემა).

მყოფ სხვა გენომებზეც, მაგალითად, პლაზმიდაზე და ე.წ. ზომიერ ფაგებზე. IS -ელემენტების ზომა საშუალდ 1–2.10$^3$ წყვილ ნუკლეოტიდს შეადგენს.

ტრანსპოზონები არსებითად IS -ელემენტების გართულებული წარმონაქმნებია. მათში, IS —ელემენტების გარდა, შედის ბაქტერიული (ან პლაზმიდური) გენები, რომლებიც უმეტესწილად განაპირობებენ უჯრედის გამძლეობას სხვადასხვა ანტიბიოტიკების, მძიმე მეტალებისა და სხვა ბაქტერიციდული აგენტების მიმართ, ტოქსინწარმომქმნელი გენები და სხვა. ამიტომაც, ტრანსპოზონები IS -ელემენტებთან შედარებით უფრო დიდებია.

<u>პლაზმიდები და ეპისომები.</u> ბაქტერიული გენომის ცნებაში ჩვეულებრივ ნუკლეოიდის დნმ-ს გულისხმობენ, მაგრამ არ შეიძლება აქვე არ მოვიხსენიოთ მისი ისეთი სატელიტები, როგორიცაა პლაზმიდები და ზომიერი ფაგები.

ბაქტერიული პლაზმიდები ქრომოსომიდან გამოცალკევებული წარმონაქმნებია, რომლებიც თითქმის ყოველთვის დნმ-ს ორძაფიან წრიულ მოლეკულებს წარმოადგენენ და განაპირობებენ ბაქტერიებისათვის დამახასიათებელ ზოგიერთ უმნიშვნელოვანეს თვისებას, როგორიცაა, მაგალითად, სხვადასხვა ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობა და სხვა. პლაზმიდა, რომელიც რნმ-ს შეიცავდეს, დღემდე აღმოჩენილი არ არის. სხვადასხვა პლაზმიდების მოლეკულური მასა 1–2 მეგადალტონია და მასპინძელი გენომის დნმ-ს 0,04–8%-ს შეადგენს.

ზოგიერთ პლაზმიდას შესწევს უნარი ჩაერთოს ბაქტერიული უჯრედის გენომში. მათ ეპისომებს უწოდებენ. ბაქტერიულ უჯრედში „პლაზმიდური ფორმით" საკმაოდ ხანგრძლივადაც კი შეუძლიათ იარსებოს ზოგიერთმა ფაგმა ( λdv მაგალითად).

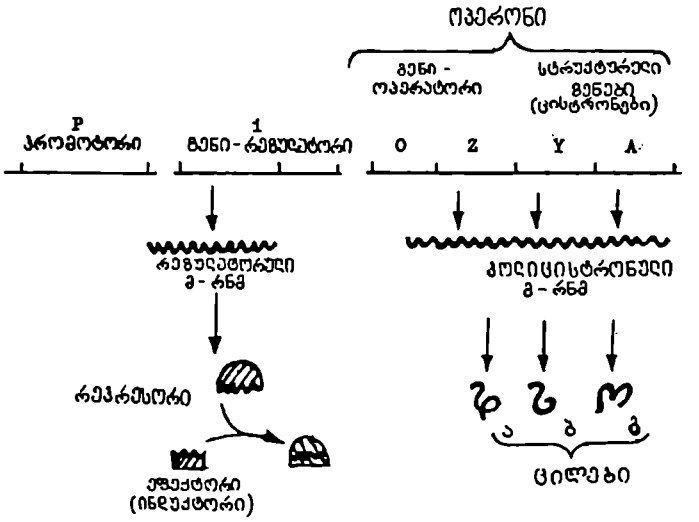
<u>ბაქტერიული გენომის ფუნქციური ორგანიზაცია.</u> მიკროორგანიზმებს მუდმივად ცვალებად გარემოში უხდებათ სიცოცხლე, ამიტომაც მათ უფრო სწრაფი და ადექვატური რეაქციები აქვთ. მათში რნმ-ებისა და ციდების ცვლის შედარებით სწრაფი მექანიზმები მოქმედებენ. როგორც ირკვევა, ამა თუ იმ ციდის შერჩევით სინთეზი და სიჩქარე განპირობებულია შინაგანი გენეტიკური კონტროლით და გარემოს ქიმიური შემადგენლობით. უჯრედში ზოგიერთი ციდა-

-ფერმენტი სინთეზირდება განუწყვეტლივ, საკვები არის შემაფერხებლობა ამ პროცესზე გავლენას არ ახდენს. მათ კონსტიტუციურ ფერმენტებს უწოდებენ. მეორე ჯგუფი — ე.წ. ინდუქციური ფერმენტები, უჯრედში სინთეზირდება მხოლოდ მაშინ, როდესაც საკვებ არეში შედის ამ ფერმენტის შესატყვისი სუბსტრატი. მაგალითად , თუ ნაწლავის ჩხირს ისეთ არეზე გამოვზრდით, რომელშიც ნახშირბადის ერთადერთი წყარო ლაქტოზაა, მაშინ ბაქტერიის უჯრედში იწყება ამ შაქრის გარდამქმნელი ფერმენტის — β-გალაქტოზიდაზის სწრაფი (დაახლოებით 1000-ჯერ) სინთეზი. საკვები არიდან ლაქტოზის მოცილებისთანავე ფერმენტის სინთეზი დაუყოვნებლივ წყდება. ამრიგად, სუბსტრატის, როგორც ინდუქტორის, თანაობა ორგანიზმში იწვევს მისი გადამამუშავებელი ფერმენტის ინდუქციურ წარმოქმნას. ცხადია, რომ ინდუქცია რეგულაციის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მექანიზმად უნდა ჩაითვალოს. რეგულაციის მექანიზმში მეორე მნიშვნელოვანი მხარეა რეპრესია, როდესაც სუბსტრატის შეტანა საკვებ არეში ითრგუნავს შესაბამისი ფერმენტის სინთეზს. მაგალითად, საღმონელას საკვებ არეში ჰისტიდინის შეტანისას ითრგუნება ამ ამინომჟავის წარმომქმნელი ფერმენტების სინთეზი; ნაწლავის ჩხირის გამოზრდისას ისეთ საკვებ არეზე, რომელიც არ შეიცავს ტრიფტოფანს, უჯრედში სინთეზირდება ტრიფტოფანის წარმოქმნაში მონაწილე ფერმენტები. სინთეზი წყდება არეში ტრიპტოფანის დამატებისთანავე. როგორც ჩანს, მიკრობთა საკვებ არეში ფერმენტის მოქმედების მზა საბოლოო პროდუქტის არსებობა არასაჭიროს ხდის ფერმენტის თანაობას მოცემული მომენტისათვის და სინთეზის მარეგულირებელი სისტემაც საბოლოოდ ამოქმედდება. რეპრესიისა და ინდუქციის მოვლენა ფართოდ არის გავრცელებული ცოცხალ სისტემებში. ზოგჯერ ერთი ინდუქტორი იწვევს მეტაბოლურად ერთმანეთთან დაკავშირებული რამდენიმე ფერმენტის სინთეზს, ან ერთი მარეპრესირებელი მეტაბოლიტი ითრგუნავს ფერმენტების მთელი ჯგუფის აქტივობას (პლეიოტროპული ეფექტი).

ინდუქციისა და რეპრესიის მოვლენის არსებობამ აფიქრებინა ფრანგ მეცნიერს ფ.ჟაკობსა და ჟ.მონოს, რომ უნდა არსებობდეს ერთიანი მექანიზმი,

რომელიც გენეტიკურ დონეზე მოქმედებს. მაგ ჩამოაყალიბეს თეორია, რომლის მიხედვითაც რეგულაციის მექანიზმი მდგომარეობს საგანადო გენების, როგორც მოფუნქციონირე ერთეულების ჩართვა-გამორთვაში.

როგორც გაირკვა, ამა თუ იმ ცილის მაკოდირებელი მ-რნმ-ის შესატყვისი დნმ-ს უბანი რთული აღნაგობისაა. ლაქტოზის გარდამქმნელი ფერმენტის - β-გალაქტოზიდაზის მაგალითზე ჟაკობმა და მონომ მოგვაწოდეს დნმ-ზე მისი წარმომქმნელი უბნის - ე.წ. ლაქტოზის ოპერონის აღნაგობისა და ფუნქციონირების სქემა, რომელიც შემდგომში მრავალი ექსპერიმენტით დადასტურდა და შეივსო. ამ სქემის თანამედროვე სახე მოცემულია მე-35 სურათზე .




სურ. 35 . ნაწლავის ჩხირის ლაქტოზის ოპერონის სტრუქტურისა და ფუნქციონირების სქემა.

ამ სქემის მიხედვით, β-გალაქტოზიდაზული სისტემა აერთიანებს

სამ ფერმენტს: β-გალაქტოზიდაზას, გალაქტოზიდპერმეაზას და ტრანსაცეტილაზას. პირველი აკატალიზებს ლაქტოზის ჰიდროლიზს გლუკოზად და გალაქტოზად, მეორე უზრუნველყოფს სხვადასხვა შაქრების, მათ შორის ლაქტოზის, მელობიოზისა და რაფინოზის ტრანსპორტს უჯრედში, ხოლო მესამის როლი ლაქტოზის უტილიზაციაში ჯერ კიდევ არ არის სრულად გარკვეული. მათი სინთეზი ხდება დნმ-ს შესაბამის უბნებზე - Z Y და A სტრუქტურულ გენებზე წარმოქმნილი მ-რნმ-ებით. აღნიშნული სტრუქტურული გენები ანუ ცისტრონები განლაგებულია ერთმანეთის გვერდით და თანამიმდევრულად. სტრუქტურული გენის (გენების) გვერდით მდებარეობს გენი ოპერატორი (O). სტრუქტურული გენების კრებული და გენი ოპერატორი ერთად იწოდება ოპერონად. ოპერატორი არეგულირებს სტრუქტურული გენების მოქმედებას, რაც შემდეგნაირად ხდება: თუ ოპერატორი ღიაა, მაშინ ოპერატორი ფუნქციონირებს, ე.ი. მასზე ტრანსკრიბირდება შესატყვისი მ-რნმ-ს მოლეკულები. ოპერატორის ბლოკირების შემთხვევაში ოპერონი არ ფუნქციონირებს. გენ-ოპერატორის ფუნქციური მდგომარეობა თავის მხრივ კონტროლირდება განსაკუთრებული გენით — რეგულატორით (i). ამ უკანასკნელზე გამომუშავდება სპეციფიკური პროდუქტი — რეპრესორი, რომელსაც შესწევს გენ-ოპერატორთან ჩქარი და საკმაოდ მყარი დაკავშირების უნარი. ასეთი დაკავშირების შემთხვევაში ოპერატორი ინაქტივირდება და ოპერონის ფუნქციონირებაც წყდება. რეპრესორის კავშირი გენ-ოპერატორთან შექცევადია. მისი გაწყვეტისთანავე ოპერატორი თავისუფლდება და იწყება ოპერონის ფუნქციონირება, ე.ი. შესატყვისი ცილების სინთეზის გამაპირობებელი მ-რნმ-ს მოლეკულების წარმოქმნა.

გენ-ოპერატორის არსებობა პირველად ნაჩვენები იყო წმინდა გენეტიკური ექსპერიმენტებით. ცნობილია ნაწლავის ჩხირის ისეთი მუტაციური ფორმა, რომელშიც ლაქტოზის გადამამუშავებელი ფერმენტების — β -გალაქტოზიდაზისა და გალაქტოზიდპერმეაზის სინთეზი მიმდინარეობს განუწყვეტლივ, ამასთან მაქსიმალური სიჩქარით. გარემოს შედგენილობა (ინდუქტორები) სინთეზზე გავლენას არ ახდენს. ეს ე.წ. კონსტიტუციური R -მუტაციაა, რაც, როგორც

იცარაუდეს, შესაბამისი გენი-რეგულატორის ინაქტივაციის შედეგია და ამის გამო სათანადო რეპრესორი ველარ წარმოიქმნება. ასეთი მუტანტის ( $R^-$-შტამი, დარღვეული ინდუქციურობით) კონიუგაციით ველურ ფორმასთან ( $R^+$-შტამი, ნორმალური ინდუქციურობით) წარმოქმნილი რეკომბინანტი, რომელიც დიპლოიდური ჰეტეროზიგოტია ( $R^+/R^-$ ), ორივე საწყისი შტამის მსგავსად, ნორმალურად ინდუქციური აღმოჩნდა*. ეს ნიშნავს, რომ კონსტიტუციური მუტაცია რეცესიულია და $R^-$-შტამის გენი-რეგულატორი დიპლოიდურ ჰეტეროზიგოტაში ურთიერთქმედობს ორივე მშობლის შესაბამის ოპერატორებთან, აკონტროლებს მათ მოქმედებას.

არის ნაწლავის ჩხირის ისეთი მუტაციები, რომლებშიც $\beta$-გალაქტოზიდაზის წარმოქმნის ღათრგუნვა-რეპრესირება ნორმალურად მეღავნდება მხოლოდ დაბალი ტემპერატურისას. ტემპერატურის მცირე მომატებისას ასეთი ფორმები იქცევიან როგორც კონსტიტუციური მუტანტები, ე.ი. მათში განუწყვეტლივ და დიდი სიჩქარით მიმდინარეობს $\beta$-გალაქტოზიდაზის სინთეზი. როგორც ჩანს, ამ შემთხვევაში გენი-რეგულატორის მუტაცია ისეთი სახისაა, რომ წარმოიქმნება შედარებით მეტად თერმოლაბილური რეპრესორი.

მნიშვნელოვანი უბანია პრომოტორი ( $P$ )-მონაკვეთი, რომელიც იკავშირებს მატრანსკრიბირებელ ფერმენტს რნმ-პოლიმერაზას. იგი ტრანსკრიპციის პროცესის საწყისი წერტილია და განლაგებულია ოპერატორის წინ.

თავიდანვე ივარაუდეს, რომ გენი-ოპერატორის პროდუქტი — რეპრესორი ციტოზანი ბუნებისა უნდა ყოფილიყო, რაც შემდგომში დადასტურდა. საღღეისოდ გამოყოფილია და დეტალურად შესწავლილია ბეკრნაირი სახის რეპრესორი. ლაქტოზის ოპერონის რეპრესორის ( lac -რეპრესორი) მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ იგი სამი იდენტური სუბერთეულისაგან შემდგარი ციტაა, მისი მოლეკულუ-

==========

*ამ დროს კონიუგაციაში მონაწილე უჯრედებს შორის წარმოიქმნება პროტოპლაზმური ხიდაკი, რომლითაც ნაყოფიერების ფაქტორის ( $F$ ) მქონე უჯრედი მეორე უჯრედს — რეციპიენტს გადასცემს თავისი გენეტიკური მასალის ნაწილს; ციტოვანი ნივთიერებანი და რნმ რეციპიენტში არ გადადის.

რი მასაა 37 კდალტონი და რაიმე არაცილოვან მინარევს არ შეიცავს. იგი უკავშირდება მხოლოდ lac -ოპერონის შემცველ დნმ-ს. დაკავშირება მეტად სწრაფად ხდება და კავშირიც მყარია. ველური ტიპის ნაწლავის ჩხირის უჯრედი შეიცავს lac -ოპერონის რეპრესორის ათამდე მოლეკულას, მაგრამ არიან მუტანტები, რომლებიც გენის ძალიან ძლიერი პრომოტორი აქვთ და რეპრესორსაც მეტს შეიცავენ. lac -უბნის შემცველი ტრანსდუქციული ფაგით უჯრედის დასნეზოვნებისას რეპრესორის მოლეკულათა რაოდენობამ 2000-ს შეიძლება მიაღწიოს, რაც უჯრედის მთელი ცილის 2%-ს შეადგენს.

როგორც ირკვევა, რეპრესორის ფუნქციურ აქტივობაში დიდი მნიშვნელობა აქვს მის კონფორმაციულ მდგომარეობას, რაზეც გავლენას ახდენენ სპეციფიკური დაბალმოლეკულური ნაერთები — ეფექტორები. ცხადია, რომ ინდუქციური ფერმენტების წარმოქმნისას ინდუქტორები მოქმედებენ როგორც ეფექტორები და ინაქტივირებენ რეპრესორს, რაც იწვევს რეპრესორის მოხსნას გენ-ოპერატორიდან და ამით ოპერატორის ამოქმედებას. ინდუქტორი იზოპროპილთიოგალაქტოზიდი თრგუნავს -რეპრესორის დაკავშირებას -ოპერატორიან დნმ-სთან.

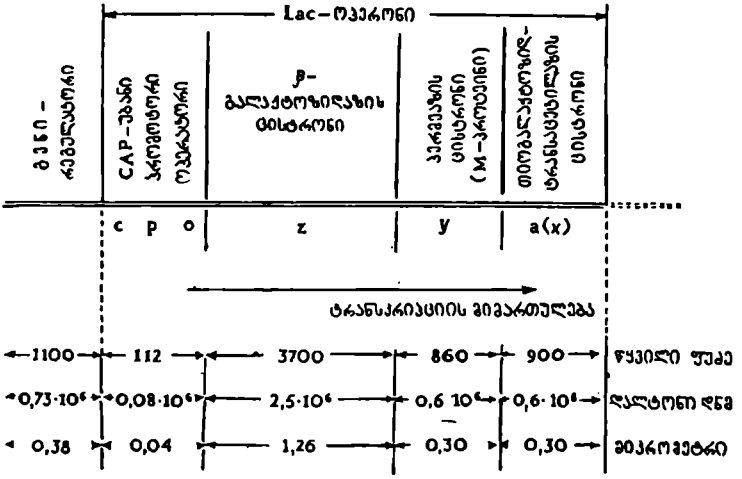
სურ. 36 ნაწლავის ჩხირის -ოპერონის ელექტრონული მიკროგრაფია.

β - გალაქტოზიდაზისა და მთელი რიგი სხვა ცილების გენების რეგულატორული სისტემების ბიოქიმიური და გენეტიკური შესწავლის შედეგად შეიქმნა შეხედულება, რომლის მიხედვითაც გენის ფუნქციონირების რეგულაციაში ოთხი ძირითადი კომპონენტია: I. გენი - რეგულატორი, რომელიც განსაზღვრა

ავს რეპრესორის სტრუქტურას; 2. რეპრესორი; 3. სტრუქტურული გენი, ანუ გენების ჯგუფი, რომელთა აქტივობა რეგულირდება რეპრესორით და 4. გენი-ოპერატორი, რომელიც განლაგებულია სტრუქტურული გენების გვერდით.

საფლეისოდ დეტალურადაა შესწავლილი მრავალი ციდა-ფერმენტის ოპერონები, ხოლო ზოგიერთი მათგანი გამოყოფილია და გადაღებული ელექტრონული მიკროსკოპით (სურ. 36 ).

დადგენილია ნაწლავის ჩხირის Iac-ოპერონის კომპონენტებისა და სამომსახურო უბნების ზომები, მათი შემადგენელი ფუძეების წყვილთა რაოდენობა (სურ. 37 ) და თანამომდევნობაც.




სურ. 37 . ნაწლავის ჩხირის Iac -ოპერონის სტრუქტურული კომპონენტებისა და სამოსამსახურო უბნების ზომები.

შესაძლებელი გახდა გასუფთავებული Iac -რეპრესორის გამოყოფაც. ჯიღბერტის ლაბორატორიაში ფაგის დნმ, რომელიც შეიცავდა Iac-უბანს, ულტრაბგერით დააფრაგმენტის დაახლოებით 1000 ნუკლეოტიდური წყვილის შემ-

ცვლელ მონაკვეთებად. ფრაგმენტების ნარევს დაამატეს Iac-რეპრესორი და გაფილტრეს ნიტროცელულოზის ფილტრზე. ფრაგმენტები, რომლებიც Iac-რეპრესორთან არ დაკავშირდა, ფილტრში გავიდა, ხოლო დაკავშირებული ფილტრზე დარჩა. მათ ფილტრიდან აცილებდნენ იზოპროპილთიოგალაქტოზიდით და ამუშავებდნენ პანკრეასული დნმ-აზით. ამ დროს რეპრესორთან დაკავშირებული ოპერატორული უბანი დნმ-აზით იშლება. განსაზღვრეს როგორც ოპერატორული ფრაგმენტების, ისე მათზე ტრანსკრიბირებული რნმ-ს ფუძეთა თანამიმდევნობა. აღმოჩნდა, რომ ფუძეთა 28 წყვილი მეორე რიგის ღერძის სიმეტრიულადაა განლაგებული. როგორც ჩანს, რეპრესორის სიმეტრია შეესატყვისება ოპერატორის სიმეტრიას.

საბოლოდ გამოკვლევებით აღმოჩნდა, რომ რეგულაციის ნეგატიურ სისტემასთან ერთად Iac-ოპერონის ფუნქციონირება კონტროლირდება პოზიტიურად მოქმედი ელემენტებითაც. ასე, მაგალითად, გლუკოზა თრგუნავს β-გალაქტოზიდაზისა და ზოგიერთი სხვა კატაბოლური ფერმენტის (გალაქტოკინაზა, არაბინოზოიზომერაზა, ტრიფტოფანაზა) აქტივობას. სხვანაირად, თუ ნაწლავის ჩხირის უჯრედებს გამოეზრდით გლუკოზისა და ლაქტოზის შემცველ არეზე, ლაქტოზის უტილიზაცია მხოლოდ მაშინ იწყება, როცა გამოიღება გლუკოზა. ამ ე.წ. კატაბოლური რეპრესიის მიზეზი ისაა, რომ ბაქტერიის უჯრედებს არ შესწევთ სხვა ნახშირწყლების (ლაქტოზის, არაბინოზის, გალაქტოზისა და სხვ.) კატაბოლიზირების უნარი, თუ არეში არის გლუკოზა. დადგენილია პირუკუ დამოკიდებულებაც: გლუკოზა თრგუნავს ატფ-დან ც-ამფ-ის წარმომქმნელი ფერმენტის — ადენილატციკლაზის აქტივობას. ც-ამფ სტიმულირებს მრავალი ინდუქციური ოპერონის ტრანსლაციას. ამრიგად, ც-ამფ-ის მოლეკულები სპეციფიკური სიგნალური ინდუქტორების როლს ასრულებენ. აქვე აღვნიშნავთ, რომ ეუკარიოტებში ც-ამფ ჰორმონების მოქმედების მედიატორია. აღმოჩნდა, რომ გლუკოზის მიერ ზოგიერთი კატაბოლური ფერმენტის დათრგუნვა მოხსნება ც-ამფ-ით და რომ Iac-ოპერონის ტრანსლაციის კონტროლში მონაწილეობს სპეციფიკური ცილა CAP ( პირველი ასოები ინგლ. სიტყვებისა — catabolic

activator protein ), რომელსაც ც-ამფ-ის ციდა-რეპრესორსაც უწოდებენ.

Iac-ოპერონის პრომოტორის სტრუქტურაში ნაპოვნია მიკავშირების ორი საიტი: ერთი ურთიერთობს რნმ-პოლიმერაზასთან, ხოლო მეორე CAP-ც-ამფ-ის კომპლექსთან. კომპლექსის მიერთება საიტთან იწვევს ოპერონის ინდუქციას. გლუკოზის თანაობისას cap-ციდა ც-ამფ-ის გარეშე პრომოტორს ვერ უკავშირდება. თავის მხრივ, რნმ-პოლიმერაზა ვერ უკავშირდება პრომოტორს, თუ ამ უკანასკნელთან მიერთებული არაა კომპლექსი CAP-ც-ამფ. ეს კომპლექსი ხელს უწყობს რნს-პოლიმერაზის დაკავშირებას მატრიცულ დნმ-სთან ტრანსკრიპციის დაწყებამდე. პრომოტორის ზოგიერთი მუტაციისას Iac-ოპერონის ექსპრესია ხდება გლუკოზის ეფექტის გარეშე.

ამრიგად, Iac-ოპერონის ტრანსკრიპცია ხორციელდება ორმაგი კონტროლით — ნეგატიურითა და პოზიტიურით.

საფდეისოდ კარგადაა გაშიფრული Iac-ოპერონის რეგულატორული უბნის ნუკლეოტიდური შედგენილობა პრომოტორსა და ოპერატორის ჩათვლით. გამოყოფილია ამ ოპერონის სუფთა დნმ, რომელიც შეიცავს Iac I გენის ფრაგმენტს, პრომოტორს, ოპერატორს, Z -ს და Y -ის ფრაგმენტს. Iac-ოპერონის სტრუქტურული ორგანიზაციის შესწავლით აღმოჩნდა, რომ მულტიმერული ციდების — Iac -რეპრესორის ან რნმ-პოლიმერაზის დნმ-სთან ურთიერთობაში არსებით როლს თამაშობენ სიმეტრიული სტრუქტურები — პალინდრომები. ნაჩვენებია, კერძოდ, რომ Iac-ოპერონის ოპერატორი შედგება 26 წყვილი ნუკლეოტიდისაგან, რომელთაგან 14 პალინდრომია. სხვადასხვა ჯამვებში ისინი იკითხება ერთნაირად, ოღონდ საწინააღმდეგო მიმართულებით. პალინდრომი აღმოჩენილია იმ უბნებშიც, რომელიც იკავშირებს cap -ც-ამფ-ის კომპლექსს.

სხვადასხვა კარგად შესწავლილ ოპერონებიდან აღსანიშნავია ჰისტიდინის ოპერონი საღმონელაში ( Salmonela typhimorium ), ტრიპტოფანის ოპერონი ნაწლავის ჩხირში და ა.შ. საინტერესოა, რომ ჰისტიდინის ოპერონი შეიცავს ცხრა სტრუქტურულ გენს, რომელთა განლაგების თანამიმდევნობა არ შეესატყვისება ჰისტიდინის მათ მიერ კოდირებული მეტაბოლიზმის ეტაპებს

და აგრეთვე მათ მარჯვნივ მდებარე ოპერატორის თანამომდევნობებს. ტრიპტოფანის ოპერონში ხუთი სტრუქტურული გენია.

<u>გენების აქტივობა ბაქტერიების ინფექციისას ფაგებით.</u> როგორც აღვნიშნეთ, ფაგური ინფექციისას ბაქტერიული უჯრედის გენეტიკური სისტემის ფუნქციონირება ნორმალურისაგან მკვეთრად განსხვავებულია: მოქმედებას იწყებს შეჭრილი დნმ. ამ დროს მასპინძელი უჯრედის მეტაბოლიზმში ჩნდება რამდენიმე შესაძლებლობა ფაგების რეპროდუქციისათვის. ეს იმის შედეგია, რომ ფაგით დასნებოვნებულ უჯრედში წარმოიქმნება ახლებური რნმ-პოლიმერაზები ან მათი ახალი სუბერთეულები, ციდა-რეპრესორები და ციდა აქტივატორები. რ. ხესინის, ს. შპიგელმანისა და სხვათა გამოკვლევებით აღმოჩნდა, რომ მიუხედავად იმ სპეციფიკური მექანიზმების სხვაობისა, რომელთა მიხედვითაც ცალკეული ფაგები გარდაქმნიან უჯრედის მეტაბოლიზმს, ყველა მათგანში არის გენების ორი ჯგუფი. ერთნი, ე.წ. „ადრეული"გენები, გამომჟღავნდებიან უჯრედში ფაგის დნმ-ს შეჭრისთანავე. რამდენიმე ასეთი გენიდან ერთის პროდუქტი უზრუნველყოფს მოცემულ „ადრეულ" გენთა ჩართვას და სხვების გამორთვას, რომლებიც თავის მხრივ არეგულირებენ გენების შემდეგ ჯგუფს და ა.შ. გენების თანამიმდევრობით გამოხატულების ასეთი რეგულაცია ხდება ტრანსკრიპციის დონეზე. მაგალითად, ნაწლავის ჩხირის T 2, T 4, T7-ფაგების, აგრეთვე B. subtilis-ის, ფაგ SP 01-ის მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ გენების მოქმედების ასეთი თანამიმდევრობა კონტროლირდება რნმ-პოლიმერაზის პრომოტორული სპეციფიკურობის მოდიფიკაციით. ეს შეიძლება მოხდეს ახალი საკუთრივ ფაგური რნმ-პოლიმერაზის სინთეზით (ფაგი T 7), ან ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზის სპეციფიკური ცვლილებებით (ბაქტერიის დასნებოვნების შემთხვევაში 2, T 4 და SP 01-ფაგებით).

ფაგ T 7-ით დასნებოვნებისას უჯრედში „ადრეული" გენები ტრანსკრიბირდება მასპინძლის რნმ-პოლიმერაზით. ერთი ასეთი გენთაგანი კოდირებს ბაქტერიულ რნმ-პოლიმერაზას, რომელიც შემდგომში მოახდენს „გვიანი გენების" ტრანსკრიპციას, იმ გენებისა, რომლებიც მონაწილეობენ ფაგური კაფსიდის დნმ-სა და ციღების სინთეზში.

## თავი IX

## გენომის სტრუქტურა და ფუნქციონირების მექანიზმები ეუკარიოტულ უჯრედში

ზოგადი ცნობები. ეუკარიოტული გენომის სტრუქტურული ორგანიზაცია მრავალმხრივ განსხვავდება პროკარიოტულისაგან. როგორც ადრეც აღვნიშნეთ, ეუკარიოტული გენომის უპირველესი თავისებურება ისაა, რომ აქ მემკვიდრული სუბსტრატი შემოფარგლულია მემბრანით და წარმოქმნის უჯრედის ბირთვს. მემბრანა სივრცობრივად აცალკევებს ბირთვში მიმდინარე ტრანსკრიპციის პროცესს ტრანსლაციის პროცესისაგან, რომელიც ძირითადად ციტოპლაზმაში ხდება. ამის გამო გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციას თან ახლავს დამატებითი ეტაპები, სახელდობრ, მ-რნმ-ს გადასვლა ბირთვიდან ციტოპლაზმაში. მეორე დიდი განსხვავება ისაა, რომ ეუკარიოტებში ცხვდებით ნაირგვარ, სტრუქტურულ-ფუნქციურად სპეციალიზირებულ უჯრედებს. მაგალითად, ადამიანის ორგანიზმში 100-მდე ტიპის უჯრედს ითვლიან. ერთ ორგანიზმში უჯრედთა სტრუქტურულ-ფუნქციური სხვაობა სტაბილურია და არაა დამოკიდებული გარემოსაგან, ისინი დიფერენცირებულია განსხვავებულად. მესამე და მეტად მნიშვნელოვანი თავისებურება ეუკარიოტული უჯრედისა მდგომარეობს იმაში, რომ მასში მემკვიდრულობის ქიმიური სუბსტრატი— დნმ კომპლექსირებულია ნაირგვარ ცილებთან (ფუძე ცილები— ჰისტონები, მჟავე ცილები), რნმ-სთან, ლიპიდებთან, პოლისახარიდებთან და წარმოქმნის რთულ გენეტიკურ კომპლექსს— ქრომატინს. ქრომატინი ქრომოსომების ფუნქციურად აქტიური მდგომარეობის ფორმაა. გენეტიკური სუბსტრატის ასეთი სირთულის გამო, გართულებულია მასთან დაკავშირებული ფუნქციური პროცესებიც.

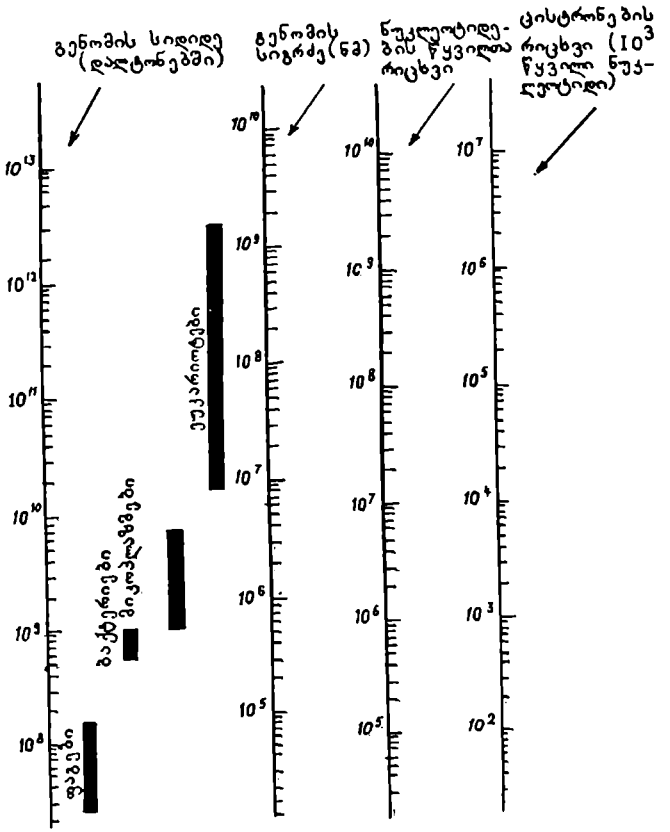
ეუკარიოტების გენომი წარმოადგენს ერთზე მეტ ქრომოსომას, რომელსაც არა წრიული, არამედ ხაზოვანი ფორმა აქვს. ეუკარიოტები დიპლოიდური ორგანიზმებია, რაც იმას ნიშნავს, რომ ყოველ ქრომოსომას აქვს თავისი ჰომოლოგიური წყვილი. ამრიგად, თუ პროკარიოტების გენომში ყოველი მათგანისათვის დამახა-

სიათებელ გენთა ერთი სრული კრებულია,ეუკარიოტების გენომში (ჩვეულებრივ, სომატურ უჯრედში) ასეთი კრებული ორია.ბუნებრივია,რომ ეუკარიოტების პოლი პლოიდურ უჯრედში შესაბამისად მეტია გენთა კრებული ქრომოსომთა ჯერადობის შესატყვისად.

ეუკარიოტული ქრომოსომის მორფოლოგია კარგად ჩანს სინათლის მიკროს-კოპშიც,მაგრამ ნატიფი აღნაგობა გამოვლენილია ელექტრონული მიკროსკოპით. ქრომოსომის მორფოლოგია მკვეთრად იცვლება უჯრედის ციკლის მიხედვით.

ქრომატინის შემადგენელი ქიმიური კომპონენტები შემდეგი რაოდენობითაა განაწილებული : დნმ— 30—40%, ფუძე ცილები (ჰისტონები) —30—50%, მჟავე ცილები—3—33%, რნმ— I,5—I0%. დნმ-სა და ჰისტონების ხვედრითი წილი სხვადასხვა სახის ქრომატინში თითქმის თანაბარია.დიდად ცვალებადია მჟავე ცილების შემცველობა.მეტაბოლურად შედარებით უფრო აქტიური უჯრედების ბირთვებში მათი რაოდენობა მეტია.

ეუკარიოტული დნმ-ს ზოგიერთი თავისებურება. ეუკარიოტების გენომში დნმ გაცილებით მეტია,ვიდრე პროკარიოტების გენომში.შესაბამისად განსხვავებულია ინფორმაციის ტევადობაც (სურ.38 ).დადგენილია,მაგალითად,რომ თუ ნაწლავის ჩხირის გენომის ერთი კრებული შეიცავს $5X10^6$ ნუკლეოტიდს ($1.0^9$ დალტონი),თაგვის გენომის ჰაპლოიდურ კრებულში $3X10^9$ ნუკლეოტიდია,ე.ი.სამი რიგით მეტი.საფეხურების,მწერების,ფრინველების უჯრედებში 5—I0-ჯერ მეტი დნმ-ა, ვიდრე ნაწლავის ჩხირის ერთ უჯრედში,ხოლო ძუძუმწოვრებში რამდენიმე ასეულჯერ მეტი.საერთოდ,ჰაპლოიდურ გენომზე გადათვლით,ორგანიზმის სირთულის მატებასთან ერთად დნმ-ს რაოდენობა უჯრედში მეტია.ორგანიზმის ყოველი სახეობის გენომის (ჰაპლოიდური წილის ) შემადგენელი დნმ-ს რაოდენობას აღნიშნავენ სიმბოლოთი — C . ეს სიდიდე შეიძლება განისაზღვროს ქიმიურად და გამოისახოს პიკოგრამებში (პკგ),ან განისაზღვროს დნმ-ს რეასოციაციის კინეტიკის გამოკვლევით.ამ უკანასკნელ შემთხვევაში მას ჩვეულებრივ გამოხატავენ ფუძეების წყვილთა რაოდენობით(ნუკლეოტიდების წყვილთა რაოდენო-




სურ. 38 .პროკარიოტებისა და ეუკარიოტების გენომების ინფორმაციული ტევადობა.

ბით,შემოკლებით- წყნ),ან დალტონებში.ამ სიდიდეთა შორის შეფარდება ასეთია:1 პკგ= 0,965X10^9 წყნ= 6,1X10^11 დალტონს. სიდიდე c მეტისმეტად დიდ ფარგლებში მერყეობს— 10^4 წყნ (მიკოპლაზმებში) ~ 10^11 წყნ (ზოგიერთი ხერ-

ხემლიანი ცხოველი). ბაქტერიის (ნაწლავის ჩხირის მაგალითზე) გენის საშუალო ზომაა 1500 წყნ, ხოლო მთლიანი ქრომოსომის დნმ-ს წრიული მოლეკულის სიგრძე, როგორც ადრეც აღვნიშნეთ, 1,2 მმ-ია, რაშიც დაახლოებით 3000 გენი იტევა. თითქმის ამდენივე მოფუნქციონირე გენია გამოვლენილი ექსპერიმენტულადაც. თუ გენების რიცხვს გავამრავლებთ ერთი გენის შემადგენელი ნუკლეოტიდების წყვილთა რიცხვზე, მივიღებთ, რომ ბაქტერიის გენომის 95% წარმოადგენს მაკოდირებელ (გენურ წილს), დანარჩენი 5% რეგულატორულ ელემენტებს უნდა ეკუთვნოდეს. სულ სხვა სურათია ეუკარიოტებში, სადაც გენომის ზომა გაციდებით დიდია, შესაბამისად ბევრად მეტია გენების რიცხვიც. მაგალითად, დროზოფილაში 15000-მდე მოფუნქციონირე გენს ითვლიან; ადამიანში $5X10^4$ მოფუნქციონირე გენია, ხოლო გენომის საერთო ზომა $3X10^9$ ნუკლეოტიდს აღწევს. ეს იმას ნიშნავს, რომ ადამიანის გენომის მაკოდირებელი წილი მთელი გენომის ~15- 20%-ს შეადგენს. უაღრესად საყურადღებოა ის გარემოება, რომ გენთა საერთო რაოდენობა ერთ ჰაპლოიდურ კრებულზე დნმ-ს რაოდენობის შესატყვისად არ მატულობს. მაგალითად, მწერებში გენთა რაოდენობა 5÷ 10 ათასია, რაც სულ 2- 3-ჯერ ჭარბობს ნაწლავის ჩხირის გენთა რაოდენობას, მაშინ როდესაც მწერებში დნმ ორი რიგით მეტია, ვიდრე ბაქტერიებში. ძუძუმწოვრებისა და მათ შორის ადამიანის გენომში გენთა რაოდენობა 50-ჯერ ჭარბობს ბაქტერიებისას, მაშინ როდესაც დნმ-ს რაოდენობის სიჭარბე სამი რიგით გამოიხატება. ეუკარიოტებში დნმ-ს რაოდენობის ასეთი სიჭარბე ევოლუციურად აღინიშნება როგორც „დნმ-ს სიჭარბე". ჭარბი დნმ დამახასიათებელია ყველა ეუკარიოტისათვის. აქედან გამომდინარე, გენების კრებული, რომელიც ფენოტიპურად გამოვლინდება, იწოდება როგორც გენოტიპი, ხოლო ქრომოსომების ჰაპლოიდურ კრებულში არსებული მთელი დნმ აღინიშნება როგორც გენომი.

დნმ-ს სიჭარბე ეუკარიოტულ უჯრედში კარგად ჩანს ცალკეული ქრომოსომების შემთხვევაშიც. მაგალითად, თუ ნაწლავის ჩხირის უჯრედის დნმ-ს საერთო სიგრძე 1,2 მმ-ია ($10^9$) დალტონი, დროზოფილის X-ქრომოსომის მეტაფაზური

სტადიის დნმ-ს მოლეკულური მასა 26—28X10$^9$ დალტონს შეადგენს, მე-2 ქრომოსომისა — 40—41X10$^9$ დალტონს, მე-3 ქრომოსომისა— 41—43X10$^9$ დალტონს, ხოლო მე-4 ქრომოსომისა —3—4X10$^9$ დალტონს.

სპეციალურ დაკვირვებებით და ექსპერიმენტებით დადგენილია, რომ ეუკარიოტული უჯრედის ერთ ქრომოსომაში დნმ-ს გრძელი მოლეკულაა, რომელიც ხასიათდება და დატოტვილი არ არის. ადამიანის პირველ ქრომოსომაში შემავალი დნმ-ს მოლეკულის სიგრძე 6—8 სმ-ს აღწევს. საინტერესოა, რომ დროზოფილაში ერთ-ერთი მუტაციისას, რასაც თან ახლავს მესამე ქრომოსომის ტრანსლოკაცია, ქრომოსომას უჩნდება დამატებითი მონაკვეთი და დნმ-ს საერთო შემცველობა 59X10$^9$ დალტონამდე იზრდება.

როგორც წესი, დნმ-ს რაოდენობრივი შემცველობა არ კორელირებს ქრომოსომთა რიცხვთან. გამონაკლისია მხოლოდ ჰაპლოიდური მცენარეები, სადაც ახლოსმდგომ ფორმებს ქრომოსომთა სხვადასხვა რიცხვი აქვთ.

უმდაბლეს ეუკარიოტებში დნმ-ს შემცველობა კარგად შეესატყვისება ორგანიზმის ადგილს ევოლუციურ რიგში, მაგრამ უმაღლეს ეუკარიოტებში მრავალი გამონაკლისია. მოსალოდნელი იყო, რომ ევოლუციურად ახლოს მდგომი სახეობების გენომში ან შესაბამის ქრომოსომებში დაახლოვებით თანაბარი რაოდენობის დნმ უნდა შეიდოდეს. სინამდვილეში აღმოჩნდა, რომ ეს ყოველთვის ასე არ არის. მაგალითად, მცენარე ბაიასებრთა (Ranunculaceae) ოჯახის 12 შესწავლილ სახეობაში გენომზე გადათვლით დნმ-ს შემცველობა დიდად განსხვავებულია. ცერცვის ერთი სახეობის (Vicea faba) გენომში დნმ-ს რაოდენობა 6-ჯერ მეტია, ვიდრე მეორეში (V. sativa); Mesastoma linguა-ს გენომში თერთმეტჯერ მეტი დნმ-ა, ვიდრე M. emenbergi-ს გენომში. არის სხვა მაგალითებიც. ზოგჯერ ევოლუციურად შედარებით დაბალ საფეხურზე მდგომ ორგანიზმებში დნმ ძალიან დიდი რაოდენობითაა. მაგალითად, ძუძუმწოვრების ერთ ქრომოსომაში დნმ-ს სიგრძეა 0,01—0,07 მ, ხოლო ზოგიერთ ამფიბიასა და რეპტილიურ თევზში 3,20 მ-ს აღწევს. ორმაგმსუნთქავი თევზი პროტოპტერუსი 15-ჯერ მეტ

დნმ-ს შეიცავს,ვიდრე ადამიანი.

საინტერესოა ისიც,რომ ეუკარიოტებში დნმ-ს რაოდენობა არ შეესაბამება შესატყვისი ქრომოსომის ტრანსკრიპციულ აქტივობას.ასე,მაგალითად,კამბალა ( Pleuronichtys verticalis ) და ორმაგმსუნთქავი თევზი Lepidosiren paradoxa უჯრედის ბირთვში დნმ-ს რაოდენობრივი შემცველობის მიხედვით განსხვავდებიან 175-ჯერ,მაშინ როდესაც მათი ციღების ელექტროფორეზულ სპექტრში უმნიშვნელო სხვაობაა.როგორც ზევითაც აღვნიშნეთ (იხ.თავი III), ეუკარიოტული გენომის მოლეკულური სტრუქტურის ერთ-ერთი ფუნდამენტური თავისებურებაა ის გარემოება,რომ დნმ-ში ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობანი მეორდებიან,ამასთან,სხვადასხვა სიხშირით.ეს აღმოაჩინეს ამერიკელმა მკვლევარებმა რ.ბრიტენმა და ე.დევიდსონმა 60-იანი წლების ბოლოს დენატურირებული დნმ-ს რენატურაციის პროცესის შესწავლით.ავტორები დნმ-ს ფრაგმენტებდნენ ჰატარა მონაკვეთებად და შემდეგ ადენატურირებდნენ ხსნარის გაცხელებით დნმ-ს ლღობის ტემპერატურაზე მეტად. მიღებულ ხსნარს,რომელიც შეიცავდა ერთძაფიან დნმ-ს,აცივებდნენ ლღობის ტემპერატურასთან შედარებით $25^0$ C-ით ნაკლებ ტემპერატურამდე,რაც ოპტიმალურია კომპლემენტარი ძაფების რეასოციაციისა და ორსპირალიანი დნმ-ს წარმოქმნისათვის.რეასოციაციაზე დაკვირვების ერთ-ერთი ხერხია ხსნარის მიერ ულტრაიისფერი სხივების შთანთქმის ინტენსივობის გაზომვა 260 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ამ დროს ორძაფიანი დნმ-ს შთანთქმის კოეფიციენტი ~40%-ით ნაკლებია,ვიდრე შესატყვისი სიდიდე ერთძაფიანი დნმ-საათვის.ამ მოვლენას ჰიპერქრომიზმს უწოდებენ.მეორე ხერხს საფუძვლად უდევს ის გარემოება,რომ ორძაფიანი დნმ უკავშირდება სვეტში მოქცეულ ჰიდროქსიაპატიტს (კალციუმის ფოსფატი),ხოლო ერთძაფიანი სვეტს გაივლის.ამ ხერხით შეგვიძლია გავაცალკევოთ დენატურირებული (ერთძაფიანი) დნმ და სითბური დენატურაციის შემდეგ ორძაფიანი დნმ.

ნაწლავის ჩხირისა და T4 ფაგის რეასოციაციის კინეტიკა,რასაც საათანადო ცდებში ნახულობენ,შეესატყვისება ბიმოლეკულური რეაქციის მოსალოდნელ

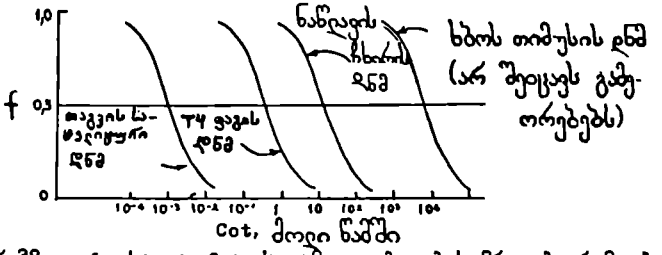
კინეტიკას:

$$S + S^{I} \xrightarrow{k} D,$$

სადაც S და $S^{I}$ დნმ-ს ერთძაფიანი კომპლემენტური მოლეკულებია, D - რეასოცირებული ორმაგი სპირალი, ხოლო K -ასოციაციის სიჩქარის კონსტანტა. ასეთ რეაქციაში ერთძაფიანი მოლეკულის წილი დროის მიხედვით თანდათან მცირდება შემდეგი განტოლების შესატყვისად:

$$f = \frac{1}{1 + k\,Cot}$$

სადაც Co -დნმ-ს საწყისი კონცენტრაციაა (მოლი ნუკლეოტიდები I ლ-ში), ხოლო t -დრო წამებში. დნმ-ს გარკვეული რაოდენობისა და ექსპერიმენტის მოცემული პირობებისათვის (იონური ძალა, ტემპერატურა, დნმ-ს ფრაგმენტების ზომა) აქ დამოკიდებულია მხოლოდ Cot-ისაგან— დნმ-ს დროსთან ნაწარმის კონცენტრაციისაგან. რეასოციაციის კინეტიკას გამოხატავენ გრაფიკულად, რომელზეც აისახება f-ის დამოკიდებულება Cot-ის ათეულ ლოგარითმთან. კოტის ასეთ მრუდს სიგმოიდური ფორმა აქვს (სურ.39 ).




სურ.39 . f-ისა და Cot-ის დამოკიდებულების მრუდები, რომლებიც გამოსახავენ გაცხელებით დენატურირებული ზოგიერთი დნმ-ს რეასოციაციის კინეტიკას. ორდინატთა ღერძზე მოცემულია ერთძაფიანი მოლეკულათა წილი, აბსცისაზე—Cot. თაგვის სატელიტური დნმ-ს სწრაფი რეასოციაცია მოწმობს, რომ იგი დიდი რაოდენობით შეიცავს განმეორებად თანმიმდევრობებს.

დნმ-ს ამა თუ იმ პრეპარატის მახასიათებლად მიიჩნევა Cot 0,5, რომელიც აღვიღად შეიძღება გამოთვალოთ სურ. 39-ზე გამოსახული მრუდის მიხედვით. Cot 0,5 —ეს Cot-ის ის მნიშვნელობაა, როდესაც ხდება დნმ-ს რაოდენობის ნახევარის (f =0,5) რეასოციაცია. ნაწღავის ჩხირის დნმ-საათის Cot 0,5 შეადგენს დაახლოვებით 9 მოლს წამში, T 4 ფაგის დნმ-საათის — 0,3 მოლს წამში. ეს იმას ნიშნავს, რომ ნაწღავის ჩხირის დნმ რეასოცირდება 30-ჯერ უფრო ნელა, ვიდრე T4 ფაგის დნმ. ეს იმით აიხსნება, რომ ნაწღავის ჩხირის დნმ გაციღებით გრძეღია და მისი შემადგენეღი სხვადასხვა სახის ფრაგმენტებიც მეტია T 4 ფაგის დნმ-სთან შედარებით. ამრიგად, კომპლემენტური ფრაგმენტების კონცენტრაცია ნაწღავის ჩხირის დაფრაგმენტებული დნმ-ს ხსნარში ნაკლებია T 4 ფაგის დნმ-სთან შედარებით (რომეღიც იგივე რაოდენობის ნუკლეოტიდებს შეიცავს) და, მაშასადამე, რეასოციაციის სიჩქარეც უფრო დაბალია. ნაირგვარი პროკარიოტული დნმ-ების გამოკვლევით აღმოჩნდა, რომ Cot 0,5-ის სიდიდე პირდაპირი პროპორციულია გენომის სიდიდესთან.

ამ მეთოდით უმაღლესი ორგანიზმების შესწავლისას აღმოჩნდა, მოულოდნელი სიახლე. მაგალითად, მოსალოდნელი იყო, რომ ძუძუმწოვართა გენომი, რომეღიც სამი რიგის სიდიდით მეტია ნაწღავის ჩხირის გენომთან შედარებით, Cot 0,5-ის მნიშვნელობა უნდა ყოფილიყო დაახლოვებით $10^4$ მოლი წამში. Cot-0,5-ის ამ მნიშვნელობის მქონე დნმ-ს რეასოციაციას $10^8$ წამი (დაახლოვებით 3 წელიწადი) უნდა დასჭირვებოდა. სინამდვილეში აღმოჩნდა, რომ თაგვის დნმ-ს 10% რეასოცირდება რამდენიმე წამში. ეს ფრაქცია რეასოცირდება გაციღებით სწრაფად, ვიდრე ყველაზე პატარა ვირუსების დნმ. ეს ნიშნავს, რომ თაგვის დნმ დიდი რაოდენობით შეიცავს განმეორებად თანამიმდევნობებს. შესაბამისი ანალიზით აღმოჩნდა, რომ ამ ფრაქციაში შედის განმეორებადი თანმიმდევრობების დაახლოვებით ერთი მილიონი ასლი და თითოეული მათგანის სიგრძეა ~ 300 წყვილი ფუძე. თაგვის დნმ-ს დაახლოვებით 20% რენატურირდება შუალედი სიჩქარით. ავტორების ინტერპრეტაციის თანახმად, ეს ფაქტი მოწმობს, რომ მოცემულ

ღი ფრაქცია შეიცავს გარკვეული თანამიმდევნობების $10^3$– $10^4$ ასლს. თაგვის დნმ-ს დანარჩენი 70% რენატურირდება ძალიან ნელა და მისი $C_{0}t_{1/2}$ 5-ის სიდიდე მიუთითებს, რომ იგი შედგება უნიკალური ან თითქმის უნიკალური თანამიმდევნობებისაგან.

ყველა დღემდე შესწავლილი ეუკარიოტული გენომები (შესაძლოა, საფუვრების გარდა) შეიცავენ განმეორებად თანამიმდევნობებს, რასაც პროკარიოტებში ცერ ცხვდებით. ადამიანის დნმ, მაგალითად, შედგება თანამიმდევნობებისაგან, რომლებიც, ყოველ შემთხვევაში, 20-ჯერ მაინც მეორდებიან. სხვადასხვა ტიპის განმეორებათა შემცველობა სხვადასხვა სახეობის გენომში ერთნაირი არ არის. ყველაზე მაღალი სიხშირით განმეორებადი (სატელიტური) დნმ ლოკალიზებულია ქრომოსომის ცენტრომერულ უბანში.

დადგენილია, რომ განმეორებადი თანამიმდევნობანი წარმოქმნიან ე.წ. ოჯახებს, რომლებშიც გაერთიანებულია ერთმანეთის მიმართ სრული ან უმეტესწილად ჰომოლოგიური თანამიმდევნობების კრებული. გენების ყველაზე ხშირად განმეორებადი (სატელიტური) ფრაქცია წარმოდგენილია მოკლე (5– 12 წყვილი ფუძე), განმეორებების შედარებით მცირე რაოდენობის (10– 15) ოჯახებით, რომლებიც გრძელ ბლოკებს წარმოქმნიან. ისინი ლოკალიზებულია ქრომოსომის ჰეტეროქრომატინულ უბანში და გენეტიკური თვალსაზრისით ინერტულია, არ შეიცავს მოფუნქციონირე გენებს. სახეობათა უმეტესობაში ამ ნაწილს უკავია გენომის არაუმეტეს 10%. ეუკარიოტული გენომის დანარჩენი 90% ისეა მოწყობილი, რომ მათში მონაწილეობს უნიკალური და საშუალი სიხშირის განმეორებადი უბნები. ადამიანისა და სხვა პრიმატების გენომში არის ინტერსპერსიული მაღალსიხშირიანი გამეორებანი, რომლებიც სიგრძით ~ 300 წყვილ ნუკლეოტიდს წარმოადგენენ. ადამიანში ეს განმეორებანი შეიცავენ საიტს, რომელიც იჭრება რესტრიქტაზით Alu . Alu-ის მსგავსი განმეორებანი ადამიანის გენომში აღწევს $5X10^5$-ს, ხოლო ზოგიერთი მონაცემით $10^6$-საც.

განმეორებადი თანამიმდევნობანი (გენები) და გენომში მათი განლაგე-

ბის გარკვეული თანამიმდევნობა უნიკალურ გენებთან ერთად მხოლოდ ეუკარიოტებში გვხვდება. ეუკარიოტების გენომის კიდევ ერთი იშვიათი თავისებურებაა ის გარემოება, რომ თითქმის ყველა გენში, რომელიც ცილას კოდირებს, გვხვდება ე.წ. ჩართული თანამიმდევნობანი— ინტრონები. ისინი ტრანსკრიბირდებიან იმ უბანთან (ეკზონთან), ერთად, რომელიც უშუალოდ ცილას კოდირებს. შემდგომში მიმდინარეობს „პროცესინგი“: მთლიანი ტრანსკრიპტიდან ინტრონების შესატყვისი უბნები იშლებიან, ხოლო ეკზონების შესატყვისი უბნები ერთდებიან. ასეთი ე.წ. სპლაისინგის შედეგად მიიღება შესაბამისი გენის საბოლოო პროდუქტი— რნმ.

ეუკარიოტული გენომის განმეორებადი თანამიმდევნობების კიდევ ერთი თავისებურებაა ინვერტირებული განმეორებების ანუ პალინდრომების არსებობა (იხ. თავი III). არსებითად, პალინდრომები წარმოადგენენ შუალედი განმეორებების ნაწილს. მათი წილი გენომში 10%-მდეა. ისინი სწრაფად რენატურირდებიან დნმ-ს კონცენტრაციისაგან დამოუკიდებლად და წარმოქმნიან სხვადასხვა აღნაგობის „სარქვლებს“. პალინდრომები შეიცავენ განმეორებების ყოველნაირ ტიპს. პალინდრომებისადმი ინტერესი დიდია იმიტომ, რომ, როგორც ფიქრობენ, ისინი მონაწილეობენ ტრანსკრიპციისა და რეპლიკაციის პროცესებში, სომატურ ტრანსლოკაციებში და გენების გადაადგილებაში.

მთელი რიგი ეუკარიოტული ორგანიზმების ნაწილობრივ დენატურირებული დნმ-ების შედარებისას აღმოჩნდა, რომ მათში შედის ა-თ-ით მდიდარი ზონები, რომელთა სიგრძე თვითეულისა ~ 800 წყვილი ნუკლეოტიდია და განაწილებულია მთელ გენომზე 10- 40X10³ წყვილი ნუკლეოტიდის ინტერვალით. როგორც ჩანს, ასეთი ორგანიზაციას ფუნქციური მნიშვნელობა უნდა პქონდეს ტრანსკრიპციის, ტრანსლაციის ან მეიოზური კროსინგოვერის ერთეულების სტაბილურობას იბეჭრობს აგრეთვე ის გარემოება, რომ ეუკარიოტულ გენომში, კერძოდ მის დისპერგირებული გამეორებების ასლებში, შედის ე.წ. „მარტივი“ განმეორებები— გ-ა ან ც-ა ტიპისა. ეს დაკავშირებულია მათი მიდრეკილებით დნმ-ს მარ-

ცხნივ დახვეული Z -ფორმის წარმოქმნისადმი, რაც, როგორც ფიქრობენ, ჩართულია გენური აქტივობის რეგულაციაში. (ც-ა)n განმეორებანი აღმოჩენილია გლობინის გენის კლასტერებში, ჰისტონშეთავსებადობის გენში. ისინი ფართოდაა გავრცელებული ძუძუმწოვრებში, ამფიბიებში. (ც-ა)n განმეორებანი, შესაძლოა, კროსინგოვერის „ცხელი" წერტილები იყვნენ, რაზეც მოწმობს, მაგალითად, ის, რომ SV -40-ის დნმ-ს ჩართვას მასპინძლის დნმ-ში თან ახლავს ც-ა ბლოკების რეკომბინაცია.

ცნობილია ეუკარიოტული დნმ-ს სტრუქტურის ზოგიერთი სხვა თავისებურებაც, როგორიცაა, მაგალითად, ჰეტეროგენულობა ნუკლეოტიდური შედგენილობის მიხედვით და სხვ.

ჰისტონები. ქრომოსომის ფუძე ცილების— ჰისტონების უმთავრესი თავისებურებაა ის გარემოება, რომ დიდი რაოდენობით შეიცავენ დადებითმუხტიან ამინომჟავებს— არგინინსა და ლიზინს. ჰისტონების პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სიგრძეზე ყოველი მეოთხე ამინომჟავა არგინინი ან ლიზინია.

ჰისტონების ნაირგვარობა დიდი არ არის. საფლეისოდ აღმოჩენილია და შესწავლილია შემდეგი ფრაქციები: H1, H2A, H2B, H3, H4 და H5-ეს უკანასკნელი მხოლოდ ფრინველთა ერითროციტებში გვხვდება. ცალკეული ფრაქციების მოლეკულური მასა 11-დან 20 კდალტონამდე აღწევს. საყურადღებოა, რომ სხვადასხვა მცენარეული და ცხოველური ორგანიზმებიდან მიღებული შესაბამისი ფრაქციების ამინომჟავური შედგენილობა და პირველადი სტრუქტურა საკმაოდ მსგავსი აღმოჩნდა. ასე, მაგალითად, ბარდას ღვიძლისა და ხბოს თიმუსის ჰისტონების H4 ფრაქციების (თვითეული მათგანი შეიცავს 102 ამინომჟავას) პირველადი სტრუქტურის განსაზღვრამ აჩვენა, რომ ისინი განსხვავდებიან მხოლოდ ორი ამინომჟავის ადგილით: ერთ ადგილზე იზოლეიცინის მაგიერ ვალინია, ხოლო მეორეგან არგინინი შეცვლილია ლიზინით. გამოდის, რომ H4 ჰისტონში ამინომჟავური თანამიმდევნობა არ შეცვლილა $1,2 \times 10^9$ წლის განმავლობაში, ე.ი. იმ პერიოდში, რაც ცოცხალი არსებანი გაყოფილან ცხოველებად და მცე-

ნარეებად.ხანგრძლივი ევოლუციის მანძილზე ნაკლებად შეცვლილი აღმოჩნდა ჰისტონი H3-ის.სხვა ცილებს,მაგალითად,ციტოქრომებს,ამ მხრივ ცვლილებანი არ განუცდიათ.

ჰისტონების სხვადასხვა ფრაქციები შეიძლება იყოს სხვადასხვა დონით აცეტილირებული,მეთილირებული,ადფ-რიბოზილირებული ან ფოსფორილირებული.ჰისტონის ფრაქციების მუხტის,წყალბადური ბმების წარმოქმნის უნარისა და მოლეკულის ფორმის ასეთ ცვლილებებს შეუძლიათ გარკვეული გავლენა მოახდინონ დნმ-ს რეპლიკაციისა და ტრანსკრიპციის პროცესზე.არსებობს ასეთი დასკვნის დამადასტურებელი ექსპერიმენტული მონაცემები.

არც თუ დიდი ხნის წინათ ჰისტონებს დიდ როლს მიაწერდნენ დნმ-ს სხვადასხვა უბნების სპეციფიკურ (შერჩევით) გენეტიკურ ფუნქციონირებაში,კერძოდ,ამ უბნების (გენების) შერჩევით მოქმედებაში. ფრაქციების მცირე ნაირგვარობა ასეთი დასკვნის საშუალებას არ იძლევა. ამ მხრივ მეტი მნიშვნელობა მიეწერება ქრომატინის მჟავე ცილებს,რომელთა ნაირგვარობა მეტისმეტად დიდია.როგორც ირკვევა,ჰისტონების დანიშნულება ძირითადად სტრუქტურულია;ისინი განაპირობებენ დნმ-ს გრძელი მოლეკულის ჩაღაგებას ისეთი მოცულობის წარმოსაქმნელად,რომლის დიამეტრი სულ რამდენიმე მკმეტრია.

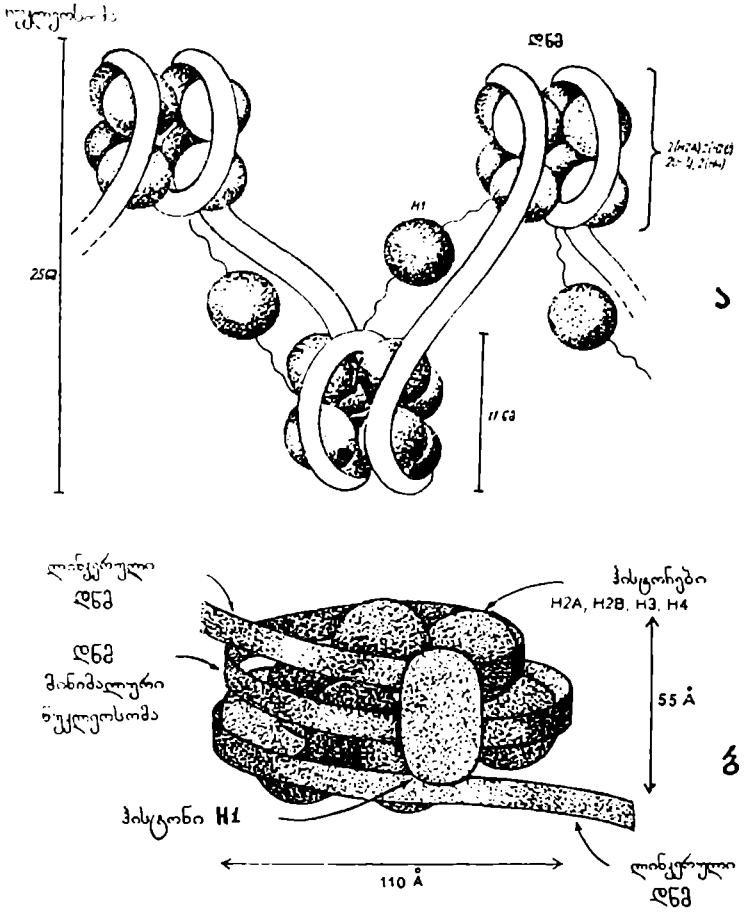
ქრომატინის სტრუქტურაში,როგორც ჩანს,მონაწილეობენ არაჰისტონური ცილებიც (აკც).მათ მიაკუთვნებენ ე.წ. HMG-ცილებს (ინგლ.High mobility group -მეტად მობილური ჯგუფი).ელექტროფორეზისას ისინი ქრომატინის სხვა არაჰისტონურ ცილებთან შედარებით ყველაზე სწრაფად გადაადგილდებიან).

როგორც აღვნიშნეთ,ქრომატინი შეიცავს რნმ-საც.მისი შემცველობა სხვადასხვა სახის ქრომატინში 1,5-დან 10%-მდე შეიძლება აღწევდეს,თუმცა ეს დამოკიდებულია გამოყოფის მეთოდისაგან.ყოველ შემთხვევაში,ქრომატინის რნმ-ს ნაწილი წარმოადგენს გენებისა და დნმ-ს რეგულატორული უბნების ტრანსკრიპტის ნაწილს (ნაწილი ახლადსინთეზირებული რნმ-სა მატრიცასთან მჭიდროდ დაკავშირებული რჩება),თუმცა,როგორც ჩანს,უნდა არსებობდეს ქრომატი-

ნული რნმ-ს სპეციალური ფორმა.რნმ-ს გარდა,ქრომატინში აღმოჩენილია კიდევ ერთი პოლიმერი— პოლი(ადფ-რიბოზა), რომელიც შეიცავს ნუკლეოტიდებსაცა და რიბოზასაც,მაგრამ იგი არაა ნუკლეინის მჟავა.მასში შემადგენელი კომპონენტები ნაკლებად ცვალებადია.პოლი(ადფ-რიბოზა) ან მისი შემადგენელი კომპონენტები შეიძლება მჭიდროდ იყვნენ დაკავშირებული ციღებთან.როგორც ჩანს,ამ ნაერთსა და მის კომპონენტებს გარკვეული მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეთ ტრანსკრიპციასა და რეპლიკაციაში.

ქრომატინის სტრუქტურული ორგანიზაცია. უკანასკნელ ხანებში დაზუსტდა შეხედულება ქრომატინის მოლეკულური ორგანიზაციის შესახებ,რომელიც ემყარება ელექტრონული მიკროსკოპიის,რენტგენოსტრუქტურული გამოკვლევების,ნუკლეაზებით ანალიზის,ჰისტონ-დნმ-ს უბნების შესწავლის შედეგებს.თანამედროვე თვალსაზრისით,ქრომატინს ელემენტური ფიბრილა ჰგავს მძივებიან ძაფს (სურ. 40).ცალკეულ მძივს ნუკლეოსომას ანუ ნიუ-ნაწილაკს უწოდებენ.ნუკლეოსომა შედგება სხვადასხვა ჰისტონის რვა მოლეკულისაგან ( H 2 A , H 2 B H 3 და H 4, ორ-ორი მოლეკულა),რომელზეც დახვეულია დნმ-ს ძაფი.ეს უკანასკნელი გრძელდება ზღუდარის ანუ ლინკერის სახით,აერთებს მეზობელ ნუკლეოსომებს და კვლავ შემოეხვევა ჰისტონის რვა მოლეკულას.ნუკლეოსომის დიამეტრი (სიგრძივი ზომა) 6-ჯერ აღემატება მასში მოთავსებული დნმ-ს ფრაგმენტის ზომაზე.ეს იყო პირველი მინიშნება,რომ დნმ შემოხვეული უნდა იყოს ჰისტონების მოლეკულაზე.სხვადასხვა ორგანიზმებისა და უჯრედების ტიპების ერთ ნუკლეოსომაში შემავალი ფრაგმენტი 160- 240 წყვილ ნუკლეოტიდს შეიძლება შეიცავდეს..

ნუკლეოსომები შეიძლება დავაჰიდროლიზოთ მიკროკოკებიდან მიღებული ნუკლეაზებით.ამ დროს მიიღება ე.წ. მინიმალური ნუკლეოსომის ნაწილაკები.ერთი ასეთი ნუკლეოსომის შედგენილობაში შემავალი დნმ-ს ფრაგმენტი 140 წყვილ ფუძეს შეიცავს,მიუხედავად იმისა,თუ რა წყაროდან არის მიღებული.როგორც ჩანს,მინიმალური ნუკლეოსომა პრაქტიკულად ერთნაირია ყველა ეუკარიოტში.




სურ. 40 .ნუკლეოსომური ფიბრილისა (ა) და ცალკეული ნუკლეოსომის (ბ) აღნაგობის სქემა.განმარტებანი—ტექსტში.

შედგება ონმ-ს 140 წყვილი ფუძის შემცველი ფრაგმენტისაგან, რომელიც, როგორც აღნიშნეთ, ოკტამერთან. მინიმალური ნუკლეოსომები მიღებულია კრისტალური სახითაც. ელექტრონული მიკროსკოპიითა და რენტგენის სხივების დიფრაქციით დადგენილია, რომ მინიმალური ნუკლეოსომა წარმოადგენს შებრტყელებულ ნაწილაკს ზომით 110X100X55 Å. ონმ-ს 140 წყვილი ფუძის შემცველი ფრაგმენტები ($10^5$ დალტონი, სიგრძით ~500 Å) ჰისტონების ოქტამერს შემოხვეულია გარედან და წარმოქმნის მარცხნივმოხვეული სუპერსპირალის $1\frac{3}{4}$ წრეს, ნაბიჯით ~ 28 (სურ.6). ერთი ნუკლეოსომის მოლეკულური მასა 26400 დალტონია.

ზღუდარის უბანში ღინკერული ონმ დაკავშირებულია ჰისტონ H1-თან. ეს ფრაქცია ყოველთვის არ არის ნუკლეოსომაში. სხვა ჰისტონებთან შედარებით, მისი ამინომჟავური შედგენილობა ცვალებადია. ერთ ნუკლეოსომაზე მოდის H1 ჰისტონის ერთი მოლეკულა. იგი ადვილად სცილდება ნუკლეოსომას, რაც მოწმობს მის პერიფერიულ ლოკალიზაციას. როგორც ჩანს, H1 ჰისტონი თავისებური ხიდაკია ორ მეზობელ ნუკლეოსომას შორის და ხელს უწყობს ქრომატინის კომპაქტურობას.

ზღუდარი 100–200 Å სიგრძისაა და შეიცავს 30–60 ნუკლეოტიდურ წყვილს (20–40X$10^3$ დალტონი). სხვანაირად რომ ვთქვათ, ონმ-ს 18–35% ზღუდარის შეიგენილობაში შედის. ზღუდარის ონმ ადვილად მისაღწევადია ონმ-აზისათვის, ხოლო თვით ნუკლეოსომის ონმ მდგრადია ნუკლეაზების მიმართ, რაც ააღვილებს ცალკეული ნატივური ნიე-ნაწილაკების გამოყოფასა და შესწავლას.

ელექტრონული მიკროსკოპით ქრომატინში არჩევენ ორი ტიპის – 10 ნმ და 30 ნმ ძაფებს. პირველი ძირითადად წარმოადგენს ნუკლეოსომების უწყვეტ მწკრივს. ასეთი ძაფები წარმოიქმნება დაბალი იონური ძალის პირობებში, როდესაც აღარაა ჰისტონი H1. ეს ნიშნავს, რომ მოცემული სახის სტრუქტურის წარმოქმნა თვით ნუკლეოსომის ფუნქციაა.

როდესაც ქრომატინს იკვლევენ მაღალი იონური ძალის პირობებში ჰისტონ

"I-ის თანაობისას,ელექტრონებზე 30 ნმ ზომის ძაფებს.ამ დროს ფიბრილებს სპირალური სახე აქვთ.ითვლება მარცვლში შეღის ნუკლეოსომა.ასეთი ძაფები ინტერფაზული ქრომატინისა და მიტოზური ქრომოსომების ძირითადი კომპონენტებია.

იონური ძალისაგან ლაბოკიდებულებით 30 ნმ ზომის ძაფი შეიძლება გადაიქცეს 10 ნმ ზომის ძაფად და პირიქით.აქედან გამომდინარეობს,რომ მაღალი იონური ძალის პირობებში და "I პისტონის თანაობისას 10 ნმ ზომის ნუკლეოსომური ძაფის ხაზობრივი რიგი იხვევა 30 ნმ სისქის სტრუქტურად.ნუკლეოსომური ძაფები ადგილ-ადგილ წარმოქმნიან სუპერსპირალიზებულ უბნებს- მარცვლებს ანუ დომენებს.სხვადასხვა ხერხებით წესაძლებელია სუპერსპირალიზაციის დონის განსაზღვრა.

ქრომატინის ელემენტურ ძაფებს სხვა სახის აღნაგობაც შეიძლება ჰქონდეს. ამასთან,როგორც ირკვევა,ტრანსკრიპციისას ნუკლეოსომური სტრუქტურა მნიშვნელოვან ცვლილებებს განიცდის.

ქრომატინის სტრუქტურული ანალიზისას წარმატებით გამოიყენება სპეციფიკური ნუკლეაზები (რესტრიქტაზები) და მეთილაზები,რომლებიც ცნობენ დნმ-ს მოლეკულის გამოტოტვილ სიმეტრიულ გამონაზარდებს— პალინდრომებს.

როგორც ირკვევა,ეუკარიოტული დნმ აგრეთვე ნახევრადკონსერვატულად რეპლიცირდება.ამასთან,რეპლიცირებული დნმ ასევე ნახევრადკონსერვატულად ნაწილდება შვილეულ ქრომატიდებს შორის.ელექტრონული მიკროსკოპით ნაჩვენებია, რომ ეუკარიოტული დნმ-ს რეპლიკაცია ბევრ სხვადასხვა წერტილში იწყება და მიდის ორივე მიმართულებით.როგორც ჩანს,ეს გარემოება განაპირობებს რეპლიკაციის სიჩქარეს,რადგან ეუკარიოტული დნმ მეტად დიდი მოლეკულაა.მაგალითად,დროზოფილას ყველაზე დიდი ქრომოსომის დნმ 2,I სმ-ს აღწევს (62000 კბ).შესაბამისი ექსპერიმენტების საფეძველზე გამოთვლილია,რომ ამ ქრომოსომაში რეპლიკაციის მხოლოდ საწყისი წერტილი რომ ყოფილიყო,მის გაორმაგებას 16 დღე-ღამე მოუნდებოდა.სინამდვილეში ეს სამ წუთში ხდება,რადგან

დნმ-ს ერთ მოლეკულაში კოოპერატიულად მოქმედებს 6000-ზე მეტი „სარეპლიკაციო ორკაპი“ („ჩანგაღი“).

როგორც ცნობილია, ეუკარიოტულ უჯრედში რეპლიკაციის გამაპირობებელი ფერმენტის— დნმ-პოლიმერაზის სამი ძირითადი ფორმაა. ქრომოსომის რეპლიკატიაში მთავარია ფორმა I, ხოლო ფორმა II მონაწილეობს რეპარაციაში. უჯრედის ინტენსიური დაყოფის პერიოდში ფორმა I-ის რაოდენობა 10-ჯერ და მეტადაც მატულობს. პროკარიოტებისაგან განსხვავებით, ეუკარიოტული დნმ-პოლიმერაზებისათვის ნუკლეაზური აქტივობა არაა დამახასიათებელი, რაც, როგორც ჩანს, მნიშვნელოვანი გარემოება უნდა იყოს ქრომატინისათვის.

ეუკარიოტული გენომის ფუნქციური ორგანიზაცია. ამროგად, ქრომატინი გენომის სტრუქტურული ორგანიზაციის ფორმაა, რომელიც უჯრედის დაყოფისას ქრომოსომების სახეს ღებულობს. როგორც ვნახეთ, ეს ფორმა გაცილებით რთულია პროკარიოტებთან შედარებით და შესაბამისად გართულებულია მისი ფუნქციური ორგანიზაციაც. უპირველეს ყოვლისა აღსანიშნავია, რომ ქრომატინი როგორც სტრუქტურული, ისე ფუნქციური თვალსაზრისით, ერთგვაროვანი არ არის. ციტოლოგიურად მასში არჩევენ ორ ძირითად განსხვავებულ უბანს- ეუქრომატინსა და ჰეტეროქრომატინს. ეუქრომატინი ნაკლებად კონდენსირებულია და შესაბამისად ფუნქციურად აქტიურიც, ხოლო ჰეტეროქრომატინი ძლიერ კონდენსირებულ ნაწილს წარმოადგენს და მისი გენეტიკური აქტივობაც შეზღუდულია. ექსპერიმენტულად ქრომატინის გაცალკევება აქტიურ და არააქტიურ ფრაქციებად ხორციელდება ულტრაბგეერითი დაფრაგმენტებით, ნუკლეაზების ზემოქმედებით. აქტიურ ქრომატინში მეტია არაჰისტონური ცილები და რნმ. დროზოფილის გიგანტური ქრომოსომების „პუფებზე“ დაკვირვებისას ნახულია, რომ აქტივობის დროს არაჰისტონური ცილები და რნმ მატულობს.

მიუხედავად იმისა, რომ ჰეტეროქრომატინი ღარიბია აქტიური უბნებით, მასში განლაგებულია ზოგიერთი აქტიურად მოფუნქციონირე და მრავალჯერად განმეორებადი გენები, რომლებიც სხვადასხვა ტ-რნმ-ს და რ-რნმ-ს პროდუცირებენ.

როგორც ირკვევა, ჰეტეროქრომატინი არ წარმოადგენს ერთგვაროვან სუბსტანციას. მასში არჩევენ კონსტრუქციულ და ფაკულტატურ ნაწილებს. პირველი ყოველთვის კონდენსირებულია, ხოლო მეორე-შეიძლება იცვლებოდეს, ე.ი. დრო და დრო იყოს ჰეტერო- და ეუქრომატინული ბუნებისა. შესაძლოა, რომ ეს გაპირობებულია განსაკუთრებული ცილებით.

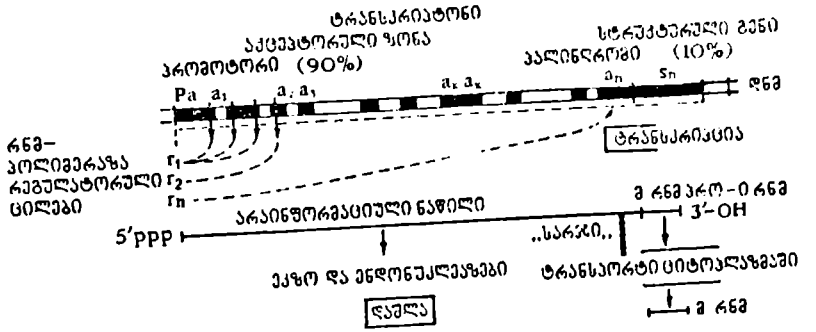
ეუკარიოტების გენეტიკური სუბსტრატის ფუნქციური ფორმის ორგანიზაციის შესწავლაში დიდი მნიშვნელობა იქონია ქრომოსომთა ქრომომერების გამოკვლევამ. ამ მხრივ შესანიშნავი აღმოჩნდა დროზოფილას მატლების სანერწყვე ჯირკვლების გიგანტური პოლიტენური ქრომოსომები. როგორც ცნობილია, ისინი წარმოიქმნებიან ჰომოლოგების კონიუგაციისა და ძაფების (დნმ-ს მოლეკულების) რიცხვის მომდევნო გადიდებით. იმის გამო, რომ რეპლიკაციის შედეგად ძაფები ერთმანეთს არ სცილდებიან. ამრიგად, პოლიტენურ ქრომოსომებში ძაფების რიცხვი იქნება $2^n$, სადაც n შეიძლება იყოს 8, 10, 12 და მეტიც. პოლიტენური ქრომოსომების სიგრძე 150—200-ჯერ მეტია დროზოფილის სასქესო ჯირკვლების მიტოზურ ქრომოსომებთან შედარებით. პოლიტენურ ქრომოსომებზე კარგად ჩანს ერთმანეთის თანამომდევნო მუქი და ნათელი გარდიგარდმო ზოლები. მუქი ზოლები—ქრომომერები ანუ დისკოებია. საინტერესოა, რომ მუქი და ნათელი ზოლების თანამომდევნობა სახეობასპეციფიკურია. დისკოების წარმოშობას ხსნიან მორეპლიცირე ჰომოლოგიურ ქრომოსომებში იდენტური ქრომომერების მჭიდრო სიახლოვით. ამასთანავე, მიჩნეულია, რომ სწორედ ქრომომერი (პოლიტენური ქრომოსომის დისკო) წარმოადგენს გენების ერთგვარ „საბუდარს". 70-იანი წლების დასაწყისამდე ფიქრობდნენ, რომ ერთ დისკოში ერთი გენია. ამასთანავე, გამოთქვა მოსაზრება, რომ პოლიტენურ ქრომოსომაში ვენეტიკურ ერთეულად დისკოსთან ერთად უნდა ჩაითვალოს დისკოებშორისი არეც. საამისიო არგუმენტად უნდა მივიჩნიოთ ის ფაქტი, რომ რნმ-ს სინთეზი მიმდინარეობს დისკოებშორის არეშიც. როგორც გაირკვა, ბევრ დისკოში რამოდენიმე გენია და აქვეა ე.წ. „მდუმარე" დნმ-ს ზონა, რომელსაც ზოგიერთი ავტორი, მათ შორის ფ. კრიკი, გენების „მდუმარე" ნა-

წილს, ანუ „ეგოისტურ“ დნმ-ს უწოდებს.

პოლიტენურ ქრომოსომებში სტრუქტურულ გენებს ქრომომერის მხოლოდ მცირე ნაწილი უკავიათ, ასე, რომ ქრომომერი მდიდარია „ჭარბი“ დნმ-ით.

ორფრთიანთა პოლიტენური ქრომოსომებისა და ღამპის ჯაგრისისი ტიპის ქრომოსომების დისკოების სტრუქტურაზე მონაცემების შეპირისპირება დნმ-ს მსგავსი რნმ-ს მოლეკულის ტრანსკრიპციის შესახებ მონაცემებთან მიუთითებს იმაზე, რომ მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების გენეტიკური ლოკუსები რთული პოლიცისტრონული აღნაგობისაა. ყოველი ასეთი ლოკუსი არსებითად შეადგენს ოპერონს ერთი სტრუქტურული გენით, რომელიც წარმოდგენილია ერთი ან რამდენიმე იდენტური ასლით. ოპერატიული მოქმედება, როგორც ჩანს, ასევე წარმოდგენილია რამოდენიმე „სუბლოკუსით“.

არსებობს რამდენიმე ჰიპოთეზა უმაღლეს ორგანიზმთა გენეტიკური ერთეულის —ოპერონის სტრუქტურისა და ფუნქციონირების რეგულაციის შესახებ. მათგან ერთ-ერთი პოპულარულია გ.პ.გეორგიევის შეხედულება. ამ შეხედულების თანახმად, ყოველი ოპერონი შეიცავს მრავალ ცისტრონს, ე.ი. ეუკარიოტული ოპერონი პოლიცისტრონული ბუნებისაა. იგი შედგება აქცეპტორული და სტრუქტურული (რეგულატორული) ზონებისაგან. აქცეპტორული ზონა არაინფორმაციული ნაწილია. იგი მდებარეობს პროქსიმალურ ნაწილში და შეიცავს სამოსამსახურო უბნებს, რომლებიც ერთმანეთის თანმიმდევრობით არიან განლაგებულნი (სურ. 41 ). აქ თავმოყრილია ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობანი, რომლებიც რეაგირებენ რეგულატორულ ცილებთან (რეპრესორებთან და აქტივატორებთან) და წარმართავენ სტრუქტურული გენების მოქმედებას. სტრუქტურული ანუ რეგულატორული ზონა განლაგებულია დისტალურ ნაწილში. ტრანსკრიპცია იწყება არაინფორმაციული აქცეპტორული ზონიდან და გრძელდება სტრუქტურული ცისტრონების მატრიცაზე. ყოველი ოპერონის აქცეპტორული ლოკუსები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან, . მაშინ, როდესაც სხვადასხვა ოპერონები შეიძლება ერთნაირ აქცეპტორულ ლოკუსებს შეიცავდნენ. ასეთი შეხედულების პირველი მიმნიშნებელი იყო ის ფაქ-




სურ.41 .ოპერონის აღნაგობის სქემა ეუკარიოტულ უჯრედში გ.პ. გეორგიევის მიხედვით.

ტი,რომ ბირთვში წარმოქმნილი თავდაპირველი ტრანსკრიპტი გაცილებით დიდი მოლეკულაა,ვიდრე უკვე ციტოპლაზმაში მოფუნქციონირე მზა მ-რნმ.ამასთანავე დადგინდა, რომ თავდაპირველ ტრანსკრიპტში,რომლის ბირთვიდან ციტოპლაზმისაკენ ტრანსპორტს ემსახურებიან განსაკუთრებული ცილები—ინფორმოფერები, არის უბნები,რომლებიც აღარაა მოფუნქციონირე მ-რნმ-ში.შემდგომში გაირკვა, რომ ტრანსკრიპტის ის ნაწილი რომელიც იშლება,შეესატყვისება გენის ინტრონულ უბნებს,ხოლო ნაწილი რომელიც ცალკეული ფრაგმენტების გაერთიანების შედეგად (სპლაისინგი) ყალიბდება როგორც მ-რნმ,შეესატყვისება გენის ეკზონურ უბნებს (იხ.თავი XI,გენის ნატიფი სტრუქტურა).

პროკარიოტების სტრუქტურულ გენებთან შედარებით,ეუკარიოტებში ინტრონების შემცველი ხაზობრივი ზომები ზოგჯერ მეტისმეტად დიდია და ეკზონების ჯამს 10-ჯერ ან მეტადაც ჭარბობს.ზოგიერთი გენი,ვიტელოგენინის (ბაყაყის კვერცხუჯრედის ყვითრის ცილების წინამორბედის ) $A_1$ და $A_2$ გენები და ნიწილის $a_2$ პროკოლაგენის გენი შეიცავენ 50-მდე ინტრონს.აღწერილია ცალკეული ინტრონების სიგრძის ცვლილებების შემთხვევები,თუმცა ამ ცვლილებების გავლენა

ფენოტიპზე ჯერჯერობით აღწერილი არ არის.

ინტრონების აბსოლუტური უმეტესობა არ წარმოადგენს მაკოდირებელ თანმიმდევრობებს, მაგრამ არის გამონაკლისებიც. მაგალითად, ნეიროსპორის მიტოქონდრიის დიდი რ-რნმ-ს გენის ინტრონი კოდირებს 5s რიბოსომული სუბნაწილაკის ცილას. მიაჩნიათ, რომ შესაძლებელია უმდაბლესი ეუკარიოტების ზოგიერთი ინტრონი კოდირებს სპლაისინგში მონაწილე ცილებს.

ეუკარიოტებში, უნიკალურ გენებთან ერთად, ნახულობენ რამდენიმე ბლოკს, რომლებიც შედგებიან ტანდემურად განმეორებადი (ე.ი. ერთმანეთის მიყოლებით განლაგებული) იდენტური გენების ან გენების ჯგუფებისაგან. ამ ტიპის მიხედვით არიან განლაგებულნი რ-რნმ-ს, ტ-რნმ-სა და ჰისტონების გენები. როგორც ჩანს, ეს უკანასკნელნი ზოგიერთი ეუკარიოტული ორგანიზმის გენ, ში ინტრონებს არ შეიცავენ. გენთაშორისი დნმ შედგება ძირითადად განმეორებებისაგან და მათი დამაკავშირებელი უნიკალური თანამომდევნობებისაგან. სხვანაირად რომ ვთქვათ, ეს გენომის ინტერსპერსული ნაწილია. რეპლიკაციასა და ტრანსკრიპციაში მონაწილე რეგულატორული თანამომდევნობების შესახებ მონაცემები არც თუ ისე ბევრია, თუ მხედველობაში არ მივიღებთ რამდენიმე მოკლე თანამომდევნობას, როგორიცაა, მაგალითად, თანამომდევნობა თ-ა-თ-ა (პოგნესის ბოქსი; იხ. თავი XI) და ზოგიერთი სხვა თანამომდევნობა, რომელთა თანაობა ააქტივებს ტრანსკრიპციას. როგორც ჩანს, სავარაუდო რეგულატორული ზონების ხელოვნური კონსტრუირება და მათი აქტივობის გამოცდა გენეტიკური ტრანსფორმაციის ცდებში, მათი ბუნების გამოვლენის ყველაზე ოპტიმალურ გზად უნდა ჩაითვალოს.

ამრიგად, ეუკარიოტული გენომის გენების უმეტესობა წარმოადგენს დნმ-ს სტრუქტურული (ეკზონები), რეგულატორული და არამაკოდირებელი (ინტრონები) თანამომდევნობების ჯამს, რომლებიც ქრომოსომაში წარმოქმნიან გენეტიკური ფუნქციების დისკრეტულ ერთეულებს.

## თ ა ვ ი X

## ც ი ტ ო პ ლ ა ზ მ უ რ ი  გ ე ნ ო მ ი

ზოგადი ცნობები. ეუკარიოტულ უჯრედში მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატი – დნმ ძირითადად თავმოყრილია ბირთვში. 60-იანი წლების დასაწყისში დნმ აღმოჩენილი იქნა ციტოპლაზმაშიც, სადაც მისი რაოდენობა უჯრედის მთელი დნმ-ს 10%-მდე აღწევს. ციტოპლაზმური დნმ ძირითადად შედის მიტოქონდრიებში და ქლოროპლასტებში – ორგანელებში, რომლებსაც უჯრედში ენერგიის მთავარი მწარმოებლის ფუნქცია აკისრიათ: მიტოქონდრიებში ხდება ჟანგვითი ფოსფორილირება და ენერგიის აკუმულირება ქიმიურ კავშირებში, ხოლო ქლოროპლასტები ემსახურებიან ფოტოსინთეზს. მიტოქონდრიებისა და ქლოროპლასტების დნმ-ები აღნაგობითა და ორგანიზაციით მნიშვნელოვნად განსხვავდებიან ბირთვის დნმ-საგან და,როგორც ირკვევა, განაპირობებენ ე.წ. ციტოპლაზმური ანუ ქრომოსომგარე მემკვიდრეობის ფენომენებს— შემთხვევებს, როდესაც რომელიმე ნიშან-თვისების მემკვიდრეობით გადაცემა შთამომავლობაში და დათიშვა მენდელის კანონების თანახმად არ ხდება.

ამ გარემოებას ყურადღება მიაქციეს ჯერ კიდევ ჩვენი საუკუნის დასაწყისში. სახელდობრ, კ.კორენსმა მცენარე გულისაბას (მირაბილისის) ორი ფორმის — ♀-თეთრმწვანე ჭრელფოთოლასა და ♂-მწვანეფოთოლას შეჯვარებისას ნახა, რომ პირველ თაობაში ყველა მცენარე ჭრელფოთოლა იყო, რომლებიც შემდგომ თაობებში არ დაითიშებოდნენ. იმავე ფორმების რეციპროკული შეჯვარებისას ( ♀-მწვანეფოთოლა X ♂-ჭრელფოთოლა) ყველა ჰიბრიდი მწვანეფოთოლა იყო, რომლებიც შემდგომ თაობებში არ ითიშებოდნენ. მკვლევარმა დაასკვნა, რომ, როგორც ჩანს, ამ შემთხვევაში ფოთლის შეფერილობა შთამომავლობას უმეტესად დედით გადაეცემა და რადგანაც კვერცხუჯრედში მეტია ციტოპლაზმა, ფოთლის შეფერილობის გამაპირობებელი ფაქტორიც ციტოპლაზმაში უნდა იყოს ლოკალიზებული. სხვა შემთხვევაში (ე.მაუერი) გერანის (პელარგ-

ონიების) მაგალითზე [illegible] ალი იყო, რომ ♀-მწვანეფოთლას შეჯვარებისას ♂-თეთრმწვანე ბრეფოთლასთან პირველ თაობაში ძირითადად მიიღებოდა მწვანეფოთლა მცენარეები, რომლებშიც თითო-ოროლა ბრეფოთლაც გამოერეოდა ხოლმე. მსგავსი სურათი ნახეს სხვა მცენარეებზე, რის საფუძველზეც დასკვნეს, რომ ამ შეჯვარებაში ბრეფოთლიანობა გაპირობებულია გენებით, რომლებიც ლოკალიზებულია ფენრიანებში (თუმცა ამ უკანასკნელ ციტოლანმა ცოტა აქვთ).

როგორც აღვნიშნეთ, ზოგიერთ ნიშან-თვისებას, რომელთა გამაპირობებელი გენები ბირთვის გარეთაა, ადგილი ეიტოქონდრიებში. ამრიგად, მცენარეულ უჯრედში სამი გენეტიკური სისტემაა: ბირთვული, ქლოროპლასტული და მიტოქონდრიული. ბირთვებთან ერთად, ქლოროპლასტებსა და მიტოქონდრიებს გააჩნიათ ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის საკუთარი, ნეტ-ნაკლებად ავტონომიური, გენეტიკური აპარატი.

ქლოროპლასტებსა და მიტოქონდრიებში დნმ-ს იდენტიფიკაციისა და დახასიათებისათვის არსებული ციტოქიმიური მეთოდები საკმარისი არ არის. საამისოდ, იყენებენ გენების უნიკალურ კრებულს, რომელთაც დღეს არსებული ცნობებით ამ ორგანელთა დნმ-ები შეიცავენ. სათანადო ექსპერიმენტებისათვის მოხერხებულ ობიექტზე ნაჩვენებია, რომ ქლოროპლასტებისა და მიტოქონდრიების დნმ-ები შესამჩნევად განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ნუკლეოტიდების. საშუალო შეგენილობით იმდენად, რომ შესაძლებელია მათი გაცალკევება ცეზიუმის სიმკვრივის გრადიენტში ცენტრიფუგირებისას. შესაძლებელია აგრეთვე მათი გამოყოფა უშუალოდ იზოლირებული ორგანელებიდან. არის სხვა მეთოდებიც.

ქლოროპლასტებისა და მიტოქონდრიების ყველა დღემდე ცნობილი დნმ-ს მოლეკულა ორძაფიანია, რომლებიც შეკავშირებულია რგოლად ან შეიცავს რგოლურ ფორმებს. ეს გარემოება მიუთითებს, რომ რგოლურ ფორმას რაღაც ფუნდამენტური ბიოლოგიური მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეს; ანას უნდა მოწმობდეს

კერძოდ ის ფაქტი, რომ რგოლური ფორმა აქვთ ბაქტერიების, ფირუსებისა და პლაზმიდების დნმ-ებსაც. აღსანიშნავია, რომ რგოლური ფორმის დნმ შეუარებით ადვილი გამოსაყოფია და ამდენად უფრო მოსახერხებელიც შესწავლისათვის.

ციტოპლაზმური დნმ-ები ძლიერ განსხვავდებიან ბირთვულისაგან სიმარტივეთ-სიმკვრივით ცეზიუმის ქლორიდის გრადიენტში, ნუკლეოტიდური შედგენილობით და თანამომდევნობით (პირველადი სტრუქტურა).

<u>მიტოქონდრიული გენომი (მტ-გენომი).</u> მტ-გენომის (მტ-დნმ-ს) არსებობა თავდაპირველად მინიშნებული იყო გენეტიკური ექსპერიმენტებით. კერძოდ 1949 წელს ბ.ედრუსმა შეამჩნია, რომ საფუარას ზოგიერთ მუტანტს არ გააჩნია ჟანგვითი ფოსფორილირების უნარი. ასეთი ე.წ. სუნთქვის მიხედვით მუტანტები ნელა იზრდებიან დუღილის ხარჯზე. მათ (ლრანგ. —„პატარები") უწოდებენ, რადგან მცირე ზომის კოლონიებს წარმოქმნიან. გენეტიკური ანალიზით აღმოჩნდა, რომ ეს მუტანტები სეგრეგირდებიან ბირთვისაგან დამოუკიდებლად. ეს კი გახდა იმ მოსაზრების საფუძველი, რომ, რადგანაც ჟანგვითი ფოსფორილირება უჯრედში მიტოქონდრიების ფუნქციაა, ამ ორგანელებს საკუთარი გენომიც უნდა ჰქონდეთ და მათში უნდა იყოს ლოკალიზებული ზემოაღნიშნული პროცესის მაკონტროლებელი მემკვიდრული ფაქტორები. მართლაც, 1963-64 წლებში რამდენიმე მკვლევარმა ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად აღმოაჩინა, რომ მიტოქონდრიები შეიცავენ საკუთარ დნმ-ს, რაც, როგორც შემდეგში გაირკვა, ზოგიერთი სახის უჯრედში მთელი დნმ-ს 1-დან 10%-მდე შეიძლება შეადგენდეს, თუმცა საფუვრებში 18%-ს აღწევს.

მტ-დნმ-ები წარმოადგენენ ორძაფიანი რგოლური ფორმის მოლეკულებს (გამონაკლისია ინფუზორიების, მაგალითად, ფოსტალას მტ-დნმ, რომელიც ხაზობრივია), რომელთა საშუალო მოლეკულური მასაა $1 \times 10^7$ დალტონი. საერთოდ, მტ-დნმ-ები შედარებით მცირე ზომისაა და დაახლოებით $16,5 \times 10^3$ წყნ-ს შეიცავენ, რამაც გარკვეულად გააადვილა მათი პირველადი სტრუქტურის დადგენა. საფლეისოდ ცნობილია ბევრი ორგანიზმის, კერძოდ, ადამიანის,

თაგვის, ძროხისა და სხვათა მტ-დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობა. ცხოველური მტ-დნმ-ს საშუალო კონტურული სიგრძე 5 მკმ-ს აღწევს, რაც შეესატყვისება 15 კბ-ს. საფუვრის მტ-დნმ საერთო ზომით 5-ჯერ (ქლოროპლასტებისა - 10-ჯერ) გრძელია კონტურულ სიგრძესთან შედარებით. ბირთვის მქონე მიკროორგანიზმებში, მაგალითად, საფუვრებში, ნეიროსპორაში, ტეტრაპინემაში მტ-დნმ-ები დაახლოვებით 3-5-ჯერ უფრო დიდებია, ვიდრე ცხოველებში. მცენარეული მტ-დნმ-ების ზომები უცნობია.

მე-10 ცხრილში მოყვანილია სხვადასხვა მტ-გენომის ზოგიერთი მახასიათებელი.

ცხრილი 10

სხვადასხვა მტ-გენომის ზოგიერთი მახასიათებელი

| სახეობა | დნმ შეიცავს წყ ნ-ს (ათასობით) | გენომის რიცხვი ერთ ორგანელში | ორგანელთა რიცხვი ერთ უჯრედში | მტ-დნმ-ს წილი უჯრედის მთელ დნმ-სთან % |
|---|---|---|---|---|
| თაგვი ( L-უჯრედები) | 16.2 | 2 | 500 | 0,2 |
| ადამიანი (HeLa -ს უჯრედები) | 16.2 | 10 | 800 | 1.0 |
| დროზოფილა | 18.4 | უცნობია | უცნობია | უცნობია |
| ქსენოპუსი | 18.4 | უცნობია | უცნობია | უცნობია |
| საფუარა | 84 | 4 | 22 | 18 |
| ბარდა | 110 | უცნობია | უცნობია | უცნობია |

როგორც ჩანს, ერთ უჯრედში რამდენიმე ათეული და ზოგჯერ ასეული მიტოქონდრიაა (მონაცემები მიღებულია ძირითადად კულტივირებულ უჯრედებზე), ხოლო ერთ მიტოქონდრიაზე მოდის ერთზე მეტი, მაგრამ ათზე ნაკლები გენომი-დნმ-ს მოლეკულა. ამ ორგანელებში, ისევე როგორც ქლოროპლასტებში, არ არის ჰისტონები, ამიტომაც დნმ-ს, როგორც მოლეკულის ჩაღაგება უცნობია. ყოველ

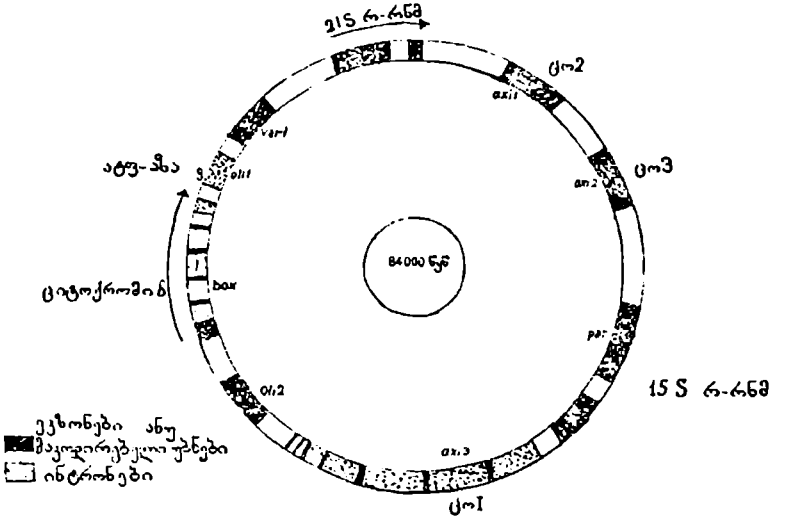
შემთხვევაში, აქ გენომის სტრუქტურული ორგანიზაცია მეტად ჰგავს ბაქტერიას, ვიდრე ეუკარიოტულ ქრომატინს.

დღემდე ცნობილი მტ-გენომებიდან ყველაზე დიდია საფუვრის (Sacharo-) გენომი. იგი შედარებით უკეთესადაა შესწავლილი. დადგენილია, რომ იგი შეიცავს 84 X $10^3$ წყ.ნ-ს; ყოველ უჯრედში 22-მდე მიტოქონდრიაა, რომელთაგან თვითეულში დნმ-ს 4 მოლეკულაა. საბოლოოდ, საფუვრის მოზარდ უჯრედში მიტოქონდრიების წილად მთელი უჯრედის დნმ-ს 18%-მდე მოდის. საფუვრის მტ-დნმ კოდირებს დაახლოვებით 10 ცილას, ორ მოლეკულა დნმ-ს და 26 სახეობა ტ-რნმ-ს. საყურადღებოა, რომ მტ-დნმ-ს მიერ კოდირებული და ამ ორგანელში სინთეზირებული ცილის მოლეკულები მთელი უჯრედის ცილის მხოლოდ 5%-ს შეადგენენ. მიტოქონდრიების ცილის ძირითადი ნაწილი კოდირდება ბირთვის გენომით, თუმცა, როგორც ირკვევა, მტ-დნმ-ს გენეტიკური წილი უჯრედის საერთო მეურნეობაში აუცილებელია. მაგალითად, დადგენილია, რომ ციტოქრომოქსიდაზის 7 სუბერთეულიდან 3 და მიტოქონდრიების შიგა მემბრანის 10 სუბერთეულიდან 3 კოდირდება მტ-გენომით. ცალკე გასარკვევი საკითხია ის გარემოება, რომ, თუ მიტოქონდრიების ცილების 95% კოდირდება ბირთვის გენომით, მაშინ რაღა საჭიროა ანდა საერთოდ საიდან გაჩნდა უჯრედში მტ-გენომი?

მტ-დნმ-ს მოლეკულის ზომიდან გამომდინარე, ერთ მოლეკულას შეუძლია 15000 ამინომჟავის, ე.ი. დაახლოვებით ასი ცილის კოდირება. თუ გავითვალისწინებთ, რომ მიტოქონდრიულ დნმ-ზე ხდება საკუთარი რიბოსომული და ტრანსპორტული რნმ-ს ტრანსკრიპცია, აღმოჩნდება, რომ დანარჩენი დნმ საკმარისი იქნებოდა დაახლოვებით 20-30 ცილის კოდირებისთვის. ეს რიცხვი შეესატყვისება გენეტიკური ინფორმაციის მინიმალურ რაოდენობას დღემდე შესწავლილ ციტოპლაზმურ დნმ-ებში.

როგორც ზემოთ მოყვანილი ცხრილიდან ჩანს, საფუვრის უჯრედების მტ-დნმ-ს მოლეკულა ხუთჯერ დიდია ძუძუმწოვართა მტ-დნმ-სთან შედარებით. ეს

გარემოება, მიუხედავად ერთნაირი ფუნქციისა, მიუთითებს მაგი გენეტიკური ორგანიზაციის მნიშვნელოვან სხვაობაზე. სურ. 42 -ზე გამოსახულია საფუვრის მტ-გენომის გენეტიკური რუკა, რომელშიც აღნიშნულია გენების ურთიერთგანლაგება რნმ-სა და ციდების წაწილისათვის (ტ-რნმ-ს გენები ბოლომდე არ ნისკარტირებული და რუკაზე არის გამოსახული). რუკაზე ყურადღებას იპყრობს ღოკუსების სივრცობრივი განცალკევებულობა, რაც განსაკუთრებით გამოიხატება რნმ-ს მაკოდირებელი გენების მაგალითზე და რაც იშვიათია.




სურ. 42 საფუვრის მტ-დნმ-ს გენეტიკური რუკა.
როგორც ჩანს, მტ-გენომი შეიცავს წყვეტილი და უწყვეტი აღსაგობის გენებს, რომლებიც კოდირებენ სხვადასხვა ციდებს, რ-რნმ-ს, ტ-რნმ-ს(ტრარიცრუკაზე აღნიშნული). ისრები უჩვენებენ ტრანსკრიპციის მიმართულებას.

საფუვრებში, აღამიანისაგან განსხვავებით, მიტოქონდრიული გენები მოზაიკური სტრუქტურისაა, რაც იმაში მოგვმარეობს, რომ ისინი შეიცავენ ინტრონებს, რომლებიც, როგორც ჩანს, რნმ-ს მომდევნო სპლაისინგის შედეგად ქრებიან. არაფერია ცნობილი სიმეტრიული ტრანსკრიპციის შესახებ საფუვრებში. ყველა გენი, ერთის გარდა, ტრანსკრიბირდება დნმ-ს ერთი ჯაჭვიდან, ამასთან, სხვადასხვა გენისათვის არსებობს რამდენიმე ძრომოტორი. საფუვრების მტ-გენომში ინტრონების აღმოჩენა(ისევე, როგორც ზოგიერთი სახის ქლ-გენომში) საკმაოდ მოულოდნელი იყო, რადგანაც არსებობს უჯრედში მიტოქონდრიების ენდოსიმბიოზური თეორია და ბაქტერიების გენომში კი ინტრონები არ არის აღმოჩენილი. ამასთან, საფუვრის ერთი შტამის მტ-გენომში ინტრონები საკმაოდ ხშირია, მაშინ,როდესაც სრულებით არ არის მეორე შტამის მტ-გენომში. ამ და სხვა ფაქტებიდან გამომდინარე, გამოთქმული იყო მოსაზრება, რომ ინტრონები ზოგიერთი ბიოგენეტიკური ორგანელის დნმ-ში წარმოქმნიან როგორც ადგილმონაცვლე ელემენტების ნარჩენებს, მაგრამ დღემდე არაფერია ცნობილი გენების წარმოშობის შესახებ ორგანელებში. უცნობია მათი გავლენა ორგანიზმზეც.

მე-42 სურათიდან ჩანს, რომ 15s რ-რნმ-ს მაკოდირებელი გენი უწყვეტია და განლაგებულია ~25 X $10^3$ წყ.ნ-ის მანძილზე 21s -რნმ-ს გენიდან. საფუვრის ზოგიერთ შტამში ეს უკანასკნელი შეიცავს ერთ ინტრონს (ჩანს რუკაზე), სხვა შტამებში იგი უწყვეტია. ორი საინტერესო ლოკუსის -box (მოზაიკურია, კოდირებს ციტოქრომ b-ს) და oxi3-ის (კოდირებს ციტოქრომოქსიდაზის I სუბერთეულს) საერთო სიგრძე ითქმის ძეძუმწოვართა მთელი მტ-დნმ-ს სიგრძის ტოლია. ზოგ შემთხვევაში ტრანსლირდება ინტრონიც, რაც განაპირობებს საფუვრის უჯრედისათვის დამახასიათებელი ზოგიერთი დამატებითი ცილის არსებობას, თუმცა მცირე რაოდენობით.

საფუვრის სხვა გენები უწყვეტია. მათ შეესატყვისება ციტოქრომოქსიდაზის ორი სხვა სუბერთეულის მაკოდირებელი გენები, atp-აზის სუბერთეული.

მტ-დნმ-ს ერთი მეოთხედი შედგება მოკლე (ა - თ) ფუძეებით მდიდარი მონაკვეთებისაგან, რომელთაც, როგორც ჩანს, არა აქვთ მაკოდირებელი ფუნქცია. ამ უმნიშვნელოვანესი ორგანელის გენეტიკური სუბსტრატის უმეტესი ნაწილის ბუნება საფუვრებში ჯერ კიდევ არაა გაშიფრული. მოსალოდნელია სხვა გენების გამოცნობაც, მაგრამ, როგორც ფიქრობენ, მათი საერთო რაოდენობა 20-ს არ გადააჭარბებს.

ადამიანის უჯრედებში ტრანსკრიბირდება მტ-დნმ-ს ორივე ძაფი ერთნაირი სიჩქარით და ერთნაირი პრომოტორიდან. ამასთან, წარმოიშობა რნმ-ტრანსკრიპტის ორი გიგანტური მოლეკულა, რომელთაგან ყოველი წარმოადგენს დნმ-ს ერთი შესატყვისი ჯაჭვის სრულ ასლს. ამრიგად, ტრანსკრიპცია აქ სრულიად სიმეტრიულია. დნმ-ს ერთ ძაფს, მისი მაღალი სიმკვრივის გამო, რაც ცეზიუმის ქლორიდის სიმკვრივის გრადიენტში ცენტრიფუგირებით ცლინდება, მძიმე ძაფს ( H-strand) უწოდებენ. მასზე ტრანსკრიბირებული რნმ იხლიჩება ნუკლეაზით ორ მოლეკულად და მიიღება მთელი მიტოქონდრიული ტ-რნმ-ები და დაახლოებით ათი რნმ, რომლებიც პოლი (ა)-ბოლოებს შეიცავენ. ამისაგან განსხვავებით, მსუბუქი ძაფისაგან ( L - strand ) ტრანსკრიბირებული რნმ-ს პროცესინგის შედეგად წარმოიქმნება რვა ტ-რნმ-ს და ერთი პოლი (ა)-ს შემცველი პატარა რნმ-ს მოლეკულა. ამ ტრანსკრიპტის დანარჩენი ნუკლეოტიდების 90%, როგორც ჩანს, არ ატარებს სასარგებლო ინფორმაციას და იშლება. მიაჩნიათ, რომ პოლი (ა)-ბოლოების მქონე რნმ-ები წარმოადგენენ მიტოქონდრიულ მ-რნმ-ებს, რომლებსაც არ გააჩნიათ „კეპი" 5'-ბოლოზე, ხოლო პოლი-(ა)-ს 3'-ბოლო უბანი შეიცავს 55 ნუკლეოტიდს. ეს უბანი რნმ-ს ემატება ტრანსკრიპციის შემდეგ მიტოქონდრიული პოლი(ა)-პოლიმერაზის მონაწილეობით. საერთოდ კი ძუძუმწოვრების მტ-დნმ მნიშვნელოვნად განსხვავდება საფუვრებისაგან მეტი კომპაქტურობით, არ შეიცავენ ინტრონებს, ამასთანავე, მათი ზოგიერთი გენი ერთმანეთს ხურავს ისე, რომ ბევრი ნუკლეოტიდური წყვილი სხვა გენსაც ეკუთვნის. საინტერესოა, რომ ადამიანისა და თაგვის

მტ-დნმ-ს შემადგენლობაში ბევრი ჰომოლოგიური უბანია ნაპოვნი. გენების უმეტესობა (15 უბნიდან 19) ექსპრესირდება ერთი და იგივე მიმართულებით - საათის ისრის მოძრაობის მიხედვით. ყოველივედან ჩანს, რომ მტ-დნმ წარმოადგენს ბაქტერიული ოპერონის უახლოეს ანალოგს. იგი ტრანსკრიბირდება ერთი პრომოტორის მონაწილეობით.

ცნობილია მტ-დნმ-ს ერთ-ერთი უჩვეულო ფორმა, რომელიც აღმოჩენილია უმარტივესი ორგანიზმების ერთ-ერთ ჯგუფში — ტრიპანოსომებში, კერძოდ, მათ კინეტოპლასტებში. ტრიპანოსომები პარაზიტობენ ადამიანისა და სხვა ხერხემლიანების, აგრეთვე ზოგიერთი უხერხემლო ცხოველის ორგანიზმში. კინეტოპლასტების დნმ წარმოადგენს ფართე ბადისებრ სტრუქტურას, რომელიც შედგება რგოლის ფორმის მრავალი, ურთიერთდაკავშირებული მოლეკულისაგან. ბადისებრი სტრუქტურის რგოლური მოლეკულები პეტეროგენულია და შეიცავენ მტ-გენომის ნაწილს. მათ მინი რგოლებს უწოდებენ. ერთ ბადეში დაახლოებით $10^4$ რგოლია. არის ე.წ. მაქსი-რგოლებიც, რომლებიც როგორც მიაჩნიათ, მტ-გენომის სრულ კომპლექსს უნდა წარმოადგენდნენ.

ქლოროპლასტული გენომი (ქლ-გენომი). როგორც აღვნიშნეთ, ქლ-გენომის არსებობა თავდაპირველად მინიშნებული იყო გენეტიკური ექსპერიმენტების საფუძველზე, როდესაც აღმოაჩინეს ზოგიერთი ნიშან-თვისების მემკვიდრულობა, რომელიც არ იყო გაპირობებული ბირთვით. 1962-63 წლებში დადასტურდა, რომ ქლოროპლასტები შეიცავენ საკუთარ დნმ-ს. მაღე დადასტურდა ისიც, რომ ქლოროპლასტებს, რომელთა რაოდენობა სხვადასხვა მცენარის უჯრედში 10-15%-ს შეიძლება აღწევდეს, გააჩნიათ რნმ-სა და ცილის სინთეზის საკუთარი, მეტ-ნაკლებად ავტონომიური აპარატი. სადღეისოდ საკმაოდ ბევრი რამ არის ცნობილი ქლ-დნმ-ს ბუნებისა და მისი, როგორც გენეტიკური სუბსტრატის, ფუნქციონირების მექანიზმების შესახებ. მე-11 ცხრილში მოყვანილია ქლ-გენომის ზოგიერთი მახასიათებელი.

ქლ-დნმ-ს მოლეკულები მნიშვნელოვნად დიდებია მტ-დნმ-სთან შედარებ-

ცხრილი II

ქლ-გენომის ზოგიერთი მახასიათებელი

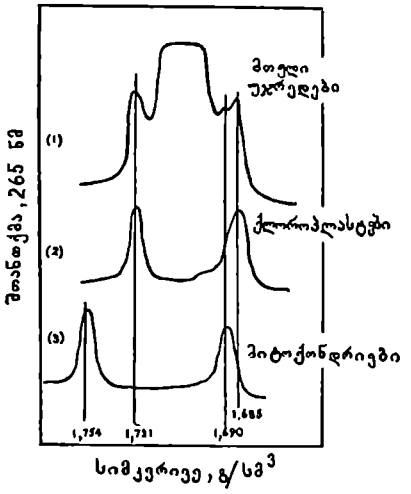
| სახეობა | დნმ შეიცავს წყ.ნ-ს (ათასობით) | გენომების რაოდენობა ერთ ქლოროპლასტში | ქლოროპლასტების რიცხვი ერთ უჯრედში | ქლ-დნმ-ს რაოდენობა უჯრედის მთელი დნმ-ს მიმართ, % |
|---|---|---|---|---|
| ქლამიდომონა | 195 | 70-100 | 1 | 14 |
| ევგლენა | 135 | 40 | 15 | 5 |
| უმაღლესი მცენარეები | 140 | უცნობია | უცნობია | უცნობია |

ით. მათში ნუკლეოტიდების წყვილთა რიცხვი 140-200 X $10^3$-ს აღწევს. ცალკეული ქლოროპლასტები ისეთი წყალმცენარეებისა, როგორიცაა, მაგალითად, ქლამიდონა და ევგლენა, შეიცავენ დაახლოვებით იმდენივე დნმ-ს, რამდენიც ეს ბაქტერიულ გენომშია და შეესატყვისება 1 X $10^9$ - 4 X $10^9$ დალტონს. ევგლენაში ქლ-დნმ-ს წილად მოდის უჯრედის მთელი დნმ-ს 5-6%.

თვითეულ ქლოროპლასტში დნმ-ს 8-100 ასლია, მოლეკულა რგოლის ფორმისაა და საერთო სიგრძით 35-40 მკმ-ს აღწევს. იგი შეიცავს ინფორმაციას ქლ-რნმ-ის (უმაღლეს მცენარეებში ნანახია ამ გენის ორი ასლი), რიგი რიბოსომული ცილებისა და ცილის ერთი ფრაქციის სუბერთეულის წარმოქმნისათვის. რენატურაციის კინეტიკით (ორმაგი ძაფის ხელახალი შეერთება) მიღებული მონაცემები მოწმობენ, რომ ქლ-დნმ-ში ინფორმაციის მნიშვნელოვანი სიჭარბეა, ყოველ შემთხვევაში იგი ჭარბობს მიტოქონდრიულს და, როგორც ჩანს, საკმარისია რამდენიმე ასეული ცილის კოდირებისათვის. ეს მონაცემები მიუთითებენ, რომ ქლოროპლასტებში გენების რაოდენობა მეტია მიტოქონდრიულთან შედარებით.

ქლ-დნმ განსხვავდება მტ-დნმ-საგან ზოგიერთი ფიზიკური მახასიათე-

ბლიფაც, კერძოდ, ქლ-დნმ-ს სატივტივე სიმკვრივეა I.668 გ/სმ$^3$, ხოლო მტ-დნმ-სა – I.707 გ/სმ$^3$.რის გამოც ადვილად ცალკეულებიან ცენტრიფუგირებით ცეზიუმის ქლორიდის სიმკვრივის გრადიენტში (სურ. 43 )




სურ. 43 . მწვანე ევგლენას მთელი უჯრედებიდან (I),ქლოროპლასტებიდან (2) და მიტოქონდრიებიდან (3) გამოყოფილი დნმ-ს პრეპარატების ცეზიუმის ქლორიდის გრადიენტში ცენტრიფუგირების სედიმენტოგრამა.სიმკვრივე I.75I და I.73I გ/სმ$^3$ შეესაბამება დნმ-ს სპეციალურ მარკერებს,რომლებიც ემატება პრეპარატს ცენტრიფუგირების წინ (ფ.აიალასა და ჯ.კაიგერის მიხედვით,ტ.I,1987 წ., რუს.გამოცემა).

ბარდისა და სიმინდის ქლ-დნმ-ს მაგალითზე ნაჩვენებია (ელექტრონული მიკროსკოპიით და სხვა მეთოდებით), რომ მოლეკულის რეპლიკაცია ხდება ორნაირად: ე.წ. კერნსის მოდელისა და მგორავი ბორბლის მოდელის მიხედვით.

ქლოროპლასტებს აქვთ ტრანსკრიპციის საკუთარი აპარატი, მათ შორის სპეციფიკური რნმ პოლიმერაზა. როგორც ირკვევა, ქლ-გენომის ტრანსკრიპცია თითქმის ისეთივეა, როგორც ეს ნაწლავის ჩხირის გენომში ხდება. საყურადღებოა, რომ ქლოროპლასტების მ-რნმ-ს, ბაქტერიულის მსგავსად, არა აქვს „კეპი" 5'-ბოლოზე და არც პოლი (ა)-კუდები 3'-ბოლოზე, რაც ესოდენ დამახასიათებელია ეუკარიოტული მ-რნმ-ს უმეტესობისათვის. ამასთანავე, მომ-

წიფებული მ-რნმ ტრანსკრიპტის წარმოქმნისას, როგორც ჩანს, არ ხდება მნიშვნელოვანი პროცესინგი.

ქლოროპლასტებს აქვთ საკუთარი ციღის სინთეზის აპარატიც, რომელიც ძლიერ განსხვავდება ციტოპლაზმის შესაფერისი აპარატისაგან, მაგრამ მეტისმეტად ჰგავს ბაქტერიულს. კერძოდ, მსგავსია ქლოროპლასტებისა და ნაწლავის ჩხირის რიბოსომები, მათი რ-რნმ-ს პირველადი სტრუქტურა, მგრძნობელობა სხვადასხვა ანტიბიოტიკების (ქლორამფენიკოლი, სტრეპტომიცინი, ერითრომიცინი, ტეტრაციკლინი) მიმართ და სხვ. ქლოროპლასტების რიბოსომებს შესწევთ უნარი ციღის სინთეზში გამოიყენონ ბაქტერიული ტ-რნმ, ამასთანავე ქლოროპლასტების მ-რნმ კარგად ტრანსლირდება ნაწლავის ჩხირის ციღამასინთეზირებელი ექსტრაქტით. საინტერესოა, რომ ფოტოსინთეზისათვის და ქლოროპლასტული ციღების სინთეზისათვის საჭირო ზოგიერთი ფუნქცია კოდირებულია ბირთვში.

ქლოროპლასტებში სინთეზირდება საკმაოდ მცირენაირი ციღა, მაგრამ ყველა მათგანის სპეციფიკური ფუნქცია ცნობილი არ არის. ქლ-გენომში (ისევე როგორც მტ-გენომში) კოდირებულია მთელი რიგი მულტიფერმენტული კომპლექსების სუბერთეულები, რომელთა შემადგენლობაში შედიან აგრეთვე ციტოპლაზმის რიბოსომებზე წარმოქმნილი სუბერთეულები.

## თ ა ვ ი XI

## გ ე ნ ი ს ნ ა ტ ი ფ ი ს ტ რ უ ქ ტ უ რ ა

ზოგადი ცნობები. სადღეისოდ ჩამოყალიბებულ გენის ცნებაში თავმოყრილია მემკვიდრეობის საფუძვლების საუკუნეზე მეტი ხნის განმავლობაში გაწეული კვლევის შედეგები. ჯერ კიდევ გ. მენდელმა მიუთითა, რომ არსებობს ამა თუ იმ ნიშან-თვისების გამაპირობებელი მემკვიდრეული ერთეული, რაღაც მატერიალური ფაქტორის სახით, რომელიც გადაეცემა მშობლებიდან შთამომავლობაში. მომდევნო ხანებში ფორმალური გენეტიკის მეთოდებით დადგინდა, რომ ეს ფაქტორი, რომელიც გენის სახელწოდებით დამკვიდრდა (პოოპანსენი, 1909წ.), დისკრეტულია და ქრომოსომის ნაწილს წარმოადგენს. ისტორიული თვალსაზრისით დიდად საყურადღებოა, რომ გენის ბუნების კვლევას დიდი ბიძგი მისცა ინგლისელი ფიზიკოსის ერვინ შრედინგერის ნაშრომმა – „რა არის სიცოცხლე ფიზიკის თვალსაზრისით" (1945 წ.). ამ ნაშრომში, რომელმაც დიდწილად საფუძველი ჩაუყარა საერთოდ ბიოლოგიის ახლებურ განვითარებას, ავტორმა აღწერა გენის თვისებები, რომელიც გარკვეული ცვლილებებითა და დამატებებით სავსებით შეეფერება თანამედროვე შეხედულებებს. ე. შრედინგერის მიხედვით, გენის სტრუქტურა შეგვიძლია წარმოვიდგინოთ გიგანტური მოლეკულის სახით, რომელშიც შეიძლება ხდებოდეს ლოკალური ცვლილებები. ეს ცვლილებები დაიყვანება ატომების გადაადგილებამდე და იწვევს იზომერული მოლეკულების წარმოქმნას. ასეთმა გადაადგილებამ (მუტაციამ) შეიძლება დააზიანოს გენის მხოლოდ მცირე ნაწილი, მაგრამ ამასთან ხდება მრავალნაირი გადანაწილება.

დღევანდელი მონაცემების მიხედვით, გენი შეიძლება განესაზღვროთ როგორც გარკვეული რაოდენობისა და ერთმანეთის მიყოლებით განლაგებული ნუკლეოტიდების ჯგუფი, რომელიც კოდირებს ამინომჟავების შემცველობასა და თანამიმდევნობას ამა თუ იმ კონკრეტული ცილის აოლიპეატიდურ ჯაჭვში. ყოველი გენის მოქმედების საბოლოო პროდუქტი მის შესატყვისი პოლიპეპტიდი—ცილაა. სხვანაი-

რად რომ ეთქვათ, გენის ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობა და მისით გაპირობებული ციტის ამინომჟავური შედგენილობა კოლინეარულია. ეს შეიძლება ინახოს მუტაციებისას, რის დროსაც ირღვევა შესაბამისი ციტების ფუნქციები.

ამავე დროს, არის გენების მეორე კლასი, რომლებიც წარმოადგენენ მრავალჯერ განმეორებად თანამიმდევნობებს და კოდირებენ ერთი და იგივე ციტას. ასეთი გენების გამოვლინა მუტაციებით ძნელი ან შეუძლებელია, რადგანაც გენის ერთი ასლის ინაქტივაცია ვერ არღვევს დანარჩენთა მოქმედებას. ამრიგად, გენეტიკური მონაცემები ძირითადად პირველი ტიპის გენებს მიეკუთვნება.

ქიმიურად გენი წარმოადგენს დნმ-ს უზარმაზარი მოლეკულის მონაკვეთს. მუტაციები, რომლებიც ცვლიან აზოტოვან ფუძეთა თანამიმდევნობას, შესაძლებლობას იძლევიან მოვნიშნოთ და გამოვიცნოთ გენეტიკური სუბსტრატის სხვადასხვა უბნები. ქრომოსომთა შეჭიდულობის რუკებზე მუტაციებს გამოსახავენ მათი რეკომბინაციების სიხშირით. ქრომოსომის გიგანტური მასშტაბის ფონზე გენეტიკური რუკა საკმაოდ ადექვატურად ასახავს შესატყვის მოლეკულურ სტრუქტურას. მაგრამ რუკის ერთეული დამოკიდებულია რეკომბინაციის შეფარდებითი სიხშირისაგან, რომელიც სხვადასხვა სახეობებში შეიძლება განსხვავდებოდეს. ამიტომ სხვადასხვა ორგანიზმების გენეტიკური რუკების შედარება ვერ ხერხდება. გენომში შეჭიდულობის ყველა ჯგუფის საერთო სიგრძის შედარება გენომურ დნმ-სთან გარკვეულ წარმოდგენას იძლევა გენეტიკური გაცვლების სიხშირეზე დნმ-ს სიგრძის მიმართ. ბაქტერიოფაგებში გენეტიკური გაცვლები მეტად ხშირია. ამასთან, მათს მრავალრიცხოვან შთამომავლობაში შეიძლება ინახოს რეკომბინანტები, რომლებიც დაბალი სიხშირით წარმოიშობიან. ეს გარემოება შესაძლებლობას იძლევა დეტალური კარტირებისათვის გენის შიგნით. დიდია გენეტიკური გაცვლების სიხშირე ბაქტერიებშიც. მათ შთამომავლობაშიც შეიძლება ვიპოვოთ რეკომბინანტები, რის საფუძველზეც ხდება დეტალური გენისშიგა კარტირებანი.

უმდაბლეს ეუკარიოტებში, ყოველ შემთხვევაში საფუვრებში, რეკომბინაცი-

ების სიხშირე აგრეთვე მაღალია,მაგრამ უმაღლეს ეუკარიოტებში მკვეთრად (ასჯერ) მცირდება.ჯერჯერობით არ არსებობს საკმარისი ცნობები იმისათვის, რომ შეფასდეს რეკომბინაციების სიხშირის დიაპაზონის მნიშვნელობანი უმაღ-ლესი ორგანიზმებისათვის.უმაღლეს ეუკარიოტთა გენომის კარტირებისათვის ასეთი სიძნელის ილუსტრირება შეიძლება ორ მაგალითზე—დროზოფილაზე და შინაურ თაგვზე.დავუშვათ,რომ დროზოფილის ერთი გენის სიგრძეა 5000 წყნ. ეს შეესატყვისება 0,01% რეკომბინაციას (თუ მივიღებთ,რომ $2,5X10^7$ წყნ შეესაბამება 50% რეკომბინაციას). ამრიგად,გენის საპირისპირო ბოლოებზე ლოკალიზებულ მუტაციებს შორის რეკომბინაციის აღმოჩენისათვის საჭიროა ციპოოთ ერთი რეკომბინაციური ბუში 1000 შთამომავლობაში. ასეთ პირობებში გენისშიგა კარტირება ნაკლებად სააღბათოა.ასეთი მიდგომა მიუღებელია თაგვების მიმართაც,სადაც რეკომბინაციების სიხშირე კიდევ უფრო დიდია და ერთი შეჯვარებით მიღებული შთამომავლობაც გაცილებით ნაკლებია.

ამრიგად,ნატიფი სტრუქტურების დონეზე კარტირება შესაძლებელია მხოლოდ პროკარიოტებში და,შესაძლოა,უმდაბლეს ეუკარიოტებშიც.ამ მეთოდით უმაღლეს ორგანიზმებში გენების ორგანიზაციის შესახებ ინფორმაციის მიღება პრაქტიკულად შეუძლებელია.

<u>გენის სტრუქტურის უშუალო გამოკვლევა.</u> რეკომბინაციის აქტის ბუნების გამო გენისშიგა კარტირებით მიღებული ინფორმაცია გენის ბუნების შესახებ სრული არ არის.მუტაციებს შორის მანძილი რუკის მიხედვით აუცილებლად არ შეესაბამება მათ მანძილს დნმ-ზე.ამასთანავე,თუ გავითვალისწინებთ მუტაციების ფიქსირების ხელმისაწვდომობას,ამ ხერხის გამოყენება შეზღუდულია. გენეტიკურ რუკაზე არსებული ცალკეული შეაღედები სინამდვილეში შეიძლება შეესატყვისებოდნენ გენომის უბნებს,რომლებშიც მუტაციები უბრალოდ არ შეინიშნება.ამასთანავე,ეს გარემოება შეიძლება იყოს მუტაციის სიხშირის ლოკალური მატების შედეგიც.არაა საფუძველი იმის მტკიცებისათვის,რომ ეუკარიოტებში მდგომარეობა სხვანაირი იქნებოდა,თუკი შეეძლებდით გენისშიგა

კარტირებას.ამრიგად,როგორც თეორიული მოსაზრებით,ასევე პრაქტიკული მიზეზებით აუცილებელია ინფორმაციის სხვა წყარო,სხვა ხერხების გამოყენება. როგორ შეიძლება გენის მოლეკულური სტრუქტურის დადგენა და მისი შეპირისპირება შესაბამისი ცილის პროდუქტთან? რამდენად შორიშორს არიან განლაგებული მეზობელი გენები? როგორ შეგვიძლია გამოვავლინოთ მათ შორის განლაგებული უბნები?

გენეტიკური კარტირების საბოლოო მიზანია გენისა და მისი მიმდებარე უბნების,აგრეთვე მეზობელი გენების შემადგენელი ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრა.საამისოდ,უპირველეს ყოვლისა, საჭიროა მოცემული გენის შესატყვისი დნმ-ს მონაკვეთის გამოყოფა.თავდაპირველად ეს განხორციელდა ვირუსებზე,რომლებიდანაც გენომური დნმ-ს გამოყოფა შედარებით იოლია.შემდგომში,მეთოდების სრულყოფასთან ერთად,უჯრედის დნმ-ს გამოყოფა გახდა საყოველთაოდ მისაღწევ პროცედურად,თუკი ხელთა გვაქვს შესატყვისი ცილოვანი პროდუქტი.

იმისათვის,რომ შევადგინოთ დნმ-ს რუკა,თავდაპირველად საჭიროა მოლეკულა დავწყვიტოთ გარკვეულ წერტილებში,რომელთა შორის მანძილი შეგვიძლია ზუსტად გავზომოთ.ასეთი დაწყვეტა ხორციელდება რესტრიქციული ფერმენტებით— რესტრიქტაზებით,რომლებიც სპეციფიკურად მოქმედებენ მხოლოდ მოლეკულის შემადგენელი ნუკლეოტიდების მათთვის შესატყვის თანამიმდევნობებთან და მოლეკულას აფრაგმენტებენ მოკლე მონაკვეთებად.გაწყვეტის წერტილების ლოკალიზაციის შედეგად მიღებულ რუკას რესტრიქციულ რუკას უწოდებენ. იგი წარმოადგენს იმ საიტების ხაზობრივი თანამიმდევნობების სურათს,რომლებშიც გარკვეული რესტრიქციული ფრაგმენტები ცნობილობენ თავიანთ სამიზნეს.რესტრიქციის საიტებს შორის მანძილს ზომავენ და გამოსახავენ უშუალოდ დნმ-ს წყვილი ნუკლეოტიდების (წყნ) რიცხვით.

ფიზიკური რუკის შედგენის შემდეგ შეიძლება დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობების განსაზღვრა ახლის განლაგებულ წერტილებს შორის (ჩვეულებ-

რიც ~ 300 წყნ).საანალიზო წერტილების შერჩევით ცალკეული გაშიფრული თანამიმდევნობანი შეიძლება შეეაერთოს მთელი მონაკვეთის- გენის თანამიმდევნობად.შემდგომში დადგენილ თანამიმდევნობას ადარებენ შესატყვისი ციდის თანამიმდევნობას.ეს შესაძლებლობას იძლევა გამოვავლინოთ დნმ-ს უბნები,რომლებიც პასუხისმგებელია მოცემული სახის ციდის სტრუქტურისათვის.ერთი მიმართულებით ნუკლეოტიდების თანამიმდევნობის განსაზღვრის გაგრძელებით გამოიყენიან მანძილს შემდეგ გენამდე.

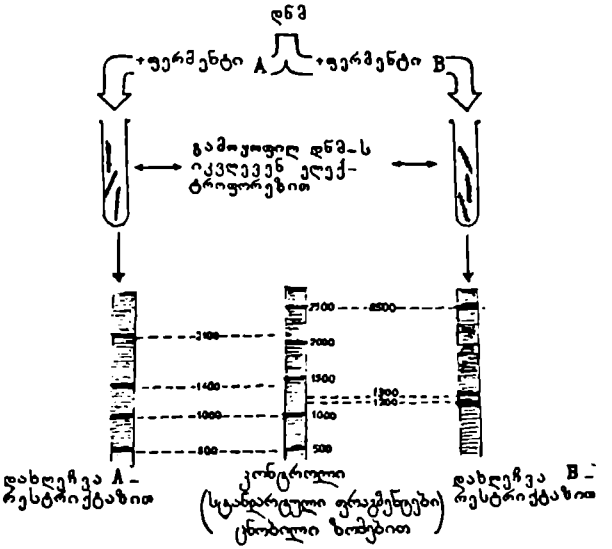
ცალური ტიპის დნმ-ს თანამიმდევნობის შედარებით მის მუტაციურ ალელთან შესაძლებელია მუტაციური საიტის ზუსტი ლოკალიზაცია და მუტაციის ბუნების დადგენა.ასეთი მეთოდით განისაზღვრება შესატყვისობა გენეტიკურ რუკასა (რომელიც მთლიანად ეფუძნება მუტაციურ საიტებს) და ფიზიკურ რუკას (შედგენილს დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის საფუძველზე) შორის. საბოლოოდ გენომის რომელიმე უბნის რუკა შეიძლება გამოისახოს დნმ-ს ნუკლეოტიდებად და. არა რუკის შეფარდებით ერთეულებად,როგორც ეს ფორმალურ გენეტიკაშია მიღებული.ამრიგად,გენები შეიძლება იდენტიფიცირდეს მათი ცილოვანი პროდუქტის მიხედვით და ზოგჯერ მხოლოდ ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის მიხედვით.გენომის რუკის შედგენა არაა შეზღუდული მუტაციების მასალით,თუმცა ეს მასალები მნიშვნელოვანია გენის პროდუქტის იდენტიფიკაციისათვის.

როგორც აღვნიშნეთ,გენის ნატიფი სტრუქტურის გამოსავლენად უალრესად მნიშვნელოვანი ხერხია რესტრიქციული ანალიზი,რაც ხოლციედება სპეციალური ფერმენტებით— რესტრიქტაზებით და მიღებული ფრაგმენტების შესწავლით.

დნმ-ს დაფრაგმენტება რესტრიქტაზებით.სხვადასხვა რესტრიქტაზები,რომ-
---
ლებიც ბუნებრივად ბაქტერიებში გვხვდება,დნმ-ს მოლეკულას ჭრიან (კეპავენ) სპეციფიკურ ფრაგმენტებად მათთვის შესაბამის სამიზნე წერტილებში.ჩვეულებრივ,ნუკლეოტიდების ეს სპეციფიკური თანამიმდევნობანი 4—6 წყნ სიგრძისაა.ფერმენტი ჭრის ასეთ თანამიმდევნობას,სადაც კი იგი გვხვდება.დნმ-ს მოლეკულის მთელ სიგრძეზე.სადღეისოდ მკვლევართა ხელში ასეთი რესტრიქტაზები

შეტად ბევრია- უკანასკნელი ცნობებით -რამდენიმე ასეული.

თუ დნმ-ს მოლეკულას დავამუშავებთ შესაფერისი რესტრიქტაზით, მოლეკულა დაწყდება ამ რესტრიქტაზის შესატყვის ადგილებზე (იხ.ცხრილი 7 ) და მიიღებთ ცალკეულ ფრაგმენტებს. შემდეგში ეს ფრაგმენტები შეგვიძლია გავაცალკევოთ გელ-ელექტროფორეზით. ამისათვის დნმ-ს დაფრაგმენტებული ნარევი დაგვაქცს აგაროზის გელის ზედაპირზე და ვათავსებთ ელექტრულ ველში. ამ დროს ფრაგმენტები გელში გადაადგილდებიან ქვემოთ მათი ზომისაგან დამოკიდებული სიჩქარით რაც უფრო პატარაა ფრაგმენტი, მით უფრო სწრაფად გადაადგილდება. განცალკევებული მონაკვეთი უკუპროპორციულია ფრაგმენტის სიგრძის ლოგარითმისა. საბოლოოდ გელში წარმოიქმნება ზოლების რიგი, რომელთაგან ზემოთ (სტარტთან) განლაგებული უფრო დიდებია, ხოლო მომდევნონი — თანდათანობით პატარები. ზოლები ისინჯება და იდენტიფიცირდება სპეციალურ ხელსაწყოში ულტრაიისფერი სხივებით. თუ გელში ერთ ბილიკზე საკალიბროდ შევიტანთ საკონტროლო სინჯს —მარკერს, რომელიც შეიცავს წინასწარ ცნობილი ზომების სტანდარტულ ფრაგმენტებს, მათი გადაადგილების შემდეგ მიღებული მდებარეობის მიხედვით ადვილად შეგვიძლია გამოვთვალოთ ჩვენი საკვლევი ფრაგმენტების ზომები. აღწერილი მეთოდის გამოყენების მაგალითი სქემატურად გამოსახულია სურ. 44 -ზე. დნმ-ს მოლეკულა, რომელიც შეიცავს 5000 წყნ-ს, დამუშავებულია ორი სხვადასხვა - A და B რესტრიქტაზით. დანაწევრებული ფრაგმენტები გაცალკევებულია ელექტროფორეზით. სქემის მიხედვით (პირობითად), რესტრიქტაზი A ანაწევრებს დნმ-სუბსტრატს ოთხ ფრაგმენტად, თითოეულს ზომით 2100, 1400, 1000 და 500 წყნ-ით, მაშინ როდესაც ფერმენტი B წარმოქმნის სამ ფრაგმენტს, თითოეულს ზომით 2500, 1300 და 1200 წყნ-ით. არსებობს ხერხი, რომლის მიხედვითაც რესტრიქციის საიტები შეგვიძლია განვალაგოთ გარკვეული წესით და მივიღოთ სტრუქტურული რუკა. ერთ-ერთი ასეთი ხერხია ერთი სახის რესტრიქტაზით, — A -თი ან B -თი, დამუშავებული დნმ-ს ყველა ფრაგმენტის გამოყოფა გელიდან, მათი დამუშავება მეორე სახის რესტრიქტაზით და შემდგომი ანალიზი ელე-




სურ. 44 .დნმ-ს დაფრაგმენტება ორი სხვადასხვა რესტრიქტაზით ( A და B ) და მიღებული ფრაგმენტების დაცალკევება ელექტროფორეზით.ფრაგმენ-ტების ზომებს ადგენენ მათი მდებარეობის შედარებით წინასწარ ცნობილი ზომების მქონე სტრუქტურული ფრაგმენტების (მარკერების) მდებარეობას-თან,რომელიც გამოსახულია საკონტროლო ბილიკზე (ცენტრში).

ქტროფორეზით,რის შემდეგაც შესაძლებელია ყველა საიტის საბოლოდ დალაგება რუკაზე ერთმნიშვნელოვნად.ამ დროს განსაკუთრებული ყურადღება უნდა მიექ-ცეს ისეთ ფრაგმენტებს,რომლებშიც ორივე რესტრიქტაზით ერთნაირად მიიღება და,მაშასადამე,ერთმანეთს ფარავს.ასეთი გადამფარავი ფრაგმენტების გამო-ყენება რესტრიქციულ კარტირებაში მეტად მნიშვნელოვანია.სრული რესტრიქ-ციული რუკის შესადგენად ჩვეულებრივ გამოიყენება რამდენიმე რესტრიქტაზა, ამასთანავე სპეციალური ხერხები,როგორიცაა დნმ-ს მოლეკულის არასრული დაფ-რაგმენტება,დნმ-ს ფრაგმენტების მონიშვნა რადიოაქტიური ფოსფორით ფრაგ-მენტების სათანადო თანამომდევნობით გამოცნობისა და დალაგებისათვის,ფრა-

გმენტების შეპირისპირება მათი ჰიბრიდიზაციით (გამომდინარე იქიდან, რომ ერთმანეთის გადამფარავი ფრაგმენტები ჰიბრიდიზირდებიან).

აღსანიშნავია, რომ რესტრიქციული რუკები შესაძლებელია შევუპირისპირთ და ღავუკავშირთ გენეტიკურ რუკებთან. ასე, მაგალითად, შედარებით მნიშვნელოვანი გენეტიკური ცვლილებანი, როგორიცაა, მაგალითად, დელეციები და ჩამატებანი, შეიძლება აღმოვაჩინოთ რესტრიქციული კარტირების მეთოდით: ამ დროს შეიმჩნევა შესატყვისი რესტრიქციული ფრაგმენტების ცვლილებანი— დაპატარავება ან გაფართოება. ცხადია, რომ რესტრიქციის საიტები შეიძლება გამოყენებული იყოს გენეტიკურ მარკერებად.

ეუკარიოტული გენების წყვეტილი აღნაგობა. დიდხანს მიიჩნდათ, რომ პრო- და ეუკარიოტულ გენებს პრინციპულად მსგავსი აღნაგობა აქვთ. ასეთი შეხედულება საეჭვო გახდა 1977 წლისათვის, როდესაც აღმოაჩინეს, რომ დნმ-ს მონაკვეთსა და მისი შესატყვისი ტრანსკრიპტის ზომები განსხვავებულია. დადგენილი იქნა, რომ გენის შიგნით არის თანამომდევნობანი, რომლებიც აღარაა უკვე მოფუნქციონირე მ-რნმ-ში. თავდაპირველად მიიჩნიეს, რომ ეუკარიოტების დნმ-ს დიდი ნაწილი ემსახურება გენის ექსპრესიის რეგულაციას. ამასთან, ერთი ნაწილი შეიძლება შედიოდეს სატრანსკრიპციო ერთეულებში, ხოლო მეორე ნაწილი კი იყოს ტრანსკრიპციულად აქტიური. სინამდვილეში, გენური ინჟინერიის მეთოდით აღმოჩნდა, რომ ეუკარიოტული გენები წყვეტილი აღნაგობისაა, ანუ თანისებურად მოზაიკურია, მათში არის დნმ-ს ჩანართები— ინტრონები, რომელთა შესატყვისი თანამომდევნობანი არაა მომწიფებულ მ-რნმ-ში. მეორე უბნები, რომლებიც მომწიფებული რნმ-ს თანამომდევნობებს შეესატყვისებიან, აღინიშნებიან როგორც ეკზონები. გენში ინტრონული და ეკზონური უბნები სიგრძეზე მონაცვლეობენ. გენი თავისი ინტრონ-ეკზონური უბნებით ტრანსკრიბირდება მთლიანად. ამ ტრანსკრიპტს აღნიშნავენ როგორც პეტეროგენულ ბირთვულ რნმ-ს (პებ-რნმ), ან მ-რნმ-ს წინამორბედს. იგი შემდეგში ფრაგმენტდება, ინტრონების შესატყვისი ნაწილები იშლება, ხოლო ეკზონების შესატყვისი ნაწილები

ირთიანდება და მიიღება მომწიფებული მ-რნმ.ამ პროცესს უწოდებენ მ-რნმ-ს პროცესინგს და გამოხატავენ ტერმინით- სპლაისინგი,რაც წარმოდგება ინგლ. სახელოო ტერმინიდან- splicing და ნიშნავს თოკების გადაბმას.პირველად გენის წყვეტილი აღნაგობა (არამაკოდირებელ ზონაში) აღმოაჩინეს ვირუსში — SV40 და ადენოვირუსებში,ხოლო ინტრონ-ეგზონური სტრუქტურა პირველად დეტალურად აღწერეს გლობინის,ოვალბუმინისა და იმუნოგლობულინის მსუბუქი ძაფის გენების მაგალითზე.

აღსანიშნავია,რომ,როგორც ირკვევა,გენში მუტაციების რიგი ემოხვევა ამ ამინომჟავების შეცვლას შესატყვის ცილაში.რაც შეეხება მუტაციებს ინტრონში ისინი არ არღვევენ ცილის სტრუქტურას,რადგან მათი შესატყვისი ტრანსკრიპტი არ შედის მ-რნმ-ს შედგენილობაში.მათ შეუძლიათ გავლენა მოახდინონ მ-რნმ-ს წარმოქმნაზე,მაგალითად,სპლაისინგის დათრგუნვით.თუკი აღმოჩნდა, რომ ინტრონი კოდირებს რომელიმე ცილას,მაშინ მუტაცია ამ ცილის ფუნქციის დარღვევით სხვა,ე.წ. დამოუკიდებელი ჯგუფის კომპლემენტაციებს მიეკუთვნება.ეუკარიოტებისათვის დამახასიათებელ წყვეტილ გენებში ინტრონებს,როგორც ჩანს,ცილის სინთეზში რაიმე დამოუკიდებელი ფუნქციის შესრულება არ შეუძლიათ.

ყველა ეუკარიოტული გენი არაა წყვეტილი ბუნებისა.ზოგი მათგანი გავს ბაქტერიებს და ზუსტად შეესატყვისება თავიანთ ცილოვან პროდუქტს.ჯერ-ჯერობით არ არის სრული ცნობები წყვეტილ და უწყვეტ გენთა რაოდენობრივი შეფარდების შესახებ,მაგრამ,როგორც ჩანს,პირველნი გაცილებით მეტია.

როგორც აღვნიშნეთ,ინტრონ-ეგზონური ორგანიზაცია ყველაზე უწინ ნაჩვენები იყო უნიკალური გენების მაგალითზე,რომლებიც აქტიურად ფუნქციონირებენ სპეციალიზირებულ უჯრედებში.ეს განაპირობა იმ გარემოებამ,რომ ასეთი უჯრედებიდან შედარებით იოლია შესაფერისი მ-რნმ-ების გამოყოფა,შემდგომში მათგან უკუტრანსკრიპციის მეთოდით დნმ-ს შესატყვისი ფრაგმენტის —ასლი-დნმ-ს (ა-დნმ),ე.ი. გენის მიღება და კლონირება ბაქტერიულ პლაზმიდაში

ამპლიფიკაციისათვის.ა-დნმ-სა და შესატყვისი გენის ანალიზით, რა სახითაც იგი ქრომოსომაში შედის (რესტრიქციული რუკების შედარება) აღმოჩნდა, რომ პირველში ფრაგმენტების რიცხვი და ზომა გაცილებით ნაკლებია.აქედან ლოგიკური იყო იმ დასკვნის გაკეთება, რომ გენი უნდა შეიცავდეს დნმ-ს ჩანართებს— ინტრონებს.

გენის წყვეტილი ბუნება ნაჩვენებია ელექტრონული მიკროსკოპიის მეთოდითაც.ამისათვის ნატივურ გენს გამოყოფენ ჯამური დნმ-ს კლონოთეკიდან, რისთვისაც ზონდად იყენებენ კლონირებულ ა-დნმ-ს.შემდეგში ახდენენ ქრომოსომული გენის დენატურირებული დნმ-ს ჰიბრიდიზაციას მ-რნმ-სთან.ასეთი დუპლექსების გასინჯვისას ელექტრონულ მიკროსკოპში ..ჩანს, რომ ინტრონების უბნები არ ჰიბრიდიზირდებიან მ-რნმ-სთან და ერთძაფიანი მარყუჟის სახით გამოიყურებიან.ამ მეთოდით საკმაოდ ზუსტად შეიძლება დადგინდეს ინტრონებისა და ეკზონების სიგრძე და განლაგება.არსებობს ამ მეთოდის სხვა ვარიანტებიც. საერთოდ, ელექტრონული მიკროსკოპიით შესაძლებელია არანაკლებ 50—100 წყნის შემცველი ინტრონებისა და ეკზონების დანახვა.გენის ინტრონ-ეკზონური სტრუქტურის დასადგენად და საანალიზოდ არსებობს სხვა ხერხებიც, როგორიცაა, მაგალითად, კარტირება ნუკლეაზა $S_1$-ით და სხვ.

აღსანიშნავია, რომ რესტრიქციული ანალიზით მიღებული შედეგების ინტერპრეტაცია შესაძლოა აღმოჩნდეს მცდარი, თუკი ერთი და იგივე გენის რამდენიმე ასლი ერთმანეთთან ახლოს არის განლაგებული.

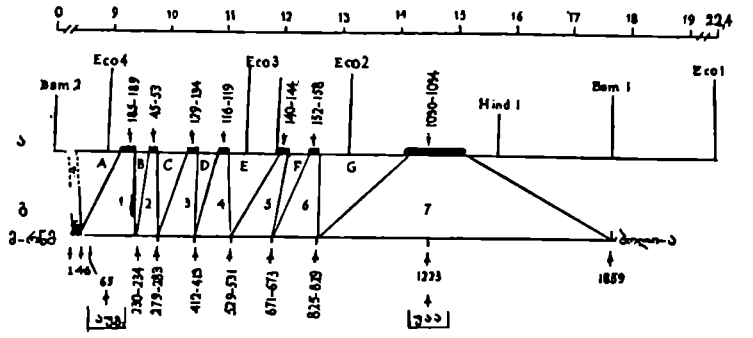
ზოგიერთი რ-რნმ-'სა და მ-რნმ-ს გენების შესწავლით აღმოჩნდა, რომ მხოლოდ მათ ერთ ნაწილს აქვს ინტრონ-ეკზონური აღნაგობა და თანაც მხოლოდ ერთ ინტრონს შეიცავენ.ხერხემლიანთა რ-რნმ-ების გენები უწყვეტია.ტ-რნმ-ს გენებში ინტრონი ყოველთვის განლაგებულია ანტიკოდონური მარყუჟის გვერდით და ნაწილობრივ მისი ანალოგიურია,

ინტრონ-ეკზონური ორგანიზაციის ზოგიერთი მახასიათებელი.ეუკარიოტების სტრუქტურული გენების ორგანიზაციაში ფართე ვარიაციების მიზეზები სადღ-

ისოდ ჯერ კიდევ არ არის ბოლომდე ახსნილი. მართალია, ზოგიერთი გენი საერთოდ უწყვეტია, მაგრამ უმეტესობა წყვეტილია, ამასთან ისე, რომ ინტრონების ზომები და რიცხვი მეტად დიდ ფარგლებში მერყეობს. წყვეტილი გენების დამახასიათებელი თავისებურებებიდან აღსანიშნავია, რომ მათში ეკზონების თანამიმდევნობა ისეთივეა, როგორც მათ შესატყვის მომწიფებულ m-რნმ-ში, ე.ი. სპლაისინგისას არ ხდება ეკზონების შესატყვისი ფრაგმენტების უწესრიგო აღრევა. ბირთვული გენების ინტრონები ჩვეულებრივ მეტს შეიცავენ მატერმინირებელ კოდონებს და არ შეუძლიათ პოლიპეპტიდის კოდირება. წყვეტილი გენების ბუნება ერთნაირია ყველა ქსოვილში, მიუხედავად იმისა— ფუნქციონირებს თუ არა.

წყვეტილი ბუნებისა შეიძლება იყოს გენების ყველა კლასი— ბირთვული, ბირთვაკული, მიტოქონდრიული, ქლოროპლასტული. იმ გენებიდან, რომელთაც არა აქვთ წყვეტილი ბუნება, აღსანიშნავია ინტერფერონისა და ჰისტონების გენები, დროზოფილას სითბური შოკის ძირითადი გენი, საფეთქლების ბირთვული გენების უმეტესობა. როგორც ჩანს, გენის წყვეტილობა მეტადაა დამახასიათებელი უმაღლესი ეუკარიოტებისათვის.

როგორც აღენიშნეთ, სხვადასხვა გენებში ინტრონებისა და ეკზონების რაოდენობა შეიძლება დიდად განსხვავდებოდეს. მაგალითად, ვირთაგვის ინსულინის გენში სულ ერთი ინტრონია, ხოლო კოლაგენის გენში 50-ზე მეტია. ქათმის ოვალბუმინის გენი შეიცავს 7 ინტრონს (სურ.45 ), ვირთაგვის შრატის ალბუმინის გენში 13 ინტრონია და ა.შ. განსხვავებულია ინტრონებისა და ეკზონების შემადგენელი ნუკლეოტიდების წყვილთა რიცხვიც— რამდენიმე ათეულიდან რამდენიმე ათასეულამდე. დღემდე შესწავლილი გენების მიხედვით, გენში ინტრონების რაოდენობა რუკაზე ყველაზე ხშირად 2-დან 17-მდეა. ზოგიერთი ინტრონი მეტად გრძელია. მაგალითად, თაგვის B -გლობინის გენი შეიცავს ინტრონს, რომლის სიგრძე 550 ნუკლეოტიდია, ე.ი. ეკზონზე ბევრად გრძელია. იმუნოგლობულინის გენის ორი ფრაგმენტი გაყოფილია უფრო გრძელი ინტრონებით, რომელთა




სურ. 45 .ქათმის ოვალბუმინის გენის სტრუქტურა.

ა.ქათმის ოვალბუმინის გენი.მსხვილი მონაკვეთები (I—7) გამოსახავენ ეკზონებს,რომლებიც ენაცვლებიან ინტრონებს ( — ).ციფრები ეკზონების ზემოთ მიუთითებენ მათში შემავალი წყნ-ების რიცხვს.იქვე მიწერილია რესტრიქტაზა,რომელიც ხლეჩს ამ მონაკვეთს.რუკის ზემოთ მოცემულია მანძილების შკალა (ათასი ნუკლეოტიდი).

ბ.ქათმის ოვალბუმინის მ-რნმ.ნაჩვენებია საზღვრები ეკზონებს შორის,ტრანსლაციის დასაწყისი (აუგ) და ბოლო (უაა).ციფრები გამოსახავენ მანძილს— ნუკლეოტიდების რიცხვს მ-რნმ-ს დაწყებამდე. L —მ-რნმ-ს საწყისი (ლიდერული) უბანი (ს.ინგე-ვეტჩომოვიდან,1983, ,ბრეტნეჩის მიხედვით).

ზომა თითოეულისა I250 წყვილი ფუძეა.ზოგიერთ გენში ინტრონების საერთო სიგრძე მნიშვნელოვნად ჭარბობს ეკზონების სიგრძეს. ასე, მაგალითად, ოვალბუმინის გენი შეიცავს დაახლოვებით 7700 წყვილ ფუძეს, ხოლო მ-რნმ-ს სიგრძე სულ I859 ნუკლეოტიდია. როგორც წესი, მოზაიკური გენების ინტრონული ნაწილის საერთო სიგრძე მეტია ეკზონურთან შედარებით. მიოზინის გენში 50-ზე მეტი ინტრონია. ზოგიერთ გენში ინტრონების ჯამური სიგრძე I0-I5-ჯერ და ზოგჯერ 20-ჯერაც მეტია ეკზონების საერთო სიგრძეზე. საინტერესოა, რომ ევოლუციურად ინტრონები უფრო ჩქარა იცვლებოდნენ, ვიდრე

ეკზონები. თაგვისა და კურდღლის β-გლობინის პატარა ინტრონების ფუძეთა თანამიმდევრობა სრულიად განსხვავებულია, თუმცა მათი სიგრძე დაახლოებით ერთნაირია და გენშიც იდენტური მდებარეობა აქვთ. ინტრონებისა და ეკზონების შესაყართან, რომელთა მიხედვითაც ხდება სპლაისინგი, ფუძეთა თანმიმდევრობა კონსერვატულია. ნებისმიერი ინტრონი იწყება დინუკლეოტიდით გ-უ და თავდება ა-გ-ით.

საფუვრის ტ-რნმ-ების ერთ-ერთი გენი შეიცავს 14 ფუძისაგან შემდგარ ინტრონს, რომლის გეერდით განლაგებულია მომწიფებული ტ-რნმ-ს ანტიკოდონური მარყუჟის გვერდით. მიტოქონდრიალური გენი, რომელიც კოდირებს რ-რნმ-ს, აგრეთვე წყვეტილი სტრუქტურისაა. ამავე დროს, რ-რნმ-სა და ტ-რნმ-ს გენი უწყვეტია. სულ უკანასკნელი გამოკვლევების საფუძველზე იქმნება შეხედულება, რომ რაც უფრო მაღალია ორგანიზმის ევოლუციური მდებარეობა, მით მეტია და ამასთანავე გრძელია მის გენომში ინტრონების რაოდენობა. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ შესაძლებელია ინტრონები ასახავენ ახალ-ახალი ციღების წარმოქმნას ევოლუციაში, ან, შესაძლოა, მონაწილეობენ გენთა მოქმედების გამოვლინების რეგულაციაში.

ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის მიხედვით ინტრონები ძლიერ განსხვავდებიან როგორც ერთი გენის შიგნით, ისე სხვადასხვა გენებში. როგორც წესი, ისინი ეკუთვნიან დნმ-ს უნიკალური თანმიმდევრობების ფრაქციას. ამასთან საყურადღებოა ისიც, რომ როგორც ირკვევა, ინტრონების შიგნით არსებობს გენომის განმეორებადი ელემენტები.

ინტრონები არ არის ნანახი ბაქტერიებსა და ფაგებში. ისინი აღმოჩენილია ვირუსებში, რაც ზოგიერთ მკვლევარს მიაჩნია არგუმენტად ვირუსების უჯრედშიგა წარმოშობის შეხედულების სასარგებლოდ.

ეუკარიოტული გენების ძირითადი ტიპები. როგორც აღვნიშნავდით (თავი VIII) პროკარიოტული გენომი ძირითადად შეიცავს სტრუქტურულ გენებს, რომლებიც კოდირებენ ციღებს, აგრეთვე რიბოსომულ და ტრანსპორტულ რნმ-ს. ისინი,

როგორც წესი, წარმოქმნიან ოპერონულ სტრუქტურას, შემდგარს მონათესავე ფუნქციების მქონე გენების ჯგუფისაგან (კლასტერებისაგან). ოპერონის ტრანსკრიპციის პროდუქტია პოლიცისტრონული რნმ, რომელიც პოლისომებზე ტრანსკრიბირდება თანამიმდევრობით, ე.ი. პირველი ცისტრონიდან.

ეუკარიოტებში გენების ოპერონული სტრუქტურა გვხვდებაშეაგრამ ეს არ არის ტიპიური და გააჩნიათ თავისი თავისებურებანი. ეუკარიოტული სტრუქტურული გენები რიგი პრინციპული თავისებურებებით გამოირჩევა. ამჟამად დეტალურადაა შესწავლილი ასეულობით სხვადასხვა ეუკარიოტული გენი, რომელთაც პირობითად ოთხ ჯგუფად ყოფენ.

პირველ ჯგუფში შედიან ე.წ. უნიკალური გენები, რომელთაც სპეციალიზირებული ფუნქციები აქვთ; ისინი ექსპრესირდებიან უმთავრესად დიფერენცირებულ უჯრედებში მატორული პროდუქტის — ციღის წარმოქმნით. ტიპიური მაგალითია გლობინის, ოვალბუმინის, ალბუმინის, ცერულოპლაზმინისა და სხვა გენები. ისინი წარმოდგენილია ერთი ან რამდენიმე ასლით ჰაპლოიდურ გენომზე. სწორედ ასეთი გენები იქნა უპირველეს ყოვლისა კლონირებული და შესწავლილი იმის გამო, რომ მათი მ-რნმ დიდი რაოდენობით შედის შესაფერის უჯრედებში და ყველაზე ხელმისაწვდომია. ამიტომაც იყო აღმოჩენილი, რომ ეს გენები შეიცავენ ინტრონულ თანამიმდევრობებს, რომლებიც ციღდებიან ტრანსკრიპციის პირველად პროდუქტს (პრე-მ-რნმ) განსაკუთრებული მექანიზმის— სპლაისინგის გამოყენებით.

მეორე ჯგუფში, რომელიც გაცილებით უარესადაა შესწავლილი, შედიან აგრეთვე უნიკალური გენები (ან მცირეჯერ განმეორებადნი), რომლებსაც ზოგადი ფუნქციები აქვთ და აქტიურნია უჯრედთა უმეტესობაში. ჩვეულებრივ, ისინი ექსპრესირდებიან მნიშვნელოვნად უფრო სუსტად, ვიდრე ქსოვილსპეციფიური გენები, რის გამოც მათი მ-რნმ-ს გამოყოფა და ამით თვით გენის მიღება გაძნელებულია. ასეთი გენების შესახებ ცნობები ნაკლებია და მათ ცალკე ჯგუფად გამოყოფენ მხოლოდ ფუნქციური თავისებურებების გამო. ასე-

თებია, მაგალითად გენები, რომლებიც მონაწილეობენ ტრანსკრიპციის რეგულაციაში ან პრე-მ-რნმ-ს პროცესინგში.

მესამე ჯგუფს შეადგენენ მრავლობითი (შეჯგუფული) გენები. ჩვეულებრივ მათ ქრომოსომაში ფიქსირებული მდგომარეობა აქვთ. ასეთი გენების ტიპური წარმომადგენლებია 5 S, 18 S და 28 S რიბოსომული რნმ-ს გენები, ტ-რნმ-ს გენების ნაწილი და ჰისტონური გენები. ყველა ეს გენი პასუხისმგებელია საერთოდ უჯრედის მნიშვნელოვანი ფუნქციებისათვის. ისინი ხშირად მეორდებიან, რაც დაკავშირებულია მათი პროდუქციის დიდი მასალის საჭიროებასთან. აღნიშნული გენები კარგადაა შესწავლილი და აღწერილი სპეციალურ ლიტერატურაში. აქ აღვნიშნეთ მხოლოდ, რომ ისინი კონსერვატულნია, ტრანსკრიპციის ერთეულები დიდი არ არის ტრანსკრიპციის საბოლოო პროდუქტთან შედარებით და მორიგეობენ სპეისერებთან. ეს უკანასკნელნი გენთან შეპირისპირების ადგილზე ჩვეულებრივ ჰეტეროგენურია როგორც სიგრძეზე, ისე თანამიმდევრობის მიხედვით. შეჯგუფული მრავლობითი გენების ტრანსკრიპცია ხორციელდება რნმ-პოლიმერაზა I-ით (18S და 28 S რნმ-ს გენები), პოლიმერაზა II-ით (ჰისტონების გენები), ან პოლიმერაზა III-ით (5 S რნმ-სა და ტ-რნმ-ს გენები). ვარაუდობენ, რომ გენთან მიმდებარე სპეისერების ზონები მონაწილეობენ ტრანსკრიპციის რეგულაციაში. სპეისერების მარტივი განმეორებანი, როგორც ჩანს, მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ რეკომბინაციის პროცესში, გენის ერთგვაროვნების შენარჩუნებაში.

ბოლოს, მეოთხე ჯგუფს მიეკუთვნება მთელს გენომზე მიმობნეული გენები, რომელთა რაოდენობა საკმაოდ დიდია. ამ ჯგუფის გენებს პრინციპულად განსხვავებული ორგანიზაცია აქვთ. ასეთებია, მაგალითად, რიბოსომებისა და ჰისტონების გენების ნაწილი, რომლებიც მიმოფანტულია გენომში ცალკეული თანამიმდევრობების (ორფონების) სახით; ტ-რნმ-ს გენების ნაწილი (მაგალითად, სერინისა და ტიროზინის ტ-რნმ-სი საფუვრებში); დაბალმოლეკულური ბირთვული რნმ-ს სხვადასხვა ტიპების გენები, მობილური დისპერ-

გირებული გენები და B-ს ან Alu-ს ტიპის ყველგანმყოფი განმეორებადი ელემენტები.

საერთოდ, ეუკარიოტული გენებისათვის განსაკუთრებით დამახასიათებელია ორი თავისებურება: I. სტრუქტურული გენების უმეტესობა წარმოდგენილია მულტიგენური ოჯახების სახით, რომლის წევრები კოდირებენ სტრუქტურულად და ფუნქციურად მონათესავე ცილებს, ექსპრესირდებიან ორგანიზმის ან ქსოვილის განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე. 2. პროკარიოტებისაგან განსხვავებით, ისინი უმეტესად ორგანიზებულნი არიან როგორც ცალკეული ტრანსკრიპციული ერთეულები.

<u>ფსევდოგენები.</u> არიან განსაკუთრებული გენები, რომელთა თანამიმდევრობანი ემსგავსება ფუნქციურად აქტიური გენების თანამიმდევრობებს, მაგრამ არ ექსპრესირდებიან და არც ფუნქციურად აქტიურ ცილას წარმოქმნიან. ზოგიერთი ფსევდოგენი ზოგადად ფუნქციურად აქტიური გენის მსგავსი აღნაგობისაა შესაფერისი ინტრონ-ეკზონებით. მათ აქტიურობა დაუკარგავთ მუტაციების შედეგად, რომლითაც დარღვეულია ექსპრესიის ერთი ან რამდენიმე სტადია. ეს შეიძლება გამოიხატებოდეს ტრანსკრიპციის ინიციაციის მოშლაში, სპლაისინგის შეფერხებაში, ტრანსკრიპციის ნაადრევ ტერმინაციაში. ჩვეულებრივ, ფსევდოგენი ატარებს რამდენიმე მაგნე მუტაციას, რის მიზეზიც შეიძლება იყოს ის გარემოება, რომ ერთჯერადი მუტაციის შედეგად იგი შემდგომი მუტაციების დაგროვების ობიექტი ხდება. ასეთი ფსევდოგენები აღმოჩენილია მრავალნაირი გენის სისტემებში, მაგალითად, გლობინის, იმუნოგლობულინების, ჰისტოშეთავსებადობის ანტიგენების გენებში და სხვ.

ფსევდოგენის ტიპური მაგალითია კურდღლის ფსევდოგენი Ψ 2, რომელიც ჩვეულებრივი ინტრონ-ეკზონური ორგანიზაციისაა და აღნაგობით ახლოსაა ფუნქციურად აქტიურ გენ β I-თან. მაგრამ აღნიშნული ფსევდოგენის კოდონ 20-ში არის ერთი წყვილი ფუძის დელეცია, რომელსაც გამოუწვევია წაკითხვის ჩარჩოს გადაწევა და შედეგად ტრანსლიაცია ტერმინირდება თითქმის

დაწყებისთანავე. წერტილობრივი მუტაციების გამო, შეცვლილი აღმოჩნდა მარ-
ჯვნივ განლაგებული რამდენიმე კოდონი, რომლებიც კოდირებენ ყველა B -გლ-
ობინისათვის დამახასიათებელ ამინომჟავებს.

როგორც ირკვევა, ზოგიერთი ფსევდოგენი ასეთად გადაქცევამდე აქტიურად
ფუნქციონირებდა, სხვები წარმოშობისთანავე აქტიურნი ყოფილან. ზოგიერ-
ფსევდოგენს დაუკარგავს ინტრონი. ფსევდოგენებს, რომლებიც გვანან რნმ-
ტრანსკრიპტებს, პროცესირებულ ფსევდოგენებს უწოდებენ.

ჩვეულებრივ, ფსევდოგენები გენების საერთო რიცხვის მცირე ნაწილს წარ-
მოადგენენ.

<u>მოძრავი გენები.</u> 50-იანი წლების დასაწყისში ამერიკელმა მკვლევარმა
ქალმა ბარბარა მაკ-კლინტოკმა სიმინდის გენეტიკაზე მუშაობისას ყურადღე-
ბა მიაქცია გენების ერთი ჯგუფის უცნაურ გამოვლენას, რომელსაც რეგუ-
ლატორული ელემენტები უწოდა. უცნაურობა გამოიხატება იმაში, რომ ამ
ჯგუფის გენებს აქვთ უნარი დათრგუნონ მათთან განლაგებული სხვა გენების
ექსპრესია. ამასთანავე აღმოჩნდა, რომ ასეთი გენები არ არიან ფიქსირე-
ბულნი მუდმივად ქრომოსომის ერთ რომელიმე ადგილზე და როგორლაც ადგილ-
მონაცვლეობენ მთელი გენომის გასწვრივ. რეგულატორული ელემენტების შემ-
დგომმა შესწავლამ ბევრი საინტერესო სურათი გამოავლინა. სახელდობრ გა-
ირკვა, რომ ამ ელემენტებს შეუძლიათ ჩამენდნენ გენომში ან კვლავ ამო-
ვარდნენ, ამასთან, ამ უკანასკნელ შემთხვევაში „ჩარჩენილი" გენები
კვლავ იწყებენ ფუნქციონირებას. დადგინდა ისიც, რომ რეგულატორულ გე-
ნებთან ასოცირებული გენები კარგავენ სტაბილურობას და ხშირად განიც-
დიან მუტაციებს ამავე ელემენტების არასტაბილურობის გამო.

დიდი ხნის განმავლობაში სიმინდი იყო ერთადერთი ორგანიზმი, რომელ-
ზეც დადგინდა გენომში მოძრავი ელემენტების არსებობა. შემდგომში შეამ-
ჩნიეს, რომ დროზოფილის ზოგიერთი გენი გამოირჩევა მუტაციის მაღალი სიხ-
შირით და ივარაუდეს, რომ ასეთი გენები დაკავშირებული უნდა იყოს მოძრავ

რეგულატორულ ელემენტებთან. საკითხს ნათელი მოეფინა 61-იანი წლების დასაწყისში, როდესაც ნაჩვენები იქნა, რომ ზოგიერთი პლეიოტროპული მუტაცია (რამდენიმე მუტაცია, რომელიც გამოწვეულია ერთი გენით) ნაწლავის ჩხირში განპირობებულია ქრომოსომაში ერთი დიდი სეგმენტის ჩაშენებით, რასაც ინსერციული თანამიმდევრობები დაარქვეს (ინგლ. Insertion, შემოკლებით—IS—ჩამატება, ჩაშენება). ამავე დროს ყურადღება მიიპყრო იმ ფაქტმაც, რომ ინსერციის ბევრ ცალკეულ აქტში მონაწილეობენ დნმ-ს ერთი და იგივე სეგმენტები. საბოლოოდ დადგენილ იქნა ინსერციული თანამიმდევრობის ოთხი ძირითადი ჯგუფი, რომლებიც აღინიშნებიან შემდეგნაირად: IS 1, IS2, IS3 და IS 4. ნაწლავის ჩხირის ქრომოსომაში გაფანტულია ISI ელემენტების ბევრი ასლი. ადგილგადანაცვლების უნარი შესწევთ არამარტო ცალკეულ IS ელემენტებს. თუ ორი ასეთი ელემენტი ერთმანეთთან საკმაოდ ახლოსაა, მათ შეუძლიათ ერთად გადაადგილდნენ და ამასთანავე წარიტაცონ მათ შორის არსებული გენები. ასეთ რთულ მოძრავ სტრუქტურებს ტრანსპოზონებს უწოდებენ.

რეკომბინანტული დნმ-ს მიღების მეთოდების განვითარებასთან ერთად (იხ. თავი — გენეტიკური ინჟენერია) შესაძლებელი გახდა IS-ელემენტების გამოყოფა და კლონირება სპეციფიკურ თანამომდევნობებთან ერთად. IS ელემენტებისა და ქრომოსომის შესაყარზე არსებული თანამომდევნობების შედარებამ აჩვენა, რომ აღნიშნული ელემენტები შეიძლება ჩაშენდნენ ნაწლავის ჩხირის ქრომოსომის მრავალ უბანში. მნიშვნელოვანია, რომ ბაქტერიული დნმ-ს თანამომდევნობანი, რომლებიც ჩაშენებული IS ელემენტის მარცხნივ რჩება, ყოველთვის იდენტურია ამ ელემენტის მარჯვნივ მდებარე უბნის მიმართ. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ თვით ინსერციის აქტი, როგორც ჩანს, შეიცავს ქრომოსომის გახლეჩის საიტში მიწებებადი ბოლოების წარმოქმნას, რომელთა შორისაც ჩაშენდება დონორული ტრანსპოზონი.

როგორც ჩანს, გამოთქმა ტრანსპოზონის გადანაცვლება ზუსტად ვერ გამო-

ხატავს პროცესის დედაარსს. ირკვევა, რომ ტრანსპოზონი ახალ ადგილზე გადაცვლებისას თავის ყოფილ ადგილზე არ ქრება: ახალ ადგილზე გადადის ძველზე მყოფ ტრანსპოზონზე კოპირებული მოლეკულა. კოპირებას განაპირობებენ სპეციალური ფერმენტები — ტრანსპოზაზები, რომელთა გენები თვით ტრანსპოზონებშიცვა ლოკალიზებული.

საერთოდ მოძრავი, ადგილმონაცვლე ელემენტები, რომელნიც სხვადასხვანაირად იწოდებიან (მოძრავი დისპერგირებული ელემენტები, მოდრეიფე გენები, მოხეტიალე გენები, მოხტუნავე გენები და ა.შ.), როგორც ჩანს, ყველა სახის გენომში უნდა არსებობდნენ. ისინი დეტალურადაა შესწავლილი საფუვრებში და დროზოფილაში, რისთვისაც გამოიყენება კლონირებისა და შემდგომი სეკვენირების მეთოდი. ნაჩვენებია, მაგალითად, რომ საფუვრის ( Saccharomices cerevisiae ) ერთ უჯრედში არის ყველაზე გავრცელებული Ty I ტრანსპოზონის (შეიცავს 5000 წყნ-ს) 35 ასლი. დროზოფილაში აღმოჩენილია რამდენიმე მოძრავი ელემენტი, რომელთაგან ყველაზე გავრცელებულია ე.წ. copia (შეიცავს 5000 წყნ-ს)-იგი სხვა მოძრავი ელემენტების მსგავსად, გენომში ბევრჯერ ირთვება. აღნიშნული ელემენტის რიცხვი და ლოკალიზაცია დროზოფილის სხვადასხვა ხაზებში ერთნაირი არ არის.

როგორც საფუვრის TyI, ისე დროზოფილის copia ინტეგრირდებიან ქრომოსომის ყოველნაირ უბანში. ამიტომ ნაკლებ საეჭვოდა, რომ ისინი რაიმე მონაწილეობას ღებულობენ ორგანიზმის განვითარებაში. მიაჩნიათ, რომ ისინი ხელს უწყობენ გენეტიკური ნაირგვარობის შექმნას გენების ექსპრესიის აქცეპტორულ უბნებში შეცვლილი ექსპრესიის მქონე გენების ჩართვით პრომოტორების დელეციით ან დონორული ტრანსპოზონის გენების გადატანით ახალ გარემოცვაში, სადაც ისინი ახალი რეგულატორული ელემენტების კონტროლს დაექვემდებარებიან.

დროზოფილას ხაზების უმეტესობა შეიცავს copia -საგან განსხვავებულ დისპერგირებულ ელემენტებს, რომელთაც P -ელემენტებს უწოდებენ. ისინი

შეიცავენ დაახლოვებით 3000 წყნ-ს, რომელთაც ბოლოებზე აქვთ ე.წ. მიმარ-თული განმეორებანი. მათი სიგრძე 31 წყნ-ს შეადგენს და აღნაგობით ძაღიან ჰგვანან ბაქტერიულ ტრანსპოზონებს, მაგალითად, Tn3-ს. უკანასკნელ ხა-ნებში მოძრავი გენეტიკური ელემენტები გამოიყენება გენეტიკურ ინჟენერი-აში დროზოფილაში, კერძოდ მის ემბრიონებში ახალი მემკვიდრული ერთეულე-ბის შეტანისას.

საინტერესო კითხვაა ხომ არ არის დაკავშირებული მოძრავი გენეტიკური ელემენტები ავთვისებიან ზრდასთან? კერძოდ, ხომ არ წარმოშობილან რნმ-ს შემცველი ონკოგენური ვირუსები მოძრავი გენეტიკური ელემენტებიდან? უკანასკნელ წლებში ჩატარებული კვლევებით მიღებული შედეგების საფუძველ-ზე საცსებით დასაშვებად მიაჩნიათ, რომ რეტროვირუსები არსებით. მოძ-რავი გენეტიკური ელემენტებია, რომელთაც შეიძინეს ერთი უჯრედიდან მეო-რეში გადასვლის უნარი. ამ დროს ისინი წარიტაცებენ იმ ცილების გენებს, რომელნიც ურთიერთობენ ტრანსკრიპტებთან და წარმოქმნიან ინფექციურ ვი-რუსულ ნაწილაკებს. მეორეს მხრივ, მობილური გენების ზოგიერთი კლასი შეიძლება იყოს იმ რეტროვირუსების შთამომავალნი, რომელთაც დაუკარგავთ ვირიონის წარმოქმნის უნარი.

## თავი XII

## მემკვიდრეული ნივთიერების გადატანისა და ცვლის (რეკომბინაციების) მოლეკულური მექანიზმები

<u>გენეტიკური რეკომბინაციების დედაარსი.</u> ორგანიზმის ნიშან-თვისებათა გამაპირობებელ მემკვიდრულ საფუძვლებში, მათ ნაირგვარ ცვლილებებსა და ალდგენებთან ერთად, გამუდმეთ ხდება ცალკეულ მემკვიდრულ ფაქტორთა გადანაწილება და ახლებური შეჯერება— რეკომბინაციები, გადატანა ერთი უჯრედიდან მეორეში და ა.შ. მემკვიდრულ ფაქტორთა გადატანა ძირითადად ხდება სქესობრივი გამრავლების დროს, როდესაც ერთმანეთს ერწყმის მშობლიური წყვილის სასქესო გამეტები. ზიგოტაში ხდება გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი სტრუქტურების შეთავსება, ცალკეული მემკვიდრული ერთეულების— გენების ნაირგვარი შეპირისპირება, რომლის საბოლოო შედეგი შემდგომში ვლინდება შთამომავლობაში ფენოტიპურად. ადრინდელ გენეტიკურ გამოკვლევებში ეს პროცესი შეისწავლებოდა სხვადასხვა მცენარეთა და ცხოველთა ჰიბრიდიზაციით. ცნობილია, რომ შეჯვარებამდე, ჯერ კიდევ სასქესო უჯრედების მომწიფების (მეიოზის) დროს, ქრომოსომების გადაჯვარედინებისა და ზოგიერთი უბნის გაცვლის — კროსინგოვერის შედეგად, მემკვიდრულობის მატერიალურ საფუძვლებში ხდება მემკვიდრული ერთეულების ახლებური განაწილება, რაც გარეგნულად აისახება შთამომავლობაში.

ადრე, სათანადო არგუმენტების უქონლობის გამო, მიაჩნდათ, რომ პრიმიტიულ ორგანიზმებში სქესობრივი პროცესი არ არის. კვლევაში სიძნელეებს ქმნიდა, შესაფერისი, შედარებით მარტივი საცდელი ობიექტების უქონლობა. ამიტომ დიდი მნიშვნელობა იქონია ისეთი პროცესების აღმოჩენამ ბაქტერიებში, როგორიცაა ტრანსფორმაცია (ო.ეივერი, ც.მაკ-ლეოდი, მაკ-კარტი, 1944წ.) სექსდუქცია (ჯ.ლედერბერგი, ე-ტეიტემი, 1966 წ.) და ტრანსდუქცია (ჯ.ლე-

დერბერგი, ზინდერი, 1952 წ.). ამ გამოკვლევებით გამოვლინდა, რომ სქესობრივი პროცესი, ან მისი ანალოგი, არსებობს პროკარიტებშიც. ამით დაისახა მემკვიდრული ნივთიერებების ცვლისა და ერთი ორგანიზმიდან მეორეში გადატანის ფუნდამენტური მექანიზმების შეცნობის კონკრეტული გზები. მეტად ნაყოფიერი აღმოჩნდა რეკომბინაციების შესწავლა უფრო მარტივ წარმონაქმნებშიც, კერძოდ, ბაქტერიოფაგებშიც, სადაც ეს პროცესები სქესობრივი პროცესის გარკვეულ ანალოგად შეიძლება ჩავთვალოთ. ბაქტერიოფაგების დიდი უპირატესობა, ამ მხრივ, მდგომარეობს იმაში, რომ ისინი სწრაფად მრავლდებიან, შედარებით ადვილია, მაგალითად, ვირუსული ნაწილაკისა და აგრეთვე ერთ მასპინძელ უჯრედში წარმოქმნილი პოპულაციების შთამომავლობის გადარჩევა, რეგისტრაციებისათვის მოსახერხებელი გენეტიკური მარკერების (ნეგატიური კოლონიების მორფოლოგიის მიხედვით) არსებობა და ბოლოს რეკომბინაციების მაღალი ინტენსივობა.

მემკვიდრული ინფორმაციის მატარებელი სტრუქტურების ყოველგვარი გადანაწილებისა და ახლებური შეპირისპირების საფუძველია ჰეტეროზიგოტულობის აღმოცენება ორი ან მეტი გენის მიხედვით, რადგანაც ცხადია, რომ ჰაპლოიდში ან ყველა გენის მიხედვით სრულიად ჰომოზიგოტურ დიპლოიდში ახლებური შეპირისპირებისათვის მასალა არ არის. ეუკარიოტებში ჰეტეროზიგოტულობა, რომელსაც რეკომბინაციებამდე მივყევართ, უმეტესად შეჯვარების შედეგია. მხოლოდ უკანასკნელ წლებში შემუშავდა ე.წ. პარასექსუალური ჰიბრიდიზაციის მეთოდი, რომლის დროსაც შესაძლებელია ვეგეტატიური (დიპლოიდური) ბირთვების შერწყმა და ამით რეკომბინაციის ან გენომის ნაწილის გადატანის განხორციელება (იხ. თავი XIII – გენეტიკური ინჟინერია).

პროკარიოტებში რეკომბინაციები აღმოცენდება რამდენიმე გზით, ამის მიხედვით, თუ რა სახით ხდება მემკვიდრული ერთეულების შეტანა უჯრედში. ძირითადი გზებია ტრანსფორმაცია, ტრანსდუქცია და სექსდუქცია, რაც ბაქტერიებს შორის ნაირგვარი კონტაქტის (კონიუგაციის) დროს ხდება (სურ.46).

სურ. 46 კონიუგაცია ორ ბაქტერიულ უჯრედს შორის (ელექტრონული მიკროფოტოგრაფია). ჩანს მოკონიუგირე უჯრედებს შორის წარმოქმნილი შემაერთებელი ხიდაკი, რომლითაც ერთი უჯრედიდან (დონორიდან) მეორეში (რეციპიენტში) გადადის გენეტიკური ერთეულები.

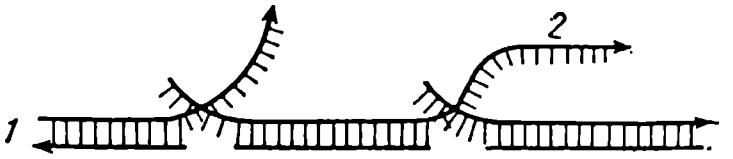
ტრანსფორმაცია ორგანიზმის თვისებათა ისეთი მემკვიდრული ცვლილებაა, რომელიც გამოიწვევა უჯრედის მიერ სხვადასხვა ორგანიზმის დნმ-ს ათვისებით, ამასთან რაიმე „დამხმარეთა" გარეშე, რომლებიც ხელს უწყობენ დნმ-ს შეჭრასა და ჩანერგვას რეციპიენტი უჯრედის ქრომოსომაში. იგი პირველად აღმოაჩინეს 1944 წელს ბაქტერიებზე ცდებით. თუმცა ტრანსფორმაციის მოვლენა აღწერილია სხვა ორგანიზმებზეც, მექანიზმები გარკვეულია ბაქტერიებზე დაკვირვებებით. დადგენილია, რომ უჯრედში ეგზოგენური დნმ-ს შეჭრის ძირითადი პირობაა მისი დიდი მოლეკულური მასა და ნატივურობა; მოლეკულური მასა არ უნდა იყოს $10^6$ დალტონზე ნაკლები. დენატურირებული დნმ-ს ტრანსფორმაციული უნარი გაცილებით დაბალია, რადგან ამ დროს იგი გორგლისებრი ფორმისაა და შესაბამისად დიამეტრიც დიდი აქვს. ამასთან, დონორის დნმ-ს ნაწილობრივ მაინც უნდა გააჩნდეს რეციპიენტი უჯრედის დნმ-ს ჰომოლოგიური უბნები. ამიტომაა, რომ ტრანსფორმაცია ხდება ერთი სახეობის შიგნით სხვადასხვა გენოტიპის ინდივიდებს, ან ახლო სახეობების ინდივიდებს შორის. რეციპიენტი უჯრედები ტრანსფორმირდება მხოლოდ თავიანთი სასიცოცხლო ციკლის გარკვეულ პერიოდში. ბაქტერიებში ასეთი ე.წ. კომპეტენტური მდგომარე-

ობა ზრდის უკანასკნელი (ლოგარითმული) ფაზაა. კომპეტენტურობა დამოკიდ-ებულია ზრდის პირობებისაგანაც. კომპეტენტურ მდგომარეობაში მყოფ ბაქტე-რიებში მომატებულია ფერმენტი გალაქტოზამინი. უჯრედის კედლის განვლადო-ბის მატებას უკავშირებენ აგრეთვე ლითიური ენზიმების (მაგ. N-აცილ-მი-ურამილ-I-ალანინამიდაზა) მომატებულ აქტივობას, რომლებიც გარსში წარმო-ქმნიან „სარკმელებს". აღნიშნავენ მემბრანაში ზოგიერთი ნუკლეაზის აქტი-ვობის მატებასაც.

კომპეტენტურობას ზრდის ზოგიერთი ეგზოგენური ფაქტორი: უჯრედების დამუშავება ფუძე ციღებით (განსაკუთრებით პროტამინით), ლიზოციმით, კა-ლციუმის იონების ზემოქმედება, გარეთა მემბრანის მოცილება (ე.წ. პროტოპ-ლასტებად გადაქცევა) და ბოლოს, იმ ფაქტორთა მიმატება, რომლებიც არეში ბუნებრივად ჩნდება უჯრედთა კულტურის შესწავლისას ზრდის ფაზაში. პნევ-მოკოკებსა და პემოფილურ ჩხირში ტრანსფორმაციას მკვეთრად სტიმულირებს ალბუმინის მიმატება. ცხადია, რომ კომპეტენტურობის ბუნების საკითხი უა-ლრესად მნიშვნელოვანია როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით.

ტრანსფორმაციის პროცესი რამდენიმე ეტაპისაგან შედგება. დასაწყის-ში რეციპიენტ კომპეტენტურ უჯრედზე დონორული დნმ ემაგრება მოლეკულის ბოლოებით და უჯრედში შეჭრისას ფრაგმენტდება ენდონუკლეაზებით. როგორც ირკვევა, ფრაგმენტებს შიგნით იზიდავენ რეციპიენტი უჯრედის ციღები. შე-ჭრილი ფრაგმენტები ირთვება რეციპიენტის ქრომოსომაში: იგი შედის სინაფ-სისში რეციპიენტი უჯრედის დნმ-ს ერთ-ერთი ძაფის ჰომოლოგიურ უბანთან და ჩაშენდება მასში ორმაგი კროსინგოვერის საშუალებით (სურ. 47 ) რეციპიე-ნტის დნმ-დან ამოვარდნილი უშნის მაგივრად, რომელიც იშლება. ასევე იშლე-ბა დონორული დნმ-ს ის მოლეკულები, რომლებიც უჯრედში შეიჭრა, მაგრამ რეციპიენტის ქრომოსომაში არ ჩაშენებულა.

ბაქტერიებში შიგასახეობრივი ან სახეობათაშორისი ტრანსფორმაცია შეისწავლებოდა უმთავრესად დნმ-ს ხელოვნურად გამოყოფილი პრეპარატებით.




სურ. 47 . ორმაგი კროსინგოვერის მექანიზმი ბაქტერიების ტრანსფორმაციისას: I— ბაქტერიის ქრომოსომა, 2— დონორული დნმ-ს ძაფი

ამასთან დადგენილია, რომ ზრდის ფაზაში ბაქტერიები არეში გამოყოფენ დნმ-ს ამიტომაც, თუ კულტურაში სხვადასხვა გენოტიპის ბაქტერიაა, შეიძლება მოხდეს მათი ტრანსფორმაცია. აქედან სავარაუდოა, რომ ეს გარემოება ბუნებრივი გენეტიკური რეკომბინაციების ერთ-ერთი საფუძველია ბაქტერიებში და შესაძლოა სხვა პროკარიოტებშიც.

ტრანსფორმაციის უნარი ყველა ბაქტერიას არ შესწევს. ზოგჯერ მოცემული სახეობის ერთი შტამი ტრანსფორმირებადია და მეორე არა, ჩვეულებრივ, ტრანსფორმირდება უკრედთა მცირე ნაწილი. მაგალითად, პნევმოკოკებში, ჰემოფილურ ბაქტერიებში, თივის ჩხირში იგი შეადგენს სულ I%-ს და სარეთოდ, იშვიათად ჭარბობს I0%-ს.

ტრანსფორმაცია ნაჩვენებია ერთუჯრედიან ეუკარიოტებში და ძუძუმწოვართა ცალკეულ უჯრედებზეც. ცხადია, რომ თუ ტრანსფორმირდა ცალკეული სასქესო უჯრედი, შესაძლებელია მთლიანი ორგანიზმის მიღება, რომელსაც შეცვლილი ნიშან-თვისებანი ექნება. საერთოდ, ეუკარიოტებში ტრანსფორმაცია უკიდურესად ძნელია, თუმცა არის მონაცემები უჯრედთა კულტურაზე. მრავალუჯრედიანებში ტრანსფორმაციის ეფექტი დნმ-ს შეყვანით in vivo ნაკლებად სააღბათოა, რადგან დნმ-ს მრავალი ბარიერი ელობება, ვიდრე იგი მიაღწევდეს სწორედ იმ სასქესო უჯრედს, 'რომელიც ახალი ორგანიზმის საწყისი

გახდება. ასევე ძნელია ვიღოდოთ წარმატებას ეგზოგენური დნმ-ით სასქესო უჯრედების დამუშავებისას in vivo , რადგანაც ამ დროს მათი დნმ უმოქმედოა და მაქსიმალურად დაცულია გარემოსაგან.

ტრანსფორმაციის შეიძლება მრავალი საკითხის გადაწყვეტა ბიოქიმიურ გენეტიკაში. მაგალითად, ერთდროულად ორი ნიშნის ტრანსფორმაციის სიხშირიდან გამომდინარე, დონორული დნმ-ს ინტეგრირებული ფრაგმენტების მცირე ზომები საშუალებას იძლევა გავარკვიოთ ამა თუ იმ გენების ახლო მდებარეობა ქრომოსომთა კარტირებისას.

ტრანსდუქცია — დნმ-ს ფრაგმენტების გადატანაა რეციპიენტ უჯრედში, რასაც განსაკუთრებული სახის ვირუსები ახორციელებენ. ბაქტერიებში მრავალი ასეთი ფაგია აღმოჩენილი: λ (ლამბდა) და G-80-ნაწლავის ჩხირში, P 22— საღმონელაში და ა.შ. ცხოველებში ასეთი თვისებები აქვთ სიმსივნის ვირუსებს — პოლიომებს, პაპილომებს, ადენოვირუსებს და სხვ. ასეთი ვირუსების დნმ-ს შესწევთ უნარი ჩაირთონ მასპინძელი უჯრედის ქრომოსომაში და ასეთ მდგომარეობაში დარჩნენ დიდი ხნის განმავლობაში ისე, რომ უჯრედთან ერთად გაიარონ გამრავლების მორიგი ციკლები. ასეთნაირად ჩართული ვირუსის (ე.წ. პროვირუსის) დნმ-ს გაცლენა უჯრედზე გარეგნულად არ შეიმჩნევა. სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედებისას (დასხივება, გაცხელება და ა.შ.) ვირუსის დნმ გამოდის მასპინძლის ქრომოსომის შედგენილობიდან, გაიცლის ინტენსიური გამრავლების საკუთარ ციკლს, რასაც თან ახლავს ვირუსის ცილების სინთეზი და ვირუსის ახალი პოპულაციების წარმოქმნა. ამ დროს უჯრედი იშლება, ლიზირდება. მასპინძლის ქრომოსომიდან გამოსცლისას პროვირუსს შეუძლია წარიტაცოს მისი მნიშვნელოვანი ფრაგმენტი (~ I-3%), რომლის მოლეკულური მასა რამდენიმე ათეულ მილიონ დალტონს შეიძლება აღწევდეს. ასეთი ფრაგმენტი ჩანაცვლებულია ვირუსის დნმ-ში, რაც მას დეფექტურს ხდის რიგი ნიშნების მიმართ, თუმცა შენარჩუნებული აქვს ინფიცირების უნარი. ასეთი დეფექტური ფაგის მაგალითია კოლიფაგი λdg , რომელიც წარმოქმნილია λ-დან

მისი დნმ-ს ერთი მეოთხედის ჩანაცვლების შედეგად ნაწლავის ჩხირის გალაქ-ტოზის ოპერონიდ. მას შესწევს უნარი შეიმჩრას და ჩაირთოს ბაქტერიის ქრო-მოსომაში, მაგრამ ლიზირება აღარ შეუძლია. ამ ვირუსიდ დასნებოვნებისას ქრომოსომაში ირთვება არა მარტო ვირუსის დნმ, არამედ მის მიერ ს

ქრომოსომიდან ტრანსდუცირებული ვირუსის გამოსვლამდე წარმოიქმნება მარყუჟი, რომელშიც ვირუსული დნმ-ს დიდ ნაწილთან ერთად, შედის მასპინძლის დნმ-ს ნაწილიც. იგი ციდდება ქრომოსომას და იკვრება წრიულ დნმ-დ. შემდეგი უჯრედის დასნებოვნებისას ასეთი წრიული დნმ კონტაქტირებს ქრომოსომის იმ უბანთან, რომელშიც შედის ანალოგიური გენი. ხდება ახლო წერტილების გაწყვეტა და დნმ-ს ძაფების ჯვარედინი შეერთება, რასაც თან ახლავს გენეტიკური მასალის დამატებითი ნაწილის ჩართვა. აღსანიშნავია, რომ ტრანსდუქციის ბოლო სტადიაზე ხდება არა გაცვლა, არამედ რეციპიენტი ქრომოსომის ერთგვარი დამატება. ამაზე მოწმობს გენეტიკური ანალიზიც, მაგალითად, ფაგ λdg-ის მიერ გაღაქტოზტს ოპერონის ჩართვა ნაწლავის ჩხირის ქრომოსომაში. ამით განსხვავდება ტრანსდუქცია ბაქტერიებსა და უმაღლეს ორგანიზმებში რეკომბინაციებისაგან, აგრეთვე ბაქტერიების სექსდუქციისა და ტრანსფორმაციისაგან. ამის შემდეგ დეფექტური ვირუსი შეიძლება გამოვიდეს მასპინძლის ქრომოსომიდან ისე, რომ დატოვოს მიტანილი გენები.

არჩევენ ზოგად ანუ არასპეციფიკურ და შეზღუდულ, ანუ სპეციფიკურ ტრანსდუქციას. პირველ შემთხვევაში უჯრედში შეჭრილი ვირუსი მრავლდება, შლის უჯრედს და შეუძლია მიიერთოს მასპინძლის დნმ-ს ნებისმიერი უბანი. მეორე უჯრედში შესვლისას ეს ფრაგმენტი ჩაშენდება მასპინძლის ქრომოსომაში, როგორც ეს ხდება ტრანსფორმაციის დროს. გადატანილი ფრაგმენტის ზომა დამოკიდებულია ვირუსის ციღოვანი კაფსულის (კაფსიდის) ზომისაგან და ჩვეულებრივ ბაქტერიული ქრომოსომის I — 3%-ს შეადგენს. არასპეციფიკური ტრანსდუქცია ახასიათებს, მაგალითად, ტიფის საღმონელას ფაგ P 22-ს.

დიდად საინტერესო სპეციფიკური ტრანსდუქცია, რომლის დროსაც ვირუსის დნმ მასპინძლის ქრომოსომის მხოლოდ ზუსტად გარკვეულ ადგილს უერთდება. ასეთი ტიპის ტრანსდუქცია ახასიათებთ, კერძოდ, კოლიფაგებს — ღამბდასა და Q80-ს. ბუნებრივია, რომ სპეციფიკურ ტრანსდუქციას უდიდესი მნიშვნელობა აქვს გენომის ნატიფ სტრუქტურის კვლევისა და ხელოვნური გადაკეთებისათ-

ვის. სწორედ ამ ხერხით განხორციელდა ლაქტოზის ოპერონის გამოყოფა, გალაქტოზის ოპერონის საფუძველიანი შესწავლა და სხვ.

ცნობილია ტრანსდუქციის შემთხვევები უფრო რთულ ორგანიზმებშიც. მაგალითად, აღწერილია გენის ვირუსული ტრანსდუქციის შემთხვევა აბრეშუმის ჭიაში. ძუძუმწოვართა უჯრედის კულტურაში მოახერხეს გენეტიკური ინფორმაციის შეტანა „ფსევდოვირიონებით", ე.ი. ვირუსული კაფსიდებით, რომელთა შიგნით ვირუსული დნმ-ს მაგიერ მოთავსებული იყო უჯრედული დნმ-ს ფრაგმენტი. გენების ტრანსდუქცია შეუძლია არამარტო ვირუსებს, არამედ პლაზმიდებს, რაც ფართოდ გამოიყენება გენურ ინჟინერიაში ( იხ. თავი XIII).

მცენარეებში ნახულია ბაქტერიული გენების ბუნებრივი გადატანის შემთხვევა. ცნობილია, რომ მცენარეული სიმსივნეები ვაზში, პომიდორში და ზოგიერთ სხვა კულტურაში გამოიწვევა პლაზმიდით, რომელიც შედის მცენარის დამასნებოვნებელ ბაქტერიაში - Agrobacterium tumefaciens სიმსივნე ყალიბდება მცენარის უჯრედში ამ პლაზმიდის დნმ-ს შეჭრის შედეგად. ამასთან, შეჭრილი დნმ ჩაშენდება იმ უბანში, რომელიც კოდირებს უჩვეულო ამინომჟავების წარმოქმნას. ასეთი ამინომჟავები საჭიროა ბაქტერიის ზრდისა და განვითარებისათვის, მაგრამ არ აითვისება თვით ამავე მცენარის უჯრედთა მიერ. სავარაუდოა, რომ ბაქტერიული გენების გადატანა ეუკარიოტული ორგანიზმის უჯრედში საკმაოდ გავრცელებული მოვლენაა. მართალია, ეს გადატანა ხორციელდება არა ვირუსებით, არამედ ბაქტერიული პლაზმიდებით, იგი არსებითად ტრანსდუქციად უნდა ჩაითვალოს.

ტრანსდუქციის განსაკუთრებული ფორმაა სექსდუქცია, როდესაც გენები ერთი ბაქტერიული უჯრედიდან მეორეში გადაიტანება ავტონომიურ მდგომარეობაში გადასული ე.წ. სასქესო ფაქტორით. როგორც აღვნიშნეთ (იხ.თავი VII), ბაქტერიებში არსებობს გენომის ავტონომიური ფრაგმენტები — პლაზმიდები, რომლებიც, ქრომოსომებისაგან განსხვავებით, შედარებით სწრაფად გადადიან ერთი უჯრედიდან მეორეში კონიუგაციის დროს და რეპლიცირდებიან ქრომოსო-

მებისაგან მეტნაკლებად დამოუკიდებლად. ზოგიერთ პლაზმიდას უნარი შესწევს დროებით ჩაირთოს ქრომოსომაში, რისთვისაც მათ, ჩვეულებრივი პლაზმიდებისაგან გამოსარჩევად, ეპისომებს უწოდებენ. ჩვეულებრივ, პლაზმიდები კოდირებენ იმ სისტემების ბიოსინთეზს, რომლებიც ყოველთვის არ სჭირდება ბაქტერიებს, მაგრამ ზოგჯერ მათი არსებობა აუცილებელი ხდება. მაგალითად, ზოგიერთი პლაზმიდა კოდირებს ანტიბიოტიკებისადმი ან ზოგიერთი შხამისადმი გამძლეობის ფაქტორების სინთეზს, სხვები კოდირებენ გარსის დამცველი კომპონენტების ან იშვიათი საკვები კომპონენტების ათვისებასთან დაკავშირებული ცაღკეული ფერმენტების წარმოქმნას. განსაკუთრებული მნიშვნელობისაა სპეციალური ეპისომა F (ინგლ. fertility — ნაყოფიერება) ანუ ე.წ. სასქესო ეპისომა, რომელიც, როგორც ირკვევა, უზრუნველყოფს არამარტო ეპისომების, არამედ ქრომოსომების გადატანასაც უჯრედიდან უჯრედში. ზოგჯერ ქრომოსომაში ჩართული F ფაქტორი თავისუფლდება ქრომოსომისაგან და, პროფაგის მსგავსად, შეუძლია წარიტაცოს ქრომოსომის მიმდებარე უბანი. სექსდუქციის დროს რეციპიენტ („მდედრობით") უჯრედში ქრომოსომის ამ ფრაგმენტთან ერთად გადადის F ფაქტორიც, იმ დროს, როდესაც ჩვეულებრივი კონიუგაციისას ეს ფაქტორი რეციპიენტ უჯრედში იშვიათად გადადის, რადგან იგი ქრომოსომის იმ ბოლოშია განლაგებული, რომლის მოპირდაპირე ბოლოდანაც ხდება მისი უჯრედში შეჭრა. სექსდუქციის შედეგად რეციპიენტი უჯრედი იძენს დონორის თვისებებს (ხდება „მამრობითი") და ამით მომდევნო კონიუგაციისას შეუძლია განახორციელოს როგორც სექსდუქცია, ისე ბაქტერიული ქრომოსომის გადატანა. სექსდუქციისას დონორის ქრომოსომის ტრანსლოცირებულ ფრაგმენტს შეუძლია ჩაერთოს რეციპიენტის ქრომოსომაში ორმაგი კროსინგოვერით.

მემკვიდრული ნივთიერებების ცვლილებანი ქრომოსომთა კონიუგაციისა და კროსინგოვერის დროს. ეუკარიოტებში სასქესო უჯრედების წარმოქმნის — მეიოზის პროცესში ხდება ჰომოლოგიური ქრომოსომების დროებითი გადაჯვარედინება ანუ კონიუგაცია, რასაც მოსდევს როგორც არაშეჭიდული, ისე ერთ ქრო-

მოსომაში განლაგებული შეჭიდული გენების გაცვლა და უბნების ახლებური შეპირისპირება ანუ კროსინგოვერი. ამ მოვლენის მოლეკულური მექანიზმების კვლევისას აღმოჩნდა, რომ ქრომოსომის დნმ-ს მთელ სიგრძეზე გაბნეულია მრავალი უბანი, რომლებიც განაპირობებენ ჰომოლოგიური ქრომოსომების ურთიერთმიზიდვას. ამ უბნებს, რომელთა ზომა ~100 ნუკლეოტიდურ წყვილს აღწევს, ზიგოტენურ დნმ-ს (შემოკლებით ზ-დნმ-ს) უწოდებენ. მათი წილი მთელი დნმ-ს 0,3%-ს შეადგენს და აღნაგობით უნიკალურ თანამიმდევნობებს წარმოადგენენ. ვარაუდობენ, რომ მათი რიცხვი გენების რიცხვის ტოლია. ინტერფაზაში ზ-დნმ-ს უბნების რეპლიკაცია ჩამორჩება მოლეკულის საერთო რეპლიკაციას, ისე, რომ პირველი მეიოზური დაყოფისას (ლეპტოტენურ სტადიაზე) ზ-დნმ-ს უბნები გაორმაგებულია, მაშინ, როდესაც ქრომოსომის დანარჩენი დნმ გაორმაგებულია. ჩვეულებრივი მიტოზისას ზ-დნმ დანარჩენ დნმ-სთან ერთდროულად რეპლიცირდება.

ზ-დნმ-ს უბნები კონტაქტირებენ მოკონიუგირე ქრომოსომის მთელ სიგრძეზე. დანარჩენი დნმ ჰისტონებთან სუპერსპირალიზებული ძაფის სახით წარმოქმნიან დიდ უსწორმასწორო მარყუჟებს, რომლებიც განლაგებულია პერპენდიკულარულად ქრომოსომების ღერძის მიმართ და კარგად ჩანან პრეპარატებზე. ზიგოტენური სტადიის დასაწყისში ჩნდება განსაკუთრებული ცილა, რომელიც აცალკევებს დნმ-ს სპირალის ძაფებს და ზ-დნმ-საც. ამ დროს ჰომოლოგიური ქრომოსომების ზ-დნმ-ს კომპლემენტური ძაფები კავშირდება წყალბადური ბმებით და წარმოიქმნება ჰეტეროდუპლექსი, ე.ი. ჰიბრიდული ორმაგი სპირალი, რომლის ძაფები სხვადასხვა, მაგრამ ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს ეკუთვნის. ასეთი ჰეტეროდუპლექსები მოკონიუგირე ქრომოსომების გასწვრივ წარმოიქმნება მიყოლებით. ქრომოსომთა კონტაქტისასვე ჩნდება ე.წ. სინაპტონემალური კომპლექსი — ორი გასწვრივი ცილოვანი ჭიმი, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია განივი ცილოვანი ბოჭკოებით. ასეთი კომპლექსი ხელს უშლის მოკონიუგირე ქრომოსომების შეუქცევად შეწებებას და სტაბილირებს ჰომოლო-

გიური უბნების (გენების) განლაგებას ზუსტად ერთმანეთის პირდაპირ, რაც აუცილებელია შემდეგი კროსინგოვერისათვის. სინაპტოსომური კომპლექსით ქრომოსომების წყვილის შეეაეშირების შემდეგ ზ-დნმ იშლება, მისი ძაფები ცალკეევდება და რეპლიცირდება. რადგანაც ზ-დნმ-ს რეპლიკაცია ზიგოტენური სტადიიდან იწყება, სახელწოდებაც ამიტომ დაერქვა. იწყება მეიოზის პახიტენური სტადია. როგორც ირკვევა, პოლიტენურ ქრომოსომებშიც პომოლოგიური ქრომოსომების მიზიდულობა ზ-დნმ-ით ხორციელდება.

კროსინგოვერის მოლეკულური მექანიზმი, მიუხედავად მრავალი დაკვირვებისა, მთლიანად დადგენილი არ არის. გავრცელებული იყო ორი ურთიერთსაპირისპირო შეხედულება. პირველი ე.წ. „დახლეჩვისა და შეერთების" ჰიპოთეზის თანახმად, კროსინგოვერი ხორციელდება ერთდროულად დნმ-ს ორი საწყისი მოლეკულის ურთიერთმსგავს წერტილებში და შემდეგ ხდება წარმოქმნილი ფრაგმენტების ხელახალი შეერთება ახალებური შეპირისპირებით, ე.ი. კროსინგოვერი მიმდინარეობს დნმ-ს რეპლიკაციის გარეშე და კროსოვერული მოლეკულა წარმოქმნილია ორი მშობლიური მოლეკულის მასალისაგან. მეორე შეხედულების ე.წ. „ამორჩევითი კოპირების" თანახმად, კროსინგოვერისას საერთოდ არ ხდება უბნების გაცვლა დნმ-ს მშობლიურ მოლეკულებს შორის; მათში ჩაწერილი ინფორმაციის ნაწილობრივი გადაცემა ახალად სინთეზირებულ მოლეკულაში ხდება რეპლიკაციით ისე, რომ ძაფის ზრდის დასაწყისში მატრიცად გამოიყენება ჯერ ერთი მშობლიური ძაფის მოლეკულა, და შემდეგ სინთეზი გადაირთვება მეორე მშობლიურ ძაფზე.

ბოლო წლებში დადგენილია, რომ კროსინგოვერი ნამდვილად ხდება დნმ-ს ორი მოლეკულის ძაფებს შორის უბნების გაცვლით, თუმცა ნაწილობრივ მატრიცების შეცვლასაც ნახულობენ.

უაღრესად მნიშვნელოვანია ცნობები კროსინგოვერში მონაწილე ფერმენტების შესახებ, რაც უმეტესად მიღებულია ბაქტერიულ მუტანტებზე დაკვირვებით, რომელთაც არ გააჩნიათ ან მკვეთრად დაქვეითებული აქვთ შეჭიდული გენების

რეკომბინაციების უნარი ( rec — მუტანტები). დადგენილია, რომ კროსინგოვერისათვის აუცილებელია რიგი ფერმენტები: ენდონუკლეაზები (იწვევენ ერთძაფიან გაწყვეტებს დნმ-ს მოლეკულაში), ეკზონუკლეაზები ( აფართოებენ ამ გაწყვეტებს), დნმ-პოლიმერაზები (აკავშირებენ ნუკლეოტიდებს კომპლემენტური ძაფის შესატყვისად და აესებენ ნაპრალებს), ლიგაზები ( საბოლოოდ აერთებენ გაწყვეტილ ბოლოებს). ჩვეულებრივ, rec -მუტანტებს აკლია რომელიმე ხსენებული ფერმენტი. როგორც აღრე ავღნიშნეთ, ეს ფერმენტები თავიანთი თვისებებით იდენტურია ან ჰგავანან დნმ-ს რეპარაციაში მონაწილე ფერმენტებს.

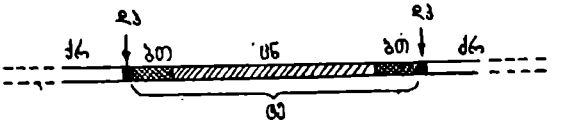
კროსინგოვერის მოლეკულური მექანიზმების შესახებ მნიშვნელოვანი ცნობებია მიღებული ნატიფ ბიოქიმიური და ელექტრონულ-მიკროსკოპული მეთოდებით. ნაჩვენებია, რომ კროსინგოვერი იწყება ერთძაფიანი გაწყვეტებით მოკონიუგირე ქრომოსომების დნმ-ს გარკვეულ უბნებში. შემდეგ გამაცალკევებელი ციალი დნმ-ს ძაფები ერთმანეთს შორდებიან, დამატებით იშლებიან ეგზონუკლეაზებით და ხდება რეპარაციული სინთეზი მატრიცის ცვლით. ამასთანავე წარმოიქმნება ჰეტეროდუპლექსები, რომლებშიც შეიძლება მოხდეს კონვერსია. საბოლოოდ ლიგაზები აერთებენ ძაფების საათანადო ბოლოებს. სავარაუდოა, რომ თავდაპირველი გადაწყვეტები ხდება დნმ-ს პაღინდრომულ უბნებში, სადაც ზოგიერთი ფუძე შეწყვიტებული არ არის.

<u>ტრანსპოზიციები</u> ქრომოსომთა განსაკუთრებული სახის გადაჯგუფებებია, რომელთა დეტალური შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ გენოტიპის ცვლილებათა ეს მნიშვნელოვანი ჯგუფი მუტაციებისა და რეკომბინაციების თანაბრად შეგვიძლია განვიხილოთ.

ტრანსპოზიცია დნმ-ს ფრაგმენტის ისეთი ჩართვაა (ინსერცია) საკუთარი ან სხვისი ქრომოსომის (გენომის) რომელიმე უბანში, რომელიც ქრომოსომის ამ უბნისათვის დამახასიათებელი არ არის, ე.ი. მოცემულ ქრომოსომას ამ ფრაგმენტის ჰომოლოგიური უბანი არ გააჩნია. ტრანსპოზიციის უნარის მქონე გენე-

ტიკური ელემენტები — ტე-ელემენტები სხვადასხვა ზომისა შეიძლება იყოს. ზოგიერთი მათგანი შეიცავს 500-დან 1500-მდე ნუკლეოტიდურ წყვილს (მაგალითად, ბაქტერიების ე.წ. ის-ელემენტები), ზოგში ამ წყვილების რაოდენობა 3000-25000 აღწევს (ბაქტერიული ტრანსპოზონები), ხოლო ზოგში ათეული ათასობითაა, როგორც, მაგალითად, დროზოფილაში, სადაც ისინი ოპტიკურ მიკროსკოპშიც ჩანან.

ტე-ელემენტები გენეტიკური აღნაგობის თავისებურებით ერთმანეთს ჰგვანან. სახელდობრ, მათი ორივე ბოლო, რომელთა სიგრძე ორი-სამი ათეულიდან 1500-მდე ნუკლეოტიდური წყვილი შეიძლება იყოს, ერთნაირი თანამიმდევნობისაგან შედგება და ყველა ტე-სათვის მუდმივია; მათ IS -ელემენტებს უწოდებენ. ბაქტერიებში ასეთი ბოლოები ყოველთვის ერთმანეთის პალინდრომულია (ა – ბ – გ – დ – ე ე- დ – გ – ბ – ა), ეუკარიოტებში კი ჩვეულებრივ პირდაპირია და ორიენტირებულია ერთნაირად (ა – ბ – გ – დ – ე ...ა – ბ- გ – დ – ე). ტე-ს ბოლო გამეორებებს შორის, ცენტრალურ ნაწილში განლაგებულია გენი ან გენები (სურ. 49 ), რომლებიც განაპირობებენ ტე-ს ადგილგადანაცვლებას. ბაქტერიულ და ზოგიერთ ეუკარიოტულ, მაგალითად საფუვრების, ტე-ებს ორივე ბოლოზე მიერთებული აქვთ რეციპიენტი ქრომოსომის ნაგ-




სურ. 49 . ტე-ს აღნაგობის სქემა: ქრ- რეციპიენტის ქრომოსომა; დპ- რეციპიენტი ქრომოსომის დუპლექსები ბთ (IS ) — ბოლო თანამიმდევნობანი; ცნ — ცენტრალური ნაწილი.

რების პატარა დუპლექსები. ისინი შეიცავენ სულ 5, 9 ან 11 ნუკლეოტიდურ წყვილს და წარმოადგენენ რეციპიენტი ქრომოსომის ტე-ს მიმდებარე ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობების პირდაპირ გამეორებებს. უეჭველია, რომ როგორც დაბოლოებანი, ისე მიმდინარე დუპლექსები დაკავშირებულია ტე-ს ინსერციასა და ექსპოზიციასთან, მაგრამ მათი კონკრეტული როლი ჯერ კიდევ უცნობია.

ტე-ს ზოგჯერ ცენტრალურ ნაწილში ემატება გენი ან გენები, რომელთაც არა აქვთ პირდაპირი დამოკიდებულება ტრანსპოზიციასთან და წატაცებულია ქრომოსომიდან ან პლაზმიდიდან. ასეთია, მაგალითად, ბაქტერიული ტრანსპოზონი T 3, რომელიც უჯრედს ანიჭებს ამპიცილინისადმი გამძლეობის უნარს. უფრო დიდ ტე-ს შეუძლია რამდენიმე გენის წატაცება და გადატანა. ცნობილია შემთხვევა, როცა ტე-ს დროზოფილას X-ქრომოსომიდან მეორე ქრომოსომაში გადაუტანია ორი მეზობელი გენი (თეთრთვალიანობისა და თვალის ფასეტების უხეში ზედაპირისა), შემდეგ გადაუწევია მეორე, შემდეგ მესამე ადგილას და ა.შ.

ტე-ს მოცილება (ექსციზია) ქრომოსომიდან, რომელშიც იგი ჩართული იყო, არ არღვევს ტე-ს მთლიანობას. ტე-ების ექციზია უფრო ხშირია, ვიდრე ტრანსპოზიცია. მაგალითად, დროზოფილაში მოხსენიებული დიდი ტე-ს ტრანსპოზიცია ხდება $2.10^{-5}$ სიხშირით, ხოლო ეკსციზია $2.10^{4}$ სიხშირით.

ქრომოსომაში ჩართული ტე იწვევს მუტაციას. იგი ირგუნავს ან სტიმულირებს მეზობელ გენებსაც, როგორც ჩანს, უმთავრესად დნმ-ს რეგულატორულ თანამიმდევნობებზე, მაგალითად, ტერმინატორისა და პრომოტორის მდგომარეობაზე ზემოქმედებით. ტრანსპოზიციის მოვლენის აღმომჩენმა ამერიკელმა მეცნიერმა ბ.მაკ-კლინტოკმა (1936 წ.) სიმინდზე აღწერა ტე, რომელსაც შეუძლია მიმდებარე სტრუქტურული გენის დათრგუნვა ან უმოქმედობა მის ტრანსკრიპციაზე. როგორც ჩანს, აღნიშნული ტე შეიცავს ორ საკუთარ პრომოტორს და ერთის ან ორიცეს პირდაპირი თუ ინტერვირებულ მდგომარეობაში ყოფნის მიხედვით განისაზღვრება სტრუქტურული გენის მოქმედების ხასიათი.

ორგანიზმში ტრანსპოზონების რიცხვი საკმაოდ დიდია. ნაწღავის ჩხირის ერთ-ერთ ქრომოსომაში ათზე მეტი ტრანსპოზონია, ხოლო ერთი დიდი გენომის ქრომოსომაში ბევრჯერ მეტი. დროზოფილის გენომში მობილური დისპერგირებული გენების ათობით და ასობით ასლია აღმოჩენილი, ბევრი ასეთი მოდრეიფე გენია ნაპოვნი საფუვრებში, თაგვებში და, როგორც ჩანს, მრავლადაა ყველა ეუკარიოტულ უჯრედში, ორგანიზმში.

საკარაუდოა, რომ ტრანსპოზიციის პროცესებს არსებითი მნიშვნელობა უნდა პქონოდა, ყოველ შემთხვევაში, ბაქტერიების ევოლუციაში, მათ შორის ისეთ სახეობებშიც, რომელთაც ჩვეულებრივი კონიუგაცია არ ახასიათებთ. ეუკარიოტებში ამ პროცესებს მეტ მნიშვნელობას მიაწერენ განვითარების პროცესში, ვიდრე ევოლუციაში. ფიქრობენ, რომ ხერხემლიანთა ბევრნაირი (ან შესაძლოა ყველა) სიმსივნის წარმომქმნელი ვირუსი მრავალმხრივ ჰგავს ტე-ბს: მათი გენომიც შეიძლება ჩაშენდეს მასპინძლის ქრომოსომაში, ინსერციის ადგილზე გამოიწვიოს გენების მუტაცია, წარიტაცონ და გადაიტანონ გენები ერთი მასპინძლიდან მეორეში, ამასთან სხვადასხვა სახეობის ფარგლებშიც (მაგალითად, ქათამი - თაგვი და სხვ.).

ყოველივე ნათქვამიდან ცხადია, რომ ტე-ბს შეიძლება მივაკუთვნოთ მრავალნაირი გენეტიკური ელემენტი. ბაქტერიების ის, ტნ, პროფაგები, ფაგი მიუ, ეუკარიოტებში - დნმ-ს სხვადასხვა ფრაგმენტები, რომელთაც ტრანსპოზიციის უნარი აქვთ, მობილური დისპერგირებული გენები საფუვრებში, დროზოფილაში, თაგვებში, დროზოფილის დელტა-ფაქტორი, ხერხემლიანთა სიმსივნის წარმომქმნელი ვირუსები და სხვ.

უეჭველია, რომ ტრანსპოზიციის პროცესები, კროსინგოვერის მსგავსად, ხორციელდება სპეციფიკური ფერმენტებით. ამასთან, როგორც ჩანს, ეს ფერმენტები განსხვავებულია, რადგან ტრანსპოზიციები ხდება ისეთ მუტანტურ შტამებშიც, რომლებსაც დარღვეული აქვთ კროსინგოვერის ფერმენტული აპარატი. აღსანიშნავია, რომ ტე-ს მუტაგენური მოქმედება მრავალმხრივ ჰგავს

ორგანიზმში შეღწეული ეგზოგენური დნმ-ის მუტაგენურ მოქმედებას: ამ სახ-ის მუტაციები ხშირად არასტაბილურია, ადვილად რევერტირდება ნორმისაგან, არ გადადის სხვა აღელურ მდგომარეობაში, რაც მათი მოქმედების მოლეკულურ მექანიზმების მსგავსებაზე მიუთითებს.

<u>დნმ-ს დაზიანებათა რეპარაცია.</u> ადრე საყოველთაოდ გავრცელებული შეხედულების საწინააღმდეგოდ, ამჟამად დადგენილია, რომ მემკვიდრეობის ქიმიური სუბსტრატი გამუდმებით ზიანდება სხვადასხვა ფაქტორების გავლენით და ამასთანავე, მიმდინარეობს ამ დაზიანებათა აღდგენა ან რეპარაცია. ასეთი მუდმივი „შეკეთებაა" მიზეზი იმისა, რომ დნმ-ს დაზიანებანი მუტაციებში არ ვლინდება. რეპარაცია ხორციელდება განსაკუთრებული ფერმენტული სისტემებით, რომელიც ჩამოყალიბებულია ევოლუციურად გენეტიკური ინფორმაციის სტაბილურობის შენარჩუნებისათვის. რეპარაციის საფუძველია ის გარემოება, რომ დნმ-ს მოლეკულაში ორი ურთიერთკომპლემენტური პოლინუკლეოტიდური ძაფია. ერთი ფაზის დაზიანებისას აღმოცენებული დეფექტის გამოსწორებას უზრუნველყოფს მეორე ძაფი, რომელზეც ხდება დაზიანებული უბნის შესატყვისი მონაკვეთის მატრიცული სინთეზი.

საფლეისოდ ცნობილია დნმ-ს დაზიანებათა რეპარაციის რამდენიმე ფორმა, რომელთაგან ყველაზე უკეთ შესწავლილია ფოტორეაქტივაცია, სიბნელით რეპარაცია და პოსტრეპლიკაციური რეპარაცია.

ფოტორეაქტივაციისას დნმ-ს რეპარაცია ხდება ხილული სინათლის გავლენით. იგი პირველად აღწერა 1949 წელს ა.კელნერმა. მან შეამჩნია, რომ სიბნელეში დასხივებული აქტინომიცეტები სინათლეზე გადატანისას უკეთ ინარჩუნებენ ცხოველმყოფელობას, ვიდრე სიბნელეში დატოვებისას. ხილული სინათლე თითქოსდა ხელს უწყობდა უჯრედთა გამოჯანმრთელებას. ასეთი ფოტორეაქტივაცია (ტერმინი ეკუთვნის მ.დელბრიუკს) შემდგომში ნანახია ბაქტერიებში, ზღვის ვარსკვლავას კვერცხებში, პარამეციუმში და სხვ.

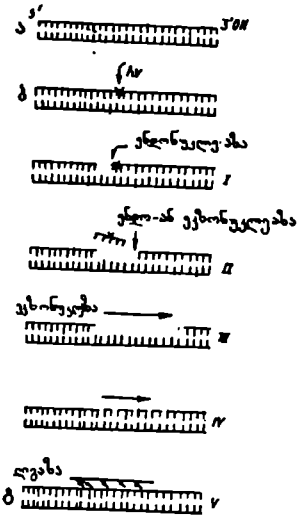
ფოტორეაქტივაციის მექანიზმების შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ დასხი-

ცებისას დნმ-ში წარმოიქმნება თიმინის დიმერები, რომლებიც, საერთოდ პირიმიდინის დიმერების მსგავსად, არღვევენ მოლეკულის მეორეულ სტრუქტურას და ამით გენების ნორმალურ ფუნქციონირებას. რაც მეტია დიმერების რაოდენობა, მით მეტია ორგანიზმის დაღუპვის აღბათობა (დადგენილია ვირუსებსა და ფაგებში). როგორც აღმოჩნდა, უი-სინათლით დასხივებულ დნმ-ს დარღვეული აქვს მატრიცობის უნარი რნმ-პოლიმერაზული რეაქციისათვის. ფოტორეაქტივაციის შედეგად დნმ-ზე თიმინის დიმერები ქრება. აღმოჩენილია ფერმენტი, რომელიც ახორციელებს მათ მოცილებას დნმ-დან. დიმერებს შორის კავშირების გაწყვეტით. გასუფთავებული ფერმენტის შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ შედგება ორი სუბერთეულისაგან, მოლეკულური მასაა 40000 დალტონი, კოფერმენტის სახით შეიცავს ვიტამინ $B_2$ -ს, არ ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკა და ა.შ.

უი-სხივებისა ზემოქმედებისას ნაწლავის ჩხირის დნმ-ში აღმოჩენილია სხვა პირიმიდინების, კერძოდ უც-სა და ცც-ს წარმოქმნაც.

სიბნელით რეპარაციისას დნმ-ს რეპარაცია არ მოითხოვს სინათლეს და სიბნელეშიც ხდება: ამ დროს აღდგება მრავალნაირი დაზიანებანი — პირიმიდინული დიმერების ან ფუძეთა შეუსაბამო წყვილების წარმოქმნა, გაწყვეტები ერთ ძაფში და სხვ., რომლებიც აღმოცენდება სპონტანურად ან სხვადასხვა ფიზიკური და ქიმიური მუტაგენების გაელენით.

სიბნელით რეპარაციის მექანიზმი შედარებით რთულია. იგი მიმდინარეობს რამდენიმე ეტაპად და რამდენიმე ფერმენტის მონაწილეობით (სურ.50 ). პირველი ფერმენტი ენდონუკლეაზა გამუღმუბით აკონტროლებს დნმ-ს მოლეკულას და დაზიანების აღმოჩენისას ჭრის მიმდებარე უბანს. მომდევნო ფერმენტი (შესაძლოა ეგზონუკლეაზა) აკეთებს მეორე ჭრილს და დაზიანებული უბანი ამოცილდება. ასეთნაირად შეიძლება ამოვარდეს რამოდენიმე ათეული ან ასეული ნუკლეოტიდის შემცველი უბნები. როგორც ჩანს, ასეთი დიდი ნაპრალი საჭიროა დნმ-პოლიმერაზის მოქმედებისათვის, რომელიც მოპირდაპირე დაუზი-




სურ. 50. სიბნელით რეპარაციის სქემა:
ა–საწყისი დნმ, ბ–დაზიანებული დნმ, გ–რეპარირებული დნმ;
I–ჩაჭრა, II–ამოგდება, III–ნაპრალის გადართვება,
IV–რეპარაციული რეპლიკაცია, V–ბოლოების მიკერება.

ანებელი ძაფის კომპლემენტურ ძაფს ჩააშენებს. ბოლოს ფერმენტი ლიგაზა საბოლოო ბოლოებს მიაკერებს სინთეზირებულ ფრაგმენტებს.

ზოგჯერ რეპლიკაციისას დნმ–ს ძაფები შეიცავენ თიმინის მოუცილებელ დიმერებს, რის გამოც შეიღუნ ძაფში მათ პირდაპირ რჩება ნაპრალები. უი–სხივების მუტაგენური ეფექტების შესწავლისას ნაჩვენებია, რომ ასეთი ნაპრალები მაღე „იკურნება". შესაძლოა ისიც ივსება დაუზიანებელი ძაფიდან მოწყვეტილი ფრაგმენტებითაც. ამიტომაც ზოგჯერ ასეთ პოსტრეპლიკაციურ

რეპარაციას რეკომბინაციურს უწოდებენ.

ცნობილია დნმ-ს დაზიანებული ნაწილების აღდგენის სხვა ფორმებიც. 1973 წელს პროკარიოტებში აღმოაჩინეს ე.წ. sos -რეპარაცია, რომლის დროსაც აღმდგენელი სისტემა მოქმედებას იწყებს დნმ-ს დაზიანების ან სინთეზის შეწყვეტისთანავე.

რეპარაციის პროცესების ბუნების შესწავლისათვის დიდი მნიშვნელობა იქონია იმ მუტანტების კვლევამ, რომლებიც დეფექტურნია რეპარაციის ფერმენტების მხრივ. ამ დროს დაზიანებულია რეპარაციის ის მექანიზმი ან ცალკეული რგოლი, რომელსაც შესაბამისი ფერმენტის დეფექტი განაპირობებს. ბაქტერიებში რეპარაცია კონტროლირდება 20-მდე გენით.

ორგანიზმთა განსხვავებული გამძლეობა ნაირგვარი მუტაგენების, კერძოდ, მაიონიზირებელი რადიაციისა და უი-სხივების მიმართ, გაპირობებულია სხვაობით შესაბამისი დნმ-ების მარეგენირებელ ფერმენტულ სისტემებს შორის. ასეთი სხვაობა არსებობს არა მარტო სახეობებს შორის, არამედ სახეობის შიგნითაც, გენეტიკურად არაერთგვაროვან ინდივიდებში.

დნმ-ს ყოველგვარი დაზიანება არ რეპარირდება. ზოგჯერ დაზიანების შედეგი რაიმე მუტაცია ან ორგანიზმის დალუპვაა. ადამიანის ერთ-ერთი მძიმე დაავადების - პიგმენტური ქსენოდერმიის დროს (იგი თანდაყოლილი დაავადებაა) კანი ზედმეტად მგრძნობიარეა მზის სხივების მიმართ და ინტენსიური ზემოქმედებისას მსხვილი პიგმენტირებული ლაქებით იფარება, რაც ზოგჯერ კანის კიბოში გადადის. დადგენილია, რომ მზის სხივების უი-სპექტრის ზემოქმედებით ქსენოდერმიული კანის უჯრედების დნმ-ში დარღვეულია რეპარაციული მექანიზმები. ადამიანში დნმ-ს რეპარაციის სისტემის მოშლას უკავშირებენ ე.წ. ფანკონის ანემიას, სიბერეს და ა.შ.

აღწერილია რნმ-ს რეპარაციის შემთხვევებიც.

როგორც ირკვევა, რეპარაციასა და გენეტიკურ რეკომბინაციებში ერთი და იგივე ფერმენტები უნდა მონაწილეობდნენ.

რეპარაციის მოვლენა გავრცელებულია ყველგან — ბაქტერიებში, მცენარეებში, ცხოველებში, ადამიანში და ცხადია, რომ დიდი მნიშვნელობა აქვს გენეტიკური ინფორმაციის სტაბილურობის პენარჩონებას, მათ შორის ნიშანთვისებათა გადაცემისას შთამომავლობაში.

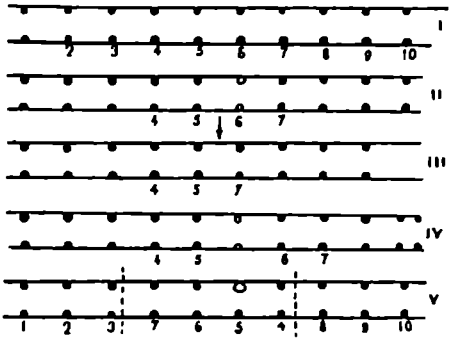
მუტაციების მოლეკულური საფუძვლები. ნუკლეინის მჟავების ფიზიკო-ქიმიური ბუნებისა და ბიოლოგიური ფუნქციის დარგში მიღწევებმა შესაძლებელი გახადა მემკვიდრული ცვლილებების — მუტაციების იმ ფორმების მოლეკულური მექანიზმების პრინციპული გარკვევაც, რომელიც დაკავშირებულია უშუალოდ მემკვიდრულობის ქიმიური სუბსტრატის ცვლილებებთან. ჯერ კიდევ ჯ. უოტსონმა და ფ. კრიკმა ივარაუდეს, რომ სპონტანური მუტაციები გაპირობებული უნდა იყოს რომელიმე აზოტოვანი ფუძის ერთი ტაუტომერული ფორმიდან მეორეში გადასვლით და ასეთი „მცდარი" ფუძის ჩართვით კომპლემენტურ პოლინუკლეოტიდურ ძაფში დნმ-ს რეპლიკაციისას. ტაუტომერიის მოვლენა საკმაოდ იშვიათია, მაგრამ ახასიათებს ყველა ბუნებრივ აზოტოვან ფუძეს და გაპირობებულია ელექტრონებისა და პროტონების გადანაწილებით დნმ-ს მოლეკულაში. ამასთან, აზოტოვან ფუძეთა ზოგიერთი ტაუტომერული მდგომარეობა ისეთია, რომ წარმოქმნიან წყალბადის კავშირებს მათ კომპლემენტურ ფუძეებთან, თუმცა შეუძლიათ „შეცდომით" სხვა ფუძეებსაც დაუკავშირდნენ. სხვანაირად, ნორმალურ მდგომარეობაში ისინი ეწყვილებიან კომპლემენტურ ფუძეებს, ხოლო ტაუტომერულ მდგომარეობაში შეწყვილება არასწორად ხდება. ამის შედეგად, რეპლიკაციისას ერთი პურინი (ან პირიმიდინი) შეიცვლება მეორეთი. ასეთმა ვარაუდმა ფართო პერსპექტივა გაშალა მუტაციების მოლეკულური მექანიზმების კვლევისათვის.

თავდაპირველად არსებული შეხედულებისაგან განსხვავებით, დნმ-ს მოლეკულები მუდმივად განიცდიან ცვლილებებს სხვადასხვა ფაქტორების გავლენით. როგორც ირკვევა, ნებისმიერი ზემოქმედება ამცირებს დნმ-ს ბიოლოგიურ აქტივობას, ამასთან, ზოგიერთი ფაქტორი იწვევს რამდენიმე სახის ცვლილებას.

დნმ-ს სტრუქტურის იმ დარღვევებიდან, რომლებიც ცვლიან მოლეკულის ბი-

ოლოგიურ აქტივობას, აღსანიშნავია: I. მოლეკულური მასის დაკლება მეორეული სტრუქტურის შენარჩუნებით. ასეთი ცვლილებები გამოიწვევა ულტრაბგერითა და ჰიდროდინამიკური ძაღლებით. ამ ძაღლების ზემოქმედება გაცღენას არ ახდენს წყალბადურ ბმებზე, მაგრამ, ამ დროს ფოსფოდიეთერული კავშირების სიმეტრიული დახლეჩვის გამო მოლეკულა ნაწეცრდება და მასაც შესაბამისად კლებულობს. 2. დნმ-ს პირველადი სტრუქტურის დარღვევა. ამ დროს პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვში ხდება ერთჯერადი გაწყვეტები, რაც გამოიწვევა დნმ-აზის ან მაიონიზირებელი სხივების ზემოქმედებით. 3. დნმ-ს მეორეული სტრუქტურის დარღვევა. იგი შეიძლება მოხდეს ბევრნაირი ფაქტორის, განსაკუთრებით ტემპერატურის, ზემოქმედებით, რასაც მოსდევს მოლეკულის დენატურაცია და სხვ. 4.დნმ-ს შიგამოლეკულური დარღვევები — აზოტოვან ფუძეთა დეპურინიზაცია და მოლეკულათაშორისი დაკავშირებანი. ასეთ დარღვევებს იწვევს ტემპერატურა, ულტრაიისფერი სხივები, აზოტოვანი მჟავა და სხვა მუტაგენები. 5. აზოტოვან ფუძეთა ცვლილებანი. ამ ტიპის ცვლილებებს მიეკუთვნება ერთი ფუძის, პურინისა თუ პირიმიდინის, შეცვლა მეორეთი, ფუძის ამოვარდნა — დეფეცია, ან ახალი ფუძის ჩამატება — ინვერსია (სურ.5I ). ეს ყოველივე შეიძლება მოხდეს როგორც სპონტანურად, ისე ნაირგვარი მუტაგენების მოქმედებით. თავის მხრივ ერთი ფუძის შენაცვლება მეორეთი შეიძლება იყოს მარტივი ან ჯვარედინი. მარტივი შენაცვლების ანუ ტრანზიციებისას ერთი პურინი შეიძლება შეიცვალოს მეორე პურინით, ან ერთი პირიმიდინი მეორე პირიმიდინით; ორძაფიან დნმ-ში ა-თ წყვილები შეიძლება შეიცვალოს გ-ც წყვილებით და პირიქით. ეს პროცესი ხდება დნმ-ს რეპლიკაციისას მოლეკულაში პურინ-პირიმიდინის ორიენტაციის ცვლილებების გარეშე.

ჯვარედინი შენაცვლების ანუ ტრანსვერსირებისას პურინი იცვლება პირიმიდინით და პირიქით. ამასთან, შეცვლილი პირიმიდინი ეწყვილება პურინს ისე, რომ ორძაფიან მოლეკულაში ჩნდება პირიმიდინ-პურინის წყვილი პურინ-პირიმიდინის მაგიერ. საბოლოოდ ტრანსვერსიას მივყევართ პურინ-პირიმიდი-




სურ. 51 აზოტოვანი ფუძეების წყვილთა ცვლილებების ტიპები. შავი რგოლები – თავდაპირველი დნმ-სათვის დამახასიათებელი ფუძეები; ნათელი რგოლები – ახალი ფუძეები. I.– თავდაპირველი დნმ; II – ფუძის შეცვლა; III – დელეცია; IV –ახალი ფუძის ჩამატება; V – ინვერსია.

ნის წყვილების ახლებურ ორიენტაციამდე: ა–თ წყვილი შეიცვლება გ–ც წყვილით და პირიქით; წყვილები თ–ა შეიცვლება გ–ც წყვილით და პირიქით; ა–თ წყვილით შეიცვლება თ–ა წყვილი და პირიქით. ასევე გ–ც წყვილები შეიცვლება ც–გ–ით და პირიქით.

ფუძეთა შეცვლის აღწერილი ტიპები დადგენილია მოსვენებულ ან რეპარაციის მდგომარეობაში მყოფ დნმ–ებზე მუტაგენების ზემოქმედებით მიღებული ექსპერიმენტული შედეგების მიხედვით.

გამოყოფილ დნმ–ზე მომქმედ მუტაგენთაგან აღსანიშნავია აზოტოვანი მჟავა, რომელიც იწვევს ადენინის, გუანინისა და ციტოზინის დეზამინირებას, რის შედეგადაც შესაბამისად წარმოიშობა ჰიპოქსანტინი, ქსანტინი და ურაცილი. ცინაიდან დეზამინირებას თან ახლავს ამინოფუძეების გადასვლა

კეტოდუძეებში, პიპოქსანტინი, მაგალითად, შეეწყვიტება ციტოზინს, ე.ი. ა-თ წყვილი გადავა გ-ც წყვილში; მსგავსად ამისა, გ-ც წყვილი გადავა ა-თ წყვილში.

გამოყოფილ დნმ-ში ცვლილებებს იწვევს აგრეთვე პიდროქსილამინი, რომელიც დეზამინირებს ციტოზინს და ინდუცირებს ტრანზიციას გ-ც-დან ა-თ-საკენ. ტრანზიციას იწვევს აგრეთვე მამეთილიზირებელი და მაეთილიზირებელი ნაერთები, კერძოდ, მეთილმეთანსულფატი და ეთილმეთანსულფატი.

ტრანზიციების გამომწვევ ქიმიურ ნაერთთაგან, რომლებიც რეპლიკაციის მდგომარეობაში მყოფ დნმ-ზე მოქმედებენ, ყველაზე კარგადაა შესწავლილი აზოტოვან ფუძეთა ანალოგები, განსაკუთრებით $5^{I}$-ბრომურაციდი-თიმინის სტრუქტურული ანალოგი. ასეთი ანალოგები მუტაციებს ინდუცირებენ იმით, რომ განაპირობებენ ფუძეთა არასწორ შეწყვილებებს.

აზოტოვანი მჟავა, პიდროქსილამინი, მააღკილირებელი ნაერთები და აზოტოვანი ფუძეთა ანალოგები ინდუცირებენ პურინ-პირინისა და პირიმიდინ-პირიმიდინის შენაცვლებებს. დნმ-ს ნორმალური რეპლიკაციის დეფექტები ტრანზიციებისა და ტრანსვერსიების საფუძველია.

დნმ-ს მოლეკულაში აზოტოვანი ფუძეების ჩამატებისა და დელეციისათვის ეფექტური ნაერთია პროფლავინი, რომელიც მოქმედებს სპეციფიკურ საიტებზე. ფუძეთა ჩამატებას ან დელეციას ახორციელებენ აგრეთვე აკრიდინით, რომლის ეფექტი დამოკიდებულია საღებავის ზემოქმედების ადგილსა და ხანგრძლივობაზე. როგორც ჩანს, მუტაციებს, აზოტოვან ფუძეებთან დაკავშირებული ცვლილებების გარდა, განაპირობებენ უზუსტობანი დნმ-პოლიმერაზის მოქმედებაში. ამასთან, ის ცვლილებანი, რომლებიც გენურ მუტაციებს იწვევენ, არსებითად განსხვავდებიან ქრომოსომების ცვლილებებით გამოწვეული მუტაციებისაგან.

## თ ა ვ ი XIII

## გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი ინ ჟ ი ნ ე რ ი ა

ზოგადი ცნობები. მემკვიდრეობის მატერიალური სუბსტრატის ფიზიკო-ქიმიური ბუნებისა და ფუნქციონირების მოლეკულური მექანიზმების გარკვევამ შესაძლებელი გახადა მათზე ნაირგვარი მანიპულაციების ჩატარება ხელოვნურად და გენეტიკური სტრუქტურების ახლებურად კონსტრუირება, მათში ახალი მემკვიდრეობის ერთეულების შეტანა, რაც ახალი დარგის— გენეტიკური ინჟინერიის საგანს შეადგენს. სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, გენეტიკური ინჟენერია გამოყენებითი მოლეკულური და უჯრედული გენეტიკაა, რომელიც იძლევა ორგანიზმთა მემკვიდრეული სუბსტრატების— გენომების ხელოვნურად გადაკეთების ხერხებს წინასწარ მიზანდასახული გეგმის მიხედვით. გენეტიკური ინჟენერია არ მოიცავს ახლებური გენომების მიღებას ჩვეულებრივი გენეტიკური მეთოდებით— ხელოვნურად გამოწვეულ მუტაციებს, რეკომბინაციებს შეჯვარების გზით და ა.შ.

გენეტიკური ინჟენერიის განხორციელებაში გამოირჩევა შემდეგი ეტაპები: გენების ხელოვნური სინთეზი; ცალკეული გენების ან გენეტიკური სტრუქტურების (ქრომოსომის ნაწილები ან მთლიანად ქრომოსომები, უჯრედის ბირთვები ან გენეტიკური ინფორმაციის შემცველი სხვა ორგანელები— მიტოქონდრიები, ქლოროპლასტები) გამოყოფა უჯრედიდან; გამოყოფილი სტრუქტურების ხელოვნურად მიერთება —„ჩაკერება" გადამტან ანუ ვექტორულ მოლეკულაში; მიღებული რეკომბინანტული მოლეკულების მრავალი ასლის მიღება— გამრავლება (კლონირება); მათი შეტანა და ჩართვა რეციპიენტი უჯრედის გენომში; სხვადასხვა გენომების გაერთიანება ერთ უჯრედში.

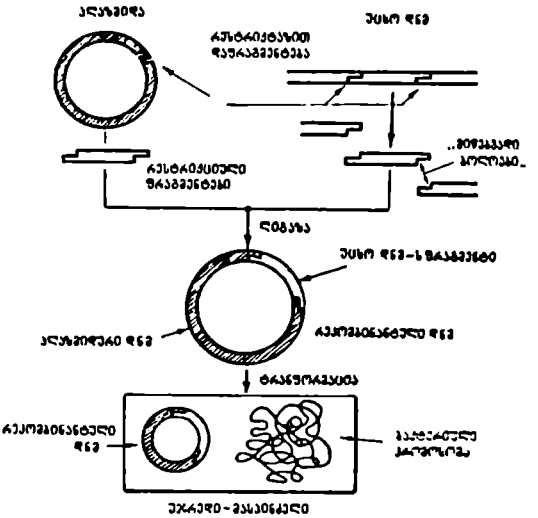
ყოველი ზემოხსენებული ეტაპი თავის მხრივ მოიცავს მრავალ სტადიას. მათგან ყველაზე მნიშვნელოვანია დნმ-ს ფრაგმენტების— ცალკეული გენების ან გენების ჯგუფის გენეტიკური ინფორმაციის გაშიფრვა— იდენტიფიკაცია. გენების (დნმ-ს ფრაგმენტების) ჩაკერებისას მთავარია ისეთი გადამტანის

— ვექტორის შერჩევა, რომელიც უზრუნველყოფს რეკომბინანტული დნმ-ების შეყვანას უჯრედში და კლონირებას დიდი გამოსავლით. ვექტორებად ძირითადად გამოიყენება ბაქტერიულ უჯრედებში არსებული, ქრომოსომიდან დამოუკიდებელი მემკვიდრული ელემენტები— პლაზმიდები. პლაზმიდებს ძირითადად გამოყოფენ ნაწლავის ჩხირიდან, თუმცა საამისოდ გამოიყენება სხვა მიკროორგანიზმებიც, კერძოდ, **Pseudomonas**, **Actinomyces** და სხვ. ვექტორებად იყენებენ ვირუსებსაც.

მემკვიდრულ სუბსტრატზე მოლეკულური მანიპულაციებისას მთავარი აღმოჩნდა ორი ტიპის ფერმენტი: რესტრიქციული ენდონუკლეაზები ანუ რესტრიქტაზები და ლიგაზები. როგორც ადრეც აღვნიშნავდით, რესტრიქტაზები დნმ-ს მოლეკულას ჭრიან ზუსტად გარკვეულ ადგილებზე ცალკეულ ფრაგმენტებად, ხოლო ლიგაზებით შეიძლება ნებისმიერი ასეთი ფრაგმენტების ხელახალი შეერთება— „მიკერება“ დნმ-ს დაჭრილი ფრაგმენტების გაცალკევება ხდება გელში ელექტროფორეზით. ვექტორ-პლაზმიდაში ჩაკერებული ახალი ფრაგმენტი— გენი გამოიცნობა ამ უკანასკნელის მოქმედების გამომჟღავნებისას ანუ ექსპრესიის მიხედვით რეციპიენტ უჯრედში. თუ, მაგალითად, ვექტორს მივუერთეთ რომელიმე ანტიბიოტიკის (ამპიცილინის, სტრეპტომიცინის, ქლორამფენიკოლისა და ა.შ.) გამძლეობის გენი, მაშინ რეციპიენტი უჯრედი მასში რეკომბინანტული პლაზმიდის შეღწევის შემთხვევაში კარგად მრავლდება ამ ანტიბიოტიკების შემცველ არეზეც. ის უჯრედები ან კლონები, რომლებმაც გამძლეობა შეიძინეს, ამოირჩევიან შემდგომი გამრავლებისათვის.

მე-52 სურ-ზე გამოსახულია რეკომბინანტული დნმ-ს მიღებისა და რეციპიენტ უჯრედში მისი შეტანის მსვლელობის ზოგადი სქემა, რაც გენური ინჟინერიის პრინციპულ შინაარს შეადგენს.

გენეტიკური ინჟინერიის დასაწყისად თვლიან პ. ბერგისა და თანამშრომლების ცდებს, რომლებმაც 1972 წელს პირველად მიიღეს რეკომბინანტული დნმ: მათ გააერთიანეს SV -40-ვირუსისა და ბაქტერიოფაგ **p dvgal**-ის ფრაგმენტები ნა-



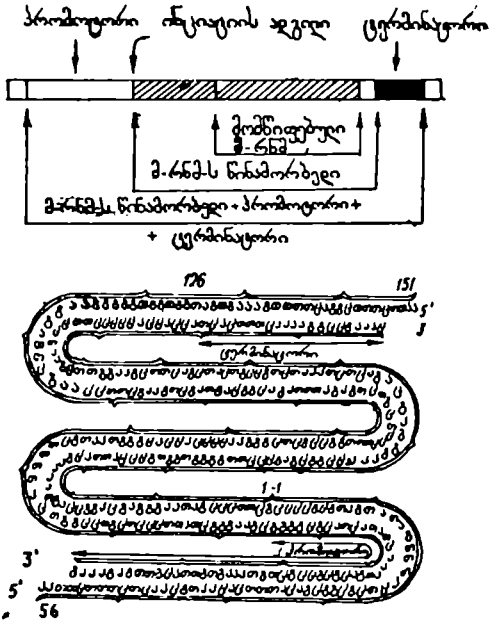

სურ.52 . რეკომბინანტული დნმ-ს მიღებისა და რეციპიენტ უჯრედში მისი შეტანის პროცედურის ზოგადი სქემა.

წლავის ჩხირის გაღაქტოზის ოპერონთან.ანალოგიური ცდები შემდგომში მაღე განხორციელდა სხვა წარმოშობის მემკვიდრულ ერთეულებზეც.ამ მიმართულებით ჩატარებული უამრავი ექსპერიმენტის მსვლელობისას გამოვლინდა ახალი ცნებები გენომის ნატიფი სტრუქტურის ,გენებისა და ქრომოსომების რეპლიკაციის, ქრომოსომთა ცვლილებების,გენის ფუნქციონირების მექანიზმების შესახებ,რაც უაღრესად მნიშვნელოვანია როგორც შემეცნებითი,ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით,ამასთანავე მრავალმხრივი პერსპექტივით.

როგორც აღვნიშნეთ, გენეტიკური ინჟინერიის განხორციელება ხდება ერთმანეთის თანამიმდევნო ეტაპებად.ამ მხრივ გენებთან (დნმ-ს ფრაგმენტებთან) მანიპულაციისას პირველი საფეხურია რეკომბინანტული დნმ-ს მოლეკულის მიღე-

ბა.ამისათვის საჭიროა ხელთ გვქონდეს ჩვენთვის საინტერესო ფრაგმენტი—გენი,რომელიც გამიზნულია სათანადო ვექტორში ჩასაკერებლად და მასპინძელ უჯრედში შეტანისათვის როგორც უცხო მემკვიდრეული ერთეული.ასეთი ფრაგმენტი-გენები შეგვიძლია მივიღოთ სინთეზურად ან გამოვყოთ სხვა გენომიდან.

გენების ხელოვნური სინთეზი. გენების ხელოვნური სინთეზი შეიძლება ორნაირად: ქიმიურად და ბიოქიმიურად,ანუ ფერმენტულად.გენის ქიმიური სინთეზი პირველად განახორციელა ამერიკაში მომუშავე ინდოელმა მეცნიერმა ხ.კორანამ 1960-68 წლებში.მან ქიმიური ხერხებით სათანადო თანმიმდევრობით ერთმანეთს მიუკავშირა 77 ნუკლეოტიდური წყვილი და შექმნა დნმ-ს ფრაგმენტი—გენი,რომელიც შეესატყვისებოდა აღანინის ტ-რნმ-ს.თავდაპირველად სინთეზირებული იყო 8—12 ნუკლეოტიდური წყვილისაგან შემდგარი მონაკვეთები,რომლებიც ერთმანეთს მიუერთეს პოლინუკლეოტიდიგაზით.თუმცა ასეთ ხელოვნურ გენს არ გააჩნდა ფუნქციური აქტივობა,ე.ი. არ ტრანსკრიბირდებოდა,მაგრამ მისი შექმნით დაისახა პრინციპულად სრულიად ახალი გზა და შესაძლებლობანი მემკვიდრეულ ფაქტორებზე მანიპულაციების დარგში.რამდენიმე წლის შემდეგ ხ.კორანამ და თანამშრომლებმა მიიღეს ტიროზინის სუპრესორული ტ-რნმ-ს გენი, რომელიც ნორმალურად ფუნქციონირებდა ნაწლავის ჩხირის უჯრედში.ამ გენის სტრუქტურული ნაწილი შედგება 126 ნუკლეოტიდური წყვილისაგან.პირველი ცდებისაგან განსხვავებით,ამ უბანს სათანადო ბოლოებზე მიაშენეს პრომოტორი (52 ნუკლეოტიდური წყვილი) და ტერმინატორი (21 ნუკლეოტიდური წყვილი),აგრეთვე ტეტრანუკლეოტიდური ბოლოები— ააგთ და თთაა (სურ. 53).მოლიანად ფრაგმენტი ჩააშენეს მუტანტურ ფაგ T4-ში,რომლის გენომის ტრანსკრიპტი მ-რნმ ნორმალური,ტიროზინის ტ-რნმ-ს შესატყვისი კოდონის —უაც-ს ნაცვლად, შეიცავს ნონსენს-კოდონს —უაგ-ს.ეს კოდონი წარმოადგენს სტოპ-სიგნალს (იხ. გვ.120 ),რომელიც აჩერებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ზრდას და რის გამოც ფაგი ვეღარ მრავლდება ნაწლავის ჩხირის ნორმალურ უჯრედებში.სუპრესორული ტ-რნმ,რომლის ანტიკოდონია აუც,ჩვეულებრივი ტიროზინული ტ-რნმ-ს მსგავსად,




სურ. 53 .ხ.კორანას მიერ ქიმიურად სინთეზირებული ტიროზინის ტ-რნმ-ს გენი.ციფრები გამოსახავენ ნუკლეოტიდების ნომერაციას; I- 50-მდე- პრომოტორი; I— I25-მდე— სტრუქტურული ნაწილი; I27— I46-მდე—ტერმინატორი; ბოლოებზე— ااااا და ااااا ტეტრანუკლეოტიდები.

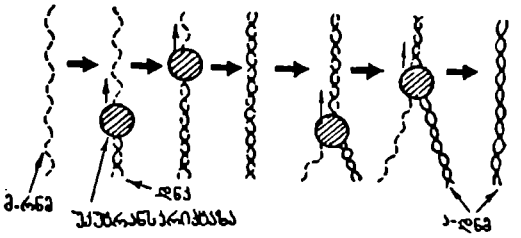
იკავშირებს ტირზინს: და მიაქვს რიბოსომებთან, მაგრამ რადგანაც მისი ანტიკოდონი აუც არაა კომპლემენტური ტირზინის კოდონების —უაც-სა და უაუ-ს მიმართ, უკავშირდება ნონსენს-კოდონს— უაგ-ს. შედეგად ხდება T4 ფაგის ნონსენს-მუტაციის დათრგუნვა (სუპრესია) და ფაგი იძენს გამრავლების უნარს ნორმალური ბაქტერიის უჯრედში. ზუსტად ასეთი სურათი იქნა ნახული ფაგის გენომში ხელოვნურად სინთეზირებული სუპრესორული ტ-რნმ-ს გენის (ე.ი. დნმ-ს

საფანადო ფრაგმენტის) ჩაშენების შემდეგ.

ქიმიური გზითაც იქნა სინთეზირებული ნაწლავის ჩხირის ლაქტოზის ოპერონიც.სინთეზირებული ოპერონის უბანი ჩააშენეს პლაზმიდაში,რომელიც წარმოადგენს ვექტორს და აქვს უნარი ჩაშენებული ფრაგმენტიანად შეიჭრას ბაქტერიის უჯრედში.რამდენიმე ასეთი პლაზმიდის შეტანისას უჯრედში,რომელშიც ლაქტოზის ოპერონი ბლოკირებულია ბაქტერიაშივე გამომუშავებული რეპრესორით, ნანახი იქნა,რომ ბაქტერიები იწყებენ ლაქტოზის ათვისებას,ე.ი.მაგაში გამომუშავდება საფანადო ფერმენტი.ეს იმიტომ ხდება,რომ ბაქტერიაში გამომუშავებული რეპრესორის რაოდენობა აღარ კმარა ყველა ოპერატორის დასაფარგუნად და შედეგად ოპერონი დერეპრესირდება,მისი სტრუქტურული უბნები იწყებენ მოქმედებას.

ხსენებული უაღრესად დიდი მნიშვნელობის შედეგი მიღწეულია შედარებით მცირე ზომის გენებზე ცდებისას.დიდი გენების სინთეზი,რომლებიც ათასობით ნუკლეოტიდს შეიცავენ,ქიმიური გზით მეტისმეტად ძნელია ან პრაქტიკულად შეუძლებელიც.ასეთი გენების სინთეზი შესაძლებელი გახდა ბიოლოგიური ხერხით — ფერმენტულად მას შემდეგ,რაც ონკოგენურ ვირუსებში აღმოჩენილი იქნა უკუტრანსკრიპციის მოვლენა,ანუ რნმ-ს მატრიცაზე დნმ-ს სინთეზი (იხ.გვ.61—62).როგორც ამ პროცესის შესწავლის შედეგად აღმოჩნდა,მისი განმახორციელებელი ფერმენტი უკუტრანსკრიპტაზა ანუ რევერტაზა კატალიზირებს დნმ-ს სინთეზს არამარტო ონკოგენური ვირუსების რნმ-ს მატრიცაზე,არამედ სხვა,მათ შორის სინთეზურ პოლინუკლეოტიდებზეც.რეაქციისათვის საჭიროა ოთხივე სახის დ-ტფ,მაგნიუმის იონები და რნმ-მატრიცა.ამასთანავე,რეაქცია დაწყებისათვის საჭიროებს აგრეთვე პრაიმერს,რისთვისაც in vitro ცდებში იყენებენ თიმინის 8—10 გამეორებებისაგან შემდგარ მცირე ფრაგმენტებს. ვირუსების გენების სინთეზისას პრაიმერად ვარგისი აღმოჩნდა ზოგიერთი სახის ტ-რნმ. საერთოდ,მთელი რეაქცია შემდეგნაირად მიმდინარეობს:თავდაპირველად რნმ-ს მატრიცაზე სინთეზირდება დნმ-ს ერთი ძაფი.შემდეგ ამ დუპლექსზე იგივე ფე-

რმენტით სინთეზირდება დნმ-ს მეორე ძაფი ისე,რომ რნმ-ს ძაფი სცილდება (იშ-ლება)ტუტით ან სპეციალური რნმ-აზით.მიღებულ დნმ-ს,რომელიც მატრიცად გამოყენებული რნმ-ს კომპლემენტურია,ასლ-დნმ-ს (ა-დნმ) უწოდებენ .იგი იმ სტრუქტურული გენის ასლია,რომლიდანაც მიღებული (ტრანსკრიბირებული) იყო რეაქციაში მატრიცად გამოყენებული მ-რნმ. სურ.54-ზე გამოსახულია რევერტაზით გენის ფერმენტული სინთეზის სქემა.ზემოაღწერილი ხერხით ბევრი ქვეყ-




სურ.54.რევერტაზით გენის ფერმენტული სინთეზის სქემა.წყვეტილი ხაზი— მ-რნმ,უწყვეტი ხაზი— დნმ.

ნის,მათ შორის საბჭოთა კავშირის,სხვადასხვა ლაბორატორიებში ჯერ სინთეზირებულია მრავალი გენი,რომელთა შორის აღსანიშნავია ადამიანის,კურდღლის,თაგვის,იხვის,მტრედის გლობინის,თაგვის იმუნოგლობულინის,ხარის თვალის ბროლის ცილის,ბრადიკარდინის,ნეიროპეპტიდ ენკეფალინის,ანგიოტენზინის (მცირე ზომის ცილაა,შეიცავს სულ 10 ამინომჟავას,ეფექტურია სისხლის წნევის აწევისათვის),ინსულინის მაკოდირებელი გენები,ოსპოვაქცინის ვირუსის,სხვადასხვა ფაგის ზოგიერთი გენი.

შემდგომში,ამასთანავე,დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობის ამოცანაა არა მარტო სტრუქტურული გენების,არამედ მათი ნორმალური ფუნქციონირებისადვის სა-

---

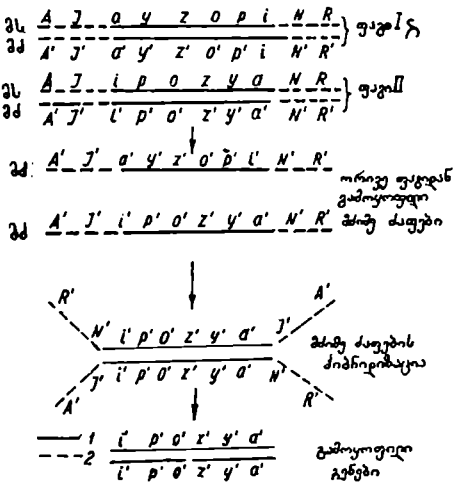
* რუს. ДНК-копья (к-ДНК); ინგლ. copy DNA (cDNA).

ბირო რეგულატორული ელემენტების სინთეზი. როგორც ჩანს, ამის მიღწევა შეიძლება ა-დნმ-ების მიღებით არა მ-რნმ-დან, არამედ პრო-მ-რნმ-დან. ამჟამად სწორედ ამ მხრივ მიმდინარეობს კვლევა-ძიება და მოპოვებული თვალსაჩინო წარმატებებიც. აღსანიშნავია, რომ ფერმენტული სინთეზის გზით უკვე შექმნილია ვირუსის ფუნქციურად სრულყოფილი გენომი. გენების ხელოვნურად სინთეზის მნიშვნელობა და პერსპექტივები უაღრესად დიდია.

გენების გამოყოფა და მათი ჩართვა („ჩაკერება") ვექტორში. ქიმიური გზით ჯერჯერობით ხერხდება შედარებით პატარა გენების სინთეზი, ხოლო უკუტრანსკრიპციით უმეტესწილად ხორციელდება მხოლოდ გენების სტრუქტურული ნაწილის სინთეზი, მისი ფუნქციონირებისათვის საჭირო რეგულატორული ელემენტების გარეშე. ეს გარემოება, ბუნებრივია, ზღუდავს ხელოვნურად სინთეზირებული გენების გამოყენებას სხვა უჯრედში შესასტანად ახლებური ცოცხალი სისტემების მიღების მიზნით. საამისოდ გამოიყენება ბუნებრივი გენები, რომლებსაც გენომიდან გამოყოფენ სხვადასხვა ხერხებით.

პირველად გენები გამოყვეს 1969 წელს ნაწლავის ჩხირის სპეციალური შტამიდან ამერიკელი მკვლევარის ჯ. ბეკვიტსის ლაბორატორიაში (ჰარვარდის სამედიცინო სკოლა). საამისოდ გამოიყენეს ორი ტრანსდუქციული ფაგი-1 და ფი-80, რომლებსაც ბაქტერიის უჯრედში გამრავლებისას შეუძლიათ წარიტაცონ და თავიანთ გენომში ჩართონ ლაქტოზის ოპერონი რეგულატორულ უბანთან ერთად. ამასთან, მნიშვნელოვანია ის გარემოება, რომ თუ ერთი ფაგი წატაცებული მონაკვეთს ირთავს a, y, z (სტრუქტურული გენები), O (ოპერატორი), p (პრომოტორი), i (რეგულატორი) მდგომარეობაში, მეორე ფაგში ჩართული ეს ნაწილები საპირისპირდა ( i, p, o, z, y, a ) განლაგებული. მკვლევარები საკუთრივ ფაგის გენებს აცილებდნენ დენატურაციით და ცეზიუმის ქლორიდის გრადიენტში ცენტრიფუგირებით აცალკევებდნენ მძიმე (გ-ც) ძაფებს მსუბუქი (ა-ი) ძაფებისაგან. მძიმე ძაფების ჰიბრიდიზაციით კომპლემენტური უბნებიდან მიიღებოდა ორძაფიანი მონაკვეთი, ხოლო დნმ-ს დანარჩენ მარჯვნივ და მარცხნივ მიმდება-

რე შეუწყვიტებელ ძაფებს შეიდნენ დნმ-აზით. შედეგად რჩებოდა მხოლოდ ლაქტოზის ოპერონის შემცველი უბანი, ე.ი. ლაქტოზის ოპერონი თავისი გენი-რეგულატორით (სურ.55 ).




სურ.55 .ნაწლავის ჩხირის ლაქტოზის ოპერონის გამოყოფის სქემა; მს— დნმ-ს მსუბუქი ძაფი, მძ— დნმ-ს მძიმე ძაფი; I— ბაქტერიის დნმ, 2— ფაგის დნმ.

ამ მიღწევის შედეგად პრინციპულად გადაწყდა ინდივიდური გენების მიღების შესაძლებლობა, თუმცა იგი სპეციფიკურია და გამოსადეგია მხოლოდ კონკრეტული შემთხვევისათვის. სხვა გენების გამოყოფას საფუძვლად დაედო დნმ-ს გ-ც წყვიტებით მდიდარი მონაკვეთების გამოცალკევების შესაძლებლობა გრადიენტული ცენტრიფუგირებით. ასე განხორციელდა, მაგალითად, ტ-რნმ-ს, რ-რნმ-ს, ჰისტონებისა და სხვა გენების გამოყოფა, რომლებიც დიდი რაოდენობით შეიცავენ გ-ც წყვილებს და მკვეთრად გამოირჩევიან სატივტრეე სიმკვრივით.

არსებობს გენების გამოყოფის სხვა მეთოდებიც, რომელთა მიზანია გამოყო-

ფილი გენების ჩართვა შესაბამის ვექტორში— სტრუქტურაში, რომელსაც შეუძლია ჩართული გენის გადატანა სხვა უჯრედში (ტრანსგენეზი) და გამრავლება. ყველაზე გავრცელებული ხერხია დნმ-ს ფრაგმენტაცია და მასში სასურველი თანამომდევნობების პოვნა. ფრაგმენტაციას ახდენენ უმეტესწილად სპეციფიკური ენდონუკლეაზებით— რესტრიქტაზებით, რომლებიც, როგორც ვიცით, დნმ-ს მოლეკულას ჭრიან ზუსტად მოცემული რესტრიქტაზის შესატყვის ნუკლეოტიდურ თანამომდევნობებთან. ამასთან, ზოგიერთი რესტრიქტაზის მიერ გადაჭრილი დნმ-ს ძაფების ბოლოები მიწებვადია— ადვილად უერთდებიან სხვა ბოლოებს. მაგალითად, რესტრიქტაზა EcoRI დნმ-ს ძაფს ჭრის ადენინსა და გუანინს შორის, რომლებიც განლაგებულნია თანამომდევნობებში გ↓აათ ან თთაა↓გ. შედეგად მიიღება მიწებვადი კომპლემენტური ბოლოები ა-ა და თ-თ. აღნიშნული რესტრიქტაზით სხვადასხვა დნმ-ების დამუშავების შედეგად ვღებულობთ სტრუქტურებს, რომლებშაც აქვთ მიწებვადი და ურთიერთკომპლემენტური ა და თ ბოლოები და შეუძლიათ ურთიერთობა დაამყარონ წყალბადური ბმებით. ასეთ ძაფში დარჩენილი წყვეტილები შეიძლება ამოივსოს ლიგაზით, რომელიც აღადგენს ფოსფოდიეთერულ კავშირებს ფრაგმენტების ბოლოებს შორის. ამჟამად ცნობილია რამდენიმე ასეული სპეციფიკური რესტრიქტაზა.

მიწებვადი ბოლოების მქონე ფრაგმენტებს ღებულობენ სხვა ხერხითაც. სახელდობრ, დნმ-ს ამა თუ იმ მეთოდით გამოყოფილ ან სინთეზირებულ ფრაგმენტებს ამუშავებენ ენდონუკლეაზით, რომელიც ორივე ბოლოდან ამოკლებს მონაკვეთს. შემდეგ პოლინუკლეოტიდტრანსფერაზით ერთ ბოლოზე მიუერთებენ ადენილის, ხოლო მეორე ბოლოზე თიმიდილის ნუკლეოტიდურ ნარჩენებს (50—100 ნუკლეოტიდი), რომლებიც ამ ბოლოებს ძლენს მიწებვადობის თვისებას. შედეგად ხდება ორი სხვადასხვა დნმ-ს ფრაგმენტის ჰიბრიდული სტრუქტურების წარმოქმნა. მიწებვადი ბოლოების არსებობა აუცილებელია ფრაგმენტის (გენის) ჩაკერებისათვის ვექტორულ მოლეკულაში.

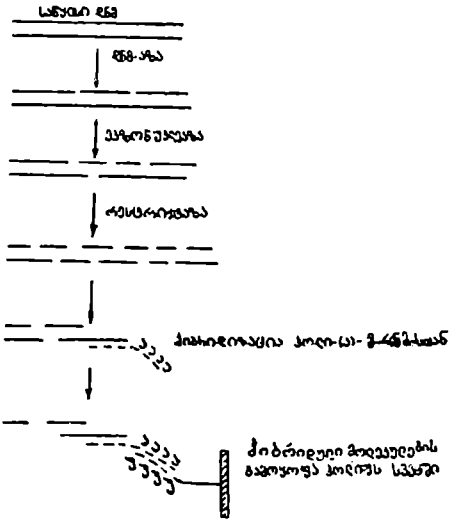
გენების გამოყოფის ყველაზე გავრცელებული ხერხია ე.წ. „საფანტიანი თო-

ფის" (ინგლ. shot gun )მეთოდი,რაც მდგომარეობს იმაში,რომ დნმ-ს აფრაგ-
მენტებენ მექანიკურად ან რესტრიქტაზებით.მიღებულ მრავალრიცხოვან ფრაგმ-
ენტს ჰიბრიდიზაციისათვის ამყოფებენ ვექტორული დნმ-ს მოლეკულებთან,რომლე-
ბიც წინასწარ დამუშავებულია რესტრიქტაზით ,ხაზობრივ მდგომარეობაში გადა-
ყვანისა და მიწებვადი ბოლოების წარმოქმნის მიზნით.მიღებული ჰიბრიდული
მოლეკულები— ვექტორები მიერთებული („ჩაკერებული") დნმ-ს ფრაგმენტებით
—.შეჰყავთ ნაწლავის ჩხირის უჯრედებში.გარკვეული ხნით ინკუბაციის შემდეგ
მთელს კულტურაში ეძებენ ისეთ კოლონიებს ბაქტერიებისას,რომლებშიც შეიჭრა
დნმ-ს ის ფრაგმენტი,რომელიც ჩვენთვის საჭირო გენს წარმოადგენს.პრაქტი-
კულად ეს სხვადასხვანაირად ხორციელდება.მაგალითად,თუ ჩვენთვის საინტერე-
სო გენი განაპირობებს ბაქტერიის უჯრედის გამძლეობას რომელიმე ანტიბიოტი-
კისადმი,მაშინ ვექტორის მიერ ამ გენის (ე.ი. დნმ-ს ჩაკერებული ფრაგმენ-
ტის) შეღწევის შემთხვევაში ბაქტერიის უჯრედი ნორმალურად მრავლდება მო-
ცემული ანტიბიოტიკის შემცველ არეში.ამ დროს ხდება უჯრედში შეტანილი რე-
კომბინანტული მოლეკულების გამრავლებაც (ამპლიფიკაცია).

ისეთი ინდივიდური გენების მიღება,რომელთაც გააჩნიათ რეგულატორული ლო-
კუსები,შეიძლება ინდივიდური მ-რნმ-ს ჰიბრიდიზაციით ტოტალური დნმ-ს დე-
ნატურირებულ ფრაგმენტებთან.მ-რნმ-ს ნაცვლად შეიძლება ა-დნმ-ს გამოყენე-
ბაც.ასეთი ცდები განხორციელებულია მტრედის გლობინისა და ქათმის ოვალბუ-
მინის გენებზე.

ინდივიდური მ-რნმ-ს საშუალებით შესაბამისი გენის გამოყოფა შემდეგნა-
ირად ხორციელდება (სურ.56 ). მექანიკურად ან ფერმენტულად დაფრაგმენტე-
ბულ დნმ-ს ურევენ იმ გენის მ-რნმ-ს,რომლის გამოყოფაც სურთ.გამომდინარე
კომპლემენტარობის პრინციპიდან,მ-რნმ-ს მოლეკულას უკავშირდება დნმ-ს მხო-
ლოდ მის შესატყვის უბანს— გენს.მ-რნმ-ს მოლეკულას ბოლოში აქვს ებანი
პოლი-ა. ასეთ ხსნარს ატარებენ გრანულირებული ნივთიერებით (მაგალითად,
სეფაროზით) გავსებულ სვეტში,რომელზეც ადსორბირებულია პოლი-უ. სვეტზე

შეკავდება მხოლოდ ჩვენთვის საინტერესო გენის შემცველი დნმ-ს ფრაგმენტი მასზე ჰიბრიდიზირებული მ-რნმ-ით, დანარჩენი კი ჩამოირეცხება. შემოგომში




სურ. 56 საჭირო გენების შემცველი დნმ-ს ფრაგმენტების გამოყოფის სქემა ( განმარტება — ტექსტში).

აღნიშნული ფრაგმენტი შეიძლება გამოვყოთ სვეტიდან, გავათავისუფლოთ მ-რნმ-საგან და ხელთ გვექნება ჩვენთვის საინტერესო გენი.

ვექტორები. როგორც აღვნიშნეთ, ვექტორები დნმ-ს მოლეკულებია, რომლებსაც შეუძლიათ მიიერთონ უცხო მემკვიდრული ერთეულები — დნმ-ს ფრაგმენტები, გადაიტანონ სხვა უჯრედში და იქ უზრუნველყონ მათი გამრავლება (ამპლიფიკაცია). ამ დროს ბოგჯერ შეიძლება შეტანილი მემკვიდრული ერთეული ჩაიოდოს რეციპიენტი უჯრედის გენომშიც.

ვექტორს უნდა გააჩნდეს შემდეგი თვისებები: დამოუკიდებლად რეპლიცირდებოდეს მასპინძლის უჯრედში; აქონდეს შესაფერისი მარკერები (მაგ., ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობისა), რომლებითაც შეიძლება მათი მოქმედების აღმოჩენა ტრანსფორმირებულ უჯრედში; უცხო ენმ არ უნდა არღვევდეს მის ფუნქციონირებას; სასურველია, რომ მასთან შეიძლებოდეს ენმ-ს ნაირგვარი ზომის ფრაგმენტების კლონირება, მასზე მოქმედებდეს სხვადასხვა რესტრიქტაზები, ადვილად შეიძლებოდეს კლონირება, არ იყოს ფიფი ზომისა, ადვილად მიიღებოდეს დიდი რაოდენობით, ადვილად ციდებოდეს კლონირებული ფრაგმენტი და განირჩეოდეს რეკომბინანტი მოლეკულისაგან.

თანამედროვე გენეტიკურ-ინჟინერულ ექსპერიმენტებში უმეტესად გამოიყენება ბაქტერიული პლაზმიდები, ეპისომები, ზოგიერთი ვირუსი და ფაგი, ბოლო ხანებში კი მიტოქონდრიული დნმ-ც.

ბაქტერიული პლაზმიდები ქრომოსომისაგან გამოცალკევებული ავტონომიური გენეტიკური ელემენტებია და წარმოადგენენ თითო მოლეკულა ენმ-ს, რომელთაც რგოლური სტრუქტურა აქვთ. ისინი რეპლიცირდებიან დამოუკიდებლად და განაპირობებენ ბაქტერიის ზოგიერთ თვისებას.

პლაზმიდები მრავალგვარია. ისინი ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ზომით, გენეტიკური ინფორმაციის შემცველობით, რეპლიკაციის რეგულაციით და ნაწილობრივ საამისო ფერმენტული სისტემითაც. ბაქტერიული ქრომოსომის მოლ. მასა $1.10^9 - 2.10^9$ დალტონს აღწევს, პლაზმიდებისა კი $1.10^6 - 170.10^6$ დალტონს შორის მერყეობს და უჯრედის მთელი ენმ-ს 1-10%-ს შეიძლება შეადგენდეს. ერთ ბაქტერიულ უჯრედში წვრილი პლაზმიდის დაახლოებით 10 ასლია, მსხვილი პლაზმიდები ერთი ან ორია, რაც მათი რეპლიკაციის მექანიზმების არაერთგვაროვნებაზე მეტყველებს. პლაზმიდები კოდირებენ მნიშვნელოვან გენეტიკურ ნიშან-თვისებებს, რომელთა ინფორმაციაც არ შედის ბაქტერიის ქრომოსომაში. მაგალითად, ისინი შეიცავენ ბაქტერიული უჯრედების კონიუგაციისათვის საჭირო ინფორმაციას. განაპირობებენ მცენარეთა და ცხოველთა ბევრნაირ

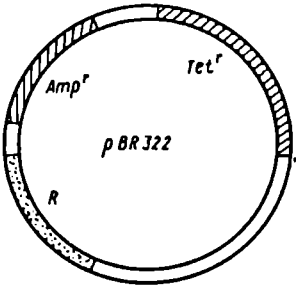
დაავადებას. ისინი საშუალებას აძლევენ უჯრედს გამოიყენონ მრავალი სახის რთული ნაერთი, უზრუნველყოფენ ბაქტერიის გამძლეობას ზოგიერთი ტოქსიკური აგენტის, განსაკუთრებით კი ანტიბიოტიკების მიმართ. პლაზმიდის ფენმ რგოლური მოლეკულაა. საფდეისოდ ბევრნაირი პლაზმიდის მოლეკულა ზუსტად არის კარტირებული. პლაზმიდებს უჯრედში აქვთ საერთო და სპეციფიკური ფუნქციები. ზოგადი ფუნქციებია რეპლიკაციის ( rep ), შეუთავსებლობისა ( inc ) და გადატანის ( tra ) ფუნქციები. სპეციფიკური ფუნქციებით პლაზმიდები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან.

ისეთ პლაზმიდებს, რომლებსაც უჯრედის ქრომოსომაში ჩართვის უნარი შესწევთ, ეპისომებს უწოდებენ. ზოგიერთ პლაზმიდას შეუძლია ერთი უჯრედიდან (დონორი) მეორე უჯრედში (რეციპიენტი) გადასვლა. ისინი ე.წ. ტრანსმისიული პლაზმიდებია. რეციპიენტ უჯრედში შეჭრისას პლაზმიდები სძენენ მას ახალ მემკვიდრულ თვისებებს. მაგალითად, ნაწლავის ჩხირის Col - პლაზმიდას შეუძლია შესძინოს ციდა კოლიცინის სინთეზის უნარი, R -პლაზმიდებს — მძიმე მეტალებისა და ზოგიერთი ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობის თვისება, Ent და Vir - პლაზმიდებს — გარკვეული პათოგენურობა და ა.შ.

R -პლაზმიდები (ინგლ. სიტყვიდან resistance — გამძლეობა) 10-ზე მეტი ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის გენს შეიძლება შეიცავენ. მათ ვხვდებით ნაწლავის ჯგუფის ბაქტერიებში. უნივერსალურ ფექტორად ითვლება პლაზმიდა R 6-5, რომელსაც შეუძლია ბევრნაირი გენის გადატანა. მისი მოლ. მასაა $65.10^6$ დალტონი და განაპირობებს ნაწლავის ჩხირის რეზისტენტულობას ტეტრაციკლინის, ატრეპტომიცინის, ნეომიცინისა და ქლორამფენიკოლის მიმართ. რესტრიქტაზა EcoR I-ით იგი იშლება 12 ფრაგმენტად. ერთ-ერთი ფრაგმენტი იკვრება პატარა წრიულ მოლეკულად ($5,8.10^6$ დალტონი) და ინარჩუნებს მხოლოდ ტეტრაციკლინისადმი გამძლეობის უნარს. რესტრიქტაზა EcoR1 მას მხოლოდ ერთ ადგილას წყვეტს, სადაც შეიძლება ფერმენტ ლიგაზით ჩაშენდეს უცხო მონაკვეთი —გენი. ეს ე.წ. pS 101 პლაზმიდაა, რომელსაც შეუძლია ეუკარი-

ოტული გენებიც ჩაიშენოს.

მეტად გავრცელებული პლაზმიდური ვექტორია pbR 322, რომელიც მიღებულია პლაზმიდა pMB I-დან. ეს უკანასკნელი თავის მხრივ ენაოესავება ბუნებრივ პლაზმიდას — ColE I-ს. იგი შეიცავს 4400 ნუკლეოტიდურ წყვილს და გააჩნია ამპიცილინისა და ტეტრაციკლინისადმი გამძღეობის მარკერები (სურ.57 ).




სურ. 57 ვექტორი pbR322. R—რეპლიკონი პლაზმიდიდან ColE1 $Amp^r$ და $Tet^r$— ამპიცილინისა და ტეტრაციკლინისადმი გამძღეობის მარკერები.

პლაზმიდების რეპლიკაციის ფუნქციის შესწავლისას ნანახია,რომ მსხვილ პლაზმიდებში რეპლიცირდება დნმ-ს მხოლოდ გარკვეული უბანი მოლ.მასით $1.10^6 - 5.10^6$ დალტონი (2 – $8.10^3$ წყ ნ ). როგორც ირკვევა, ამ უბანში ლოკალიზებულია რეპლიკაციის როგორც სასტარტო ნაწილი, ისე მთლიანი რეპლიკაციის საჭირო გენები. შედარებით უკეთაა შესწავლილი პლაზმიდის ColE1 ის რეპლიკაცია. მისი ავტონომიური რეპლიკაციისათვის საჭიროა ისეთი გენური პროდუქტების თანაობაც, რომლებიც ბაქტერიული ქრომოსომით დეტერმინდება. ისინი გავლენას ახდენენ ელონგაციაზე და ნაწილობრივ ინიციაციაზე.

ეს იმას ნიშნავს, რომ პლაზმიდური დნმ-ს რეპლიკაციის დაწყება საკუთარი ფუნქციაა და რეპლიკაციის სხვა ფუნქციები ხორციელდება ბაქტერიული ქრომოსომის აპარატით. ამასთან, ColE I რეპლიკაციისათვის საჭიროებს დნმ-პოლიმერაზა III-ს და I-ს, მაშინ როდესაც უკანასკნელი ქრომოსომაში რეპარაციის ფუნქციას ასრულებს.

პლაზმიდები მიუხედავად მათი მრავალგვაროვნისა, როგორც ვექტორები ვერ უზრუნველყოფენ გენეტიკური ინჟინერიის ყველა მოთხოვნას. ამიტომ ხშირად იყენებენ ფაგებისა და ვირუსების საფუძველზე კონსტრუირებულ სპეციალიზირებულ ვექტორებს: მათგან ყველაზე გავრცელებულია ფაგ ლამბდასა და SV40-ვირუსზე, აგრეთვე ბაქტერიოფაგ M13-ზე*, კონსტრუირებული ვექტორები. უკანასკნელ ხანებში ლამბდა ფაგის საფუძველზე კონსტრუირებული ვექტორები ფართოდ გამოიყენება გენების ბანკის (ბიბლიოთეკის) მისაღებად, რადგანაც, მათში კლონირებულ დნმ-ს დიდი ფრაგმენტები აღვილი გამოსაყოფია და გამოიცნობა ჰიბრიდიზაციით.

ზოგიერთი თავისებურებებით ფაგები და პლაზმიდები ერთმანეთს ჰგვანან. ძირითადი განსხვავება ისაა, რომ პლაზმიდებს არა აქვთ ცილოვანი გარსი. ზოგიერთ მკვლევარს მიაჩნია, რომ პლაზმიდები და ფაგები წარმოადგენენ დნმ-ს ერთი და იგივე მოლეკულის არსებობის სხვადასხვა ფორმებს. მაგალითად, ფაგი ლამბდა ჩვეულებრივ რთავს თავის დნმ-ს მასპინძელი უჯრედის გენომში, მაგრამ მას შეუძლია, პლაზმიდების მსგავსად, ბაქტერიაში ავტონომიურად გავრცელდეს.

---

* საინტერესოა, რომ ფაგი M13 გამოიყენება დნმ-ში ე.წ. მინისატელიტური თანამიმდევნობების აღმოსაჩენად. როგორც ირკვევა, ასეთი თანამიმდევნობანი მკაცრად ინდივიდურია ყველა სახეობის ცოცხალ ორგანიზმში. უკანასკნელ ხანებში ფაგი M13, როგორც ზონდი, გამოიყენება ცალკეულ ინდივიდთა იდენტიფიკაციისათვის როგორც ადამიანებში, ისე სხვა ცხოველებში და მცენარეებში. ფაგი M13-ის ამ მიზნით გამოყენების შესაძლებლობას პირველმა მიაგნო ახალგაზრდა ქართველმა მკვლევარმა ა.ჯინჭარაძემ.

იმ შემთხვევაში, როდესაც საჭიროა დნმ-ს ისეთი ფრაგმენტების კლონირება, რომელთა ზომა $23 \cdot 10^3$ ნუკლეოტიდურ წყვილს აღემატება, იყენებენ ე.წ. კოსმიდებს. კოსმიდური ვექტორების ძირითადი კომპონენტებია: პლაზმიდური რეპლიკონი, ანტიბიოტიკისადმი გამძღეობის მარკერი და ლამბდა ფაგის ფრაგმენტი, რომელიც შეიცავს ფაგის ე.წ. *cos*-უბანს.

ზოგჯერ დნმ-ს შეყვანისათვის რეციპიენტ უჯრედში გამოიყენება ე.წ. პოლისომები, რომლებსაც უჯრედის მემბრანებისაგან ღებულობენ და ხელოვნურად უკავშირებენ დნმ-ს ამა თუ იმ ფრაგმენტს. ლიპოსომები გამოიყენება მხოლოდ პროკარიოტულ უჯრედებზე.

აღსანიშნავია, რომ ბაქტერიული ვექტორები არ გამოდგა ეუკარიოტებისათვის, როგორც ჩანს იმის გამო, რომ გენეტიკური ინფორმაციის მოლეკულური მექანიზმები ყველა სახეობაში სპეციფიკურია. ცხოველური უჯრედისათვის მოსახერხებელი აღმოჩნდა ვირუსი *SV40*. იგი შეიცავს 5243 ნუკლეოტიდურ წყვილს, რომლებიც ზესპირალურ წრიულ მოლეკულას წარმოქმნიან. აღნიშნული და აგრეთვე სხვა ვირუსების საფუძველზე საფლეისოდ შექმნილია მრავალნაირი ვექტორული სისტემა ეუკარიოტული უჯრედებისათვის.

დნმ-ს ფრაგმენტების (გენების) ჩაკერება ვექტორში და კლონირება. როდესაც ვექტორად იყენებენ პლაზმიდას, ამ უკანასკნელში დნმ-ს ფრაგმენტის (გენის) ჩაკერება შემდეგნაირად ხორციელდება. პლაზმიდას უმატებენ რომელიმე რესტრიქტაზას, რომელიც დნმ-ს ორივე ძაფს ხლეჩს სპეციალურ უბანში. ამ დროს გახლეჩილი პლაზმიდის ორივე ბოლოზე ჩრჩება დ-ნუკლეოტიდების მოკლე შეუწყვილებელი თანამიმდევნობანი (ა-ა-ა-ა ან ა-ა-ა-ა, ე.ი. ოთხ-ოთხი ნუკლეოტიდი, რომლებშიც ფუძეები წარმოდგენილია თიმინითა და ადენინით). ამავე დროს პლაზმიდაში ჩასაკერებელ ფრაგმენტს (გენს), რომელიც სხვა დნმ-დან ამოჭრილია იგივე რესტრიქტაზით ისე, რომ ფრაგმენტის ბოლოები წარმოადგენენ გახლეჩილი პლაზმიდის ბოლოების კომპლემენტურ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევნობებს (ა-ა-ა-ა და ა-ა-ა-ა), ურევენ გახლეჩილ პლაზმიდას. ნარევს ემატება ფერმენტი ლიგაზა,

რომელსაც შესწევს უნარი ერთმანეთს გადააბას კომპლემენტური უბნები. მიიღება პიბრიდული ანუ რეკომბინანტული დნმ, რომელიც წარმოადგენს პლაზმიდას მასში ჩაკერებული უცხო დნმ-ს ფრაგმენტით (გენით).

ანალოგიურად ხორციელდება დნმ-ს ხელოვნურად— უკუტრანსკრიპციით— სინთეზირებული ფრაგმენტის (ა-დნმ-ს) ჩაკერება ვექტორში. განსხვავება ისაა, რომ ამ შემთხვევაში დამატებით გამოიყენება სპეციფიკური ფერმენტი— ტრანსფერაზა, რომელიც ფრაგმენტის ბოლოებზე ამატებს ნუკლეოტიდების მოკლე თანამიმდევნობებს. კერძოდ, აღნიშნული ფერმენტით ფრაგმენტის ბოლოებს შეიძლება დაემატოს, მაგალითად, ციტოზინის ოთხი ნარჩენისაგან შემდგარი თანამიმდევნობა, ხოლო გახლეჩილი პლაზმიდის ბოლოებს— ოთხი გუანინისაგან შემდგარი თანამიმდევნობა. ასეთ პლაზმიდაში ლიგაზით ადვილად ჩაეკერება ციტოზინის ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტი.

რეკომბინანტული დნმ-ს მოლეკულის მრავალი ასლის მიღება (ამპლიფიკაცია) ხორციელდება უმთავრესად ნაწლავის ჩხირის უჯრედებში ($E.coli$)— კლონირებით. ეს პროცესი ემყარება ჯერ კიდევ 50-იანი წლებში აღმოჩენილ ფაქტს (ჯ. ლედერბერგი), რომ ბაქტერიულ უჯრედებს შეუძლიათ კონიუგირება და ერთმანეთში ე.წ. F ფაქტორის გაცვლა, რომელიც პლაზმიდას წარმოადგენს. ჩვეულებრივ რეკომბინანტული დნმ-ს მოლეკულები ვერ გადიან ბაქტერიული უჯრედის კედელში. რეკომბინანტულ დნმ-ს შეუძლია შეაღწიოს უჯრედში ამ უკანასკნელის დამუშავების შემდეგ კალციუმის სუსტი ხსნარით, რის შემდეგაც უჯრედი ხდება ე.წ. კომპეტენტური. რეკომბინანტული პლაზმიდის უჯრედში შეღწევა და ამპლიფიკაცია შეგვიძლია დავინახოთ იმ გენეტიკური მარკერების ექსპრესიით, რომლებიც გააჩნია მოცემულ პლაზმიდა-ვექტორს. ასეთი მარკერებია ძირითადად ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობის გენები. მაგალითად, თუ პლაზმიდა pBR322 შეიცავს პენიცილინისა და ტეტრაციკლინისადმი გამძლეობის გენებს (სურ.57). თუ ამ პლაზმიდას დავამუშავებთ რესტრიქტაზა PstI-ით, იგი გაიხლეჩება ფერმენტ პენიცილინაზის გენის შუა ადგილას. ამ ადგილზე ჩაკერებული უცხო დნმ-ს ფრაგმენტი არღ-

ვეკს პენიცილინაზის გენის სინთეზს, მაგრამ ტეტრაციკლინის გამძღეობის გენი შენარჩუნებულია. ასეთი პლაზმიდის უჯრედში შეყვანის შემთხვევაში ბაქტერიები კარგად მრავლდებიან ტეტრაციკლინის შემცველ არეზე და ვეღარ მრავლდებიან პენიცილინის შემცველ არეზე.

ვექტორად ვირუსების გამოყენებისას მათში ჩაკერებული უცხო დნმ-ს ფრაგმენტი ბაქტერიულ უჯრედში შეღწევის შემდეგ რეპლიცირდება ვირუსის გენებთან ერთად.

## თ ა ვ ი XIV

## გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი ინ ჟ ი ნ ე რ ი ი ს გ ა მ ო ყ ე ნ ე ბ ი ს სფ ე რ ო ე ბ ი, ზ ო გ ი ერ თ ი მ ი ღ წ ე ვ ა და პ ერ ს პ ე ქ ტ ი ვ ე ბ ი

ზოგადი ცნობები. მემკვიდრეული ნივთიერების — დნმ-ს ხელოვნური გადაკეთებისა და რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების პირველი ექსპერიმენტული მონაცემების გამოქვეყნებისთანავე მძლავრი ბიძგი მიეცა ამ მიმართულებით კვლევას, რამაც საკმაოდ მაღე მოიტანა როგორც დიდი თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობის შედეგები. მსოფლიოს მაღალგანვითარებულ ქვეყნებში, უმთავრესად აშშ-ში, იაპონიაში, ინგლისში, შვეიცარიაში შეიქმნა სპეციალური დაწესებულებანი, რომელთა საქმიანობას განსაკუთრებული სახელიც კი შეარქვეს — „დნმ-ს ინდუსტრია". ასეთი დაწესებულებანი დაკომპლექტებულია მაღალკვალიფიციური კადრებით და უხვადაც ფინანსირდება. უკანასკნელ დრომდე მიღებული შედეგები უაღრესად შთამბეჭდავია. თეორიულად მნიშვნელოვანი კონცეპციებიდან უმთავრესია გენის ნატიფი სტრუქტურისა და ექსპრესიის მოლეკულური მექანიზმების გამოკვლევა. ეს კი საფუძვლად დაედო უჯრედში ახალი მემკვიდრეული ერთეულების შეტანისა და ორგანიზმის ბუნების გადაკეთების ისეთ ცდებს, როცა ბევრნაირი საჭირო პროდუქტი და ბიოლოგიურად მნიშვნელოვანი ნაერთი მიიღება გენების კლონირებით. ამ გზით ნაერთების მიღება შეიძლება გაცილებით დიდი რაოდენობით, მოითხოვს ნაკლებ ხარჯებს და პროდუქციაც უფრო სუფთაა. ასეთი ნაერთებია, მაგალითად, ინსულინი, ზრდის ჰორმონი, ინტერფერონი, ვირუსების საწინააღმდეგო ვაქცინები, პლაზმინოგენის აქტივატორი — სისხლძარღვებში თრომბების დამშლელი, სისხლის შემდედებელი ფაქტორი (იგი არაა ჰემოფილიით დაავადებულის ორგანიზმში), შეიქმნილია ქიმიურ, ნავთობისა და გაზის მრეწველობაში საჭირო ბაქტერიებისა და სხვა მიკროორგანიზმთა შტამები, ამა თუ იმ ნივთიერების სუპერპროდუცენტები და ა.შ.

მემკვიდრეული ნივთიერების ხელოვნურად გადაკეთება და უცხო გენეტიკური ერთეულების შეტანა უჯრედში პირველად განხორციელდა მიკროორგანიზმებზე.

შემდგომში საფანადო მეთოდები დამუშავდა საფუვრებისა და უმაღლესი ორგანიზმების— ცხოველებისა და მცენარეების მიმართაც. გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები შეიჭრა ადამიანის გენომის შესწავლაში, გამოვლინდა ბევრნაირი დაავადების, მათ შორის ავთვისებიანი ზრდისა და გენეტიკური დეფექტების დედაარსის მრავალი მხარე, სათანადო მკურნალობის გზების მინიშნებით.

<u>გენეტიკური ინჟინერია მიკროორგანიზმებში.</u> პირველი და პრაქტიკისათვის მნიშვნელოვანი შედეგი, რომელიც განხორციელდა გენების კლონირებით, მიღებული იყო ბაქტერია ნაწლავის ჩხირზე. ამ ბაქტერიაში გენეტიკური ინჟენერიის ხერხებით შეიყვანეს ადამიანის ინსულინის მაკოდირებელი გენი, რის შედეგადაც უჯრედებმა შეიძინეს ამ უაღრესად საჭირო ჰორმონის სინთეზის უნარი. ინსულინის დიდ საჭიროებაზე მეტყველებს ის ფაქტი, რომ 1980 წლისათვის მსოფლიოში დიაბეტით დაავადებული იყო 60 მილიონი ადამიანი, რომელთაგან ინსულინის მიღების საშუალება ჰქონდა მხოლოდ 4 მილიონს. მარტო აშშ-ში ინსულინს საჭიროებდა 1,8 მილიონი ადამიანი, მათ შორის 100000 ბავშვი. ეს ციფრი ყოველწლიურად იზრდებოდა 6%-ით. უკანასკნელ დრომდე ინსულინის პრეპარატი მიიღებოდა ძროხის კუჭქვეშა ჯირკვლიდან (პანკრეასიდან). ჯირკვალი იწონის 200—250 გრ-ს, ხოლო 100 გრ კრისტალური ინსულინის მისაღებად საჭიროა 800—1000 კგ საწყისი მასალა.

თუ მხედველობაში მივიღებთ, რომ ინსულინის სინთეზი კუჭქვეშა ჯირკვალში რთული პროცესია, ჰორმონის მიღება გენეტიკური ინჟინერიის ხერხებით გარდაქმნილი ბაქტერიებიდან უდიდეს მიღწევად უნდა ჩაითვალოს. ეს ნაწილობრივ განაპირობა იმანაც, რომ ინსულინი შედარებით მარტივი და კარგად შესწავლილი ცილაა (შეიცავს სულ 51 ამინომჟავას, ცნობილია მათი თანამიმდევნობაც პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში) და მის მიმართ გამოყენებული გენეტიკურ-ინჟინერული ხერხი ვერ გამოდგება სხვა, უფრო რთული აღნაგობის ცილებისათვის.

ბაქტერიის უჯრედში ინსულინის მაკოდირებელი გენის შეყვანისა და ჰორმონის პროდუცირების მიზნით არარაციონალური გამოდგა უშუალოდ ქრომოსომი-

დან გამოცალკევებული გენის გამოყენება,რადგანაც იგი კოდირებს პროინსულინს და ამასთანავე შეიცავს ინტრონს.ამ დაბრკოლების გვერდის აცილა შეძლეს ინსულინის a და b ჯაჭვების მაკოდირებელი დნმ-ს მონაკვეთების ქიმიური სინთეზით.გენეტიკური კოდის მონაცემებიდან გამომდინარე, a-ჯაჭვს კოდირებს 63 ნუკლეოტიდი,ხოლო b-ს — 90.ამასთან,ორივე ჯაჭვი უნდა ბოლოდებოდეს ტერმინაციის მასიგნალიზირებელი კოდონით.ინსულინის გამოცალკევებისათვის პროკარიოტული ამინომჟავების თანამომდევნობებიდან,ყოველი ჯაჭვის დასაწყისს უერთებდნენ მეთიონინის კოდონს. a- და b-ჯაჭვების მაკოდირებელ ფრაგმენტებს ცალცალკე აკერებდნენ ბაქტერიული ფერმენტის b-გალაქტოზიდაზის გენში,რომელსაც თავის მხრივ რთავდნენ პლაზმიდურ ვექტორში.ჩართვას ახდენდნენ ისეთნაირად,რომ სინთეზური გენის თანამომდევნობა აღმოჩენილიყო b-გალაქტოზიდაზის გენის მაკოდირებელი თანამომდევნობის ფაზაში. ასეთი რეკომბინანტული პლაზმიდა შემდგომში შეპყავდათ ნაწლავის ჩხირში,სადაც იგი რეპლიცირდებოდა და საბოლოოდ b-გალაქტოზიდაზის გენის რეგულატორული თანამომდევნობების (პრომოტორი და რიბოსომების მიკაკშირების უბანი)კონტროლით სინთეზირდებოდა მ-რნმ.ამ უკანასკნელით წარმოქმნილი ცილა შედგებოდა b-გალაქტოზიდაზის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ნაწილისაგან,რომელიც მიერთებული იყო ინსულინის a და b ჯაჭვებთან მეთიონინის დამატებითი ნარჩენით.ამ სტადიაზე გამოყენებული ხერხი ეყრდნობა ინსულინის უჩვეულო ამინომჟავურ შედგენილობას და მეთიონინის ნარჩენის დაკავშირებულ თანაობას ჰიბრიდულ ცილაში.სპეციალური ქიმიური რეაგენტით — ბრომიანი ციანოგენით,რომელიც შლის მეთიონინს (შედარებით ნაკლებად— ტრიპტოფანს),ინსულინის a და b-ჯაჭვებს აცალკევებდნენ b-გალაქტოზიდაზის ფრაგმენტისაგან.სათანადო გასუფთავების შემდეგ აღნიშნულ ორ ჯაჭვს აკავშირებდნენ ერთმანეთთან დისულფიდური ხიდაკების წარმომქმნელი რეაქციით.შედეგად მიიღებოდა ადამიანის სუფთა ინსულინი.

აღნიშნული ხერხი გამოსადეგი აღმოჩნდა ისეთი ცილების მიღებისათვის,

რომლებიც არ შეიცავენ არც მეთიონინსა და არც ტრიპტოფანს.

ადამიანის ინსულინს ღებულობენ სხვა ხერხითაც. კერძოდ, პროინსულინის მ-რნმ-ს უკუტრანსკრიპციით ასინთეზირებენ ა-დნმ-ს, რომლის $5^{I}$-ბოლოზე აკერებენ ქიმიურად სინთეზირებულ მეთიონინის კოდონს (აიგ). ასეთი კონსტრუქციას უერთებენ პლაზმიდურ ვექტორში ჩართულ ბაქტერიულ გენს და შეუყავთ ნაწლავის ჩხირში. ბაქტერიულ ფერმენტთან შეერთებული პროინსულინის თავისუფალ ფორმაში მიღებისათვის აუცილებელია დამაკავშირებელი მეთიონინური ნარჩენის დაშლა. ამ დროს პროინსულინის პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ღებულობს მისთვის დამახასიათებელ სამგანზომილებოვან კონფიგურაციას, წარმოიქმნება დისულფიდური ხიდაკები. ბოლოდან C -პეპტიდი სცილდება ფერმენტულად და მიიღება ადამიანის სუფთა ინსულინი.

ნაწლავის ჩხირის საშუალებით გარდაქმნილ ერთ უჯრედში შეიძლება სინთეზირდებოდეს ინსულინის 100000 მოლეკულა. ამერიკული კომპანიის „ელი ლილი"-ს მკვლევართა მონაცემებით, ჩანართები, რომლებიც შეიცავენ პროინსულინის ან ინსულინის α- და β -ჯაჭვებს, შეიძლება ეკავოთ ნაწლავის ჩხირის უჯრედის 20%. დიდი ბრიტანეთის ერთ-ერთ ცენტრში მიაღწიეს იმას, რომ 1000 ლიტრი ბაქტერიული კულტურის სითხიდან მიიღეს 200 გრ ინსულინი. ამ რაოდენობის ინსულინის მისაღებად საჭიროა ღორის ან ძროხის 1600 კგ ლეკვალი. ამერიკის განთქმულ ფირმა „გენენტეკ"-ს სულ 10 თვე დასჭირდა ადამიანის ინსულინის მაპროდუცირებელი ნაწლავის ჩხირის სპეციალური შტამის წარმოებლად. ინსულინის წარმოება გენეტიკური ინჟინერიის გზით არაა დამოკიდებული ნედლეულის მოწოდებისაგან ხორცკომბინატებიდან, გაცილებით იაფი ჯღება და მწარმოებლები დიდ მოგებას ნახულობენ. აღსანიშნავია ისიც, რომ ასეთი ინსულინის ხმარებას არ ახლავს ის უარყოფითი მოვლენები, რაც ხშირად გამოწვეულია ცხოველური ინსულინის ინექციისას (თირკმელების ფუნქციონირების მოშლა, მხედველობის გაუარესება, აღერგია და სხვ.). ამერიკულმა ფირმებმა „ელი ლილი"-მ და „გენენტეკმა" გაიღეს 40 მილიონი დოლარი ქ. ინდიანაპოლისში (ინ-

დიანას შტატი) ბაქტერიების საშუალებით ინსულინის მწარმოებელი გიგანტური ქარხნის შენებლობისათვის. ანალოგიური ღონისძიებების განხორციელება ხშირია სხვა კომპანიებისა და ფირმების მხრიდანაც მაღალგანვითარებულ ქვეყნებში.

დიდი მუშაობაა ჩატარებული სხვა ნაერთების, კერძოდ ადამიანის ზრდის ჰორმონის — სომატოტროპინის მისაღებად გენეტიკური ინჟენერიის ხერხებით გარდაქმნილი მიკროორგანიზმებიდან. აღნიშნული ჰორმონი (შეიცავს 191 ამინომჟავას) გამომუშავდება ჰიპოფიზის წინა ნაწილში. ადამიანის ორგანიზმში მისი ნაკლებობა იწვევს ზრდის შეჩერებას — ჯუჯობას. მსოფლიოში ყოველი მილიონი ადამიანიდან 7—10 ჯუჯაა. დასავლეთის ქვეყნებში ყოველ 50000 ბავშვზე ერთი ჯუჯა მოდის.

სომატოტროპინი სახეობასპეციფიკურია და ჯერჯერობით ერთადერთი საშუალებაა ჯუჯობის სამკურნალოდ. სათანადო გამოკვლევებით ნაჩვენებია, რომ თუ ჯუჯა ბავშვს კვირაში სამჯერ შეეუყვანთ 6—10 მგ სომატოტროპინს 1 კგ წონაზე, პირველი წლის განმავლობაში ისინი 6 სმ-ს მატულობენ. მკურნალობა საჭიროა 4—5 წლის ასაკიდან სქესობრივ სიმწიფემდე და შემდეგაც. პრეპარატის მიღება უშუალოდ ქსოვილიდან მეტად ძვირი ჯდება. 1981 წლისათვის აშშ-ში სომატოტროპინის მისაღებად წელიწადში 60000 გვამიდან მიღებულ ჰიპოფიზს ამუშავებდნენ. აქედან გამოყოფილი პრეპარატი სამკურნალოდ სულ 1500 ბავშვს ჰყოფნიდა. საერთოდ ყველა ქვეყანაში მიღებული ამ პრეპარატის რაოდენობა საკმარისი იყო მხოლოდ ჯუჯების ერთი მესამედის სამკურნალოდ. ამასთან, სომატოტროპინი გამოიყენება სხვა დაავადებების დროსაც.

გენეტიკური ინჟინერიის ხერხებით კონსტრუირებული ბაქტერიებიდან სომატოტროპინის მიღება გაცილებით იაფი ჯდება, მიიღება დიდი რაოდენობით, ამასთან, პრეპარატი ბიოქიმიურად სუფთაა და არ შეიცავს ვირუსოვან ნარჩენებს. პირველი ასეთი პრეპარატი მიიღეს 70-იანი წლების ბოლოს შვეიცის ფირმა „კაბი ვიტრუმ"-მა და ამერიკულმა „გენეტეკ"-მა. მიღების პროცესის დედა-

არსი შემდეგია.

ჰორმონის მაკოდირებელი გენის თანამიმდევნობა მიღებული იყო დნმ-ს ქიმიური და ა-დნმ-ს ფერმენტული სინთეზის კომბინაციით. დნმ-ს ფრაგმენტი, რომელიც კოდირებს პირველ 24 ამინომჟავას, დაასინთეზირეს ქიმიურად. უშუალოდ პირველ კოდონს მიუერთეს ტრიპეპტიდი, რომელიც კოდირებს მეთიონინს (ამგ). ამრიგად, გენის დასაწყისი ნაწილი, რომელიც განაპირობებს ციდის სინთეზის სწორ ინიციაციას, სინთეზირებული იყო ქიმიურად, ხოლო დანარჩენი ნაწილი, რომელიც კოდირებს ამინომჟავებს 25-დან 191-მდე, მიღებული იყო ა-დნმ-ს სინთეზით ადამიანის ჰიპოფიზის მ-რნმ-ს უკუტრანსკრიპციის შედეგად. შემდეგში ორივე ფრაგმენტი კლონირებული იყო ცაღცაღკე, რასაც მოსდევდა ხელახლა გაწმენდა და ლიგირება, რის შემდეგაც მიიღებოდა დნმ-ს ისეთი სრული თანამიმდევნობა, რომელიც კოდირებდა ადამიანის ზრდის ჰორმონს. იგი იწყებოდა მეთიონინის კოდონით, მას მოპყვებოდა დანარჩენი 191 ამინომჟავის მაკოდირებელი კოდონები და ბოლოვდებოდა ტერმინაციის მასიგნალიზირებელი სტოპ-კოდონით. ასეთ რეკომბინანტულ გენს შემდგომში აკერებდნენ ექსპრესირებად ვექტორში და შეპყავდათ ნაწლავის ჩხირში, სადაც იგი ინდუცირებდა ადამიანის ზრდის ჰორმონს— სომატოტროპინს. ბაქტერიულ უჯრედში სინთეზირებული ასეთი ჰორმონი ყოველმხრივ, მათ შორის ბიოლოგიური აქტივობის მიხედვით, იდენტურია პიპოფიზიდან გამოყოფილი ჰორმონისა, თუმცა მის N-ბოლოზე მეთიონინის თანაობის გამო თავისებურ სუროგატად შეიძლება ჩაითვალოს.

სან-ფრანცისკოს ერთ-ერთ კლინიკაში ჯუჯა ბავშვებს, სამი თვის განმავლობაში, უკეთებდნენ ბაქტერიულ სომატოტროპინს, რომელიც შეიცავდა მეთიონინის ნარჩენს. ასეთი ბავშვები სიმაღლეში მატულობდნენ 2—2,5 სმ-ით, ე.ი. წელიწადში 8—18 სმ-ით. ეფექტი არ განსხვავდებოდა ჰიპოფიზიდან მიღებული პრეპარატის ეფექტისაგან, ამასთან, არ ახლდა ამ უკანასკნელის მიერ გამოწვეული ზოგიერთი არასასურველი გვერდითი მოვლენაც. შვედურმა ფირმამ „კაბი ციტრუმ"-მა მიაღწია იმას, რომ I ღ ბაქტერიული კულტურა 7 საათის განმაველ-

ბაში იძღეოდა იმდენ ჰორმონს,რამდენიც მიიღებოდა 60 გვამის ჰიპოფიზიდან. ასეთი შედეგები, ამჟამად, მნიშვნელოვნად გაუმჯობესებულია და მიიღება სხვა სახის ჰორმონებიც. ბუნებრივია,რომ შესაბამისად გაიაფებულია და ხელმისაწვდომი პროდუქცია და მკურნალობაც.

სადღეისოდ, ბაქტერიებში კლონირებული სხვა გენებიდან აღსანიშნავია ინტერფერონის მაკოდირებელი გენები. ეს პროცედურა გაცილებით რთული აღმოჩნდა ვიდრე ინსულინისა და ზრდის ჰორმონის კლონირება. მიზეზი ის იყო,რომ ამ უკანასკნელთა შესახებ თავიდანვე ბევრი რამ (მათ შორის პირველადი სტრუქტურა) იყო ცნობილი. შესაბამისი რეკომბინანტული დნმ-ს მიღების მეთოდების შექმნამდე იდენტიფიცირებული იყო სამი ტიპის ინტერფერონი: ლეიკოციტური (α ),ფიბრობლასტური (β ) და ე.წ. იმუნური (γ ). მათი ამინომჟავური თანამიმდევნობისა და შესატყვისი გენების სტრუქტურის უცოდინრობის გამო, არ შეიძლებოდა ხსენებული ინტერფერონების მაკოდირებელი დნმ-ს მონაკვეთების სინთეზი. კვლევის თავდაპირველი გასაღები იყო მათი ანტივირუსული აქტივობა.

ინტერფერონის გენის—α-დნმ-ს მიღებას საფუძვლად დაედო ის ფაქტი,რომ ინტერფერონის მაპროდუცირებელი უჯრედებიდან გამოყოფილი მ-რნმ-ს შეყვანისას აფრიკული დეზებიანი ბაყაყის—ქსენოპუსის გიგანტურ ოოციტებში ინტერფერონის რაოდენობა შესამჩნევად მატულობდა. ამით შესაძლებელი გახდა α -ინტერფერონის მ-რნმ-ს მიახლოებითი ზომის დადგენა. ამისათვის პოლი(ა). შემცველი მ-რნმ-ს (მ-რნმ-ს) გამოყოფდნენ ინტერფერონის მაპროდუცირებელი ლეიკოციტებიდან,აცალკევებდნენ ფრაქციებად,შეპყავდათ ოოციტებში და საზღვრავდნენ ასეთი ოოციტების მიერ ექსკრეტირებული ინტერფერონის ანტივირუსულ აქტივობას. აღმოჩნდა,რომ ასეთი აქტივობა ყველაზე მეტად მატულობს 128 მ-რნმ-ს ინექციისას. ასეთი მ-რნმ-დან უკუტრანსკრიპციით მიიღეს შესატყვისი α-დნმ-ები,ჩააკერეს პლაზმიდა pbR322 -ში და კლონირების შედეგად შექმნეს გენების ბანკი. იმ ვარაუდით,რომ ინტერფერონის მ-რნმ შეად-

გენს ღეიკოციტების მთელი რნმ-ს 0,01—0,1%-ს, α-ინტერფერონის სპეციფიკური თანამომდევნობები მოიძიეს ზემოთაღწერილი რეკომბინანტული პლაზმიდით ტრანსფორმირებული ნაწღავის ჩხირის 10000 კლონში. ეს ხდებოდა ა-დნმ-ს ცალკეული კლონების ჰიბრიდიზაციით α-ინტერფერონის მ-რნმ-სთან. საბოლოოდ გამოყოფილი იყო ინდივიდური კლონი, რომელიც ჰიბრიდიზირდებოდა α-ინტერფერონის მ-რნმ-სთან. ასეთი ა-დნმ-ს ვექტორში ჩაკერებისა და ნაწღავის ჩხირში შეყვანის შემდეგ ამ უკანასკნელში იწყებოდა სუფთა α-ინტერფერონის სინთეზი. ასეთი მიღწევის შემდეგ რამდენიმე ლაბორატორიაში, რომლებიც დაკავშირებული იყო წარმოებასთან, განახორციელეს ინტერფერონის ა-დნმ-ს ბაქტერიული კლონის მიღება.

საათანადო ა-დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამომდევნობის ცოდნისა და გენეტიკური კოდის მონაცემებზე დაყრდნობით გამოთვალეს ფიბრობლასტებისა და ღეიკოციტების ამინომჟავური შედგენილობა— თითოეულში აღმოჩნდა 166 ამინომჟავა. გაჩრკვა ისიც, რომ ისინი სინთეზირდებიან წინამორბედების სახით და თავიდან შეიცავენ შესაბამისად 21 და 23 ამინომჟავისაგან შემდგარ ღიდერულ პეპტიდებს, რომლებიც მემბრანულ ტრანსპორტში მონაწილეობენ. შემდგომი გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ნაირგვარი α-ინტერფერონის კოდირებაში მონაწილეობს 13 გენისაგან შემდგარი ოჯახი, რომელიც ბევრ არააქტიურ ფსევდოგენსაც შეიცავს. ფიბრობლასტული β-ინტერფერონისათვის კლონირებულია ერთი გენი. ყველა ეს გენი ლოკალიზებულია ადამიანის მე-9 ქრომოსომაში და არ შეიცავენ ინტრონებს.

მიუხედავად დიდი სიძნელისა, ამჟამად კლონირებულია γ (იმუნური)-ინტერფერონის გენიც. აღნიშნული ინტერფერონი გამომუშავდება ადამიანის T-ლიმფოციტებში.

გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით გარდაქმნილი ბაქტერიებიდან მიღებული ინტერფერონები გამოიყენება ბევრნაირი დაავადების, მათ შორის ავთვისებიანი ზრდის (კიბოს) სხვადასხვა ფორმების წინააღმდეგ. ანალოგიური მეთო-

დებით მიღებულია ფარმაკოლოგიური დანიშნულების მრავალნაირი ვაქცინა.

<u>გენეტიკური ინჟინერია ცხოველებში.</u> ეუკარიოტების, კერძოდ, ძუძუმწოვრების მიმართ გენეტიკურ-ინჟინერული მანიპულაციების განხორციელება უჯრედში, უცხო გენეტიკური ერთეულების შეტანის მიზნით, შესაძლებელი გახდა მას შემდეგ, რაც აღმოაჩინეს, რომ, თუ ვირთაგვის უჯრედთა ერთფენოვან კულტურას მიკუმატებთ ადენოვირუსის სუფთა დნმ-ს კალციუმის თანაობისას, უჯრედები შესაბამისად ტრანსფორმირდებიან. როგორც ჩანს, ამ დროს დონორული დნმ-ს მცირე მონაკვეთები ჩაირთვებიან (ინტეგრირდებიან) მასპინძელი უჯრედის ქრომოსომების დნმ-ში. თავდაპირველ ექსპერიმენტებში სასელექციო მარკერად-ვექტორად გამოიყენებოდა თიმიდინკინაზის (თკ) გენი, რომლის შემცველი დნმ-ს მონაკვეთის შეჭრის შემთხვევაში მასპინძელი უჯრედები იძენდნენ ამ ფერმენტის სინთეზის უნარს.

აღსანიშნავია, რომ ჯერ კიდევ გენეტიკური ინჟინერიის თანამედროვე მეთოდების შექმნამდე ტარდებოდა ექსპერიმენტები, მემკვიდრულ ერთეულთა გადატანისა ერთი სახის უჯრედიდან მეორეში, სომატურ უჯრედთა ურთიერთშერწყმით. კერძოდ, ნახულობდნენ, რომ სხვადასხვა წარმოშობის (ხაზის) უჯრედთა ინკუბირებისას პოლიეთილენგლიკოლის შემცველ არეში ხდებოდა ბირთვების გაერთიანება. გაერთიანებული ბირთვი შეიცავდა ორივე მშობლიური უჯრედის ქრომოსომებს, შესაბამისი თვისებების გამომჟღავნებით. ასეთი ექსპერიმენტებისას რეციპიენტად იყენებდნენ თკ⁻ — გენოტიპის უჯრედებს. თკ⁻ —უჯრედების მიღება თავისთავად საკმაოდ ძნელია. უკანასკნელ ხანებში შექმნილია ისეთი გენური მარკერები, რომლებიც იდენტიფიცირდებიან ნორმალურ უჯრედშიც. ამ მხრივ აღსანიშნავია ორი, მსგავსი პრინციპით აგებული უნივერსალური მარკერი. ორივე შემთხვევაში გამოყენებულია პროკარიოტული გენები, რომლებიც შეერთებულია ეუკარიოტების რეგულატორულ სიგნალებთან. პირველი ვექტორი მარკერად შეიცავს ფერმენტ ქსანტინ-გუანინ-ფოსფორიბოზილტრანსფერაზის (ქგფრტ) გენს, რომლის თანაობა ბაქტერიას აძლევს საშუალებას გამოიყენოს

ქსანტინი პურინიანი ნუკლეოზიდების წყაროდ.შესატყვისი ფერმენტი ძუძუმწოვართა უჯრედებიდან- ჰიპოქსანტინ-გუანინ-ფოსფორიბოზილტრანსფერაზა (ჰგფრტ) სუბსტრატად იყენებს ჰიპოქსანტინს;ქსანტინი უტილიზირდება მხოლოდ ძაღიან მცირე რაოდენობით.ვექტორი კონსტრუირებულია ბაქტერიული ქგფრტ-ის კლონირებული გენის ჩაკერებით SV40 ვირუსის T -ანტიგენის გენის პრომოტორსა პოლიადენილირების საიტს შორის.ამ ვირუსის პრომოტორი მეტად მძლავრია, რის გამოც დიდი რაოდენობით წარმოიქმნება ქგფრტ.ასეთი ვექტორი ( SVgpt ) ტრანსფორმირებს არამარტო გგფრტ$^-$ -უჯრედებს ძუძუმწოვრების გგფრტ$^+$- ფენოტიპად,არამედ საფანალოდ გარდაქმნის ველური ტიპის უჯრედებსაც (ე.ი. გვეველინება როგორც დომინანტური ვექტორი).ამ შემთხვევაში სასელექციო არედ იყენებენ მიკოფენოლის მჟავისა და ქსანტინის შემცველ არეს.მიკოფენოლის მჟავა ბლოკირებს გგფრტ-ის აქტივობას და პურინიანი ნუკლეოზიდების ერთადერთ წყაროდ რჩება ქსანტინი.ასეთ პირობებში ცოცხალი რჩებიან მხოლოდ ის უჯრედები,რომლებმაც მიიღეს SVgpt ვექტორი აქტიური ბაქტერიული გენით, რომელიც უტილიზირებს ქსანტინს.

მეორე დომინანტური ვექტორი შედგება ნეომიცინისადმი გამძღე პროკარიოტული გენისაგან ( NeO$^R$ ),რომელიც ჩაკერებულია SV 40 ვირუსის ადრეულ უბანში. ეს გენი კოდირებს ფერმენტს,რომელიც ფოსფორილირებს და ამით ინაქტივირებს რიბოსომებზე ზემომქმედ ანტიბიოტიკ ნეომიცინს.ეუკარიოტული უჯრედები მგრძნობიარენია ნეომიცინ G 418-ის მიმართ,რომელიც აგრეთვე ინაქტივირდება გენი NeO$^R$-ის პროდუქტით.ამიტომ ვექტორი SVneO შეიძლება გამოყენებული იქნეს ტრანსფორმაციისათვის G 418 ფენოტიპად.

სელექციური მარკერის თანაობა შესაძლებლობას იძლევა შევიყვანოთ ძუძუმწოვართა უჯრედში ნებისმიერი გენი,თუკი მოვახდენთ მის წინასწარ ღიგირებას კლონირებულ სელექციურ მარკერთან.შემდგომი გამოკვლევებით აღმოჩნდა, რომ წინასწარი ღიგირება უჯრედის გარეთ აუცილებელი არ არის.თაგვის უჯრედები,რომლებიც ითვისებენ თკ-ის გენს,მასთან ერთად ირთავენ სხვა დნმ-საც,

რომელიც იქნება კალციუმიან პრეციპიტატში.ასეთი პრეპარატის მიღებისათვის საჭიროა,რომ ხსნარში  დნმ-ს კონცენტრაცია არ იყოს აუცილებელ მინიმუმზე ნაკლები,რადგან $Ca^{+}$-ფენოტიპად ტრანსფორმირებული უჯრედები ითვისებენ დნმ-მატარებლის ნაწილს.პრაქტიკულად,კონტრტრანსფორმაციის მეთოდით დნმ-ს ნებისმიერი კლონირებული სეგმენტი შეიძლება შევიყვანოთ ეუკარიოტების კულტივირებულ უჯრედებში. ვირუსი  SV 40-ის ვექტორობით კურდღლის გლობინ-ის გენი შეიყვანეს მაიმუნის თირკმლის უჯრედებში.ასეთი უჯრედები სინთეზირებენ კურდღლის b -გლობინს მნიშვნელოვანი რაოდენობით.ეს ექსპერიმენტი მეტად პერსპექტიულია ეუკარიოტული გენების ექსპრესიის რეგულატორული მექანიზმების გამოკვლევის თვალსაზრისითაც.

კულტივირებულ უჯრედებში შეიძლება შევიყვანოთ უშუალოდ დნმ ბირთვებში მიკროინექციით.ამ დროს გამოიყენება მცირე დიამეტრის (0,I— 0,5 მკმ) მიკროპიპეტები . ასეთი პროცედურა მოითხოვს საკმაოდ რთულ მოწყობილობას, რომელიც შედგება მიკროპიპეტების დამამზადებელი ხელსაწყოსა და მიკრომანიპულატორისაგან.ასეთი ხელსაწყოთი საკმაოდ გაჩვეულ მკვლევარს შეუძლია საათში 500— I000 უჯრედის ინექცია.ამ დროს, უკეთეს შემთხვევაში, უჯრედთა 50%-ზე  შეიმჩნევა ინექცირებული მასალის სტაბილური ინტეგრაცია და ექსპრესია.ამ მეთოდით შესაძლებელია ნებისმიერი დნმ-ს შეყვანა უჯრედში და არ არის საჭირო რაიმე სელექციური დამატება.უარყოფითია ის,რომ სათანადო მოწყობილობა ძვირია და მეთოდის დაუფლებასაც დიდი დრო სჭირდება.

ცხოველებში  უცხო მემკვიდრული ერთეულების შეტანის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი და ეფექტური ხერხია დნმ-ს ინექცია ემბრიონებში.ჯერ კიდევ 70-იანი წლების დასაწყისში განახორციელეს SV 40 ვირუსის დნმ-ს შეყვანა თაგვის ადრეულ ემბრიონში— ბლასტოციტის სტადიაზე.ასეთ ბლასტოციტებს ნერგავდნენ სხვა თაგვების საშვილოსნოში.დაბადებული თაგვების დიდი ნაწილი მოზაიკური იყო.ამჟამად დამუშავებულია კლონირებული გენების შეყვანის მეთოდები განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედში.საერთოდ,არსებული ექსპერიმენ-

ტული მონაცემების საფუძველზე ნათელია,რომ ამ გზით შესაძლებელია კლონირებული გენების შეყვანა როგორც სომატურ,ისე ჩანასახოვანი ხაზების უჯრედებში.მიკროინექციით გენების შეყვანა განხორციელებული კურდღლის, ცხვრის,ღორისა და სხვა ცხოველების ემბრიონებში.ყურადღებას იპყრობს ისეთი ექსპერიმენტები,როდესაც უჯრედში შესაყვან ჰეტეროლოგიურ დნმ-ს ექსპრესიის შესაძლო პოტენციალს აძლიერებენ სპეციფიკური ძლიერი პრომოტორებით ან სხვადასხვა,ე.წ.ენჰანსერებით.უცხო გენების აქტივაცია განვითარების პროცესში დამოკიდებულია იმისაგან,თუ ქრომოსომის რომელ უბანში ინტეგრირდება შეყვანილი გენი და რა დონითაა იგი მეთილირებული (საერთოდ ცნობილია,რომ ფუნქციურად შედარებით უფრო აქტიური გენები ნაკლებად არიან მეთილირებული,ვიდრე მათი არააქტიური ექვივალენტები).

როგორც ზევით აღვნიშნეთ,პირველი ცდები ცხოველურ უჯრედში უცხო გენეტიკური ერთეულის შეტანისა იყო ღეიკოზის ვირუსის გენების შეყვანა თაგვის ემბრიონებში.შემდგომში სათანადო გამოკვლევებით დამტკიცდა,რომ შეყვანილი ვირუსის გენომი ირთვება მე-6 ქრომოსომაში.ამით დაისახა გზები დიფერენცირების ისეთი ფუნდამენტური პრობლემების შესწავლისათვის,როგორიცაა კონკრეტული გენების ჩართვა (ამოქმედება) ამა თუ იმ ქსოვილში, გენების ექსპრესიის ქსოვილსპეციფიკურობა და ა.შ.

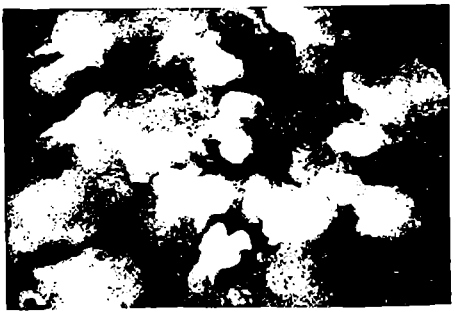
აღსანიშნავია,რომ ღეიკოზის ჯგუფის ვირუსები სადღეისოდ ითვლება ერთერთ ეფექტურ ვექტორებად გენების გადატანისათვის.ამ რეტროვირუსების გენომი აგებულია ორი მოლეკულა ერთძაფიანი რნმ-საგან.ვირუსით უჯრედის დასნებოვნებისას უკუტრანსკრიპციით წარმოიქმნება ამ ვირუსის რნმ-ს კომპლემენტური დნმ. ასეთი ა-დნმ ჩაშენდება მასპინძლის დნმ-ში „პროვირუსის" სახით.იგი შეიძლება დარჩეს იქ სტაბილურად,ან გამოცალკევდეს და დასაბამი მისცეს ახალ ვირუსულ ნაწილაკს.როგორც აღმოჩნდა,დნმ-ს სინთეზი რნმ-ს ორივე ძაფზე ხდება.

როგორც აღვნიშნეთ,სხვადასხვა მკვლევართა მიერ განხორციელებულია ნა-

ირგვარი ექსპერიმენტები  უცხო კონკრეტული გენეტიკური ერთეულების შეყვანისა სხვადასხვა ძუძუმწოვარი ცხოველების უჯრედებში.ასეთი გენები ნორმალურად ექსპრესირდებიან და გადაეცემიან შთამომავლობას.არსებობს სრული საფუძველი იმ ოპტიმიზმისა,რომ ცხოველებზე გამოსაყენებელი სპეციფიკური გენეტიკურ-ინჟინერული ხერხების შემდგომი განვითარებისა და სრულყოფის საფუძველზე მიღებული იქნება სოფლის მეურნეობისათვის მნიშვნელოვანი შედეგები.სადღეისოდ უკვე ხერხდება „სასარგებლო გენების" შეყვანა მსხვილი რქოსანი საქონლის,ცხვრისა და სხვა ცხოველების გენომში.არის კონკრეტული ცნობები  ტრანსგენური ცხოველების მიღების შესახებ.

გენეტიკური ინჟინერია მცენარეებში. გენეტიკური ინჟინერიის საფუძველზე შესაძლებელია უახლო მომავლიდან ერთეულების შეტანა მცენარეებშიც. თანამედროვე ეტაპზე ეს ორი ძირითადი ხერხით ხორციელდება: 1. სხვადასხვა მცენარიდან მიღებული გარსმოცილებული უჯრედების— პროტოპლასტების პერუმითა და მიღებული ჰიბრიდის მომდევნო რეგენერაციით მაღალი მცენარედ და 2. უშუალოდ მცენარეულ უჯრედზე გენეტიკური მანიპულაციებით— მათში დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების შეყვანით.

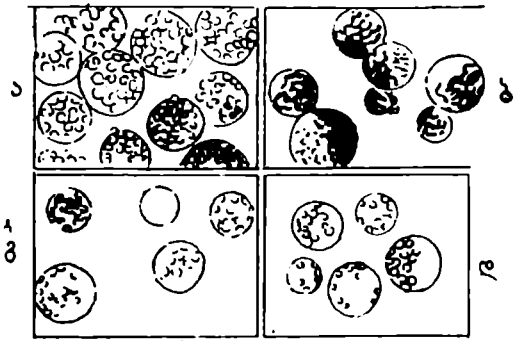
პირველი ხერხი ემყარება იმ ფაქტს, რომ უკანასკნელი სამი ათეული წლის განმავლობაში შემუშავებულია სრული მცენარის გამოზრდის მეთოდები ცალკეული კულტივირებული უჯრედებიდან. აქვე აღსანიშნავია, რომ ეს პროცედურა ყველა მცენარიდან და ყველა ქსოვილიდან ერთნაირი სიალვილით არ ხორციელდება. განსაკუთრებული მნიშვნელობა შეიძინა მცენარეთა გამოზრდამ სხვადასხვა ქსოვილებიდან და უჯრედებიდან მიღებული კალუსიდან. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს სუსტად დიფერენცირებული უჯრედების მასას, რომელიც წარმოიქმნება მცენარეზე მიყენებულ ჭრილობაზე. თუ ავიღებთ ჯერ კიდევ გაუმკვრივებელი კალუსის ნამცეცს და მოვათავსებთ სათანადო საკვებ არეში, რომელიც შეიცავს მარილებს, შაქარს, ვიტამინებს, ამინომჟავებს და გარკვეულ მცენარეულ ჰორმონებს, უჯრედები არ მკვრივდებიან და განაგრძობენ დაყოფას. საბოლოოდ მიიღება „კალუსის კულტურა" (სურ.58). მსგავსი კულტურები შეგვიძლია მივი-



სურ.58. ღობიოს ეპიკოტილებიდან მიღებული კალუსური ქსოვილი განვითარების მე-25 დღეზე (ავტორის ლაბორატორიიდან).

ლო სტერილურ პირობებში გამოზრდილი მცენარის შიგა ნაწილებიდან, ნორჩი ღივებიდან და ა.შ., შესაფერისი ჰორმონების თანაობისას.

თუ მცენარის უჯრედს დავამუშავებთ უჯრედის კედლის დამშლელი ფერმენტით—ცელულაზათი, მივიღებთ გარსმოცილებულ უჯრედებს—პროტოპლასტებს. გარ-




სურ.59. პროტოპლასტები ბარდას (ა), ცერცვის (ბ), სიმინდისა (გ) და სოიას (დ) ფოთლებიდან. ძლიერ გადიდებული. (ავტორის ლაბორატორიიდან).

კვეულ პირობებში პროტოპლასტები აღიდგენენ გარსს, იწყებენ დაყოფას და წარმოქმნიან კალუსს. ბევნაირი მცენარის კალუსიდან (თამბაქო, პომიდორი, კარტოფილი, პეტუნია, ლემა) ადვილად ხერხდება მთელი მცენარის რეგენერაცია

სურ.60. ხორბლის ჩანასახიდან მიღებული კალუსური ქსოვილიდან რეგენერირებული მცენარე (ავტორის ლაბორატორიიდან)

(სურ.60). პროტოპლასტებს შეეძლიათ შეითვისონ მაკრომოლეკულები, მათ შორის დნმ, რომლებიც ჩვეულებრივი უჯრედის კედელში ვერ გადიან. ზოგიერთი სახის, კერძოდ, თამბაქოს, სტაფილოს, კარტოფილის, ღიმას, პეტუნიასა და სხვა მცენარის სომატური უჯრედების პროტოპლასტების შერწყმით მიღებული ჰიბრიდული პროტოპლასტების რეგენერაციით უკვე მიღებულია მთლიანი მცენარეები. საყურადღებოა კარტოფილისა და პომიდორის პროტოპლასტების შერწყმით მიღებული მცენარე— პომატო (ინგლ. potato–კარტოფილი, tomato –პომიდორი).

კალუსის უჯრედებს ქრომოსომთა დიპლოიდური რიცხვი აქვთ. კულტივირებისას, დროთა განმავლობაში, მათი კარიოტიპი და პლოიდობა შეიძლება შეიცვალოს, რასაც მოჰყვება მცენარის რეგენერაციის უნარის დაკარგვაც. ამიტომ ექსპერიმენტებისათვის იყენებენ ახალ კულტურებს. ორი დიპლოიდური უჯრედის პროტოპლასტების შერწყმით მიიღება ტეტრაპლოიდური ჰიბრიდი და შეიცავს ორივე მშობლიური უჯრედის დიპლოიდურ კრებულებს. ასეთი პროტოპლასტების შემდგომ განვითარებას თან ახლავს მთელი რიგი სიძნელენი. ზოგჯერ მცენარის მიღებას ახერხებენ მტვრის მარცვლების კულტივირებით. ასეთი მცენარე ჰაპლოიდურია და მათი პროტოპლასტების შერწყმით მიიღება ნორმალური დიპლოიდური მცენარე, რომელსაც შენარჩუნებული აქვს ნაყოფიერება. ამ გზით მიღებულია ჰიბრიდები ისეთ მცენარეთა შორის, რომლებიც ჩვეულებრივ ერთმანეთს არ ეჯვარებიან. პროტოპლასტებით განხორციელებულ ჰიბრიდიზაციას პარასექსუალურ ჰიბრიდიზაციას უწოდებენ.

ისევე, როგორც ტრადიციული სელექციის მეთოდების გამოყენებისას, პროტოპლასტების შერწყმითაც შესაძლებელია მივიღოთ მემკვიდრული ნიშნების ახალი კომბინაციის მქონე ორგანიზმი. მაგრამ ამ დროს ვერ ხერხდება კონკრეტული გენების გადატანის განხორციელება. ეს შეიძლება მხოლოდ რეკომბინანტული დნმ-ს მიღებითა და შემდგომი მანიპულაციებით.

მცენარეულ უჯრედზე უშუალო გენეტიკური მანიპულაციები მათში ცალკეული მემკვიდრული ერთეულების შეტანის თვალსაზრისით, შედარებით ძნელია. ამისა-

თვის საჭიროა გარკვეული გენების მიღება სუფთა სახით და დიდი რაოდენობით და შემდგომი ჩართვა ქრომოსომაში. სადღეისოდ ბაქტერიულ უჯრედში შეგვიძლია შევიტანოთ ნებისმიერი დნმ-ს ნებისმიერი ფრაგმენტები. მცენარეთა შემთხვევაში ძალიან ძნელია დნმ-ს ისეთი ფრაგმენტების იდენტიფიცირება და კლონირება, რომელიც ჩვენთვის საინტერესოა. ასეთია, მაგალითად, მოსავლიანობის გამამპირობებელი გენები, რომელთა ფუნქციონირება პოლიგენური ხასიათისაა და მათი ბიოქიმიური საფუძვლები ერთიანად ნათელი არ არის. სიძნელეებია მეორე ეტაპზეც — კლონირებული გენების რეინტროდუქციისას მცენარეში.

არც თუ დიდი ხნის წინათ აღმოაჩინეს ბუნებრივი ვექტორი, რომლითაც ხორციელდება გენების შეტანა მცენარეულ უჯრედში. ეს ვექტორია ნიადაგში მცხოვრები ბაქტერიის **Agrobacterium tumifaciens**-ის უჯრედში არსებული ე.წ. Ti-პლაზმიდა. აღნიშნული ბაქტერია (რამდენიმე სახეობა) ასნებოვნებს ორლებნიანი მცენარეების ფესვებს. დასნებოვნების ადგილას წარმოიქმნება ფესვის გაღები, რომლებიც წარმოადგენენ სიმსივნის უჯრედების არადიფერენცირებულ მასას. ეს უჯრედები ბევრნაირად გვანან ცხოველური კიბოს უჯრედებს. კერძოდ, მათ გააჩნიათ შეუზღუდავი გამრავლებისა და არარეგულირებადი ზრდის უნარი. ხელოვნურად კულტივირებისას ფესვის გაღები კარგად იზრდებიან სპეციალური ჰორმონების გარეშეც, რასაც აუცილებლად საჭიროებენ ნორმალური მცენარეული უჯრედები. უფრო მეტიც! ფესვის გაღების უჯრედები, რომელთაც უკვე შეიძინეს სიმსივნის თვისება აგრობაქტერიების გავლენით, მაინც ინარჩუნებენ ტრანსფორმირებულ ფენოტიპს ყველა ბაქტერიის ანტიბიოტიკებით დახოცვის შემდეგაც. აღმოჩნდა, რომ სიმსივნეს იწვევს არა მთლიანად ბაქტერია, არამედ მასში არსებული Ti-პლაზმიდა, რომელსაც შესწევს მცენარეულ ქრომოსომაში ჩართვის უნარი.

ხსენებული აგრობაქტერიით გამოწვეული ხიმსმვნის უჯრედები იწყებენ უჩვეულო ამინომეავების, ე.წ. ოპინების სინთეზს, რომლებიც არგინინის ნაწარმებს წარმოადგენენ. ოპინები არასოდეს არ გვხვდება ჯანსაღ უჯრედებში.

ოპინების სინთეზის მაინდუცირებელი აგრობაქტერიების შტამებს შეუძლიათ გამოიყენონ ეს ამინომჟავები ნახშირბადისა და აზოტის წყაროდ.როგორც გაირკვა,ეს უნარი დეტერმინირებულია პლაზმიდებით.მცენარის ნორმალურ უჯრედებს არ შესწევთ ამ უჩვეულო ამინომჟავების უტილიზაციის უნარი.ამრიგად, ბაქტერიული ინფექცია იწვევს მცენარეული უჯრედის სიმსივნურ ტრანსფორმაციას,ამასთანავე გარდაქმნის მის მეტაბოლიზმს ბაქტერიული უჯრედის საჭიროების მიხედვით.ყველაზე გავრცელებული ოპინებია ოქტოპინი და ნოპალინი. Ti -პლაზმიდა (ინგლ.tumor inducing – სიმსივნის მაინდუცირებელი) დნმ-ს რგოლური მოლეკულაა,მოლ.მასით $1,2 \cdot 10^6$ დალტონი,რაც აგრობაქტერიის ქრომოსომების 3—5%-ს შეადგენს.პლაზმიდებს ანსხვავებენ ოპინის ტიპის მიხედვით,უმეტესობა წარმოქმნის ოქტოპინს ან ნოპალინს.ყოველ უჯრედში მხოლოდ ერთი ტიპის პლაზმიდაა.მათი დნმ-ს პირველადი სტრუქტურის ანალიზით დადგენილია,რომ შეიცავენ სულ ოთხ უბანს გამოხატული ჰომოლოგიით.გალური ტრანსფორმაციის გამომწვევ გენებს შეიცავს მხოლოდ ერთი უბანი.სწორედ ეს ე.წ. T -უბანი (T-დნმ)—ფრაგმენტი ირთვება მასპინძლის ქრომოსომაში.იგი შესანიშნავი ვექტორი აღმოჩნდა მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში იმის გამო,რომ აგრობაქტერიები ასნებოვნებენ თითქმის ყველა ორლებნიან მცენარეს,ინტეგრირებული T-დნმ მემვიდრეობს მენდელის კანონების მიხედვით და გენებს აქვთ საკუთარი პრომოტორები.მთლიანი პლაზმიდა ძალიან დიდია საფანადო მანიპულაციებისათვის.ამიტომ მისგან რესტრიქტაზებით ამოჭრიან T-უბანს, აკერებენ სტანდარტულ პლაზმიდაში და კლონირებენ ნაწლავის ჩხირში,ამრავლებენ,გამოყოფენ ამპლიფიცირებულ პლაზმიდებს,რის შემდეგაც T-სეგმენტში აკერებენ გარკვეულ გენს.ასევე „ჰიბრიდს“ამრავლებენ კვლავ ნაწლავის ჩხირში და შემდეგ შეაყვანთ აგრობაქტერიის უჯრედში,სადაც არის ბუნებრივი Ti-პლაზმიდა.ამ დროს ხდება ე.წ.ჰომოლოგიური რეკომბინაცია: T-სეგმენტთან მიკერებული ფრაგმენტიანად „ჰიბრიდი“ გადადის Ti-პლაზმიდაში,ხოლო ამ უკანასკნელიდან T-უბანი გადმოდის კლონირებულ ვექტორში.უკანასკნელი

ეტაპია აღწერილი ხერხით მოდიფიცირებული უცხო გენის შემცველი აგრობაქ-ტერიის შეყვანა უჯრედში.

არსებობს მეთოდი,როდესაც აგრობაქტერიებით ასნებოვნებენ უშუალოდ პრო-ტოპლასტებს და ღებულობენ ტრანსფორმირებულ უჯრედებს.უკანასკნელ ხანებში პრტოპლასტების ტრანსფორმაციას ახერხებენ უშუალოდ Ti-პლაზმიდის დნმ-ით უფრო მეტიც,ტრანსფორმაციისათვის საკმარისი აღმოჩნდა ინტაქტური T-დნმ და Ti-პლაზმიდის ერთი,ე.წ. vir-უბანი.ამ დროს საჭირო აღარაა ჰომოლო-გიური რეკომბინაციის ზემოთაღწერილი პროცედურა.

დნმ-ს კლონირებისა და რეკომბინაციების მეთოდებით,რომლებშიც გამოი-ყენება Ti-პლაზმიდა და მისი კომპონენტები,განხორციელებულია ბევრნაირი გენის შეყვანა მცენარეში.მაგალითად,რამდენიმე წლის წინათ სხვადასხვა მკვლევარებმა შეძლეს პარკოსანთა ცილა ფაზეოლინის,სიმინდის სამარაგო ცილის,საფუვრების აღკოპოლდეჰიდროგენაზის მაკოდირებელი გენების შეყვანა მზესუმზირაში.დიდი მუშაობა მიმდინარეობს აზოტფიქსაციის გენების შესაყვ-ანად უმაღლეს მცენარეებში,რის საბოლოო შედეგს დიდი მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეს მთელი სამყაროსათვის.

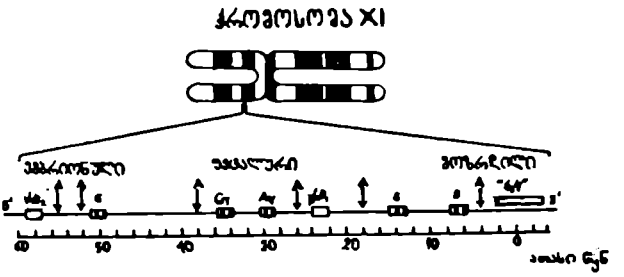
უკანასკნელ ხანებში ინტენსიურად შეისწავლება განსაკუთრებული მობილუ-რი გენეტიკური ელემენტები (ტრანსპოზონები),მათი,როგორც ვექტორად გამო-ყენებისათვის ამა თუ იმ გენის შესატანად მცენარეულ ორგანიზმში.ერთი ას-ეთი პერსპექტიული სისტემა ე.წ.რობერტსონის მუტატორი,აღმოჩენილია სიმი-ნდში.იგი შეიცავს 1500 ნწყ-ს და ბოლოვდება 200 ნწყ-იანი გამეორებებით.

ზემოთ აღწერილი სახის ექსპერიმენტების საბოლოო მიზანია სელექციონერე-ბს გააჩნდეთ მცენარეში ინდივიდური გენების შეყვანის ეფექტური ხერხები, ხოლო მოლეკულურ გენეტიკოსებს ხელთ ჰქონდეთ ზონდები მცენარეთა განვითა-რების შესწავლისათვის.არსებული მიღწევების საფუძველზე დღის წესრიგშია სხვადასხვა მცენარეთა მოსავლიანობის გადიდების,დაავადებებისადმი გამძ-ღეობისა და სხვა გენების კლონირება და შეტანა მცენარეში.

ადამიანის გენომი და გენეტიკური ინჟინერია. უკანასკნელ ხანებში ინტენსიურად შეისწავლება ადამიანის გენომი, რაშიც ეფექტურად გამოიყენება გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებიც. სხვადასხვა ქვეყნებში არსებობს სპეციალური სამეცნიერო-საკვლევი პროგრამა — „ადამიანის გენომი", რასაც დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ და უხვადაც აფინანსებენ დიდი პერსპექტულობის გამ.

ადამიანის ჰაპლოიდური გენომი შეიცავს $3 \cdot 10^9$ ნწყ-ს, სადაც დნმ-ს განმეორებადი უბნები შეადგენს 30%-ს. მაგი ასლები ვარირებს ერთეულებიდან რამდენიმე ათასამდე. დანარჩენი 70%, ე.ი. დაახლოებით $2 \cdot 10^9$ ნწყ „უნიკალური" განმეორებებია, რომლებიც წარმოდგენილია ერთი ან ერთეული ასლებით. უნიკალური უბნებიდან ტრანსკრიბირებული რნმ-ს (ჰეტეროგენული ანუ ჰტ-რნმ) 90% ბირთვშივე რჩება. ტრანსკრიბირებული რნმ-ს მხოლოდ 10%, რაც შეესატყვისება ქრომოსომაში $2 \cdot 10^8$ ნუკლეოტიდს, გამოდის ციტოპლაზმაში და ტრანსლირდება. თუ დავუშვებთ, რომ უკვე პროცესინგგავლილი და ციღის მაკოდირებელი მ-რნმ შედგება საშუალოდ 1500 ნუკლეოტიდისაგან, შეგვიძლია გამოვთვალოთ, რომ ადამიანის გენომი შეიცავს ინფორმაციას დაახლოებით 130000 სახის ციღის კოდირებისათვის ($2 \cdot 10^8 : 1500 = 130000$). ხშირად ამა თუ იმ პოლიპეპტიდის მაკოდირებელი გენები ადამიანის გენომში რამდენიმე ასლითაა წარმოდგენილი. ჯერჯერობით არ არსებობს ასეთი გენების ზუსტი წილის ან განმეორებადობის დონის განსაზღვრის ხერხები, მაგრამ არის საფუძველი იმ ვარაუდისა, რომ ადამიანის გენომით კოდირებული სხვადასხვა პოლიპეპტიდების რიცხვი 100000-მდე შეიძლება აღწევდეს.

ადამიანის გენომში შემავალი სტრუქტურული გენების რიცხვის გათვლისათვის ერთერთი შესაძლო ხერხია შემდეგი: ცნობილია, მაგალითად, ე.წ. ბ-გლობინის გენების ოჯახი, რომლის შესატყვისი დნმ-ს ფრაგმენტი შეიცავს 60000 ნწყ-ს და ცნობილია მაგი თანამიმდევნობაც. ეს ფრაგმენტი შედის XI ქრომოსომის შედგენილობაში და შეიცავს ხუთ სტრუქტურულ გენს: ბ, δ, $^A\gamma$, $^G\gamma$ და ε-ს (სურ.61), რომლებიც კოდირებენ ოთხ სხვადასხვა პოლიპეპტიდს




სურ.61.ადამიანის b-გლობინის გენების ოჯახი.ისინი განაწილებულია XI ქრომოსომაში.ამ ფრაგმენტის ზომაა ~60000 ნწ და შეიცავს ხუთ ფუნქციურად აქტიურ გენს და ორ ფსევდოგენს (ψβ2 და ψβ1). ციფრით 6,4 აღნიშნულია განმეორებადი თანამიმდევნობების ასლები, რომელთა რიცხვი გენომზე შეადგენს 3000-ს. A -თი აღნიშნულია Alu - განმეორებანი,რომლებიც ადამიანის გენომში ~ 30000-ჯერ მეორდება.

(ორი გენი γ იდენტურ ცილებს კოდირებს).ამრიგად,ყოველ ცილაზე მოდის 15000 ნწ (60000:4). მსგავსი მონაცემებია მიღებული α-გლობინის გენების ჯგუფის შესწავლით.დნმ-ს ფრაგმენტი,ზომით 30000 ნწ,განლაგებული XVI ქრომოსომაში,შეიცავს სამ ფუნქციურ გენს: α 1, α 2 და ζ ,რომლებიც კოდირებენ ორ ცილას -α და ζ -ს.ამ შემთხვევაშიც მიიღება შეფარდება—15000 ნწ თითოეულ ცილაზე. თუ ამ ციფრს ადამიანის გენომის საშუალო რაოდენობად მივიღებთ,რომელიც ერთ ცილაზე მოდის,შეგვიძლია დავასკვნათ,რომ ჰაპლოიდური გენომი კოდირებს $2 \cdot 10^9 : 1,5 \cdot 10^4 = 130000$ ინდივიდურ პოლიპეპტიდს.სხვადასხვა სტრუქტურული გენების რიცხვი შეიძლება რამდენადმე ნაკლები იყოს იმ შემთხვევაში,თუ გენომში განმეორებადობის საერთო დონე მთლიანად აღმოჩნდება უფრო მაღალი,ვიდრე ეს გლობინის გენების შემთხვევაშია.

ამეული ამასობით გენის კარტირება მეტად რთულია,თუმცა საქმეს აადვილებს ის გარემოება,რომ ზოგიერთი გენი შეკრებილია ჯგუფებად ანუ კლასტერებად.ასეთი განლაგება აქვთ,მაგალითად,ქსოვილშეთავსებადობის მთავარი კომპ.

ღექსისა და იმუნოგლობულინების გენებს. ადამიანის გენეტიკის შესწავლას აძნელებს ისიც, რომ საანალიზო შთამომავლობა შედარებით მცირერიცხოვანია, შთამომავლობანი მონაცვლეობენ ნელა და წყვილთა შერჩევა, ბუნებრივია, შეუძლებელია წინასწარ დაიგეგმოს. ადამიანის გენომის კარტირება არსებითად გაიოლდა სომატურ უჯრედებთან მუშაობის მეთოდების დამუშავებით. ამ მეთოდების დედაარსი და ტექნიკა — უჯრედთა ჰიბრიდიზაცია კულტურაში, გენების ქრომოსომშიგა კარტირება ქრომოსომების გარდაქმნებზე დაკვირვებით, დიფერენცირებული შეღებვითა და ა.შ. აღწერილია სათანადო სპეციალურ ლიტერატურაში. აქ მოვიხსენიებთ ერთ-ერთ უახლეს მეთოდს — გენების კარტირებას ე.წ. დნმ-ზონდებით. უჯრედთა კულტივირებისას ხერხდება იმ გენების კარტირება, რომლებიც ამ პირობებში ექსპრესირდებიან. ასეთებია, მაგალითად, ქსოვილშეთავსებადობის მთავარი კომპლექსის ცილების, სისხლის ჯგუფების ანტიგენების, ზედაპირული ანტიგენებისა და სხვ. გენები. იმ გენების კარტირებისათვის, რომლებიც უჯრედის კულტურის პირობებში ფენოტიპურად ვერ გამოვლინდებიან, გამოიყენება გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები, რომლებიც უაღრესად ეფექტური აღმოჩნდა. და შესაძლებელი გახადა ნებისმიერი თანამომდევნობების კარტირება. საჭიროა მხოლოდ დნმ-ს შესატყვისი ზონდები, რომლებიც წარმოადგენენ გენების კომპლემენტურ ა-დნმ-ებს, რომლებიც მიღებულია α- და β-გლობინების მ-რნმ-ების უკუტრანსკრიპციით. ეს ზონდები არ ურთიერთობენ ერთმანეთთან ან თაგვის გლობინის გენებთან გარკვეულ პირობებში და წარმოქმნიან სტაბილურ დუპლექსებს ადამიანის დნმ-ს შესაბამის თანამომდევნობებთან გამოწვეთ. გლობინის ა-დნმ-ზონდები გამოიყენეს ხსნარებში დნმ-ს პრეპარატების ტესტირებისათვის, რომლებიც სხვადასხვა ჰიბრიდული კლონებიდან იყო მიღებული. სტაბილური დუპლექსის წარმოქმნა ა-დნმ-ს ზონდსა და დნმ-ს საკვლევ პრეპარატს შორის მოწმობდა ადამიანის გლობინის გენების თანაობას შესაბამისი ჰიბრიდული ხაზის გენომში. ამ გზით მიღებული ჰიბრიდული კლონების კარიოლოგიური ანალიზი ნანახია, მაგალითად, რომ β-გლობინის ოჯახის გენები განლაგებულია XI

ქრომოსომაში, ხოლო α -გლობინის გენები XVI ქრომოსომაში.

კარტირების დონე სხვადასხვა მეთოდებით ერთნაირი არ არის. მაგალითად, ქრომოსომთა შეღებვის ყველაზე თანამედროვე მეთოდებით ადამიანის 23 ქრომოსომაში 1000-მდე ზოლის გამოვლენა ხერხდება. აქედან, თითოეულ ქრომოსომაზე მოდის საშუალოდ 50 ზოლი. ციტოგენეტიკური მეთოდებით კარტირებისას შეიძლება იმ მანძილების ლოკალიზება, რომლებიც რამდენიმე ასეულ გენს შეესატყვისება. გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით შესაძლებელია დნმ-ს ისეთი მონაკვეთების კარტირება, რომლებიც შეიცავენ რამდენიმე ათეულიდან 100-მდე ნწყ-ს, რაც შეესატყვისება ~10,1 სანტიმორგანს.

ადამიანის გენომის შესწავლაში გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენებამ ახალი შესაძლებლობანი და პერსპექტივები დასახა მედიცინაში. სადღეისოდ იდენტიფიცირებულია დაახლოებით 1800 გენი, რაც საერთო რიცხვის 1—5%-ს შეადგენს. დაახლოებით 1000 გენისათვის ერთ-ერთი ალტერნატიული ალელი შეესატყვისება რამდენიმე დაავადებას ან ანომალიას. უცხო გენის ჩართვა ლოკუსში, სადაც ჩვეულებრივ მდებარეობს ნორმალური ჰომოლოგიური გენი, შესაძლებელს ხდის გენეტიკური დეფექტების მკურნალობაში ჩარევას გენეტიკურ-ინჟინერული ხერხებით, კერძოდ ნორმალური გენის ჩასმას გენომში არარსებული ან დაზიანებული გენის მაგივრ. ამ მიმართულებით კვლევას სტიმულირებს ის გარემოება, რომ დღემდე ცნობილია 2000-მდე სახის გენეტიკური დაავადება.

გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები მკვიდრდება ბევრნაირი დაავადების დიაგნოსტიკაში. უაღრესად თვალსაჩინოა მიღწევები ავთვისებიანი ზრდის—კიბოს ბუნების გარკვევასა და მკურნალობის მეთოდების შემუშავებაში.

## დ ა მ ა ტ ე ბ ა

### გამოჩენილი მკვლევარები გენის ბუნების შესახებ

ტ.გ.მორგანი - „რა არის გენი?" (ნობელის ლექციიდან- „გენეტიკის მნიშვნელობა ფიზიოლოგიისა და მედიცინისათვის".1934 წ.).

როგორია მემკვიდრულ ერთეულთა ბუნება,რომელიც მენდელმა ჩამოაყალიბა როგორც წმინდა თეორიული პოსტულატი?რას წარმოადგენს გენი? გვაქვს თუ არა უფლება,მას შემდეგ,რაც შეეძლით გენების ლოკალიზება ქრომოსომაში,განვიხილოთ ისინი როგორც მატერიალური ერთეულები,როგორც უფრო მაღალი რანგის ქიმიური სხეულები,ვიდრე მოლეკულებია?გულახდილად რომ ვთქვათ,ამ საკითხს არ აქცევდნენ დიდ ყურადღებას ექსპერიმენტატორი-გენეტიკოსები,თუ არ ჩავთვლით იმ უსაფუძვლო სპეკულაციებს პოსტულირებული ერთეულების ბუნების შესახებ,რომლებიც დრო და დრო გამოითქმებოდა პრესაში.გენეტიკოსთა შორის არაა თანხმობა გენის ბუნების შესახებ- წარმოადგენენ თუ არა ისინი რეალობებს,თუ აბსტრაქციებია იმიტომ,რომ,იმ დონეზე,რომელზეც დღეგანდელი გენეტიკური ცდები იმყოფება,არაა არაცითარი სხვაობა— გენი ჰიპოთეზურია თუ მატერიალური ნაწილაკი.ორივე შემთხვევაში ეს ერთეული ასოცირებულია ქრომოსომის სპეციფიკასთან და შეიძლება იგი ლოკალიზებული იყოს იქ წმინდა გენეტიკური ანალიზით. ამიტომ,თუ გენი წარმოადგენს მატერიალურ ერთეულს,მაშინ იგი ქრომოსომის ნაწილაკია;და თუ გენი აბსტრაქტული კატეგორიაა,მაშინ იგი უნდა მიეკუთვნოს ქრომოსომის გარკვეულ ადგილს,ამასთან სწორედ იმ ადგილს,რომელსაც პირველი ჰიპოთეზა ითვალისწინებს.ამიტომ,პრაქტიკულ გენეტიკურ მუშაობაში მნიშვნელობა არა აქვს რომელ თვალსაზრისს მივემხრობით.

იმ ნიშან-თვისებათა შორის,რომლებთანაც საქმე აქვთ გენეტიკოსებს და გენებს შორის,რომლებიც პოსტულირდება მათი თეორიით,ძევს მთელი სივრცე ემბრიონული განვითარებისა,რომელშიც გენებისათვის დამახასიათებელი თვისებანი გამოვლინდება უჯრედთა პროტოპლაზმაში.აქ ჩვენ წამოგვეჭრება ფიზიოლოგიური

პრობლემა,რომელიც ახალია და უცხო ფიზიოლოგიის კლასიკური კურსებისათვის.

გენებს ჩვენ მივაწერთ ზოგიერთ საერთო თვისებას ნაწილობრივ გენეტიკური მონაცემების საფუძველზე,ნაწილობრივ კი გამომდინარე მიკროსკოპული დაკვირვებებიდან.ამჟამად ჩვენ შეგვიძლია განვიხილოთ ეს თვისებები.

ვინაიდან ქრომოსომები იყოფიან ისეთნაირად,რომ გენების მთელი მწკრივი იხლიჩება (ყოველი შვილეული ქრომოსომა ღებულობს საწყისი მწკრივის ზუსტად ნახევარს),ჩვენ ძნელად თუ შევძლებთ თავი ავარიდოთ იმ დასკვნას,რომ გენები იყოფიან ზუსტად თანაბარ ნაწილებად.მაგრამ როგორ ხდება ეს- არ ვიცით.ანალოგია უჯრედის დაყოფასთან გვაიძულებს წარმოვიდგინოთ,რომ გენიც ასევე იყოფა;მაგრამ არ უნდა დავივიწყოთ,რომ უჯრედის დაყოფის შედარებით უხეში პროცესი შეიძლება აღმოჩნდეს არასრულყოფილი გენის ორ თანაბარ ნაწილად საოცრად ზუსტი გაყოფის ახსნისათვის.რადგანაც არ ვიცით რამდენადმე შესადარებადი მოცულობები ორგანული მოლეკულების დაყოფისა,ჩვენ,მაშასადამე,ფრთხილნი უნდა ვიყოთ- მივაწეროთ გენს მარტივი მოლეკულური სტრუქტურა.მეორეს მხრივ,ორგანულ ნივთიერებაში მოლეკულათა რთული ჯაჭვის წარმოქმნამ შეიძლება დროთა განმავლობაში შესაძლებლობა მოგვცეს უკეთ წარმოვიდგინოთ გენის მოლეკულური ან რთული სტრუქტურა და მოვნიშნოთ გზა მისი დაყოფის ხერხის გაგებისათვის.

- - - - - - - - - - -

ჯ.ბიდლი „გენეტიკის ადგილი თანამედროვე ბიოლოგიაში"(ნობელის ლექციიდან- „გენები და ქიმიური რეაქციები ნეიროსპორაში".1958 წ.).

გარკვეული თვალსაზრისით გენეტიკა ობლად გაიზარდა.თავდაპირველად ბოტანიკოსები და ზოოლოგები მას ხშირად გულგრილად,ზოგჯერ მტრულადაც ეპყრობოდნენ.ხშირად ამბობდნენ — „გენეტიკას მხოლოდ გარეგნულ ნიშნებთან აქვს საქმე" მის ადრეულ ხანაში ნაკლებ ყურადღებას უთმობდნენ ბიოქიმიკოსებიც.მათ,განსაკუთრებით მედიკოს-ბიოქიმიკოსებმა,იცოდნენ პაროდის შესახებ,ნივთიერებათა ცვლის თანდაყოლილი დარღვევების შესახებ და,უეჭველია,შეაფასეს ისინი,

როგორც დაავადებანი, ბიოქიმიური თვალსაზრისით. მაგრამ ბიოლოგთა სამყარო არ იყო საკმაოდ მომზადებული იმისათვის, რომ სრულად შეეფასებინათ ა. პაროლდის აღმოჩენა და მისი იდეები. უნდა ითქვას, რომ გენეტიკოსები ესწრაფოდნენ ძირითადად ეკვლიათ გენეტიკური მასალის გადაცემა თაობიდან თაობაში.

საბედნიეროდ, ამჟამად სიტუაცია ძლიერ შეიცვალა. გენეტიკას მყარი ადგილი უკავია თანამედროვე ბიოლოგიაში. ბიოქიმიკოსები აღიარებენ, რომ გენეტიკური მასალა მათი შესასწავლი სისტემის განუყოფელი ნაწილია. ჩვენი სწრაფად განვითარებადი ცნებანი ციღებისა და ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურის შესახებ შესაძლებელს ხდიან (პირველად მეცნიერების ისტორიაში) — გენეტიკოსებმა, ბიოქიმიკოსებმა და ბიოფიზიკოსებმა ბიოლოგიის პრობლემები განიხილონ მოლეკულური სტრუქტურის საერთო ენაზე. ჩემი აზრით, ეს მეტად გამამხნევებელია და მნიშვნელოვანი.

---

ჯ. დ. უოტსონი „პროლოგი" (ნობელის ლექციიდან — „რნმ-ს როლი ციღების სინთეზში". 1962 წ.

მე ჩამოვედი კემბრიჯში 1951 წლის შემოდგომაზე. ოთხი თანამდე უმთავრესად გენეტიკით ვიყავი გატაცებული, ს. ლურიამ მომაწყო ჯონ კენდრიუსთან. ეს ის დრო იყო, როცა მე გული ამიცრუვდა გამოკვლევებზე, რომლებიც ფაგებს შეეხებოდა და მოვისურვე მეტი გამეგო იმ მოლეკულების ნამდვილი აღნაგობის შესახებ, რომლებზეც ასე გატაცებით ლაპარაკობდნენ გენეტიკოსები. ამავე დროს ჯონს სჭირდებოდა თანამშრომელი და ვიფიქრეთ, რომ მე დავეხმარებოდი მას მიოგლობინის რენტგენოსტრუქტურულ გამოკვლევებში. ასე გავხდი კენერის კოლეჯის თანამშრომელი და ჯონი ჩემი ხელმძღვანელი.

მაგრამ, ითქმის მაშინვე, როგორც კი მოვხვედი კავენდიშის ლაბორატორიაში, მივხვედი, რომ ვერასოდეს ვერ შევძლებდი ჯონის კარგი დამხმარე გავმხდარიყავი. ეს მაშინ იყო, როცა დაიწყო ჩვენი საუბრები ფრენსის კრიკთან. შესაძ-

ლია, რომ ფრენსის გარეშეც მიოგლობინი მაღე მომბეზრდებოდა, მაგრამ ფრენსისთან საუბრების შემდეგ ჩემი ბედი გადაწყვეტილი იყო. ჩვენ მაღე მიხვდით, რომ გესურს ერთნაირი გზით ციარით ბიოლოგიაში. ბიოლოგიის ცენტრალური პრობლემა იყო გენი და მის მიერ კონტროლირებული მეტაბოლიზმი უჯრედში. მთავარი ამოცანა იყო გაგება გენის რეპლიკაციისა და იმ გზისა, რომლითაც გენი კონტროლირებს ციღების სინთეზს. ცხადი იყო, რომ ამ პრობლემის გადაჭრის დაწყება შეიძლებოდა მხოლოდ მის შემდეგ, როგორც კი გაიშიფრებოდა გენის სტრუქტურა. ეს კი ნიშნავდა დნმ-ს სტრუქტურის ამოხსნას. იმ დროს გენეტიკოსებს ეს მიზანი მიუწვდომლად მიაჩნდათ. ჩვენ კი, კევენდიშის ბნელსა და ციც ლაბორატორიაში მსხდომნი, ვფიქრობდით, რომ შეგვეძლო ეს სამუშაო რამდენიმე თვეში გაგვეკეთებინა. ჩვენი ოპტიმიზმი ნაწილობრივ ეყრდნობოდა ლაინუს პოლინგის მიღწევას, რომელმაც დაასკვნა α-სპირალის არსებობა, გამომდინარე უმთავრესად თეორიული ქიმიის კანონებიდან, რაც ესოდენ დამაჯერებლად გადმოსცა თავის კლასიკურ ნაშრომში — „ქიმიური კავშირის ბუნება". ჩვენ ვიცოდით აგრეთვე, რომ მორის უილკინსს გააჩნია კრისტალური დნმ-ს რენტგენოგრამები. ამრიგად, დნმ-ს უნდა ჰქონოდა მოწესრიგებული სტრუქტურა; ისღა რჩებოდა, რომ მიგვეღო პასუხი.

მომდევნო 18 თვის განმავლობაში, ვიდრე არ გამოგვესახა დნმ-ს ორსპირალიანი სტრუქტურა, ჩვენ ხშირად განვიხილავდით იმის აუცილებლობას, რომ ნამდვილ სტრუქტურას უნდა გააჩნდეს თვითრეპლიკაციის უნარი. პესიმისტურად განწყობილნი, ჩვენ ხშირად ვწუხდით, რომ ნამდვილი სტრუქტურა „არასაინტერესო" ხომ არ აღმოჩნდებოდა; ხომ არ იქნებოდა იგი, კოლაგენის მსგავსად, რაღაც ინერტული. ამიტომ ორმაგი სპირალის აღმოჩენამ არა მარტო გაგვახარა, არამედ გაგვამხნევა კიდეც. ეს უჩვეულოდ საინტერესო იყო და მაშინვე მოგვეცა შესაძლებლობა გამოგვეთქვა მნიშვნელოვანი მოსაზრება გენების დუპლიკაციის შესახებ. გარდა ამისა, დნმ-ს რეპლიკაციის ჩვენი სქემა ითვალისწინებდა სრულიად გასაგები ჩვეულებრივი ქიმიური ძალების მონაწილეობას. ადრე ზოგიერთი ფიზი-

კოსი-თეორეტიკოსი,რომელთა შორის იყო პასკალ იორდანი,ვარაუდობდნენ,რომ მრავალი ბიოლოგიური მოვლენა (განსაკუთრებით გენების რეპლიკაცია) შეიძლება ეფუძვნებოდეს ჯერ კიდევ აღმოუჩენელ „შორეული მოქმედების" ძალებს, რომლებიც აღმოცენდებიან რეზონანსული კვანტურ-მექანიკური ურთიერთმოქმედების შედეგად.პოლინგს ძალიან მოსწონდა ასეთი ვარაუდი და დაკონკრეტებით ამტკიცებდა,რომ კომპლემენტურ ზედაპირებს შორის „ახლო მოქმედების" შეცნობილი ძალები შეიძლება აღმოჩნდნენ ბიოლოგიური რეპლიკაციის საფუძვლები.

დნმ-ს სტრუქტურის დადგენამ დაადასტურა ჩვენი მოსაზრება პოლინგის არგუმენტის სისწორის შესახებ,რომ „შორეული მოქმედების" ძალები,ან ნებისმიერი სხვა მსგავსი მისტიკური ძალები შეიძლება არ მონაწილეობდნენ ცილის სინთეზში.მაგრამ მარტო დნმ-ს სტრუქტურის ამოხსნა არ იძლეოდა იმ დროს არაფითარ წარმოდგენას ცილების რეპლიკაციის პროცესის შესახებ.მიუხედავად ამისა,ჩვენ არ გვაღელვებდა ეს,რადგან ვვარაუდობდით,რომ ცილის სინთეზში მონაწილეობს არა დნმ,არამედ რნმ.

- - - - - - - - - - - - - -

<u>მ.უილკინსი</u> „როგორ გავიგეთ,რომ გენეტიკური მასალა ქიმიური ნივთიერებაა"(ნობელის ლექციიდან- „ნუკლეინის მჟავების მოლეკულური სტრუქტურა".1962 წ.).

1946- 1950 წლებს შორის დაგროვდა ბევრი მონაცემი,რომელიც მიუთითებდა, რომ გენეტიკური ნივთიერება დნმ-ა და არა ცილა, ან ნუკლეოპროტეინი.აღმოჩენილი იქნა,მაგალითად,რომ დნმ-ს შემცველობა ქრომოსომების კრებულში მუდმივია და რომ,თუმცა ნუკლეოტიდების თანამიმდევნობა დნმ-ს მოლეკულაში მეტად რთულია,დნმ-ს შედგენილობა მოცემულ სახეობაში აგრეთვე მუდმივია.გამოითქვა მოსაზრება,რომ გენეტიკური ინფორმაცია შედის პოლინუკლეოტიდური ძაფის ოთხი ნუკლეოტიდის რთულ თანამიმდევნობაში.მაშინვე ყველამ აღიარა ბაქტერიების ტრანსფორმაციის უდიდესი მნიშვნელობა,ხოლო ჰერშისა და ჩეიზის

აღმოჩენამ,რომ ფაგის დნმ-ს გადააქვს ვირუსის გენეტიკური ინფორმაცია მშობლებიდან შთამომავლობაში,დაასრულა საკმაოდ სერიოზული გადატრიალება აზროვნებაში.

როდესაც ცნობილი გახდა,რომ გენეტიკურ ნივთიერებას წარმოადგენს დნმ, რომელსაც უმაღლესი დონის მოწესრიგებული ქიმიური სტრუქტურა გააჩნია და არაა ნაკლებმოწესრიგებული ნუკლეოპროტეინი,იმედი გენეტიკური ფუნქციის ახსნისა მოლეკულური სტრუქტურის საფუძველზე მნიშვნელოვნად გაიზარდა.მრავალი მონაცემი მიუთითებდა დნმ-ს სტრუქტურის სიმარტივესა და რეგულარულობაზე. ქიმიკოსებმა აჩვენეს,რომ დნმ წარმოადგენს პოლიმერს,რომლის პოლინუკლეოტიდურ ძაფში რეგულარულად ენაცვლებიან ერთმანეთთან $3^{I}-5^{I}$ ბმებით დაკავშირებული ფოსფატური ჯგუფი და დეზოქსირიბოზა. ჩარგაფმა აღმოაჩინა მნიშვნელოვანი კანონზომიერება:თუმცა ფუძეთა თანამომდევნობანი პოლინუკლეოტიდურ ძაფში რთულია და ფუძეთა შედგენილობა სხვადასხვა დნმ-ებში ძლიერ განსხვავდება,ნებისმიერ დნმ-ში ადენინის რაოდენობა ტოლია თიმინის რაოდენობისა და გუანინის რაოდენობა ტოლია ციტოზინის რაოდენობისა.ელექტრონულ მიკროსკოპში დნმ (მოჩანს) როგორც ერთგვაროვანი განუტოტავი ძაფი დიამეტრით ≈ 200 ნაკადში ორმაგი შუქგადატეხვის გაზომვით სინგერმა,კასპერსონმა და პამარსტენმა აჩვენეს,რომ ფუძეთა სიბრტყეები დნმ-ში თითქმის პერპენდიკულარულია ძაფისებრი მოლეკულის სიგრძის მიმართ.მათვე ჩაატარეს ულტრაიისფერი დიქროიზმის გაზომვები და მიიღეს იგივე შედეგები,ამასთანავე აჩვენეს დნმ-ს ფუძეების პარალელური განლაგება სპერმატოზოიდების თავაკებში.უფრო ადრე შმიდტმა და პატრმა ოპტიკური მეთოდებით აჩვენეს გენეტიკური მასალის შესანიშნავი მოწესრიგებულობა სპერმატოზოიდების თავაკებში.დნმ-ს ძაფებზე რენტგენის სხივების დიფრაქციის პირველი გამოკვლევები ჩაატარა ასტბერმა. მან აჩვენა,დნმ-ს დიდი მოწესრიგებულობა და სწორად ახსნა ძლიერი რეფლექსი 3,4 Å-ს დროს იმით,რომ ფუძეთა სიბრტყეები ჩალაგებულია დასტებად. გუანდისა და იორდანის პოტენციომეტრული ტიტრაციით ჩატარებულმა გამოკვლე-

ვამ აჩვენა, რომ ფუძეები დაკავშირებული ერთმანეთთან წყალბადური ბმებით და ჰოლანდმა ივარაუდა, რომ პოლინუკლეოტიდური ძაფები შეიძლება დაკავშირებული იყვნენ ამ წყალბადური ბმებით და ამ გზით წარმოქმნან მრავალძაფიანი მოლეკულები.

ამრიგად, შესანიშნავი დასკვნა, რომ წმინდა ქიმიურ ნივთიერებას გააჩნია უაღრესად მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური აქტივობა, დაემთხვა ამ ნივთიერების ბუნების შეცნობის მრავალმხრივ გაღრმავებას.

- - - - - - - - - - - - - -

ა.კორნბერგი „დნმ-ს აღწარმოებისადმი მიდგომა ენზიმოლოგიური თვალსაზრისით" (ნობელის ლექციიდან - „დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას ბიოსინთეზი". 1959 წ.).

თუმცა უოტსონმა და კრიკმა მოგვაწოდეს დნმ-ს აღწარმოების მექანიკური მოდელი, ჩვენ მაინც ჩვენ წინაშე უნდა დავსვათ შემდეგი კითხვა: როგორია ის ქიმიური მექანიზმი, რომელიც ახორციელებს ამ სუპერმოლეკულის სინთეზს უჯრედში? დაახლოებით 60 წლის წინათ შაქრის დადგენებას თვლიდნენ „სასიცოცხლო" პროცესად, რომელიც განუყოფელია ცოცხალი უჯრედისაგან; მაგრამ ბიუხნერის მიერ ექსტრაქტებში დუღილის პროცესის აღმოჩენის წყალობით ან ენზიმოლოგიის მიღწევების საფუძველზე XX საუკუნის პირველ ნახევარში, ჩვენ ამჟამად საფუვრებით დუღილს განვიხილავთ როგორც გარკვეული, ჩვენთვის ცნობილი ერთი მოლიანის შემადგენელი ქიმიური რეაქციების თანამიმდევნობას.

ხუთი წლის წინათ დნმ-ს სინთეზს განიხილავდნენ როგორც „სასიცოცხლო პროცესს". მაშინ ზოგიერთ მკვლევარს მიაჩნდა, რომ ბიოქიმიკოსებმა უნდა გამოიკვლიონ ნივთიერების წვის პროცესი უჯრედში, მაგრამ არ ჩაერიონ უჯრედის გენეტიკურ აპარატში, რადგანაც ამან შეიძლება მხოლოდ არევ-დარევა გამოიწვიოს. მაგრამ ეს ნაღვლიანი წინასწარმეტყველებანი არ დადასტურდა, ისევე, როგორც არ გამართლდა პესიმისტური თვალსაზრისი უჯრედის სტრუქტურისა

და მისი სპეციალიზირებული ფუნქციის კვლევის შესახებ.

მე, ამჟამად, როგორც ადრე, დარწმუნებული ვარ, რომ ნუკლეინის მჟავების ბიოსინთეზის პრობლემებისადმი ნაყოფიერი მიდგომისათვის მნიშვნელოვანია ვიცოდეთ მარტივი ნუკლეოტიდებისა და კოფერმენტების ბიოსინთეზის მექანიზმი და კარგად ვფლობდეთ ამ მონაცემებს და მათთან დაკავშირებულ მეთოდოლოგიას. სწორედ ამგვარი გამოკვლევების საფუძველზე ჩვენ შევიძინეთ რწმენა, რომ ნუკლეინის მჟავების ძირითად სამშენებლო ბიოსინთეზურ ერთეულებს წარმოადგენენ ნუკლეოზიდ-$5^{I}$-ფოსფატები. როგორც ცნობილია, პურინებისა და პირიმიდინების ბიოსინთეზის ყველა უმთავრეს გზას მივყევართ ნუკლეოზიდ-$5^{I}$-ფოსფატების წარმოქმნასთან; თავისუფალი ფუძეები ან ნუკლეოზიდები ჩვეულებრივ არ წარმოიქმნებიან, თუ არ ჩავთვლით ზოგიერთ სპეციალურ შემთხვევას. ჩვენთვის ცნობილია აგრეთვე ამ ნუკლეოტიდების $2^{I}$ და $3^{I}$-იზომერები, მაგრამ ისინი, როგორც ჩანს, წარმოიქმნებიან ნუკლეინის მჟავების ფერმენტული დაშლის რაღაც პროცესების შედეგად. კოფერმენტების ბიოსინთეზის შესწავლამ, რომლებიც წარმოადგენენ ნუკლეოტიდების კონდენსაციის ყველაზე მარტივ პროდუქტებს, გვიჩვენა, რომ ადენოზინტრიფოსფატის (ატფ-ს) კონდენსაციისას ნიკოტინამიდმონონუკლეოტიდთან წარმოიქმნება დიფოსფოპირიდინნუკლეოტიდი რიბოფლავინი -ფლავინ-ადენინდინუკლეოტიდი (ფად-ი) პანტოთეინფოსფატი- კოფერმენტ A-ს წინამორბედი და ა.შ. შემდგომში აღმოჩენილი იქნა ცხიმოვანი მჟავებისა და ჰმინომჟავების აქტივირების იდენტური მექანიზმები, აგრეთვე ნაჩვენებია, რომ ურიდინიანი, ციტიდინიანი და გუანიზინიანი კოფერმენტები წარმოიქმნებიან ანალოგიურად ამ ნუკლეოზიდების შესატყვისი ტრიფოსფატებიდან.

აღნიშნული მექანიზმები, რომელშიც ნუკლეოზიდმონოფოსფატის ნუკლეოფილური ზემოქმედება ადენინიანი ნაერთის აქტივირებულ პიროფოსფატულ ჯგუფებზე იწვევს კოფერმენტის წარმოქმნას, მიღებული იქნა სამუშაო ჰიპოთეზად დნმ-ს ძაფის სინთეზის შესასწავლად (...). ჩვენ ვივარაუდეთ, რომ ძირითადი სამშენებლო ერთეულია დეზოქსინუკლეოზიდ-$5^{I}$-ტრიფოსფატი, რომელთანაც ურთიერთობს

პოლიდეზოქსინუკლეოტიდური ჯაჭვის მზარდი ბოლოს $3^{I}$-პიდროქსილური ჯგუფი; ამასთან, ეხლიჩება არაორგანული ფოსფატი და ჯაჭვი გრძელდება ერთი ერთეულით. შედეგები, რომლებიც ჩვენ მივიღეთ დნმ-ს სინთეზის კვლევისას (...) ესადაგება რეაქციის ამ ტიპს.

- - - - - - - - - - -

ჯ. ლედერბერგი .ნობელის ლექციიდან- „გენეტიკის მიმოხილვა" 1959 წ.

„...ექსპერიმენტული გენეტიკა თავის სრულ ძალას აღწევს მხოლოდ ბიოქიმიასთან ერთობით: პრინციპში ყოველი ფენოტიპი, ბოლოს და ბოლოს, უნდა გამოისახოს ცილაში ამინომჟავების ზუსტი თანამიმდევნობით, ხოლო გენოტიპი - დნმ-ში ნუკლეოტიდების შესატყვისი თანამიმდევნობით. ზუსტი საზღვრის გაკეთება გენეტიკასა და ბიოქიმიას შორის უკვე უსარგებლოა. და როცა გენეტიკა საბოლოოდ დაიყვანება მოლეკულურ დონემდე, მაშინ გენეტიკასა და ბიოქიმიას შეუძლიათ დარჩნენ ისეთსაც ურთიერთობაში, როგორც ეს არსებობს თერმოდინამიკასა და მექანიკას შორის".

„ბიოლოგიის გაერთიანებას, რომელიც დარვინმა დაიწყო ასი წლის წინათ, აგვირგვინებს ბიოქიმია".

„დნმ-ს ქიმია იმსახურებს იმას, რომ მასზე გვიამბობდნენ ყველაზე ოსტატები".

- - - - - - - - - - -

გენის ბუნების შესახებ ნობელის პრემიის ლაურეატთა ზემოხსენებული გამონაჭრებები ამოღებულია წიგნიდან - ი. გერშკოვიჩი. გენეტიკა. თარგმნ. ინგლისურიდან, რუს. გამოცემა, მ., 1968 წ.

## ტ ე რ მ ი ნ თ ა  ლ ე ქ ს ი კ ო ნ ი

ადენოვირუსები— ცხოველების ვირუსები (დიამეტრი~ 80 ნმ), შეიცავენ ხაზობრივ, ორძაფიან დნმ-ს, რომელიც შემოვლებულია იკოსაედრული ფორმის ცილოვანი გარსით. ინფექციისას თავს იყრიან უჯრედის ბირთვში.

ამპლიფიკაცია— გენთა გაორმაგება (გამრავლება), მრავალჯერადი დუბლირება

აქტინომიცინი D — ანტიბიოტიკი, თრგუნავს რნმ-ს სინთეზს.

ალოსტერული ცილები— ცილები, რომელთა ბიოლოგიური თვისებები იცვლება მათი კონფორმაციული ცვლილებების გამო სხვადასხვა პატარ-პატარა სპეციფიკური მოლეკულების (ალოსტერული ეფექტორების) ზემოქმედებით. ეფექტორები ცილებს უკავშირდებიან არა აქტიურ ცენტრთან, არამედ სხვა უბნებთან.

ალუ-ოჯახი —Alu-ჰომოლოგიური დისპერგირებული თანამომდევნობების ოჯახი ადამიანის გენომში. მისი ჰომოლოგიური თანამომდევნობანი გვხვდება ძუძუმწოვრებშიც.

ამბერ-კოდონი— ტრიპლეტი უაგ, ერთ-ერთი „უაზრო" კოდონთაგანი, რომელიც განაპირობებს ცილის მოლეკულის სინთეზის ტერმინაციას.

ამბერ-მუტაცია— ნებისმიერი ცვლილება დნმ-ში, რომელიც იწვევს ამბერ-კოდონის წარმოქმნას ამინომჟავას მაკოდირებელი ტრიპლეტის მაგიერ.

ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზა— ფერმენტი, რომელიც განაპირობებს ატფ-ს დაკავშირებას ამა თუ იმ ამინომჟავასთან და ასეთნაირად გააქტივებული ამინომჟავის გადატანას ტ-რნმ-ზე. ფერმენტი დაახლოებით 20 სახისაა.

ანგსტრემი ( Å )— სიგრძის ერთეული, ერთი Å = $10^{-8}$ სმ-ს.

ანეუპლოიდია— ქრომოსომთა კრებული, როდესაც ქრომოსომთა რიცხვი არ არის პაპლოიდური კრებულის ჯერადი. ჩვეულებრივ კრებულთან შედარებით ერთი ან მეტი ქრომოსომა ზედმეტი ან ნაკლებია.

ანტიგენი — ნივთიერება, რომლის მოხვედრისას ხერხემლიანი ცხოველის ორგანიზმში სტიმულირდება ამ ნივთიერების მოქმედების გამანეიტრალებელი ანტისხეულების (იმუნოგლობულინების) წარმოქმნა. ანტიგენები შეიძლება იყოს ცილები, პოლისახარიდები, ნუკლეინის მჟავები, აგრეთვე მათი კომპლექსები დაბალმოლეკულურ ნაერთებთან. ანტისხეულების წარმოქმნა ორგანიზმის დამცავი რეაქციაა.

ანტიკოდონი — ტ-რნმ-ს სპეციფიკური ფუნქციური უბანი, რომელიც შედგება სამი ფუძისაგან. იგი „ცნობილობს" და უკავშირდება (ეწყვილება) მ-რნმ-ს კომპლემენტურ უბანს- კოდონს, რომელიც აგრეთვე სამ ფუძეს (ტრიპლეტს) შეიცავს.

ანტისხეულები, იმუნოგლობულინები — სპეციფიკური ცილები, რომლებიც ორგანიზმში წარმოიქმნებიან ანტიგენის შეჭრის შედეგად. სინთეზირდებიან ღიმფური კვანძის, ელენთის, ძვლის ტვინის უჯრედებში, საიდანაც სისხლსა და ღიმფაში გადადიან.

ასლი-დნმ (ა-დნმ) — ერთძაფიანი დნმ, რომელიც სინთეზირდება ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზით (რევერტაზით) რნმ-ს მატრიცაზე და ამ უკანასკნელის კომპლემენტურია

ატენუაცია — ტრანსკრიპციის რეგულაცია ტერმინაციის დონეზე, რაც ხდება ზოგიერთი ბაქტერიული ოპერონის ექსპრესიისას.

აუქსოტროპული (ბიოქიმიური) მუტანტები — ბაქტერიული მუტანტები, რომლებსაც შესაბამისი გენების დაზიანების შემთხვევაში უვითარდებათ დამატებითი მოთხოვნილებანი საკვების შემადგენლობის მიმართ.

ბაქტერიოფაგები, ბაქტერიული ვირუსები, ფაგები — ვირუსები, რომლებიც ბაქტერიებში მრავლდებიან.

ბლოტინგი დნმ-სი (საუზერნის მიხედვით) — დენატურირებული დნმ-ს გადატანის პროცედურა აგაროზის გელიდან ნიტროცელულოზის ფილტრებზე კომპლემენტურ

ნუკლეოტიდებთან ჰიბრიდიზაციისათვის.

β-გალაქტოზიდაზა— ფერმენტი,რომელიც შლის რძის შაქარს- ლაქტოზას გლუკოზად და გალაქტოზად.

გენების ბანკი (ბიბლიოთეკა)— მოცემული ორგანიზმის ყველა გენის კრებული,რომელიც მიღებულია დნმ-ს კლონირებული ფრაგმენტების სახით ვექტორის შედგენილობაში.

გენეტიკური ინჟინერია— ფუნქციურად აქტიური გენეტიკური სტრუქტურების - რეკომბინანტური დნმ-ების შექმნა ხელოვნურად,უცხო მემკვიდრეული ერთეულების შეტანა უჯრედში ახლებური ორგანიზმის კონსტრუირების მიზნით.

გენეტიკური ინფორმაცია— მემკვიდრეული ინფორმაცია,რომელიც შედის დნმ-ს ან რნმ-ს მოლეკულის ნუკლეოტიდთა თანამიმდევნობაში.

გენეტიკური კოდი— დნმ-ს ან რნმ-ს მოლეკულაში ჩაწერილი მემკვიდრეული ინფორმაციის შიფრი.

გენეტიკური რუკა— ქრომოსომაზე გენების (მეტაბელური საიტების) განლაგების სქემა;დგინდება გენეტიკური რეკომბინაციების ცდებზე დაყრდნობით.

გენი— კლასიკურ გენეტიკაში —ორგანიზმის ამა თუ იმ ნიშან-თვისების გამაპირობებელი მატერიალური ერთეული;მოლეკულურ გენეტიკაში— ქრომოსომის (დნმ-ს) უბანი,რომელიც კოდირებს რომელიმე ფუნქციურად აქტიურ პროდუქტს - რნმ-ს ან მისი ტრანსლაციის პროდუქტს (პოლიპეპტიდს).

გენების ჰომოზიგოტური წყვილი— მოცემული გენის იდენტური ალელები,რომლებიც დიპლოიდური უჯრედის ჰომოლოგიურ ქრომოსომებშია განლაგებული.

გენომი— გენთა ერთობლიობა,რომელსაც შეიცავს ქრომოსომთა ჰაპლოიდური კრებული.

გენოტიპი— ქრომოსომებში ლოკალიზებული ყველა მემკვიდრეული ფაქტორის (გენების) ერთობლიობა,ორგანიზმის გენეტიკური კონსტიტუცია.

დაღტონი— წონის ერთეული, რომელიც ტანგბადის ატომის წონის $^{1}/_{16}$-ის ტოლია (~ეთანაბრება წყალბადის ერთი ატომის წონას).

დეზოქსირიბონუკლეოპროტეიდი (დნპ)- დნმ-სა და ცილის კომპლექსი.

დელეციები— ქრომოსომის (დნმ-ს) ნაწილის ამოვარდნა-დაკარგვა. დელეციის ზომა სხვადასხვა შეიძლება იყოს- ერთი ნუკლეოტიდიდან რამდენიმე გენის შემცველ უბნამდე.

დენატურაცია დნმ-ს ან რნმ-ს—მოლეკულის გადასვლა ორძაფიანი ფორმიდან ერთძაფიან ფორმაში, ძაფების გაცალკევება ყველაზე ხშირად მიიღწევა გაცხელებით, pH -ის ცვლილებით, ქიმიური დამუშავებით. დენატურაცია შეიძლება იყოს შექცევადი.

დენატურაცია ცილის— მოლეკულის ფიზიოლოგიური კონფორმაციიდან სხვა (არააქტიურ) მდგომარეობაში გადასვლა.

დიმერი— ორი სუბერთეულის ურთიერთმიკავშირების შედეგად წარმოქმნილი სტრუქტურა.

დისკები-პოლიტენური ქრომოსომის მუქი ფერის უბნები. გარკვეული ქიმიური დამუშავებისას მეტ საღებავს ითვისებენ. მათში მეტია დნმ.

დისულფიდური კავშირი (ხიდაკი, ბმა)— კოვალენტური კავშირი გოგირდის ორ ატომს შორის, რომლებიც ცილის მოლეკულის სხვადასხვა უბნებში განლაგებულ ამინომჟავა ცისტეინში შედიან. მნიშვნელობა აქვს ცილის მეორეული და მესამეული სტრუქტურის წარმოქმნაში.

დნმ-საგან დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზა ანუ დნმ-პოლიმერაზა— ფერმენტი, რომელიც ახორციელებს დნმ-ს სინთეზს დ-ნტფ-ებიდან დნმ-ს მატრიცაზე.

დომინანტური გენი— აღილი, რომელიც თავის ფენოტიპურ მოქმედებას ამჟღავნებს როგორც ჰომოზიგოტურ, ისე ჰეტეროზიგოტულ მდგომარეობაში.

ეკზონი— ეუკარიოტული გენის ნაწილი, უბანი. ეკზონური უბნების შესატყვისი ტრანსკრიპტები ერთიანდებიან (სპლაისინგი) და წარმოქმნიან მ-რნმ-ს,

ეკზონი— ეუკარიოტული გენის ნაწილი, უბანი. ეკზონური უბნების შესატყვისი ტრანსკრიპტები ერთიანდებიან (სპლაისინგი) და წარმოქმნიან მ-რნმ-ს, რომელიც შემდგომში კოდირებს ამინომჟავების თანამიმდევნობას პოლიპეპტიდში.

ეკზონუკლეაზები— ფერმენტები, რომლებიც პოლინუკლეოტიდური ძაფის ბოლოებს ახლიჩენ ნუკლეოტიდებს; შეიძლება იყვნენ სპეციფიკურნი ერთდროულად დნმ-ს ან რნმ-ს $5^{I}$ ან $3^{I}$ ბოლოების მიმართ.

ენდონუკლეაზები— ფერმენტები, რომლებიც იწვევენ როლინუკლეოტიდური ძაფის შიგნით ნახშირბად-ფოსფატური უბნების დაწყვეტას; შეიძლება იყვნენ სპეციფიკურნი ორძაფიანი დნმ-ს ან ერთძაფიანი რნმ-ს მიმართ.

ელექტროფორეზი— ქიმიური ნაერთების (ცილების, პეპტიდების, ნუკლეინის მჟავების, ნუკლეოტიდებისა და სხვ.) გაცალკევების მეთოდი, რომელიც ემყარება იონთა ძვრადობის სიჩქარის განსხვავებას ელექტრულ ველში; მნიშვნელობა აქვს გასაცალკევებელ კომპონენტთა ელექტრული მუხტის სიდიდეს. გასაცალკევებელი ნარევის რაოდენობას მიხედვით ელექტროფორეზული გაყოფა ხორციელდება სხვადასხვა არეში— ხსნარებში, ნაირგვარ გელებში (სახამებელი, აგარზა, პოლიაკრილამიდი და სხვ.), პორებიან ფენებში და ა.შ.

ეპისომა— მემკვიდრული ფაქტორი, რომელიც არსებობს ბაქტერიის უჯრედში ქრომოსომისაგან დამოუკიდებლად, ან ამ უკანასკნელშია ჩართული. წარმოადგენს დნმ-ს და განაპირობებს გარკვეულ ნიშანთვისებას, მის მემკვიდრულ გადაცემას. ასეთი ნიშან-თვისებაა, მაგალითად, $F^{+}$ ფაქტორი.

ეუქრომატინი— ქრომატინის აქტიური, შედარებით ნაკლებად კომპაქტური უბანი, რომელიც ინტენსიურად ტრანსკრიბირდება.

ვექტორები, ვექტორული მოლეკულები— სპეციფიკური გენეტიკური სტრუქტურები, რომლებსაც გააჩნიათ უნარი მიიკავშირონ სხვა მემკვიდრული ფაქტორები (გენები) და შეიტანონ სხვა უჯრედში. ასეთებია, უმთავრესად, ბაქტერიული პლაზმიდები, ზოგიერთი ვირუსი, მიტოქონდრიული დნმ, რომლებიც ექსპერიმენტებში კამოიყენება.

ვირუსები—ბაქტერიებზე გაცილებით უფრო პატარა სხეულაკები (გადიან ფილტრის ქაღალდშიც), რომლებიც სხვადასხვა სახის დაავადებებს იწვევენ. მათი ზომა რამდენიმე ათეულიდან ასეულებამდე Å-ს აღწევს. თავისთავად სრულიად ინერტულია და მოქმედებას ამჟღავნებენ და მრავლდებიან მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში მოხვედრისას. ბაქტერიულ უჯრედებში მოპარაზიტე ვირუსებს ბაქტერიოფაგებს (ფაგებს) უწოდებენ. ვირუსი შედგება ნუკლეინის მჟავისა (დნმ-ს ან რნმ-ს) და ცილისაგან. დასნებოვნებისას უჯრედში იჭრება მხოლოდ ნუკლეინის მჟავა, რომელიც უჯრედში მოხვედრისას განაპირობებს მისთვის დამახასიათებელი ცილების სინთეზს მასპინძელი უჯრედის ცილამასინთეზირებელი აპარატის სტრუქტურების გამოყენებით.

ზიგოტა— განაყოფიერებული კვერცხუჯრედი; წარმოიქმნება ორი განსხვავებული სქესის გამეტის შერწყმით.

თანა-ბოქსი, გოლდბერგ-ჰოგნესის თანამომდევნობა (ბლოკი)— ა-თ-ით მდიდარი შვიდნაწევრიანი თანამომდევნობა, რომელიც მდებარეობს ~ 30 ნწყ-ის მანძილზე ტრანსკრიპციის ყოველი ერთეულის სასტარტო წერტილის წინ, რომელიც ტრანსკრიბირდება რნმ-პოლიმერაზა II-ით. როგორც ირკვევა, განაპირობებს სწორ ინიციაციას.

იმუნოგლობულინები— ცილის მოლეკულები, რომლებიც იკავშირებენ და ანეიტრალებენ ანტიგენებს. მათ Y-ს ფორმა აქვთ და შედგებიან ორი სუბერთეულისაგან. ყოველი სუბერთეული შეიცავს 4 პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს (2 მძიმესა და 2 მსუბუქს), რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია დისულფიდური ბმებით. მძიმე ძაფებს შორის განსხვავების მიხედვით იყოფიან 5 კლასად.

ინდუქტორი— მცირე ზომის მოლეკულა, რომელიც ჩართავს გენის ტრანსკრიპციას რეგულატორულ ცილასთან დაკავშირების შედეგად.

ინდუქცია— (უჯრედების (ბაქტერიებისა თუ სოფლვრების) თვისება ასინთეზიროს გარკვეული ფერმენტები მხოლოდ შესატყვისი სუბსტრატების თანაობისას; გენების ექსპრესიის მიმართ ტერმინი გამოხატავს ტრანსკრიპციის ჩართვას

ინდუქტორის ურთიერთობის შედეგად რეგულატორულ ციღასთან.

ინვერტირებული განმეორებანი— დნმ-ს ერთი და იგივე თანამიმდევნობის ორი ასლი ერთი მოლეკულის შედგენილობაში ერთმანეთის საპირისპირო ორიენტაციით. ერთმანეთს მისადაგებული ინვერტირებული განმეორებანი წარმოქმნიან პალინდრომებს.

ინსერცია— ჩამატება, ჩაშენება.

ინტრონი— ეუკარიოტული გენის ნაწილი-უბანი, რომლის შესაბამისი ტრანსკრიპტი იშლება, ე.ი. არ ფუნქციონირებს.

ინჰიბირება— უკუკავშირის პრინციპით (რეტროინჰიბირება, ინჰიბირება საბოლოო პროდუქტით— ფერმენტის საწყისი აქტივობის დათრგუნვა რეაქციის საბოლოო პროდუქტით.

კარტირება გენის ნატიფი სტრუქტურისა— გენეტიკური ანალიზი, რაც საშუალებას იძლევა ზუსტად განისაზღვროს და მოინიშნოს ქრომოსომაში ამა თუ იმ გენისა და მუტაციის ლოკალიზაცია.

კატაბოლური რეპრესია— გარკვეული ფერმენტების სინთეზის სიჩქარის შემცირება ბაქტერიებში, როდესაც იზრდებიან გლუკოზაზე ან კატაბოლიტის შემცველ სხვა წყაროზე. გაპირობებულია ასევე უჯრედებში ც-ამფ-ს დაბალი შემცველობით.

კაფსიდა— ვირუსის გარსი მაღალორგანიზებული სტრუქტურით, რომელიც შედგება ცილის აგრეგირებული სუბერთეულებისაგან. მის შიგნით მოთავსებულია ვირუსის ნუკლეინის მჟავა.

კილობაზა (კბ)— 1000 ნუკლეოტიდი.

კლონი— უჯრედების ჯგუფი, რომელიც წარმოდგება ერთი საერთო წინაპარი უჯრედიდან.

კლონირება— დნმ-ს მოლეკულათა ნარევის (მაგალითად, რეკომბინანტული პლაზმიდებისა, რომლებიც, როგორც ვექტორები, მოლეკულაში შეიცავენ უცხო დნმ-ს ფრაგმენტებს) დაყოფა ბაქტერიის უჯრედების საკვებ არეზე განთესვის გზით,

უჯრედებისა,რომლებშიც შეყვანილია რეკომბინანტული დნმ ტრანსფორმაციით. ბაქტერიის ერთი გაცალკევებული კოლონია წარმოადგენს კლონს,რომლის ყველა უჯრედი შეიცავს რეკომბინანტული დნმ-ს ერთი და იგივე სახის მოლეკულას.

<u>კოდონი</u>— სამი მეზობელი ნუკლეოტიდის თანამიმდევნობა მ-რნმ-ს მოლეკულაში,რომელიც კოდირებს რომელიმე ამინომჟავის განლაგებას პოლიპეპტიდში ან პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ტერმინაციას.

<u>კომპლემენტარობა</u>— აზოტოვანი ფუძეების შეწყვილებული კომპლექსების წარმოქმნის თვისება ნუკლეინის მჟავების მოლეკულათა ძაფების ურთიერთმოქმედებისას.ჩვეულებრივ,ადენინი ეწყვილება თიმინს (ან ურაცილს),ხოლო გუანინი - ციტოზინს.

<u>კონსტიტუციური ფერმენტები</u>— ფერმენტები,რომლებიც მუდმივად სინთეზირდებიან უჯრედში და ამ პროცესზე გარეშე პირობები გავლენას არ ახდენენ.

<u>კროსინგოვერი</u>— უბნების გაცვლა ჰომოლონიურ ქრომოსომებს შორის მათი გადაჯვარედინებისას (კონიუგაციისას) მეიოზის დროს.

<u>ლიზისი</u>— უჯრედის დაშლა გარსის დაზიანების შედეგად.

<u>ლიზოგენია</u>— მოცლენა,როდესაც ბაქტერიაში შეჭრილი ფაგი მრავლდება ისე, რომ ბაქტერია ცოცხალი რჩება;ფაგის დნმ ირთვება ბაქტერიის გენომში,ტრანს. კრიბირდება და მემკვიდრულობს ბაქტერიის გენომთან ერთად.

<u>ლიზოციმები</u>— ფერმენტები,რომლებიც შლიან ზოგიერთი ბაქტერიის უჯრედის კედელში შემავალ პოლისახარიდებს.

<u>ლინკერული დნმ</u>— ნუკლეოსომის დნმ,რომელიც მინიმალური ნუკლეოსომის (კორ-ნაწილაკის) გარეთაა.შეიცავს 146 წყნ-ს.

<u>ლოკუსი</u>— უბანი ქრომოსომაში,რომელშიც კარტირდება გარკვეული ნიშანთვისების გამპირობებელი გენი;ლოკუსი შეიძლება წარმოდგენილი იყოს მოცემული გენის ნებისმიერი აღლილით.

<u>მარკერი (დნმ)</u> — დნმ-ს ცნობილი ზომის ფრაგმენტი,რომელიც გამოიყენება ფრაგმენტების დაკალიბრებისათვის ელექტროფორეზულ გელში.

მატრიცული ,ინფორმაციული რნმ (მ-რნმ)- რნმ-ს ტიპი,რომელიც ემსახურება მატრიცად პოლიპეპტიდური ჯაჭვის,ციღის სინთეზს.წარმოიქმნება დნმ-ს გარკვეულ უბანზე და განსაზღვრავს (კოდირებს) ამინომჟავების რიგით წყობას - თანამიმდევნობას მომავალი ციღის მოღეკულაში.

მეიოზი— პროცესი,რომლის დროსაც დიპლოიდური უჯრედებიდან წარმოიქმნებიან ჰაპლოიდური სასქესო უჯრედები- გამეტები.

მიკრომეტრი-(მკმ), მიკრონი— სიგრძის ერთეული;ერთი მიკრონი= $10^{-4}$სმ.

მისენს-მუტაცია— მუტაცია კოდონის აზრის შეცვლით,რის შედეგადაც მოცემული კოდონი გარდაიქმნება სხვა ამინომჟავის მაკოდირებელ კოდონად.

მოზაიკური სტრუქტურა გენისა— (იხ.სპლაისინგი).

მოდიფიფიკაციები,მობილური დისპერგირებული ელემენტები,„მოხტუნავე გენები“— გენები,რომლებიც იცვლიან ადგილმდებარეობას (იხ.აგრეთვე ტრანსპოზონები).

მუტაგენები— მუტაციების გამომწვევი ფიზიკური ან ქიმიური ფაქტორები.

მუტაცია— ორგანიზმის რომელიმე ნიშან-თვისების მემკვიდრული ცვლილება; გამოიწვევა ქრომოსომისა და მისი უმთავრესი ქიმიური კომპონენტის- დნმ-ს ფიზიკო-ქიმიური ცვლილებებით.მუტაციების დროს არ ხდება გენების ხელახალი რეკომბინაცია.

ნანომეტრი— სიგრძის ერთეული;ერთი ნმ=$10^{-9}$სმ.

ნონსენს-მუტაცია- „უაზრო მუტაცია“,რომლის დროსაც ამა თუ იმ ამინომჟავის მაკოდირებელი კოდონი გარდაიქმნება ისეთ კოდონად,რომელიც არცერთ ამინომჟავას აღარ შეესატყვისება.ასეთი კოდონები ემსახურებიან პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ტერმინაციას.

ნუკლეაზები— ნუკლეინის მჟავების დამშლელი ფერმენტები;ხლეჩენ ფოსფოდიეთერულ კავშირებს ნუკლეინის მჟავების ძაფში.

ნუკლეოიდი— დნმ-საგან შემდგარი კომპაქტური წარმონაქმნი ბაქტერიებში.

ნუკლეოსომა— ქრომატინის შემადგენელი ძირითადი სტრუქტურული ნაწილაკი;

შედგება ~200 წყნ-სა და ჰისტონური ცილების ოქტამერისაგან.აქვს სფერული ფორმა დიამეტრით ~100 Å .

ოპერატორი— ოპერონის ერთ-ერთი უბანი— გენი,რომელსაც სპეციფიკურად უკავშირდება გენი-რეგულატორის პროდუქტი- რეპრესორი.კავშირი შექცევადია.

ოპერონი— გენეტიკური ერთეული,რომელიც შედგება რამდენიმე სპეციფიკურად მოფუნქციონირე გენისა და დამხმარე უბნებისაგან.ერთი ოპერონი კონტროლირდება ერთი პრომოტორით.

ღრა-კოდონი— ტრიპლეტი უუა,ერთ-ერთი უაზრო კოდონთაგანი,რომელიც იწვევს ცილის სინთეზის ტერმინაციას-

პალინდრომი— ეუკარიოტული დნმ-ს უბანი,რომელშიც ფუძეთა იდენტური თანამომდევნობანი მიმართულია ურთიერთსაპირისპირო მიმართულებით.

პლაზმიდები— ქრომოსომისაგან გამოცალკევებული ავტონომიური გენეტიკური ელემენტები,რომლებიც ბაქტერიებში განაპირობებენ ცალკეულ ნიშნებს.წარმოადგენენ რგოლური ფორმის დნმ-ს და რეპლიცირდებიან ბაქტერიული ქრომოსომისაგან დამოუკიდებლად.

პლეიოტროპია— გენის თვისება გავლენა მოახდინოს ერთზე მეტ ნიშან-თვისებაზე(რომლებიც არ არიან ერთმანეთთან უშუალოდ დაკავშირებული).

პოზიტიური კონტროლი გენომის ფუნქციონირებისა— კონტროლი,რომელიც ხორციელდება გარკვეულ კონფორმაციულ მდგომარეობაში მყოფი სპეციფიკური ცილებით.

პოლი-ა— ეუკარიოტული მ-რნმ-ს დაბოლოებანი $3^{I}$-ბოლზე („კუდები“).შეიცავენ ~ 200 ნუკლეოტიდს და წარმოიქმნებიან არა ტრანსკრიპციის პროცესში, არამედ შემდგომი პოლიმერიზაციის შედეგად.

პოლისომა,პოლირიბოსომა— რამდენიმე რიბოსომისაგან შემდგარი წარმონაქმნი,რომელშიც რიბოსომები ერთმანეთთან დაკავშირებულია მ-რნმ-ით.

პოლინუკლეოტიდლიგაზა,ლიგაზა—ფერმენტი,რომელიც ერთმანეთთან კოვალენტურად აკავშირებს დნმ-ს ფრაგმენტებს.

პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზა— ფერმენტი,რომელიც ახორციელებს პოლირიბონუკლეოტიდური ძაფის (რნმ-ს) წარმოქმნას რიბონუკლეოზიდდიფოსფატებიდან.

პრიბნოვის თანამომდევნობა,ბლოკი— თანამომდევნობა თათაათგ,რომელიც მდებარეობს ~ 10 წყნ-ის მანძილზე ბაქტერიული გენომის სასტარტო წერტილიდან. წარმოადგენს პრომოტორის ნაწილს,რომელიც განაპირობებს რნმ-პოლიმერაზასთან დაკავშირებას.

პროვირუსი— მასპინძელი უჯრედის ქრომოსომაში ინტეგრირებული ვირუსი,რომელიც ამ სახით გადაეცემა ერთი თაობიდან მეორეში.

პრომოტორი— გენის სპეციფიკური უბანი,რომელსაც უკავშირდება მატრანსკრიბირებელი ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა და იწყება ტრანსკრიპციის პროცესი.

პროფაგი— ლიზოგენური ფაგის პროვირუსული სტადია.

pbR322— ერთ-ერთი სტანდარტული ვექტორი-პლაზმიდა,რომელიც გამოიყენება კლონირებისას.

რადიოავტოგრაფია— რადიოაქტიურად მონიშნული მოლეკულების აღმოჩენა,რომელიც ემყარება მათ უნარს დატოვონ კვალი ფოტოგრაფიულ ფირფიტაზე.

რეასოციაცია-დნმ-სი— კომპლემენტური ძაფების ურთიერთმოქმედება ორძაფიანი სპირალის წარმოქმნით.

რევერტაზა— ფერმენტი,რომელიც წარმოქმნის დნმ-ს რნმ-ის მატრიცაზე.

რეკომბინაცია— მემკვიდრულ ერთეულთა ახლებური შეპირისპირება;ნიშან-თვისებათა გამოვლენა შთამომავლობაში ისეთი შეპირისპირებით,რომელიც არ იყო არცერთ მშობელში.

რეკომბინაციური მოლეკულები— სხვადასხვა წარმოშობის ხელოვნურად მიერთებული,ახლებურად კონსტრუირებული მოლეკულები.

რენატურაცია— ცილის ან ნუკლეინის მჟავის ნატივური მდგომარეობის აღდგენა დენატურაციის შემდეგ.

რეპარაცია დნმ-სი — დნმ-ს სინთეზი,ხელახალი წარმოქმნა მოლეკულის ძაფის დაზიანების ადგილებში.ხდება მატრიცულად.

რეპლიკაცია— ნუკლეინის მეავების ერთი ძაფის (რეპლიკის) წარმოქმნა მეორე კომპლემენტური ძაფის (მატრიცის) მოლეკულაზე.

რეპრესია— ტრანსკიპციის (ან ტრანსლაციის) ინჰიბირება ციდა-რეპრესორის მიკავშირებით დნმ-ს (ან მ-რნმ-ს) სპეციფიკურ საიტთან.

რეპრესორი— გენი-რეგულატორის პროდუქტი, რომელიც უკავშირდება გენ-ოპერატორს და ამით არეგულირებს სტრუქტურული გენის ჩართვა-გამორთვას. ქიმიურად ცილაა.

რესტრიქტაზები-რესტრიქციული ფერმენტები, რომლებიც ხლეჩენ დნმ-ის ძაფებს მოცემული ფერმენტის ზუსტად შესაბამის ადგილას ფუძეების გარკვეულ თანამიმდევნობებთან და მიიღება სპეციფიკური ფრაგმენტები. ფრაგმენტებს აცალკევებენ ელექტროფორეზით.

რეპლიკაციის ორკაპი (ჩანგალი)— წერტილი, რომლიდანაც მშობლიური დნმ-ს საწყისი ორი ძაფი ცალკევდება, რათა თვითეულმა მათგანმა მიიშენოს მეორის მსგავსი ძაფი.

რესტრიქციული რუკა— საიტების ხაზობრივი თანამიმდევნობა, რომლებშიც დნმ იხლეჩება სხვადასხვა რესტრიქტაზებით.

რეტროვირუსები— რნმ-ს შემცველი ვირუსები ცხოველებისა. შეიცავენ რევერტაზას. გამრავლების ციკლს გადიან ორძაფიანი დნმ-ს სტადიის გავლით.

რიფამიცინი— ანტიბიოტიკი, თრგუნავს ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზისა და ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზის III-ფორმის აქტივობას ინიციაციის სტადიაზე.

რნმ-პოლიმერაზა, დნმ-საგან დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა— ახორციელებს რნმ-ს კომპლემენტური ძაფის სინთეზს დნმ-ს მატრიცაზე რიბონუკლეოზიდტრიფოსფატებიდან.

საიტი —უბანი ნუკლეოტიდების თანამიმდევნობისა, ცილის მოლეკულისა და ა.შ

სატელიტური დნმ— ეუკარიოტული დნმ-ს ნაწილი, რომელიც ყველაზე მეტი სიხშირით შეიცავს ნუკლეოტიდთა განმეორებად თანამიმდევნობებს. ზუსტი ფუნქცია უცნობია.

სეკვენირება — ნუკლეოტიდების ან ამინომჟავების თანამიმდევნობის განსაზღვრა.

სვედბერგის ერთეული ( S ) — სედიმენტაციის კოეფიციენტის ერთეული, რომელიც მოლეკულის დაღექვის სიჩქარის პროპორციულია მოცემული ცენტრიდანული სიჩქარის დროს ცენტრიფუგირებისას; დამოკიდებულია მოლეკულური მასისა და ფორმისაგან. რიცხვობრივად უდრის მოლეკულის მოძრაობის სიჩქარეს მოცემულ არეში, როცა აჩქარების ველი ტოლია $S = \frac{X}{\omega^2 r}$, სადაც $X$ – მოლეკულის სიჩქარეა ულტრაცენტრიფუგის კუვეტში, $\omega$ – კუთხური სიჩქარეა ($\omega = 2\pi\nu$, სადაც $\nu$ ბრუნვათა რიცხვია სეკუნდში), ხოლო $r$ – ბრუნვის რადიუსი (მანძილი ბრუნვის ღერძიდან პოლიმერის მოძრაობის საზღვრამდე.

სიგმა-ფაქტორი ( $\sigma$-ფაქტორი) — ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზის სუბერთეული, რომელიც საჭიროა ინიციაციისათვის; გავლენას ახდენს უპირატესად მიკავშირების საიტების არჩევაზე.

სომატური მუტაცია — მუტაცია ნებისმიერი სომატური უჯრედისა, რომელიც საჩანასახო უჯრედად არ გადაიქცევა.

სპლაისინგი — ინტრონების მოცილებისა და ეკზონების მ-რნმ-დ გაერთიანების პროცესი.

სპონტანური მუტაცია — მუტაცია, რომელიც აღმოცენდება ხილული მიზეზების გარეშე.

სტრუქტურული გენი — კოდტრეგს რნმ-ს ან ცილას.

სუპრესია — ცვლილებანი, რომლებიც იცილებენ მუტაციის გამოვლენას, ამასთან არ ასწორებენ საწყის დარღვევებს დნმ-ში.

სუპრესორული გენი — გენი, რომელსაც შეუძლია სხვადასხვა მუტაციების დაძარგვა სხვა გენებში. ცნობილია გენისშიგა და გენისგარე სუპრესორები, აგრეთვე ე.წ. უაზრო კოდონის სუპრესორი, რომელიც კოდირებს მუტანტურ ტ-რნმ-ს – უაზრო კოდონის გამომცნობს.

სუპრესორული მუტაცია — მუტაცია, რომლის შედეგადაც სრულიად ან ნაწილობ-

რივ აღდგება პირველადი მუტაციის შედეგად დაკარგული ფუნქცია. იგი პირველადი მუტაციის საიტისაგან განსხვავებულ გენეტიკურ საიტშია ლოკალიზებული.

S I-ნუკლეაზა— ფერმენტი, რომელიც სპეციფიკურად დეგრადირებს შეუწყვეტელ (ერთძაფიან) თანამომდევნობებს დნმ-ში.

ტანდემური განმეორებანი— ერთნაირი განმეორებების მრავლობითი ასლები, რომლებიც განლაგებულია ერთმანეთის მიყოლებით და ორიენტირებულნია ერთი მიმართულებით.

ტემპერატურა ლღობისა— შეესატყვისება ტემპერატურული ინტერვალის საშუალო მნიშვნელობას, რომლის საზღვრებშიც ხდება დნმ-ს მოლეკულის ლღობა.

ტერმინატორი— თანამომდევნობა დნმ-ში, რომელიც განაპირობებს ტრანსკრიპციის დამთავრებას (შეწყვეტას).

ტერმინაციული კოდონი— ერთ-ერთი ტრიპლეტთაგანი სამიდან- უაგ (ამბერი), უაა (ოხრე) ან უგა, რომლებიც განაპირობებენ ციღის (პოლიპეპტიდური ჯაჭვის) სინთეზის ტერმინაციას. მათ უაზრო კოდონებსაც უწოდებენ.

ტრანსდუქცია— ბაქტერიული გენების გადატანა ერთი ბაქტერიული უჯრედიდან მეორეში ფაგების მიერ, რის შედეგადაც მასპინძელი ბაქტერია იცვლება.

ტრანსკრიპცია— რნმ-ს სინთეზი დნმ-ს მატრიცაზე ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზით. სინთეზირებული ძაფი დნმ-მატრიცის შესაბამისი უბნის კომპლემენტურია.

ტრანსლაცია— პოლიპეპტიდური ჯაჭვის (ციღის) მოლეკულის წარმოქმნა რიბოსომებზე, რაც მ-რნმ-ში ნუკლეოტიდების თანამომდევნობის შესატყვისად ხდება.

ტრანსპოზონები— გენების შემცველი მოძრავი (ადგილმონაცვლე) გენეტიკური ელემენტები (დნმ-ს მონაკვეთები), რომლებსაც შესწევთ უნარი ჩაირთონ ქრომოსომის სხვადასხვა უბანში ან არაქრომოსომული დნმ-ს სხვადასხვა უბანში.

ტრანსფორმაცია— გენეტიკური ცვლილება (ბაქტერიული) უჯრედისა, რაც გამოწვეულია მასში უცხო დნმ-ს მოხვედრით.

ტრანსპორტული რნმ (ტ-რნმ)— რნმ-ს ტიპი, რომლის ფუნქციაა შესატყვისი ამინომჟავის მიკავშირება და მიტანა ციღის სინთეზის ადგილთან- რიბოსომებ-

თან.40-მდე სახისაა.

ტრიპლეტი— მ-რნმ-ს სამი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი მონაკვეთი,რომელიც შეესატყვისება (კოდირებს) ერთ ამინომჟავას.

უკუტრანსკრიპცია— დნმ-ს სინთეზი რნმ-ს მატრიცაზე,რაც ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზით (რევერტაზით) ხორციელდება.

ულტრაცენტრიფუგა— დიდსიჩქარიანი ცენტრიფუგა;როტორმა შეიძლება იტრიალოს 60000 და მეტი ბრ წთ სიჩქარით და შექმნას აჩქარება,რომელიც $0,7X10^6$-ჯერ და მეტადაც აღემატება დედამიწის მიზიდულობას.ეს გარემოება უზრუნველყოფს მოლეკულების სწრაფ დაღექვას მოტრიალე სინჯარებში.

ფაგები— (იხ.ბაქტერიოფაგები,ბაქტერიული ვირუსები).

ფენოტიპი— ორგანიზმის გარეგან ნიშან-თვისებათა ერთობლიობა.

ფერმენტები რესტრიქციისა— ზუსტად ცნობილობენ მათთვის შესატყვის მოკლე თანამიმდევნობებს არამეთილირებული დნმ-ს მოლეკულაში და შესაბამისად ხლეჩენ („ჭრიან") ფრაგმენტებად.

ფსევდოგენები— ფუნქციურად არააქტიური,მაგრამ სტრუქტურულად სტაბილური ელემენტები გენომში;წარმოშობილან ადრე მოფუნქციონირე გენების მუტაციების შედეგად.

ქრომატიდები—გაორმაგებული ქრომოსომების ორი შეღლეული ძაფი,რომლებიც ჯერ კიდევ შეერთებულია ერთი ცენტრომერით.

ქრომატინი— უჯრედის ბირთვის ნივთიერება,ინტენსიურად იღებება ფუძე საღებავებით.ინტერფაზულ ბირთვში (სინათლის მიკროსკოპით) ბადისებრი შესახედია და ქრომოსომების დესპირალიზებულ ფორმად ითვლება.ძირითადი შემადგენელი ქიმიური კომპონენტებია დნმ და ნაირგვარი ცილები,შეიცავენ,აგრეთვე, რნმ-ს,ლიპიდებსა და პოლისახარიდებს.

ქრომომერები (დისკოები)— ქრომონემების შემცველი უბნები,რომლებიც გასწვრივათაა განლაგებული გარკვეული თანამიმდევნობით,შეიცავენ ჰეტეროქრომატინს, იღებებიან ინტენსიურად.

ქრომონემები— ქრომოსომების სუბმიკროსკოპული სიგრძივი სტრუქტურული ერთეულები. ქიმიურად ნუკლეოპროტეიდებია.

ქრომოსომები — უჯრედის ბირთვში არსებული ძაფისებრი ან ჩხირისებრი სტრუქტურები, რომლებიც კარგად ჩანან მიტოზის დროს. თვითეული ქრომოსომა შედგება ორი ურთიერთდაკავშირებული სიგრძივი ნახევრისაგან- ქრომატიდისაგან. ქიმიური შედგენილობა ისეთივეა, როგორც ქრომატინისა. ყოველ ორგანიზმს ქრომოსომთა მისთვის დამახასიათებელი რიცხვი აქვს.

შეჭიდული გენები - ერთ ქრომოსომაში ლოკალიზებული გენები, რომელთაც ერთად მემკვიდრეობის ტენდენცია აქვთ.

ცენტრიფუგირება (დაღექვა, სედიმენტაცია) სიმკვრივის გრადიენტში—ორგანელების ან მოლეკულების გაცალკევების მეთოდი, რომელიც ემყარება მათს განსხვავებას დაღექვის სიჩქარეში ცენტრიფუგირების დროს რომელიმე ნივთიერების წინასწარ მომზადებული სიმკვრივის გრადიენტში.

ცენტრიფუგირება წონასწორობრივი—ცენტრიფუგირებით მოლეკულათა გაცალკევების მეთოდი მათი სიმკვრივის სხვაობაზე დაყრდნობით. ხშირად გამოიყენება ნუკლეინის მჟავების, მათი ნაირგვარი კომპონენტების გასაყოფად. ცენტრიფუგირება ხდება მაღალ ბრუნვებზე მარილთა (მეტწილად იყენებენ ცეზიუმის ქლორიდს) კონცენტრირებულ ხსნარებში. ცენტრიფუგირება მრავალ საათს გრძელდება, რის დროსაც იქმნება სიმკვრივის გრადიენტი და საკვლევი ნივთიერების სხვადასხვა ფრაგმენტები მათი შესატყვისი სიმკვრივის ზოლს იკავებენ.

ცისტრონი — გენეტიკური ერთეული, რომელიც გამოვლინდება კომპლემენტაციური ტესტით; ეკვივალენტურია გენისა და ნიშნავს დნმ-ს ერთეულს, რომელიც ცილას კოდირებს.

ცენტრომერი—ეუკარიოტული ქრომოსომის უბანი, რომელსაც კინეტოქორი ემაგრება. იყოფა რეპლიკაციური ქრომოსომის გაცალკევების წინ, ე.ი. აერთებს ორ შვილეულ ქრომატიდს.

„ცხელი წერტილები“— გენების უბნები, რომლებშიც მუტაციები მეტისმეტად

მაღალი სიხშირით ხდება.

ციკლური ადენოზინმონოფოსფორის მეკავა (ც-ამფ) — ამფ-ს მოლეკულა, რომელშიც ფოსფატის ჯგუფი შეერთებულია რიბოზის როგორც $3^{I}$-, ისე $5^{I}$-მდგომარეობებთან; ც-ამფ-სთან დაკავშირებას ააქტივებს cap-ცილა, რომელიც წარმოადგენს ტრანსკრიპციის დადებით რეგულატორს პროკარიოტებში.

ციტოპლაზმური მემკვიდრეობა — მემკვიდრეობა, რომელიც გაპირობებულია მიტოქონდრიებში და ქლოროპლასტებში (შესაძლოა სხვა ორგანელებშიც) ლოკალიზებული გენებით.

ჰელას უჯრედები (HeLa) — სიმსივნის უჯრედების სპეციალური ხაზი, რომელიც გამოყოფილია 1951 წელს საშვილოსნოს ყელის კიბოთი გარდაცვლილი ზანგი ქალის ჰენრიეტა ლეკსის (Henrieta Lacks) საშვილოსნოს ყელიდან. გამოიყენება ადამიანის უჯრედებისათვის დამახასიათებელი მეტაბოლიზმის, ზრდის პროცესებისა და სხვა თავისებურებათა შესასწავლად.

ჰეპატომა — ღვიძლის კიბოს განსაკუთრებული ფორმა.

ჰეტეროდუპლექსი — დნმ-ს ორძაფიანი მოლეკულა, რომელშიც ფუძეთა თანამომდევნობა ორივე ძაფში ყველა უბანზე არაა ურთიერთკომპლემენტური. ასეთი მოლეკულები წარმოიქმნება მუტაციებისა და რეკომბინაციების შედეგად, აგრეთვე დნმ-ს სხვადასხვა ცალკეული ძაფების ხელოვნური შეწყვილებისას (იხ. მოლეკულური ჰიბრიდიზაცია).

ჰეტეროზიგოტული წყვილი — მოცემული გენის ორი სხვადასხვა ალელი, რომელიც წარმოდგენილია დიპლოიდური ორგანიზმის ჰომოლოგიურ ქრომოსომებში.

ჰეტეროქრომატინი — ქრომატინის ძლიერ კომპაქტური უბანი, რომელზეც რნმ არ ტრანსკრიბირდება; კომპაქტურადვე რჩება ინტერფაზაშიც.

Hfr-უჯრედები (ინგლ. high frequency of recombination-რეკომბინაციების მაღალი სიხშირე) — ბაქტერია ნაწლავის ჩხირის შტამი, რომელშიც მეტად მაღალია რეკომბინაციების სიხშირე. ამ ტიპის ბაქტერიის უჯრედებში ფაქტორი ჩართულია ბაქტერიის ქრომოსომაში, რომელიც, როგორც ვარაუდობენ) მონაწილე-

ობს მემკვიდრეული ფრაგმენტების გადატანაში $H_2$-ის უჯრედებიდან $F^-$ უჯ-
რედებში.

ჰიბრიდიზაცია ნუკლეინის მჟავეებისა (მოლეკულური ჰიბრიდიზაცია) —ორძა-
ფიანი მოლეკულის წარმოქმნა დნმ-ს ორი სხვადასხვა ძაფსა,აგრეთვე დნმ-სა
და რნმ-ს,ან რნმ-ს ორ ძაფს შორის,რაც შეიძლება მოხდეს შესაწყვილებელ ძა-
ფებში კომპლემენტური აზოტოვანი ფუძეების არსებობის შემთხვევაში.ძაფების
შეწყვილება- დაკავშირება ხდება წყალბადური ბმების წარმოქმნით.რაც უფრო
მეტია კომპლემენტარობის დონე,მით მაღალია ჰიბრიდული მოლეკულის სტაბილუ-
რობა,სიმტკიცე.

ჰიპერქრომული ეფექტი — შთანთქმის მატება ულტრაიისფერი სხივებისა 260
ნმ-ზე მოლეკულაში წყალბადური ბმების გაწყვეტისა (გაღლობის) და ერთძაფია-
ნი სტრუქტურების წარმოქმნის შედეგად.ცალკეული ძაფების დაშლა ნუკლეოტიდე-
ბამდე ზრდის შთანთქმის ინტენსიეობას სპექტრის ამ უბანზე.

ჰისტონები —ფუძე ცილები,რომლებიც შედიან ყველა ეუკარიოტული უჯრედის
ქრომოსომის შედგენილობაში.მდიდარია დიამინომჟავებით- არგინინითა და ლი-
ზინით.თევზების სპერმატოზოიდების ქრომოსომებში ჰისტონების მაგიერ შედის
მსგავსი ფუძე ცილები -პროტამინები.

ჰომოლოგიური ქრომოსომები — ქრომოსომების წყვილი,რომლებიც ერთმანეთს
ეწყვილებიან,გადაეგრიხებიან და უბნებს უცვლიან მეიოზის პროცესში;მორფო-
ლოგიურად მსგავსნია და შეიცავენ ერთნაირი ნიშან-თვისებების გამაპირობე-
ბელ გენებს.

# ლ ი ტ ე რ ა ტ უ რ ა


ჯოხაძე დ. მოლეკულური გენეტიკა.ქართული ს.ენციკლოპედია,ტ.7,თბილისი, 1984 წ.

ჯოხაძე დ. თანამედროვე გენეტიკა:ზოგიერთი მიღწევა და პერსპექტივები. თბილისი,1985 წ.

ბიოტექნოლოგიის საფუძვლები,ტ.I.რედ.ს.დერმიშიძე.თბილისი,1983 წ.

Альбертс Б.,Брей Д.,Льюис Дж.,Робертс К.,Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки,т.I- 5,пер.с англ.,М.,1987 г.

Айала Ф.,Кайгер Дж.Современная генетика;т.I- 3,пер.с англ.,М.,1987 г.

Гершензон С.М. Основы современной генетики.Киев,1983 г.

Гершкович И. Генетика, пер.с англ.,М.,1968 г.

Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология,т.I- 3, пер.с немецк., М.,1982 г.

Инге-Ветчомов С. Введение в молекулярную генетику, М.,1983 г.

Инге-Ветчомов С. Генетика с основами селекции,М.,1989 г.

Льюин Б. Гены, пер.с англ.,М.,1986 г.

Сассон А. Биотехнология,пер.с англ.,М.,1987 г.

Спирин А. Молекулярная биология.Структура рибосом и биосинтез белка, М.,1986 г.

Спирин А. (ред.)Молекулярная биология.Структура и биосинтез нуклеиновых кислот.М.,1990 г.

Стайер Л. Биохимия,т.3,пер.с англ.,М.,1985 г.

Стент Г.,Келиндар Р. Молекулярная генетика,пер.с англ.,М.,1981 г.

Уотсон Дж. Молекулярная биология гена,пер.с англ.,М.,1978 г.

Уотсон Дж.,Туз Дж.,Курц Д. Рекомбинантные ДНК,пер.с англ.,М.,1986 г.

# შ ი ნ ა ა რ ს ი


| | | |
|---|---|---|
| შ ე ს ა ვ ა ლ ი | | 4 |
| თ ა ვ ი | I. გ ე ნ ი ტ ი კ უ რ ი ს უ ბ ს ტ რ ა ტ ი ს მ ა ტ ე რ ი ა ლ უ რ ი ბ უ ნ ე ბ ი ს შ ე ს წ ა ვ ლ ი ს ძ ი რ ი თ ა დ ი ე ტ ა პ ე ბ ი. | 9 |
| | მემკვიდრეობის კორპუსკულური თეორიის საფუძვლებთან | 9 |
| | მენდელიზმის დედააზრი | II |
| | მემკვიდრეობის ქრომოსომული თეორიის განმტკიცება | I6 |
| | გენის მატერიალური ბუნების დადგენის ბიოლოგიური წინამძღვრები | I9 |
| თ ა ვ ი | II. ნ უ კ ლ ე ი ნ ი ს მ ჟ ა ვ ე ბ ი ს გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი რ ო ლ ი ს მ ტ კ ი ც ე ბ უ ლ ო ბ ა ნ ი | 25 |
| | დნმ – მემკვიდრეობის ძირითადი სუბსტრატი | 25 |
| | ზოგიერთ ვირუსში გენეტიკური სუბსტრატი რნმ–ა | 32 |
| თ ა ვ ი | III. ნ უ კ ლ ე ი ნ ი ს მ ჟ ა ვ ე ბ ი ს ფ ი ზ ი კ ო – ქ ი მ ი უ რ ი ბ უ ნ ე ბ ა | 34 |
| | ზოგადი ცნობები | 34 |
| | დნმ | 38 |
| | განმეორებადი თანამიმდევნობანი დნმ–ს მოლეკულაში | 46 |
| | რნმ | 48 |
| ფ ა ვ ი | IV. გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ პ რ ო ც ე ს ე ბ შ ი მ ნ ა წ ი ლ ე ფ ე რ მ ე ნ ტ ე ბ ი | 52 |
| | დნმ–პოლიმერაზები | 52 |

ეუკარიოტების დნმ-პოლიმერაზა 53
დნმ-ტოპოიზომერაზები . 54
პოლინუკლეოტიდლიგაზები ანუ ლიგაზები . 54
რეპლიკაზები 55
პეოლიკაზები . 56
დნმ-საგან დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზები ანუ
რნმ-პოლიმერაზები . 57
ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზა 58
ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზები 60
უკუტრანსკრიპტაზა (რევერტაზა) 61
პოლინუკლეოტიდფოსფორილაზა 63
ნუკლეინის მჟავების დამშლელი ფერმენტები 64
რესტრიქციული ენდონუკლეაზები ანუ რესტრიქტაზები 67
თავი V. მემკვიდრეული სუბსტრატის
რეპლიკაცია და ტრანსკრიპცია.70
დნმ-ს რეპლიკაცია 70
დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევნობის განსაზღვრა 76
ტრანსკრიპცია 81
თავი VI. ციღის ბიოსინთეზი 92
ზოგადი ცნობები 92
ნირენბერგის სისტემა ციღის სინთეზისათვის 94
ტ-რნმ და მისი მნიშვნელობა 95
ტ-რნმ-ს ადაპტორული ფუნქცია 100
რიბოსომები და ციღის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნა 103
პოლიპეპტიდური ჯაჭვის წარმოქმნის მიმართულება 107

თ ა ვ ი VII. გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი კ ო დ ი 113
ზოგადი ცნობები 113
კოდის გაშიფვრის გენეტიკური ექსპერიმენტები 115
კოდის გაშიფვრის ბიოქიმიური ექსპერიმენტები 117
კოდის ზოგადი თვისებები 120
თ ა ვ ი VIII. გ ე ნ ო მ ი ს ო რ გ ა ნ ი ზ ა ც ი ა და ფ უ ნ ქ ც ი ო ნ ი რ ე ბ ი ს რ ე გ უ ლ ა ც ი ა ვ ი რ უ ს ე ბ ს ა და პ რ ო კ ა რ ი ო ტ ე ბ შ ი 126
ზოგადი ცნობები 126
ვირუსების გენომის ბუნება 127
რეტროვირუსები 134
პროკარიოტების (ბაქტერიების) გენომის ზოგადი სტრუქ-ტურა 135
პლაზმიდები და ეპისომები 138
ბაქტერიული გენომის ფუნქციური ორგანიზაცია . 138
გენების აქტივობა ბაქტერიის ინფექციისას ფაგებით 147
თ ა ვ ი IX. გ ე ნ ო მ ი ს ს ტ რ უ ქ ტ უ რ ა და ფ უ-ნ ქ ც ი ო ნ ი რ ე ბ ი ს მ ე ქ ა ნ ი ზ მ ე ბ ი ე უ კ ა რ ი ო ტ უ ლ უ ჯ რ ე დ შ ი 148
ზოგადი ცნობები 148
ეუკარიოტული დნმ-ს ზოგიერთი თავისებურება 149
ჰისტონები 158
ქრომატინის სტრუქტურული ორგანიზაცია 160
ეუკარიოტული გენომის ფუნქციური ორგანიზაცია 164
თ ა ვ ი X. ც ი ტ ო პ ლ ა ზ მ უ რ ი გ ე ნ ო მ ი 169
ზოგადი ცნობები 169

მიტოქონდრიული გენომი (მტ-გენომი) 171
ქლოროპლასტული გენომი (ქლ-გენომი) 177
თავი XI. გ ე ნ ი ს ნ ა ტ ი ფ ი ს ტ რ უ ქ ტ უ რ ა 181
ზოგადი ცნობები 181
გენის სტრუქტურის უშუალო გამოკვლევა 183
დნმ-ს დაფრაგმენტება რესტრიქტაზებით 185
ეუკარიოტული გენების წყვეტილი აღნაგობა 188
ინტრონ-ეგზონური ორგანიზაციის ზოგიერთი მახასიათებელი 190
ეუკარიოტული გენების ძირითადი ტიპები 193
ფსევდოგენები 196
მოძრავი გენები 197
თავი XII. მ ე მ კ ვ ი დ რ უ ლ ი ნ ი ვ თ ი ე რ ე ბ ი ს
გ ა დ ა ტ ა ნ ი ს ა დ ა ც ვ ლ ი ს (რ ე კ ო -
მ ბ ი ნ ა ც ი ე ბ ი ს) მ ო ლ ე კ უ ლ უ რ ი
მ ე ქ ა ნ ი ზ მ ე ბ ი 201
გენეტიკური რეკომბინაციების დედაარსი 201
ტრანსდუქცია 206
მემკვიდრეული ნივთიერების ცვლილებანი ქრომოსომთა კონიუგაციისა და კროსინგოვერის პროცესში 210
ტრანსპოზიციები 213
დნმ-ს დაზიანებათა რეპარაცია 217
მუტაციების მოლეკულური საფუძვლები 221
თავი XIII. გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი ი ნ ჟ ი ნ ე რ ი ა 225
ზოგადი ცნობები 225
გენების ხელოვნური სინთეზი 228
გენების გამოყოფა და მათი ჩართვა („ჩაკერება") ვექტორში 232

ვექტორები 236
დნმ-ს ფრაგმენტების (გენების) ჩაკერება ვექტორში
და კლონირება 241
თავი XIV. გ ე ნ ე ტ ი კ უ რ ი ინ ჟ ი ნ ე რ ი ი ს
გ ა მ ო ყ ე ნ ე ბ ი ს ს ფ ე რ ო ე ბ ი , ზ ო გ -
ი ე რ თ ი მ ი ღ წ ე ვ ა და პ ე რ ს პ ე ქ -
ტ ი ვ ე ბ ი 244
ზოგადი ცნობები 244
გენეტიკური ინჟინერია მიკროორგანიზმებში . 245
გენეტიკური ინჟინერია ცხოველებში 252
გენეტიკური ინჟინერია მცენარეებში 257
ადამიანის გენომი და გენეტიკური ინჟინერია 263
დ ა ს ვ ა ტ ე ბ ა გამოჩენილი მკვლევარები გენის ბუნების
შესახებ 267
ტ ე რ მ ი ნ თ ა ლ ე ქ ს ი კ ო ნ ი 276
ლ ი ტ ე რ ა ტ უ რ ა 294
შ ი ნ ა ა რ ს ი 295

დაიბეჭდა საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის
სამეცნიერო-საგამომცემლო საბჭოს დადგენილებით

სგ 4685

| | |
|---|---|
| გამომცემლობის რედაქტორი | ღ.გელოვანი |
| მხატვრული რედაქტორი | ნ.კვინიკაძე |
| ტექრედაქტორი | ნ.ბოკერია |
| კორექტორი | ღ.ჯიქია |
| გამომშვები | ღ.მაისურაძე |

გადაეცა წარმოებას 30.X.1991; ხელმოწერილია დასაბეჭდად 15.X.1991;
ქაღალდის ზომა 60X84 1/16; ქაღალდი ოფსეტის; ბეჭდვა ოფსეტური;
პირობითი საბეჭდი თაბახი 17.67; სააღრიცხვო-საგამომცემლო თაბახი 12.92;

ტირაჟი 2000 შეკვეთა № 2719

ფასი 14 მან. 40 —

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19

Издательство "Мецниерба", Тбилиси, 380060, ул.Кутузова, 19

საქართველოს მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი 380060, კუტუზოვის ქ. 19

Типография АН Республики Грузия, Тбилиси, 380060, ул.Кутузова, 19

დავით ივანეს ძე ჯოხაძე

# ზოგიერთი გენეტიკის საკითხები

## შესავალი

„მეცნიერება"

1992

Давид Иванович Джохадзе

# Введение в молекулярную генетику

"Мецниереба"

1992