

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՀԱՍՏԱՏՄԱՆ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԴԱՏՈՒԿ ԳԼՈՒԽՆԵՐ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՍՏԱՏՐԱՆ

ԻՐԻՆԱ ԱՐԾՐՈՒՆԻ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՏՈՒԿ ԳԼՈՒԽՆԵՐ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
2018

ՀՏԴ 577.2(07)

ԳՄԴ 28.070g7

Ա 885

Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի
գիտական խորհուրդը

Արձունի Իրինա

Ա 885 Սոլեկուլային կենսաբանության հատուկ գլուխներ: -Եր.,
ԵՊՀ հրատ., 2018, 260 էջ:

Զեռնարկում ամփոփ ներկայացված են մոլեկուլային կենսաբանության հիմնական բաժինները, որոնք արտացոլում են արդի գիտական փաստերը և տեսությունները: Հատուկ ուշադրության են արժանացել մոլեկուլային կենսաբանության ոլորտում արված այն բացահայտումները, որոնք ունեն կիրառական նշանակություն դատավորակիտության և բժշկագիտության ոլորտներում: «Սոլեկուլային կենսաբանության հատուկ գլուխներ» ուսումնական ձեռնարկը նախատեսվում է կենսաբանության ֆակուլտետի բակալավրիատի բաժնի ուսանողների համար:

ՀՏԴ 577.2(07)

ԳՄԴ 28.070g7

ISBN 978-5-8084-2337-4

© ԵՊՀ հրատ., 2018

© Արձունի Իրինա, 2018

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ	7
ԳԼՈՒԽ 1	
Ժառանգական տեղեկատվության գործարկման մեխանիզմներ կամ գեների էքսպրեսիա	9
1.1. ԴՆԹ-ի քիմիական կառուցվածքը.....	11
1.2. Սիտոքանդրիումային և պլաստիդային ԴՆԹ-ներ	18
1.3. Բջջային ՈՆԹ-ների տիպերը	22
ԳԼՈՒԽ 2	
Տրանսլյացիա կամ սպիտակուցի սինթեզ	35
2.1.Տրանսլյացիայի փուլերը: Սեկնարկ	42
2.2. Պոլիպեպտիդային շղթայի երկարացում (Էլոնգացում)	47
2.3. Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտ (տերմինացում)....	51
ԳԼՈՒԽ 3	
Սպիտակուցների կոնֆորմացիայի ձևավորում	56
3.1. Չապերոններ և չապերոնիններ.....	56
3.2. Սպիտակուցների սինթեզի և քայլայման կարգավորում.....	61
3.3. Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորում մոլեկուլի կովալենտ և ոչ կովալենտ ձևափոխությունների միջոցով	68
ԳԼՈՒԽ 4	
ԴՆԹ-ի կրկնապատկում (ռեպլիկացում)	74
ԳԼՈՒԽ 5	
ԴՆԹ-ի վերականգնում կամ ռեպարացում.....	82
ԳԼՈՒԽ 6	
ՈՆԹ-ների սինթեզ և հասունացում	89
6.1. Սպիտակուց կողավորող գեններ.....	96
6.2. ԴՆԹ-ի նույնականացման «մատնահետքերի» մեթոդ և մինիսատելիտային ԴՆԹ.....	104
6.3. ԴՆԹ շարժուն տարրեր.....	106
6.4. Էռկարիոտների ԴՆԹ տրանսպորտներ	110
6.5. Ուստրանսպորտներ	112
ԳԼՈՒԽ 7	
Գեների աշխատանքի կարգավորում	118

7.1. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը բակտերիաների բջիջներում.....	120
7.2. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը էուկարիոտների քրոմոսմներում	121
7.3. Հիստոնների ացետիլացում	127
7.4. Հիստոնների մեթիլացում, ֆոսֆորիլացում, ԱԿՖ-ռիբոզիլացում և ուրիխիտինացում.....	129
7.5. Հիստոնների դերը քրոմատինի կոնդենսավորման մեջ: Հիստոնային գաղտնազիր (կոդ)	131
7.6. Էպիգենետիկական ժառանգում.....	134
7.7. ԴՆԹ-ի մեթիլացում: Էպիգենետիկական արգելակում ԴՆԹ-ի մեթիլացման ճանապարհով	135
7.8. Ωչ հիստոնային սպիտակուցներ	138
7.9. Քրոմատինի ռենորելավորում.....	139
ԳԼՈՒԽ 8	
Գեների աշխատանքի կարգավորում տրանսկրիպցիայի ակտիվության վերահսկման միջոցով.....	142
8.1. Գեների աշխատանքի կարգավորումը պրոկարիոտների մոտ	144
8.2. Տրանսկրիպցիայի կարգավորումը էուկարիոտների մոտ	149
8.3. Ինիցիատորներ և ՑՓԳ կողակներ.....	152
8.4. Ենիանսերներ և սայլենսերներ	154
8.5. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններ, ՈՆԹ պոլիմերազ II	155
8.6. Տրանսկրիպցիայի ընթացք	160
8.7. Տրանսկրիպցիայի էլուզացման փուլ և ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի հասունացում կամ պրոցեսինգ	166
8.8. Կեպավորում	168
8.9. Սալլայսինգ	170
8.10. Նախա-ի-ՈՆԹ-ների Յ' ճեղքավորում և պոլիադենիլացում ...	176
8.11. Տրանսկրիպցիային մասնակցող սպիտակուցների դրմենային կառուցվածքը	182
8.12. Ենիանսերների փոխազդեցությունը տրանսկրիպցիայի գործոնների և ՈՆԹ-պոլիմերազային համալիրի հետ	188

8.13.Տրանսկրիպցիա Ո-ՆԹ՝ պոլիմերագ I-ով և	
Ո-ՆԹ՝ պոլիմերագ III-ով	189
ԳԼՈՒԽ 9	
Ո-ՈՆԹ-ների և փ-ՈՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)	192
9.1. Ո-ՈՆԹ-ների հասունացում	192
9.2.Փ-ՈՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)	195
ԳԼՈՒԽ 10	
Գեների ակտիվության կարգավորման	
հետարանսկրիպցիոն մեխանիզմներ	197
10.1. Ի-ՈՆԹ-ների տեղափոխությունը քջակորիզից ցիտոպլազմ	197
10.2.Գեների ակտիվության կարգավորման ցիտոպլազմային մեխանիզմներ	203
10.3. Միկրո ՈՆԹ-ներ	204
10.4. Ինտերֆերենցվող կարճ ՈՆԹ-ներ	205
10.5. Զկողավորող երկար ՈՆԹ	207
10.6. Ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլների տրանսլյացիան կարող է խթանվել ցիտոպլազմում ընթացող պոլիադենիլացման շնորհիվ	211
10.7. Ի-ՈՆԹ-ների քայլայումը ցիտոպլազմում	213
10.8. Սպիտակուցի սինթեզի վերահսկման TOR ճանապարհը	216
ԳԼՈՒԽ 11	
Քջակորիզային ենթակառուցվածքներ	218
11.1. Քջակորիզային մատրիքս և լամինա	218
11.2. Կորիզակ	219
ԳԼՈՒԽ 12	
Քջիների քազմացում	224
12.1. Քջային բոլորաշրջան	225
12.2. Էուկարիոտ քջիների քջային ցիկլի կարգավորումը ցիկլին կինազմներով	227
12.3. Ցիկլիններ	229
12.4. CDK-ների ակտիվության կարգավորումը ֆոսֆորիլացման և դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով	232
12.5. Ցիկլինների պարունակության կարգավորումը քջիներում .	235

12.6. Տրանսկրիպցիայի գործոն Ե2F-ի դերը	237
12.7. Արտաքին ազդակների ներգործությունը բջջի բոլորաշրջանի վրա.....	239
ԳԼՈՒԽ 13	
Բջիջների մասի.....	242
13.1. Ապոպտոզ.....	242
13.2. Կասպազների ակտիվացում.....	247
13.3. Ապոպտոզի մոլեկուլային մեխանիզմները.....	248
13.4. Գրանզիմ/պերֆորին կախյալ մեխանիզմ	250
13.5. Ներքին ազդակներով հարուցված ապոպտոզ.....	251

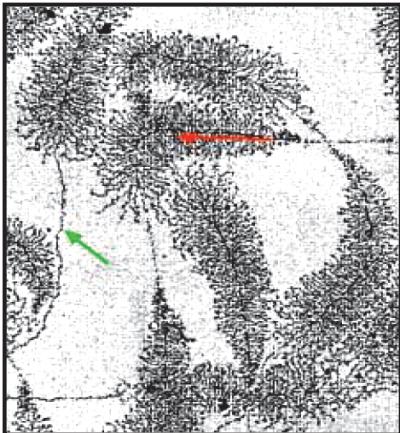
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Կենսաբանական համակարգերը ներկայացված են տարաբնույթ օրգանիզմներով, որոնք գործում են ֆիզիկայի և քիմիայի օրենքների համաձայն: Օրգանիզմների զարմանալի բազմազանության բևեռներից մեկը ներկայացված է մանրադիտակային չափսերի միաբանությունը՝ օրգանիզմներով, մյուս բևեռում կենտրոնացած են բարդ բազմաբանությունը՝ օրգանիզմներով, որոնց չափսերը տատանվում են միիմասնությունում: Ի տարբերություն օրգանիզմների չափսերի, ձևերի և կենսակերպերի բազմազանությանը՝ օրգանիզմները դրսուրում են հիմնական կենսաբանական գործընթացների զարմանալի միատիպություն: Այդ միատիպությունը պայմանավորված է նրանով, որ օրգանիզմները կառուցված են նույն մոլեկուլներից և ունեն սկզբունքայնորեն նույն բջջային կառուցվածքը: Թեև պատմական զարգացման (էվոլյուցիայի) միջնավոր տարիների ընթացքում փոխվել են օրգանական մոլեկուլների համադրությունների տիպերը, և առաջացել են նորանոր բջջային ձևեր, անփոփոխ է մնացել հիմնական սկզբունքը. բջիջը բոլոր օրգանիզմների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ միավորն է:

Բազմաբանությունը օրգանիզմների բջջային միացած են բազմաբանությունը միավորվում են մեկ ամբողջության մեջ: Նման միասնությունն այնքան հզոր է, որ բազմաբանությունը օրգանիզմների մեջ կառուցված բջջային կորցրել են ինքնուրույն ապրելու ունակությունը: Բազմաբանությունը օրգանիզմների բջջային միասնության և համաձայնեցված գործունեությունը կարգավորվում է տարբեր ազդակներով, որոնք կատարում են տեղեկատվության փոխադրիչների դեր՝ փոխանցելով տեղեկատվությունը մեկ բջջից մյուսը, հյուսվածքից հյուսվածք, օրգանիզմ օրգան: Ըստհանուր կարգավորիչ մեխանիզմները, ինտեգրելով և համաձայնեցնելով տեղեկատվության հոսքերը, ապահովում են կենսաբանական համակարգի օպտիմալ գործունեությունը: Այսպիսով՝ նույնիսկ ամենաբարդ օրգանիզմը կարելի է դիտարկել որպես զարմանալի միասնությամբ գործող բջջային ամբողջություն:

Օրգանիզմների բոլոր բջիջները բաղկացած են միևնույն կառուցվածքային մոլեկուլներից, բոլորին հատուկ են ժառանգական տեղեկատվության պահպանման, գործարկման, էներգետիկ փոխանակության, մոլեկուլային տրանսպորտի, ազդանշանային ուղիների գործունեության նույն սկզբունքները։ Մոլեկուլային կենսաբանությունն արագ զարգացող գիտություն է, որն ուսումնասիրում է վերը նշված ընդհանուր կենսաբանական գործառույթների մոլեկուլային մեխանիզմները։

Տվյալ ձեռնարկում ներկայացված են բջիջներում ժառանգական տեղեկատվության պահպանման, վերականգնման, վերարտադրության և գործարկման հիմնական ուղիները, բջիջների բազմացման և ֆիզիոլոգիական մահվան մոլեկուլային մեխանիզմները։



Նկար 1. Տրանսկրիպցիան քրոմատինային թելիկի հատվածում: Կանաչ սլաքը ցույց է տալիս ԴՆԹ-ի այն հատվածը, որից տրանսկրիպցիա չի կատարվում: Կարմիր սլաքով նշված են տրանսկրիպցիայի ընթացքում սինթեզվող տարբեր երկարության ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլները: [LodishH.et.al, 8thed.]

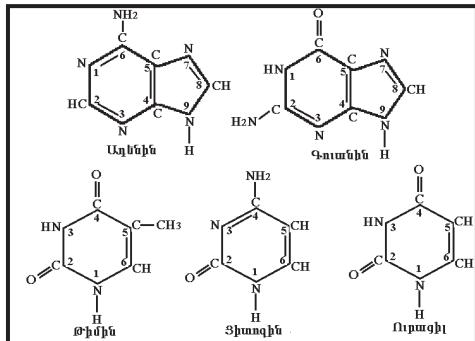
ԳԼՈՒԽ 1

Ժառանգական տեղեկատվության գործարկման մեխանիզմներ կամ գեների էքսպրեսիա

Բջջի կառուցվածքը և գործունեությունն ապահովող տեղեկատվությունը զաղտնագրված է դեօրոքսիլիպոնուկլինաթթվի (ԴՆԹ) մոլեկուլներում: Ժառանգակած տեղեկատվության անթերի վերաբետքությունը և վերծանումը ընկած են կենսաբանական տեսակների պահպանման, յուրաքանչյուր առանձնյակի և բջջի կենսագործունեության հիմքում: ԴՆԹ-ի մոլեկուլում տեղեկատվությունը պահպանվում է առանձին միավորների ձևով, որոնք զաղտնագրում են օրգանիզմի ինքնատիպ հատկությունները: Այս միավորները կոչվում են գեները: Գեները զաղտնագրում են այն տեղեկատվությունը, որն անհրաժեշտ է բջջային գործընթացների վիրխարի բազմազանությունն ապահովող իիմնական մոլեկուլների՝ սպիտակուցների և ոլիպոնուկլինաթթուների սինթեզի համար: «Տրանսկրիպցիա» կոչվող գործընթացում գեներում զաղտնագրված տեղեկատվությունը պատճենվում է ոլիպոնուկլինաթթուների մոլեկուլների ձևաչափով (ՈՆԹ): ՈՆԹ-ների մոլեկուլների երեք իիմնական տիպերն իրականացնում են սպի-

տակուցների կենսասինթեզը: Ինֆորմացիոն ՌՆԹ-ն (ի-ՌՆԹ) ԴՆԹ-ի մոլեկուլում գաղտնագրված տեղեկատվության այն մասի պատճենն է, որը պատասխանատու է պոլիպեպտիդային շղբաներում ամինաթթուների որոշակի գծային հաջորդականության համար: Բարդ բազմափուլ գործընթացում, որը կոչվում է «տրանսլյացիա», ի-ՌՆԹ-ում ամփոփված տեղեկատվությունը վերծանվում է և ներկայացվում ամինաթթուների հաջորդականության տեսքով: Տրանսլյացիային մասնակցում են ևս երկու տարրեր տիպերի ՌՆԹ-ներ՝ փոխադրիչ (փ-ՌՆԹ) և ռիբոսումային ՌՆԹ-ները (ռ-ՌՆԹ): Փ-ՌՆԹ-ները տեղափոխում են ամինաթթուները դեպի ռիբոսումներ, որոնք կազմված են ռ-ՌՆԹ-ներից և ռիբոսումային սպիտակուցներից: Տրանսլյացիայի ընթացքում ի-ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականությունը «բարգմանվում է» սպիտակուցների ամինաթթվային հաջորդականության:

Դեռևս 30 տարի առաջ մոլեկուլային կենսաբանությունում իշխում էր այն կարծիքը, որ **ժառանգական տեղեկատվությունը հադրդվում է ԴՆԹ-ՌՆԹ-սպիտակուց շղբայով** (կենտրոնական դոգմա): Գիտության առաջընթացը ցույց տվեց, որ նման պատկերացումը իշխատ պարզեցնում է իրավիճակը, քանզի չի արտացոլում բազմաթիվ կարգավորիչ սպիտակուցների մասնակցությունը: Ներկայումս «կենտրոնական դոգման» ձևափոխվել է «գեների էքսպրեսիա» կամ «գեների գործարկում» հասկացությամբ: Հետագա շարադրանքի ընթացքում կնկարագրվեն գեների գործարկման առանցքային նշանակություն ունեցող փուլերը:



Նկար 2. Նուկլեինաթթուների կազմի մեջ նտնող ազոտական հիմքերի քիմիական կառուցվածքը:

1.1. ԴՆԹ-ի քիմիական կառուցվածքը

ԴՆԹ-ի և ՈՆԹ-ի առաջնային կառուցվածքները նման են, քանի որ երկուսն ել նուկեռտիդային մոնոմերներից բաղկացած գծային պոլիմերներ են: Տարբեր տիպի ՈՆԹ-ների երկարությունը պայմանավորված է մոլեկուլը կազմող նուկեռտիդների թվով, որը տատանվում է մի քանի տասնյակից մինչև մի քանի հազար նուկեռտիդներ: ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարող է բաղկացած լինել մի քանի միլիոն նուկեռտիդներից, սակայն մոլեկուլի երկարությունն այս դեպքում որոշում է նուկեռտիդների թվի 1/2-ը, որովհետև նուկեռտիդները հավասարաշափ բաշխված են ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կազմող երկու շղթաների միջև: ԴՆԹ-ի և ՈՆԹ-ի նուկեռտիդների կազմի մեջ են մտնում 5 տարբեր ազոտական հիմքեր: Կրանք են պորիններ աղենինը (Ա), գուանինը (Գ), որոնց քնորոշ են երկու արոմատիկ օղակներ և մեկ արոմատիկ օղակ ունեցող պիրիմիդինները՝ ցիտոզինը (Ց), թիմինը (Թ) և ուրացիլը (Ու) (նկար 2): Թիմինը քնորոշ է միայն ԴՆԹ-ին, մինչդեռ ուրացիլը՝ ՈՆԹ-ներին: ԴՆԹ-ն և ՈՆԹ-ն տարբերվում են նաև մոլեկուլի կազմի մեջ մտնող շաքարների մնացորդներով: ԴՆԹ-ում ածխաջրածնային մնացորդը դեօքսիփրոզն է, իսկ ՈՆԹ-ում՝ ոփրոզը: Պորիննային և պիրիմիդիննային ազոտական հիմքերը միացած են ածխաջրածնային մնացորդներին որպես կոլյային շղթաներ:

Նուկեռինաթրուների 5' ծայրը ներկայացված է ֆոսֆատային խմբով, որը միացած է շաքարի մնացորդին 5' դիրքում: 5' ծայրը համարվում է նուկեռինաթրվի մոլեկուլի սկիզբ, մինչդեռ վերջը 3' ծայրն է, որը ներկայացվում է վերջին ածխաջրածնային մնացորդի 3' ածխածնին միացած հիդրօսիլ խմբով: Այսպիսով՝ նուկեռինաթրուներին քնորոշ է 5'-3' ուղղվածությունը: Ոչ կովակենտ կապերի առաջացմամբ նուկեռտիդների շղթայական մոլեկուլները ոլորվում են և ծալվում, ինչի շնորհիվ ձեռք են բերում երրորդային տարածական կառուցվածքը: Թեև ԴՆԹ-ի և ՈՆԹ-ի առաջնային կառուցվածքները շատ նման են, դրանց երրորդային կառուցվածքները միմյանցից խիստ տարբերվում են:

Մոլեկուլային կենսաբանության զարգացումը սկսվեց Զեյմս Ուտսունի և Ֆրենսիս Կրիկի կողմից ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կառուցվածքի

բացահայտումից հետո: Ելնելով ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ռենտգենյան ճառագայթմերի դիֆրակցիայի պատկերից՝ գիտնականներն առաջարկեցին մոլեկուլի երկշղթա պարուրած կառուցվածքի մոդելը: Համաձայն այդ մոդելի՝ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կազմված է երկու հակազուգահեռ ($5'$ - $3'$ և $3'$ - $5'$) պոլինուկլինոտիդային շղթաներից, որոնք, ոլորվելով երևակայական ուղղահայաց առանցքի շորջը, գոյացնում են երկպարույր կառուցվածք: Ածխաջուր-ֆոսֆատային մնացորդները դասավորված են մոլեկուլի արտաքին մակերևույթի վրա, իսկ ազոտական հիմքերն ուղղված են դեպի ներս: Վերջիններս դասավորվում են զուգահեռ հարթություններում մեկը մյուսի վրա: Զուգահեռ շղթաների միասնությունը պահպանվում է նրա շնորհիվ, որ ազոտական հիմքերը զուգավորվում են ջրածնական կապերի միջոցով: Աղենինը միշտ զուգավորվում է թիմինի հետ երկու ջրածնական կամբակներով, իսկ զուանինը զուգավորվում է ցիտոզինի հետ երեք ջրածնական կապերով: Խիստ որոշակի զուգավորման հիմքում ընկած է չափի, ձևի և քիմիական կառուցվածքի համապատասխանությունը: Պոլինուկլեոտիդային շղթաների կայուն միասնությունն ապահովում են հազարավոր ջրածնական կապեր: Երկշղթա կառուցվածքն էլ ավելի է կայունանում հիդրոֆոր և վանդերվալյան փոխազդեցությունների շնորհիվ: Խոշոր պուրինների և ավելի փոքր պիրիմիդների կապն անվանում են Ուոտսոն-Կրիկի զույգ-հիմքեր:

Վերը նշված երկու պոլինուկլեոտիդային շղթաները, որոնց բոլոր նուկլեոտիդները կազմում են Ուոտսոն-Կրիկի զույգեր, կոչվում են կոմպլեմենտար կամ ֆիլսլրացնող (նկար 3): Տեսականորեն կարող են կազմվել նուկլեոտիդների ոչ սովորական զույգեր, որոնք հաճախ հանդիպում են արիեստականորեն սինթեզված ԴՆԹ-ների մոլեկուլներում: Թեպես ԴՆԹ-ում Φ -թ և Θ -թ զույգեր չեն պարունակվում միաշղթա ՈՆԹ-ների այս տեղամասերում, որտեղ մոլեկուլը ծալվում և առաջացնում է կրկնակի պարույր, բավականին հաճախ հանդիպում են Φ -ՈՒ զույգեր:

Բջջային ԴՆԹ-ն հիմնականում առաջացնում է աջակողմյան պարույր: Զուգավորված հիմքերը պարույրի առանցքի երկայնքով դասավորված են միմյանցից 0,36 նմ հեռավորության վրա, և մեկ զալարն ընդգրկում է մոտ 10,5 զույգ նուկլեոտիդ: Այսպիսի կառուցված-

քը կոչվում է ԴՆԹ-ի Բ-ձև, և այն բնորոշ է գրեթե բոլոր բջջային ԴՆԹ-ներին: Հակազուգահեռ պոլինուկլեոստիլային շղթաների երկպարույրին հատուկ են տարրեր մեծության ակոսներ՝ մեծ և փոքր (նկար 4Ա): Որոշ կարճ, կրկնվող Գ-Ձ հաջորդականություններից կազմված ԴՆԹ-ի մոլեկուլների պարուրումը կարող է լինել ձախակողմյան: Այս ձևը կոչվում է ԴՆԹ-ի Զ ձև, քանի որ կողքից մոլեկուլն ունի զիգզագի տեսք: Ենթադրվում է, որ քիչներում ԴՆԹ-ն կարող է հանդես գալ նաև Ց ձևով, թեև նման մոլեկուլների ֆունկցիան և կենսաբանական դերը պարզաբանված չեն: ԴՆԹ-ի Բ ձևը փոխվում է Ա ձևի չոր միջավայրում: ՈՆԹ-ԴՆԹ և ՈՆԹ-ՈՆԹ երկպարույրները թե՛ բջջում, թե՛ in vitro (օրգանիզմից դուրս) արհեստական պայմաններում հանդես են գալիս Ա ձևով (նկար 4): Սինթետիկ ԴՆԹ-ի մոլեկուլները որոշ դեպքերում կարող են առաջացնել եռշղթա մոլեկուլներ: Շատ ավելի մեծ կենսաբանական նշանակություն ունեն ԴՆԹ-ի այն ձևերը, որոնք առաջանում են ԴՆԹ-սպիտակուց կապի առաջացման հետևանքով (նկար 5Բ):

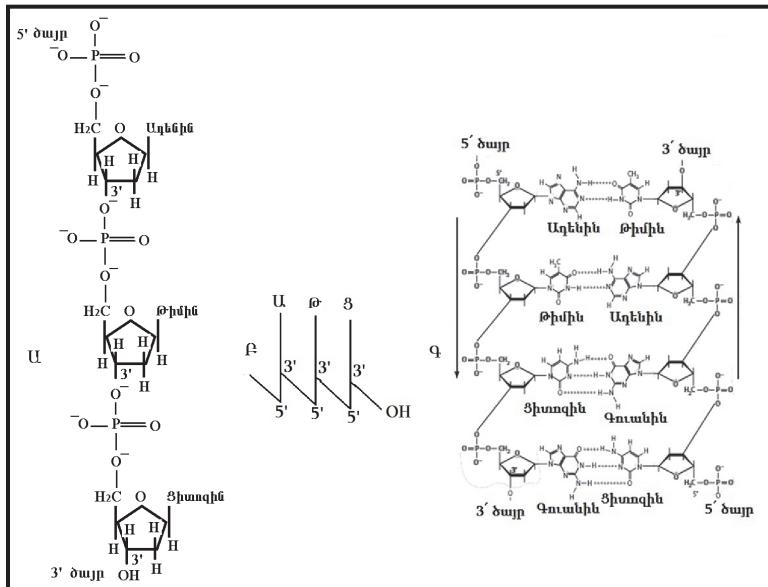
Թեև ԴՆԹ-ի երկշղթա մոլեկուլում գործում են բազմաթիվ ջրածնական կապեր, հիդրոֆոր և վանդերվալյան փոխազդեցություններ, երկպարույրը մեծ ճկունություն է դրսւորում: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ճկունությունը պայմանավորված է նրանով, որ ԴՆԹ-ում ջրածնական կապերը դասավորված են ոչ թե մոլեկուլի երկայնակի առանցքին զուգահեռ, այլ դրան ուղղահայաց: Նման դասավորության շնորհիվ սպիտակուցների հետ կապվելուց հետո ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարողանում է կրվել և կրոանալ (նկար 5Բ): Կրոանալու, կրվելու հատկությունը ապահովում է ԴՆԹ-ի դինամիկ փոփոխվող փաթեթավորումը քրոմատինում:

Բջջի կենսագործունեության որոշակի պահերին (բջջի բաժանում, տրանսկրիպցիա, ԴՆԹ-ի վնասվածքների վերականգնում) անհրաժեշտություն է ծագում տարանջատելու և միմյանցից հեռացնելու ԴՆԹ-ի շղթաները: Բոլոր նշանակած գործընթացներն իրականացվում են բարդ սպիտակուցային համալիրների կողմից, որոնք կրիտարկվեն հետագա շարադրանքի ընթացքում:

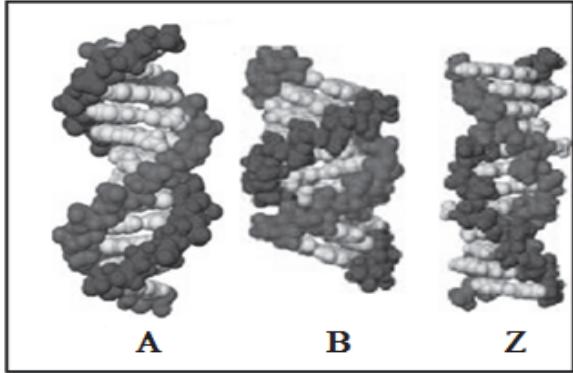
ԴՆԹ-ի շղթաների ապավարուրման և միմյանցից տարածապես հեռացման գործընթացն in vitro պայմաններում կոչվում է ԴՆԹ-ի բնա-

փոխում կամ «հալում»: Քանի որ ԴՆԹ-ի երկու շղթաների միասնությունն ապահովում են բազմաթիվ ջրածնական կապերը, իդրոֆոր և վանդերվալյան փոխազդեցությունները, ակնհայտ է, որ ցանկացած ներգործություն, որն ազդում է այդ թույլ կապերի վրա, կարող է հանգեցնել շղթաների առանձնացման: Երբ տաքացնում են ԴՆԹ-ի «լուծությը» (լինելով բարձրապղիմերային մոլեկուլ՝ ԴՆԹ-ն չի կարող առաջացնել իսկական լուծույթներ), ատոմների ջերմային շարժման ուժգնացման հետևանքով քայլայվում են երկշղթան կայունացնող բոլոր թույլ, ոչ կրվալենտ կապերը: Համան ջերմաստիճանի (Tm) մոտակայքում նույնիսկ ջերմաստիճանի չնշին փոփոխությունը հանգեցնում է թույլ կապերի միանվագ խախտմանը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ողջ երկայնքով: ԴՆԹ-ի շղթաների փոխադարձ կապի ուժգնությունը կախված է նաև մոլեկուլի կազմի մեջ մտնող ֆոսֆատային խմբերի գումարային բացասական լիցքից: Դրական լիցքավորված իոնները չեզոքացնում են ֆոսֆատային խմբերի բացասական լիցքը (լիցքի էկրանավորում): Երբ շրջապատում դրական իոնների պարունակությունը փորբանում է, էկրանավորումը բուլանում է, և բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային մնացորդների փոխադարձ վանումն ուժեղանում է: Վանող ուժերի գերակայման հետևանքով ԴՆԹ-ի շղթաները հեռանում են, և մոլեկուլի համան ջերմաստիճանը (Tm-ը) նվազում է: Քիմիական այն նյութերը, որոնք քայլայում են ջրածնական կապերը (ֆորմամիդ, միզանյութ), նույնպես իջեցնում են Tm-ը: Համան ջերմաստիճանի վրա ազդում է նաև միջավայրի pH-ը: Բարձր թթվային pH-ում ազոտական հիմքերը պրոտոնացվում են՝ ձեռք բերելով դրական լիցք: Խիստ հիմնային միջավայրում ազոտական հիմքերը, կորցնելով պրոտոններ, բացասական են լիցքավորվում: Երկու դեպքում էլ նույնանուն լիցքով ազոտական հիմքերը վանում են միմյանց՝ իջեցնելով Tm-ը: ԴՆԹ-ի առանձնացված շղթաները լուծությունը ընդունում են անկանոն կծիկի ձև: Իջեցնելով ԴՆԹ-ի լուծույթի ջերմաստիճանը և մեծացնելով կատիոնների պարունակությունը չեզոք թթվային կարելի է վերամիավորել կոմպլեմենտար շղթաները և վերականգնել ԴՆԹ-ի մոլեկուլի երկպարույր կառուցվածքը: ԴՆԹ-ի բնափոխումն ու վերականգնումը ընկած են ժամանակակից մոլեկուլային կենսաբանության ամենահզոր մեթոդական մոտեցումների

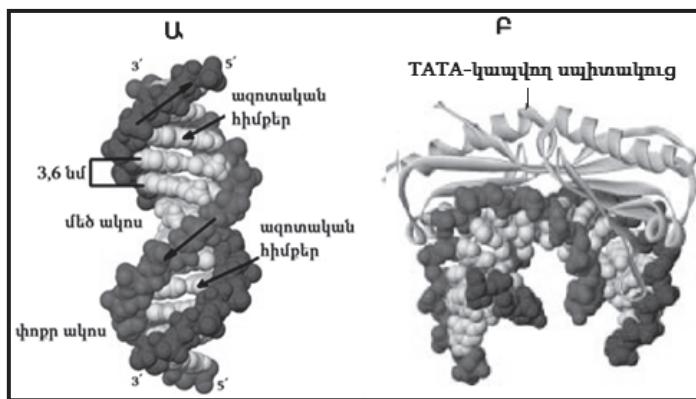
հիմքում: Դրանցից է **հիբրիդացման** մեթոդը, որը թույլ է տալիս նույնականացնել կամ համեմատել տարրեր ԴՆԹ-ների նմուշներ, հայտնաբերել և խառնուրդից անջատել ԴՆԹ-ի և Ռ-ԴՆԹ-ի որոշակի հատվածներ: Նույնականացների հիբրիդացման մեթոդը դարձավ այն հարբակը, որից սկսվեց մոլեկուլային կենսաբանության կտրուկ վերելքը:



Նկար 3. Նույնականացների միացումը ԴՆԹ երկշղթա մոլեկուլում: Ա) ԴՆԹ շղթայի շաբարափոսֆատային հենքը: Բ) շղթան պատկերելու եղանակ:
Գ) ԴՆԹ երկշղթա մոլեկուլի հատված: Սլաքները ցույց են տալիս շղթաների հակագուգահետ ուղղվածությունը: Ազոտական հիմքերը ուղղված են դեպի ներս, իսկ շաբարափոսֆատային հենքը՝ դեպի դուրս: Ազոտական հիմքերի
միջև հաստատվում են ջրածնական կապեր:

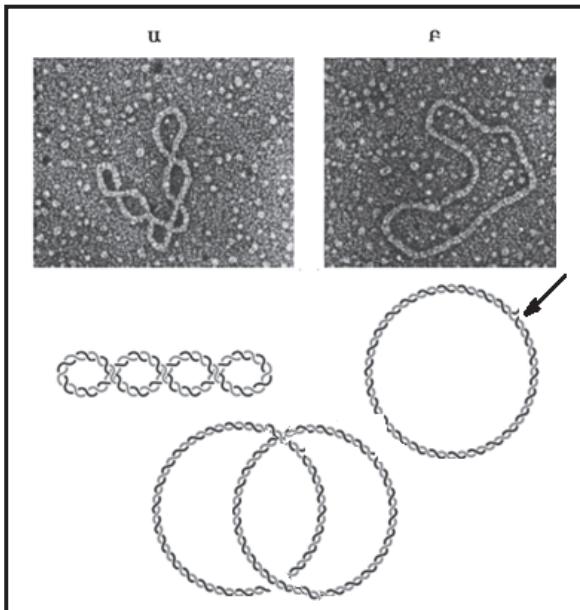


Նկար 4. ԴՆԹ երկպարույրի տարածական ձևերը: Բջիջներում ԴՆԹ-ի մոլեկուլը հիմնականում ներկայացված է Յ ձևով, իսկ Ա ձևը հատուկ է ցածր խոնավության պայմաններում գտնվող ԴՆԹ մոլեկուլին: Զ ձևին բնորոշ է յուրահատուկ ծախակողմյան պարուրում, կենսաբանական ֆունկցիան պարզաբանված չէ, կարող է լինել բջիջներում խիստ սահմանափակ քանակությամբ:



Նկար 5. Երկշղթա ԴՆԹ մոլեկուլի քիմիական կառուցվածքը: Ալաքներով ցույց են տրված շղթաների ուղղվածությունն և ազոտական հիմքերը: ԴՆԹ երկպարույրի մեծ և փոքր ակոսները: Բաց գույնով նշված են ազոտական հիմքերը, որոնց ատոմները մատչելի են դառնում ԴՆԹ-ի հետ կապվող սպիտակուցների համար (Ա): Մեծ ակոսին կապված սպիտակուցը կրում է (կորացնում է) ԴՆԹ-ի մոլեկուլը (Բ):

Էռևարիուտների բջջակորիզներում ԴՆԹ-ն ներկայացված է գծային մոլեկուլների տեսքով: Սակայն միտոքոնոպրիումներում և բուսական բջիջների պլաստիդներում պարունակվող ԴՆԹ-ների մոլեկուլներն օղակաձև են: Ինչպես պարզվեց, օղակաձև են նաև որոշ միաբջիջ էռևարիուտների, պրոկարիուտների և բազմաբջիվ վիրուսների ԴՆԹ-ների մոլեկուլները: Ազատ ծայրերի բացակայությունն (օղակաձև կառուցվածքում) ունի կարևոր հետևանք: Ցանկացած տեղային ապապարուրում ԴՆԹ-ի օղակաձև մոլեկուլում առաջացնում է պտուտային լարվածություն, ինչի հետևանքով այն ենթարկվում է լրացուցիչ ոլորման՝ իր իսկ շորջն առաջացնելով գերպարույր: Այս երևույթը մեծ դեր է խաղում նաև էռևարիուտների կորիզային ԴՆԹ-ի փարեթավորման գործընթացում: Բջջակորիզային ԴՆԹ-ն նույկեռպլազմում ազատ չի լողում և մոլեկուլի որոշակի հատվածներով միացած է կորիզային մատրիքսի (բջջակորիզի կմախը) թելիկներին և քրոմոսոմների սպիտակուցային հենքին: Դրա հետևանքով **էռևարիուտների ԴՆԹ-ն առաջացնում է օղակաձև կառուցվածքներ, որոնք գերպարուրում են**: Գերպարույրների առաջացումը բջջակորիզային ԴՆԹ-ում արգելակում է կրկնապատկման, տրանսկրիպցիայի և ռեպարացման (վերականգնման) գործընթացները: Այս բարդությունը հաղթահարվում է էվոլյուցիայի ընթացքում մշակված հատուկ մեխանիզմի գործունեության շնորհիվ: ԴՆԹ-ի գերպարուրումը վերացնում են հատուկ ֆերմենտները՝ տոպոիզոպուրազ I-ը և II-ը: Տոպոիզոպուրազ I-ը կապվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլին և ճեղքում է շղթայի շաքարաֆոսֆատային հենքի ֆոսֆոդեթերային կապերից մեկը՝ վերացնելով պտուտային լարվածությունը: Նման կտրվածքը կոչվում է «**նիք**»: Տոպոիզոպուրազ II-ն առաջացնում է կտրվածք միաժամանակ ԴՆԹ-ի երկու շղթաներում, այնուհետև ֆերմենտն այնպես է շրջում շղթաները, որ փոխվում է երկապարույրի պտույտի ուղղությունը (աջակողմյանց դառնում է ձախակողմյան): Այս հատկությունների շնորհիվ տոպոիզոպուրազ II-ը կարող է ԴՆԹ-ի երկու օղակներ միացնել կամ անջատել: Պտուտային լարվածությունը (տորզիոն լարվածություն) վերացնելուց հետո տոպոիզոպուրազները միացնում են ԴՆԹ-ի շղթաների կտրված ծայրերը և վերականգնում մոլեկուլի ամբողջականությունը (նկար 6):



Նկար 6. ԴՆԹ: Ա) գերպարուրված, Բ) տոպիզոներազ I-ով մշակելուց հետո: Ամեն օղակ վերացվում է առանձին քայլով (մշակում տոպիզոներազ I): Ալարով ցույց է տրված «նիք»-ը [Lodish 8thed.]:

1.2. Միտոքրոնդրիումային և պլաստիդային ԴՆԹ-ներ

Բջջային ԴՆԹ-ի հիմնական զանգվածը կենտրոնացած է բջջակորիզում: Շատ ավելի փոքր մասը գտնվում է կենդանիների, բույսերի և սնկերի միտոքրոնդրիումներում և բույսերի պլաստիդներում: Համաձայն իշխող տեսակետի՝ վերոհիշյալ օրգանները հայտնվել են բջջում եվոլյուցիայի վաղ փուլերում որպես էնդոզեն սիմբիոնտներ: Ենթադրվում է, որ դրանք ազատ վիճակում եղել են սեփական օղակածն ԴՆԹ ունեցող բակտերիաներ: Եվոլյուցիայի ընթացքում տեղեկատվության մի մասն այդ ԴՆԹ-ներից տեղափոխվել է տերքջի բջջակորիզ: Ժամանակակից բջիջների միտոքրոնդրիումների և պլաստիդների ԴՆԹ-ն պարունակում է օրգաններին մենահատուկ

սպիտակուցները գաղտնագրող գեներ, ինչպես նաև վերջիններիս սինթեզն ապահովող ոիբռումային և փոխադրիչ Ռ-ՆԹ-ներ: Այսպիսով՝ էուկարիոտներին հատուկ է երկու գենետիկական համակարգերի առկայություն՝ գերիշխող կորիզային համակարգ և լրացուցիչ համակարգ՝ ի դեմս միտոքոնդրիումների և պլաստիճների ԴՆԹ-ի:

Միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ն (մ-ԴՆԹ) գտնվում է օրգանելների մատրիքսում և կրկնապատկվում է ինտերֆազում միտոքոնդրիումների կրկնապատկման ժամանակ: Յուրաքանչյուր միտոքոնդրիում կարող է պարունակել մի քանի մոլեկոլ ԴՆԹ: Այդ պատճառով յուրաքանչյուր բջջում պարունակվող ԴՆԹ-ի ընդհանուր զանգվածը կախված է ոչ միայն կորիզային ԴՆԹ-ի պարունակությունից, այլև միտոքոնդրիումների թվից և յուրաքանչյուր միտոքոնդրիումում պարունակվող ԴՆԹ-ի քանակությունից:

Թե՛ միտոքոնդրումների թիվը, թե՛ դրանցում պարունակվող ԴՆԹ-ի մոլեկուլների թիվը զանազան տիպի բջիջներում կարող են տարրեր լինել:

Կարնասուների մոտ և բազմաքիչ այլ օրգանիզմներում սպերմատոզդիները գրեթե չեն մասնակցում զիգոտում ցիտոպլազմի ձևավորմանը, և ապագա սաղմի միտոքոնդրիումները ժառանգվում են մայրական օրգանիզմից՝ ձվաբջջից: Օրինակ՝ մկների մոտ մ-ԴՆԹ-ի 99,99 %-ը ժառանգվում է եզ ծնողից և միայն 0,01 %-ը՝ արուից: Բարձրակարգ բույսերի մոտ մ-ԴՆԹ-ի ժառանգումը տեղի է ունենում բացառապես մայրական օրգանիզմից (ձվաբջջով):

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց տվեցին, որ մ-ԴՆԹ-ում գաղտնագրված են ոիբռումային և փոխադրիչ Ռ-ՆԹ-ներ, որոնք անհրաժեշտ են միտոքոնդրիումների սեփական սպիտակուցների սինթեզի համար: Մ-ԴՆԹ-ում գաղտնագրված բոլոր սպիտակուցները սինթեզվում են միտոքոնդրիումների ոիբռումների կողմից, և դրանք, որպես կանոն, ներկայացնում են ԱԵՖ-ի սինթեզին և փոխադրմանը մասնակցող ֆերմենտների ենթամիավորներ: Այնպիսի կարևորագույն ֆերմենտներ, ինչպիսիք են միտոքոնդրիումների Ռ-ՆԹ և ԴՆԹ պոլիմերազները, սինթեզվում են ցիտոպլազմում գտնվող ոիբռումներում, որից հետո՝ տեղափոխվում դեպի միտոքոնդրիում:

Միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ները տարբերվում են չափերով և գաղտնագրված սպիտակուցների թվով: Զանազան օրգանիզմների մոտ կարող է տարբերվել անգամ դրանց գենետիկական կողը: Մարդկային մ-ԴՆԹ-ն ամենափոքրն է հայտնի մ-ԴՆԹ-ներից և կազմված է 16 569 գույզ նուկլեոտիդներից: Այն գաղտնագրում է միտոքոնդրիումների ռիբոսոմների ռ-Ո-ՆԹ-ներն ու 22 ֆոխալդիչ Ո-ՆԹ-ներ, որոնք անհրաժեշտ են միտոքոնդրիումների ի-Ո-ՆԹ-ների տրանսլյացիայի համար: Ի հակադրություն բջջակորիզային ԴՆԹ-ի՝ կաքնասունների մ-ԴՆԹ-ն գուրկ է ինտրոններից (գեների ներքին հատվածներ, որոնք ամինաթթուներ չեն կոդավորում): Բույսերի մ-ԴՆԹ-ները շատ ավելի մեծ են, քան մնացած բազմաթիվ օրգանիզմների մ-ԴՆԹ-ները: Անգամ մեկ բուսական ընտանիքի ներկայացուցիչների մ-ԴՆԹ-ները կարող են շատ տարբեր չափեր ունենալ: Օրինակ՝ ճմերուկի մ-ԴՆԹ-ն կազմված է 330 հազար գույզ նուկլեոտիդներից (հզն), իսկ սեխի մ-ԴՆԹ-ի մեծությունը հասնում է 2500 հզն: Բուսական մ-ԴՆԹ-ը, ի տարբերություն կենդանական և սնկերի մ-ԴՆԹ-ների, պարունակում է կրկնավոր նուկլեոտիդային հաջորդականություններ և ամինաթթուներ չկոդավորող երկար հատվածներ, ինչով և պայմանավորված է բուսական մ-ԴՆԹ-ների մեծությունը: Ենթադրվում է, որ միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ների չափերի և կոդավորման տարբերությունները պայմանավորված են գեների փոխանակությամբ միտոքոնդրիումների և կորիզային ԴՆԹ-ի միջև: Մ-ԴՆԹ-ների բոլոր Ո-ՆԹ-տրանսկրիպտները (այն Ո-ՆԹ-ները, որոնք արտատպել են ԴՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի ընթացքում) մնում են միտոքոնդրիումներում, իսկ սպիտակուցները սինթեզվում են միտոքոնդրիումների ռիբոսոմներում: **Միտոքոնդրիումներում գտնվող ռիբոսոմների Ո-ՆԹ-ն գաղտնագրված է մ-ԴՆԹ-ում, իսկ ռիբոսոմային սպիտակուցները (բացառությամբ 1-2 սպիտակուցների) սինթեզվում են ցիտոպլազմում, ինչից հետո տեղափոխվում են միտոքոնդրիում:** **Միտոքոնդրիումում ընթացող սպիտակուցների սինթեզի համար անհրաժեշտ փ-Ո-ՆԹ-ները կոդավորվում են բացառապես մ-ԴՆԹ-ներով:** Միտոքոնդրիումային ռիբոսոմների սպիտակուցային կազմը, չափերը և կայունությունը հակադրութիկների հանդեպ նման են բակտերիաների ռիբոսոմներին բնորոշ համապատասխան չա-

փանիշներին, ինչը սպասելի է՝ ելնելով օրգանելի էվոլյուցիոն ծագումից: Օրինակ՝ քլրտամֆենիկոլը ճնշում է սպիտակուցի սինթեզը բակտերիաների և միտոքոնդրիումների ռիբոսումներում, իսկ ցիկլոհեքսիմիդը՝ ոչ: Յիտոպալազմում գտնվող ռիբոսումները, հակառակը, զգայուն են ցիկլոհեքսիմիդի և կայուն են քլրտամֆենիկոլի նկատմամբ: Թերևս ամենաակնառու տարրերությունը բջջակորիզային և մ-ԴՆԹ-ի միջև այն է, որ վերջինիս գենետիկական կողը տարրերվում է պրոկարիոտների, էուկարիոտների և սնկերի համընդհանուր գենետիկական կողից: Ավելին, մ-ԴՆԹ-ի գենետիկական կողը տարրերվում է անգամ տարրեր կենաաբանական տեսակների մոտ: Այս տարրերությունների բուն պատճառը թերևս պարզաբանված չէ: Օրինակ՝ UGA հաջորդականությունը բույսերի միտոքոնդրիումներում «դադար» է ազդանշանում, իսկ մարդու և սնկերի միտոքոնդրիումներում այն կողավորում է տրիպտոֆան ամինաթրուն: Կորիզային ԴՆԹ-ի AGA և AGG հաջորդականությունները կողավորում են արգինինը սնկերի և բույսերի միտոքոնդրիումներում, իսկ կարնասունների մ-ԴՆԹ-ում հանդիս են գալիս որպես «դադարի» ազդանշան, պտղաճանձ Drosophila-ի մոտ կողավորում են սերին ամինաթրուն:

Տարրեր գործոնների ազդեցությունից հետո (իոնիզացնող ճառագայթահարում, ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների և քիմիական նյութերի ներգործություն և այլն) մ-ԴՆԹ-ն ենթարկվում է մուտացիաների: Սակայն ի տարրերություն բջջակորիզային ԴՆԹ-ի՝ մուտացիաները կարող են շոշափել ոչ բոլոր միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ն, և որոշ օրգանների մ-ԴՆԹ-ները կարող են մուտացիայի չենթարկվել (պահպանվում է, այսպես կոչված, «վայրի տիպի» մ-ԴՆԹ-ն): Նման իրավիճակը կոչվում է **հետերոպալազմիա:** Յուրաքանչյուր դրսար բջիջ միտոզից հետո ստանում է գրեթե հավասար քանակությամբ միտոքոնդրիումներ: Ամեն անգամ, երբ բջիջը բաժանվում է, տեղի է ունենում մուտաց և վայրի տիպի մ-ԴՆԹ-ներ կրող միտոքոնդրիումների պատահական քաշխում դրսար բջիջների միջև: Թեև օրգանիզմի բոլոր բջիջներում կան միտոքոնդրիումներ, մ-ԴՆԹ-ների մուտացիաները ֆենոտիպիկորեն դրսևորվում են որոշակի հյուսվածքներում: Որպես կանոն, դրանք այն հյուսվածքներն են, որոնց գործունեության համար պահանջվում են օքսիդացնող

ֆոսֆորիլացման ճանապարհով սինթեզվող ԱԵՖ-ի մեծ քանակություններ (մկանային, նյարդային բջիջներ):

Սիտոռոնդրիումային ԴՆԹ-ի կազմի մեջ մտնող NADH-CoQ ռեդուկտազի 4-րդ ենթամիավորը կողավորող գենի մուտացիայի պատճառով խախտվում է տեսողական կենտրոնի նեյրոնների էներգետիկ փոխանակությունը, և տեսողական նյարդը հետաձ է ապրում: Տեսողական նյարդի հետաձ պատճառով զարգանում է կուրություն, որը հայտնի է որպես Լեբերի ժառանգական տեսողական նեյրոպատիա:

Մ-ԴՆԹ-ում տեղ գրաված խոշոր դելեցիաների հետևանքով ծագում են տեսողական օրգանի զանազան աննորմալություններ և Կիոն-Սայրեի ախտանիշը, որը բնորոշվում է կենտրոնական նյարդային համակարգի դեգեներատիվ փոփոխություններով և անկանոն սրտային ռիթմով: Մուտացիաները կարող են շոշափել նաև միտոքոնդրիումների փոխադրիչ Ռ-ՆԹ-ները կողավորող մ-ԴՆԹ-ի հատվածները: Եթե վնասվում է մ-ԴՆԹ-ի այն հատվածը, որը կողավորում է լիզինը տեղափոխող փ-Ռ-ՆԹ-ի ՏΨCG շրջանը, միտոքոնդրիումներում խախտվում է սպիտակուցների սինթեզը: Դրա հետևանքով զարգանում է մկանաթելերի «մաշվածության» ախտանիշը, որը դրսնորվում է հիվանդի անկանոն և կտրուկ շարժումներով:

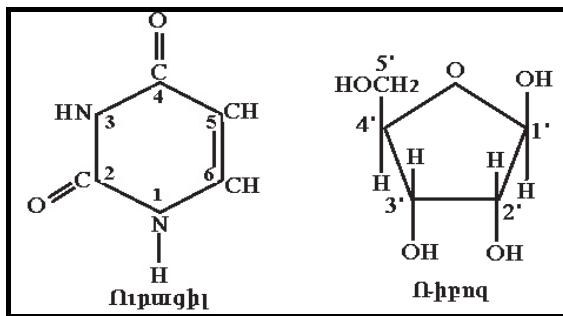
1.3. Բջջային Ռ-ՆԹ-ների տիպերը

ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվության վերծանման վերջնանյութը միշտ չէ, որ սպիտակուց է, այն կարող է լինել Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլ: Բջջային Ռ-ՆԹ-ների բվին են պատկանում տեղեկատվական կամ միջնորդ Ռ-ՆԹ-ները, ոփրոստմային Ռ-ՆԹ-ները, փոխադրիչ Ռ-ՆԹ-ները և տարարենույթ Ռ-ՆԹ-ներ, որոնք ակտիվորեն նաև ակտիվորեն սպիտակուցների սինթեզի կարգավորման գործընթացներին (տրանսկրիպցիայի ակտիվություն, տրանսլյացիա):

Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլների քիմիական կառուցվածքը շատ նման է ԴՆԹ-ների մոլեկուլների կառուցվածքին: Ինչպես Դ-ՆԹ-ները, Ռ-ՆԹ-ները ևս պոլիմերներ են, որոնք կազմված են նույնական բաղադրիչների (տրանսկրիպցիայի ակտիվություն, տրանսլյացիա):

միավորներից: Ունժ-ների ազոտական հիմքերը միանում են շաքարային մնացորդների միջև գործող ֆոսֆոդիերային կապով: ԴՆԹ-ի և Ունժ-ի կառուցվածքների միջև գոյություն ունեն սկզբունքային տարրերություններ.

1. Ունժ-ի կառուցվածքում շաքարի մնացորդը ոիբոզի է, իսկ ազոտական հիմք թիմինի փոխարեն հանդիս է գալիս ուրացիլը (նկար 7):
2. Ունժ-ների և ԴՆԹ-ի երկրորդային և երրորդային կառուցվածքներն եւապես տարրերվում են:
3. Ոիբոզի 2' դիօքում գտնվող ացխածնի հետ կապված հիդրօքսիլ խումբը քիմիապես ալյոխիլ է, ինչի շնորհիվ որոշ Ունժ-ներ կարող են կատարել կատալիտիկ ֆունկցիաներ: Բացի դրանից՝ հիդրօքսիլ խմբի առկայության հետևանքով Ունժ-ի մոլեկուլը, ի տարրերություն ԴՆԹ-ի, հիմնային միջավայրում հեշտությամբ հիդրոլիզվում է՝ քայլավելով մինչև մոնոնուկ-լեռտիդներ:



Նկար 7. Ունժ-ի բաղադրության մեջ մտնող ազոտական հիմք ուրացիլի և շաքարի՝ ոիբոզի քիմիական կառուցվածքը:

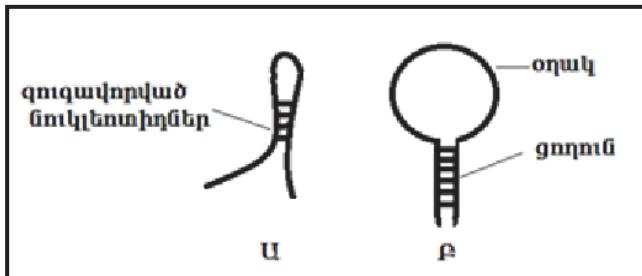
Ունժ-ի պոլինուկենոտիդային շղթաները կարող են առաջացնել Ունժ-ԴՆԹ երկշղթա հիբրիդային մոլեկուլներ, որոնցում մի շղթան պատկանում է Ունժ-ին, իսկ մյուսը՝ ԴՆԹ-ին: Բջջային Ունժ-ները հիմնականում միաշղթա են, սակայն մոլեկուլի ճկունությունը բույլ է տալիս առաջացնել բազմազան տարածական ձևեր, և Ունժ-ների

մոլեկուլները բջջում հանդես են զայխ տարբեր կոնֆորմացիաներով: ՈՆԹ-ների մոլեկուլների կոնֆորմացիաների բազմազանության շնորհիվ դրանք կատարում են տարաբնույթ կենսաբանական ֆունկցիաներ:

ՈՆԹ-ի ամենապարզ երկրորդային կառուցվածքը «ծամկալն» է (նկար 8): Ծամկալը առաջանում է, եթե 5-10 նուկլեոտիդ երկարությամբ ՈՆԹ-ի մոլեկուլի հատվածների ազոտական հիմքերը զուգավորվում են կրծավակեմենտարության սկզբունքով: Եթե զուգավորվող նուկլեոտիդների միջև ընկած հեռավորությունը 10 նուկլեոտիդից ավել է, առաջանում է օղակ-ցողուն անվանվող երկրորդային կառուցվածք: Ծամկալները և օղակ-ցողուն կառուցվածքները կարող են առաջացնել ավելի բարդ համարկած կառույցներ, որոնք արդեն դասվում են ՈՆԹ-ի երրորդային կառուցվածքին:

Փոխադրիչ և ռիբոսոմային ՈՆԹ-ներն ունեն արտահայտված երրորդային կառուցվածք, իսկ ի-Ո-ՆԹ-ների մոտ երրորդային կառուցվածքով օժտված են միայն 5' և 3' ծայրային հատվածները:

Սպիտակուցային մոլեկուլների նման ՈՆԹ-ների մոլեկուլների գծային հատվածներն ունեն α-շղթաների և β-ծալքերի ձև: Դրանք միմյանցից տարանջատվում են հատվածներով, որոնց կառուցվածքը անկանոն է և ավելի ճկուն: ՈՆԹ-ների մի խումբ՝ **ռիբոզիմները**, դրսևորում են կատալիտիկ հատկություններ: Ռիբոզիմների մոլեկուլներում ՈՆԹ-ն կապված է սպիտակուցների հետ, որոնք կայունացնում են ընդհանուր սպիտակուց-ՈՆԹ կառույցը, բայց չեն մասնակցում կատալիտիկ ֆունկցիան իրականացվում է միայն ՈՆԹ-ի մոլեկուլների կողմից:



Նկար 8. Ո-ՆԹ-ի պոլիմուկեռտիդային պոլիմերային շղթաների

երկրորդային կառուցվածքների հիմնական ձևերը:

Ա) ծամկալ, Բ) օղակ-ցողուն:

Որոշ ռիբոզիմներ գործում են տրանսկրիպցիայի «սպլայսինգ» կոչվող գործառույթում, որտեղ նախ կտրում են նորաստեղծ ի-Ո-ՆԹ-ի միջանկյալ հատվածները, ապա միացնում են հատվածների կտրված եզրերը՝ վերականգնելով մոլեկուլի ամբողջականությունը:

Բջջային Ո-ՆԹ-ները բաժանվում են երկու հիմնական խմբերի՝ սպիտակուց կողավորող և սպիտակուց չկողավորող: Վերը նկարագրված Ո-ՆԹ-ներից միայն ի-Ո-ՆԹ-ն է սպիտակուց կողավորում, իսկ փ-Ո-ՆԹ-ները և ռ-Ո-ՆԹ-ները թեև անհրաժեշտ են սպիտակուց սինթեզի համար, բայց դասկում են սպիտակուց չկողավորող կամ պարզապես չկողավորող Ո-ՆԹ-ների խմբին:

Ի-Ո-ՆԹ-ներին (**տեղեկատվական Ո-ՆԹ**) հասուկ են 5' և 3' ծայրերի քիմիական ձևափոխությունները: 5' ծայրի ձևափոխությունը կոչվում է **կեպավորում**, իսկ 3' ծայրի ձևափոխությունը՝ **պոլիադենիլացում**: Այս ձևափոխությունները տեղի են ունենում կենդանիների և բույսերի ի-Ո-ՆԹ-ներում և կոչված են ապահովել մոլեկուլի կայունությունը՝ պաշտպանելով դրա ծայրերը էկզոնուկեազների քայլքայիշ ներգործությունից:

Փ-Ո-ՆԹ-ներ (փոխադրիչ Ո-ՆԹ-ներ): Փոխադրիչ Ո-ՆԹ-ները հասուկ դեր են կատարում սպիտակուցի սինթեզի ժամանակ՝ բարգանելով ի-Ո-ՆԹ-ի նուկեռտիդային գաղտնագիրը (նուկլեինաքրուների նուկլեոտիդների լեզվից) համապատասխան ամինաքրվային

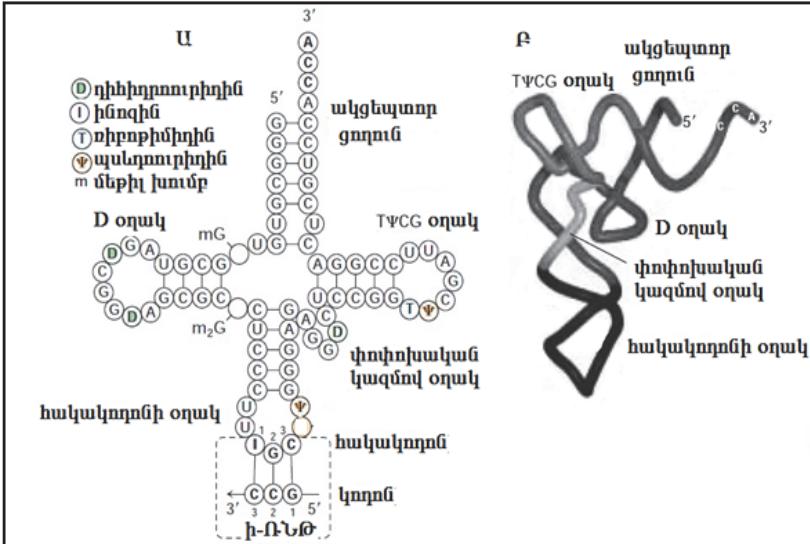
հաջորդականությունների (սպիտակուցների ամինաթթվային լեզվի): Յուրաքանչյուր ամինաթթվին համապատասխանում է փ-Ո-ՆԹ-ների խումբ, որոնք միանում են ամինաթթվին և փոխադրում այն դեպի պոլիակտիդային շղթայի աճող ծայրը: Ի-Ո-ՆԹ-ի գաղտնագրին (երեք նուկլեոտիդներ-կոռպն) համապատասխանող ամինաթթվին միացած փ-Ո-ՆԹ-ն ընտրվում է համաձայն փ-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլում գտնվող **հակակոռպնիք**: Այն ներկայացնում է ի-Ո-ՆԹ-ի կողոնին կոմպլեմենտար երեք նուկլեոտիդներ, որոնք գուգավորվում են ի-Ո-ՆԹ-ի կողոնի նուկլեոտիդների հետ:

Բակտերիաների բջիջներում գործում են 30-40 տարրեր փ-Ո-ՆԹ-ներ, մինչդեռ կենդանական և բուսական բջիջներում դրանց թիվը տատանվում է 50-100: Ակնհայտ է, որ յուրաքանչյուր ամինաթթվին համապատասխանում են մի քանի փ-Ո-ՆԹ-ներ: Փ-Ո-ՆԹ-ները կազմված են մոտ 70-80 նուկլեոտիդներից: Լուծույթում բոլոր փ-Ո-ՆԹ-ներն ընդունում են այնպիսի կոնֆորմացիա, որի երկափ պատկերը նման է երեքնուկի տերևի (նկար 9): Իրականում օղակները գտնվում են տարրեր հարթություններում (նկար 9, Բ), և մոլեկուլի եռաչափ պատկերը կողդից հիշեցնում է լատիներեն L տառը: Բոլոր փ-Ո-ՆԹ-ների 3՝ ծայրն ավարտվում են CCA եռյակով, որը, որպես կանոն, ավելացվում է ակցեպտորային ցողունի 3՝ ծայրին նրանից հետո, երբ ավարտվում է փ-Ո-ՆԹ-ի սինթեզը և պրոցեսինգը (հասունացումը): Որոշ նուկլեոտիդային հիմքերի մոդիֆիկացումը (քիմիական ձևափոխությունը) նույնպես տեղի է ունենում փ-Ո-ՆԹ-ի սինթեզից հետո: Փ-Ո-ՆԹ-ների օղակաձև հատվածները կազմված են միջինում 7-8 նուկլեոտիդներից: Եթե յուրաքանչյուր կողոն գաղտնագրեր միայն մեկ ամինաթթու և կողոն-հակակողոն (եռյակ-հակաեռյակ) գուգավորումը միշտ ընթանար կոմպլեմենտարության սկզբունքով, բջիջները կպարունակեին ճիշտ 21 տարրեր փ-Ո-ՆԹ-ներ, որոնցից յուրաքանչյուրը համապատասխանում է տվյալ ամինաթթուն գաղտնագրող եռյակին: Սակայն, բջիջներում գործում են ավելի շատ փ-Ո-ՆԹ-ներ, քանի որ մեկ ամինաթթուն կարող է գաղտնագրվել մեկից ավելի կողոններով, որոնք տարրերվում են 3-րդ դիրքում գտնվող, այսպես կոչված, «թրթռացող»

(փոփոխվող) նուկլեոտիդով: Փ-Ո-ՆԹ-ների թիվը էլ ավելի է մեծանում երկու լրացուցիչ հանգամանքների շնորհիվ:

1. Ի-Ո-ՆԹ-ի կողոնի փոփոխական (քրքրացող) դիրքում գտնվող երրորդ նուկլեոտիդը կարող է զուգավորվել չորս ոչ ստվորական ձևերով: Շատ կարևոր են գուանին-ուրացիլ արտաստվոր զույգերը:
2. Փ-Ո-ՆԹ-ի հակակողոնում «քրքրացող» դիրքում գտնվում է առաջին նուկլեոտիդը: Եթե այն ներկայացված է գուանինով, ապա կարող է զուգավորվել ի-Ո-ՆԹ-ի երկու տարբեր կողոնների հետ, որոնց քրքրացող դիրքում գտնվում է կամ ցիտոզինը կամ ուրացիլը:

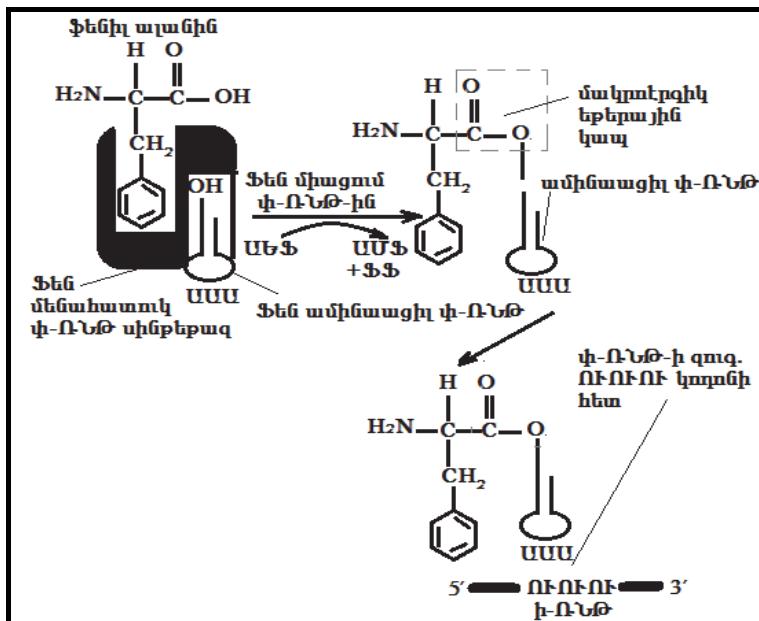
Ֆենիլ ալանինը զաղտնագրող կողոններ ՈՒՈՒՅ-ն և ՈՒՈՒՈՒ-ն ճանաչվում են ԳԱՍ հակակողոն ունեցող փ-Ո-ՆԹ-ներով: Աղենինը հազվադեպ է գտնվում հակակողոնի փոփոխական (քրքրացող) դիրքում, սակայն բուսական և կենդանական շատ փ-Ո-ՆԹ-ներն այդ դիրքում կարող են ունենալ ինոզին, որը դեզամինացված աղենին է: Ինոզինը հեշտությամբ արտաստվոր զույգեր է կազմում աղենինի, ցիտոզինի և ուրացիլի հետ, և հակակողոնի առաջին դիրքում գտնվող ինոզինը կարող է ճանաչել համապատասխան ի-Ո-ՆԹ-ների այն կողոնները, որոնք երրորդ դիրքում ունեն աղենին, ցիտոզին կամ ուրացիլ: Դրա հետևանքով ինոզին-պարունակող փ-Ո-ՆԹ-ները ակտիվորեն մասնակցում են այն ամինաթթուների տրանսլյացիային, որոնք ունեն հոմանիշ կողոններ: Օրինակ՝ լեյցինը կողավորվում է վեց տարբեր կողոններով: Դրանցից չորսը՝ ՑՈՒԱ, ՑՈՒՅ, ՑՈՒՈ, ՈՒՈՒԱ, ճանաչվում են նույն փ-Ո-ՆԹ-ով, որը ունի Յ'-Գ-Ահ-5' հակակողոննը:



Նկար 9. Ա) փ-Ռ-ՆԹ երկչափ և Բ) եռաչափ պատկերները: Ցողունը կազմված է չորսական գուգավորված նուկլեոտիդներից, օղակները երեքն են: Բոլոր փ-Ռ-ՆԹ-ների 3' ծայրը ներկայացված է CCA եռյակով: Որոշ նուկլեոտիդներ քիմիապես ձևափոխված են (մոդիֆիկացված են): Դիմիլորուրիդինը միշտ գտնվում է D օղակում, ոիբորիմիդինը և պսեղոպորիդինը՝ TΨCG օղակում:

Կողոն-հակակողոն գուգավորումը և համապատասխան ամինաթթվի ընտրությունն իրականաւմ գենետիկական գաղտնագրի վերծանման առաջին քայլը չեն: Գենետիկական գաղտնագրի վերծանման առաջին քայլը մենահատուկ ամինաթթվի միացումն է համապատասխան փ-Ռ-ՆԹ-ին, որը խթանվում է ամինացիլ-փ-Ռ-ՆԹ սինթեթազի ֆերմենտով: Գոյություն ունեն քսան տարրեր ամինացիլ-փ-Ռ-ՆԹ սինթեթազներ, որոնցից յուրաքանչյուրը ճանաչում է մեկ ամինաթթու և այդ ամինաթթվին համապատասխանող բոլոր փ-Ռ-ՆԹ-ները: Ֆերմենտները միացնում են ամինաթթուն փ-Ռ-Փ-ի 3' ծայրի աղենոզինի 2-րդ կամ 3-րդ դիբրում գտնվող հիդրօքսիլ խմբին ծախսելով ԱԵՖ-ի էներգիան: Ամինաթթուն անցնում է ակտիվացած վիճակի, քանի որ միանում է փ-Ռ-ՆԹ-ին մակրոէրգիկ

կապով (նկար 10): Ամինաացիլ-փ-ՈՆԹ-ի մակրոէրգիկ կապի ավելցուկային էներգիան օգտագործվում է պեպտիդային կապի առաջացման համար պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ընթացքում:



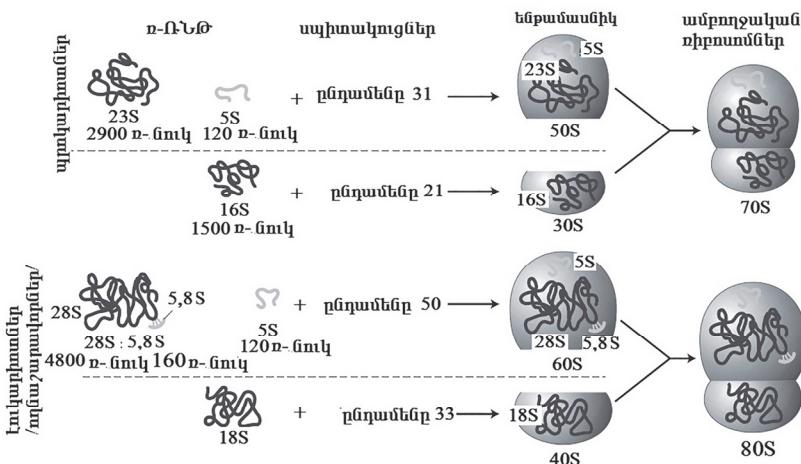
Նկար 10. Ամինաացիլ փ-ՈՆԹ-ի առաջացումը ամինաացիլ փ-ՈՆԹ սինթետակ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում:

Ուիրոսումային ՈՆԹ (ռ-ՈՆԹ) և ռիրոսումներ: Պարզ քիմիական օրինաչափությունները չեն կարող ապահովել սպիտակուցների սինթեզի բարձր արդյունավետությունը բջիջներում: Ցանկացած քիմիական ռեակցիայի արագությունը կախված է փոխազդող նյութերի կոնցենտրացիայից, քանի որ մոլեկուլների քիմիական փոխազդեցությունը հնարավոր է դրանց անմիջական բախումների պարագայում: Ակնհայտ է, որ պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի համար պահանջվող ազատ ամինաթթուների, փ-ՈՆԹ-ների և ի-ՈՆԹ-ների քանակի ավելացումը բջջում ոչ միայն էներգետիկորեն արդյունավետ չէ, այլև անհամատեղելի է բջիջների կենսագործունեության

համար պահանջվող պայմաններին: Եվոլյուցիայի հետևանքով բջիջներում սպիտակուցի կամ պոլիպեպտիդային շղթաների սինթեզի բարձր արդյունավետությունն ապահովելու համար առաջացել են հատուկ օրգանելներ: Այդ օրգանելները կոչվում են **ռիբոսոմներ** և մեկտեղում են պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի համար պահանջվող բոլոր մոլեկուլները՝ ստեղծելով վերջիններիս տեղային մեծ կոնցենտրացիաներ: Ռիբոսոմներում պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի գործընթացը կոչվում է «**առանսվացիա**»: Տրանսլյացիայի ընթացքում ամինաբբվային մնացորդները պեպտիդային կապի միջոցով միանում են միմյանց՝ առաջացնելով պոլիպեպտիդային շղթա:

Յուրաքանչյուր ռիբոսոմ բարդ մոլեկուլային համալիր է, որը բաղկացած է ռ-Ռ-ՆԹ-ներից և սպիտակուցներից: Թերևս այս բջջային օրգանելները կարելի է համեմատել գործիքաշինական հաստոցի հետ, որի օգնությամբ տարբեր մասերից հավաքվում են զանազան գործիքներ (ամինաբբուներից սինթեզվում են տարբեր սպիտակուցներ): Մեկ վայրկյանում ռիբոսոմներում միմյանց են կապվում 3-5 ամինաբբուներ: Դժվար չէ հաշվարկել, որ փոքր չափերի սպիտակուցները (բաղկացած մոտ 200 ամինաբբուներից) սինթեզվում են 40-60 վայրկյանում: Ներկայումս հայտնի ամենամեծ սպիտակուցը, որը գտնվում է մկանաբեկերում, բաղկացած է 30 000 ամինաբբուներից և սինթեզվում է 2-3 ժամում:

Պրոկարիոտ օրգանիզմների ռիբոսոմները կազմված են երեք, իսկ էուկարիոտներինը՝ չորս տարբեր ռ-Ռ-ՆԹ-ներից: Ռ-Ռ-ՆԹ-ներին միանում են շուրջ 83 սպիտակուցներ՝ կազմավորելով ռիբոսոմների մեծ և փոքր ենթամասնիկները (նկար 12): Ռիբոսոմների ենթամասնիկների և դրանց կազմի մեջ մտնող Ռ-ՆԹ-ների մեծությունները բնութագրվում են **Սվերդերզի միավորներով (S):**



Նկար 11. Պրոկարիոտների և էուկարիոտների ռիբոսոմների կառուցվածքի գծապատկերը:

Սվերբերգի նստվածքագոյացման (սեղմենտացման) միավորը ցենտրիֆուզման ժամանակ նյութի գծային շարժման արագության և արագացման հարաբերությունն է՝ $v/r\omega^2$: Ցենտրիֆուզման արագացումը հավասար է $r\omega^2$ -ի, r -ը պտույտի շառավիղն է, ω -ն՝ անկյունային արագացումը՝ ռադիան/րոպ: Սվերբերգի միավորը՝ 1S-ը, ցույց է տալիս, որ ցենտրիֆուզման 1g արագացման պարագայում ($g=1$) մասնիկը 1 վայրկյանում տեղափոխվում է 10^{-13} մետր հեռավորության վրա: Օրինակ, եթե արագացումը կազմում է 100 000 g, ապա 50S մասնիկը յուրաքանչյուր վայրկյանում կտեղափոխվի $10^{-13} \text{m} \times 50 \times 10^5 \text{ g} = 50 \times 10^{-8} \text{ m}$: 10 սմ երկարություն ունեցող ցենտրիֆուզման անորի հատակին նստվածք ձևավորելու համար 50S մասնիկները պետք է անցնեն 10 սմ $= 10^{-2} \text{ m}$ հեռավորություն: Այդ հեռավորությունը 50S մասնիկը կանցնի $10^{-2} \text{ m}/50 \times 10^{-8} \text{ m}/\text{վրկ} = 19800 \text{ վրկ} = 5,5$ ժամ: Այսպիսով՝ Սվերբերգի միավորը հճարավորություն է տալիս հաշվարկելու խառնուրդից մասնիկի անջատման փորձարարական չափանիշները:

Փոքր ռիբոսումային ենթամասնիկը պարունակում է մեկ մոլեկուլ 18S ռ-ՌՆԹ, որը անվանվում է փոքր ռ-ՌՆԹ: Մեծ ենթամասնիկը պարունակում է երեք ռ-ՌՆԹ-ներ՝ 28S,5S ռ-ՌՆԹ մոլեկուլ, իսկ ողնաշարավորների մոտ՝ ևս մեկ՝ 5,8 S ռ-ՌՆԹ մոլեկուլ: Բակտերիաների և էուկարիոտների ռիբոսումները տարրերվում են ոչ միայն ռ-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների չափերով, այլև ենթամասնիկների կազմի մեջ մտնող սպիտակուցների քանակով: Այդ տարրերությունների շնորհիվ բակտերիաների ռիբոսումները 70S չափսի են, իսկ էուկարիոտներինը՝ 80S: Սակայն շատ ավելի եական է բոլոր կենսաբանական տեսակների ռիբոսումների գործունեության ընդհանրությունը: Անկախ նույլեռտիդային հաջորդականությունների տարրերությունից՝ բոլոր տիպի ռ-ՌՆԹ-ների նույլեռտիդները գուգավորվում են՝ առաջացնելով նույնատիպ օղակ-ցողուն կառուցվածքներ, որոնք և ձևավորում են տարրեր տեսակի օրգանիզմների ռիբոսումների երրորդային կառուցվածքը: Ուիրոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների քիչիների ցիտոպլազմում կամ միջինավոր ռիբոսումների ռիբոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների քիչիների ցիտոպլազմում կամ միջինավոր ռիբոսումների ռիբոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների քիչիների ցիտոպլազմում կամ միջինավոր ռիբոսումների ռիբոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների քիչիների ցիտոպլազմում կամ միջինավոր ռիբոսումների ռիբոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների քիչիների ցիտոպլազմում կամ միջինավոր ռիբոսումների ռիբոսումների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով:

Ոիրոսումները՝ որպես ամբողջական օրգանելներ, ձևավորվում են միայն սպիտակուցի սինթեզի ժամանակ, երբ մեծ և փոքր ոիրոսումներին միավորվում են՝ խմբվելով ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի շուրջը: Համալիրի կազմավորումից հետո ի-ՌՆԹ-ն կարծես ներքաշվում է ոիրոսումի մեջ, և սկսվում է պոլիպեպտիդային շղթային սինթեզը, որն ավարտվում է այն պահին, երբ ոիրոսումը հասնում է դադարի կողոնին: Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի դադարից հետո նորաստեղծ պոլիպեպտիդն ազատ է արձակվում ոիրոսումից: Ոիրոսումներին ենթամասնիկները հեռանում են միմյանցից և կարող են խմբվել ի-ՌՆԹ-ի նոր մոլեկուլի շուրջը:

Սպիտակուց չկողավորող հետերոգեն ՌՆԹ-ներ: Վերջին երկու տասնամյակում հայտնաբերվեցին սպիտակուց չկողավորող հարյուրավոր կարծ և երկար ՌՆԹ-ներ, որոնք, մասնակցելով հիմնարար բջջային ֆունկցիաներին և դրանց կարգավիրմանը, ունեն կենսաբանական հսկայական նշանակություն (աղյուսակ 1): 1998 թվականին առաջին անգամ հաջողվեց ցույց տալ, որ որոշ փոքր չափերի ՌՆԹ-ներ կարող են մասնակցել գեների լրեցման գործառույթին: Սպիտակուց չկողավորող կարծ կամ, այսպես կոչված, փոքր չկողավորող ՌՆԹ-ների խմբի մեջ միավորվում են այն ՌՆԹ-ները, որոնց մոլեկուլների երկարությունը կազմում է մոտ 20-30 նուկլեոտիդ՝ միկրո-ՌՆԹ-ները և ինտերֆերենցվող ՌՆԹ-ները: 2012 թվականին բացահայտվեց, որ բացի փոքր ՌՆԹ-ներից՝ գենոմի մեծ հատվածներ գաղտնագրում են երկար ՌՆԹ-ներ, որոնք նույնապես սպիտակուց չեն կողավորում: Այս խմբի ՌՆԹ-ները փոփոխում են գեների գործարկման (էքսապրեսիայի) ակտիվությունը և կարող են տարբերվել ըստ երկարության, առաջացման ուղիների և փոխազդրող սպիտակուցային մոլեկուլների հավաքակազմի:

Աղյուսակ 1.

Բջջային ՌՆԹ-ների տիպեր	
ՌՆԹ տիպ	Ֆունկցիա
Ի-ՌՆԹ (mRNA)	Ինֆորմացիոն ՌՆԹ-ներ – սպիտակուցների կողավորում (գաղտնագրում)
Ռ-ՌՆԹ (rRNA)	Ոիրոսումների ՌՆԹ-ներ – ոիրոսումի հիմնական կառուցվածքային միավոր

Փ-ՌՆԹ (tRNA)	Փոխադրիչ ՌՆԹ-ներ – փոխադրում են ամինաթթուները դեպի սիրոստմներ, սպիտակուցների սինթեզում կատարում են գլխավոր դերից մեկը՝ միջնորդելով ի-ՌՆԹ-ի կողի քարգմանությունը համապատասխան ամինաթթվի
Կ. կ. ՌՆԹ (snRNA)	Կորիզային կարճ ՌՆԹ-ներ – նախա-ի-ՌՆԹ-ի սպլայշնագ
Կ.կոր. ՌՆԹ (snoRNA)	Կորիզակային կարճ ՌՆԹ-ներ – ո-ՌՆԹ-ի հասունացում և քիմիական ձևափոխություն
Միկ. ՌՆԹ (miRNA)	ՄիկրոՌՆԹ-ներ, կարգավորում են գեների էքսպրեսիան՝ կապվելով և ճնշելով ի-ՌՆԹ-ների տրանսլյացիան ցիտոպլազմում
Ինտ. կ. ՌՆԹ (siRNA)	Ինտերֆերենսցվող կարճ ՌՆԹ-ներ, որոնք լրեցնում են գեները՝ քայլայելով համապատասխան ի-ՌՆԹ-ները և կոնդենսավորելով (կտացնելով) քրոմատինը
Փի.ՌՆԹ (piRNA)	Փի-ՌՆԹ-ները փոխազդում են բնային քիցների փի-սպիտակուցների հետ՝ պաշտպանելով քիցներին տրանսպորններից
Զկող.երկ. ՌՆԹ (lncRNA)	Զկողավորող երկար ՌՆԹ-ներ – X քրոմոսոմի իմակտիվացում

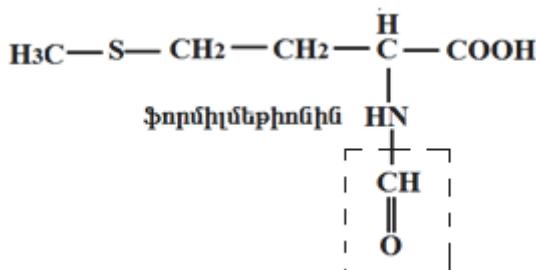
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- Berger J., Wang J. C. (1996). Recent development in DNA topoisomerase II structure and mechanism. Curr. Opin. Struc.Biol. 6:84-90.
- Kung J. T. Y., Colognori D. and Lee J. T. (2013). Long Noncoding RNAs: Past, Present, and Future, 2013, Genetics, Vol. 193, 651-669, March.
- Lehninger A. Principles of Biochemistry (2017). Edition 6 by David L. Nelson, Michael M. Cox: Freeman, W. H. & Company.
- Wigley D. B. (1995). Structure and mechanism of DNA topoisomerases. Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struc. 24:185-208.

ԳԼՈՒԽ 2

Տրանսլյացիա կամ սպիտակուցի սինթեզ

Բջիջների կենսագործունեությունը ֆիզիկաքիմիական գործընթացների ամբողջություն է, որի գլխավոր շարժիչ ուժը սպիտակուցներն են: Սպիտակուցների հավաքակազմի և անհրաժեշտ քանակության պահպանումը կենսական խնդիր է յուրաքանչյուր բջջի համար: Բնափոխված, կառուցվածքային վնասվածքներ ստացած սպիտակուցները բջջում փոխարինվում են նոր համարժեք մոլեկուլներով, որոնց շարունակական սինթեզն ապահովում են երկու բջջային գործնարացներ՝ բջջակորիզային ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվության արտատպումը ի-Ո-ՆԹ-ների մոլեկուլների ձևաչափով (**տրանսկրիպցիա**) և ցիտոպլազմում ընթացող պոլիազեպտիդային շղթայի սինթեզը ռիբոսոմներում (**տրանսլյացիա**): Անմիջականորեն տրանսկրիպցիայից հետո մինչ ցիտոպլազմ անցնելը էուկարիոտների ի-Ո-ՆԹ-ների (նախա-ի-Ո-ՆԹ-ների) մոլեկուլները «հասունանում են»: Բոլոր տիպերի նախա-Ո-ՆԹ-ների հասունացման գործընթացը կոչվում է **պրոցեսինգ**: Պրոցեսինգի ընթացքում նախա-ի-Ո-ՆԹ-ն ենթարկվում է մի շարք փոփոխությունների, որոնցից հետո մոլեկուլը կարճանում է, իսկ ծայրերը քիմիապես ձևափոխվում են: Միայն հասունացած ի-Ո-ՆԹ-ների մոլեկուլները կարող են դուրս գալ բջջակորիզից ցիտոպլազմի: Ցիտոպլազմում ռիբոսոմների, փ-Ո-ՆԹ-ների և ի-Ո-ՆԹ-ների համաձայնեցված գործողությունների շնորհիվ իրականացվում է սպիտակուցների սինթեզի երկրորդ գործընթացը՝ **տրանսլյացիան**:



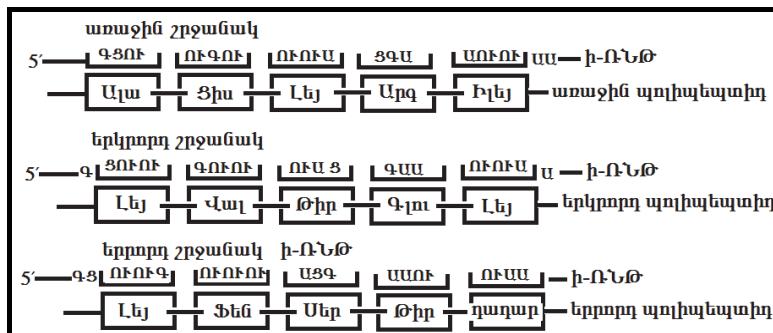
Սպիտակուցների գործունեությունը մեծապէս պայմանավորվում է մոլեկուլների տարածական ձևով (կոնֆորմացիայով), որը կախված է ամինաթթուների հաջորդականությունից պոլիպեպտիդային շղթաներում: Թեև տրանսլյացիայի ընթացքում բջջում սինթեզվում են ահռելի բազմազանությամբ սպիտակուցներ, բոլոր պոլիպեպտիդային շղթաների սինթեզը սկսվում է մեթիոնին ամինաթթվից: Բակտերիաների մոտ առաջին մեթիոնինի ամինային խմբի ջրածինը տեղակալված է ֆորմիլ խմբով (ֆորմիլ-մեթիոնին): Որպես կանոն, առաջին ամինա-ծայրային մեթիոնինն ի-ՈՒԹ-ում կոդավորվում է **ԱՌՎԳ** կոդոնով (Եռյակով): Որոշ դեպքերում առաջնային եռյակն էուկարիոտների մոտ կարող է լինել ՑՌՎԳ: Բակտերիաների մոտ ի-ՈՒԹ-ների առաջնային եռյակը Գ-ՈՒԳ-ն է: **ՈՒԱԱ, ՈՒԳԱ և ՈՒԱԳ եռյակները ամինաթթու չեն գաղտնագրում և այդ պատճառով ազդանշանում են պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտը (Եղրափակող C-ծայրը): Նշված եռյակները կոչվում են «ստոպ» կամ դադարի եռյակներ:** Մեկնարկային եռյակը, դադարի եռյակը և դրանց միջև ընկած եռյակների հաջորդական շարքը կազմում են ընթերցման շրջանակ: Ի-ՈՒԹ-ների ճնշող մեծամասնությունն ունի մեկ ընթերցման շրջանակ, սակայն հայտնի են մի քանի հազար սպիտակուցներ, որոնց ի-ՈՒԹ-ներն ունեն այլընտրանքային ընթերցման շրջանակներ: Այս երեսույթի հիմքում ընկած է **շրջանակի շեղումը:** Շրջանակի շեղումը կարող է պայմանավորված լինել երկու պատճառով:

1. Ամինաթթուն հազվադեպ գաղտնագրվում է ոչ թե երեք այլ շրու նուկլեոտիդներով, և հետագա եռյակների բարգմանությունը բնականոն եղանակով բերում է շրջանակի շեղման:
2. Սպիտակուցի սինթեզի համալիրը (**սպիտակուցի սինթեզի մեքենա**) պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ժամանակ կատարում է հետադարձ քայլ մեկ նուկլեոտիդի չափով, որից հետո շարունակում է հետագա եռյակների բարգմանությունը մինչև դադարի կոդոնը (նկար 12):

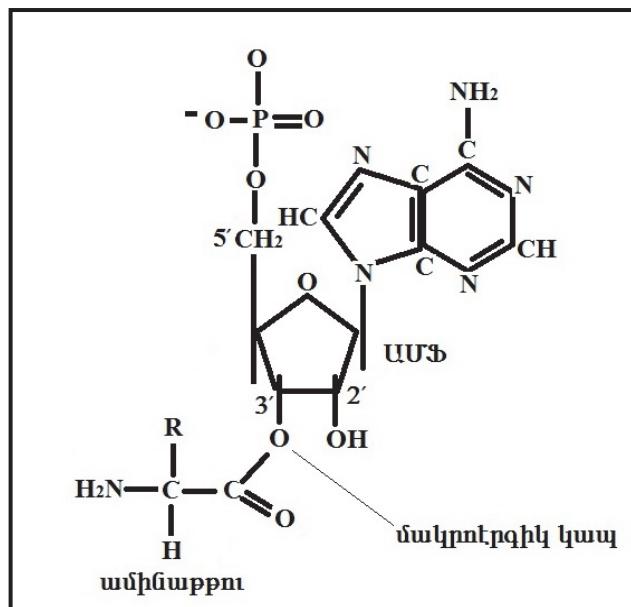
Աղյուսակ 2-ում ներկայացված են ի-ՈՒԹ-ների նուկլեոտիդային եռյակներին համապատասխանող ամինաթթուները: Հարկ է նշել, որ այս համապատասխանությունը պահպանվում է բոլոր օր-

գանիզմների մոտ, ինչը հիմք է տալիս գենետիկական կողը (ժառանգական գաղտնագիրը) համարելու համընդհանուր կամ **ունիվերսալ**: Այնուամենայնիվ, ինչպես արդեն նշվել է, միտոքոնդրիումներում, միարժիշտ ացետորուլարիս բույսում և որոշ նախակենդանիների մոտ դիտվում են ժառանգական գաղտնագրի որոշ տարրերություններ: Աղյուսակի 2-ից հետևում է, որ այդպիսի շեղումները կապված են նրա հետ, որ դադարի եռյակներն ընթերցվում են որպես ամինաքրու: Հավանաբար, ժառանգական գաղտնագրի ունիվերսալության խախտումները զարգացել են Էվոլյուցիայի ավելի ուշ փուլերում, եթե համընդհանուր գաղտնագիրն օրգանիզմների մեծամասնության մոտ արդեն ձևավորված էր:

Տրանսլյացիայի ժամանակ ամինաքրուները տեղափոխվում են դեպի ռիբոսոմներ, որտեղ տեղի է ունենում պոլիազեպտիդային շղթայի սինթեզ ֆ-ՈՒԹ-ների մասնակցությամբ: **Ամինաքրուն կարող է** մասնակցել պոլիազեպտիդային շղթայի սինթեզին միայն ակտիվանալուց հետո, ինչն իրականացվում է ամինաացիլ-ֆ-ՈՒԹ սինթետագ կոչող ֆերմենտների միջոցով: Չանչի որ ամինաքրուն կարող է գաղտնագրվել ի-ՈՒԹ-ում մի քանի տարրեր եռյակներով (այլուսակ 2), ապա մեկ ամինաքրուվին կարող են համապատասխանել տարրեր հակակոդրոններով ֆ-ՈՒԹ-ներ: Այսպիսով՝ մեկ ամինաքրուն կարող է կապվել տարրեր, բայց ամինաքրուվին համապատասխան հակակոդրոններ ունեցող ֆ-ՈՒԹ-ների հետ, և այդ պատճառով բջիջներում գործում են 20 տարրեր ամինաացիլ-ֆ-ՈՒԹ սինթետագներ: Ակտիվացման գործընթացը սկսվում է ամինաացիլ-ֆ-ՈՒԹ սինթետագի կողմից ամինաքրուվի աղենիլացումից (նկար 10), որի ժամանակ օգտագործվում է ԱԵՖ-ի էներգիան: Աղենիլացումից հետո ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում կապված ամինաքրուն միանում է ԱՄՖ-ին (նկար 13):



Նկար 12. Ընթերցման շրջանակի շեղման տարրերակներ:



Նկար 13. Աղենիլացված ամինաթթու:

*Աղյուսակ 2. Ի-ՌՆԹ-ի նույլեռուժիդային եռյակները և դրանց
համապատասխանող ամինաքրուները*

Երկրորդ դիրք					Երրորդ դիրք Յ՝ ծայր
Առաջին դիրք Տ՝ ծայր	ՈՒ	Ց	Ա	Գ	
ՈՒ	Ֆեն	Սեր	Թիր	Ցիս	ՈՒ
	Ֆեն	Սեր	Թիր	Ցիս	Ց
	Լեյ	Սեր	Դադար	Դադար	Ա
	Լեյ	Սեր	Դադար	Տրիպ	Գ
Ց	Լեյ	Պրո	Հիս	Արգ	ՈՒ
	Լեյ	Պրո	Հիս	Արգ	Ց
	Լեյ	Պրո	Գլի	Արգ	Ա
	Լեյ*Սեր	Պրո	Գլի	Արգ	Գ
Ա	Իզուեյ	Տրե	Ասպ	Սեր	ՈՒ
	Իզուեյ	Տրե	Ասպ	Սեր	Ց
	Իզուեյ	Տրե	Լիզ	Արգ	Ա
	Սեր/Ավիզը	Տրե	Լիզ	Արգ	Գ
Գ	Վալ	Ալա	Ասպ	Գլի	ՈՒ
	Վալ	Ալա	Ասպ	Գլի	Ց
	Վալ	Ալա	Գլու	Գլի	Ա
	Վալ/Սեր*	Ալա	Գլու	Գլի	Գ

* Երբեմն ՑՈՒԳ և ԳՈՒԳ եռյակները կարող են կատարել դասական ԱՈՒԳ եռյակի դերը՝ ազդանշանելով պոլիպեատիդային շղթային սինթեզի սկիզբը:

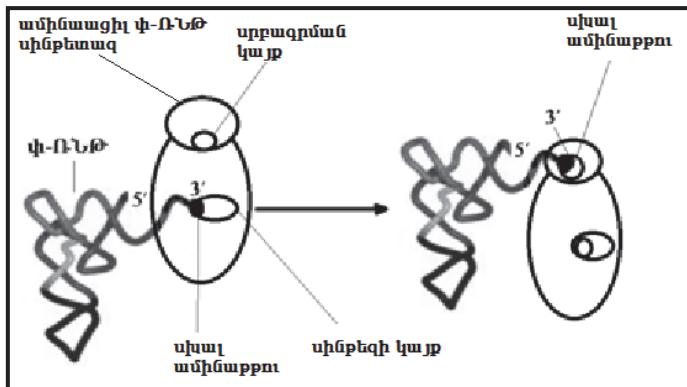
Ժառանգական օաղտնազրի ճշգրիտ վերծանման մեխանիզմ:

ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվության ճշգրիտ վերծանումն ու սպիտակուցների առաջնային կառուցվածքի կայուն վերարտադրությունն ընկած են բջիջների բազմացման և կենսագործունեության հիմքում: Տեղեկատվության սխալ վերարտադրությունը տրանսկրիպցիայի կամ տրանսլյացիայի գործնքացներում հանգեցնում է պոլիպեատիդային շղթայի առաջնային կառուցվածքի փոփոխության,

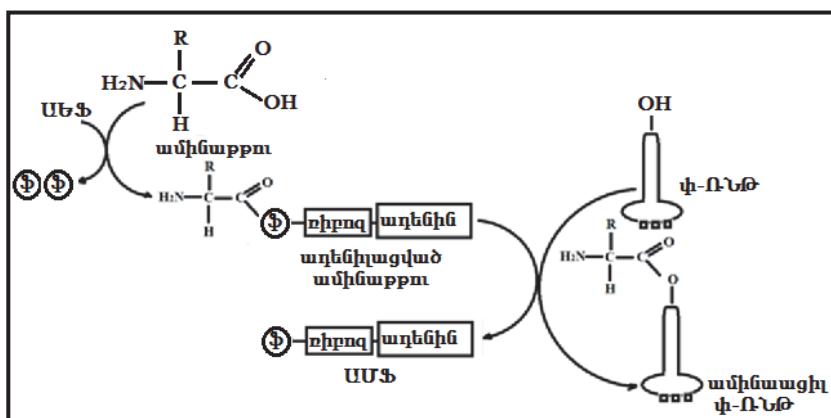
ինչը կարող է ճակատագրական լինել սպիտակուցի գործունեության համար: Այդ իսկ պատճառով է փոլուցիայի ընթացքում մշակվել է մեխանիզմ, որն ուղղված է տրանսլյացիայի ժամանակ առաջացած «սխալների սրբազրմանը»: Մնալով միացած փ-ՌՆԹ-ամինացիլ սինթետագի հետ՝ ամինաթթվի ԱՄՖ-ին կապված կարբօքսիլ խումբը տեղափոխվում է փ-ՌՆԹ-ի ծայրային մնացորդի Յ՝ հիդրօքսիլ խմբի վրա (նկար 14): Սինթետագներն ընտրում են հակակողունին համապատասխանող «ճիշտ» ամինաթթուն երկաստիճան կարգավորիչ մեխանիզմի շնորհիվ: Այդ մեխանիզմը գործում է նրա շնորհիվ, որ ամինացիլ-փ-ՌՆԹ սինթետագներն ունեն ոչ միայն ամինաթթվի կապման, այլև «սրբազրման» կայք:

Հակակողունին համապատասխանող ամինաթթվի ընտրության առաջին փուլը հետևյալն է: «Ճիշտ» ամինաթթուն օժտված է ամենամեծ մենահատուկ խնամակցությամբ սինթետագի ակտիվ կենտրոնի հանդեպ: Եթե ամինաթթուն մեծ է սինթետագի ակտիվ կենտրոնից, այն պարզապես չի կապվի վերջինիս հետ, և ֆերմենտը չի կատալիզի ամինաթթվի կապման ռեակցիան փ-ՌՆԹ-ի հետ: Այն դեպքերում, եթե ամինաթթուների շափերն ու կառուցվածքները շատ մոտ են, օրինակ՝ վալինը և իզոլեյցինը (տարրերվում են մեկ մերիլ խմբով), սկսում է գործել «սխալների սրբազրման» մեխանիզմի երկրորդ լծակը: Նրանից հետո, եթե ամինաթթուն կովալենտ կապվում է ԱՄՖ-ին, և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին է մոտենում փ-ՌՆԹ-ն, սինթետագր ջանում է դուրս մղել աղենիլացված ամինաթթուն կապման կայքից դեպի երկրորդ՝ «սրբազրման» կայքը: «Սխալ» ամինաթթուն, անգամ եթե այն հասցրել է կապվել փ-ՌՆԹ-ին՝ ունենալով ավելի բույլ խնամակցություն սինթեզի կենտրոնին, դուրս է մղվում վերջինից և ուղղվում է դեպի «սրբազրման» կայք: Այս կայքում տեղի է ունենում ԱՄՖ-ն ամինաթթվին միացնող կապի հիդրոլիտիկ ճեղքավորում, և «սխալ» ամինաթթուն ազատ է արձակվում՝ լքելով ֆերմենտի մոլեկուլը: Հակառակ դրան՝ «ճիշտ» ամինաթթուն, ունենալով մեծ խնամակցություն սինթեզի կենտրոնի հանդեպ, դուրս չի մղվում, ինչը բույլ է տալիս ավարտին հասցնել ամինաթթվի ակտիվացման գործընթացը (նկար 15): «Սխալների սրբազրման» մեխանիզմը շատ արդյունավետ է, և, օրինակ, *E.coli* աղիքային ցուալիկի մոտ սխալ

ամինաթթվի ակտիվացումը տեղի է ունենում 1/50000 կողոնի (եռյակի) հաճախականությամբ:



Նկար 14. Ամինաացիլ փ-ՌՆԹ սինթետազի կողմից իրականացվող ռեակցիաները:



Նկար 15. «Սխալների սրբագրում»: Սև շրջանակով նշված է հակակողոնին չհամապատասխանող ամինաքրոն, որը հեռացվում է սրբագրման ժամանակ:

2.1.Տրանսլացիայի փուլերը: Մեկնարկ

Տրանսլացիայի առաջին փուլում մեծ և փոքր ոիբռումային են-թամասնիկները խմբվում են ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջը՝ պարփակելով այն երկու կոմից: Տրանսլացիայի բազմափուլ գործընթացի անխափան ընթացքն ապահովում են A (ամինաթթվային կենտրոն), P (ալեպտիդային կենտրոն) և E (ելքի կայր) կայքերը, որոնք գտնվում են ոիբռումի ենթամասնիկների միացման մակերևույթի կենտրոնական շրջանում: Համապատասխան ամինաթթուներին կովալենտ կապված ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ները միանում են A կայքին: P կայքում ամինաթթուների միջև առաջանում են պեպտիդային կապեր, ինչի հաշվին պոլիպեպտիդային շղթան երկարում է: E կայք փոխադրված պոլիպեպտիդային շղթան լրում է ոիբռումը: Փ-Ռ-ՆԹ-ները կարող են կապվել ոիբռումի A և P կայքերին միայն այն դեպքում, եթե դրանց հակակողուները կոմպլեմենտար են տվյալ պահին փոքր ոիբռումային ենթամասնիկի միջով ձգվող ի-Ռ-ՆԹ-ի կողոններին:

Ինչպես արդեն նշվել է, ցանկացած պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի սկիզբն ազդանշանում է AUG կոդոնը, որը գաղտնագրում է մերիոնին ամինաթթուն: Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի մեկնարկի ճիշտ դիրքը որոշչի է շղթայի սինթեզի համար, քանի որ դրանով է պայմանավորված ի-Ռ-ՆԹ-ի ընթերցման շրջանակը, հետևաբար, պոլիպեպտիդային շղթայի համապատասխանությունն ի-Ռ-ՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվությանը: Պրոկարիոտների և էուկարիոտների մոտ մերիոնին ամինաթթվին համապատասխանում են երկու փ-Ռ-ՆԹ-ներ՝ **մեկնարկային մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկ}**. և **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն**, որն ապահովում է մերիոնինի միացումը պոլիպեպտիդային շղթային սինթեզի ընթացքում: Թե՛ մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկ}-ն, թե՛ մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն սինթեզվում են նույն ամինաացիլ փ-Ռ-ՆԹ սինթետազով, սակայն **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկ}-ը կարող է միանալ միայն ոիբռումի P կայքին**: Երկրորդը՝ **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն**, ինչպես և այլ ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ները, կարող են միանալ ոիբռումի միայն A կայքին:

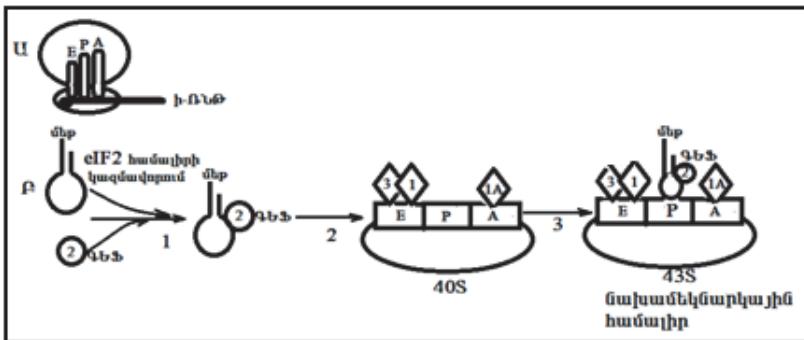
Պոլիպեպտիդային շղթայիսինթեզը, ինչպես նշվել է, սկսում է **մեկնարկային մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկ}-ի** միացումից P կայքին ի-Ռ-ՆԹ-ի մեկնարկային ԱՌԴ-կողոնի դիմաց: A կայքին միացած ամինաա-

ցիլ-փ-ՈՆԹ-ն տեղափոխում է իր հետ կովալենտ կապված ամինաբրուն Բ կայք, որտեղ առաջանում է պեպտիդային կապ նորամուտ ամինաթթվի և մեկնարկային մեր-փ-ՈՆԹ^{մեկ}-ի միջև: Պոլիպեպտիդային շղթան երկարում է այնքան, մինչև ոիքոստմը հասնում է ի-ՈՆԹ-ի ավարտի կողղոնին, որից հետո հետո պոլիպեպտիդային շղթան տեղափոխում է ելքի կայք (E) և լրում ոիքոստմը:

Եռկարիոտների մոտ այս գործընթացի բնականուն ընթացքն ապահովում են հատուկ սպիտակուցներ, որոնք անվանվում են **եռկարիոտների տրանսլյացիայի մեկնարկման գործոններ** (eIF-eukaryotic translation initiation factors): Մինչ տրանսլյացիայի սկիզբը ոիքոստմների վորք և մեծ ենթամասնիկները միացած չեն, քանի որ դրան խանգարում են վորք ենթամասնիկն կապված eIF1, eIF1A և eIF3 տրանսլյացիայի մեկնարկման գործոնները:

Տրանսլյացիայի առաջին վորքը **43S նախամեկնարկային** համալիրի կազմավորումն է: Այս համալիրը ձևավորվում է, երբ ոիքոստմի 40S ենթամասնիկն, որին միացած են eIF1, eIF1A և eIF3 գործոնները, միանում է «**եռակի համալիրը**»: **Եռակի համալիրը բաղկացած է մեր-փ-ՈՆԹ^{մեկ}-ից և ԳԵՖ-ին** (գուանիլին եռֆոսֆատ) միացած eIF2-ից (նկար 16): Քանի որ eIF2-ԳԵՖ-ի առաջացումը ունի առանցքային նշանակություն սպիտակուցի սինթեզի կարգավորման բջջային մեխանիզմների գործունեության համար, համառոտ նկարագրենք զույգի կազմավորումը:

eIF2 գործոնը կարող է միանալ և՛ ԳԵՖ-ին, և՛ ԳԿՖ-ին, սակայն **մեր-փ-ՈՆԹ^{մեկ}-ն կարող է կապվել միայն eIF2-ԳԵՖ զույգի հետ**: eIF2-ԳԵՖ-ն առաջանում է eIF2-ԳԿՖ-ից, երբ գուանիլին կրկնափոսֆատը տեղակալվում է գուանիլին եռֆոսֆատով: eIF2 գործոնի սերինային մնացորդներից մեկի ֆոսֆորիլացումն արգելակում է ԳԿՖ-ի տեղակալումը ԳԵՖ-ով: Այսպիսով՝ ԳԿՖ-ի տեղակալումը ԳԵՖ-ով արգելակում է eIF2 գործոնի ֆոսֆորիլացումը: Քանի որ մեր-փ-ՈՆԹ^{մեկ}-ն կարող է միանալ միայն eIF2-ԳԵՖ-ին, արգելակում են մեր-փ-ՈՆԹ^{մեկ}-ի միացումը eIF2-ԳԵՖ-ին և սպիտակուցի սինթեզի մեկնարկման վորքը:



Նկար 16. А) Կայքերի դիրքը սիրոստում; Б) 1-մեթ-փ-ՈՆԹ-ի միացումը eIF2-ԳԵՖ-ին, 3-մեթ-փ-ՈՆԹ- eIF2 խոմբը միանում է 40S համալիրին, 3- eIF5-ի միացումը 43S-ին և նախամեկնարկային համալիրի ձևավորում:

Պոլիակտիդային շղթայի սինթեզի մեկնարկման համար անհրաժեշտ է նաև տրանսլյացիայի ենթակա ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլի ակտիվացում: Ի-ՈՆԹ-ն ակտիվանում է՝ միանալով բարդ eIF4 համալիրին, որը մի կողմից փոխազրում է ի-ՈՆԹ-ի 5'-կեպավորված ծայրի հետ, մյուս կողմից՝ ի-ՈՆԹ-ի պոլիադենիլացված ծայրին միացած պոլիադենիլ-կապվող սախտակուցի (ՊԱԿՍ, PABP- polyadenylate binding protein) հետ: Այս կապի առաջացման համար օգտագործվում է ԱԵՖ-ի էներգիան: Ի-ՈՆԹ-ների ճնշող մեծամասնության տրանսլյացիան սկսվում է նմանօրինակ փուլից: Կեպին միացող eIF4 համալիրի ենթամիավորներն ունեն տարրեր ֆունկցիաներ:

1. 4E-ն միանում է ի-ՈՆԹ-ի կեպավորված 5' ծայրին,
2. խոշոր 4G-ն՝ ՊԱԿՍ-ին՝ ստեղծելով հարթակ մյուս ենթամիավորների կապման համար,
3. 4B-ն խթանում է 4A ենթամիավորի հելիկազային ակտիվությունը, ինչի շնորհիվ 4A-ն հեշտությամբ վերացնում է ի-ՈՆԹ-ի 5' ծայրում գտնվող երկրորդային կառուցվածքները:

Այսպիսով՝ ի-ՈՆԹ-ի 5'-կեպավորված և 3'-պոլիադենիլացված ծայրերը միանում են eIF4 համալիրի միջոցով՝ կազմելով կիսաօրակ: Նման ակտիվացումից հետո ի-ՈՆԹ-ն միանում է 43S նախամեկ-

նարկային համալիրին՝ ձևավորելով 48S նախամեկնարկային համալիրը (նկար 17): Ի-ՈՒԹ-ի մոլեկուլի և 43S նախամեկնարկային համալիրի միացումից հետո վերջինս սկսում է կարծես «սկանավորել» ի-ՈՒԹ-ն՝ սահելով մոլեկուլի երկայնքով: Ի-ՈՒԹ-ի 5' ծայրից սկսած՝ առաջին ԱՈՒԳ մեկնարկային կողոնին հասնելուց հետո eIF2-ին միացած ԳԵՖ-ը ճեղքավորվում է eIF5-ի կողմից, և առաջանում է eIF2-ԳԿՖ: Մեկնարկային կողոնի ճշգրիտ դիրքի ճանաչումը և տրանսլյացիայի հետագա առաջընթացը հնարավոր են դառնում միայն eIF5 գործոնի ԳԵՖ-ազային ակտիվության և ի-ՈՒԹ-ի ԱՈՒԳ-կողոնի հարևանությամբ գտնվող նույնականացների յուրահատուկ շրջապատի համագործակցության շնորհիվ: Նույնականացների այդ յուրահատուկ հաջորդականությունը կոչվում է **Կողակի հաջորդականություն՝ (5) ԱՅՑԱՈՒԳ-Գ(3)**: Կողակի հաջորդականության մեջ առավել կարևոր են առաջին Ա-ն և վերջին Գ-ն:

80S մեկնարկային համալիրի ձևավորում: eIF5-ի eIF5B ենթամիավորը պատասխանառու է նաև ոիրոսումների 60S մեծ և փոքր ենթամասնիկների միավորման համար: ԳԵՖ-ին միացած eIF5B-ԳԵՖ գործոնը տեղակալում է eIF1, eIF2, eIF3, eIF4 գործոնները, որոնք ազատ են արձակվում, և հնարավոր է դառնում ոիրոսումային մեծ ենթամասնիկի միավորումը 48S համալիրին: Ոիրոսումային մեծ և փոքր մասնիկների միավորումից հետո eIF5 գործոնի 5A ենթամիավորը խթանում է ԳԵՖ-ի իիդրոլիզը 5B-ԳԵՖ ենթամիավորի կազմում, և ենթամիավորը վեր է ածվում eIF5B-ԳԿՖ-ի: eIF5B-ԳԿՖ-ն անջատվում է eIF1A-ից՝ դրանով իսկ եզրափակելով 80S մեկնարկային համալիրի առաջացումը (նկար 17): Ոիրոսումների ենթամասնիկների միավորումը և ԳԵՖ-ի իիդրոլիտիկ ճեղքավորումը eIF5B-ով վերահսկում են տրանսլյացիայի գործընթացի հետագա ընթացքը:

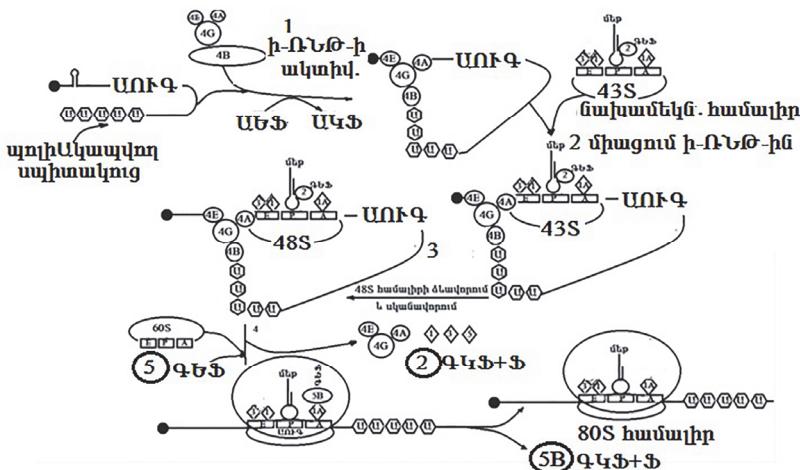
Բակտերիաներում տրանսլյացիան կարող է մեկնարկել ոչ միայն անմիջականորեն ի-ՈՒԹ-ների 5' ծայրից, այլ նաև այդ կայրից հեռու (դեպի 3' ծայրը) դասավորված կետերից, որոնք կոչվում են **ոիրոսումի մուտքի ներքին կայքեր** (internal ribosome entry site-IRES): IRES-ները միանալով eIF4A և eIF4G մեկնարկման գործոններին՝ սկսում են տրանսլյացիայի գործընթացը: Բակտերիաներում տրանսլյացիայի մեկնարկն ընդհանրապես տարբերվում է էուկարիոտներին

բնորոշ գործընթացից: Բակտերիաների օպերոններից պատճենված ի-ՈՆԹ-ները պղղիցիատրոնային են, ինչը նշանակում է, որ ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլը գաղտնագրում է մի քանի տարրեր սպիտակուցներ: Բակտերիաների ի-ՈՆԹ-ների ԱՌԻԳ մեկնարկման կողոնից 4-7 նուկ-լեռտիդ առաջ գտնվում են 6 նուկլեոտիդներ, որոնք կոմպլեմենտար են փոքր ոիբրոսմային մասնիկի ո-ՈՆԹ-ի 3' ծայրի նուկլեոտիդներին: Ի-ՈՆԹ-ի նշված նուկլեոտիդները կոչվում են **Չայն-Դազար-նոյի հաջորդականություն**, և դրանց գուգավորումը փոքր ոիբրոսմային մասնիկի ո-ՈՆԹ-ի 3' ծայրի նուկլեոտիդների հետ ապահովում է փոքր ոիբրոսմային մասնիկի ճիշտ դիրքավորումը: Այնուհետև խաղի մեջ են մտնում eIF1A, eIF2, eIF3 գործոններին նմանվող գործոններ, և ֆորմիլ-մեթ-փ-ՈՆԹ-մեկ⁶-ն կապվում է փոքր ենթամասնիկին: Այս գործընթացներն ավարտվում են ոիբրոսմային մեծ մասնիկի միացումով, ինչն ազդանշում է տրամայացիայի սկիզբը:

Ոիբրոսմի փոքր ենթամիասնիկը ներկայացնում է հարթակ, որտեղ ամինացիլ-փ-ՈՆԹ-ները հանադրվում են ի-ՈՆԹ-ի կողոնների հետ, մինչեւ մեծ ենթամասնիկը կատալիզում է ամինաքրուների միջև պեպտիդային կապի առաջացման ռեակցիան: Ոիբրոսմի ենթամասնիկների դիրքավորումից և միավորումից հետո 80S մեկնարկային համալիրը սկսում է ամինաքրուների հաջորդական ավելացումը մեկնարկային մեթ-փ-ՈՆԹ-ին: Յուրաքանչյուր հերթական ամինաքրվի ավելացման արագությունը կախված է համապատասխան ամինացիլ փ-ՈՆԹ-ների քանակից և ոիբրոսմը դիֆուզման արագությունից դեպի ի-ՈՆԹ-ն: Միջինում էուկարբունների ոիբրոսմների համար այդ արագությունը կազմում է 2 ամինաքրվի ավելացում մեկ վայրկյանում: Բակտերիաների ոիբրոսմների արդյունավետությունը մոտ 10 անգամ ավելի բարձր է՝ կազմելով 20 ամինաքրվի ավելացում երկարացող պղղիպեպտիդային շղթային մեկ վայրկյանի ընթացքում: Երկարացման փուլում գործընթացի համար պահանջվում է յուրահատուկ սպիտակուցների մասնակցություն, որոնք կոչվում են **երկարացման կամ էլենգացման գործոններ (EF-elongation factors)**:

2.2. Պոլիպեպտիդային շղթայի երկարացում (էլոնգացում)

Սպիտակուցի սինթեզի մեկնարկման փուլի ավարտին և երկարացման փուլի սկզբում մեկն.-մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն միացած է 80S ռիբոսոմի P կայքին: Մեկն.-մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ին հետևող երկրորդ ամինացիլ փ-Ռ-ՆԹ-ն մտնում է ռիբոսոմ՝ կապված լինելով երկարացման գործուն ԵՓԳ-ԳԵՖ-ին:



Նկար 17. 1) Ռիբոսոմի մեծ և փոքր ենթամիավորների միավորումը տրանսլյացիայի ենթակա ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջը և տրանսլյացիայի մեկնարկային համայիրի ձևափորման եզրափակիչ փուլը: 2) 43S նախամեկնարկային համայիրն ի-Ռ-ՆԹ-ին միանալուց հետո սահում է ի-Ռ-ՆԹ-ի երկայնքով 5'-3' ուղղությամբ մինչ մեկնարկի կողոնին հանդիպելը; 3) տեղի է ունենում eIF2-ին միացած ԳԵՖ-ի հիդրոլիզ, և առաջանում է 2-eIF2-ԳԿՖ-ը; 4) eIF2-ԳԿՖ-ը տեղակալվում eIF5-ով, ռիբոսոմի մեծ և փոքր ենթամիավորները միանում են և eIF1-ը, eIF2-ը, eIF3-ը, eIF4-ն ազատ են արձակվում: 5) eIF5-ի 5B-ԳԵՖ-ենթամիավորում ԳԵՖ-ը հիդրոլիզվում է մինչ ԳԿՖ, 5B-ԳԿՖ-ն անջատվում է, և ձևափորում է 80S մեկնարկային համայիրը:

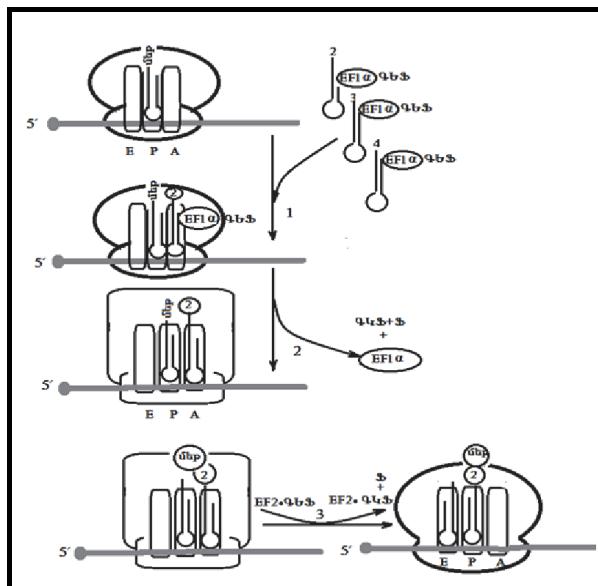
Այն դեպքում, երբ ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ-ի հակակողոնը չի փոխ-լրացնում ի-ՌՆԹ-ի կողոնը, ամինաացիլ փ-ՌՆԹ-EFα-ԳԵՖ եռակի համալիրը լրում է Ա կայք՝ տեղ ազատելով մեկ ուրիշ եռակի համալիրի համար: Այս գործընթացը շարունակվում է այնքան ժամանակ, մինչև Ա կայքում չի կապվում այն ամինաացիլ փ-ՌՆԹ-EFα-ԳԵՖ համալիրը, որի հակակողոնը փոխլրացնում է ի-ՌՆԹ-ի կողոնը: Երկարացման հաջորդ քայլը իրականանում է **միայն այն դեպքում, երբ փ-ՌՆԹ-ի հակակողոնը զուգավորվում է Ա կայքում գտնվող ի-ՌՆԹ-ի կողոնի հետ:** Այդ ժամանակ ամինաացիլ փ-ՌՆԹ-EFα-ԳԵՖ եռակի համալիրը կապվում է ոիբոսոմի Ա կայքում (քայլ 1, նկար 18): Այսպիսով՝ միայն ճիշտ ամինարթվով բեռնված փ-ՌՆԹ-ն կարող է մասնակցել պեպտիդային շղթայի երկարացման գործընթացին և ապահովել սպիտակուոցի բնականուն սինթեզը:

Ա կայքին միանալուց հետո ամինաացիլ փ-ՌՆԹ-EFα-ԳԵՖ եռակի կոմպլեքսում ՌՆԹ-ների փոխազդեցության շնորհիվ EFα-ը կատալիզում է ԳԵՖ-ի քայքայումը մինչև ԳԿՖ և անօրգանական ֆուֆատ (քայլ 2, նկար 18): ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը փոխում է EFα -ի կոնֆորմացիան, և EFα -ԳԿՖ-ն անջատվում է ոիբոսոմից: ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի էներգիայի հաշվին՝

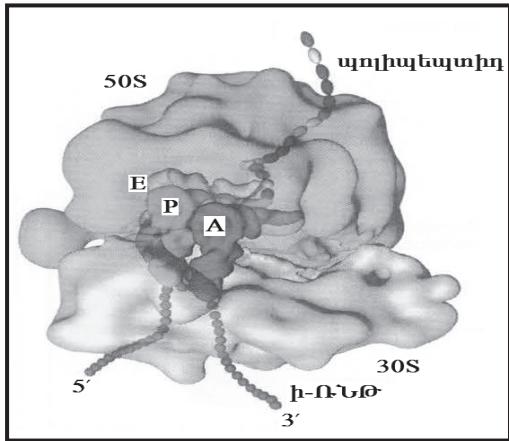
- փոխվում է ոիբոսոմի կոնֆորմացիան, ինչը հանգեցնում է Ա կայքի և ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ-ի կապի ուժեղացմանը, ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ-ի ամինաացիլացված 3' ծայրը մոտենում է P կայքին (նկ.18, քայլ 3): Մերձեցման շնորհիվ Ա կայքում գտնվող ացիլացված ամինարթվի ամինային խմբի ազոտի և P կայքում գտնվող ացիլ խմբի ածխածնի փոխազդեցության հետևանքով առաջանում է պեպտիդային կապ (նկար 18):
- Պեպտիդային կապի առաջացումից հետո ոիբոսոմը տեղաշարժվում է ի-ՌՆԹ-ի երկայնքով մեկ կողոնի չափով: Պեպտիդի փ-ՌՆԹ-ն տեղափոխվում է ոիբոսոմի P կայք, իսկ նախորդ փ-ՌՆԹ-ն մղվում է ելքի Ե կայքը:

Նկարագրված պեպտիդի-տրանսֆերազային ռեակցիան կատալիզվում է ոիբոսոմի մեծ ենթամասնիկի ո-ՌՆԹ-ներով, որոնք ճշգրտորեն կողմնորոշում են ռեակցիային մասնակցող ատոմական

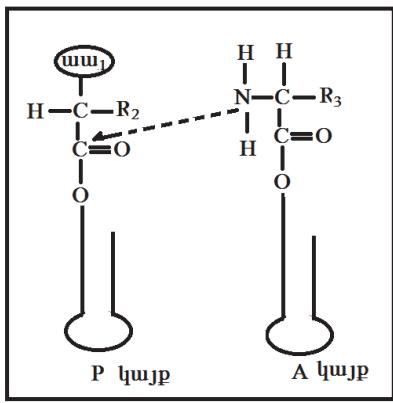
Խմբերը: Ոփրոստմի տեղաշարժն ուղեկցվում է ոփրոստմի կոնֆորմացիայի փոփոխությամբ, որի հետևանքով մեկն մեր.-ի փ-ՈՆԹ-ն արդեն առանց ակտիվացած մեթիոնինի հայտնվում է ոփրոստմի E (exit) ելքի կայքում: Ոփրոստմի գործունեության հաջորդ բոլորաշրջանի սկզբում տեղի ունեցող կոնֆորմացիայի փոփոխությունները դուրս են մղում փ-ՈՆԹ-ն ոփրոստմի ելքի կայքից և ոփրոստմից: Սինուոյն ժամանակ երկպեպտիդին կովալենտ կապված երկրորդ փ-ՈՆԹ-ն հայտնվում է P կայքում (նկար 18, քայլ 3): Վերը նկարագրված իրադարձությունների հետևանքով ոփրոստմի կոնֆորմացիան վերադանում է ելակետային վիճակին, որին հանապատասխանում է ազատ A կայքը: Նման վիճակում ոփրոստմի A կայքին կարող է կապվել նոր ամինաացիլ-փ-ՈՆԹ, որին հետևում է ոփրոստմի աշխատանքի նոր բոլորաշրջան:



Նկար 18. Սպիտակուցի սինթեզի երկարացման (Էլոնգացման) փուլ:
1) երկարացման գործոն EFα-ԳԵՖ-ն և ամինաացիլ փ-ՈՆԹ-ն մտնում են ոփրոստ և միանում A կայքին; 2) ԳԵՖ-ի ճեղքման էներգիան ծախսվում է ոփրոստի կոնֆորմացիայի փոփոխման վրա; 3) ամինաքրուների միջև առաջանում է պեպտիդային կապ:



Նկար 19. Պեպտիդային
կապի առաջացումը
ռիբոսոմում:



Նկար 20. Պոլիազեպտիոնային շղթայի
ելքը ռիբոսոմից: Նորաստեղծ
պեպտիդային շղթան անցնում է
ռիբոսոմի մեջ միավորի մեջ գտնվող
հատուկ ակոսով և դուրս գալիս
ռիբոսոմից:

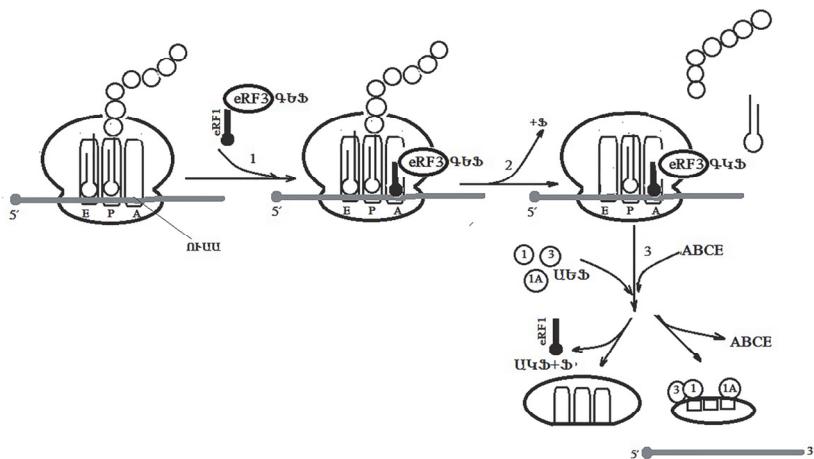
2.3. Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտ (տերմինացում)

Ոիբոսոմի գործունեության յուրաքանչյուր բոլորաշրջանի ընթացքում պեսպիդային շղթայի C ծայրին ավելացվում է մեկ ամինաթթու: Գործընթացը շարունակվում է այնքան, մինչև ոիբոսոմը հասնում է ի-ՌՆԹ-ի ավարտի կողոնին:

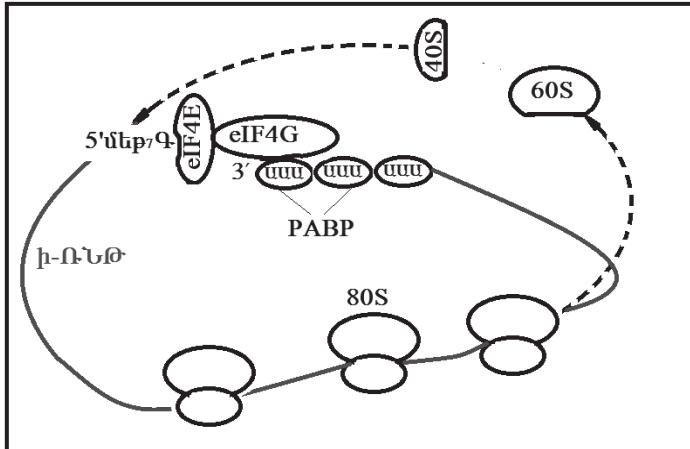
Սպիտակուցի սինթեզի եզրափակիչ կամ ավարտի փուլը մեկնարկի և երկարացնան փուլերի նման նույնպես ընթանում է հատուկ սպիտակուցային գործուների անմիջական մասնակցությամբ: Այդ գործուները երկու տիպի են և կոչվում են **սպիտակուցի ազատ արձակման գործուներ** (protein release factors) և նշվում են RF տառերով: Սպիտակուցի սինթեզի ավարտի փուլում, ինչպես և նախորդող փուլերում, մեծ դեր են կատարում ԳԵՖ-ի հետ կապված սպիտակուցները: Էռլարիուտների օրգանիզմներում գործող ԳԵՖ-կապված արձակման գործուները՝ eRF3-ը (eRF3-ԳԵՖ) և eRF1-ը, խթանում են պեսպիդիլ-փ-ՌՆԹ-ի անջատումը ոիբոսոմից (նկար 21, քայլ 2): Բակտերիաներում սպիտակուցի սինթեզի ավարտի փուլին մասնակցում են երկու արձակման գործուներ՝ RF1-ը և RF2-ը, որոնք համարժեք են eRF1-ին և eRF3-ին: Գործոն eRF1-ի միջոցով ավարտի կողոնին միացած համալիրի ներսում eRF3-ն իրականացնում է ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը մինչ ԳԿՖ: Այս ռեակցիան երաշխավորում է երեք ավարտի կողոններից յուրաքանչյուրի ճգնահատ ճանաչումը և արգելակում է ոիբոսոմի հետագա տեղափոխությունն ի-ՌՆԹ-ի երկայնքով: Բացի դրանից՝ ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի ներգիան օգտագործվում է նորագոյացած պեսպիդը փ-ՌՆԹ-ին միացնող կապի քայլայման համար, ինչի հետևանքով պեսպիդային շղթան ազատ է արձակվում ոիբոսոմից, իսկ փ-ՌՆԹ-ն դուրս է մղվում P կայրից դեպի E կայրը և ոիբոսոմից դուրս: Այս քայլից հետո ոիբոսոմի A կայրում մնում է ավարտի կողոնին կապված eRF1-eRF3-ԳԿՖ-ն, և առաջանում է հետտերմինացման համալիրը (նկար 21):

Ոիբոսոմների ենթամասնիկների անջատման և ի-ՌՆԹ-ի ազատ արձակման համար օգտագործվում է ԱԵՖ-ում պաշարված

Էներգիան, երբ եռփոսֆատը ճեղքավորվում է ABCE 1 սպիտակուցով մինչ ԱՎՖ: Տեսականորեն միջավայրում գտնվող մեկնարկի գործոնները, կրկին կապվելով ազատ 40S ենթամիավորի վրա, սկիզբ են դնում ոիբրոսոմի աշխատանքի նոր բոլորաշրջանի: Իրականում ի-Ո-ՆԹ-ն երբեք ազատ չի արձակում, քանի որ դրան միացած են մնում երկարացման փուլի տարրեր ֆազերում գտնվող այլ ոիբրոսոմներ: Միջին չափի սպիտակուցի սինթեզը էուկարիոտների ոիբրոսոմներում տևում է 1-2 րոպե: Սպիտակուցների սինթեզի արդյունավետությունը բջջում զգալիորեն մեծանում է նրա շնորհիվ, որ ոիբրոսոմների ենթամասնիկները, որոնք անջատվում են ի-Ո-ՆԹ-ի 3' ծայրից սպիտակուցի սինթեզի բոլորաշրջանի վերջում, արագ վերամիավորվում են: Երկրորդ ավելի կարևոր հանգամանքն այն է, որ մեկ մոլեկուլ ի-Ո-ՆԹ-ի վրա գործում են մի քանի ոիբրոսոմներ: Այդ կառույցները հատակորեն երևում են էլեկտրոնային մանրադիտարկման ժամանակ, և դրանք կոչվեցին պոլիօիբրոսոմներ կամ **պոլի-սոմներ**:



Նկար 21. 1) Տեղաշարժվելով ի-Ո-ՆԹ-ի երկայնքով՝ ոիբրոսոմը հասնում է ՈՒԱՍ ավարտի կողմնին, որին միանում է eRF1-eRF3-ԳԵՖ համալիրը; 2) ԳԵՖ-ը ճեղքվում է, անջատվում է ֆոսֆորական մնացորդը; 3) ABCE 1 սպիտակուցով ԱԵՖ-ի ճեղքման էներգիան ծախսվում է տրանսլյացիայի գործոնների, ոիբրոսոմի ենթամասնիկների և ի-Ո-ՆԹ-ի անջատման համար:



Նկար 22. Պոլիսոմների աշխատանքի գծանկար:

Սպիտակուցի սինթեզի վերջում ի-ՌՆԹ-ի 3' ծայրից անջատված ռիբոսոմի ենթամասնիկները և մեկնարկի գործոնները հայտնվում են ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի անմիջական հարևանությամբ, ինչը հեշտացնում է մեկնարկի գործոնների վերամիավորումը ռիբոսոմի 40S ենթամասնիկի հետ և ավելի դյուրին դարձնում սինթեզի նոր բոլորաշրջանի սկիզբը:

Տրանսլյացիայի գործընթացին ակտիվորեն մասնակցում են ԳԵՖ-կախյալ սպիտակուցների ընտանիքի անդամները: Այդ սպիտակուցները կարող են կապվել և ԳԵՖ-ի, և ԳԿՖ-ի հետ, սակայն ԳԿՖ-ին կապված ձևերն ունեն ավելի ցածր ակտիվություն: Կենսաբանական ակտիվության կարգավորման այս ճկուն համակարգն ընկած է տարաբնույթ սպիտակուցների ակտիվության կարգավորման հիմքում: Օրինակ՝ տրանսլյացիայի ժամանակ eiF2-ԳԵՖ համալիրի ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի հետևանքով առաջանում է eiF2-ԳԿՖ համալիրը: Դա արգելակում է 43 S նախամեկնարկային համալիրի հետագա շարժումն ի-ՌՆԹ-ի երկայնքով և հնարավոր է դարձնում մեծ ենթամասնիկի միացումը: Նման ձևով պեպտիդային շղթայի երկարացման փուլում eF1α-ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը մինչ eF1α-ԳԿՖ-ը տեղի է ունենում միայն նրանց հետո, եթե A կայրում հայտնվում է

կոմպլեմենտար հակակողոնով փ-ՌՆԹ-ն, որը բեռնված է համապատասխան ամինաթթվով: eF1α-ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի հետևանքով փոխվում են թե՝ eF1α-ի, թե՝ ոիբրոսմի կոնֆորմացիաները: Այդ փոփոխությունների շնորհիվ eF1α-ն ազատ է արձակվում և փ-ՌՆԹ-ի 3' ամինացետիլացված ծայրն ընդունում է պեպտիդային կապի ձևավորման համար անհրաժեշտ կողմնորոշում: Պեպտիդային շղթայի երկարացման հաջորդ փուլում ևս տեղի է ունենում հերթական էլոնգացման գործոն EF2-ի և դրան կապված ԳԵՖ-ի փոխակերպումը EF2-ԳԿՖ-ի: ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը հանգեցնում է EF2-ի ազատ արձակմանը և էներգիա է մատակարարում մեկ կողմնի չափով ոիբրոսմի տեղափոխության համար: Տերմինացման գործոն eRF3-ի և ԳԵՖ-ի առաջացած համայիրը որոշիչ դեր է կատարում նաև պեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտի փուլում (նկար 21): Քանի որ ԳԵՖ-ի մակրուրգիկ ֆունկցիերային կապի ճեղքավորումն անդարձելի քիմիական ռեակցիա է, այդ գործընթացի հետ կապված մոլեկուլային իրադարձությունները նույնպես դառնում են անդարձելի՝ միանշանակորեն կանխորոշելով պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ուղղությունը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Aitken, Colin E., Lorsch, Jon R. (2012). A mechanistic overview of translation initiation in eukaryotes". Nat. Struct. Mol. Biol., 19 (6): 568-576.
2. Allen G. S., Frank J. (2006). Structural insights on the translation initiation complex: ghosts of a universal initiation complex, Mol. Microbiol. 63 (4): 941–950. doi:10.1111/j.1365-2958.
3. Forchhammer K, Leinfelder W, Bock A. (1989). Identification of a novel translation factor necessary for the incorporation of selenocysteine into protein, Nature. 342 (6248): 453-6. doi:10.1038/342453a0.
4. Jackson R. J., Christopher H, Pestova, T. V. (2010). The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of

- its regulation, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 11 (2): 113–127. doi:10.1038/nrm2838.
5. Kressler D., E. Hurt and J. Bassler (2010). Driving ribosome assembly. *Bioclem. Biophys. Acta*. 1803:673-683.
 6. Ibba M., Soli D. (2004). Aminoacyl-rRNAs: setting the limits of the genetic code. *Genes Dev.* 18:731-738.
 7. Nakanishi K., Nureki O. (2005). Recent progress of structural biology of tRNA processing and modification. *Mol. Cells* 19:157-166.
 8. Park M. H. (2006). The Post-Translational Synthesis of a Polyamine-Derived Amino Acid, Hypusine, in the Eukaryotic Translation Initiation Factor 5A (eIF5A)". *Journal of Biochemistry*, 139 (2): 161-9. doi:10.1093/jb/mvj034.
 9. Passmore L. A., Schmeing T. Martin, Maag D., Applefield D. J., Acker M. G., Algire M. A., Lorsch J. R., Ramakrishnan V. (2007). The Eukaryotic Translation Initiation Factors eIF1 and eIF1A Induce an Open Conformation of the 40S Ribosome, *Mol. Cell*. 26: 41–50. doi:10.1016/j.molcel.
 10. Shah P., Ding Y., Niemczyk M., Kudla G., Plotkin J. B. (2013). Rate-Limiting Steps in Yeast Protein Translation Cell. Jun 20; 153(7): 1589-1601.
 11. Stansfield I., Jones K. M., Kushnirov V. V., Dagkesamanskaya A. R., Poznyakovski A. I., Paushkin S. V., Nierras C. R., Cox B. S., Ter-Avanesyan M. D., Tuite M. F. (1995). The products of the SUP45 (eRF1) and SUP35 genes interact to mediate translation termination in *Saccharomyces cerevisiae". EMBO J.* 14 (17): 4365-73.
 12. Steitz T. A. (2008). A structural understanding of the dynamic ribosome machine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9:242-253.

ԳԼՈՒԽ 3

Սպիտակուցների կոնֆորմացիայի ձևավորում

3.1. Չափերոններ և չափերոնիններ

Նորաստեղծ պոլիակեպտիդային շղթայի կոնֆորմացիայի ձևավորման վրա մեծապես ազդում են ցիտոպլազմում պարունակվող սպիտակուցների կամ այլ կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի մոլեկուլները: Հայտնի է, որ նույն առաջնային կառուցվածքով պոլիակեպտիդային շղթաները կարող են ունենալ տարբեր թերմոդինամիկորեն թույլատրելի տարածական ձևեր: Սպիտակուցների ընդհանուր պարունակությունը ցիտոպլազմում հասնում է 300մգ/մլ: Ցիտոպլազմում սպիտակուցների բարձր պարունակության պատճառով նորաստեղծ պոլիակեպտիդային շղթաները կարող են ընդունել այնպիսի տարածական ձևեր, որոնք չեն համապատասխանում տվյալ սպիտակուցի գործունեության համար պահանջվող կոնֆորմացիային: Բացի դրանից՝ սպիտակուցների երկրորդային և երրորդային կառուցվածքների ձևավորումը ժամանակատար գործառույթ է, ինչը լրացուցիչ բարդություններ է առաջացնում բջջի կենսագործունեության համար: Այն փաստը, որ բջջի սպիտակուցների 95 % տոկոսի կառուցվածքը համապատասխանում է կենսաբանորեն ակտիվ կոնֆորմացիային, խոսում է նրա մասին, որ բջջում գործում է «Ճիշտ» կոնֆորմացիայի ձևավորումն ապահովող մեխանիզմ: Այդ մեխանիզմի հիմնական տարրերը չափերոններն են: Չափերոնները ներկայացնում են յուրահատուկ սպիտակուցների խումբ, որոնք ապահովում են նորաստեղծ պոլիակեպտիդային շղթայի տարածական «Ճիշտ» կառուցվածքը: Չափերոնները ներկա են բոլոր բջիջներում՝ սկսած բակտերիաներից մինչ մարդու բջիջները, հաճախ ունեն գրեթե նույն ամինաբբվային կազմը և ագրեցության մեխանիզմները: Չափերոնները ճեղքում են ԱԵՖ-ը մինչ ԱԿՖ և անջատված էներգիան օգտագործում են պոլիակեպտիդային շղթայի կառուցվածքում որոշակի վոփիլսություններ կատարելու համար: Չափերոնները ձևավորում են նորաստեղծ պոլիակեպտիդային շղթայի այն կոնֆորմացիան, որն անհրաժեշտ է

տվյալ սպիտակուցի կենսաբանական գործունեության համար, և կարող են կատարել «ոչ ճիշտ» կոնֆորմացիաների վերաձևավորումը «ճիշտ» կոնֆորմացիայի: Չափերոնները կարող են՝

- միավորել կամ մասնատել խոշոր մուլտիսպիտակուցային համալիրները,
- կազմալուծել սպիտակուցային այն կուտակումները, որոնք ունեն պոտենցիալ վնասակար ազդեցություն:

Չափերոնները գործում են էուկարիոտների բոլոր ենթաքջային կառույցներում և օրգաններներում: Հայտնի են չափերոնների մի քանի դասեր, որոնք տարրերկամ են ըստ **ԱԵՖ-ի հիդրոլիզից ազատված էներգիայի օգտագործման եղանակի**: Չափերոնները մեծ խնամակցությամբ կապվում են թիրախսային սպիտակուցների հետ և «միացնում» ԱԵՖ-կախյալ ձևափոխությունների մեխանիզմը: Եթե ավարտվում է սպիտակուցի անհրաժեշտ կոնֆորմացիայի ձևավորումը, չափերոնը անջատվում է սպիտակուցի մոլեկուլից և վերադարձնալով ելակետային վիճակին՝ կարող է միանալ թիրախսային սպիտակուցի մեկ այլ մոլեկուլի հետ: Կոնֆորմացիայի փոփոխության արագությունը որոշվում է ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի արագությամբ:

Սպիտակուցների գծային կամ մասնակիորեն գծային մոլեկուլները հակված են ազբեկացման, ինչի հետևանքով առաջանում են սպիտակուցների խոշոր միավորումներ կամ ջրում անլուծելի **սպիտակուցային ազբեկացներ**:

Անլուծելիության պատճառով առանձին սպիտակուցներ չեն կարողանում պոկվել ազբեկացման, և խաթարվում է դրանց «ճիշտ» կոնֆորմացիայի կազմավորման գործընթացը: **Չափերոններն արգելակում են սպիտակուցների նման ազբեկացումը**: Ազբեկացման պատճառներից մեկն այն է, որ երրորդային կառուցվածքի կազմավորման ժամանակ պոլիպեպտիդային մոլեկուլի հիդրոֆոր կողքային մնացորդները որոշակի ժամանակահատվածի ընթացքում հնարավորություն են ունենում հիդրոֆոր կապեր ստեղծելու հարեւան սպիտակուցային մոլեկուլների հիդրոֆոր մնացորդների հետ: Չափերոնները, միանալով անավարտ երրորդային կառուցվածք ունեցող պոլիպեպտիդային շղթաներին, խանգարում են հիդրոֆոր փոխազդեցու-

թյունների հաստատմանը և ճնշում սպիտակուցային մոլեկուլների հետագա ազրեգացումը:

Հայտնի են չապերոնների 2 մեծ ընտանիքներ:

- **Մոլեկուլային չապերոններ**, որոնք միանում են ոչ ամբողջովին պարուրված սպիտակուցների մոլեկուլների կարճ գծային հատվածներից մեկին և կայունացնում են մոլեկուլը: Կայունացման հետևանքով սպիտակուցային մոլեկուլները չեն ազրեգացվում և չեն քայրայփում:
- **Չապերոնիներ**, որոնք ձևավորում են գծային կամ ոչ ամբողջովին պարուրված սպիտակուցների մոլեկուլների կոնֆորմացիայի կազմակորման ոչ թե մեկ, այլ բազմաթիվ օջախներ: Այդ կայքերում մաս առ մաս իրականացվում է սպիտակուցի գծային մոլեկուլի առանձին հատվածների կոնֆորմացիաների ձևավորումը:

Մոլեկուլային չապերոնների թվին են պատկանում **ջերմային շոկի սպիտակուցները** (heat-shock protein Hsp), որոնք արագորեն առաջանում են թցում ի պատասխան միջավայրի ջերմաստիճանի բարձրացմանը: Դրանց թվին են պատկանում ցիտոպլազմում և միտոքոնդրիումների մատրիքսում գտնվող Hsp 70-ն, էնդոպլազմատիկ ցանցի BiP սպիտակուցը և բակտերիաների DnaK սպիտակուցը: Hsp 70-ն և նրա նմանակները հիմնական չապերոններն են, որոնք ներկա են գրեթե բոլոր օրգանիզմների թշիշներում: Մոնոմերային Hsp 70-ը, կապվելով U₇₀-ին, ձեռք է բերում, այսպես կոչված, «քաց» կոնֆորմացիա: «Քաց» կոնֆորմացիային հատուկ է հիդրոֆոբային գրապանիկի ապարողարկում, ինչի շնորհիվ Hsp 70-ը կարողանում է հիդրոֆոբային կապերով միանալ անավարտ երրորդային կառուցվածք ունեցող թիրախային սպիտակուցի մոլեկուլի հիդրոֆոբային մնացորդներին: U₇₀-ի հիդրոլիզից հետո մոլեկուլը ձեռք է բերում «փակ» կոնֆորմացիա: Hsp 70-ի «փակ» կոնֆորմացիան ուժեղացնում է կապը թիրախային սպիտակուցային շղթայի հետ, «ծուղակը» փակվում է: Չապերոնի և թիրախային սպիտակուցի մոլեկուլի հիդրոֆոբ փոխազդեցության հզորացումն ունի երկու կարևոր հետևանք. մի կողմից երկարում է սպիտակուցի «ճիշտ» կոնֆորմացիայի ձևավորման համար անհրաժեշտ ժամանակահատվածը, մյուս կողմից

արգելակվում է ազրեգացումը այլ սպիտակուցների հետ: ԱԵՖ-ի հիդրոխզն իրականացնում են **կոչապերոնային** օժանդակ սպիտակուցներ ։ **DnaJ-ն** (քակտերիաներում) և **Hsp40-ը** (էուկարիոտներում): Hsp 70-ին միացած ԱԿՖ-ը փոխարինվում է ԱԵՖ-ի նոր մոլեկուլով **GrpE** (քակտերիաներում), **BAG 1**, **HspBP** (էուկարիոտներում) կոչապերոնների միջոցով: Դրանից հետո Hsp 70-ն կրկին ընդունում է «քաց» կոնֆորմացիա, և լիարժեք երրորդային կառուցվածք ձեռք բերած թիրախային սպիտակուցն ազատ է արձակվում: Եթե թիրախային սպիտակուցի երրորդային կառուցվածքն ունենում է բերացումներ, ապա բոլորաշրջանը կրկնվում է մինչ սպիտակուցային մոլեկուլի լիարժեք երրորդային կառուցվածքի ձևավորումը:

Գրեթե բոլոր օրգանիզմներում, բացառությամբ հնագույն **archaea** դասից, գործում են մոլեկուլային չապերոնների մեկ այլ ընտանիքի սպիտակուցներ, որոնք կոչվում են **Hsp 90**: Էուկարիոտների քջինների տարրեր օրգանիզմների Hsp 90-ները տարրեր են: Hsp 90-ը ցիտոզոլի ամենամեծաքանակ սպիտակուցների թվին է պատկանում՝ կազմելով սպիտակուցի ընդհանուր պարունակության 1-2%-ը: Hsp 90 չապերոնները կենսականորեն անհրաժեշտ են քջին: Դրանք օգնում են հաղթահարել սրբեսային վիճակներով (զերմային շոկ և այլն) պայմանավորված սպիտակուցների բնափոխման ծանր հետևանքներն ու ապահովում են իրենց սուրստրատների (որոնք կոչվում են «**կլիենտներ**» կամ «հաճախորդներ») բնականն կոնֆորմացիայի վերականգնումը և ակտիվ գործունեությունը: Հաճախ «**կլիենտ**» սպիտակուցը քջում գտնվում է Hsp 90-ի հետ կապված վիճակում, և համարիք բաժանվում է միայն համապատասխան աղդակի ներգործությունից հետո՝ ազատ արձակելով կլիենտին, որը սկսում է ակտիվորեն գործել: Այդպիսի կլիենտներից են էստրոգենի և տեստոստերոնի ռեցեպտորները, որոնք կարգավորում են սեռական զարգացումը պայմանավորող գենների ակտիվությունը: Hsp 90-ների մեկ այլ խմբի կլիենտներն են կինազները, որոնք ֆուֆորիլացման միջոցով կարգավորում են բազմաթիվ ֆերմենտների ակտիվությունը: Ի տարբերություն Hsp 70-ի՝ **Hsp 90-ները դիմերներ են**: Կլիենտները կապվում են Hsp 90-ներին, եթե դրանք գտնվում են «քաց» կոնֆորմացիայում: ԱԵՖ-ի միացումից հետո դիմերի ԱԵՖ-կապող դոմեննե-

ըր մոտենում են միմյանց մկրատի ծայրերի նման, և կոնֆորմացիան «փակվում» է՝ ամուր կապելով «կլիենտին»։ ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի և «կլիենտի» ազատման գործընթացներին մասնակցում են առնվազն 20 կոչապերոնիներ։

Չապերոնները ոչ միայն պայմանավորում են սպիտակուցների ճիշտ կոնֆորմացիայի ձևավորումը, այլև նշանադրում են սխալ կոնֆորմացիաները՝ կանխորչելով դրանց քայլայումը բջջում։

Չապերոնիներ: Բազմաթիվ նորաստեղծ սպիտակուցների ճիշտ կոնֆորմացիայի ձևավորմանը մասնակցում են օժանդակ մոլեկուլների երկրորդ լնտանիքի անդամները՝ **չապերոնիները** կամ **Hsp60** սպիտակուցները։ Չապերոնիներից կազմվում են հսկայական վերմոլեկուլային կառուցվածքներ։ Չապերոնիները բաժանվում են երկու խմբերի, որոնք տարբերվում են կառուցվածքով, ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմի առանձնահատկություններով և տեղակայմամբ։ Առաջին խմբի չապերոնիները գործում են պրոկարիոտներում, քլորոպլաստներում և միտոքոնդրիումներում։ Դրանք կազմված են երկու օղակներից, որոնցից յուրաքանչյուրի մեջ մտնում է յոթ ենթամիավոր։ Օղակների յոթ **GroEL** ենթամիավորները փոխազդում են կոչապերոնային «կափարիչի» հետ (GroES)։ Կարճասունների բջջներում գործում են երկրորդ խմբի չապերոնիները, որոնց վերմոլեկուլային կառուցվածքի օղակները բաղկացած են 8-9 ենթամիավորներից (**TriC**)։

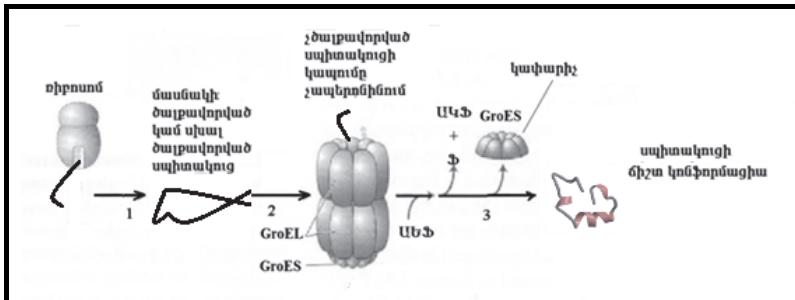
Չապերոնիների GroEL ենթամիավորներից կազմված օղակների միավորումն առաջացնում է տակառանման կառույց (նկար 23), որի կազմի մեջ մտնում է 14 նույնատիպ ենթամիավոր։ «Տակառ» ունի երկու ենթախցիկ, որոնցում իրականացվում է սպիտակուցների ծալքավորումը և յոթ GroES ենթամիավորներից կազմված կափարիչ, որը կարող է միանալ տակառի թե՛ վերին, թե՛ ստորին մակերեսներին։ Մասնակի ծալքավորված կամ սխալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցը մտնում է ենթախցիկներից մեկի մեջ։ Այդ ժամանակ երկրորդ ենթախցիկի մուտքը փակված է լինում GroES-կափարիչով։ Օղակը կազմող յոթ GroEL-ներից յուրաքանչյուրը կապվում է մեկ մոլեկուլ ԱԵՖ-ի հետ։ ԱԵՖ-ների մոլեկուլները դանդաղ ճեղքավորվում են մինչ ԱԿՖ՝ փոխելով օղակի GroEL ենթամիավորների կոնֆորմա-

ցիան, և կատարելագործում են պարփակված սպիտակուցի կոնֆորմացիան: Այդ ընթացքում «տակառիկի» երկրորդ ենթախցիկում կարող է ընթանալ նման գործընթաց՝ թերի կառուցվածքով պոլիպեպտիդի մուտք, ԱԵՖ-ի միացում, GroES-կափարիչի փակում, որին հետևում է ԱԵՖ-ների դանդաղ հիդրոլիզը: Եթե ավարտվում է ԱԵՖ-ի հիդրոլիզը, բացում է GroES-կափարիչը, և ազատ են արձակվում ԱԿՖ-ի ու սպիտակուցի մոլեկուլները: Եթե սպիտակուցի մոլեկուլները չեն հասցնում լիովին ձևավորվել մեկ բոլորաշրջանի ընթացքում, դրանք կրկին մուտք են գործում տակառիկի ենթախցիկ, որը կրկնվում է գործողությունների նկարագրված հաջորդականությունը:

3.2. Սպիտակուցների սինթեզի և քայրայման կարգավորում

Բջջի կենսագործունեության բոլոր գործընթացները փոխկապված են: Բջջում սպիտակուցների և այլ մոլեկուլների ակտիվության կարգավորման նպատակն է համաձայնեցնել նյութափոխանակության և մասնագիտական գործունեության բոլոր գործընթացներն այնպես, որ ժամանակի ցանկացած պահին բջիջը գտնվի ստացիոնար վիճակում և կենսագործունեության օպտիմալ ռեժիմում: Դրա համար կարգավորվում են քե՛ ֆերմենտային սպիտակուցների ակտիվությունը, քե՛ կատալիտիկ ակտիվությունից զուրկ սպիտակուցների կենսաբանական ակտիվությունը, ինչը պայմանավորում է տարաբնույթ բաղանքային անցուղիների գործունեությունը, բազմաթիվ վերմոլեկուլային սպիտակուցային համալիրների ձևավորումը: Հայտնի է սպիտակուցների ակտիվության կարգավորման երեք հիմնական ճանապարհ: **Առաջին** ուղին՝ սպիտակուցների ստացիոնար վիճակին բնորոշ ակտիվության կարգավորումն է սպիտակուցի քանակության վերահսկման միջոցով, ինչն իրականացվում է.

- սպիտակուցի սինթեզի արագության մեծացման միջոցով,
- սպիտակուցի քայրայման ճնշմանը,
- գուգակցելով երկու գործառությունները:



Նկար 23. Զապերոնիների գործունեության գծապատկեր:

Երկրորդ ուղին ոչ թե սպիտակուցի քանակական, այլ որակական փոփոխությունների ճանապարհն է: Սպիտակուցների կովալենտ և ոչ կովալենտ փոփոխությունները կարող են փոխել մոլեկուլի կոնֆորմացիան շեղելով սպիտակուցների ակտիվ և ոչ ակտիվ ձևերի հարաբերությունը:

Երրորդ ճանապարհը սպիտակուցների կամ դրանց սուբստրատների տեղակայման և տեղային կոնցենտրացիաների կարգավորման ուղին է:

Սպիտակուցների սինթեզի արագությունը կախված է՝

- սպիտակուցը կողավորող գենի տրանսկրիպցիայի արագությունից,
- ակտիվ ի-ՈՆԹ-ի քանակից,
- տրանսլյացիայի արագությունից:

Քջիջներում սպիտակուցները կարող են պահպանվել (սպիտակուցի կյանքի տևողություն)՝ սկսած մի քանի րոպեներից (միտոտիկ ցիկլիները) մինչև օրգանիզմի կյանքի վերջը (կաթնասունների աչքի ոսպնյակի սպիտակուցներ): Սպիտակուցների կյանքի տևողությունը հիմնականում կարգավորվում է դրանց քայլայման մեխանիզմով: Սպիտակուցների ճեղքավորման մեխանիզմների կարգավորված գործունեության շնորհիվ վերահսկվում են սպիտակուցների քանակը և ակտիվությունը, ինչը թույլ է տալիս բջջին արագ ու ճկուն հարմարվել միջավայրի փոփոխություններին:

Սպիտակուցների քայլայման ճանապարհով բջջից հեռացվում են պոտենցիալ վնասաբեր, թերի կոնֆորմացիայով կամ գենային մուտացիայի հետևանքով վնասված սպիտակուցները, անկանոն սպիտակուցային համալիրները, այն սպիտակուցները, որոնք վնասվել են ակտիվ մեթաբոլիտներով (թթվածնային և այլ ռադիկալներով) կամ սրբեսային ներգործությունների հետևանքով (զերմային շոկ, ցիտոսորսիկ նյութեր): Թեև չապերոնները որոշիչ դեր են կատարում սպիտակուցների բոլոր թերմոդինամիկորեն հնարավոր կոնֆորմացիաներից մեկի՝ բջջային կենսագործունեության համար անհրաժեշտ կոնֆորմացիայի ձևավորման մեջ, այնուամենայնիվ նորաստեղծ պոլիպեպտիդային շղթաների փոքր մասը չի ընդունում անհրաժեշտ կոնֆորմացիա և այդ պատճառով դատապարտված է արագ քայլայման: Նորմալ կոնֆորմացիայով և գործունեությամբ սպիտակուցները կաթնասունների բջջներում ավելի դանդաղ են քայլայվում (ընդհանուր քանակի 1-2 %-ը մեկ ժամում):

Սպիտակուցների քայլայումն էուկարիոտների բջջներում կատարվում է մի քանի եղանակներով: Չատ սպիտակուցներ քայլայվում են **լիզոսումներում**, որոնք գտնվում են ցիտոպլազմում և ներկայացնում են հիդրոլիտիկ ֆերմենտներով լցված թաղանթապատ պղպջակներ՝ ներքին բրվային միջավայրով: **Լիզոսումային ուղին** գերիշխում է արտաքինից բջջի ներմուծված սպիտակուցների քայլայման և ծերացած կամ վնասված բջջային օրգանների հեռացման ժամանակ առոտոֆազիա կոչվող բջջային գործընթացում:

Կարնասունների բջջային սպիտակուցների շուրջ 90 %-ը քայլավում է **արոտեռոսումային ուղով**:

Պրոտեռոսումները շատ խոշոր վերմոլեկուլային կառույցներ են, որոնք ներգրավված են կարենորագույն բջջային գործընթացներում (բջջային բոլորաշրջան, իմունային ֆունկցիաներ, տրանսկրիպցիա, ԴՆԹ-ի ռեպարացում կամ վերականգնում, ապոպտոզ, սիսալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցների ճեղքավորում): Սիզինում կարնասունների բջջներում գործում են մոտ 30 000 պրոտեռոսումներ: Պրոտեռոսումները կազմված են 50 սպիտակուցային ենթամիավորից, որոնց գումարային զանգվածը մոտավորապես $2\text{-}2.4 \times 10^6$ դալտոն է: Պրոտեռոսումի կատալիտիկ ակտիվությամբ օժտված կենտրոնական

հատվածը 14,8 նմ երկարությամբ և 11.3 նմ տրամագծով սնամեջ խողովակի տեսք ունի: Խողովակի մեկ կամ երկու ծայրերին միացած են «կափարիչներ», որոնք կարգավորում են կառույցի ակտիվությունը: Կափարիչների 16-18 ենթամիավորներից 6-ն ունեն ԱԵՖազային ակտիվություն: Շեղավորելով ԱԵՖ-ը՝ կափարիչներն էներգիա են մատակարարում՝ սպիտակուցներն ապահովութելու և դեպի կատալիտիկ ակտիվություն ունեցող կենտրոնական խողովակ տեղափոխելու համար: Պրոտեռուստների կենտրոնական մասը կազմված է երկու ա և երկու թ-օղակներից (α, β, γ և α հաջորդականությամբ): Սպիտակուցները քայլայվում են կենտրոնական խողովակի թ-օղակներով սահմանափակված միջնամասում: Ցուրաքանչյուր թ-ներքին օղակ քաղկացած է 7 ենթամիավորից: Ամեն օղակում կա երեք կայր, որոնցում կատարվում է սպիտակուցի պրոտեղիտիկ ճեղքավորումը: Դեպիայրոտեռոստ ուղղորդվող, ճեղքավորման ենթակա սպիտակուցները պետք է անցնեն թ-օղակների կենտրոնական անցուղով (տրամագիծը՝ 1,7 նմ): Այդ անցքով կարող են անցնել միայն գծային պոլիպեպտիդները: Սպիտակուցների միացումը և երրորդային կառուցվածքի պարզեցումը մինչև գծային ձևն ապահովում են պրոտեռոստի կափարիչները, որոնց ենթամիավորներն օժտված են ԱԵՖազային ակտիվությամբ: թ-ներքին օղակների պրոտեղիտիկ կայրերում ճեղքավորված պոլիպեպտիդային շղթաները վեր են ածվում 2-24 ամինաթրվային մնացորդներից քաղկացած կարճ պեպտիդների, որոնք դուրս են գալիս խողովակից ցիտոպլազմ, որտեղ պեպտիդազները վերջնականացնեն քայլայում են դրանց մինչև ազատ ամինաթրուներ: Պրոտեռոստների երկարաւու արգելակման հետևանքով քիչները մահանում են: Հայտնի է, որտեղ նորմալ կենսագործունեության համար քիչներին անհրաժեշտ է վերապրման գործոն՝ NFκB-ն սպիտակուցը (քջակորիկային կապա թ): NFκB-ի ակտիվությունը դրսևրվում է այն ժամանակ, երբ նրանց անջատվում և պրոտեռոստներով քայլայվում է IκB ինիբիտորը: Քաղցկեղի բուժամիջոցների զինանոցում օգտագործվում են դեղամիջոցներ, որոնք ունակ են պրոտեռոստների կարճաւու մասնակի արգելակմանը: Այդ դեղամիջոցները ճնշում են IκB ճեղքավորումը, ինակտիվացնում ՆFκB

սպիտակուցը, որի թերացումների նկատմամբ ավելի զգայուն են ուռուցքի բջիջները:

Սախտակուցների որիխսիտինացում: Պրոտեռոսումներն արագ վերացնում են անկատար կոնֆորմացիա ունեցող սպիտակուցները և այն սպիտակուցները, որոնք ավելորդ են դարձել այս կամ այն պատճառով: Սակայն հարց է ծագում՝ ինչպես են պրոտեռոսումները ճանաչում դրանց: Պարզվեց, որ բջիջները նշաղրում են քայլայման ենթակա սպիտակուցները՝ մոլեկուլին կովալենտ միացնելով **որիխսիտինի շղթան:** Ուրիշիտինը 76 ամինաթրվային մնացորդներից կազմված պոլիակտիդ է: Ուրիշիտինի կառուցվածքը գրեթե չի տարբերվում խմորասնկերի և մարդու մոտ: Ուրիշիտինի մոլեկուլները կարող են կազմել պոլիուրիխիտինային շղթա, որի միացումը սպիտակուցին պատկերավորության համար անվանում են «**մահվան համբույր**», քանի որ այն դատապարտում է սպիտակուցը ոչնչացման պլոտեռումներում: Ուրիշիտինացումն ընթանում է երեք փուլով:

1. Ուրիշիտին-ակտիվացնող E1 ֆերմենտն ակտիվանում է, որովհետև ԱԵՖ-ի էներգիայի հաշվին ֆերմենտի մոլեկուլն միացվում է ուրիշիտինի մոլեկուլը:
2. Ֆերմենտին միացած ուրիշիտինը տեղափոխվում է հաջորդ ուրիշիտին-միացնող E2 ֆերմենտի ցիատեհնային մնացորդի վրա:
3. **Ուրիշիտին-արոտեկն լիգազ** կոչվող E3 ֆերմենտը կատալիզում է E2-ին միացած ուրիշիտինի 76-րդ C-ծայրային գլիցինի կարբօքսիլ խմբի և թիրախսային սպիտակուցի լիզինային մնացորդի ամինախմբի միջև կովալենտ կապի առաջացումը: Նման կազմը կոչվում է **իզոպեպտիդային**, քանի որ պեպտիդային կապն առաջանում է ոչ թե հարևան ամինաթթուների կարբօքսիլ և ամինային խմբերի միջև, այլ տարբեր շղթաներում գտնվող ամինաթթուների համապատասխան խմբերի միջև:

Լիգազային ռեակցիայից հետո թիրախսային սպիտակուցին միացած ուրիշիտինի 48-րդ լիզինային մնացորդի կողքային շղթային իզոպեպտիդային կապով միացվում է մեկ այլ ուրիշիտինի մոլեկուլ: Չորս կամ ավելի ուրիշիտինային մնացորդների միացումից հե-

տո ուրիխսիտինացված սպիտակուցը կապվում է պրոտեոսումի կափարիչի հետ, ապապարուրվում է և տեղափոխվում դեպի պրոտեոսումի կենտրոնական խողովակը, որտեղ ընթանում է պրոտեօլիտիկ ճեղքավորումը: Կենտրոնական խողովակում ուրիխսիտինային մնացորդներն ու ուրիխսիտին-սպիտակուց միացնող կապերը քայլայվում են դեռուրիխսիտինազներով (Dubs): Ուրիխսիտինի ազատված մոլեկուլները կարող են մասնակցել սպիտակուցի մեջ այլ մոլեկուլի պոլիուրիխսիտինացման գործընթացին:

Մարդու գենոմում 600 գեն կրողավորում են զանազան ուրիխսիտին լիգազներ (E3): Ուրիխսիտին լիգազների քազմազանությունը կոչված է ժամանակի ցանկացած պահին ապահովել տարաբնույթ սպիտակուցների սպառիչ պոլիուրիխսիտինացումը: Որոշ E3 լիգազներ կապված են շապերոնների հետ, որոնք ճանաչում են ապապարուրված կամ սխալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցներին: Օրինակ կարող է ծառայել E3 լիգազ CHIP-ը, որը Hsp 70-ի կոչապերոնն է: E3 լիգազի և շապերոնների համատեղ գործունեությունը բույլ է տալիս բջջին շատ ճկուն կարգավորել կոնֆորմացիայի քերություններ ունեցող սպիտակուցների քայլայումը: Կարելի է ասել, որ շապերոն-պոլիուրիխսիտինացում-պրոտեոս համակարգը սպիտակուցների որակի վերահսկման մեխանիզմ է:

Ուրիխսիտինացում/դեռուրիխսիտինացում անցումները շատ ավելի քազմազան են, քան ֆոսֆորիլացում/դեֆոսֆորիլացումով պայմանավորված անցումները: Ուրիխսիտինացումը կարող է ընթանալ երեք տարրեր ուղիներով:

- Մեկ մոլեկուլ ուրիխսիտինը միանում է թիրախսային սպիտակուցին (մոնոուրիխսիտինացում):
- Մի քանի ուրիխսիտինի մոլեկուլներ միանում են թիրախսային սպիտակուցի տարրեր կայքերում (մուլտիուրիխսիտինացում):
- Սպիտակուցի մեկ կայքին միանում է պոլիուրիխսիտինային շղթա (պոլիուրիխսիտինացում):

Ուրիխսիտինացում/դեռուրիխսիտինացում անցումների քազմազանությունը բխում է նաև նրանից, որ պոլիուրիխսիտինային շղթայի կազմավորման ժամանակ իզոպեպտիդային կապով կարող են միանալ առանձին ուրիխսիտինների տարրեր կարրօքսիլ և ամինային

խմբեր: Կախված նրանից, թե պոլիուրիխիտինային շղթայի առաջացման ժամանակ հարևան ուրիխիտինների որ լիզինային մնացորդներն են մասնակցել իզոպեպտիդային կապի առաջացմանը, համապատասխանորեն փոխվում են նաև ուրիխիտին լիզագները:

Ուրիխիտինացման բազմազանուրյունը ստեղծում է ուրիխիտինացման որակով տարրերվող մի քանի կայքեր՝ ուրիխիտին կապող դոմեններ (**UBD**): Մեկ ուրիխիտինային շղթան կարող է կապել մի քանի տարրեր սպիտակուցների UBD-ներ, ինչի հետևանքով կարող են առաջանալ մոլտիսպիտակուցային համալիրներ: Եթե պոլիուրիխիտինային շղթայում ուրիխիտինները կապվում են 48-րդ լիզինային մնացորդների կողքային շղթաների միջև առաջացած իզոպեպտիդային կապով, այդպիսի շղթայի միացումը դատապարտում է սպիտակուցը պրոտեոսոմային քայլայման: Սակայն, եթե պոլիուրիխիտինային շղթայում ուրիխիտինները միանում են 63-րդ լիզինային մնացորդներով, այդպիսի պոլիուրիխիտինային շղթան առաջնորդում է սպիտակուցը ոչ թե դեպի քայլայումը, այլ դարձնում է այն ազդանշանային մոլեկուլ, որը մասնակցում է զանազան բջջային գործընթացներին (օտարածին ՈՆԹ-ների ճանաչում և ինունային ռեակցիայի ձևականում, ապոպտոզ):

Բջջում գործում են նաև այլ մոլեկուլներ, որոնք կատարում են նոյն դերը, ինչ ուրիխիտինը (**Sumo** սպիտակուցների ընտանիք): **Sumo** ընտանիքի անդամները փոքր սպիտակուցներ են, որոնք մասնակցում են մոլեկուլների ներքջակորիզային և արտաքջակորիզային տեղափոխությունների գործընթացներին:

Անկատար կամ սիսալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցների քայլայման գործընթացի խափանումը հանգեցնում է դրանց կուտակմանը և միավորմանն անկանոն անլուծելի մասնիկների տեսքով: Հաճախ այդպիսի սպիտակուցային կնճիկներ կարող են կուտակվել ուղեղի կամ լյարդի բջիջներում, ինչի հետևանքով մարդու մոտ զարգանում են նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններ (Ալցիայների, Պարկինսոնի), իսկ խոշոր եղջերավոր կենդանիների մոտ տեղի է ունենում ուղեղային հյուսվածքի սպոնգանման վերափոխում: Ուղեղի նման ախտահարման հետևանքով առաջ է գալիս «խենք կովի» ախտանշան կամ էնցեֆալոպատիա կոչվող հիվանդությունը: Անլու-

ծելի սպիտակուցային կճճիկները ձևավորվում են ամիլիդային թելիկներից, որոնք բջջաբաղանքի կազմում գտնվող նորմալ Տաս ամիլիդային սպիտակուցի և ախտածին **prion** սպիտակուցների ածանցյալներն են: Անհայտ պատճառներով ելակետային պարուրած սպիտակուցների մոլեկուլները ընդունում են թ-ծալքավոր կոնֆորմացիա, ինչի հետևանքով կարողանում են առաջացնել չափազանց կայուն համալիրներ: Քանի որ prion սպիտակուցները փոքրիկ սպիտակուցային մոլեկուլներ են, դրանք կարող են վիրուսային մասնիկների նման փոխանցվել օրգանիզմից օրգանիզմ և տարածել հիվանդությունը: Կովերի խենթոթյուն կոչվող հիվանդությունը մարդկանց է փոխանցվում համապատասխան prion սպիտակուցի միջոցով:

3.3. Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորում մոլեկուլի կովալենտ և ոչ կովալենտ ձևափոխությունների միջոցով

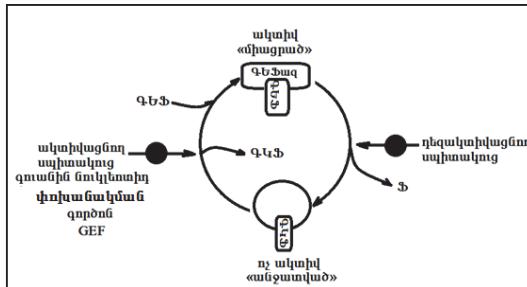
Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորման երկրորդ ուղին իրականացվում է սպիտակուցների կառուցվածքի ոչ կովալենտ ձևափոխությունների ճանապարհով: Բազմաթիվ կարգավորիչ ֆերմենտների ակտիվությունը վերահսկվում է ալոստերիկ մոդիֆիկատորների միջոցով: Ալոստերիկ մոդիֆիկատորները միանում են ֆերմենտների կարգավորիչ կենտրոնին ոչ կովալենտ կապերով և այնպես են փոխում ակտիվ կենտրոնի կոնֆորմացիան, որ փոխվում է ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը: Մենք կրնարկենք կարգավորման երկու մեխանիզմներ, որոնք բախտորոշ ազդեցություն ունեն բջջի կենսագործության վրա՝ պայմանավորելով ազդանշանների փոխանցման բջջային ուղիների գործունեությունը: Առաջին մեխանիզմը հիմնվում է նորա վրա, որ սպիտակուցին ոչ կովալենտ կապերով միանում են Ca^{+2} -ի իոնները կամ $\text{Q}-\text{E}-\text{S}-\text{H}$ մոլեկուլները: Ի տարբերություն բջջամանի միացմանը հեմոգլոբինին՝ այս պարագայում սպիտակուցի ակտիվությունը կրում է ոչ թե աստիճանական, այլ կտրուկ

փոփոխություններ, ինչը կարելի է համեմատել էլեկտրական սարքի միացման և անջատման հետ (անջատիչի կամ տրիգերի սկզբունք):

Ca⁺²-կալմոդուլինային անջատիչ կամ տրիգեր: Ցիտոպլոմ ազատ Ca⁺²-ի իոնների կոնցենտրացիան պահպանվում է կայուն մոտ 10^{-7} M մակարդակի վրա շնորհիվ նրա, որ բջջաբաղանքի հատուկ սպիտակուցներն ավելցուկային իոնները հեռացնում են բջջներից քաղանքային անցուղիներով: Ca⁺²-ի իոնները միանում են Ca⁺² կապող սպիտակուցներին «EF բազուկների» միջոցով: Մետաղի իոնները կապվում են բազուկներին և էապես փոխում սպիտակուցի կոնֆորմացիան: Կապված իոնների քանակը կախված է Ca⁺²-ի կոնցենտրացիայից: Այսպիսով՝ անմիջական կապ է ստեղծվում Ca⁺²-ի կոնցենտրացիայի և սպիտակուցի կոնֆորմացիայի միջև: Ca⁺²-ի հետ կապված սպիտակուցներն իրենց հերթին միանում և փոխում են այլ թիրախային սպիտակուցների կոնֆորմացիան և ակտիվությունը: Ամենատարածված Ca⁺² կապող սպիտակուցներից է **կալմոդուլինը**, որն ունի չորս EF բազուկներ: Կալմոդուլինը հանդես է գալիս թե՛ մոնոմերի ձևով, թե՛ մուլտիսպիտակուցային համալիրների կազմում: Ca⁺²-ի միացումը կալմոդուլինին փոխում է վերջինիս կոնֆորմացիան՝ ապարողարկելով այն կայքերը, որոնք կապվում են թիրախային սպիտակուցներին և ակտիվացնում դրանց: Կալմոդուլինը կարծես կատարում է անջատիչի դեր և այդ պատճառով դասվում է «տրիգերային» սպիտակուցների շարքին:

«Տրիգերային» սպիտակուցների բվին են պատկանում նաև գուանիդինային նուկլեոտիդների հետ կապվող բազմաթիվ սպիտակուցներ, որոնք պատկանում են ԳԵՖազների ընդարձակ ընտանիքին: Ինչպես հետևում է անվանումից, այս սպիտակուցները ֆերմենտներ են, որոնք ճեղքավորում են ԳԵՖ-ը մինչ ԳԿՖ: ԳԵՖազային ընտանիքի սպիտակուցները մասնակցում են սպիտակուցի սինթեզին, ազդանշանների փոխանցման ուղիների գործունեությանը, մոլեկուլների տեղափոխմանը բջջակորիզաբաղանքային անցուղիներով, բջջների ակտինային կմախրի ձևափոխություններին: ԳԵՖ/ԳԿՖ անջատիչի նման է գործում ԱԵՖ/ԱԿՖ անջատիչը, որի օրինակ է Hsp70 սպիտակուցը: ԳԵՖազային բոլոր «անջատիչ» սպիտակուցները կարող են գոյություն ունենալ երկու կոնֆորմացիանե-

րով՝ կապված ԳԵՖ-ին և կապված ԳԿՖ-ին: ԳԵՖ-ին կապված ձևը համապատասխանում է սպիտակուցի ակտիվ վիճակին (անջատիչը միացած է), իսկ ԳԿՖ-ին կապված վիճակում սպիտակուցն ակտիվ չէ (անջատիչը անջատած է): ԳԵՖ-ին կապված ակտիվ վիճակում «անջատիչ» սպիտակուցը միանում է տարրեր թիրախային սպիտակուցների՝ ակտիվացնելով դրանց գործունեությունը: «Անջատիչն» անցնում է ոչ ակտիվ անջատված ձևի, երբ ԳԵՖ ազային ակտիվության շնորհիվ ԳԵՖ-ը դանդաղ իդրողիզմում է մինչ ԳԿՖ: Այսպիսով «անջատիչի» ակտիվ վիճակում գտնվելու ժամանակը կարգավորվում է սպիտակուցի ԳԵՖազային ակտիվությամբ: ԳԵՖազային «անջատիչների» կենսաբանական նշանակությունն այնքան մեծ է, որ բջջում գործում են դրանց ակտիվությունը վերահսկող լրացուցիչ մեխանիզմներ: Բջջային բազմաթիվ սպիտակուցներ վերահսկում են «անջատիչների» ԳԵՖազային ակտիվությունը: Կարգավորմանը մասնակցում են նաև հասուն սպիտակուցներ՝ **ԳԵՖ-ի փոխանակման գործուներ** (GEFեր), որոնք կարող են տեղակալել «անջատիչն» կապված ԳԿՖ-ը ԳԵՖ-ով (նկար 24):



Նկար 24. ԳԵՖազային անջատիչի գործունեության բոլորաշրջանը:

Միանալով ԳԵՖ-ին՝ սպիտակուցը ձեռք է բերում ակտիվ կոնֆորմացիա և կարողանում է փոխազդել թիրախային սպիտակուցների հետ: Ակտիվացնող սպիտակուցի ԳԵՖազային ակտիվության շնորհիվ ԳԵՖ-ը քայրայվում է մինչ ԳԿՖ և սպիտակուցի կոնֆորմացիան այնպես է փոխվում, որ այն չի կարողանում փոխազդել թիրախային սպիտակուցների հետ: ԳԿՖ-կապված սպիտակուցը կարող է կրկին ակտիվանալ, եթե նրա կազմի մեջ մտնող ԳԿՖ-ը փոխարինվի ԳԵՖ-ով GEF սպիտակուցի շնորհիվ (գունիդինի փոխանակման գործոն):

Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորումը ֆուֆորիլացում-դեֆոսֆորիլացում անցումներով և նախնակի պրոտեռիզի ճանապարհով: Սպիտակուցի ակտիվությունը բջջում կարող է կարգավորվել ոչ միայն ոչ կովալենտ, այլև մոլեկուլի կովալենտ ձևափոխությունների միջոցով։ Առավել մեծ է **սպիտակուցային մոլեկուլների ֆուֆորիլացման և դեֆոսֆորիլացման** գործընթացների նշանակությունը։

Սպիտակուցների ֆուֆորիլացումն իրականացնող **պրոտեին կինազներ** կոչվող ֆերմենտները տեղափոխում են ԱԵՖ-ի γ-օրտոֆուֆատային մնացորդը սպիտակուցի **սերինային, տրեոնինային կամ թիրոզինային** ամինաթթվային մնացորդների կողքային հիդրօքսիլ խմբերի վրա։ Դեֆոսֆորիլացումը իրականացնում են **ֆուֆատազները**։ Պրոտեին կինազների և ֆուֆատազների հակամեն գործունեությունն ապահովում է սպիտակուցների ֆուֆորիլացման **կենսաբանական** դարձելիությունը։ Ֆուֆորիլացման հետևանքով փոխվում է սպիտակուցի գումարային էլեկտրական լիցքը, ինչը հանգեցնում է մոլեկուլի կոնֆորմացիայի և ակտիվության փոփոխությունների։ Հայտնի է, որ շատ սպիտակուցներ ունեն հատուկ դրմեններ, որոնք կապվում են ֆուֆորիլացված այեպտիդների հետ։ Նման փոխազդեցությունները մեծ դեր են կատարում սպիտակուցային վերմոլեկուլային համալիրների առաջացման մեջ։ Նման բարդ սպիտակուցային համալիրները գործում են զոեք բոլոր հիմնարար կենսաբանական մեխանիզմներում։ Կառուցվածքային, կմախքահենարանային, բջջաբաղանքային անցուղիների գործունեությունն իրագործող, տարաբնույթ կարգավորիչ ֆերմենտների և ազդանշանային մոլեկուլների գործունեությունը կարգավորող բազմաթիվ սպիտակուցների ակտիվությունը վերահսկվում է ֆուֆորիլացման/դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով։ Եթե որևէ սպիտակուցի ակտիվությունը կարգավորվում է ֆուֆորիլացում/դեֆոսֆորիլացումով, ապա այդ թիրախային սպիտակուցն ունի մենահատուկ պրոտեին կինազ և ֆուֆատազ։ Միևնույն ժամանակ որոշ պրոտեիններուն դրսւորում են խմբային սպեցիֆիկություն և կարող են ֆուֆորիլացնել մի քանի սպիտակուցներ։ Հաճախ պրոտեիններուն կամ ֆուֆատազներն իրենք են թիրախ ծառայում այլ կինազների կամ ֆուֆատազների համար՝

առաջացնելով ֆերմենտային «կասկաղներ», որոնք ծառայում են առաջնային բույլ ազդանշանի բազմակի ուժեղացմանը և ծավալմանը:

Սպիտակուցների ֆուֆորիլացման և ուրիխիտինացման գործընթացները թեև քիմիական առումով անդարձելի են (այդ ռեակցիաների ընթացքում մեծ քանակությամբ էներգիա է սպառվում), այնուամենայնիվ կենսաբանորեն դարձելի են, քանի որ բջջում ընթանում են նաև ճիշտ հակամետ դեֆուֆորիլացման և դեուրիխիտինացման ռեակցիաներ: Սակայն, գոյություն ունի սպիտակուցների կովալենտ ձևափոխության մի եղանակ, որն անդարձելի է թե՛ քիմիապես, թե՛ կենսաբանորեն: Դա ակտիվության կարգավորման այն ուղին է, որը իրականացվում է **սպիտակուցների մասնակի պրոտեոլիտիկ քայլայնան միջոցով**: Ակտիվության կարգավորման նման ուղու դասական օրինակ է մարսողական ֆերմենտներ պեպսինի, տրիպսինի և քեմոտրիպսինի ոչ ակտիվ զինոգեն ձևերի ակտիվացումը: Մեկ այլ օրինակ է պեպտիդային հորմոն իմսուլինը: Այն սինթեզվում է երկար պոլիպեպտիդային շղթայի ձևով, որը նախքան բջիջ արտազատվելը որոշակի պեպտիդային կապերի քայլայնան շնորհիվ ձևոք է բերում կենսաբանորեն ակտիվ կոնֆորմացիա: Երբեմն երկար նախահորմոնի պոլիպեպտիդային շղթան կարող է ճեղքավորվել մի քանի կայքերում՝ սկիզբ տալով մի քանի տարբեր ակտիվ հորմոնների: Մասնակի պրոտեոլիտիկ ճեղքավորման գործառույթը մեծ նշանակություն ունի արյան մակարդելիությունն ապահովող և բնածին իմունիտետի ակտիվացման գործընթացում (կոնֆլեմենտի համակարգի ակտիվացում): Առանձին դեպքերում որոշ էուկարիոտիկ բջիջներում և բակտերիաների մոտ ընթանում է սպիտակուցների **ինքնասպլայսինզի** գործընթացը: Ինքնասպլայսինզի ժամանակ պոլիպեպտիդի ներքին հատվածը հեռացվում է, իսկ առաջացած երկու ծայրային հատվածները միմյանց են միացվում: Սա ինքնակատալիտիկ կամ առոտուկատալիտիկ ռեակցիա է, որն իրականացվում է սպիտակուցների մոլեկուլի կողմից առանց ֆերմենտների մասնակցության: Սպիտակուցների առոտուկատալիտիկ ճեղքավորումը կարող է ընթանալ առանց առաջացած հատվածների հետագա միացման (Հեջողգի

սպիտակուց, որն ակտիվորեն մասնակցում է զարգացման բազմաթիվ գործընթացներին):

Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորումը տեղակայման և տեղային կոնցենտրացիաների վերահսկման ճանապարհով: Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորման ավելի բարձր մակարդակն իրականացվում է սպիտակուցների կամ սուրստրատների (եթե սպիտակուցները ֆերմենտներ են) բջջային տեղակայման կամ տեղային կոնցենտրացիաների վերահսկման ճանապարհով: Կասկածից վեր է, որ բջջների բնականոն գործունեությունը պահանջում է սպիտակուցների որոշակի բաշխում բջջի ծավալում և առանձին օրգաններում միտոքոնդրիումներում, բջջակորիզում, լիզոսումներում: Նման բաշխումը կոչվում է **կոնպարտմենտացում:** Կոմպարտմենտացման շնորհիվ ոչ միայն տեղի են ունենում ելանյութերի մուտքը և վերջնանյութերի ելքը, այլև հնարավոր է դառնում ժամանակի նույն հատվածում իրականացնել հակադարձ ուղղվածության ռեակցիաները:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Broadley S. A. and F. U. Hartl. (2009). The role of molecular chaperones in human misfolding diseases. FEBS Lett. 583(16):264,-2653.
2. Brodsky J. L. and G. Chiosis. (2006). Hsp70 molecular chaperones: emerging roles in human disease and identification of small molecule modulators. Curr. Top. Med. Chem. 6(11):1215-1225.
3. Babu B., J. Weissman and A. Horwich. (2006). Molecular chaperones and protein quality control. Cell 1125(3):443-451.
4. Cohen F. E. (1999), Protein misfolding and prion diseases. Mol. Biol. 293:313-320.
5. Goldberg A. L. (2003). Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. Nature 426:895-899.
6. Taipale I., Jarosz D. F., Lindquist S. (2010). HSP90 at the hub of protein homeostasis: emerging mechanistic insights. Nat.Rev. Mol. Cell Bioi. 11(7):515-528.

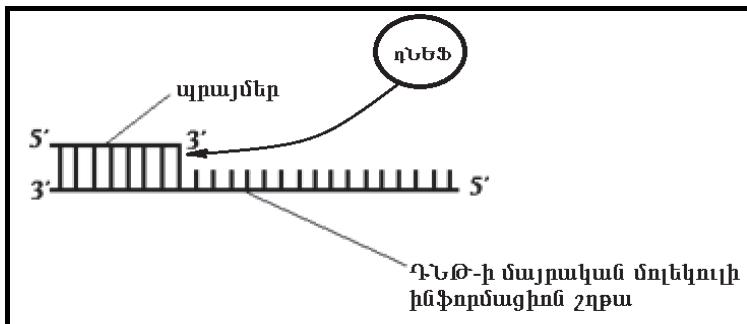
ԳԼՈՒԽ 4

ԴՆԹ-ի կրկնապատկում (ռեպլիկացում)

Երկշղթա կառուցվածքի շնորհիվ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարող է հարաբերականորեն ինքնուրույն վերարտադրվել՝ ասպահովելով տեղեկատվության լիարժեք փոխանցումը նորագոյացած ԴՆԹ-ի մոլեկուլին: Ուտստոնը և Կրիկն առաջարկեցին ԴՆԹ-ի կրկնապատկման կիսակոնսերվատիվ (կիսապահպանողական) կամ սեմիկոնսերվատիվ մեխանիզմը: Համաձայն այդ մեխանիզմի՝ յուրաքանչյուր նոր սինթեզված ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շղթաներից մեկը պատկանում է մայրական ԴՆԹ-ի մոլեկուլին, իսկ երկրորդ շղթան սինթեզվում է որպես մայրական շղթային կոմպլեմենտար նոր շղթա: Կիսակոնսերվատիվ կամ կիսապահպանողական կրկնապատկման մոդելի հիմքում ընկած են ԴՆԹ-ի մայրական մոլեկուլի երկու շղթաների տարամիտումը և մայրական յուրաքանչյուր շղթային կոմպլեմենտար նոր շղթաների սինթեզը: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շղթաներից մեկի պատճենավորումը կոմպլեմենտարության սկզբունքով հիմնարար գործառույթ է, որն ընկած է տրանսկրիպցիայի, ԴՆԹ-ի կրկնապատկման (ռեպլիկացման), վերականգնման (ռեպարացման) և ԴՆԹ-ի հատվածների վերադասավորումների (ռեկոնֆինացման) գործընթացների հիմքում:

ԴՆԹ-ն սինթեզվում է դեգորսիոնիրոնուկլեոտիդ եռֆոսֆատներից (ԴՆԵՖ), և մոլեկուլը աճում է 5'-3' ուղղությամբ, քանի որ սինթեզվող շղթան առաջանում է ի հաշիվ դեգորսիոնիրոզի 3' թթվածնի ու դՆԵՖ-ի օրտոֆոսֆատի միջև դիեթերային կապի գոյացման շնորհիվ: Ի հակադրություն ՌՆԹ պոլիմերազների՝ ԴՆԹ պոլիմերազներն ընդունակ չեն ինքնուրույն նախաձեռնելու ԴՆԹ-ի դուստր շղթայի սինթեզը: ԴՆԹ պոլիմերազները կարող են սկսել ԴՆԹ-ի նոր շղթայի սինթեզը միայն արայիմեր կոչվող ՌՆԹ-ի կարճ հատվածից (10-30 նուկլեոտիդ): ԴՆԹ-ի կրկնապատկման համար մայրական մոլեկուլի շղթաները նախ և առաջ պետք է միմյանցից հեռանան: Միայն այդ պարագայում կարող է իրականանալ յուրաքանչյուր շղթայի զուգավորումը համապատասխան պրայմերի հետ: ԴՆԹ պո-

լիմերազները պրայմերի 3' հիդրօքսիլ խմբին միացնում են այն դՆԵՖ-ները, որոնք կոմպլեմենտար են մայրական շղթայում պրայմերին հաջորդող նուկլեոտիդիներին՝ ըստ էության, երկարացնելով պրայմերը (նկար 25): Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի ծնողական շղթայի ընթերցումն ընթանում է 3'-5' ուղղությամբ, իսկ նորաստեղծ շղթան սինթեզ-փում է 5'-3' ուղղությամբ: Եթե պրայմերի դերում հանդես է գալիս ՈՒՆԹ, ապա նորագոյացած դուստր շղթայի 5' ծայրը ներկայացված է ՈՒՆԹ-ով, իսկ 3' ծայրը՝ ԴՆԹ-ով:



Նկար 25. Պրայմերի միացումը ԴՆԹ-ի մայրական մոլեկուլի ինֆորմացիոն շղթային:

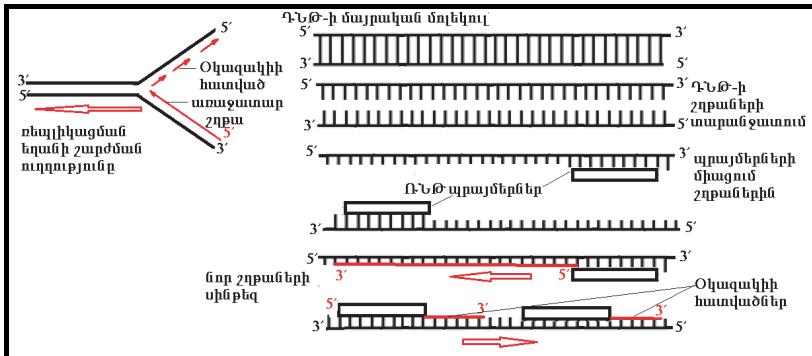
ԴՆԹ-ի մայրական մոլեկուլի շղթաների հեռացումը միմյանցից իրականացնում են **հելիկազները**: Հելիկազների գործունեությունը սկսում է մայրական ԴՆԹ-ի մոլեկուլի **ռեվլիկացման** օրիջին կամ պարզապես **օրիջին** անվանվող կայրերում: Օրիջինների նուկլեոտիդային կազմը կախված է օրգանիզմի տեսակային պատկանելությունից, բայց որպես կանոն դրանք հարուստ են ԱԾ նուկլեոտիդներով: Եթե հելիկազներն ավարտում են մայրական ԴՆԹ-ի շղթաների անջատումը միմյանցից, սկսում է գործել յուրահատուկ ՈՒՆԹ պոլիմերազ, որն անվանվում է **պրայմազ**: Պրայմազի շնորհիվ սինթեզվում է կարճ ՈՒՆԹ-ի հատված, որը հետագայում կատարում է պրայմերի դեր ԴՆԹ-ի դուստր շղթայի սինթեզի ժամանակ: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի այն շրջանը, որտեղ կենտրոնանում են ԴՆԹ-ի սինթեզին մասնակցող սպիտակուցները, կոչվում է **կրկնապատկան եղան կամ ռեպլի-**

կացման եղան: Ուսպիլիկացման գործընթացում եղանին միացած սպիտակուցները լրում են օրիջինի շրջանը: Հելիկազների գործունեության հետևանքով գոյացած ԴՆԹ-ի շդրաների տեղային ապապարուրումն առաջացնում է ուժեղ պտուտային լարվածություն, և ԴՆԹ-ի վարդներաց հատվածները գերպարուրվում են: Այդ գերպարուրները վերացվում են **տոպոիզոմերագ I** ֆերմենտի կողմից: ԴՆԹ պոլիմերազի առաջընթաց շարժման համար անհրաժեշտ է ոչ միայն հելիկազների ապապարուրող գործունեությունը, այլև տոպոիզոմերագ I-ի կողմից կատարվող գերպարույրների վերացումը:

Ուսպիլիկացման եղանի մեխանիզմի կատարյալ աշխատանքին խանգարում է երկու հանգամանք. մայրական ԴՆԹ-ի շդրաներն ունեն հակառակ ուղղվածություն, և ԴՆԹ պոլիմերազը կարող է ավելացնել նույկեռոտիդներ միայն 5'-3' ուղղությամբ: ԴՆԹ-ի դուստր շդրաներից մեկի սինթեզը սկսվում է մեկ պրայմերից և շարունակվում է 5'-3' ուղղությամբ առանց ընդհատումների: Այդ շդրանի կոչվում է **առաջատար շդրա (leader strand)**, և այդ շդրայի սինթեզի ուղղությունը համընկնում է ուսպիլիկացման եղանի շարժման ուղղության հետ: Նորաստեղծ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի երկրորդ շդրայի սինթեզը չի կարող ընթանալ 3'-5' ուղղությամբ: Բջիջը լուծում է այս խնդիրը հետևյալ կերպ: 3'-5' մայրական շդրայի ազատված հատվածի երկայնքով ուսպիլիկացման եղանի գագարից սկսած և դրա շարժմանը հակառակ ուղղությամբ դասավորվում են մի քանի ՌՆԹ պրայմերներ: Պրայմերներից յուրաքանչյուրը աճում է 5'-3' ուղղությամբ՝ առաջացնելով կարծ (մի քանի հարյուր գույզ նույկեռոտիդ) երկարությամբ հատվածներ, որոնք անվանվում են **Օկազակիի ֆրազմենտներ կամ հատվածներ՝ երկույթը հայտնագործող գիտնականի անվամբ:** Յուրաքանչյուր Օկազակիի ֆրազմենտի ՌՆԹ պրայմերը հետացվում է և փոխարինվում հարեւան Օկազակիի ֆրազմենտի սինթեզված ԴՆԹ-ի հատվածով: Հարեւան ֆրազմենտների միացումը իրականացնում է **ԴՆԹ լիգազը (նկար 26):** ԴՆԹ-ի դուստր մոլեկուլի երկրորդ շդրայի սինթեզը քիչ եւ է մնում առաջատար շդրայի սինթեզից, ինչի պատճառով այդ շդրան կոչվում է **հապաղող (lagging strand) շդրա:**

Եռկարիուսների ԴՆԹ-ի կրկնապատկման մեխանիզմը բացահայտվեց կապիկների վիրուսային սարկոմայի հարուցիչ **SV40 վիրու-**

սի օղակածև ԴՆԹ-ի կրկնապատկման ուսումնասիրության շնորհիվ: Վիրուսի ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը կատարվում է տեր-բջջում և գրեթե ամբողջությամբ կախված է տեր-բջջի ԴՆԹ-ի կրկնապատկման մեխանիզմի գործունեությունից: Վիրուսային ԴՆԹ-ի կրկնապատկմանը վիրուսի կողմից մասնակցում է միայն մեկ սպիտակուց՝ **մեծ T հակածինը**: Մեծ T հակածնի հեքսամերն օժտված է հելիկազային ակտիվությամբ և կոչվում է **ռեպլիկացման հելիկազ**: Ռեպլիկացման հելիկազը, օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, ապապարուրում է մայրական ԴՆԹ-ի շղթաները: Այնուհետև առաջատար և հապաղող շղթաների վրա պրայմազները սինթեզում են մոտ 10 նուկլեոտիդից բաղկացած Ո-ՆԹ-ի հատված, և **ԴՆԹ պոլիմերազ α-ն** (Պոլ **α**) երկարացնում է պրայմները ևս 20 նուկլեոտիդով: Առաջացած պրայմները ներկայացնում է Ո-ՆԹ-ի և Դ-ՆԹ-ի հիբրիդային մոլեկուլ: Պրայմների հետագա երկարացումը և Դ-ՆԹ-ի համապատասխան դրույթը շղթայի սինթեզն իրականացնում են **ԴՆԹ պոլիմերազ δ-ն** և **ԴՆԹ պոլիմերազ ε-ը** (Պոլ **δ** և Պոլ **ε**): Պոլ **δ**-ը կատարում է հապաղող, իսկ Պոլ **ε-ն**՝ առաջատար շղթաների սինթեզը: Պոլ **δ-ն** և Պոլ **ε-ը** միանում են **ռեպլիկացման** գործոնին (**Rfc- replication factor**) և PCNA-ին (**proliferating cell nuclear antigen**-բազմացող բջջի կորիզային հակածին)՝ կազմելով համալիր, որն անմիջապես պրայմների սինթեզից հետո դուրս է մղում պրայմազ-Պոլ **α** համալիրը և զրադեցնում է դրա տեղը: PCNA-ն հոմոտրիմեր է՝ կազմված է երեք նույնատիպ միավորներից, որոնք միացած են այնպես, որ կենտրոնում ձևավորվում է անցույթի: Այդ անցույղով ձգվում են նորաստեղծ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնակի շղթաները:

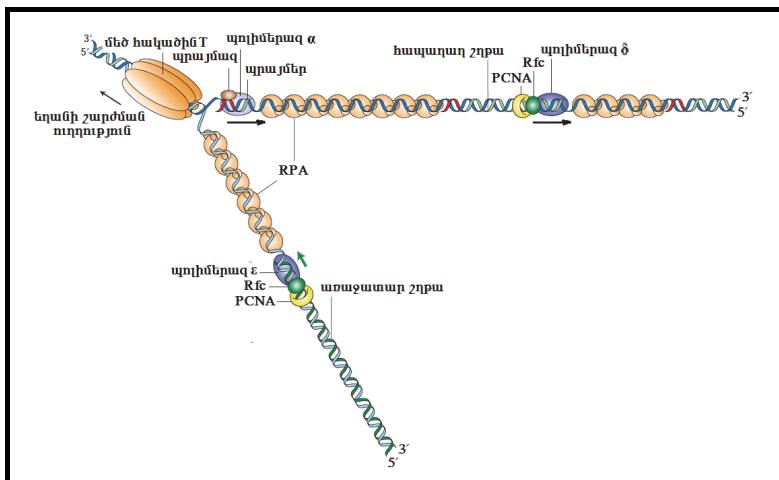


Նկար 26. Ուսպիկացման եղանի շարժման ուղղությունը և
դրաստր շրաների առաջացումը:

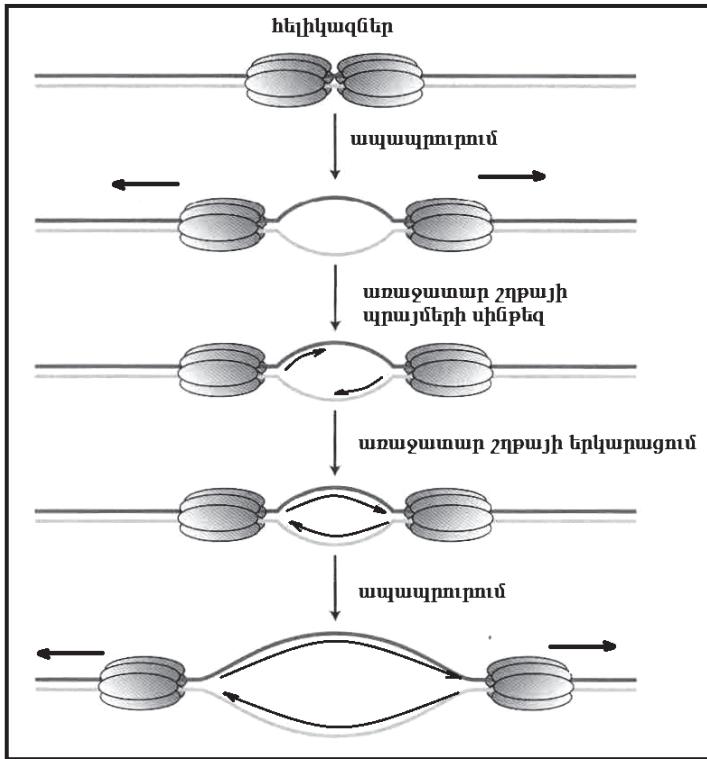
PCNA-ն, միավորելով Rfc-Պոլ Ծ և Rfc-Պոլ Ը, համալիրները քույլ չի տալիս դրանց պոկվել ուսպիկացման եղանից և այդ պատճառով անվանվում է **սահրիփական (sliding clamp)**: Rfc-ն անվանվում է **փականի տեղադրիչ (clamp loader)**, և վերջինիս դերն այն է, որ PCNA-ի անցույղն պահում է բաց վիճակում, որպեսզի դրա միջով անցնի Պոլ Ծ-ի կողմից սինթեզված կարծ ԴՆԹ-հատվածը: Մայրական ԴՆԹ-ի շրաների բաժանումից հետո յուրաքանչյուր շրային միանում են **ուսպիկացման սպիտակուց A-ի (replication protein A-RPA)** բազմաթիվ մոլեկուլներ, ինչի շնորհիվ առանձնացված շրաները պահպանում են ԴՆԹ-ի սինթեզի համար անհրաժեշտ կոնֆորմացիան: RPA սպիտակուցները դուրս են մղվում մայրական ԴՆԹ-ի շրայով առաջ սահող ԴՆԹ պրլիմերազների մոլեկուլներով (Պոլ Ծ, Պոլ Ծ-ն և Պոլ Ը-ն): Տոպոիզոմերազը կապվում է մայրական ԴՆԹ-ին ուսպիկացման հելիկազից առաջ, այսինքն՝ հակածին T-ից դեպի ձախ և աջ (նկար 27): Օկազակիի ֆրագմենտների 5' ծայրի նուկլեոտիդները հեռացվում են ոիրոնուկլեազներ H-ի և FEN I-ի կողմից, և Պոլ Ծ-ն դրանց փոխարինում է դեգօրսիդիրոնուկլեոտիդներով հաջորդ Օկազակիի ֆրագմենտին հասնելուն պես: Օկազակիի ֆրագմենտները միմյանց միացվում են ԴՆԹ լիգազով սովորական 5'-3' ֆոսֆոլիերերային կապի միջոցով:

ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը սկսվում է օրիջինի կայրում և ընթանում է երկու ուղղություններով (դեպի աջ և ձախ)՝ առաջացնելով երկու ռեպլիկացման եղան (նկար 28): Ի տարբերություն SV40-ի էուկարիոտների քրոմոսոմային ԴՆԹ-ն ունի մի քանի օրիջիններ, որոնք գտնվում են տասնյակ հազարավոր զույգ նուկլեոտիդների հեռավորության վրա: Էուկարիոտների օրիջիններին ճանաչում է վեց միավորից կազմված **ORC (origin recognition complex)** սպիտակուցը: Այն կապվում է և օրիջինների շուրջը հավաքագրում ռեպլիկացման հելիկազները:

Էուկարիոտների մոտ հելիկազները կազմված են MCM սպիտակուցներից (մոլեկուլը բաղկացած է 6 միավորներից-հեքսամեր է): Էուկարիոտների ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ընթացքը նույնն է, ինչ վերը նկարագրված SV40-ի մոտ: **MCM սպիտակուցների հելիկազային ակտիվությունը վերահսկվում է բջջային բոլորաշրջանի S-փուլի ցիկլին-կախյալ CDK կինազների կողմից:**



Նկար 27. SV 40 վիրուսի ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումը: Էուկարիոտների մոտ մեծ Տ հակածինի դերը կատարում են MCM սպիտակուցները
[Lodish H. et al, 7th ed.]:



Նկար 28. Ռեկոմինդան եղանների շարժումը հակառակ ուղղություններով: Օրիգինալ միանում են հակածին T-ի երկու մոլեկուլներ, որոնք առաջացնում են հակառակ ուղղություններով շարժվող երկու ռեկոմինդան եղաններ:

Հայտնի ԴՆԹ պոլիմերազները երկարացնում են ԴՆԹ-ի շղթաները 3' ծայրից, և բոլորի գործունեության համար անհրաժեշտ են պրայմերներ: Եթե ռեկոմինդան եղանը հասնում է գծային քրոմոսմի վերջնամասին, առաջատար շղթայի սինթեզը շարունակվում է մինչև ԴՆԹ-ի մատրիցային շղթայի ծայրը, իսկ հապաղող շղթայի սինթեզն ավելի վաղ է ավարտվում, քանի որ ծնողական շղթայի ծայրում գտնվող Օկազակիի ֆրագմենտի պրայմերը չի կարող երկարացվել: Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի յուրաքանչյուր ռեկոմինդանից հետո դուստր ԴՆԹ-ի շղթան պետք է կարճանար հապաղող շղթայի սինթեզի ավելի վաղ ավարտի պատճառով: Կենդանի բջիջներում դա

տեղի չի ունենում, քանի որ գործում է հասուկ մեխանիզմ, որի գործունեությունն ուղղված է քրոմոսոմների երկարության պահպանմանը: Մեխանիզմի գործունեության հիմքում ընկած է քրոմոսոմների ծայրային շրջանների կառուցվածքը, որոնք կոչվում են **թելոմերներ**: Յուրաքանչյուր քրոմոսոմը կազմող ԴՆԹ-ների շղթաների 3' ծայրում կենտրոնացած են գուանինով հարուստ օլիգոնուկլեոտիդային հատվածներ: Մարդու և ողնաշարավորների ճնշող մեծամասնության մոտ այդ կրկնվող հատվածներն ունեն հետևյալ կազմը՝ ԹԹԱԳ-Գ-Գ: Այս հաջորդականությամբ հատվածները խմորասնկերի և նախակենդանիների քրոմոսոմների ծայրերում կրկնվում են հարյուրավոր անգամ, իսկ ողնաշարավորների մոտ՝ մի քանի հազար անգամ: Այսպիսով՝ քրոնոսոմների ծայրային հատվածները՝ թելոմերները, ունեն հասուկ կառուցվածք: Թելոմերներում ԴՆԹ-ի շղթայի 3' գուանինով հարուստ ծայրը մոտ 12-16 նուկլեոտիդի չափով ավելի երկար է կոմպլեմենտար շղթայի ցիտոզինով հարուստ 5' ծայրից: Թելոմերներին միացած են հասուկ սպիտակուցներ, որոնք պաշտպանում են շղթաներն էկզոնուկլեազների քայլքայիշ ազդեցությունից և կապում են քրոմոսոմները քջակորիզային հատուկ դռմենների հետ: Թելոմերների կարճացումն արգելակվում է **թելոմերազի կամ թելոմերային ծայրային տրանսֆերազի** գործունեության շնորհիվ: Թելոմերազը ներկայացնում է հակառակ տրանսկրիպտազային ակտիվությամբ օժտված սպիտակուց-ՌՆԹ համալիր: Համալիրի կազմի մեջ մտնող ՌՆԹ-ի մոլեկուլը մատրից է, որի վրա հակառակ տրանսկրիպցիայի սկզբունքով սինթեզվում է դեօրոսինիբոնուկլեոտիդային շղթա, և թելոմերազի կողմից սինթեզված ԴՆԹ-ի շղթան լրացնում է մայրական ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումից հետո դուստր ԴՆԹ-ի կարճացած ծայրային հատվածը: Թելոմերազներ կողավորող գեններն ակտիվ են բնային քջիշներում և ինակտիվանում են քջիշների մասնագիտական զարգացման ընթացքում: Մասնագիտացած քջիշների հազվադեպ ռեպլիկացումների ժամանակ թելոմերազները կրկին ակտիվանում են: Թելոմերազային գենները լիովին վերականգնում են սկզբնական ակտիվությունը չարորակ վերասերում ապրած քջիշներում՝ ապահովելով վերջիններիս արագ քազմացումը:

ԳԼՈՒԽ 5

ԴՆԹ-ի վերականգնում կամ ռեպարացում

Բազմաթիվ քիմիական միացություններ, ուլտրամանուշակագույն և իոնիզացնող ճառագայթներ, մեթարուիզմի որոշ արգասիքներ կարող են ճեղքավորել ԴՆԹ-ի մոլեկուլում գործող քիմիական կապերը: Մեկ օրում ճարդու օրգանիզմի յուրաքանչյուր բջջում ԴՆԹ-ն ենթարկվում է $10^4\text{-}10^6$ փոփոխությունների: Եթե անգամ բացառվեն վնասաբեր քիմիական ներգործությունները, ԴՆԹ-ի կառուցվածքի որոշ առանձնահատկություններ ինքնին ապակայունացնում են մոլեկուլը: Օրինակ՝ պորինային հիմքերի կապը դեօքսինիբոզի հետ հակված է հիդրոլիզի, ինչի հետևանքով ֆիզիոլոգիական պայմաններում շաքարի մնացորդը կարող է կորցնել ազոտական հիմքը: Կորչում է ժառանգական տեղեկատվությունը, ինչը ռեպիլիացումից հետո դրսերպում է որպես մուտացիա: **ԴՆԹ-ի փոփոխությունների մեջ զգալի թիվ են կազմում կետային մուտացիաները,** որոնք ներկայացնում են մեկ նուկլեոտիդի փոփոխություն:

Բազմաթիվ ներքջային ռեակցիաներ (էլեկտրոնների տեղափոխությունները էլեկտրոն-փոխադրող շղթայով միտոքոնդրիումներում, լիալինների օքսիդացումը պերօքսիտներում) ընթանում են հիդրօսիլ ռադիկալների կամ սուպերօքսիդի (O_2) առաջացմամբ: **Այս ռադիկալները վճարում են ԴՆԹ-ն:** Մուտացիայի հետևանքով կարող է առաջանալ դադարի կորոն, կամ սպիտակուցի տրանսլյացիայի ժամանակ կարող է շեղվել ընթերցման շրջանակը: Ամենահաճախ հանդիպող կետային մուտացիան դեղամինացումն է, ինչի հետևանքով ցիտոզինը վեր է ածվում ուրացիլի, իսկ 5-մեթիլ ցիտոզինը՝ թիմինի: Եթե այդ փոփոխությունները չեն վերականգնվում, ապա ԴՆԹ-ի ռեպիլիացումից հետո դառնում են կայուն ժառանգույթ փոփոխություններ: Մուտացիաներ կարող են ծագել նաև ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնապատկնան ընթացքում, երբ ԴՆԹ պոլիմերազը նորաստեղծ ԴՆԹ-ի շղթայի մեջ «սխալմամբ» մտցնում է մայրական շղթայի նուկլեոտիդին ոչ կոմպլեմենտար նուկլեոտիդ: Նման «սխալմերի» կուտակումը կարող է էականորեն խեղաքյուրել ժառանգական տե-

դեկատվությունը՝ հանգեցնելով քջային ֆունկցիաների լիակատար խախտմանը:

ԴՆԹ-ում տեղ գտած մուտացիաները չեզոքացնելու համար Եվոլյուցիայի ընթացքում զարգացել են հասուկ գործընթացներ, որոնք կոչվում են **ԴՆԹ-ի վերականգնման մեխանիզմներ** կամ **ԴՆԹ-ի ռեպարացում**: Բակտերիաների և էուկարիոտների ԴՆԹ-ների վնասվածքների վերականգնման մեխանիզմներում գործում են գրեթե նույն սպիտակուցները, ինչը վկայում է դրանց վաղ Եվոլյուցիոն ծագման մասին: ԴՆԹ-ի վերականգնման բոլոր մեխանիզմների գործունեությունը հենցում է մեկ ընդհանուր սկզբունքի վրա. Վնասվածք պարունակող շղթայի հատվածը կտրվում և հեռացվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլից, առաջացած բացը լրացվում է ԴՆԹ պոլիմերացով, իսկ լիգազը միացնում է սինթեզված կոմպլեմենտար շղթան կտրված շղթայի ծայրին:

ԴՆԹ-ի տարարնույթ վնասվածքների վերականգնման համար Եվոլյուցիայի ընթացքում առաջացել են զանազան մեխանիզմներ, որոնք ուղղված են վերականգնելու մոլեկուլի ելակետային կառուցվածքը: Այդ մեխանիզմներից մեկը, որը կոչված է վերականգնելու ԴՆԹ-ի երկշղթա խզումները, մեծ դեր է կատարում սեռական քիշներում գեների նոր համադրությունների առաջացման ժամանակ, երբ փոխանակվում են հայրական և մայրական գծերով ժառանգված հոմոլոզ քրոմոսոմների համապատասխան հատվածները (քրոսինգվեր): ԴՆԹ-ի վերականգնման կամ ռեպարացման մեխանիզմների անբավարար գործունեության հետևանքով գենոմում կուտակվում են ԴՆԹ-ի այնպիսի վնասվածքներ, որոնք կարող են շոշափել քիշների բաժանումն իրականացնող գեների գործունեությունը: Նման դեպքերում խախտվում են միտոզի նորմալ ընթացքն ու կարգավորումը, և քջային բաժանումների անվերահսկելի ակտիվացումը դառնում է չարորակ նորագոյացումների պատճառ:

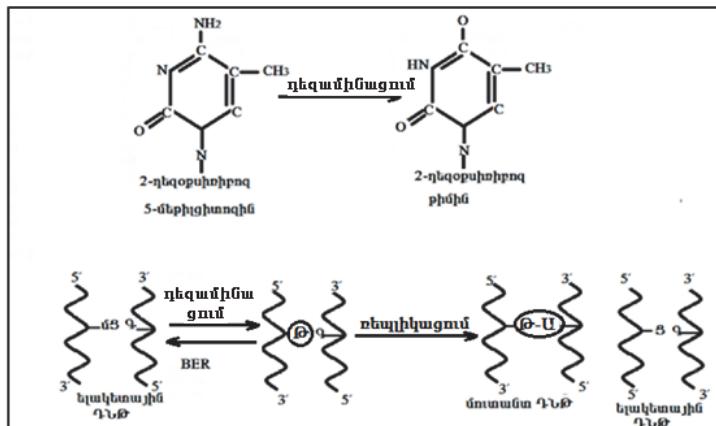
ԴՆԹ-ի վնասվածքների դեմ պայքարի առաջին գծում ԴՆԹ պոլիմերազներն են: Թեև E.coli-ի ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ժամանակ 10000 նուկլեոտիդներից մեկը ($1/10^4$) նորաստեղծ շղթայում չի համապատասխանում մայրական ԴՆԹ-ի ընօրինակին, մուտացիաների հաշվարկը ցույց է տալիս, որ նորաստեղծ ԴՆԹ-ում «սխալները»

շատ ավելի հազվադեպ են. հանդիպում են $1/10^9$ հաճախականությամբ: Նման ճշգրտությունը բավարարիաների և էռլկարիոտների ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ժամանակ բացատրվում է նրանով, որ ԴՆԹ-պոլիմերազները **δ-ն ու ε-ն** օժտված են նաև 3'-5' էկզոնուկլեազային ակտիվությամբ: Եթե «սխալ» նուկլեոտիդը մտնում է նոր սինթեզված ԴՆԹ-ի շղթայի մեջ, այն չի կարողանում գուգավորվել մայրական շղթայի նուկլեոտիդի հետ: Դրա հետևանքով պոլիմերազը կանգ է առնում, նորաստեղծ շղթայի 3' ծայրը տեղափոխվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի էկզոնուկլեոլիտիկ ենթակայք, ուր «սխալ» նուկլեոտիդը հեռացվում է: ԴՆԹ-ի շղթայի 3' ծայրը նորից տեղափոխվում է պոլիմերացման կայք, և դրան միացվում է ճիշտ նուկլեոտիդը:

Բազակայող ազոտական հիմքերի վերականգնման մեխանիզմ
(base excision repair-BER): Մարդու օրգանիզմում ամենատարածված կետային մուտացիան ցիտոզինի փոխարինումն է թիմինով, ինչը պայմանավորված է 5-մերիլ ցիտոզինի դեօամինացմամբ: BER-ի մեխանիզմի գործունեության կրիտիկական պահը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կազմում գտնվող բնականոն թիմինների հատակ տարանցատումն է այն թիմիններից, որոնք առաջացել են կետային մուտացիայի արդյունքում: Դրա հետ կապված՝ ծագում է ևս մեկ հարց՝ ինչպես տարբերակել ԴՆԹ-ի նորմալ և վնասված շղթաները: Այս հարցի պատասխանն այն է, որ 5-մերիլ ցիտոզինի դեօամինացման հետևանքով առաջացած թիմինները մնում են զուգավորված ԴՆԹ-ի նորմալ շղթայի գուանինների հետ՝ առաջացնելով արտառոց գուանին-թիմին գույգեր (նորմալ գուանին-ցիտոզին գույգերի փոխարեն): Անբնական գույգերը դառնում են ճանաչելի BER մեխանիզմի համար, որի գործունեության շնորհիվ զուգավորման կայքերից հեռացվում է թիմինը և փոխարինվում ցիտոզինով: BER մեխանիզմը գործում է հետևյալ կերպ: Գուանին-թիմին ոչ կոմպլեմենտար գույգերը ճանաչվում են ԴՆԹ գլիկոզիլաց ֆերմենտով: Ֆերմենտը այնպես է շրջում թիմինը, որ այն հայտնվում է պարույրի արտաքին մակերևույթի վրա (հիշենք, որ ազոտական հիմքերը գտնվում են ԴՆԹ-ի երկու շղթաների միջև ընկած տարածությունում): Այնուհետև ԴՆԹ գլիկոզիլազը ճեղքում է ազոտական հիմքը ԴՆԹ-ի շաքարաֆոսֆատային հենքին միացնող ֆոսֆոդեթերային կապը, և թիմինը հեռացվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլից:

Դրանից հետո խաղի մեջ է մտնում **ապորինային էնդոնուկլեազը (AP)**, որը ճեղքում է ԴՆԹ-ի շղթան այն կետում, որտեղ բացակայում է պորինային հիմքը, և հիմքից գրկված դեօքսիոֆոնգ-ֆոսֆատը հեռացվում է: Բացը ԴՆԹ-ի մոլեկուլում լրացնում է **ԴՆԹ պոլիմերաց թ-ն**, որը, ընթերցելով ԴՆԹ-ի կոմպլեմենտար շղթան, գուանինի դիմաց դասավորում է ցիտոզինը, իսկ **AP լիզազը** կարում է ծայրերը: Նման վերականգնումը պետք է տեղի ունենա նախքան ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը (ռեպլիկացումը), քանի որ կրկնապատկումից հետո անհնար է տարբերակել և փոխել մուտացիայի ենթարկված հիմքը, և մուտացիան դառնում է կայուն ժառանգվող:

Սարդու օրգանիզմում գործում են **բազմաթիվ գլիկոզիլազներ**, որոնցից յուրաքանչյուրը ճանաչում է **հիմքերի առանձին քիմիական ձևափոխությունները**: Օրինակ՝ գլիկոզիլազներից մեկը հեռացնում է 8-օքսիգուանինը՝ փոխարինելով այն գուանինով, մյուս գլիկոզիլազներն ակտիվորեն մասնակցում են **ԴՆԹ-ալկիլացնող քիմիական նյութերի** ազդեցությունից ձևափոխված հիմքերի վերականգնման գործընթացին:



Նկար 29. BER մեխանիզմի գործունեության գծապատկերը: Օղակներում ներառված են փոխված ազոտական հիմքերը:

Ծաքարային մնացորդներն աղենինին և գուանինին միացնող գլիկոզիլային կապը կարող է ինքնարուխ քայլայվել, ինչի հետևան-

քով հիմքերը հեռանում են ԴՆԹ-ի շղթայից: Նման փոփոխությունները նույնապես վերականգնվում են բացակայող ազոտական հիմքերի վերականգնման մեխանիզմով (BER):

ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ժամանակ ԴՆԹ պոլիմերազների սխալ գործունեության արդյունքում նորաստեղծ ԴՆԹ-ի մոլեկուլում կարող են տեղ գտնել ոչ կոմպլեմենտար զուգավորված հիմքեր, կարող են ներառվել ավելորդ նուկլեոտիդներ (ինզերցիա), և հակառակը՝ նուկլեոտիդները կարող են սղվել: Թվարկած փոփոխությունների վերականգնումը քիչներում ընթանում է **անհամապատասխանությունների վերականգնման մեխանիզմով (mismatch excision repair mechanism-MER)**: Ինչպես և BER մեխանիզմի գործունեության ժամանակ, թվարկած դեպքերում կրկին ծագում է ԴՆԹ-ի նորմալ և մուտացիայի ենթարկված շղթաների տարրերակման խնդիրը: Առաջմ ստույգ բացատրությունները բացակայում են, սակայն ենթադրվում է, որ անհամապատասխանությունները ԴՆԹ-ի վնասված հատվածներում ճանաչվում և հեռացվում են հատուկ MSH2 և MLH1 սպիտակուցներով: **Ի հակադրություն BER-ի՝ MER-ը գործում է միայն ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո:** Այս սպիտակուցները կողավորող գեների մուտացիան հաճագենում է ուռուցքագոյացման և տիպիկ է հաստ աղիների չարորակ ուռուցքների քիչների համար:

Հաճախ ԴՆԹ-ի ազոտական հիմքերը ենթարկվում են քիչիական այնպիսի ձևափոխությունների, որոնց հետևանքով առաջացած ածանցյալներն ընդունակ են ԴՆԹ-ի առանձին հատվածներում առաջացնելու մոլեկուլի կոնֆորմացիայի փոփոխություններ: Նման վնասվածքների վերականգնումն ընթանում է **սովոծ նուկլեոտիդների վերականգնման մեխանիզմով (nucleotide excision repair-NER)**: NER մեխանիզմի շրջանակում գործող սպիտակուցների մի մասը օժտված է ԴՆԹ-ի երկպարույրի երկայնքով սահելու ունակությամբ: Հանդիպելով ԴՆԹ-ի անսովոր կոնֆորմացիոն ձևի (խաչաձև կառուցվածք, հանգույց, ծամկալ)՝ այդ սկանավորող սպիտակուցները վնասված կայքում հավաքագրում են հատվածի վերականգնումն ապահովող սպիտակուցներ, որոնք անմիջականորեն իրականացնում են ռեպարացումը: Հայտնի է, որ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթահարման հետևանքով առաջացած քիմին-քիմինային դիմերները հեռացվում են NER մեխանիզմով: Տրանսկրիպցիայի գործոն TFIID-ի հինգ

միավորներից երկուսը մասնակցում են NER-ի գործունեությանը: NER-ը առավել արդյունավետ է գործում ԴՆԹ-ի այն հատվածներում, որոնցում տրանսկրիպցիա է ընթանում, ինչը բացատրվում է տրանսկրիպցիայի նախամեկնարկային համալիրում TFIH-ի առկայությամբ: Այսպիսով՝ բնությունը կարծես ջանում է առաջնահերք վերականգնել ԴՆԹ-ի այն վճարվածքները, որոնք անմիջականորեն կարող են ազդել տրանսկրիպցիայի վրա: Եթե ՈՆԹ պոլիմերազը հանդիպում է ԴՆԹ-ի վճարված հատվածին, նրան միանում է CSB սպիտակուցը, որը միջնորդում է TFIH միացումը: TFIH-ը, օգտագործելով ԱԵՖ-ի ներգիան, ապապարուրում է ԴՆԹ-ի մոտ 25 զն երկարություն ունեցող հատված: Այնուհետև համալիրին են միանում XP-G և RPA սպիտակուցները, որոնք, օժտված լինելով էնդոնուկեազային ակտիվությամբ, կտրում են ԴՆԹ-ի շղթան վճարված կետից 25-32 զն հեռավորության վրա: Զևափոխված նուկլեոտիդներ ընդգրկող ԴՆԹ-ի հատվածը հեռացվում է: Կտրված հատվածի փոխարեն ԴՆԹ-պոլիմերազը սինթեզում է նոր հատված, որը կոնալեմենտար է ԴՆԹ-ի շճանակած շղթայի համապատասխան հատվածին: Նորոգված շղթայի կտրված ծայրերը միացնում են ԴՆԹ լիգազը:

Իննիզացնող ճառագայթահարման և որոշ հակաքաղյեղային դեղերի ներգործության հետևանքով ԴՆԹ-ի մոլեկուլում կարող են առաջանալ երկշղթա խզումներ: Այսպիսի վճարվածքների հետևանքները շատ ավելի վճարվեր են, քանի որ պատահական վերամիավորումների հետևանքով դրանք կարող են առաջացնել տակավին նոր գենային համադրություններ և լիովին աղավաղել ժառանգական տեղեկատվությունը: Կրկնակի խզումների վերականգնումն իրականացնում են երկու՝ հոմոլոգ (homologous recombination HR) և ոչ հոմոլոգ (nonhomologous recombination NHR) վերադասավորումների մեխանիզմները: Ըստ էության, ԴՆԹ-ի վճարված հատվածները կարող են վերականգնվել նրա շնորհիվ, որ ստեղծվում է հոմոլոգ քրոմոսմի համապատասխան հատվածի պատճեն, որը փոխարինում է ԴՆԹ-ի վճարված հատվածին: Կարող է տեղի ունենալ նաև ԴՆԹ-ի հոմոլոգ շղթաների հատվածների փոխանակում այնպես, ինչպես մեյոպում քրոմոսմների քրոսինգովերի ժամանակ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Barnes D. E., Lindahl T. (2004). Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Ann. Rev. Genet.* 38:445-476.
2. Bell C. E. (2005). Structure and mechanism of Escherichia coli RecA ATPase. *Mol. Microbiol.* 58:358-366.
3. Gai D., Chang Y. P., Chen X. (2010). Origin DNA melting and unwinding in DNA replication. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 20(6):756-762.
4. Haber J. E. (2000). Partners and pathways repairing a doublestrand break. *Trends Genet.* 16:259-264.
5. Jiricny J. (2006). The multifaceted mismatch-repair system. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7:335-346.
6. Langston L. D., O'Donnell M. (2006). DNA replication: keep moving and don't mind the gap. *Mol. Cells* 23:155-160.
7. Langston L. D., Indiani C., O'Donnell M. (2009). Whither the replisome: emerging perspectives on the dynamic nature of the DNA replication machinery. *Cell Cycle* 8:2686-2691.
8. Mirchandani K. D., D'Andrea A. D. (2006). The Fanconi anemia/BRCA pathway: a coordinator of cross-link repair. *Exp. Cell Res.* 312:2647-2653.
9. Mitchell J. R., Hoeijmakers J. H., Niedernhofer L. J. (2003). Divide and conquer: nucleotide excision repair battles cancer and aging. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15:232-240.
10. Schoeffler A. J., Berger M. (2008). DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology. *Quart. Rev. Biophys.* 41:41-101.
11. Stillman B. (2008). DNA polymerases at the replication fork in eukaryotes. *Cell* 30:259-260.
12. Yoshida K., Miki Y. (2004). Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci.* 95:866-871.

ԳԼՈՒԽ 6

ՌՆԹ-ԱԵՐԻ ՍԻՆՔԵԿ և ՀԱՍՏՈՆԱցում

Օրգանիզմի գեների ամբողջականությունը կոչվում է գենում: ՌՆԹ-ի այն հատվածը, որը գաղտնագրում է պոլիաստիլային շղթա կամ 3 տիպի հիմնական ՌՆԹ-ԱԵՐԻ (փոխադրիչ, ինֆորմացիոն, ռիբոսումային) որևէ մեկի մոլեկուլը կոչվում է գեն: Գենի կազմի մեջ մտնող այն նուկլեոտիդային հաջորդականությունները, որոնք գաղտնագրում են ամինաթրուներ կամ հիմնական տիպի ՌՆԹ-ԱԵՐ, կոչվում են կողավորող (գաղտնագրող) շրջաններ: Բացի կողավորող շրջաններից՝ գենը պարունակում է այնայսի նուկլեոտիդային հաջորդականություններ, որոնք անհրաժեշտ են ոչ հիմնական, տարրեր տիպի ՌՆԹ-ԱԵՐի սինթեզի համար (այդուսակ 1): Գեների այն շրջանները, որոնք կարգավորում են տվյալ գենի տրանսկրիպցիայի հզորությունը, կարող են գտնվել կողավորող շրջանից 50Կր (50 000 զն) հեռավորության վրա: Գեների այդ շրջանները կոչվում են էնհանսերներ: Գենի կազմի մեջ են մտնում նաև պրոմոտոր կոչվող հատվածները, 3՝ ծայրում ճեղքում-պոլիադենիլացումն ապահովող նուկլեոտիդային հաջորդականությունները և նախա-ՌՆԹ-ԱԵՐի սպլայսինզօր պայմանավորող սալյասինզօր կայքերը:

Բակտերիաների ի-ՌՆԹ-ԱԵՐի մոլեկուլները կողավորում են կենսաքիմիական փոխակերպումների մեկ շղթայում ընդգրկված սպիտակուցներ (տրիպտֆանի օպերոն, լակ-օպերոն, որոնք կարգավորում են համապատասխանաբար տրիպտոֆան ամինաթրվի սինթեզը կամ լակտոզի ճեղքավորումը): Նման ի-ՌՆԹ-ԱԵՐն անվանվում են պոլիցիստրոնիկ: Ցիստրոնը գենետիկական միավոր է, որը կողավորում է մեկ սպիտակուց: Էռլաքարիուսների ի-ՌՆԹ-ԱԵՐը մոնոցիաստրոնիկ են: Բակտերիաների և էռլաքարիուսների ի-ՌՆԹ-ԱԵՐի վերը նշված տարրերության հետևանքով բակտերիաների և էռլաքարիուսների տրանսլյացիայի գործընթացներն ունեն արտահայտված տարրերություններ:

1. Բակտերիաների մոտ ոիբոսում և ի-ՌՆԹ-ի միացման կայքը գտնվում է յուրաքանչյուր սպիտակուց-կողավորող շրջանի

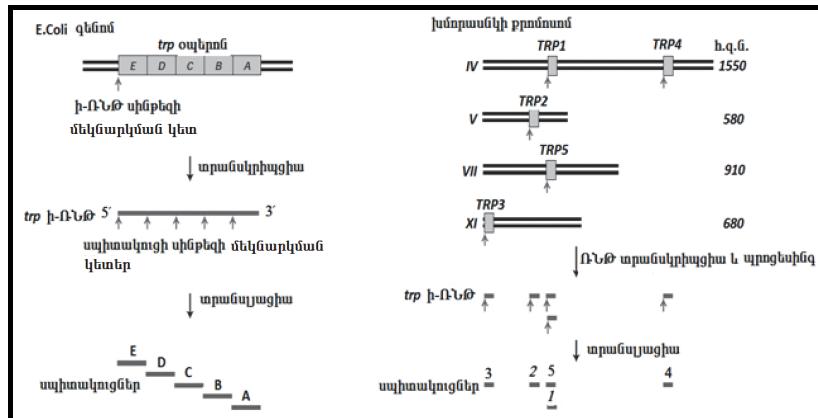
կամ ցիստրոնի մեկնարկի կայքի հարևանությամբ: Տրանզ-
յացիան կարող է սկսել ցանկացած միացման կայքից՝ առա-
ջացնելով մի քանի տարբեր սպիտակուցներ միաժամանակ
(նկար 30):

2. Եռկարիոտների մոտ ի-ՈՆԹ-ի միացումը ոփոստմին իրա-
կանանում է միայն մոլեկուլի 5' կեպավորված ծայրի միջո-
ցով, և տրանսլյացիան մեկնարկում է մոտակա ԱՌԻԳ եռյա-
կից: Այսպիսով՝ ի հակադրություն պրոկարիոտների տրանզ-
յացիայի՝ Եռկարիոտների տրանսլյացիան սկսում է եզակի
մեկնարկային կայքից:

Բազմաթիվ Եռկարիոտների գեների սպիտակուց կոդավորող
հատվածները կոչվում են **Էկզոններ**: Էկզոնների միջև գտնվում են
հատվածներ, որոնք ամիսաբրուներ չեն կոդավորում: Այդ հատված-
ները կոչվում են **ինտրոններ**: Ի-ՈՆԹ-ի սինթեզից հետո մոլեկուլի
հասունացման (պրոցեսինզի) փուլում ինտրոններին համապատաս-
խանող հատվածները մոլեկուլից հեռացվում են: Ի-ՈՆԹ-ների պրո-
ցեսինզն ընթանում է քջակորիգում: Ինտրոնների երկարությունը
կարող է մի քանի անգամ գերազանցել էկզոնների երկարությունը: Մարդու
մոտ ինտրոնի միջին երկարությունը հասնում է 3,3 Կր (3300
զն), իսկ ամենամեծ ինտրոնը հայտնաբերված է կմախքային մկան-
ներում գտնվող տիտին սպիտակուցը կոդավորող **սինթի՛՛-գենում**: Տի-
տինի ինտրոնի երկարությունը հասնում է 17 106 զն (կամ գրեթե 17
Կր) այն պարագայում, որ էկզոնների երկարությունները միջինում
չեն գերազանցում 50-200 զն: Սիջին չափի սպիտակուց կոդավորող
գենի երկարությունը մարդու մոտ կազմում է 50000 զն, բայց այդ հա-
ջորդականությունների 95 %-ը կազմում են ինտրոնները և 5' և 3' ծայ-
րային «չկոդավորող» հաջորդականությունները: **Բակտերիաների և**
միարժիք Եռկարիոտների գեների ինտրոններ չեն պարունակում:

Բարձրակարգ օրգանիզմների բազմաթիվ խոշոր սպիտակուց-
ներին հատուի է որոշակի կառուցվածքային դոմենների կրկնություն: Այդպիսի սպիտակուցներ կոդավորող գեներն ունեն նույնատիպ
կրկնվող էկզոններ, որոնք տարբեր սպիտակուցներին համապա-
տասխանող գեներում միմյանցից անջատված են տարբեր երկա-
րություն ունեցող ինտրոններով: Նման գեների տիպիկ ներկայացու-

ցիշ է միջբջջային մատրիքսի (հենքի) ֆիբրոնեկտին սպիտակուցը կողավորող գենը: Բարձրակարգ էռլարինուսների մոտ սպիտակուց կողավորող էկզոնները կարծես թե շրջապատված են անգործունյա ԴՆԹ-ով: ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականության վերլուծությունը (սիկլենսավորում) բացահայտեց, որ նոյն սպիտակուցը կողավորող էկզոնների նուկլեոտիդային հաջորդականությունը հարաբերականորեն կայուն է տարբեր օրգանիզմների մոտ: Ի հակադրություն դրա՝ ինտրոնների կազմը խիստ փոփոխական է, ընդհուպ մինչ այս կամ այն ինտրոնի բացակայությունը: Դա ցույց է տալիս, որ ինտրոնների փունկցիոնալ նշանակությունը մեծ չէ: Այնուամենայիվ, ինտրոնները գգալի դեր են կատարում էվոլյուցիայում, քանի որ ստեղծում են բազմադուն և դոմենների նոր համադրություններով սպիտակուցների առաջացման հնարավորություններ: Բացի դրանից՝ աղյուսակ 1-ում նշված փոքր կորիզային, չկողավորող երկար և միկրո-ԴՆԹ-ների մի ստվար խումբ առաջանում է ինտրոններից:

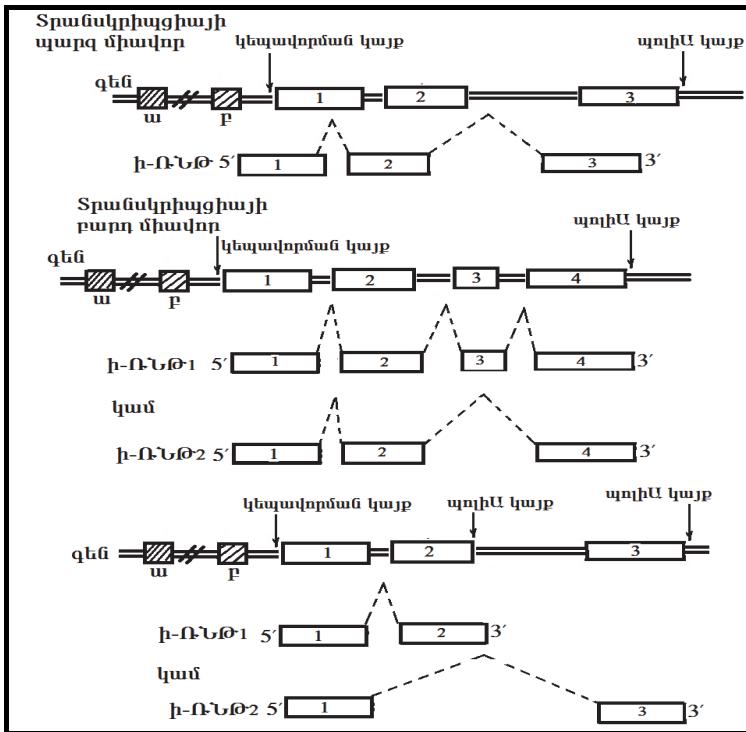


Նկար 30. Տրանսկրիպցիայի և տրանսլյացիայի գործընթացների տարրերությունները պլուզարինուսների և էռլարինուսների մոտ: Խմբանական մոտ տրիպտոֆանի սինթեզն իրականացնող սպիտակուցների գենները գտնվում են տարբեր բրոմոսումներում - IV, V, VII, XI:

Տրանսկրիպցիայի միավորներ: Բակտերիաների օպերոնները կազմված են գեների խմբերից, որոնց տրանսկրիպցիան սկսում է մեկ պրոմոտորից և ավարտվում մեկ տերմինացման կայքով: Օպերոնի տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզում է մեկ պոլիցիստրոն ի-Ը-ՆԹ-ի մոլեկուլ: Դա նշանակում է, որ պրոկարիոտների մոտ «գեն» և «տրանսկրիպցիայի միավոր» հասկացությունները տարբերվում են, քանի որ տրանսկրիպցիայի միավորը կարող է պարունակել օպերոնի կազմի մեջ մտնող մի քանի գեն:

Եռկարիոտների մոտ տրանսկրիպցիայի միավորները լինում են պարզ և բարդ (նկար 31): Տրանսկրիպցիայի պարզ միավորի վրա սինթեզված նախա-ի-Ը-ՆԹ-ն հասունացումից հետո առաջացնում է մեկ տիպի ի-Ը-ՆԹ, որը կողավորում է մեկ սպիտակուց: Ցանկացած մուտացիա, որը տեղի է ունենում էկզոններում, ինտրոններում, տրանսկրիպցիայի կարգավորման կայքերում կամ պրոմոտորում անխոսափելիորեն հանգեցնում է սպիտակուցի փոփոխությանը: Մարդու մոտ տրանսկրիպցիայի պարզ միավորները համեմատաբար հազվադեպ են (թ-գլորինի գեն):

Մարդու գենոմի 90 %-ը կազմում են տրանսկրիպցիայի բարդ միավորները: Դրանցից պատճենված նախա-ի-Ը-ՆԹ-ն կարող է սկիզբ տալ մի քանի տարբեր ի-Ը-ՆԹ-ների այն քանի շնորհիվ, որ այլընտրանքային սպլայսինգից հետո մոլեկուլում կարող են մնալ տարբեր էկզոններ (նկար 31): Այլընտրանքային սպլայսինգի հետևանքով առաջացած ի-Ը-ՆԹ-ների տրանսլյացիայից առաջացած սպիտակուցները կոչվում են սպիտակուցի «իզոն»-ներ:



Նկար 31. Տրանսկրիպցիայի բարդ և պարզ միավորները: Տրանսկրիպցիայի բարդ միավորների այլընտրանքային սպլայսինգի հետևանքները: Ուղղանկյուններով պատկերված են էկզոնները, շեղ գծերով նիշավորված ուղղանկյունները պատկերում են գենի պրոմոտորային շրջանները:

Այլընտրանքային սպլայսինգի հետևանքով առաջացած հասուն ի-ՈՒԹ-ներից յուրաքանչյուրը մնացիստրոն է, քանի որ կողավորում է մեկ պոլիազեպտիդային շղթա: Տարբեր բջջիջներում կամ հյուսվածքներում նույն գենից պատճենված նախա-ի-ՈՒԹ-ի այլընտրանքային սպլայսինգի արդյունքում հաճախ առաջանում են տարբեր տիպի ի-ՈՒԹ-ներ, ինչը և պայմանավորում է տվյալ սպիտակուցի հյուսվածքային առանձնահատկությունները: Օրինակ՝ ֆիբրինելտին (միջջջջային հենքային սպիտակուց) սպիտակուցը կողավորող ի-ՈՒԹ-ները տարբեր են լյարդի և մկանային բջիջների մոտ:

Այդ այլընտրանքային ի-ՌՆԹ-ներից սինթեզված ֆիբրինեկտինի մոլեկուլները տարբերվում են ընդամենը մի դրմենով, որը պայմանավորում է սպիտակուցի միացումը բջջաբաղանքին: Ի-ՌՆԹ-ի այլընտրանքային սպլայսինգի կենսաբանական դերն այն է, որ այդ երևոյթն ապահովում է բարձրակարգ օրգանիզմների սպիտակուցների ահոելի բազմազանությունը գենոմի սահմանափակ ծավալի պարագայում:

Մուտացիան կարող է տեղի է ունենալ տրամսկրիպցիայի կարգավորման կայքում կամ այն էկզոնում, որն ընդհանուր է այլընտրանքային սպլայսինգի առաջացած տարրեր ի-ՌՆԹ-ների համար: Նման մուտացիան կիրարի ի-ՌՆԹ-ների բոլոր տարբերակները, ինտենտար դրանց կողմից կոդափորվող բոլոր սպիտակուցները: Այն դեպքում, եթե մուտացիայի է ենթարկվում այնպիսի էկզոն, որը ներկա է այլընտրանքային սպլայսինգի միայն մեկ վերջնայութում, ապա կիրարի միայն այդ ի-ՌՆԹ-ի կողմից կոդափորվող սպիտակուցը:

Էռլարիուտ օրգանիզմների գենոմի վիրխարի մեծությունն առաջ է քաշում կարեոր հարց. արդյոք գենոմում պարունակվող ԴՆԹ-ի քանակությունը պայմանավորված է գեների մեծ քանակությամբ, որը տասնյակ-հարյուրավոր անգամ գերազանցում է պրոկարիոտների գեների քանակը: Հարցի պատասխանը ուրվագծվեց 60-ականների վերջում, եթե բացահայտվեց, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլում պարունակվում են բազմաթիվ կրկնվող նուկլեոտիդային հաջորդականություններ: Այդ փորձերում ԴՆԹ-ն տրոհում էին փոքր հատվածների, որոնք ենթարկվում էին ջերմային բնափոխման: Ջերմային բնափոխումից հետո ջերմաստիճանի հետագա իջեցման հետևանքով միաշերք հատվածները ռենատուրացվում են (վերականգնվում է հատվածների երկշերք կառուցվածքը): Ունատուրացման արագությունը կախված է նուկլեոտիդային հաջորդականությունների կազմից: Օրինակ՝ դիտարկենք քակտերիայի և որևէ կաթնասունի ԴՆԹ-ները: Քանի որ էռլարիուտների բջիջներում ԴՆԹ-ի պարունակությունը հազարապատիկ գերազանցում է բակտերիաների ԴՆԹ-ի պարունակությունը, նուկլեոտիդների մեկ որոշակի հաջորդականության կոնցենտրացիան կաթնասունի ԴՆԹ-ում հազար անգամ ավելի

փոքր կլինի, քան բակտերիայի ԴՆԹ-ում: Դրանց թիում է, որ ռենատուրացման գործընթացը բակտերիայի ԴՆԹ-ի համար պետք է ընթանա 1000 անգամ ավելի արագ, որովհետև կոմպլեմենտար հաջորդականությունների միավորման հավանականությունն ավելի մեծ է այն միջավայրում, որտեղ դրանց կոնցենտրացիան ավելի մեծ է: Սակայն փորձերի արդյունքները ցույց տվեցին, որ հորթի ուրցագեղձից անջատված ԴՆԹ-ն բաղկացած է 2 տարրեր արագություններով ռենատուրացվող մասերից: Առաջին տիպի ԴՆԹ-ն կազմում է ԴՆԹ-ի պարունակության 40 %-ը և ավելի արագ է ռենատուրացվում, քան բակտերիաների ԴՆԹ-ն: Այս անսպասելի փաստն ուներ մեկ տրամաբանական բացատրություն. ուրցագեղձի ԴՆԹ-ն պարունակում է հատվածներ, որոնցում որոշակի նույլեռտիդային հաջորդականություններ բազմից կրկնվում են: Ուրցագեղձի ԴՆԹ-ի մնացած 60 %-ը շատ ավելի դանդաղ է ռենատուրացվում, քան բակտերիաների ԴՆԹ-ն: Այսպիսով՝ եռկարիուսների ԴՆԹ-ն, ըստ ռենատուրացման կինետիկայի, բաժանվում է երկու տարրեր տիպերի՝ արագ ռենատուրացվող, որը կազմված է կրկնվող նույլեռտիդային հաջորդականություններից, և դանդաղ ռենատուրացվող, որը կազմված է չկրկնվող նույլեռտիդային հաջորդականություններից: Բակտերիաների ԴՆԹ-ն գործնականորեն ամբողջությամբ եզակի (չկրկնվող) հատվածներից է բաղկացած, մինչդեռ բարձրակարգ օրգանիզմներում ԴՆԹ-ի գերակշռող մասը ներկայացված է ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածներով: **ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները բաժանվում են 2 տարրեր տիպերի:** ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները կարող են դասավորված լինել հաջորդաբար մեկը մյուսի հետևից: Նման հատվածները կոչվում են **տանդեմային կրկնվող հատվածներ:** ԴՆԹ-ի մոլեկուլում տանդեմային կրկնվող հատվածները կենտրոնացած են որոշակի շրջաններում՝ ցենտրոմերներում, թելոմերներում, կորիզակներ առաջացնող հատվածներում: ԴՆԹ-ի հատվածների տանդեմային կրկնությունը դիտվում է նաև որոշ սպիտակուց կողավորող գենների (հիստոնային գեններ) կամ ոիքոստմային ՌՆԹ-ները կողավորող գենների շրջաններում:

ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները կարող են կենտրոնանալ ոչ թե մոլեկուլի որոշակի շրջանում, այլ անկանոն ցրված լինել ողջ մոլեկու-

լի երկայնքով: ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները, որոնք ցրված են ողջ մոլեկուլի երկայնքով, կոչվում են **անկանոն բաշխվածությամբ կրկնվող հատվածներ**:

Գեների քարտեզավորումը բույլ տվեց կազմել ԴՆԹ-ի տարրեր տիպերի և ֆունկցիոնալ նշանակության հատվածների պարունակության մոտավոր աղյուսակը (աղյուսակ 3):

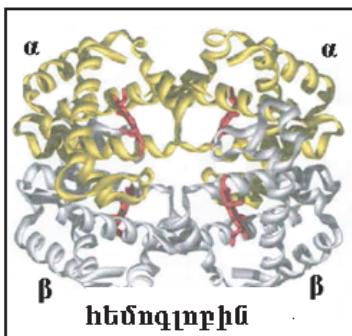
6.1. Սպիտակուց կողավորող գեներ

Սպիտակուց կողավորող գենը կարող է լինել **եզակի** կամ ունենալ մի քանի նման, բայց ոչ նույնական կրկնօրինակներ: Նման կրկնօրինակների գոյությունը ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների գոյության պատճառներից մեկն է:

Բազմաթիվ օրգանիզմների քրոմոսոմների հապլոիդ հավաքակազմում սպիտակուց կողավորող գեների 25-50 %-ը ներկայացված է եզակի գեներով: Եզակի գեների ամենալավ ուսումնասիրված օրինակը բոչունների լիզոցիմ սպիտակուցը կողավորող գենն է: Լիզոցիմ սպիտակուցով հարուստ է բոչունների ձվի սպիտակուցը, և այն պարունակում է կարնասունների թքում և արցունքահեղուկում: Լիզոցիմը ճեղքավորում է բակտերիաների քջապատի պոլիսախարիդները, ինչով և պայմանավորված է ֆերմենտի բակտերիասպանունակությունը: Լիզոցիմ կողավորող գենի երկարությունը հասնում է 15 հզն: Այս ներկայացնում է տրանսկրիպցիայի պարզ միավոր, որը կազմված է չորս էկզոնից և երեք ինտրոնից: Տրանսկրիպցիայի միավորին նախորդող և դրանից հետո գտնվող 20 հզն երկարությամբ ԴՆԹ-ի հատվածներն ի-ՌՆԹ չեն կողավորում:

Սպիտակուց կողավորող գեների երկրորդ խմբի՝ պատճեններ ունեցող գեների նույնականացնումը կազմը շատ մոտ է, սակայն նույնական չէ: Իրականում այս խմբի գեները գենոմում ներկայացված են ոչ թե պատճեններով, այլ նմանակներով: Սովորաբար դրանք դասավորված են մեկը մյուսի հետևից, և ԴՆԹ-ի այն հատվածը, որը տեղակայված են նմանակ գեները, ձգվում է 5-50 հզն: Նմանակ գեների ամքողջությունը, որը կողավորում է նմանատիպ, բայց ոչ նույն ամի-

նաքրվային հաջորդականությամբ սպիտակուցներ, կոչվում է գեների ընտանիք: Այն սպիտակուցները, որոնք կողավորվում են գեների ընտանիքի կողմից, կազմում են սպիտակուցների ընտանիքներ: Սպիտակուցների նման ընտանիքների օրինակներ են պրոտեիններինազները, իմունագլոբուլինները, բազմաթիվ բջջային ռեցեպտորները և այլն: Սպիտակուցների ընտանիքները կարող են պարունակել մի քանի հարյուր անդամ (կորիզային ռեցեպտորներ), բայց կարող են ավելի սակավաբարիվ լինել՝ ընդգրկելով 2-30 անդամներ: Էուկարիոտների մոտ սպիտակուցների ընտանիքի դասական օրինակներ են α և β գլոբինների ընտանիքները: β -գլոբինային գեների ընտանիքը կազմված է 5 գործող գեներից՝ **θ , δ , A , G** ։ Այս գեներով գաղտնագրված պոլիպեպտիդները համապատասխանաբար անվանվում են β , δ , A , G ։ G գլոբիններ (գեները նշվում են շեղ տառերով): Հեմոգլոբին սպիտակուցը կազմված է β -գլոբինային ընտանիքին պատկանող երկու պոլիպեպտիդներից և երկու α -գլոբինային ընտանիքի պոլիպեպտիդներից, որոնք միավորված են չորս հեմերի հետ (նկար 32):

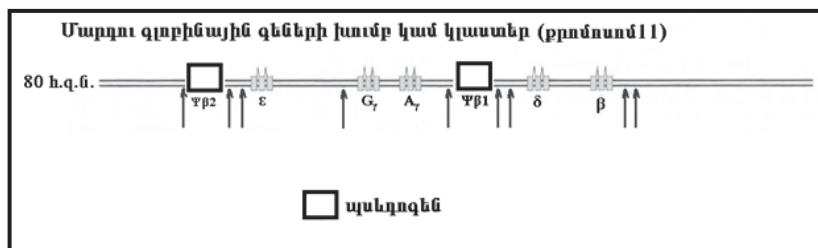


Նկար 32. Հեմոգլոբինի մոլեկուլի կառուցվածքը: Կարմիր գույնով նշված են հեմային (երկար-պորֆիրինային) խմբերը:

Բնականաբար, սպիտակուցների նույն ընտանիքի անդամների միևնույն դոմենները կողավորող **ԴՆԹ-ի** հատվածների նուկլեոտիդային հաջորդականությունները կրկնվում են, սակայն քանի որ սպիտակուց կողավորող գեների ընհանուր պարունակությունը չնշին է (աղյուսակ 3), **ԴՆԹ-ի** նման կրկնությունները զգալի դեր չեն կատարում:

Թեև թ-գլորինային գեների ընտանիքի տարբեր գեներով կողավորվող հեմոգլորինների տիպերը մարդու օրգանիզմում կատարում են նոյն ֆունկցիան՝ թթվածնի տեղափոխությունը, յուրաքանչյուր տիպի հեմոգլորին ունի ուրույն դեր մարդու օրգանիզմի զարգացման տարբեր փուլերում: Օրինակ՝ *Աγ* կամ *ԳԵ* պոլիպեստիդներն արտադրովում են միայն սաղմնային զարգացման փուլում: Սաղմնային հեմոգլորիններն ավելի բարձր խնամակցություն են դրսերում թթվածնի հանդեպ, քան զարգացման ավելի ուշ փուլերում արտադրովող հեմոգլորինները, և դրա շնորհիվ կարողանում են թթվածնի կորզել ընկերքում շրջանառվող մայրական արյունից: Հետսաղմնային զարգացման փուլերում արտադրովող հեմոգլորիններն ավելի ցածր խնամակցություն ունեն թթվածնի նկատմամբ, ինչի շնորհիվ հեշտությամբ անջատում են թթվածնին և տալիս այն հյուսվածքների քիչներին: Հասուն օրգանիզմի քիչներում հատկապես, մկանային հյուսվածքների քիչներում էներգիայի ծախսերը կտրուկ աճում են, ինչի հետ կապված աճում է թթվածնի սպառումը: Հավանաբար, էվոլյուցիայի ընթացքում թ-գլորինային գեները ծագել են մեկ «ծննդական» գենից մեյսոտիկ ռեկոնֆինացման շնորհիվ: Առաջացած նմանակ գեներում կուտակվել են զանազան մուտացիաներ, և գեների այն տարրերակները, որոնք ապահովել են թթվածնի տեղափոխման համար ավելի արդյունավետ գործող հեմոգլորինները, ամրագրվել են քննական ընտրության ընթացքում: Գեների կազմում նման մուտացիաների ամրագրումը ստացել է «հաջորդականությունների տեղաշարժ» կամ «սահք» անվանումը: Այսպիսով՝ մարդու գլորինային գեների ներկա բազմազանության պատճառը գեների կրկնապատկումն է և գեներում կատարված «հաջորդականությունների սահքը»: թ-գլորինային գեների քլաստերը (գեների խումբը) պարունակում է հաջորդականություններ, որոնք թեև նման են աշխատող գեների նուկլեոտիդային հաջորդականություններին, սակայն անզործունակ են (դրանցից տրանսկրիպցիա չի կատարվում): Այդ նուկլեոտիդային հաջորդականությունները կոչվեցին պսեղոգեներ կամ կեղծ գեներ (նկար 33): Նուկլեոտիդային հաջորդականությունների վերլուծությունը ցույց տվեց, որ պսեղոգեները, ինչպես և նորմալ գեները կա-

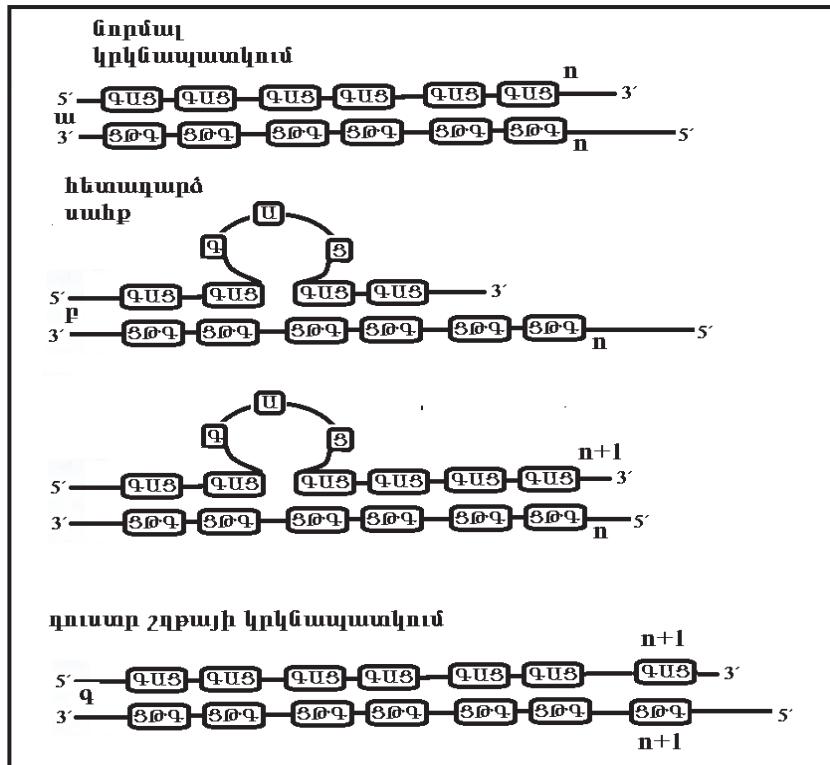
ոուցված են էկզոններից և ինտրոններից: Եվոլյուցիայի ընթացքում պսեղոգենները ծագել են «հաջորդականությունների սահքի» հետևանքով: Հավանաբար «հաջորդականությունների սահքը» առաջացրել է նույլենուտիդային այնպիսի հաջորդականություններ, որոնք հանգեցրել են կամ համապատասխան ի-ՈՆԹ-ի տրանսլյացիայի վաղաժամ ընդհատմանը, կամ խարարել են ի-ՈՆԹ-ի հասունացումը (պրոցեսինզը՝ արգելակելով վերջինիս մասնակցությունը համապատասխան սպիտակուցի սինթեզի գործընթացին):



Նկար 33. Մարդու գլոբինային գեների ընտանիք: Սլաքերով նշված են Alu ռեստրիկտազով ԴՆԹ-ի ճեղքավորման կայրերը:

Եվոլյուցիայի ընթացքում կրկնապատկել են ոչ միայն առանձին գեններ, այլև անզամ քրոմոտոմների առանձին հատվածներ: **Քրոմոտոմների հատվածների կրկնապատկումը կոչվում է սեգմենտային կրկնապատկում:** Սեգմենտային կրկնապատկման զուգակցումը «հաջորդականությունների սահքի» հետ հանգեցրել է ոչ միայն պսեղոգենների, այլև գենային ընտանիքների առաջացմանը: Հաճախ գենների ընտանիքի անդամները կարող են տեղափոխված լինել տարբեր քրոմոտոմների վրա: Մասնավորապես դա վերաբերում է α- գլոբինների գեններին, որոնք, ինչպես և β-գլոբինները, առաջացել են ընդհանուր «ծննդական» գենից, սակայն բաժանվել են β-գլոբինների կրաստերից քրոմոտոմային տրանսլիցացման հետևանքով: Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի որոշ հատվածներ կարող են կրկնվել գենոնում սպիտակուցների գենային ընտանիքների գոյության շնորհիվ և հիստոնային ուղիքումային գենների տանդեմային կրկնությունների հետևանքով: Վերոհիշյալ պատճառներով պայմանավորված ԴՆԹ-ի հատվածնե-

թի կրկնությունը կազմում է դիտվող կրկնությունների չնչին մասը (աղուայակ 3):



Նկար 34. ԴՆԹ-ի առանձին հատվածի կրկնապատկումը ռեպլիկացման երկու փուլերից հետո: ԴՆԹ-ի սինթեզվող դուստր շղթան ներկայացված է 3'-5' ուղղությամբ, ո-ով նշված է նույնականացնելու համար: Եթե դուստրը ռեպլիկացման ժամանակ առաջին փուլի դուստր շղթան հանդիս է գալիս որպես մայրական շղթա:

ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները բաժանվում են 2 հիմնական տիպի: **Առաջին** տիպին են պատկանում համեմատաբար կարճ հատվածների կրկնությունները, որոնք այլ կերպ անվանվում են **սատելիտային ԴՆԹ** կամ **պարզ հաջորդականություններով ԴՆԹ**: Սիզի-

նում սատելիտային ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների երկարությունը տատանվում է 1-500 գմ: Դրանք կազմում են գենոմի մոտ 6 %-ը: Մարդու և այլ կաթնասունների համար կրկնվող պարզ նույնառողջային հաջորդականությունները զբաղեցնում են 1-5 հզն երկարությամբ շրջաններ, որոնք ընդգրկում են 20-50 կրկնվող հատվածներ: Այն կրկնվող հատվածները, որոնք կազմված են 14-100 գույզ նույնառողջային կոչում են **մինիսատելիտներ՝** ի տարրերություն **միկրոսատելիտների**, որոնք կազմված են 1-13 գույզ նույնառողջային կոչում են **մինիսատելիտների երկարությունների ամենաչնչին տարրերությունները** հայտնաբերվում են Սաուգերն-Բլորինգի և պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի (PCR) մեթոդներով, որոնք միավորվում են «ԴՆԹ-ի մատնահետքերի» մեթոդի անվան տակ:

Միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների երկարությունը սովորաբար 1-4 գույզ նույնառողջ է, և այդ հատվածները կրկնվում են մոտ 150 անգամ: Հավանաբար միկրոսատելիտները ծագել են ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնապատկման ժամանակ, եթե դուստր շղթան հետ է սահել մայր շղթայի վրայով (նկար 34): **Միկրոսատելիտները գտնվում են տրանսկրիպցիայի միավորների սահմաններում:** Մարդկային պոպուլյացիայում հանդիպում են առանձնյակներ, որոնց մոտ որոշ գենների ներսում կրկնվող հատվածների թիվն ավելի մեծ է, քան միջինում գրանցվող մեծությունը, հավանաբար սաղմնային բջիջների կրկնապատկման ժամանակ տեղի ունեցած գործընթացների հետևանքով: Ընդլայնված միկրոսատելիտները կարող են ունենալ ոեցեսիկ կամ դոմինանտ դրսերում: Ապացուցված է, որ միկրոսատելիտների ընդլայնված խմբերը ավելի քան 14 տարրեր տիպի նեյրոնկանային հիվանդությունների պատճառ են: Այդ հիվանդություններից շատերը պայմանավորված են նրանով, որ գենի էկզոնում կրկնվում է նույնառողջային որևէ եռյակ, ինչի հետևանքով սինթեզվում է մեկ ամինաթթվի պոլիմերային մոլեկուլ: Այդպիսի ամինաթթվային պոլիմերները, կուտակվելով նյարդային բջիջներում, առաջացնում են ազրեգատներ (ձուլվում են) խարարելով նյարդային բջիջների բնականոն գործունեությունը: Ընդլայնված միկրոսատելիտները կարող են գտնվել նաև գենի սպիտակուց չկոդավորող մասերում: Սովորաբար գտնվելով նման դիրքում՝ միկրոսատելիտնե-

ըր խախտում են գենից արտատպվող ի-ՈՆԹ-ների հասունացման գործընթացը (այլնուրանքային սալլայսինզը) և դրսերում են դոմինանտ մուտացիային հատուկ վարք:

Հարկ է նշել, որ պարզ հաջորդականություններով կրկնվող ԴՆԹ-ի մեծ մասը ներկայացված է 14-500 գույզ նուկլեոտիդ երկարությամբ հատվածների տանդեմային կրկնություններով, որոնց գումարային երկարությունը կազմում է 20-100 հզն: ԴՆԹ-ի նման հատվածները գտնվում են հատուկ քրոմոսոմային շրջաններում: Դրանց ճնշող մեծամասնությունը դասավորված է ցենտրոմերների մոտ, որոնց միանում են բաժանման իլիկի թելիկները միտոզի և մեյոզի ժամանակ: ԴՆԹ-ի նշված պարզ հաջորդականությունների շնորհիվ ցենտրոմերների շրջանում քրոմատինը գտնվում է կոնդենսավորված (խտացված) վիճակում՝ ձևավորելով ցենտրոմերային հետերոքրոմատին, ինչը անհրաժեշտ է քրոմոսոմների տարամիտման համար: Պարզ հաջորդականություններով կրկնվող ԴՆԹ-ն գտնվում է նաև քրոմոսոմների թելոմերային շրջաններում: Այդ դիրքում նրանք ապահովում են քրոմոսոմների ծայրերի ամբողջականությունը և արգելակում են տարբեր քրոմոսոմների ծայրերի միացումը:

ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների **երկրորդ** տիպը կաթնասունների գենոմում շատ ավելի տարածված է (գենոմի 25-50 %-ը): Այս տիպի ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները համեմատաբար ավելի երկար են և անկանոն են բաշխված: Դրանք չունեն որոշակի կայուն դիրք (**հատուկ** չէ կենտրոնացումը ցենտրոմերներում, թելոմերներում կամքրոմոսմի քազուկներում), և միևնույն նուկլեոտիդային կազմ ունեցող հատվածը հաճախ հայտնաբերվում է քրոմոսոմների տարբեր շրջաններում և անգամ տարբեր քրոմոսոմներում: Այդ պատճառով ԴՆԹ-ի կայուն դիրք չունեցող կրկնվող հատվածները կոչվում են **ԴՆԹ-ի շարժուն տարբեր կամ տրանսպորտներ**:

Աղյուսակ 3.

ԴՆԹ-ի հիմնական դասերը և դրանց պարունակությունը մարդու գենոմում

	ԴՆԹ-ի հատվածի երկարություն	Քանա- կություն	% պարունակությու- նը մարդու գենոմում
Սախտակուց կողավորող գեներ	0.5-22 00 h.q.ն	25 000	55 -ինտրոնների հետ միասին 1,1 - միայն էկզոններ
Տանդեմային կրկնվող գեներ			
U2snRNAs կամ (U2փ.կ.ՈՆԹ)	6.1 hqն	20	0.001-ից փոքր
Ռ-ՌՆԹ	4.3 hqն	300	0.4
ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածներ			
Պարզ հաջորդա- կանությամբ ԴՆԹ հատված- ներ	1-500 hqն	Փոփո- խական քանակ	6
Անկանոն բաշխվածությամբ կրկնվող հատվածներ (ԴՆԹ-ի շարժուն տարրեր)			
ԴՆԹ տրանսպո- րոններ	2-3 hqն	300 000	3
LTR ռետրանս- պոզններ	6-11 hqն	440 000	8
ՌՀ-LTR ռետրանսպոզններ			
LINE-ներ	6-8 hqն	860 000	21
SINE-ներ	100-400 hqն	1 600 000	13
Կեղծ գեներ (այսլոգեներ)	Փոփոխական	1-100	0.4
Չդասակարգված միջանկյալ ԴՆԹ (սպեյսիր ԴՆԹ)	Փոփոխական	անհայտ	25

*% պարունակությունը արտահայտված է մոտավոր թվերով, ինչի հետևան-
քով դրանց գումարային մեծությունը գերազանցում է 100 %-ը:

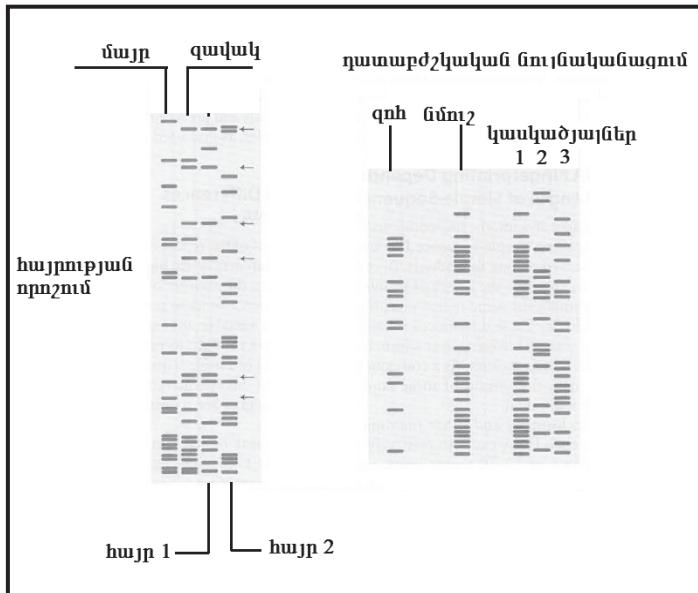
6.2. ԴՆԹ-ի նույնականացման «մատնահետքերի» մեթոդ և մինիսատելիտային ԴՆԹ

Միևնույն տեսակին պատկանող առանձնյակների մոտ ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների նուկլեոտիդային կազմը նույնն է: Հակառակ դրան՝ կրկնությունների թիվը խիստ տարբերվում է: Ենթադրվում է, որ դրա պատճառը քրոմոսոմի պարզ հաջորդականություններով ԴՆԹ-ի հատվածների անհավասարաչափ խաչած փոխանակումն է մեյոզի ժամանակ (քրոսինգովեր): Քանի որ նման քրոմոնովերը կրում է անվերարտադրելի պատահական բնույթ, կրկնությունների թիվը դառնում է եզակի յուրաքանչյուր առանձնյակի համար: ԴՆԹ-ի նույնականացման համար հետազոտվում են այն մինիսատելիտները, որոնցում հատվածները կրկնվում են 30-50 անգամ: Կրկնությունների թիվը տարբերվում է հոմոլոզ քրոմոսոմների մոտ, քանի որ դրանցից մեկը ժառանգվում է հայրական, մյուսը՝ մայրական օրգանիզմներից, տղամարդկանց մոտ առկա են նաև Y քրոմոսոմի հետ կապված տարբերություններ: Օգտագործելով հատուկ պրայմերներ՝ PCR-մեթոդի օգնությամբ բազմացվում և երևակվում են տարբեր անձանց մինիսատելիտների ամենաչնչին տարբերությունները, ինչն ընկած է ԴՆԹ-ի դատարձշկական նույնականացման մեթոդի հիմքում:

Սարդու գենոմի վերլուծությունը կատարվել է 10 տարբեր անձանց ԴՆԹ-ների ուսումնասիրության ընդհանրացված արդյունքների հիման վրա, և կասկածից վեր է, որ ընթերցողի ԴՆԹ-ի 99,7 %-ը համընկնում է հայտնի տվյալների հետ: Մնացած նուկլեոտիդները, որոնք ԴՆԹ-ում կազմում են ընդհանուր պարունակության 0,3 %-ը, փոխվում են առանձնյակից առանձնյակ: ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածները կարող են տարբերվել ընդամենը մեկ նուկլեոտիդով: Այն տարբերությունները, որոնք պայմանավորված են մեկ նուկլեոտիդի փոփոխությամբ կրկնվող հատվածում, կոչվում են եզակի նուկլեոտիդի պոլիմորֆիզմ (single nucleotide polymorphisms կամ SNP, հիշում է «սնիփս»):

Թվում է՝ 0,3 %-ը չնչին մեծություն է, բայց եթե հաշվի առնենք, որ նուկլեոտիդների թիվը գենոմում հասնում է $3,2 \times 10^8$, ապա SNP-ների թիվը մարդու գենոմում մոտ 10 միլիոն է: Մարդկային գենոմում

բացահայտված են գրեթե բոլոր **SNP-ը**: Դրանց նույնականացումը շատ կարևոր ախտորոշիչ դեր ունի, քանի որ որոշակի **SNP-ների** բնորոշում են մարդու մոտ տարրեր ծանր հիվանդությունների դրսերման հավանականությունը: **SNP-ների մեծամասնությունը գտնվում է ԴՆԹ-ի սպիտակուց չկրղավորող շրջաններում, դասավորված են հաջորդաբար, գրավում են քրոմոտոմի որոշակի տիրույթ և համատեղ են ժառանգվում: SNP-ների այդ տիրույթները կոչվում են **հապլոտիփ**, և դրանք նկարագրված են HapMap կոչվող տվյալների բազայում:**



Նկար 35. Նկարի ձախակողմյան հատվածում պատկերված են մայրական և երկու ենթադրյալ հայրերի մինիսատելիտային ԴՆԹ-ների էլեկտրոֆորեզամները: Երեխայի մինիսատելիտային հատվածներն ակնհայտորեն համընկնում են առաջին անգամ (հայր 1) մինիսատելիտային հատվածների հետ: Նկարի աջ կողմում ներկայացված է կասկածյալ 1-ի ԴՆԹ-ի մինիսատելիտների նույնությունը հանցագործության վայրում հայտնաբերված ԴՆԹ-ի նմուշի մինիսատելիտների հետ: Սլաքերով նշված են երեխայի և հոր ընդհանուր ֆրազմենտները: Դատարձկական նույնականացումը ցույց է տալիս, որ դեպքի վայրում հայտնաբերված ԴՆԹ-ն պատկանում է կասկածյալ 1-ին:

Մարդու գենոմային ԴՆԹ-ի 25%-ը կազմում է միջանկյալ սպեյսերային ԴՆԹ-ն, որն անջատում է հարևան տրանսկրիպցիայի միավորները միմյանցից: Սպեյսերային ԴՆԹ-ի շրջաններում գտնվում են տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը վերահսկող հատվածները (էնհանսերները), որոնց երկարությունը տատանվում է 50-200 զն: Սպեյսերային ԴՆԹ-ի ֆունկցիաները դեռ լիովին պարզաբանված չեն: Ենթադրվում է, որ այս ԴՆԹ-ն մեծ դեր է կատարում քրոմոտոմների կառուցվածքի ձևավորման ժամանակ:

6.3. ԴՆԹ շարժուն տարրեր

ԴՆԹ շարժուն տարրերը հայտնաբերված են թե՛ պրոկարիոտների, թե՛ էուկարիոտների մոտ: Այն շարժուն տարրերը, որոնք տեղափոխում են ԴՆԹ-ի հատվածների ձևաչափով, կոչվում են ԴՆԹ տրանսպորտներ: Կամ պարզապես տրանսպորտներ: Այն տրանսպորտները, որոնց տեղաշարժը միջնորդվում է ՈՆԹ-ի մոլեկուլով, կոչվում են ռետրանսպորտներ: Ռետրանսպորտները, ըստ էության, սինթեզում են իրենց պատճենը և ներմուծում այն գենոմի որևէ նոր կայրում, իսկ «բնօրինակը» մնում է հին տեղում: Ռետրանսպորտների տեղաշարժը նման է ռետրովիրուսային վարակմանը: ԴՆԹ տրանսպորտները տեղաշարժվում են համակարգչային «cut and paste», իսկ ռետրանսպորտները՝ «copy and paste» սկզբունքներով (նկար 36): Պրոկարիոտների շարժուն տարրերի մեծամասնությունը ԴՆԹ տրանսպորտներն են, իսկ էուկարիոտների մոտ՝ ռետրանսպորտները:

Ռետրանսպորտներ առաջացնող մեխանիզմի գործունեության շնորհիվ գենոմում կուտակվում են ոչ միայն ԴՆԹ-ի առանձին հատվածների բազմաթիվ կրկնօրինակներ, այլ իրականացվում է տեղեկատվության տեղափոխությունը ԴՆԹ-ի մեկ շրջանից մյուսը: Եթե տեղաշարժը (տրանսպորտը) տեղի է ունենում սեռական քիցիներում, ապա ԴՆԹ-ի նոր դիրքը ժառանգվում է հաջորդ սերնդներին: Էվոլյուցիայի ընթացքում էուկարիոտների գենոմում ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերի թիվն աճել, և դրանք կուտակվել են:

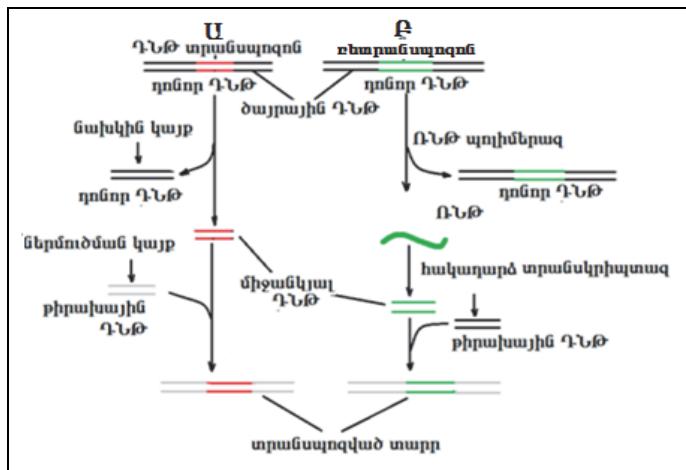
Տրանսպորտը համեմատաբար հազվադեպ երևոյթ է նարդու համար և տեղի է ունենում 8 առանձնյակներից մեկի մոտ: Չանչի որ մեր ԴՆԹ-ի 98,5 %-ը չի կողավորում ո՞չ սպիտակուց, ո՞չ ՌՆԹ, տրանսպորտներն էալես չեն ազդում գեների գործունեության վրա: Ներկայում գենոմի շարժական տարրերը համարվում են որոշակի ֆունկցիայից զրկված մոլեկուլային սիմքիոտներ, որոնց Ֆրենսիս Կրիկը համարում էր «էգոխատ ԴՆԹ»: Տրանսպորտը կարող է տեղի ունենալ սոմատիկ բջիջներում, որի դեպքում այն ժառանգվում է միայն այդ սոմատիկ բջջից առաջացած դուստր բջիջներին: Տրանսպորտը հազվադեպ կարող է վնասաբեր լինել: Օրինակ՝ տրանսպորտը կարող է ճնշել ուռուցքագոյացումը-արգելակող գենի ակտիվությունը, ինչի հետևանքով տեղի է ունենում բջջի շարորակ վերասերում:

ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերի գոյությունը բացահայտեց **Բարբարա Մակլինոնը** 1940-ականներին: Եզրակացների վրա կատարված գենետիկական փորձերի տվյալները (անտոցիան գունանյութը կողավորող գենի ժառանգում) ցույց տվեցին, որ հատիկների գունավորումը պայմանավորող գեները պարունակում են այնպիսի տարրեր, որոնք կարող են տեղաշարժվել քրոնոսումում: Հետազայտմ նման արդյունք ստացվեց բակտերիաների հետազոտման ժամանակ: Պարզվեց, որ ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերը բաժանվում են երկու հիմնական խմբի: առաջին տիպի տարրերը տեղափոխվում են անմիջականորեն ԴՆԹ-ի հատվածների ձևով, իսկ երկրորդ տիպի շարժուն տարրերի տեղափոխությունը միջնորդվում է ՌՆԹ-ով: Այդ ՌՆԹ-ն սինթեզվում է ՌՆԹ պղիմերազի կողմից հատուկ տրանսպորմանը ենթակա ԴՆԹ-ի հատվածից, որից հետո ՌՆԹ-ի մոլեկուլը հակառակ տրանսկրիպտազի միջոցով վեր է ածվում երկշղթա ԴՆԹ-ի:

Ներմուծված հաջորդականություններ կամ IS տարրեր: Ըստուն տարրերի էությունը բացահայտվեց E.coli-ի մուտացիաների ուսումնասիրությունից: Այդ մուտացիաները պայմանավորված էին նրանով, որ բակտերիայի ԴՆԹ-ի մեջ ներմուծվում էր 1-2 հզն երկարությամբ օտարածին ԴՆԹ-ի հատված: Ներմուծված հատվածները կոչվեցին **ներմուծված հաջորդականություններ (insertion sequences)**

կամ IS տարրեր: Ներկայումս հայտնաբերված են 20 տարրեր IS տարրեր, որոնց դիրքը բակտերիայի օղակաձև մոլեկուլում կարող է փոխվել: IS տարրերի տեղաշարժը (**տրանսպոզիոն**) հազվադեպ է, քանզի տեղի է ունենում $10^5\text{-}10^7$ քիչներից մեկում: Հաճախ տրանսպոզումը ինակտիվացնում է կարևոր գեներ և դառնում է մահացու քջի համար: IS տարրերը կարող են ներդրվել պլազմիդների և լիզոգենիկ վիրուսների գենոմի մեջ, և վերջիններս, վարակելով այլ քջներ, տեղափոխում են IS տարրերը տեր-քջների որևէ քրոմոսոմի մեջ:

Յուրաքանչյուր IS տարրի երկու ծայրերում գտնվում են 50 զն երկարությամբ հատվածներ: 3'-5' ծայրային հատվածի նուկլեոտիդների հաջորդականությունը 5'-3' ծայրային հատվածի նուկլեոտիդային հաջորդականության հայելային պատկերն է (նկար 36, Բ): Շրջված կրկնությունների միջև գտնվող հատվածը կոդավորում է **տրանսպոզնագ** ֆերմենտը, որն անհրաժեշտ է IS տարրի տեղափոխության համար: Տրանսպոզագ ֆերմենտի գենը հազվադեպ է ակտիվանում, ինչի պատճառով էլ տրանսպոզումը դառնում է հազվադեպ հանդիպող երևոյթ:



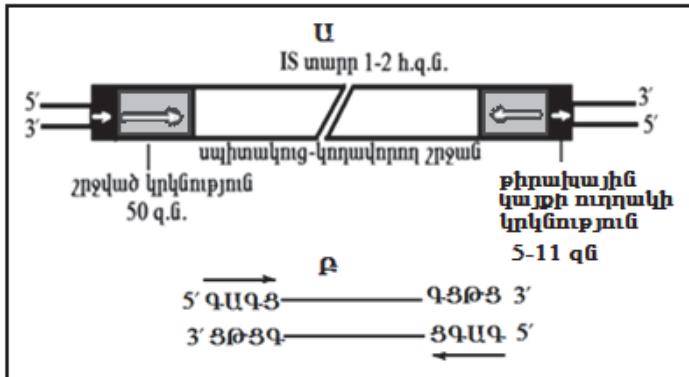
Նկար 36. Տրանսպոզնների և ռետրանսպոզնների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմներ: Կարմիր և կանաչ գույներով նշված են ԴՆԹ-ի այն հատվածները, որոնք ենթակա են տեղափոխության:

Բոլոր IS տարրերին բնորոշ է կարճ 5-11 զն երկարությամբ հաջորդականությունների առկայություն, որոնք անմիջականորեն հարում են տրանսպոգվող հատվածին և ուղղակիորեն կրկնում են թիրախային կայքի նույնականությունները (նկար 37-ում նշված են սև գույնով): Այդ հատվածների երկարությունը փոխվում է IS տարրից տարր, և նույնականությունների հաջորդականությունը կախված է միայն այն կայքից ուր նույնագրվում է IS տարրը: Տրանսպոնազը կատարում է **երեք հիմնական գործողություն**.

- 1) Դոնորային ԴՆԹ-ից կտրում է IS հատվածը:
- 2) Առաջացնում է կարճ կպչուն ծայրեր թիրախային ԴՆԹ-ում:
- 3) Միացնում է IS հատվածի 3' ծայրերը դոնոր ԴՆԹ-ի 5' կտրված ծայրերին:

Ի վերջո, ԴՆԹ պոլիմերազը լրացնում է միաշղթա հատվածները՝ առաջացնելով ուղղակի կրկնությամբ հատվածներ, որոնք միացվում են ԴՆԹ լիգազի կողմից (նկար 38):

Յուրաքանչյուր IS տարրի շրջված կրկնություններն ունեն մենահատուկ նույնականությունների հաջորդականություններ: Ուղղակի կրկնությունների նույնականությունները: Ուղղակի կրկնությունների նույնականությունները փոփոխական են և կախված են այն կայքի նույնականությունները փոփոխական են և կախված են այն կայքի նույնականությունների հաջորդականությունից, ուր տարրը ներդրվում է թիրախային ԴՆԹ-ի մեջ, և նույն IS տարրը կարող է ունենալ տարրեր ուղղակի կրկնությունների հատվածներ: Սակայն, ուղղակի կրկնությունների երկարությունը մենահատուկ է յուրաքանչյուր IS տարրի համար: Այսպիսով՝ IS տարրերը տարրերվում են մենահատուկ շրջված կրկնությունների նույնականությունին կազմերով և ուղղակի կրկնությունների երկարությամբ:



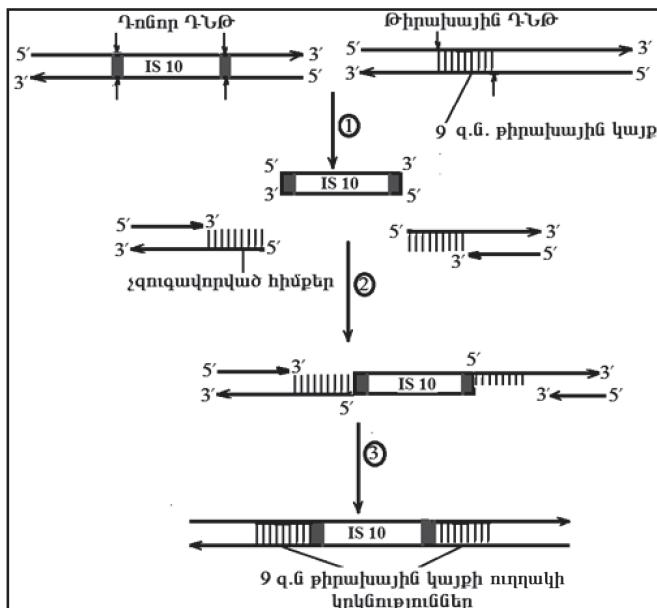
Նկար 37. Ա) IS տարրի կառուցվածքը: Սլաքներով ցույց է տրված հատվածների ուղղվածությունը: Հարաբերականորեն մեծ կենտրոնական շրջանը, որը կողավորում է տրանսսպոնազը, երկու ծայրերից եզերված է շրջան կրկնությունների հատվածներով: Բ) շրջան կրկնություն: Շրջան կրկնություններն ունեն գրեթե նույն հաջորդականությունները, բայց հակառակ ուղղվածություն:

6.4. Էռևարիուտների ԴՆԹ տրանսպոզններ

Մակրինտոկը հայտնաբերեց ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերը եզիացացորենի մոտ անտոցիան գունանյութի արտադրությունը պայմանավորող գենի մուտացիաների ուսումնասիրության ժամանակ: Անտոցիանը պատասխանատու է եզիացացորենի հատիկների մանուշակագույն գունավորման համար:

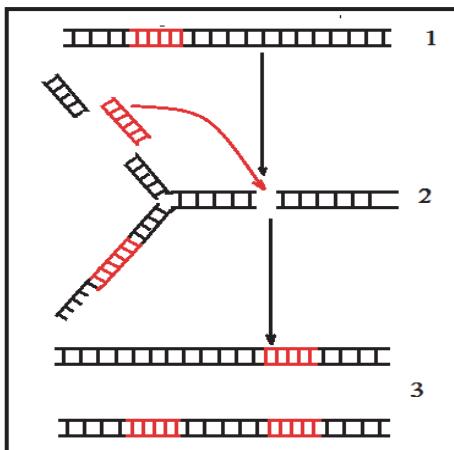
Մուտացիա կրող հատիկները սպիտակ են, մինչդեռ վայրի տիպի գեններ (մուտացիայի չենթարկված) կրողները՝ մանուշակագույն: Ինչպես պարզվեց, վերը նշված գենի մուտացիաները լինում են դարձելի և անդարձելի: Հետաքրքրականն այն էր, որ անդարձելի մուտացիաները կարող են դառնալ դարձելի, եթե զուգակցվում են դարձելի մուտացիայի հետ: Այն գործոնը, որը պատասխանատու էր դարձելի մուտացիաների համար, Մակ Կիմնոնկը անվանեց խթանիչ (activator Ac), իսկ երկրորդ տիպի մուտացիաների գործոնը՝ դիսոցման տարր

(dissociation *Dc*), քանի որ դրանք խնամակցություն էին դրսերում ըրումումային կտրվածքների հանդեպ (հաճախ հանդես էին գալիս դրանց հետ համատեղ): Տարիներ անց պարզվեց, որ Ac տարրերը համարժեք են բակտերիաների IS տարրերին և դրանց նման պարունակում են շրջված կրկնություններով հատվածներ, որոնք պարփակում են տրանսպոնազը կողավորող հատվածը: *Dc* տարրերը ինքնուրույն չեն կարող տեղափոխվել, քանի որ դրանցում բացակայում է տրանսպոնազ կողավորող հատվածը, հետևաբար բացակայում է տրանսպոնազ ֆերմենտը: Սակայն Ac տարրերի ներկայությամբ դրանք կարող են տեղափոխվել սեփական շրջված հաջորդականությունների և *Ac*-ներով կողավորած տրանսպոնազի շնորհիվ:



Նկար 38. Բակտերիաների IS տարրերի տրանսպոնումը: 1) տրանսպոնազը կտրում է դոնորային ԴՆԹ-ն շրջված կրկնությունների կայրերում, և թիրախային ԴՆԹ-ն առաջացնում է կույր ծայրեր դոնորային ԴՆԹ-ում և կպչուն ծայրեր թիրախային ԴՆԹ-ում; 2) կտրված IS հատվածների 3' ծայրերի միացումը թիրախային ԴՆԹ-ի միաշղթա ծայրերին; 3) բջջային ԴՆԹ պոլիմերազն երկարացնում է 3' ծայրերն ու միացնում IS հատվածին:

Եթե տրանսպորտումը կատարվում է բջջային բոլորաշրջանի S փուլում, եթե տեղի է ունենում գենոմային ԴՆԹ-ի ռեալիկացումը, կրկնապատկում է նաև տրանսպորտած հատվածը (նկար 39), և առաջացած դուստր մոլեկուլներից մեկը կրում է կրկնապատկում ԴՆԹ տրանսպորտն: Նման գործընթացի հետևանքով էվոլյուցիայի ընթացքում մարդու գենոմում կուտակվել են շուրջ 300 000 տրանսպորտներ:



Նկար 39. ԴՆԹ տրանսպորտումը ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը ժամանակ: 1) տրանսպորտումը S փուլից առաջ; 2) ԴՆԹ-ի կրկնապատկումն և տրանսպորտումը S փուլում; 3) S փուլից հետո դուստր ԴՆԹ-ի մոլեկուլներից մեկն ունի երկու տրանսպորտած տարր:

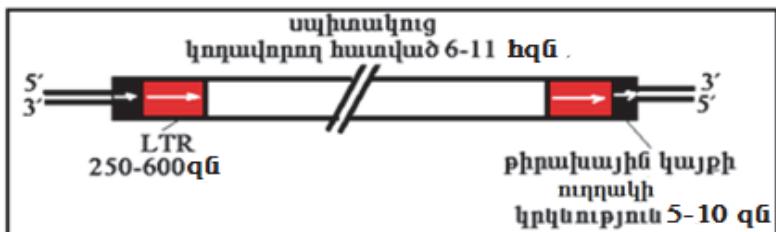
6.5. Ունտրանսպորտներ

Ունտրանսպորտները ԴՆԹ-ի այն շարժուն տարրերն են, որոնց տեղափոխությունը գենոմում կատարվում է հակառակ տրանսկրիպտազով սինթեզված ՈՒՆԹ-ի միջնորդությամբ: Ունտրանսպորտները բաժանվում են հետևյալ խմբերի՝ կրնվող հաջորդականություններով երկար ծայրեր պարունակող LTR-ների (long terminal repeats) և պատահական բաշխվածությամբ կրկնվող երկար հաջորդականություններ պարունակող ռեստրանսպորտների՝ LINE-ների (long interspersed elements) և SINE-ների (short interspersed elements): Մարդու գենոմում ռեստրանսպորտների պարունակությունը այնքան էլ մեծ չէ և կազ-

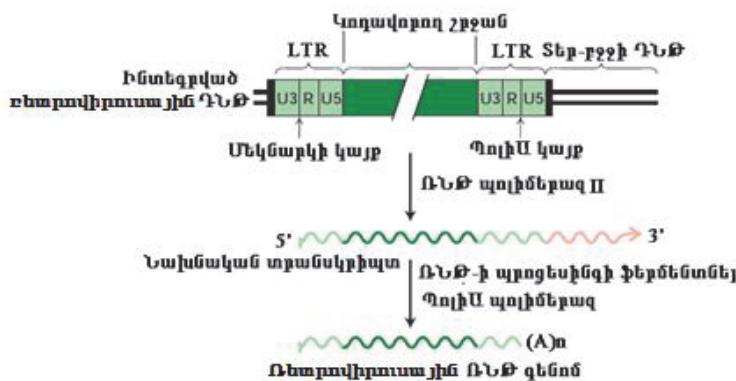
մում է գենոմային ԴՆԹ-ի մոտ 8 %-ը, ընդ որում՝ գերակայում են LTR-ռետրանսպորնները: Մնացած կաթնասունների մոտ մեծամասնություն են կազմում LTR-չպարունակող ռետրանսպորնները: Ռետրանսպորններում ուղղակի կրկնություններով հատվածների երկարությունը հասնում է 200-600 զն-ի: LTR-ռետրանսպորնները նման են ռետրովիրուսների ԴՆԹ-ին և կողափորում են զրեք բոլոր ռետրովիրուսային սպիտակուցները՝ բացառությամբ վիրուսային պատիճի սպիտակուցների: Այդ պատճառով ինտեգրվելով տերթիզների գենոմում ռետրանսպորնները չեն կարող վիրուսային մասնիկի նման տեղափոխվել և վարակել հարեան քիչները: Քանի որ ռետրանսպորնների կապը ռետրովիրուսների հետ կաևած չի հարուցում, հաճախ ռետրանսպորններին կոչում են **ռետրովիրուսանման տարրեր**: Ռետրանսպորնները մեծ դեր են կատարում մարդու գենոմի էվոլյուցիայում: Դիտարկենք ռետրովիրուսի բազմացման բոլորաշրջանը, որն ընկած է ռետրանսպորնների առաջացման հիմքում:

Ռետրովիրուսի ԴՆԹ-ի երկու ծայրային հատվածներում գտնվում են LTR-ներ, որոնք բաղկացած են երեք տարրեր ենթակայթերից՝ U3, R և U5: Ռետրովիրուսի ձախակողմյան LTR-ը ծառայում է որպես պրոմոտոր տերթօջի ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի համար, ինչի հետևանքով ֆերմենտը սկսում է տրանսկրիպցիայի գործընթացը ձախակողմյան R հաջորդականության 5' նուկլեոտիդից: Ձախնական տրանսկրիպտի սինթեզի ավարտից հետո խաղի մեջ են մտնում ռետրովիրուսի աջակողմյան LTR-ի հաջորդականությունները: Տերթօջի ՈՆԹ-ի հասունացման գործընթացի ֆերմենտները ճեղքում են նախնական տրանսկրիպտը և ավելացնում են պոլիադենիլային պոչիկ աջակողմյան R-հաջորդականության 3' ծայրին: Սինթեզված ՈՆԹ-ն դուրս է գալիս տերթօջի քջակորիզից և անցնում է ցիտոպլազմա: Ռետրովիրուսի սպիտակուց-կողափորող հատվածը կողավորում է ինտեգրազ և հակառակ տրանսկրիպտազ ֆերմենտները, ինչի շնորհիվ ռետրովիրուսի ՈՆԹ-ն տերթօջի ցիտոպլազմում վեր է ածվում կրկնակի շղթայով ռետրովիրուսային ԴՆԹ-ի: Այդ ռետրովիրուսային ԴՆԹ-ն պարունակում է լիարժեք LTR-ներ: Լիարժեք LTR-ներով ԴՆԹ-ի մոլեկուլները ինտեգրազ ֆերմենտի հետ միասին տեղա-

փոխսպում են բջջակորիգ: Ունտրովիրուսների ինտեգրազները շատ նման են ԴՆԹ- տրանսպոնազներով կողավորվող տրանսպոզններին և դրանց նման կարող են ներդնել ԴՆԹ-ի հատվածներ տերքջի գենոմի մեջ: Հոմոլոգ քրոմոսոմների LTR-ները կարող են ռեկոնֆինացվել, ինչի հետևանքով կարող են առաջանալ էկզոնների կամ անգամ ամբողջական գենների կրկնօրինակներ (Ակար 41):



Նկար 40. Ունտրանսպոզնի կառուցվածքը: Կարմիր գույնով նշված են կրկնվող հաջորդականություններով երկար ծայրերը (LTR-ները): ԴՆԹ- տրանսպոզնների նման ռետրովիրուսների երկու ծայրերում գտնվում են կարճ թիրախային կայրերի ուղղակի կրկնությամբ հատվածներ: Սպիտակուց կողավորող հատվածը կազմում է ռետրանսպոզնի գույքի 80 %-ը և կոդավորում է հակառակ տրանսկրիպտազ, ինտեգրազ և ռետրովիրուսային այլ սպիտակուցներ:



Նկար 41. Ունտրովիրուսային Ո-ՆԹ-ի վերարտադրությունը տերքջում:

LTR չպարունակող ռետրանսպոզոններ: Կաթնասունների գենումում ամենատարածված շարժուն տարրերը LTR չպարունակող ռետրանսպոզոններն են, որոնք երբեմն անվանվում են ոչ վիրուսային ռետրանսպոզոններ: LTR չպարունակող ռետրանսպոզոնները միջին հաճախականությամբ կրկնվող ԴՆԹ-ի հատվածներ են, որոնք ներկայացված են երկու տեսակներով՝ **LINE-ներով** (long interspersed elements) և **SINE-ներով** (short interspersed elements): Մարդու գենում պարունակվող յուրաքանչյուր LINE-ի երկարությունը կազմում է 6 հզն, իսկ SINE-ինը՝ միջինում 300 զն: LINE-ների նման տարրերը պարունակվում են նախակենդանիների, միջատների և բույսերի գենումներում: Հավանաբար այս տարրերը կուտակվել են բարձրագույն էուկարիոտների էվոլյուցիոն գարգաման ընթացքում ԴՆԹ-ի որոշակի դիրքում գտնվող հաջորդականությունների բազմակի պատճենավորման և նոր դիրքերում դրանց ներդրման հետևանքով: SINE-ների պարունակությունը մարդու գենումում հասնում է 13 %-ի: SINE-ների երկարությունը տատանվում է 100-400 զն սահմաններում, և այս ռետրանսպոզոնները, ի տարրերություն LINE-ների, սպիտակուցներ չեն կորդավորում: SINE-ների և LINE-ների 3' ծայրերը հարուստ են ԱԹ (աղենին և թիմին) նուկլեոտիդներով: SINE-ները պատճենվում են այն կորիզային ՌՆԹ պոլիմերազներով, որոնք պատասխանատու են փ-ՌՆԹ-ների, ոիքոստմային փոքր ենթամասնիկի ՌՆԹ-ի և այլ փոքր կայուն ՌՆԹ-ների արանսկրիպցիայի համար: SINE-ների թիվը մարդու գենումում հասնում է 1,6 միլիոնի, որոնցից 1,1 միլիոնը բաժին է ընկնում **Ah-տարրերին:** Այս տարրերն իրենց անվանումը ստացել են նրանից, որ պարունակում են **Ah1** ռեստրիկտազով ճեղքավորվող նուկլեոտիդային հաջորդականություն: Ah-տարրերը հավանաբար առաջացել են ցիտոպլազմում գտնվող 7SL (signal recognition) ՌՆԹ սպիտակուցային համալիրից, որը պատասխանատու է որոշակի պոլիպեպտիդային շղթաների միացման համար էնդոպլազմատիկ ցանցի բաղանքներին: Գենում Ah-տարրերը տարածված են գենների միջև գտնվող սպեյսերային շրջաններում, ինտրոններում և որոշ գենների տրանսլյացիայի չենթարկվող 3' ծայրերում:

Յուրաքանչյուր 8-րդ անձի բնային քջիջներում տեղի է ունենում նոր SINE-ների և LINE-ների առաջացում: Նորագոյացած տարրերի

մոտ 40 %-ը բաժին է ընկնում LINE-ներին, 60 %-ը՝ SINE-ներին, ընդունում վերջիններիս 90 %-ը կազմում են *Alu*-տարրերը:

Այսպիսով՝ **ԴՆԹ-ի** շարժուն էլեմենտները կարծես թե ինքնին տեղեկատվություն չեն պարունակում, սակայն դրանք կարող են փոխել ժառանգական տեղեկատվություն պարունակող հատվածների փոխադասավորությունը գենոմում, ստեղծել էկզոնների նոր համադրություններ և էապես ընդլայնել ժառանգական փոփոխականության դաշտը:

Մարդու մի քանի ժառանգական հիվանդություններ պայմանավորված են **ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերով:** Օրինակ՝ շարժուն տարրի ներմուծումն արյան մակարդելիության IX գործոնը կոդավորող գենի մեջ առաջացնում է հեմոֆիլիա հիվանդությունը, իսկ դիստրոֆին սպիտակուցը գաղտնագրող գենում առաջացնում է մկանային դիստրոֆիա: Այս երկու գեններն ել գտնվում են X քրոմոսոմում: Զանի որ արական սեռի գենոմում X քրոմոսոմը ներկայացված է մեկ օրինակով (XY), ապա այդ քրոմոսոմի թերացումներն արտահայտվում են ֆենոտիպորեն վերը նշված հիվանդությունների ձևով: Պրիմատների տարրեր տեսակների գորինային գենների կլաստերների ուսումնասիրությունը բացահայտեց, որ α և γ գենները ծագել են մեկ նախնական գենը երկու կողմից պարփակող LTR-ների ոչ հավասարազոր կրոսինօնվերի հետևանքով: Οչ հավասարազոր կրոսինօնվերը հոմոլոզ գենների ինտրոնում գտնվող LTR-ների միջև կարող է առաջացնել էկզոնների կրկնապատկում, ինչպես տեղի է ունեցել ֆիբրոնեկտին սպիտակուցի գենի էվոլյուցիայի ընթացքում: Էվոլյուցիայի ընթացքում փոխանակություններ կարող են տեղի ունենալ տարրեր գենների ինտրոններում գտնվող շարժուն տարրերի միջև (օրինակ՝ Alu տարրերի), ինչի հետևանքով կարող են ծագել տակավին նոր գեններ: **ԴՆԹ-ի** շարժուն էլեմենտները գենների ընտանիքների կամ գենների կրկնապատկման, կամ նոր գենների ծագման պատճառ են: Ներկայումս **ԴՆԹ-ի** շարժուն տարրերը դիտարկվում են որպես գենային թերապիայի գործուն միջոցներ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Black D. L. (2003). Mechanismof alternative pre-messenger RNA splicing, Ann. Rev. Biochem.72:291-336.
2. Giardina E., Spinella A. and Novelli G. (2011). Past, present andfurure of forensic DNA typing. Nanomedicine 6:257-2.
3. Brown T. A. (2007). Gene cloning and DNA analysis, An Introduction, 6th edition, Wiley-Blackwell.

Գլուխ 7

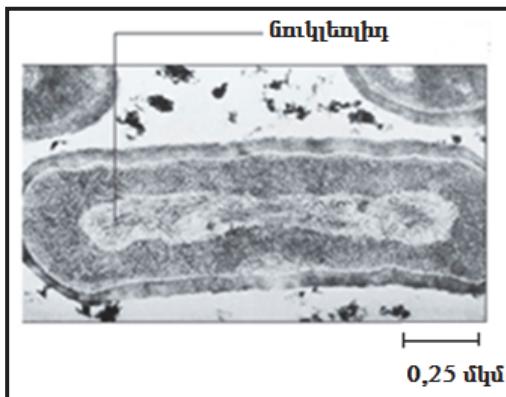
Գեների աշխատանքի կարգավորում

Արտաքին միջավայրի փոփոխություններին դիմակայելու համար բակտերիաների բջիջները ստիպված են փոխել նյութափոխանակությունն այնպիս, որ կարողանան վերապրել և բազմանալ: Բազմարժիք օրգանիզմների բջիջների ճնշող մեծամասնությունը չի ենթարկվում արտաքին միջավայրի անմիջական ներգործությանը, և այդ պատճառով դրանց նյութափոխանակությունը կարգավորվում է օրգանիզմի բարդ միասնական կարգավորման ներքին մեխանիզմներով, որոնք ուղղված են ապահովելու ոչ թե առանձին բջջի, այլ ողջ օրգանիզմի նորմալ կենսագործությունը, ամբողջականությունը և բազմացումը: Կարգավորման բազմաստիճան մեխանիզմների մեջ է մտնում առանձին գեների կամ գեների խմբերի (քլաստերների) աշխատանքի խթանումը («միացում») կամ արգելակումը («անջատում»): Օրինակ, ի պատճախան թթվածնի պակասի (հիպօրսիա)՝ էուկարիոտների գեների յուրահատուկ խումբը սկսում է ակտիվորեն գործել, ինչի շնորհիվ օրգանիզմը հաղթահարում է ծագած դժվարությունները: Դրանք այն գեներն են, որոնք կողավորում են երկու խումբ սպիտակուցներ: Այդ սպիտակուցները պայմանավորում են նոր մազանորների առաջացումը և նորաստեղծ մազանորների տարածումը դեպի հիպօրսիայի ենթակա հյուսվածքները: Թե՛ բակտերիալ բջիջների, թե՛ հիպօրսիայի ենթարկված բջիջների գեների ընտրողական ակտիվացումը դարձելի գործընթացներ են, և գեների ակտիվությունը վերադառնություն է մեկնարկային մակարդակին ազդակի վերանայուց հետո: Սակայն գեների ակտիվացման կամ լրեցման գործընթացները կարող են լինել անդարձելի, ինչն առավել ցայտուն է դրսնորպում օրգանիզմների սաղմնային զարգացման շրջանում: Գեների խիստ համաձայնեցված աշխատանքն անհրաժեշտ նախապայման է զարգացող սաղմի հյուսվածքների և օրգանների ճիշտ ձևակորման համար: Ըստ դեպքերում սաղմնային որոշակի փուլ թևակոխած բջիջը հետադարձ քայլ չի կարող կատարել: Այս տեսանկյունից սաղմնային բջջի գեների ակտիվության կարգավորումն

Էապես տարբերվում է բակտերիալ բջիջների գեների ակտիվության կարգավորումից, քանի որ սաղմնային բջիջների դեպքում փոփոխություններն անդարձելի են և վերջնական, մինչդեռ բակտերիալ բջիջների դեպքում գեների ակտիվությունը կարգավորվում է ըստ ընթացքի պահի պահանջների: Մասնագիտացած շատ բջիջներ մահանում են՝ սերունդ չտալով (աչքի ոսանյակի բջիջներ, նեյրոններ, մկանային բջիջներ և այլն): Այս փաստը վկայում է, որ բազմաբջիջ օրգանիզմների համար գեների ակտիվության կարգավորումը բջիջների մասնագիտացման ընթացքում կոչված է ապահովելու ոչ թե տվյալ բջիջի առավելագույն կենսունակությունը և բազմացումը, այլ ծառայում է ողջ օրգանիզմի կենսունակության ապահովմանը: Ինչպես տեսնում ենք, գեների ակտիվության կարգավորումը բակտերիաների և բազմաբջիջ օրգանիզմների մոտ ծառայում է տարբեր նպատակների: Այնուամենայնիվ, գեների տրանսկրիպցիայի կարգավորման գործընթացների էությունը նույնն է: ‘Դիտարկենք, թե ինչն է ընկած նշված ընդհանրության հիմքում: Բակտերիաների և էուկարիոտների բջիջներում գեների ակտիվությունը կարգավորում են գենոմային ԴՆԹ-ի հատուկ նուկլեոտիդային հաջորդականություններ, որոնք կարող են կապվել որոշակի սպիտակուցների հետ: Առաջացած ԴՆԹ-սպիտակուց համալիրները կարող են խթանել կամ ճնշել այս կամ այն գենի ակտիվությունը: Երկրորդ ընդհանրությունն այն է, որ տրանսկրիպցիայի սկզբնակետի դիրքը որոշում են ԴՆԹ-ի յուրահատուկ կարգավորիչ նուկլեոտիդային հաջորդականությունների առանձին հատվածներ: Բակտերիաների և էուկարիոտների գեների ակտիվության կարգավորման հիմնական տարբերությունը հետևյալն է. տրանսկրիպցիայի կարգավորման մեխանիզմները գործում են սկզբունքային տարբեր մոլեկուլային հարթակների վրա: Ի տարբերություն բակտերիաների ԴՆԹ-ի՝ էուկարիոտների կորիզային ԴՆԹ-ն պարուրված է հիստոնային սպիտակուցների օկտամերների շորջը, որոնք կազմում են նուկլեոտմ կոչվող կառույցը: Նուկլեոտմային թելիկները ենթարկվում են հետագա պարուրման՝ առաջացնելով քրոմատինի տարբեր աստիճանի խտացված (կոնդենսացված) կառույցներ:

7.1. ԴՆԹ-ի փաքեթավորումը բակտերիաների բջիջներում

Բակտերիաները կարող են ունենալ մեկ կամ մի քանի օղակածն կամ գծային քրոմոսոմներ: Բակտերիաների մեծամասնությանը հատուկ է մեկ օղակածն քրոմոսոմ: Այդ քրոմոսոմը ներկայացնում է ԴՆԹ-ի օղակածն մոլեկուլ, որին միացած են փոքրաթիվ սպիտակուցներ: Բակտերիաների քրոմոսոմը գտնվում է բջջի հատուկ շրջանում, որը կոչվում է **նուկլեոլիդ**:



Նկար 42. Նուկլեոլիդը բակտերիայում:

Նուկլեոլիդը սահմանազատված չէ բաղանթով, թեև ԴՆԹ-ի կնճիկը հստակորեն առանձնանում է ցիտոպլազմից: **Բակտերիաների ԴՆԹ-ն փաքարթված է հիմնային հիսոռնանման սպիտակուցների շորջը, գերպարութված է և առաջացնում է 20 000 զն-ից կազմված կիսաօղներ:** Ի լրումն քրոմոսոմի՝ բակտերիաների բջիջները կարող են պարունակել մեկ կամ մի քանի պլազմիդներ: **Պլազմիդները, որպես կանոն, ԴՆԹ-ի փոքր օղակածն մոլեկուլներ են, որոնք գաղտնազրում են սեփական վերարտադրությունը ապահովող սպիտակուցներ:** **Պլազմիդների կրկնապատկումը ինքնուրույն և տեր-բջջի քրոմոսոմի ռեալիկացումից անկախ գործընթաց է, թեև համաձայնեցվում է վերջինիս հետ, ինչն ապահովում է պլազմիդների մոտավորա-**

պես հավասար քանակների պահպանումը բակտերիաների յուրաքանչյուր սերնդում:

E.coli-ի թղթապատճենում հայտնաբերված պլազմիդները բաժանվում են հետևյալ դասերի՝

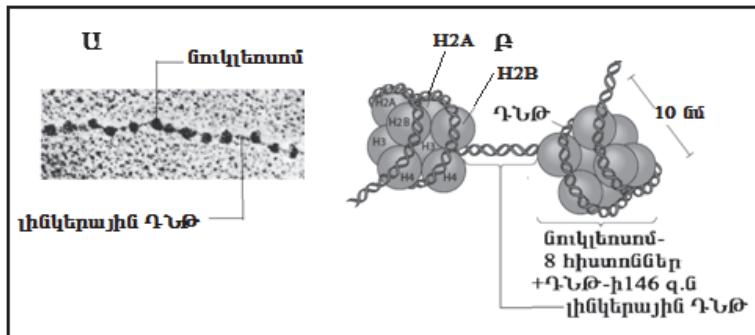
1. F-(ֆերտիլացման) գործոններ – մասնակցում են թղթապատճենի կոնյուգացմանը:
2. R-(դիմադրության) գործոններ – բակտերիայի թղթին տալիս են հակաբիոտիկներին դիմակայելու ունակություն:
3. col-կոլիկինոգեննիկ գործոններ, որոնց շնորհիվ բակտերիայի թղթը կարողանում է արտադրել կոլիկիններ, որոնք սպանում են col-գործոններից գուրկ բակտերիաների թղթները:
4. Վիրուլենտության (վարակատարածման) գործոններ – մեծացնում են բակտերիալ թղթի այն սպիտակուցների և ֆերմենտների արտադրությունը, որոնք հեշտացնում են բակտերիայի թափանցումը տեր-թղթի մեջ և առաջ են բերում հյուսվածքների վնասում:
5. Սեբարովիկ պլազմիդներ – պատասխանատու են այնպիսի ֆերմենտների սինթեզի համար, որոնք անհրաժեշտ են յուրահատուկ մեթաբոլիկ ռեակցիաների համար:
6. Կրիաստիկ պլազմիդներ – պարունակում են բացառապես պլազմիդի վերարտադրությունը և տարածումը ապահովող գեններ:

7.2. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը Էռկարիոտների քրոնոսոմներում

Էռկարիոտների գենոմային ԴՆԹ-ի երկարությունը միջինում հարյուր հազար անգամ ավելի մեծ է թղթի տրամագծից, ինչից բխում է, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի գծային երկարությունը թղթակորիզում կարծանում է փաթեթավորման շնորհիվ, մոտավորապես այնպես, ինչպես մանվածքի գծային երկարությունը փոքրանում է մինչ դրանից փաթեթաված կծկիկի տրամագիծը։ Բջջի նորմալ կենսագործունեության համար չափազանց կարևոր է, որ ԴՆԹ-ի առանձին մոլեկուլներ

(հիշենք, որ յուրաքանչյուր քրոմոտոմ ԴՆԹ-ի մեկ մոլեկուլ է) բջջի բաժանման ժամանակ չխճճվեն, քանի որ դրանք պետք է ճշգրտորեն տարածիտեն դեպի դուստր բջիջներ:

ԴՆԹ-ի խտացումը և քրոմոտոմային կառույցների ձևավորումն իրականացնում են կորիզային հատուկ սպիտակուցները՝ **հիսոռները: ԴՆԹ-հիսոռնային համալիրը կոչվում է քրոմատին:** Ըստ զանգվածի՝ քրոմատինի մոտ 50 %-ը բաժին է ընկնում ԴՆԹ-ին, մնացած 50 %-ը կազմում են սպիտակուցները: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի գծային երկարությունը յուրաքանչյուր քրոմոտոմում միջինում կազմում է 10 սմ: Թեև փարերավորման արյունքում մոլեկուլի երկարությունը հասնում է միկրոչափերի, այնուամենայնիվ մոլեկուլի որոշակի հատվածներ մնում են մատչելի տրանսլիբցիայի, ԴՆԹ-ի կրկնապատկման (ռեպլիկացում), ռեպարացման (վերականգնում) և ռեկոմբինացման համար: 1974 թ. Ադա և Ռոնալդ Օլինսները իրապարակեցին էուկարիոտ բջիջների քրոմատինի էլեկտրոնամանրադիտակային պատկերը, որտեղ քրոմատինը ներկայացված էր միմյանց թելիկներով միացած փոքր կլորավուն մարմնիկների շարանի տեսքով: Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ «հոլուսնրաշար» հիշեցնող կառույցի կլորավուն մասնիկները **ԴՆԹ-հիսոռնային համալիրներ են, որոնք կոչվեցին նուկլեոտոմներ**, իսկ նուկլեոտոմները միացնող ԴՆԹ-ի թելիկները անվանվեցին **լինկերային ԴՆԹ**:



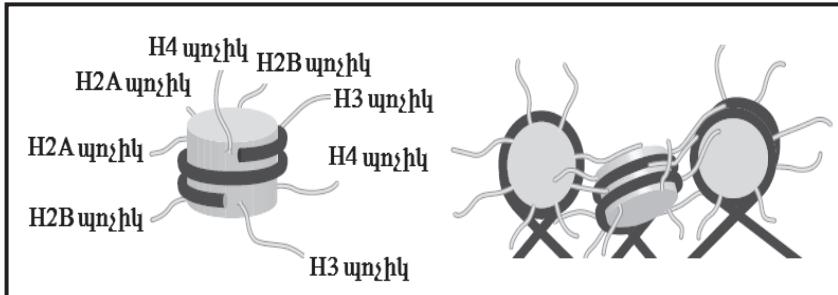
Նկար 43.Ա) քրոմատինի 10 նմ թելիկի էլեկտրոնային մանրադիտակային պատկերը: Բ) Քրոմատինի 10 նմ թելիկի և նուկլեոտոմի կառույցվածքի գծանկար:

Կորնքերգի և Թոմանի հետազոտությունները բացահայտեցին, որ նուկլեոսումները կազմված են հիստոնային օկտամերից, որի շորջը պարուրված է ԴՆԹ-ն: Պարզվեց, որ հիստոնային օկտամերը բաղկացած է միմյանց հետ կապված երկուական H3-H4 և H2A-H2B հիստոնային դիմերներից և ունի սկավառակի տեսք: Նուկլեոսումներում հիստոնները ներկայացված են գրեթե հավասար քանակներով: Հիստոնները կիմնային սպիտակուցներ են, որոնց մոլեկուլը հարուստ է դրական լիցք կրող կիմնային ամինաթթուներով: Դրական լիցքի շնորհիվ հիստոնները կայուն կապ են հաստատում բացասական լիցք կրող ԴՆԹ-ի հետ (ԴՆԹ-ի գումարային լիցքը պայմանավորված է բացասական լիցքավորված ֆուսֆատային խմբերով): Երկվագենս ինների բացակայության պայմաններում անջատված քրոմատինը ներկայացնում է 10 ոմ տրամագծով թելիկ, որում նուկլեոսումները միացած են լինկերային ԴՆԹ-ով (Ակար 43): Նուկլեոսումների շորջը պարուրված ԴՆԹ-ի երկարությունը կազմում է 146 զն: Այդ թելիկը համարվում է քրոմատինի կիմնական կառուցվածքային միավոր: Բացի օկտամերային կամ կորային (միջուկային) հիստոններից՝ քրոմատինային թելիկի կազմի մեջ է մտնում լինկերային ԴՆԹ-ի հետ կապված H1 հիստոնը: Լինկերային ԴՆԹ-ի երկարությունը կարող է փոխվել տեսակից տեսակ 10-90 զն միջակայքում, սակայն միջնում չի գերազանցում 50 զն:

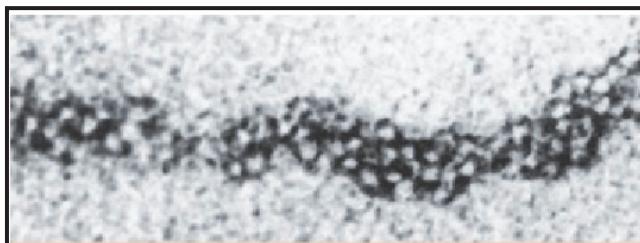
Յուրաքանչյուր կորային հիստոնի մոլեկուլի N-ծայրում, իսկ H3 և H4 հիստոնների մաս Ծ-ծայրերում կամ ամինաթթուներ, որոնք նուկլեոսում մակերևույթից դուրս են «ցցվում»: Դրանք հիստոնների, այսպես կոչված, «պոչիկներն են»: Հիստոն H4-ի պոչիկի 16-րդ դիրքում գտնվող լիզինը խիստ անհրաժեշտ է քրոմատինի թելիկի հետագա փաթեթավորման և ավելի հաստ (30նմ) թելիկի առաջացման համար:

Էուկարիոտների օրգանիզմում, բացի կիմնական կորային հիստոններից, փոքր քանակություններով ներկայացված են այլ հիստոններ (մինորային հիստոններ), որոնք կատարում են խիստ մասնագիտական ֆունկցիաներ: Հիստոնային պոչիկների քիմիական կովալենտ փոփոխություններն և հիստոնների մինորային ձևերն առա-

ջացնում են քրոմատինի տարածական փաթեթավորման բազմաթիվ տարրերակներ:



Նկար 44. Հիստոնային պոչիկների փոխադարձ կապերը քրոմատինի 10նմ թելիկում:



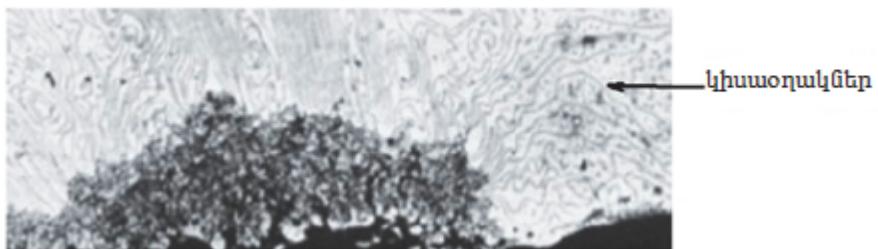
Նկար 45. Քրոմատինի 30 նմ թելիկի մանրապատկեր:

Աղերի ֆիզիոլոգիական կոնցենտրացիաների ներկայությամբ անջատված քրոմատինն ունի 30 նմ տրամագիծ ունեցող թելիկների տեսք, որոնք առաջանում են առաջնային 10 նմ-ոց թելիկների փաթեթավորման արդյունքում (Նկար 44): Քրոմատինի 30 նմ-ոց թելիկում դրական լիցքավորված լիզինային մնացորդները կապված են հարևան նուկլեոտիդի բացասական լիցք կրող H2A- H2B հիստոններին: Կորային հիստոնների պոչիկները կարող են մոդիֆիկացվել (ենթարկվել քիմիական ձևափոխությունների): Հիստոնների կառուցվածքն էվոլյուցիայի ընթացքում գրեթե չի փոխվել: Օրինակ՝ ոլորի H4 հիստոնը տարբերվում է կովի H4 հիստոնից ընդամենը 2 ամինաթթվով: Նման էվոլյուցիոն պահպանողականությունը վկայում է, որ

հիստոնների կազմի յուրաքանչյուր ամինաքրու խիստ կարևոր է կեն-սարանական ֆունկցիաների համար:

Նուկլեոսոմների հոլունքաշարը քրոմատինի փաթեթավորման **առաջին** մակարդակն է: Դրան հետևում է քրոմատինի 30 նմ տրամագծով թելիկի առաջացումը: 30 նմ թելիկը առաջանում է նրա հետևանքով, որ H1 լինկերային հիստոնը, կատարելով ամրակի դեր, միացնում է հարեան նուկլեոսոմները: Նման միացումների շնորհիվ նուկլեոսոմային 10 նմ թելիկի 6-ական նուկլեոսոմային խմբեր պարուրվում են ուղղահայաց առանցքի շորջը՝ առաջացնելով 30 նմ տրամագծով գերպարույր (**փաթեթավորման 2-րդ մակարդակ**):

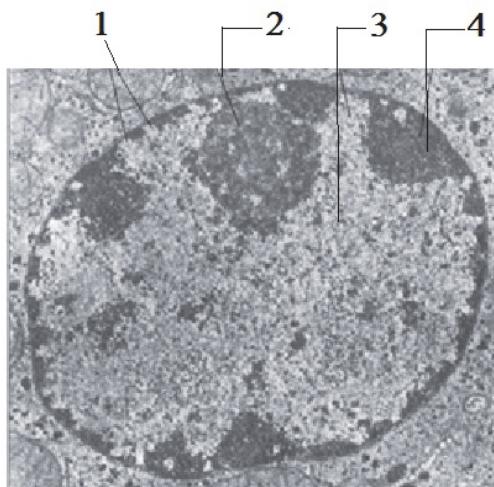
Քրոմատինի փաթեթավորման հաջորդ՝ **3-րդ մակարդակը** 30 նմ թելիկների հետագա պարուրումն է, ինչի հետևանքով առաջանում են 50000-100000 զն երկարությամբ կիսաօղակներից կազմված քրոմատինային դոմեններ: Կիսաօղակներն առաջանում են նրա շնորհիվ, որ **ԴՆԹ-ն** կպումներ է առաջացնում որոշ անլուծելի ոչ հիստոնային սպիտակուցների հետ: Այդ անլուծելի ոչ հիստոնային սպիտակուցները ներկայացնում են քրոմոսոմների սպիտակուցային հենքը կամ կմախքը (նկար 46): Կիսաօղակները առավել ցայտուն են արտահայտված պոլիբենային քրոմոսոմներում, ուր դրանք դրսեորում են տրամակրիապցիայի մեծ ակտիվություն:



Նկար 46. Քրոմատինի կիսաօղակներ
[Hardin J., Bertoni G., Klienshmidt L.G., 8th ed.]:

Քրոմատինի մի մասը միկրոնկարներում ներկայացվում է մուգ գունավորված խտացված շրջանների տեսքով: Քրոմատինի այս խիտ կամ կոնդենսացված շրջաններն անվանվեցին «**հետերոքրոմա-**

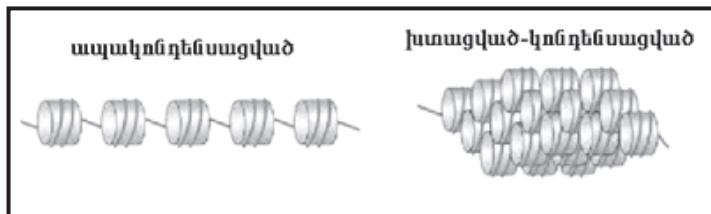
տին»: Ավելի բաց գունավորում ունեցող շրջանները, որոնք խտացված չեն և ունեն ավելի փուխր կառուցվածք, կոչվեցին «**էուքրոմատին»** (նկար 47): Հետերոքրոմատինային ԴՆԹ-ն տրանկսկրիպցիային չի մասնակցում, մինչդեռ էուքրոմատինային ԴՆԹ-ն դրսնորում է տրանկսկրիպցիայի մեծ ակտիվություն: Մեթաբոլիկ մեծ ակտիվություն ունեցող քջիջներում քրոմատինի գերակշռող մասը ներկայացված է էուքրոմատինի ձևով: Երբ քջջը պատրաստվում է բաժանման և նվազեցնում է մեթաբոլիկ ակտիվությունը, քրոմատինը սկսում է խտանալ՝ ի վերջո առաջացնելով լուսային մանրադիտակով տեսանելի քրոմոսոմներ:



Նկար 47. Բջջակորիզի էլեկտրոնային մանրադիտակային պատկերը: 1) կորիզաքաղանթային անցուղի, 2) կորիզակ, 3) էուքրոմատին, 4) հետերոքրոմատին [Hardin J., Bertoni G., Kliensmidt L.G., 8th ed.]:

Քրոմատինի խտացման կամ փաթեթավորման աստիճանը որոշելու համար մշակվել է «**ԴՆԹ-ի խտացման աստիճան»** հասկացությունը, որը հաշվարկվում է հետևյալ կերպ: Որոշում են ԴՆԹ-ի գծային երկարությունը քրոմոսոմում և բաժանում ստացված մեծությունը քրոմոսոմի երկարության վրա: ԴՆԹ-ի պարուրումը նույնականությունը կրճատում է ԴՆԹ-ի երկարությունը մոտավորապես 7 անգամ,

իսկ 30 ոմ թելիկում այն փոքրանում է ևս 6 անգամ: Մարդու բջիջների քաժանումից առաջ քրոմոտոմի միջին երկարությունը կազմում է 4-5 միլիոննետք, իսկ փաթեթավորված ԴՆԹ-ի գծային երկարությունը հասնում է 75 մմ: ԴՆԹ-ի փաթեթավորման աստիճանը մարդու քրոմոտոմում տատանվում է 15 000-20 000:



Նկար 48. Քրոմատինի 10նմ և 30նմ թելիկների կառուցվածքը:

Հետերոքրոմատինը սովորաբար կապված է լինում կորիզաքաղանքի ներքին թերթիկին, գտնվում է կորիզակների շրջանում և յուրահասուկ կորիզային գոտիներում: Քրոմոտոմների ցենտրոմերները, թելուներներն ու ոչ ակտիվ գործող գենները գտնվում են հետերոքրոմատինային գոտիներում: Քրոմոտոմների այլ հետերոքրոմատինային շրջանները, որպես կանոն, կազմված են 30 նմ-ոց թելիկներից: Առավել ակտիվ աշխատող գենները գտնվում են էութրոմատինում:

7.3. Հիսոռների ացետիլացում

Քրոմատինում ակտիվ գործում են (ակտիվ տրանսկրիպցիա) այն շրջանները, որոնք ներկայացված են էութրոմատինի 10 նմ-ոց թելիկներով (նկար 48): Ակնհայտ է, որ գենների և գենային խմբերի ակտիվության կարգավորումը սկսվում է հետերոքրոմատին-էութրոմատին տեղային անցումների կարգավորումից, որոնց հիմքում ընկած են քրոմատինի 10 և 30 նմ-ոց թելիկների փոխադարձ փոխակերպումները:

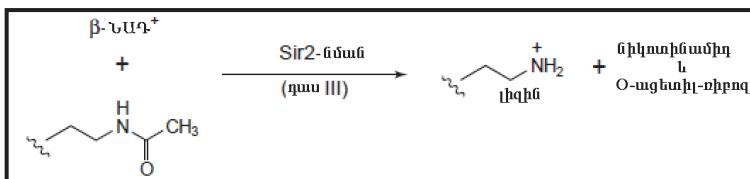
Հիսոռների N-ծայրային պոչիկների լիզինային մնացորդները, ունենալով դրական էլեկտրական լիցք, միանում են հարևան նույներ-

սոմների բացասական լիցք կրող մակերևույթին: Ինչպես վերը նշվել է, նուկեռոտմների նման փոխազդեցությունները կարևոր դեր են կատարում 30 նմ-ոց թելիկի ձևավորման համար (Ակար 44): Հիստոնային պոչիկների գումարային էլեկտրական լիցքը կարող է փոխվել մի քանի քիմիական ձևափոխությունների հետևանքով, ինչը հնարավորություն է տալիս արագ և արդյունավետ իրականացնելու քրոմատինի թելիկի անցումները 30-10 նմ և 10-30 նմ ուղղություններով: Նման քիմիական փոփոխությունների շարքին են պատկանում **ֆոսֆորիլացումը, մերփիլացումը, ացետիլացումը, ուրիխիտինացումը և ԱԿՖ-ոփրոփիլացումը:**

Հիստոնային N-ծայրային պոչիկների **ացետիլացման** հետևանքով քրոմատինի փարեքավորման աստիճանը նվազում է (քրոմատինի համապատասխան հատվածը ապակոնդենսանում) է: Ապակոնդենսացված քրոմատինի **ԴՆԹ-ն** ավելի մատչելի է զանազան սպիտակուցների համար: Դրա մասին են վկայում այն տվյալները, որոնք ցույց են տալիս, որ բջջակորիզների վրա էնդոնուկլեազների ազդեցության ժամանակ նախ և առաջ քայլայվում է էուքրոմատինային շրջանների **ԴՆԹ-ն:** Քանի որ ֆերմենտը կարող է ճեղքել միայն մատչելի մոլեկուլները, պարզ է, որ 10 նմ-ոց թելիկներում **ԴՆԹ-ն** ավելի հասանելի է էնդոնուկլեազի համար: Պարզվեց, որ ակտիվ աշխատող գենների **ԴՆԹ-ն** կապված է ացետիլացված հիստոնների հետ և շատ ավելի զգայուն է **ԴՆ-ազ I-ի** նկատմամբ: Քրոմատինի որոշ շրջաններ գերզգայում են **ԴՆ-ազ I-ի** նկատմամբ՝ քայլայվելով ֆերմենտի ամենափոքր կոնցենտրացիաների կողմից: Քրոմատինի նման հատվածները կոչվեցին **ԴՆ-ազ I գերզգայուն հատվածներ:** Դրանք գտնվում են ակտիվ գործող գենների տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կայքից առաջ մի քանի հարյուր զն հեռավորության վրա:

Բազմաթիվ գենների ակտիվացման համար անհրաժեշտ հիստոնների պոչիկների լիզինային մնացորդների ացետիլացումն իրականացնում են **հիստոն ացետիլ տրանսֆերազները** (HATs- histone transferases): Բացի հիստոններից՝ այս ֆերմենտներն ացետիլացնում են նաև այլ գենների գործարկման համար անհրաժեշտ սպիտակուցների լիզինային մնացորդները և այդ պատճառով հաճախ անվանվում են **կորիզգային լիզին ացետիլ տրանսֆերազներ** (KAT): Հիստոն

դեացետիլազները (HDAs), որոնք հեռացնում են ացետիլ խմբերն ացետիլազված հիստոններից, առաջ են թերում քրոմատինային թելիկի փաթեթավորման խտացում, ինչին հետևում է կոնդենսացված շրջանում գտնվող գեների ռեպրեսիան (տրանսկրիպցիայի արգելակում): Նկար 49-ում պատկերված է հիստոն դեացետիլազների տիպին դասվող սիրտուինների ընտանիքի դեացետիլազներից մեկի գործունեության մեխանիզմը:



Նկար 49. Sir-ընտանիքի (սիրտուինների ընտանիք) հիստոն դեացետիլազ ֆերմենտի գործունեության մեխանիզմը:

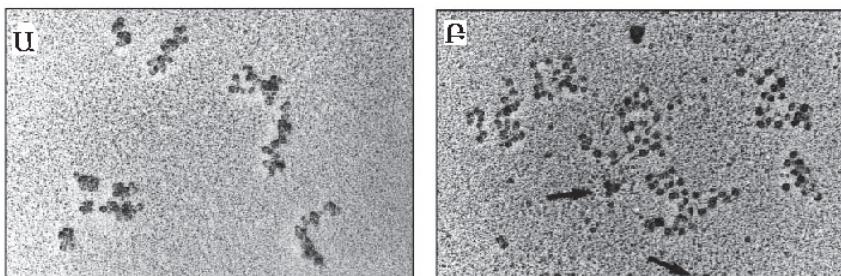
7.4. Հիստոնների մեթիլացում, ֆուֆորիլացում, ԱԿՖ-որբուզիլացում և ուրիշիտինացում

Գենոմի որոշակի հատվածների տրանսկրիպցիան կարող է կարգավորվել նաև հիստոնների **մեթիլացմամբ**: Հիստոնային պոչիկների լիզինային մնացորդների ϵ -ամինախմբերի մեթիլացումը ապահովում է պոչիկի գումարային լրական լիցքը և ուժեղացնում է կապը հարևան նուկլեոտիդ բացասական լիծքավորված մակերևույթի հետ: Լիզինային մնացորդների ϵ -ամինախմբերի ազոտները կարող են մեթիլացվել մեկ, երկու կամ անգամ երեք անգամ: Հիստոնային պոչիկների դրական լիցքի պահպաննանը նպաստում է նաև արգինինային մնացորդների կողքային շղթաների մեթիլացումը:

Եթե հիստոնների պոչիկները ներկայացված են սերինով կամ տրեոնինով, ապա ամինաթրուների հիդրօքսիլ (-OH) խումբը կարող է ներարկվել դարձելի **ֆուֆորիլացման**, ինչը պոչիկներին բացասական լիցք է հաղորդում: Լիցքի յուրաքանչյուր փոփոխություն ազդում է այն ոչ հիստոնային սպիտակուցների կապման վրա, որոնք, միանալով քրոմատինի թելիկին, կարգավորում են վերջինիս կոնդենսա-

վորման (խտացման) աստիճանը և ԴՆԹ-ի մատչելիությունը տրանկրիպցիայի, ռեպլիկացման կամ ռեպարացման (վերանորոգման) գործոնների համար: H2A և H2B հիստոնների C-ծայրային ամինաթրուն կարող է դարձելիորեն կապվել 76 ամինաթրվային մնացորդներից բաղկացած **ուրիշիտին** կոչվող սպիտակուցի հետ (մննողուրիշիտինացում): Հայտնի է, որ եթե որևէ սպիտակուցի հետ կապվում են ուրիշիտինի մի քանի մոլեկուլներ, սպիտակուցը քայցայփում է պրոտեոսմային համալիրի կողմից: Կապվելով ուրիշիտինի **մեկ մոլեկուլի** հետ՝ հիստոնները չեն քայցայփում, սակայն փոխվում է այլ սպիտակուցների հետ հիստոնների փոխազդեցույցան որակը:

Հիստոնների պոչիկների հետարանայացիոն քիմիական կարևոր ձևափոխություններից է **պոլի-ԱԿՖ-ոփրոզիլացումը**: Պոլի-ԱԿՖ-ոփրոզիլացումն իրականացնում է պոլի-ԱԿՖ-ոփրոզ պոլիմերագ 1 ֆերմենտը (ՊԱՌ-Պ 1): Քայրայելով $\text{N}^{\text{Ac}}\text{-}\text{G}$ -ֆերմենտը տեղափոխում է ԱԿՖ-ոփրոզի մնացորդը հիստոնային պոչիկի գլուտամինի կարբօսիլ խմբի վրա և հաջորդաբար ավելացնելով ԱԿՖ-ոփրոզային մնացորդների քանակը հիստոնային պոչիկին՝ ստեղծում է բացասական լիցրավորված ԱԿՖ-ոփրոզի պոլիմերային երկար շղթա: Հիստոնների նման ձևափոխությունը մի կողմից արգելակում է մեթիլացումը և քրոմատինի համապատասխան շրջանի խտացումը, մյուս կողմից, բացասական լիցք տալով պոչիկներին՝ վանում է հարևան նույնական և ապակոնդենսավորում քրոմատինը (նկար 50):



Նկար 50. Քրոմատինային թելիկների էլեկտրոնային մանրադիտարկման պատկեր: Ա) Քրոմատինը խտացված է; Բ) քրոմատինը ՊԱՌ-Պ 1-ի ազդեցույցունից հետո ապա կոնդենսանում է և ներկայանում 10 նմ տրամագծով թելերի տեսքով [Rouleau et al, Journal of Cell Science, 2004]:

7.5. Հիսոտնների դերը քրոմատինի կոնդենսավորման մեջ: Հիսոտնային գաղտնագիր (կող)

Քրոմատինի կառուցվածքն ընդհանուր է բոլոր էուկարիոտ բջիջների համար, ինչը վկայում է, որ այն ամրագրվել է էուկարիոտ բջիջների էվոլյուցիոն զարգացման ամենավաղ փուլում: H2A, H2B, H3 և H4 հիսոտնների ամինաթթվային կազմը ցուլի և ծովաստղի մոտ տարրերվում է ընդամենը 1 ամինաթթվով, իսկ ոլորից՝ 4 ամինաթթուներով: Հակառակ դրան՝ H1 հիսոտնի ամինաթթվային կազմը տարրեր տեսակների մոտ ավելի փոփոխական է: Ամինաթթվային առաջնային հաջորդսկանության էվոլյուցիոն պահապանողականությունը, ամենայն հավանականությամբ, արտացոլում է այն փաստը, որ առաջնային շղթաները առաջացնում են գրեթե նման երրորդային կառուցվածքներ, որոնք և ապահովում են հիսոտնների կենսաբանական ֆունկցիաները: Ողնաշարավորների մոտ, բացի հիսոտնների հիմնական խմբերից, առկա են նաև փոքրաքանակ, այսպես կոչված, «մինորային» հիսոտններ: Օրինակ՝ քրոմոսոմների որոշ շրջաններում գտնվող նուկլեոսումների կազմում H2A-ը փոխարինված է H2AX տարրերակով: Եթե տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի երկշղթա կտրվածք, H2AX-ը փոխրիացվում է և դառնում ԴՆԹ-ի ռեպարացման գործընթացների մասնակից՝ հավանաբար գրավելով ԴՆԹ-ի ռեպարացման սպիտակոցների համալիրը դեպի վնասված կայքը: Ենթարումներում H3 հիսոտնի փոխարեն նուկլեոսումների կազմի մեջ ընդգրկված է CNEP-A հիսոտնը, որին ամրանում են միտոտիկ իլիկի թելիկները:

Բազմաթիվ գեների ակտիվությունը կարգավորող շրջանները գուրկ են նուկլեոսումային կառուցվածքից և գերզգայուն են ԴՆազ I-ի հանդեպ: Նման հատվածները երկու ծայրերից եզրափակվում են նուկլեոսումներով, որոնց կորային հիսոտն H2A-ն փոխարինված է H2AZ մինորային տարրերակով: Ենթարրվում է, որ H2AZ պարունակող նուկլեոսումները հեշտությամբ ապամոնտաժվում են (քանդվում է կառուցվածքը):

Հիստոնների պոչիկների քիմիական ձևափոխություններն ազդում են քրոմատինի խտացման և ապակոնդենսացման վրա՝ պայմանավորելով քրոմատինի ակտիվ տրանսկրիպցիայի, ուղղիկացման և նորոգման ձևուն կարգավորումը:

Հետերոքրոմատինում H3 հիստոնի պոչիկի 9-րդ կամ 27-րդ լիգինները մերիլացված են, մինչդեռ էութրոմատինում H3 հիստոնի պոչիկի լիզինային մնացորդները ացետիլացված են, իսկ սերինային մնացորդները՝ ֆոսֆորիլացված: Հետերոքրոմատինի H4 հիստոնային պոչիկների 16-րդ լիզինը դեացետիլացված է, ինչի շնորհիվ դրանք կապվում են հարևան նուկլեոսումներ՝ կազմավորելով 30 ոմ-ոց թելիկը: Նուկլեոսոմի կորային հիստոնները կարող են կրել ոչ թե մեկ, այլ մի քանի քիմիական ձևափոխություններ: Դա նշանակում է, որ հիստոնների մոլեկուլի տարրերը դիրքերում գտնվող ամինաքրուները կարող են մերիլացվել, ֆոսֆորիլացվել և այլմ ստեղծելով քիմիական ձևափոխությունների համադրությունների նոր տարրերակներ: Հիստոնների քիմիական ձևափոխությունների բազմազանությունը բույլ է տալիս ենթադրություն անել, այսպես կոչված, «հիստոնային գաղտնազրի կամ «կողի» գոյության մասին: Հիստոնային կողն ազդում է քրոմատինի ակտիվության վրա՝ ստեղծելով կամ վերացնելով այն կայքերը, որոնց միանում են քրոմատինի ֆունկցիաները կարգավորող սպիտակուցները:

Հիստոնային պոչիկների քիմիական ձևափոխությունների միջոցով գաղտնազրված տեղեկատվությունը «Վերծանվում» կամ «ընթերցվում է» հատուկ սպիտակուցներով: Այդ սպիտակուցները միանում են հիստոնների ձևափոխված պոչիկներին և կոնդենսացնում կամ ապակոնդենսացնում քրոմատինը՝ կազմավորելով քրոմատինի «քաց» և «փակ» կառույցներ, որոնք, ինչպես հայտնի է, տարրերվում են ԴՆազ 1-ի հանդեպ դրսնորվող զգայնությամբ: Բարձրակարգ էուկարիոտներին հատուկ են սպիտակուցներ, որոնք ունեն «քրոմոդրոմնեններ»: Քրոմոդրոմնենները բնորոշվում են նրանով, որ միանում են հիստոնային պոչիկների մերիլացված լիզիններին: Նման սպիտակուցներից է HP1 հետերոքրոմատինային սպիտակուցը: HP1-ի քրոմոդրոմնենը միանում է H3-ի N-ծայրային պոչիկին միայն այն դեպքում, եթե նրա 9-րդ լիզինը եռմերիլացված է: Քրոմոդրոմնենի հետ մեկտեղ

HP1-ն ունի նաև երկրորդ «քրոմշղող» կոչվող դոմեն: Քրոմշղողը կարող է միանալ մերիլ տրանսֆերազի հետ, որը մերիլացնում է հարևան նուկլեոսն Հ3-ի 9-րդ լիզինը: Այսպիսով՝ HP1-ին կապված հետերոքրոմատինի հարակից շրջանների հիստոնային պոչիկների 9-րդ լիզինները նույնապես մերիլացվում են: Այս գործընթացի հաջորդական կրկնությունը (HP1-ի քրոմոդոմենի միացում Հ3-ի պոչիկի 9-րդ եռմերիլացված լիզինին, քրոմշղողի միացում մերիլ տրանսֆերազին, հարևան նուկլեոսնի պոչիկի 9-րդ լիզինի մերիլացում) հանգեցնում է հետերոքրոմատինային շրջանի ընդլայնմանը՝ «հետերոքրոմատինացմանը»: Գործընթացը շարունակվում է քրոմոսոմի երկայնքով մինչ սահմանային տարրերը քրոմատինի այն շրջաններն են, որոնց միացած ոչ հիստոնային սպիտակուցներն արգելակում են հիստոնների մերիլացումը: Վերը նկարագրված հետերոքրոմատինացման գործընթացի շնորհիվ միտոզից հետո դուստր քիչներում տեղի է ունենում նույնատիպ հետերոքրոմատինացված շրջանների ձևավորում: ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո եռմերիլացված Հ3 հիստոններն ու հիստոնային օկտամերների մյուս անդամները հավասարապես բաշխվում են դուստր քրոմոսոմներում: Եռմերիլացված Հ3-ի հետ կապված HP1-ը սկիզբ է դնում հետերոքրոմատինացմանը վերը նկարագրված ճանապարհով: Այսպիսով՝ հետերոքրոմատինացումը իրականանում է «էպիզենտիկական կոդրվ», որը կախված է ոչ թե ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականությունից, այլ պայմանավորված է դուստր քիչներում միևնույն գեների ակտիվության ընտրողական արգելակմամբ:

Էուքրոմատինին նույնապես բնորոշ է փոխազդեցություն հատուկ սպիտակուցների հետ: Օրինակ՝ **քրոմոդոմեներ** ունեցող սպիտակուցները կապվում են ացետիլացված հիստոններին և այդ պատճառով գտնվում են տրանսկրիպցիայի բարձր ակտիվություն դրսերող էուքրոմատինային շրջաններում: Քրոմոդոմեններ է պարունակում տրանսկրիպցիայի գործոն TFIID-ի մեծ միավորը: Քրոմոդոմեններ պարունակող սպիտակուցներն օժտված են ացետիլազային ակտիվությամբ և պահպանում են հիստոնների գերացետիլացված վիճակը, ինչը հնարավորություն է տալիս ակտիվացնելու քրոմատինի համապատասխան հատվածի տրանսկրիպցիան: Այսպիսով՝ էպիզե-

նետիկական կողի առկայությունն արդեն վաղ սաղմնային զարգացման փուլում որոշում է հետերքրոմատինի և էուքրոմատինի տարրեր բաշխվածությունը տարաբնույթ բջիջներում՝ կանխորոշելով դրանցում ակտիվ գործող գեների հավաքակազմը:

7.6. Էպիգենետիկական ժառանգում

X քրոմոսոմի արգելակումը կաթնասունների էգերի օրգանիզմում էպիգենետիկական կարգավորման վառ օրինակ է: Էգերի երկու X քրոմոսոմներից մեկը ժառանգվում է մայրական, մյուսը՝ հայրական օրգանիզմներից: Իգական սեռի սաղմերի զարգացման վաղ փուլում տեղի է ունենում X քրոմոսոմներից մեկի անդարձելի խտացում (կոնդենսացում), ընդ որում՝ քրոմոսոմների նման կոնդենսացումը պատահական բնույթ է կրում: Այս ճանապարհով չեզոքացվում է երկրորդ X քրոմոսոմում գտնվող ավելցուկային գեների գործունեությունը: Քանի որ արգելակումը կրում է պատահական բնույթ, ապա մի դեպքում դրան ենթարկվում է հայրական X քրոմոսոմը (Xh), մյուս դեպքում՝ մայրականը (Xm): Այսպիսով՝ հասուն էգ օրգանիզմների սումատիկ բջիջները քիմերներ են, որոնց մի մասը կրում է Xh, իսկ մյուս մասը՝ Xm քրոմոսոմներ: Արգելակված X քրոմոսոմի հիստոններին բնորոշ են հետերքրոմատինին հասուկ քիմիական ձևափոխություններ՝ լիզինների հիպոացետիլացում (ացետիլացման ցածր մակարդակ), հիստոն H3-ի 9-րդ լիզինի երկմեթիլացում և եռմեթիլացում, լիզին 27-ի եռմեթիլացում: X քրոմոսոմի արգելակումը կարգավորվում է նոյն քրոմոսոմում գտնվող **արգելակման կենտրոնի** կողմից: Արգելակման կենտրոնում գտնվում է **Xist** գենը, որը գաղտնագրում է երկար, սպիտակուց չկոդավորող Ω-ՆԹ: Այդ Ω-ՆԹ-ն կարող է փոխադրել միայն X քրոմոսոմի հետ՝ դրանով իսկ ուժգնացնելով լոեցման գործընթացը: X քրոմոսոմի արգելակման գործընթացին մասնակցում է նաև **Polycomb** (Պոլիքոմբ) կորիզային սպիտակուցային համալիրը: Պոլիքոմբ սպիտակուցային համալիրի ենթամիավորներից մեկը պարունակում է քրոմոդրոմն, որը կապվում է հիստոն H3-ի եռմեթիլացված լիզին 27-ի հետ: Պոլիքոմբ համալիրի մեկ այլ ենթամիավոր ունի

մերիլ տրանսֆերազային ակտիվություն, որը եռմերիլացնում է մոտակա 27-րդ դիրքում գտնվող լիզինը՝ տարածելով հետերոքրոմատինացման գործընթացը X քրոմոսոմի երկայնքով: Սերիլացման գործընթացի մեջ է ներքաշվում նաև ‘ԴՆԹ-ն, և արդյունքում X քրոմոսոմի գեների ակտիվությունը վերահսկվում է ոչ թե ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականություններով, այլ քրոմատինի կոնդենսացման աստիճանով, ինչը էակիցնետիկ կարգավորման դասական օրինակ է:

Էակիցնետիկական փոփոխությունների հիմքում կարող են ընկած լինել ոչ միայն հիստոնների քիմիական ձևափոխությունները, այլև ԴՆԹ-ի մերիլացումը, քրոմատինի կոնդենսացման աստիճանը, յուրաքանչյուր բջջային պոպուլյացիայում գործող տրանսկրիպցիայի գործոնները, որոնց հավաքակազմը մենահատուկ է տվյալ հյուսվածքին: Օրինակ՝ լիմֆոիդ և միելիոիդ բնային բջիջները գենետիկորեն նույնն են, բայց տարբերվում են էակիցնետիկորեն: Այդ էակիցնետիկական տարբերությունների պատճառը յուրահատուկ տրանսկրիպցիայի գործոնների առկայությունն է: Տրանսկրիպցիայի գործոններով պայմանավորված՝ գեների ակտիվությունների փոփոխությունը կարող է պահպանվել բջջային բազմաթիվ բաժանումների ընթացքում կորային հիստոնների քիմիական ձևափոխությունների և ԴՆԹ-ի մերիլացման շնորհիվ: Հիստոնների հետաքանայցիոն ձևափոխությունները և ԴՆԹ-ի մերիլացումը այն հիմնական մեխանիզմներն են, որոնք պատասխանառու են էակիցնետիկական ժառանգականության համար:

7.7. ԴՆԹ-ի մերիլացում: Էակիցնետիկական արգելակում ԴՆԹ-ի մերիլացման ճանապարհով

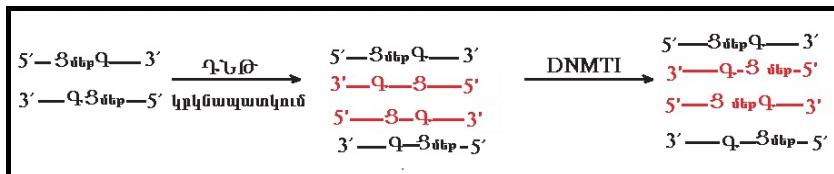
Կարնասունների գեների պրոմոտորների (գենի հատված, որին միանում է Ռ-ՆԹ պոլիմերազը) մեծամասնությունը ներկայացված է ՅֆԳ կղզյակների ձևով (ԴՆԹ-ի հատված, որը հարուստ է ցիտոզինով, որը ֆոֆոերային կապով միացած է գուանինին): Ակտիվ գե-

Աերի ՑֆԳ պրոմոտորների ցիտոզինը մեթիլացված չէ, և այդ պրոմոտորների շրջանում նուկլեոտումները բացակայում են:

Մեթիլացման հետևանքով՝ ԴՆԹ-ի ցիտոզինային հիմքերին միացվում են մեթիլ խմբեր: Գրեթե բոլոր ողնաշարավորների ԴՆԹ-ի մի փոքր մասը մեթիլացված է, և, որպես կանոն, այդ մեթիլացված ԴՆԹ-ն գտնվում է գեների ՑֆԳ պրոմոտորների շրջանում: Պրոմոտորային շրջանների մեթիլացումը կարող է հետապնդել 2 նպատակ՝

1. արգելակել տրանսկրիպցիան խթանող սպիտակուցների միացումը,
2. ստեղծել հարթակ քրոմատինը կոնդենսացնող սպիտակուցների միացման համար:

Քրոմատինը կոնդենսացնող սպիտակուցների բվին են պատկանում **մեթիլ-ՑֆԳ-կապող սպիտակուցները (MBDs-methyl CpG-binding proteins)**: Այս սպիտակուցները միանում են հիստոն դեացետիլացմներին և արգելակում քրոմատինը ռեմոդելավորող համալիրների աշխատանքը՝ հանգեցնելով տրանսկրիպցիայի արգելակմանը: ԴՆԹ-ի մեթիլացումն իրականացնում են **DNMT3a** և **DNMT3b** ֆերմենտները: Ներկայումս պարզ չէ, թե ինչպես են այս ֆերմենտները ուղղորդվում դեպի ՑֆԳ պրոմոտորները, սակայն հայտնի է, որ մեթիլացված վիճակը պահպանվում է ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո DNMT1 մեթիլազի գործունեության շնորհիվ (նկար 51):



Նկար 51. ԴՆԹ-ի մեթիլացումը մոլեկուլի կրկնապատկումից հետո: Եթե քիչների բաժանմանը նախորդող ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո նորագոյացած ԴՆԹ-ի շղաներից մեկը մեթիլացված է (ծնողական շղան), ապա DNMT1 մեթիլազը մեթիլացնում է նորագոյացած շղաների (նշված են կարմիր գույնով) ցիտոզինային հիմքերը:

DNMT1 մեթիլազի շնորհիվ ԴՆԹ-ի մեթիլացված վիճակը պահպանվում է մոլեկուլի կրկնապատկումներից հետո և փոխանցվում է սերնդից սերունդ: Մեթիլացված ԴՆԹ-ի շրջաններում դիտվում են քրոմատինի տեղային կոնդենսացում և գեների լուցում (տրանսկրիպցիայի արգելակում): Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի մեթիլացումը հնարավոր է դարձնում որոշակի գեների կամ գեների խմբերի ակտիվության նույնատիպ կարգավորումը տարբեր սերունդներում՝ առանց փոխելու ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային կողքը: ԴՆԹ-ի մեթիլացումը մեծ դեր է կատարում իգական երկրորդ X քրոմոսոմի կոնդենսացման և գեների արգելակման գործում:

ԴՆԹ-ի մեթիլացումը ունի հյուսվածքային սպեցիֆիկություն: Ինչպես ցույց են տվել ուստրիկտազային վերլուծության արդյունքները, մեթիլացման կայքերը տարբեր հյուսվածքներում ունեն տարբեր դասավորություն: Օրինակ՝ ՑՓԳ-կողյակները գլոբուլային գենի պրոմոտորի շրջանում մեթիլացված են այն հյուսվածքներում, որոնցում հեմոգլոբին չի արտադրվում, բայց մեթիլացված չեն էրիթրոցիտներում:

ԴՆԹ-ի մեթիլացումը մեծ դեր է խաղում «գենոմային ինֆրինտինգ» կոչվող գործընթացում: **Գենոմային ինֆրինտինգը գեների ակտիվության այնային փոփոխությունն է,** որը կախված է նրանից, թե գենը, որ ծնողից է ժառանգվել: Օրինակ՝ որոշ գեների կարող են ակտիվ լինել, եթե ժառանգվում են մայրական օրգանիզմից և հակառակ՝ արգելակված լինել, եթե ժառանգվում են հայրական օրգանիզմից: Նման տարբերությունների հիմքում ընկած են ԴՆԹ-ի մեթիլացման տարբերությունները հայրական և մայրական օրգանիզմներում: Մարդու մոտ 15-րդ քրոմոսոմում գտնվող որոշ գեների ԴՆԹ-ի մեթիլացումը, որը ժառանգվում է հայրական կողմից, հանդես է գալիս միջին մտավոր տկարության, բարձր ախտրժակի և գիրացման (**Պրադեր-Ռիլլիի ախտանիշ**) պատճառ: Եթե նույն գեները արգելակված են մոր կողմից ժառանգված քրոմոսոմում, առանձնյակի մոտ ի հայտ է գալիս **Անգելմանի ախտանիշը՝** հաճախակի ծիծառ և ժայխ, ձեռքերի անկանոն շարժումներ: Միաձվանի երկվորյակների զննումը բացահայտեց, որ ԴՆԹ-ի մեթիլացման բնույթը կարող է փոխվել արտաքին միջավայրի ազդեցության հետևանքով:

7.8. Ոչ հիստոնային սպիտակուցներ

Հիստոնային սպիտակուցները քրոմատինի հիմնական կառուցվածքային սպիտակուցներն են: Քրոմատինային թելիկների հետ կայուն կամ ժամանակավոր փոփոխվող կապերի մեջ են մտնում բազմաթիվ ոչ հիստոնային սպիտակուցներ, որոնք մեծ նշանակություն ունեն թե՛ փարեբավորման բարձր մակարդակների կազմավորման, թե՛ քրոմատինի փունկցիաների կարգավորման մեջ: Քրոմատինի կիսաօղակների հիմքերը միացած են քրոմոսոմների հենքային սպիտակուցներին (**SAR-scaffolds associated regions**) կամ կորիզային մատրիքսի լամիններին (թելիկներին) (**MAR-matrix associated regions**): Կիսաօղակների միացման կետերում քրոմատինը խիստ կոնդենսացված է: SAR/MAR-երը, որպես կանոն, գտնվում են տրանկրիզցիայի տարրեր միավորների կամ գենների միջև, որոնք դասավորված են կիսաօղակի վրա: Հաճախ դրանք կատարում են մեկուսիչի (**իմսուլյատորի**) դեր՝ միմյանցից անջատելով հարեւան գենները: Ինտերֆազային քրոմոսոմների կիսաօղակները կարող են աճրանալ քրոմատինի **SMC սպիտակուցներին** (**structural maintenance of chromatin**): SMC սպիտակուցներն ապահովում են քրոմոսոմների խիստ կոնդենսացված վիճակը միտոզի ընթացքում:

Հիստոնների ընդիանուր գանգվածը քրոմատինի կազմում գրեթե նույնն է, ինչ դրանց հետ կապված ԴՆԹ-ի գանգվածը: Ինտերֆազային քրոմատինն ու մետաֆազային քրոմոսոմները պարունակում են նաև հազարավոր այլ սպիտակուցներ, որոնցից շատերը պայմանավորում են տրանկրիզցիայի ակտիվությունը (**տրանսկրիզցիայի գործոններ**): Շատ ավելի քիչ քանակով քրոմատինում ներկայացված են ԴՆԹ-ի կրկնապատկման գործներացի կարգավորմանը մասնակցող սպիտակուցները: Մի քանի յուրահատուկ ոչ հիստոնային սպիտակուցներ ներկայացված են շատ ավելի մեծ քանակությամբ, քան տրանսկրիզցիայի գործոնները կամ ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը և միտոզը կարգավորող սպիտակուցները: Այս սպիտակուցների էլեկտրաֆորետիկ բաժանումը ցույց տվեց, որ դրանք էլեկտրաֆորետիկուն արագաշարժ են, ինչի պատճառով նշանակած սպիտակուցներն անվանվեցին **բարձր շարժունակությամբ սպիտակուցների խումբ** (high-

mobility group proteins-HMG): HMG սպիտակուցներով հարուստ է Էոքրոմատինը: Ենթաղրվում է, որ HMG սպիտակուցները, միանալով քրոմատինին, դուրս են մղում H1 հիստոնը, 30 նմ-ոց քրոմատինային թելիկներն ապապարուրվում են, և քրոմատինը ապակոնդենսանում է: Էոքրոմատինից HMG սպիտակուցները հեռացնելուց հետո ակտիվ աշխատող գեները կորցնում են ԴՆազ 1-զգայունությունը, ինչը վկայում է քրոմատինի համապատասխան հատվածների կոնդենսացման մասին:

7.9. Քրոմատինի ռեմոդելավորում

Քրոմատինի խտացման (կոնդենսացման) աստիճանը կախված է ոչ միայն բուն նուկլեոսունային կառուցվածքից, այլև հարևան նուկլեոսունների միջև գործող փոխադարձ կապերից, որոնք պայմանավորում են միջնուկլեոսունային հեռավորությունը: Քրոմատինի կոնդենսացման վրա ազդում է նաև նուկլեոսունների դիրքի փոփոխությունը կամ «նուկլեոսունների սահք» կոչվող երևույթը: Նուկլեոսունների դիրքի փոփոխությունն իրականացնում են հատուկ քրոմատին-ռեմոդելավորող սպիտակուցները: Ի տարրերություն քրոմատին-ռեմոդելավորող սպիտակուցների՝ ռեմոդելավորող սպիտակուցները քիմիապես չեն ձևափոխում հիստոնները, ԴՆԹ-ն կամ ոչ հիստոնային սպիտակուցները:

SWI/SNF ընտանիքի ԱԵՖ-կախյալ սպիտակուցները կազմում են քրոմատին ռեմոդելավորող սպիտակուցների կարերագույն խումբը: Սիանալով քրոմատինի այս կամ այն հատվածին՝ այս ընտանիքի սպիտակուցները, օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, տեղաշարժում են նուկլեոսունը թելիկի երկայնքով: ԴՆԹ-ն կարող է վայր սահել նուկլեոսունի կորային հիստոնների մակերևույթից, և կորային հիստոնները ազատ են արձակվում: SWI/SNF սպիտակուցներն ունեն հատուկ դոմեն, որով միանում են հիստոնների ացետիլացված պոչիկներին՝ միավորելով հիստոնների քիմիական փոխակերպումները (մոդիֆիկացումը) ռեմոդելավորման գործընթացին: SWI/SNF համալիրի այն ենթամիավորը, որը մեղքավորում է ԱԵՖ-ն, օժտված է

հելիկազային ակտիվությամբ և միանում է թե՛ կորային իխսոններին, թե՛ դրանց շուրջը պարուրված ԴՆԹ-ին: Օգտագործելով ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի էներգիան՝ այդ ենթամիավորը տեղաշարժում է ԴՆԹ-ն իխսոնային միջուկի նկատմամբ՝ քուլացնելով ԴՆԹ-նուկլեոտումային միջուկ փոխադարձ կապը: Կրկնվող գործողությունների շնորհիվ նուկլեոտումը տեղաշարժվում է (սահելով) քրոմատինի թելիկի երկայնքով: ԱԵՖ-կախյալ քրոմատինի ռենորելավորման կոմպլեքսները բազմազան են և կարող են բաղկացած լինել 10 կամ ավելին ենթամիավորներից: Այս կոմպլեքսների շնորհիվ քրոմատինի նուկլեոտումային կառուցվածքն արագորեն հարմարվում է բջջի ընթացիկ պահի կարիքներին:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Bannister A. J., Kouzarides T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res.* 21:381-395.
2. Bernstein B. E., A. Meissner, Lander E. S. (2007). The mammalian epigenome. *Cell*, 128:669-681.
3. Hardin J., Bertoni G., Kleinhsmith L. J. (2012). Becker's World of the Cell, 8th edition, Benjamin Cummings, USA.
4. Horn P. J., Peterson C. L. (2006). Heterochromatin assembly: a new twist on an old model. *Chromosome Res.* 14:83-94.
5. Hibner M. R., Spector D. L. (2010). Chromatin Dynamics Annu Rev Biophys. 9; 39: 471–489.
6. Journal of Cell Science, 1,117, (6),815-825.
7. Kurdisrani S. K. (2011). Histone modifications in cancer biology and prognosis. *Prog. Drug Res.* 67:91-106.
8. Luger K. (2006). Dynamic nucleosomes. *Chromosome Res.*14:5-16.
9. Luger K., Richmond T. (1998). The histone tails of the nucleosome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8:140-146.

10. Redon C., Pilch D., Rogakou E., Sedelnikova O., Newrock K., Bonner W. (2002). Histone H2A variants H2AX and H2AZ. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 12, 162-169.
11. Rouleau M., Aubin R., Poirier G. G. (2004). Poly(ADP-ribosyl)ated chromatin domains: access granted.
12. Wu J. and Grunstein M. (2000). 25 years after the nucleosome model: chromatin modifications, *Trends Biochem. Sci.* 25, 619-623.
13. Zimmer A. (1992). Manipulating the genome by homologous recombination in embryonic stem cells. *Ann. Rev. Neurosci.* 15:115.
14. Zlatanova J., Caiafa P. and van Holde K. (2000). Linker histone binding and displacement: versatile mechanism for transcriptional regulation. *FASEB J.* 14, 1697-1704.

ԳԼՈՒԽ 8

ԳԵՆԵՐԻ աշխատանքի կարգավորում տրանսկրիպցիայի ակտիվության վերահսկման միջոցով

Բջիջների կառուցվածքն ու գործունեությունը պայմանավորված են սպիտակուցների հավաքակազմով: Վերահսկելով տրանսկրիպցիան՝ բջիջները կարողանում են կարգավորել տվյալ ժամանակահատվածի և գործունեության որոշակի փուլի համար անհրաժեշտ սպիտակուցների որակական և քանակական կազմը: Այս կամ այն գենի տրանսկրիպցիայի արգելակման կամ **ռեպրեսիայի** հետևանքով փոքրանում է համապատասխան ի-ՌՆԹ-ի քանակությունը, և նվազում է այդ ի-ՌՆԹ-ով կողավորված սպիտակուցի կամ սպիտակուցների սինթեզի հզորությունը:

Գեների աշխատանքը դրսևորվում է բարդ գործընթացի ձևով, որի առաջին փուլում ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվությունն արտապայում է ՌՆԹ-պատճենների ձևաչափով: Սպիտակուցների պոլիաբստիլային շղթայում ամինարքուների հաջորդականությունը գաղտնագրող տեղեկատվությունը պատճենվում է ինֆորմացիոն կամ միջնորդ ՌՆԹ-ների մոլեկուլներում (ի-ՌՆԹ կամ մ-ՌՆԹ), իսկ ոիրունմային և փոխադրիչ ՌՆԹ-ների գեների տեղեկատվությունը պատճենվում է ո-ՌՆԹ-ների և փ-ՌՆԹ-ների ձևով: ՌՆԹ-պատճենների ձևափորումից հետո ի-ՌՆԹ-ները, ո-ՌՆԹ-ները և փ-ՌՆԹ-ները իրականացնում են սպիտակուցի սինթեզը՝ փոխակերպելով ի-ՌՆԹ-ների նուկլեոտիլային հաջորդականություններով գաղտնագրված տեղեկատվական ազդանշանները համապատասխան ամինարքվային հաջորդականությունների սինթեզով պոլիաբստիլային շղթայում: **Գենի էքսպրեսիան վերջնանյութի սինթեզն է (գեն-պրոդուկտ), որը կարող է ներկայացնել սպիտակուցի պոլիաբստիլային շղթա, ո-ՌՆԹ կամ փ-ՌՆԹ:**

Սպիտակուցներ կողավորող գեների էքսպրեսիան բազմափուլ գործընթաց է, որը կարգավորվում մի քանի մակարդակների վրա՝

1. տրանսկրիպցիայի մեկնարկ,
2. ՌՆԹ-ի էլոնգացման փուլ,

3. ՈՆԹ-ի հասունացում (պրոցեսինգ),
4. բջջակորիզից ցիտոպլազմ ՈՆԹ-ների տեղափոխություն,
5. տրանսլյացիայի փուլ:

Տրանսկրիպցիայի մեկնարկային և ՈՆԹ-ի էլուզացման փուլերն ունեն առանցքային նշանակություն, և դրանց կարգավորումը պայմանավորում է գենների աշխատանքի ակտիվությունը: Խնդիրն տրանսկրիպցիայի գործընթացը բաղկացած է հաջորդական փուլերից, որոնցից յուրաքանչյուրը ենթակա է կարգավորման:

Բակտերիաների և էուկարիոտների մոտ տրանսկրիպցիայի կարգավորման հիմնական տարրերությունը պայմանավորված է նրանով, որ էուկարիոտների ԴՆԹ-ն կապված է հիստոնային օկտամերների հետ, և քրոմատինի առաջնային 10 նմ-ոց թելիկը առաջացնում է բարդ և ավելի կոնդենսացված քրոմատինային կառույցներ: Քրոմատինի կոնդենսավորումը գուտ մեխանիկորեն խոչընդոտում է ՈՆԹ-ների սինթեզն իրականացնող ՈՆԹ պոլիմերազների միացմանը ԴՆԹ-ին և արգելակում է տրանսկրիպցիայի համար անհրաժեշտ ֆերմենտների շարժումը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի երկայնքով: Այս բարդությունները հաղթահարելու համար էուկարիոտները գործարկում են գենների ակտիվության վերահսկման լրացուցիչ լծակներ, որոնք ուղղված են ապահովելու քրոմատինի ապակոնդենսացումը: Քրոմատինի ապակոնդենսացումը ընթանում է երկու փուլով. տրանսկրիպցիայի ենթակա հատվածը վեր է ածվում 10 նմ-ոց թելիկի, ապա տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի համապատասխան հատվածի ազատումը նուկլեոտիմային կառույցներից: Հատուկ ակտիվացնող սպիտակուցները, կապվելով ԴՆԹ-ի կարգավորիչ հաջորդականություններին, խթանում են քրոմատինի ապակոնդենսացումը, ՈՆԹ պոլիմերազի միացումը պրոմոտորին և տրանսկրիպցիայի հետագա ընթացքը: Հակառակ ուղղությամբ գործող սպիտակուցները՝ ռեալիտարները, կապվելով այլ կարգավորիչ նուկլեոտիդային հաջորդականություններին, առաջ են բերում քրոմատինի խտացում, խափանում են ՈՆԹ պոլիմերազի միացումը պրոմոտորի հետ և դրա առաջընթացը ԴՆԹ-ի երկայնքով:

8.1. Գեների աշխատանքի կարգավորումը պրոկարիոտների մոտ

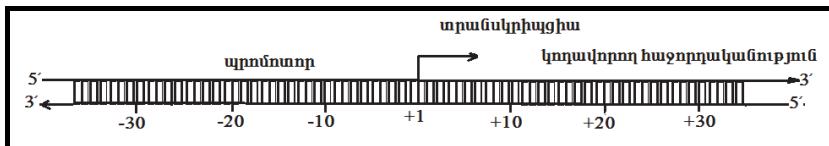
Միաբջիջ օրգանիզմների և բակտերիաների մոտ գեների ակտիվությունը կարգավորվում է այնպես, որ բջջներում գործող ֆերմենտային համակարգերն ու ենթակառուցվածքներն առավել հարմարված լինեն արտաքին միջավայրի և սննդային շրջապատի ընթացիկ փոփոխություններին: Այսպիսով՝ ժամանակի ցանկացած պահին բակտերիալ բջջը սինթեզում է այն սպիտակուցները, որոնք անհրաժեշտ են տվյալ պայմաններում վերապրելու համար: ‘Դիտարկենք E. coli (աղիքային ցուպիկ) բակտերիայում գործող *lac* օ պերոնի և գլուտամին սինթետազի գենի ակտիվությունների կարգավորման մեխանիզմները:

E. coli-ի գեների մոտավորապես կեսը խմբված է **օպերոն** կազմող գենային կլաստերների ձևով: Օպերոնի յուրաքանչյուր գեն գաղտնագրում է որոշակի մերաբոլիկ ուղում գործող ֆերմենտ կամ բարդ մոլտիմերային սպիտակուցի առանձին պրոտոմեր: Օրինակ՝ *trp* օպերոնը կազմող գեները գաղտնագրում են տրիպտոֆանի սինթեզի համար անհրաժեշտ 5 տարրեր պոլիակտիլային շղթաներ, *lac* օպերոնը՝ երեք սպիտակուցներ, որոնք իրականացնում են լակտոզի յուրացումը: Բակտերիաների օպերոնների տրանսկրիպցիան սկսվում է՝

- մեկ մեկնարկային կետից, և տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզվում է ի-ՈՒԹ-ի մեկ մոլեկուլ,
- օպերոնի բոլոր գեները ենթակա են միասնական կարգավորման, այսինքն՝ համատեղ են ակտիվանում կամ արգելակվում:

Առանձին գեների և օպերոնների ակտիվությունը բակտերիալ բջջում կարգափորվում է ՈՒԹ պոլիմերազի, ուղղեսորների և ակտիվատորների բարդ հարաբերություններով: Օպերոնների կամ առանձին գեների տրանսկրիպցիան կարող է սկսվել միայն նրանից հետո, եթե ՈՒԹ պոլիմերազը կապվում է սիգմա գործոններից մեկի հետ (**σ-գործոն**): Բակտերիաներում ամենատարածված սիգմա գործոնը

σ^{70} -Ա: Այն մի կողմից միանում է ՌՆԹ պոլիմերազին՝ հանդես գալով որպես ՌՆԹ պոլիմերազի ենթամիավոր, մյուս կողմից՝ ԴՆԹ-ի պրո-մոտորային հաջորդականությանը: σ^{70} -ը ճանաչում և միանում է տրանսկրիպցիայի սկիզբն ազդանշանող (+1) կետից 10 նուկլեոտիդ առաջ գտնվող (վերընթաց ուղղություն) (-10)-(-35) դասավորված հա-ջորդականություններին (նկար 52):



Նկար 52. +1-ով նշված է տրանսկրիպցիայի սկզբնակետը: ՌՆԹ պոլիմերա-զը շարժվում է ձախից աջ: Սկզբնակետից առաջ գտնվող հաջորդականությունները նշված են (-)-ով (վերընթաց ուղղություն), իսկ +1-ից հետո գտնվող հաջորդականությունները (+)-ով (վարընթաց ուղղություն): Վերընթաց շրջա-նում տեղակայվում են ՌՆԹ պոլիմերազի հետ կապվող նուկլեոտիդային հաջորդականությունները:

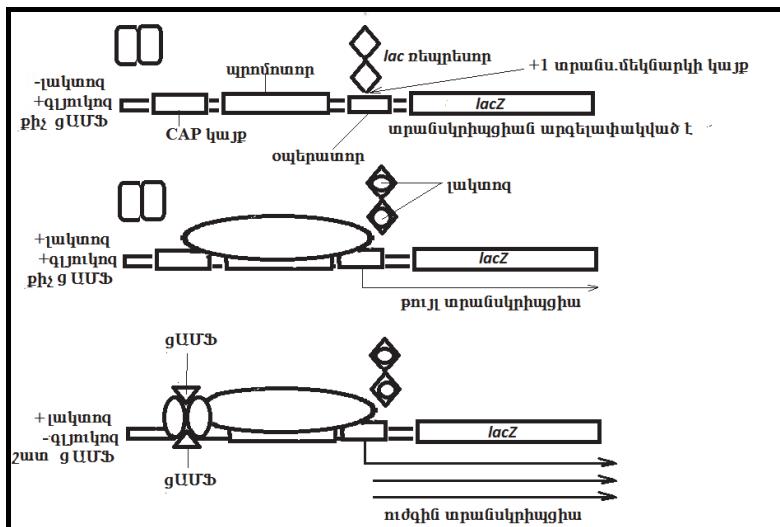
Այսպիսով` (-10)-ից մինչև (-35) դիրքում գտնվող նուկլեոտիդների հաջորդականությունը հանդես է գալիս պրոմոտորի դերում: Իրա-կանում E. coli-ի ՌՆԹ պոլիմերազը կապվում է ԴՆԹ-ի շատ ավելի ընդարձակ հատվածին, որն ընկած է (-50)-ից (+20) նուկլեոտիդների միջև: σ^{70} -ը ոչ միայն միացնում է ՌՆԹ պոլիմերազը ԴՆԹ-ին, այլ նաև օգնում է ֆերմենտին ապահարութել ԴՆԹ-ի մոլեկուլը տրանսկրիպցիայի մեկնարկման (+1) կայրում և կապել կոդավորող մատրիցային շղթան ՌՆԹ պոլիմերազի ակտիվ կենտրոնին: σ^{70} -ի և ՌՆԹ պոլիմերազն առավել մեծ խնամակցությամբ են միանում նուկ-լեոտիդների հետևյալ հաջորդականությանը՝ **ԹԹԳԱՑԱԹ(-35 շրջան)-15-17 զն-ԹԱՑԱԹ(-10 շրջան)**: Այս հաջորդականությունները բնորոշ են բակտերիալ ուժեղ պրոմոտորներին, իսկ տառաչափի տարրերությունը կոչված է ընդգծել առավել կարևոր նուկլեոտիդների առկայությունը: Մի քանի տասնյակ նուկլեոտիդների տրանսկրիպցիայից հետո σ^{70} -ը անջատվում է համալիրից: Այսպիսով՝ այս

գործոնն անհրաժեշտ է միայն տրանսկրիպցիայի մեկնարկման համար և այդ պատճառով դիտվում է որպես **մեկնարկման գործոն**:

Բակտերիաների մոտ տրանսկրիպցիայի ակտիվության կարգավորումը, ինչպես արդեն նշվել է, նպատակ ունի հարմարեցնելու սինթեզվող սպիտակուցների կազմն ու քանակությունը տվյալ պահի մերաբոլիկ պահանջներին: Եթե *E. coli*-ի շրջակա միջավայրում բացակայում է կարնաշաքարը (լակտոզը), ճնշվում է *Lac* ի-ՌՆԹ-ի սինթեզը, ինչը կանխարգելում է լակտոզի ճեղքավորումն իրականացնող ֆերմենտների սինթեզի ընթացքում սպառվող էներգիայի ապարդյուն կորուստները: Եթե միջավայրում կա և լակտոզ, և գլյուկոզ, բակտերիան գերադասում է ճեղքավորել գլյուկոզը: *E. coli*-ն ճեղքավորում է լակտոզը միայն այն պարագայում, եթե միջավայրում գլյուկոզ շատ ավելի քիչ է պարունակվում, քան լակտոզ: Մերաբոլիզմի շեղումը գլյուկոզի ճեղքավորումից դեպի լակտոզի ճեղքավորումը պայմանավորված է նրանով, որ բակտերիայի բջջում *Lac* օպերոնի արգելակումը կամ **ռեպրեսիան դարձելի** է: *Lac* օպերոնի արանսկրիպցիան կարգավորվում է *Lac* ռեպրեսորով և կատարուիզմի խրանիչ CAP սպիտակուցով (**catabolic activator protein**): CAP-ը դիմերային սպիտակուց է և հայտնի է նաև **CRP** (**catabolic receptor protein**) անվանմամբ: *Lac* ռեպրեսորն ու CAP սպիտակուցը միանում են *Lac* օպերոնի հատուկ կարգավորիչ կայքերում: Ռեպրեսորի միացման կայքը կոչվում է **օպերատոր**, իսկ CAP սպիտակուցի միացման կայքը՝ **CAP կայք** (Ակար 53):

Տրանսկրիպցիայի մեկնարկման համար անհրաժեշտ է, որ ՌՆԹ պոլիմերազին կապված σ^{70} գործոնը (այս պարագայում այն բակտերիայի ՌՆԹ պոլիմերազի ենթամիավոր է) կապվի պլոմոտորի -35 և -10 կայքերին: Լակտոզի բացակայության դեպքում *Lac* ռեպրեսոր կապվում է *Lac* օպերատորին՝ ծածկելով տրանսկրիպցիայի մեկնարկման և σ^{70} -ի կապման կայքերը: *Lac* ռեպրեսորը տետրամեր սպիտակուց է, որի կոնֆորմացիան կտրուկ փոխվում է, եթե միջավայր ներմուծված լակտոզի մոլեկուլները կապվում են ռեպրեսորի ենթամիավորներին: Փոխված կոնֆորմացիայով ռեպրեսորը կորցնում է խնամակցությունն օպերատորի հանդեպ և դիտվում է (անջատվում է) օպերատորից: Եթե միջավայրում առկա է և գլյուկոզ,

լակտոզ, ապա ռեալիսորի մոլեկուլների միայն մի մասն է կապվում լակտոզին: Օպերատորը մասնակիորեն ազատվում է ռեալիսորից, և Ω-ՆԹ պոլիմերազը σ^{70} գրդոնի հետ հնարավորություն են ստանում միանալու պրոմոտորին: Սկսվում է օպերոնի դանդաղ տրանսկրիպցիան (տրանսկրիպցիայի արագությունը չափվում է մեկ րոպեում պրոմոտորին կապվող Ω -ՆԹ պոլիմերազի մոլեկուլների քանակությամբ), ինչի հետևանքով սինթեզվում է սահմանափակ քանակությամբ *Lac* ինֆորմացիոն Ω -ՆԹ, և Z-հատվածով կոդավորվող սպիտակուցությամբ:



Նկար 53. *Lac* օպերոնի կառուցվածքն ու աշխատանքի կարգավորումը: Ω -ՆԹ պոլիմերազն ու σ^{70} (պատկերված են էլիպսի տեսքով), *lac Z*-ը β -գլակտոզիդազի և լակտոզի մեթարոլիզմի համար պահանջվող ֆերմենտները կոդավորող գեների շրջանն է: Տրանսկրիպցիայի վերահսկման շրջանը բաղկացած է մոտ 100 զն երկարությամբ հատվածից, որի մեջ են մտնում 3 սպիտակուց կապող հատվածներ՝ CAP-ի կապման կայր, *lac* պրոմոտորը, որին միանում են σ^{70} -ը և Ω -ՆԹ պոլիմերազը, *lac* օպերատորը, որին միանում է ռեալիսորը:

Երբ գյուկողը հեռացվում է միջավայրից, և գյուկողի ներքջային քանակությունը նվազում է, *E. coli*-ի քջիջներում սկսվում է ցիկլիկ ԱՍՖ-ի (gԱՍՖ) սինթեզ: Կոնցենտրացիայի մեծացման հետևանքով ց-ԱՍՖ-ի մոլեկուլները կարողանում են միանալ CAP-ի մոլեկուլներին: CAP-ի և ց-ԱՍՖ միացման հետևանքով CAP-ի կոնֆորմացիան այնպես է փոխվում, որ այն կարողանում է կապվել օպերոնի CAP-կայրի հետ: **CAP-g-ԱՍՖ** համալիրը փոխազդում է պրոմոտորին միացած պոլիմերազային համալիրի հետ՝ մեծապես խթանելով տրանսկրիպցիայի մեկնարկման արագությունը: Մեկնարման արագության կտրուկ աճի հետևանքով մեծանում են *lac* ինֆորմացիոն ՌՆԹ-ի քանակը և լակտոզի մերաբոլիզմի ֆերմենտների քանակությունը:

Բակտերիաների այն պրոմոտորները, որոնք ապահովում են տրանսկրիպցիայի մեկնարկման մեծ արագություն և ընդգրկում են (-35)-ից մինչև (-10) դիրքում գտնվող նուկլեոտիդները կոչվում են, **հզոր պրոմոտորներ**: Ցածր մեկնարկային արագություն դրսւորող պրոմոտորները, որոնք գործի են -35 և -10 դասական նուկլեոտիդային հաջորդականություններից, կոչվում են **թույլ պրոմոտորներ**: *lac* օպերոնի պրոմոտորը դասվում է թույլ պրոմոտորների շարքին, որի գործունեությունը կարող է ակտիվացվել **ց-ԱՍՖ-CAP** համալիրով:

E. coli-ի գեների մեծամասնության տրանսկրիպցիան կարգավորվում է այնպես, ինչպես *lac* օպերոնի գործունեությունը: Տրանսկրիպցիայի կարգավորման ընդհանուր սկզբունքն այն է, որ ռեպրեսորները կապվում են գենի կամ օպերոնի օպերատորին՝ արգելափակելով դրանց տրանսկրիպցիան: Ռեպրեսորների միացումն օպերատորին վերահսկվում է ցածրամոլեկուլային լիգանդներով, որոնք, կապվելով ռեպրեսորին, կարգավորում են տրանսկրիպցիայի մեկնարկման արագությունը: Մյուս կողմից օպերոնների կամ գեների տրանսկրիպցիան կարգավորվում է նաև ցածրամոլեկուլային ակտիվատոր մոլեկուլներով (օրինակ՝ ց-ԱՍՖ) կամ ակտիվատոր սպիտակուցի հետորանալյացիոն փոփոխություններով (օրինակ՝ ֆուֆորիլացում): Բակտերիաների որոշ պրոմոտորների ակտիվացման համար անհրաժեշտ են այլ օգործոններ: Այս այլնատրանքային օգործոնները, որպես կանոն, անհրաժեշտ են այն գեների տրանսկրիպ-

ցիայի ակտիվացման համար, որոնք կողավորում են ջերմային շոկի, սևնդանյոթերի պակասի կամ սպորագոյացման համար անհրաժեշտ սպիտակուցները: Ի լրումն իիմնական σ^{70} գործոնին՝ *E. coli*-ն ունի վեց լրացուցիչ օգործում: Այլընտրանքային օգործուների մեծ մասը գործում է σ^{70} -ի նման, այսինքն՝ դրանք միանում են պրոմոտորի անմիջական հարեւանությամբ գտնվող կայքերում: Բակտերիաների որոշ գեների տրանսկրիպցիան իրականացվում է σ^{54} գործոնին միացած Ω -ՆԾԹ պոլիմերազներով: Նման գեների տրանսկրիպցիան ակտիվացնող ակտիվատորները՝ ‘ՆԾԹ-ին են միանում պրոմոտորից հեռու կայքերում: Այդ կայքերը գտնվում են +1 մեկնարկման կետից 80-100 զն հեռավորության վրա վերընթաց ուղղությամբ (-80-ից -100) և դասվում են **էնհանսերների** դասին:

8.2. Տրանսկրիպցիայի կարգավորումը էուկարիոտների մոտ

Lac օպերոնի և բակտերիաների գեների ակտիվության կարգավորումը կոչված է հարմարեցնել բջջային մեթարոլիզմը շրջակա միջավայրի պայմաններին, այնպես որ բջջող կարողանա նորմալ աճել ու բազմանալ: Բազմարժիք օրգանիզմներում նման խնդիր որված է ոչ թե առանձին բջջի, այլ ողջ օրգանիզմի առջև: Դա նշանակում է, որ ի պատասխան արտաքին և ներքին միջավայրերի փոփոխությունների՝ օրգանիզմի որակապես տարրեր բջջներում պիտք է տեղի ունենան մեթարոլիզմի համաձայնեցված փոփոխություններ: Էվոլյուցիայի ընթացքում բազմարժիք օրգանիզմների մոտ ձևավորվել են բարդ ազդանշանային համակարգեր, որոնք ոչ միայն ինտեգրում են տարարնույթ արտաքին և ներքին ազդակներն ամրող օրգանիզմի մակարդակով, այլև ապահովում են բջջների օպտիմալ ֆիզիոլոգիական պատասխանի ձևավորման համար մեթարոլիզմի համարժեք և անհրաժեշտ փոփոխությունները: Բազմարժիք օրգանիզմի բջիջները կարող են խթանել կամ արգելակել որոշակի գեների աշխատանքը: Ամենաքարդ կենսաբանական խնդիրը ծագում է բազմարժիք օրգանիզմի սաղմնային զարգացման շրջանում, եթե տեղի է

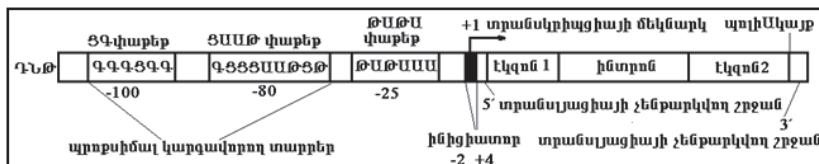
ունենում բջիջների մասնագիտացում և մասնագիտացած բջիջների հետագա զարգացում: Ակնհայտ է, որ նոյն գենետիկական նյութը ժառանգած սաղմնային բջիջների մասնագիտացման ընթացքում դադարում են գործել, կամ հակառակը՝ ակտիվանում են բջջի մասնագիտացումը պայմանավորող գեների զանազան խմբեր: Տարբեր բջիջների, հյուսվածքների և օրգանների ճիշտ ձևավորումը կախված է նրանից, թե որքան անսխալ և ժամանակին է իրականանում այս - կամ այն գենային կլաստերների ակտիվացումը կամ արգելակումը: Որպես կանոն, բջիջների մասնագիտական զարգացումն անդարձելի է (մկանային բջիջը չի կարող վերածվել նեյրոնի): Դրանում է էուկարիոտիկ բջիջների գեների ակտիվության կարգավորման մեխանիզմների հիմնական և սկզբունքային տարրերությունը պրոկարիոտների գեների ակտիվության վերահսկման մեխանիզմներից: **Պրոկարիոտների գեների ակտիվացումն ու արգելակումը միշտ դարձելի են, մինչդեռ էուկարիոտների բջջիջներում առանձին գեների ակտիվությունը կարող է անդարձելի փոխվել, օրինակ՝ բջիջների մասնագիտական զարգացման գենետիկական ծրագրերը միշտ անդարձելի են:** Թեև պրոկարիոտների և էուկարիոտների գեների ակտիվության վերահսկման հիմնական մեխանիզմներն ունեն ընդհանրություններ. էուկարիոտների բրոմատինի բարդ տարածական կառուցվածքի փոփոխությունները տրանսկրիպցիայի ակտիվության կարգավորման լրացուցիչ լծակ են:

Ինչպես տեսանք, պրոկարիոտների մոտ տրանսկրիպցիան կարող է մեկնարկել միայն նրանից հետո, եթե ՌՆԹ պոլիմերազը, կապվելով σ գործոնի հետ, միանում է ԴՆԹ-ի որոշակի նուկլեոտիդային հաջորդականությանը (պրոմոտորին, պրոմոտորի հարակից շրջաններին կամ ավելի հեռավոր էնիանսերներին): Էուկարիոտների մոտ տրանսկրիպցիայի մեկնարկումը, ակտիվությունը և արագությունը կարգավորվում են ոչ միայն ԴՆԹ-ի պրոմոտորային նուկլեոտիդային հաջորդականություններով, այլև ԴՆԹ-ի լրացուցիչ հատվածներով:

Էուկարիոտներում ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի միացումն ու հետագա գործունեությունը տրանսկրիպցիայի ընթացքում ուղղորդում են ԴՆԹ-ի մի քանի տարբեր հատվածներ: Այդ հատվածների շարքին

Են պատկանում **TATA-փարեները (TATA-box)**, **ինիցիատորները** և **ՑՓԳ կղզյակները**:

Պատմականորեն առաջինը պարզվեցին վիրուսային գեներին նույլեռոտիդային հաջորդականություններն ու էուկարիոտների այն գեների նույլեռոտիդային կազմը, որոնք կողավորում էին որոշակի հյուսվածքներում կամ բջջային բոլորաշրջանի խիստ որոշակի փուլում գործող սպիտակուցներ: Պարզվեց, որ նման գեների տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից առաջ գտնվող **ԴՆԹ-ի (-31)-ից** մինչև (-26)-րդ նույլեռոտիդների հատվածում անգամ մեկ նույլեռոտիդի փոփոխությունը խիստ դանդաղեցնում է հարակից գենի տրանսկրիպցիայի արագությունը:



Նկար 54. Էուկարիոտ բջջի գենի կարգավորիչ տարրերի գծանկար:

ՈՆԹ պոլիմերազ II -ով իրականացվող տրանսկրիպցիան կարգավորում են 4 տարրեր տիպի **ԴՆԹ հաջորդականություններ՝**

1. կարճ ինիցիատոր, որը շրջապատում է մեկնարկի կետն և կազմված է իիմնականում աղենինային մնացորդներից,
2. TATA փարեր, որը դասավորված է մեկնարկային կետից 25 նույլեռոտիդ առաջ: Կազմված է ԹԱ նույլեռոտիդներից և լրացնից 2-3 աղենինային մնացորդներից,
3. ՑԳ կամ ՑՓԳփարեր (CG-box),
4. ՑԱԱՄ-փարեր (CAAT-box):

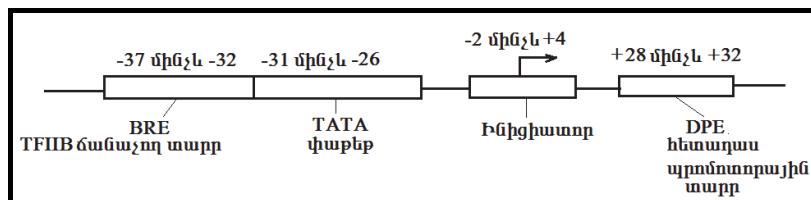
ՑԳ- փարեր և ՑԱԱՄ-փարեները, որոնք գտնվում են տրանսկրիպցիայի մեկնարկի կետից մոտ (-100)-ից (-200) դիրքում, կոչվում են պրօսիմալ կարգավորիչ տարրեր, ինչով տարրերվում են շատ ավելի հետո դասավորված էնիանսերներից, որոնք կարող են գտնվել անգամ գենից հետո գտնվող հաջորդականություններում: Եթե փորձնական ճանապարհով տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից հե-

ռացվում են պրոքսիմալ տարրերը, գենի տրասկրիպցիայի արագությունը տասնապատիկ նվազում է (նկար 54):

Ո-ՆԹ պոլիմերազ III-ի պրոմոտորները, որպես կանոն, գտնվում են փ-Ո-ՆԹ-ների և 5S ռ-Ո-ՆԹ-ի գեների մեկնարկային կետից հետո և ունեն մոտ 10 զե երկարություն: Փ-Ո-ՆԹ-ի կարգավորիչ տարրերն A (A box) և B փարեթներն են (B box): 5S ռ-Ո-ՆԹ-ի գեների պրոմոտորներն ունեն A և C փարեթներ:

8.3. Ինիցիատորներ և ՑՖԳ կղզյակներ

Եռկարիուսների որոշ գեներ ԹԱԹ-Ա փարեթի փոխարեն ունեն այլընտրանքային պրոմոտոր, որը կոչվում է **ինիցիատոր**: Ինիցիատորների (-1)-ին դիրքում գտնվում է ցիտոզինը, իսկ տրանսկրիպցիայի մեկնարկի կետում դասավորված է աղենինը:



Նկար 55. Պրոմոտորային տարրերի դասավորությունը կարնասունների գենոմում:

Ինիցիատորների ճշգրիտ նույնականությունները լիովին պարզված չեն, բայց հայտնի է, որ ինիցիատորի հզորությունը կախված է մեկնարկային կետը շրջապատող նույնականության հաջորդականություններից: Հաճախ կարնասունների սպիտակուց կորավիրող գեների ակտիվությունը կարող է կարգավորվել լրացուցիչ պրոմոտորային տարրերով: Վերջիններս Դ-ՆԹ-ի այնպիսի հաջորդականություններ են, որոնք ունակ են միանալու տրանսկրիպցիան ակտիվացնող որոշակի սալիսակուցներին (տրանսկրիպցիայի գործոններին): Նման պրոմոտորային տարրերի թվին են

պատկանում BRE (TFIIB recognition element-TFIIB ճանաչող տարր) և DPE (Downstream promoter element-վարընթաց պրոմոտորային տարր) (նկար 55): Կապվելով տրանսկրիպցիայի գործոններին՝ այդ պրոմոտորային տարրերը խթանում են ՌՆԹ II-ի պոլիմերազի աշխատանքը:

Այս գեների տրանսկրիպցիան, որոնց պրոմոտորը ներկայացված է ԹԱԹԱ փարեթով, միշտ մեկնարկում է մեկ որոշակի կետից: Կարնասուների սպիտակուց կողավորող գեների 60-70 %-ը գորկ են ԹԱԹԱ փարեթից, և դրանց տրանսկրիպցիան այդքան ակտիվ չէ, որքան ԹԱԹԱ փարեթ կամ ինիցիատոր ունեցող պրոմոտորների տրանսկրիպցիան: Նվազ ակտիվ գեները, որպես կանոն, կողավորում են մերաբոլիզմի միջանկյալ ուղիների ֆերմենտները (այդ գեները կոչվում են «տնային տնտեսուիհ» գեներ): «Տնային տնտեսուիհ» գեների պրոմոտորները ներկայացված են տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից 100-1000 զն առաջ գտնվող ՌՆԹ-ի հատվածներով, որոնք հարուստ են ցիտոզիլու և գուանինով: ՌՆԹ-ի նման հատվածները կոչվում են **ՑԳ** կամ **ՑՓԳ** կղզյակներ ընդգծելու համար այն փաստը, որ դրանցում դիտվում է ցիտոզին-գուանին գույգերի կենտրոնացում: **ՑՓԳ** կղզյակներում ցիտոզինը միանում է գուանինին ֆոսֆատային խմբով: Կարնասուների գենոմում **ՑՓԳ** կղզյակների սահմաններից դուրս գտնվող **ՑԳ** գույգերի ցիտոզինը **մերիլացված է**: Մերիլացված ցիտոզինը ինքնարուի դեղամինացվում է և վեր է ածվում թիմինի: Այդ պատճառով կարնասուների գենոմում **ՑԳ** գույգերի պարունակությունը համեմատարար ցածր է: **ՑՓԳ** կղզյակներում ցիտոզինները մերիլացված չեն, և պատահական դեղամինացման հետևանքով առաջացնում են ուրացիի մնացորդներ: Ուրացիլները ՌՆԹ-ի կազմում արագ ճանաչվում են ՌՆԹ-ն վերանորոգող սպիտակուցային համալիրների կողմից (ռեպարացման համալիրներ) և փոխարինվում են ցիտոզինով: Այսպիսով **ՑՓԳ** կղզյակներում պահպանվում է **ՑԳ** նուկլեոտիդային գույգերի համեմատաբար բարձր պարունակությունը: **ՑՓԳ** գույգերով հարուստ ՌՆԹ-ի հատվածները ձկուն չեն և ինքնաբերաբար չեն կարող պարուրվել իհասունների շորջ: Այդ պատճառով **ՑՓԳ** կղզյակները գորկ են նուկլեոտմներից, և դրանցում ՌՆԹ-ն գտնվում է ազատ վիճակում:

Ենթադրվում է, որ դրա շնորհիվ տրանսկրիպցիայի գործոնները հեշտությամբ կապվում են ՑՓԳ կողյակներում՝ ի վերջո հանգեցնելով տրանսկրիպցիայի ակտիվության մեծացմանը: ՑՓԳ կողյակների երկրորդ առանձնահատկությունն այն է, որ դրանք ունակ են ակտիվացնելու տրանսկրիպցիան ոչ միայն 5'-3' այլև 3'-5' ուղղություններով (դիվերգենտ կամ տարամիտող տրանսկրիպցիա): Ներկայումս չբացահայտված պատճառներով «սխալ» ուղղությամբ ընթացող տրանսկրիպցիան դադարում է, եթե սինթեզված ՌՆԹ-ի մոլեկուլի երկարությունը հասնում է 1000 նոոկլեոտիդի: ՑՓԳ կողյակները, ինիցիատորները, ԹԱԹԱ, ՑԱԱԹ փարերները միասին դասվում են տրանսկրիպցիայի հիմնական կամ կորային (core promoter) պրոմուրունների խմբին:

8.4. Էնիանսերներ և սայլենսերներ

Բացի կորային պրոմուրուններից՝ տրանսլյացիայի ակտիվությունը կարող է վերահսկվել գենի պրոմուրուից շատ ավելի հեռու գտնվող ՌՆԹ-ի հատվածներով, ընդ որում՝ դրանք կարող են գտնվել գենից առաջ, միջնամասում կամ գենից հետո: Տրանսկրիպցիայի կարգավորման նման տիպի տարրերը կոչվում են էնիանսերներ, եթե ակտիվացնում են, և սայլենսերներ, եթե արգելակում են գենի տրանսկրիպցիան: Ընդհանրացված անունով այս տարրերը նախակինում կոչվում էին կարգավորման դիատու (հեռավոր) տարրեր, քանի որ կարող են գտնվել կարգավորվող պրոմուրուից հազարավոր զնի հեռավորության վրա և անգամ կարող են ունենալ պրոմուրուի ուղղածությանը հակառակ ուղղվածություն: Հետագայում պարզվեց, որ էնիանսերները կարող են կարգավորվող գենին բավականին մոտ գտնվել և անգամ կարող են գտնվել գեների ինտրոններում, ինչպես հակամարմիններ կողավորող գեներում: Էնիանսերները կարգավորում են բազմաթիվ գեների տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը: Որպես կանոն, էնիանսերները կազմված են մի քանի տարրեր կարճ կարգավորիչ ՌՆԹ-ի հատվածներից: Այդ ՌՆԹ-ի հատվածները կարող են միանալ զանազան սպիտակուցներ, որոնք կարող են ազդել

տրանսկրիպցիայի ակտիվության վրա այնպես, ինչպես պրոլաբիոտների ռեպրեսորները կամ ակտիվատորները: Էնհանսերների կազմի մեջ կարող են մտնել ՑՓԳ կողյակներ կամ տրանսկրիպցիայի այլ պրոքսիմալ տարրեր: Էնհանսերների աշխատանքի համար անհրաժեշտ է ակտիվատոր-սպիտակուցների առկայությունը: Ի հակադրություն պրոքսիմալ տարրերի՝ էնհանսերների տեղափոխությունը մեծ հեռավորություններ (ԴՆԹ-տեխնոլոգիաների կիրառում) կարող է չազդել դրանց կողմից կարգավորվող պրոմոտորների աշխատանքի ակտիվության վրա: Չատ հաճախ դժվար է հստակորեն տարրերակել էնհանսերները պրոքսիմալ կարգավորող տարրերից:

Սայլենսերները, ինչպես և էնհանսերները փոխազդում են կարգավորիչ սպիտակուցների հետ: Սայլենսերների միացումը սպիտակուցներին ոչ թե ակտիվացնում, այլ արգելակում է տրանսկրիպցիան: Այն սպիտակուցները, որոնք միանում են սայլենսերներին, կոչվում են **ռեպրեսորներ**: Էուկարիոտների քջիներում հաճախ ակտիվացման ենթակա գենների քլաստերը կարող է գտնվել այն գենների կլաստերի հարևանությամբ, որոնք պետք է լրեցվեն: Նման դեպքերում այդ կլաստերները միմյանցից սահմանազատվում են **ինսուլյատոր** կոչվող ԴՆԹ հատվածներով: Ինսուլյատորներն ու դրանց միացած սպիտակուցները ստեղծում են ֆիզիկական պատճեց, որը թույլ չի տալիս, որ էնհանսերի կամ սայլենսերի ազդեցությունը տարածվի միաժամանակ երկու գենային քլաստերների վրա: Հաճախ ինսուլյատորների դերում հանդես են գալիս քրոմատինի կիսաօդակների հիմքերը, որոնք խարսխված են քջակորիգային մատրիքսի մանրաթերում (MAR-ում):

8.5. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններ, ՌՆԹ պոլիմերագ II

Հիմնական կամ առանցքային պրոմոտորներն ապահովում են տրանսկրիպցիայի նվազագույն ակտիվության մակարդակը, որը կոչվում է **հիմնական կամ բազային տրանսկրիպցիա**: Անգամ բազա-

յին տրանսկրիպցիան անհնարին է առանց որոշակի խթանիչ սպիտակուցների մասնակցության: Ինչպես և պրոկարիոտների մոտ, տրանսկրիպցիայի մեկնարկման համար անհրաժեշտ է ՌՆԹ պոլիմերազի ճիշտ դիրքավորումը գենի պրոմոտորի շրջանում: ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի ճիշտ դիրքը տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետում ապահովում են հատուկ սպիտակուցներ: Նման սպիտակուցներն անվանվում են **տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններ** կամ **պարզապես տրանսկրիպցիայի գործոններ** (transcription factors-TF): Ի տարրերություն պրոկարիոտների σ գործոնների՝ տրանսկրիպցիայի գործոնները ՌՆԹ պոլիմերազի ենթամիավորներ չեն: Տրանսկրիպցիայի գործոնները ոչ միայն ապահովում են ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի ճիշտ դիրքավորումը պրոմոտորում, այլև այնպես են բաժանում ԴՆԹ-ի շրաները միմյանցից, որ ինֆորմատիվ շրան կարողանա մուտք գործել պոլիմերազի ակտիվ կենտրոն: Հիմնականում տրանսկրիպցիայի գործոնները մոլտիմերային սպիտակուցներ են:

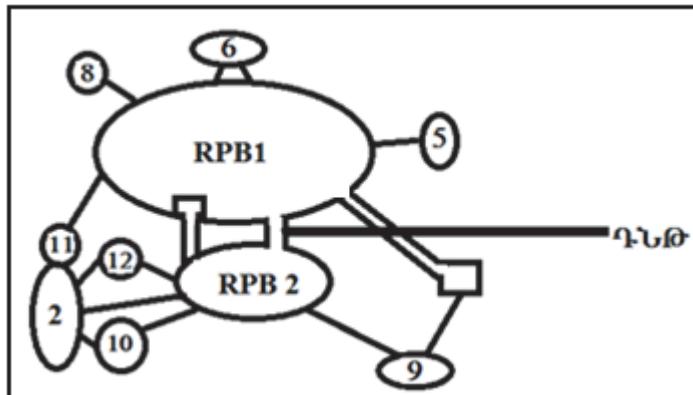
Ամենախոշորը տրանսկրիպցիայի գործոնը **TFIID**-ն է: Այն կազմված է մեկ 38ԿԴ զանգվածով միավորից (TBP) և 13 փոքր ենթամիավորներից (TBP-associated factors-TAFs): TBP-ն անմիջականորեն միանում է ԹԱԹՍ փարերին և կոչվում է ԹԱԹՍ փարերին միացող սպիտակուց (TATA box binding protein-TBP): TAF-ներին բնորոշ է **հյուսվածքասպեցիֆիկություն**, ինչն ապահովում է տարբեր հյուսվածքներում և օրգաններում գեների ակտիվության կարգավորման լրացուցիչ հնարավորություններ: Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնները մասնակցում են տրանսկրիպցիայի գործընթացին բոլոր էուկարիոտների մոտ: ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի և տրանսկրիպցիայի գործոնների համայիրը, որը ձևավորվում է պրոմոտորի վրա և նախապատրաստում տրանսկրիպցիայի մեկնարկը, կոչվում է **նախամեկնարկային համալիր**: Նախքան տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների գործունեության քննարկումը ծանոթանանք **ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի կառուցվածքին**:

Էուկարիոտների բջջակորիգները պարունակում են երեք տարբեր տիպի ՌՆԹ պոլիմերազներ: Դրանք են ՌՆԹ պոլիմերազ I-ը, II-ը և III-ը: Այս պոլիմերազներն ունեն տարբեր մակերևության լիցքեր

և տարբերվում են **ամանիտինի** (որոշ սնկերի կողմից արտադրվող քունավոր օկտապեպտին) հանդեպ դրսւորած զգայնությամբ:

- **Ո-ՆԹ** պոլիմերազ I-ը ամանիտինով չի արգելակվում (չունի զգայնություն ամանիտինի հանդեպ):
- **Ո-ՆԹ** պոլիմերազ II-ը չափազանց զգայուն է և լիովին արգելակվում է ամանիտինով, ինչի հետևանքով ֆերմենտը չի կարողանում շարժվել **Դ-ՆԹ**-ի մոլեկուլի երկայնքով:
- **Ո-ՆԹ** պոլիմերազ III-ը դրսւորում է միջին զգայունություն ամանիտինի արգելակիչ աղբեցության նկատմամբ:

Ո-ՆԹ պոլիմերազ I-ը գտնվում է կորիզակում և իրականացնում է **ռիբոսոմային Ո-ՆԹ-ների գեների տրանսլիպցիան**, առաջացած ռիբոսոմային նախա-Ո-ՆԹ-ները հասունացումից (պրոցեսինզից) հետո սկիզբ են տալիս **28 S, 5.8 S և 18 S ռիբոսոմային Ո-ՆԹ-ներին**:



Նկար 56. Էռլարիոտների Ո-ՆԹ պոլիմերազ II-ի կառուցվածքի գծապատկեր: Ո-ՆԹ պոլիմերազ II-ը կոչվում է նաև Ո-ՆԹ պոլիմերազ B: RPB1, և RPB2 նշանակում են Ո-ՆԹ պոլիմերազ B-ի առաջին և երկրորդ ենթամիավորներ: Թվերով նշված են Ո-ՆԹ պոլիմերազ II-ի ենթամիավորները:

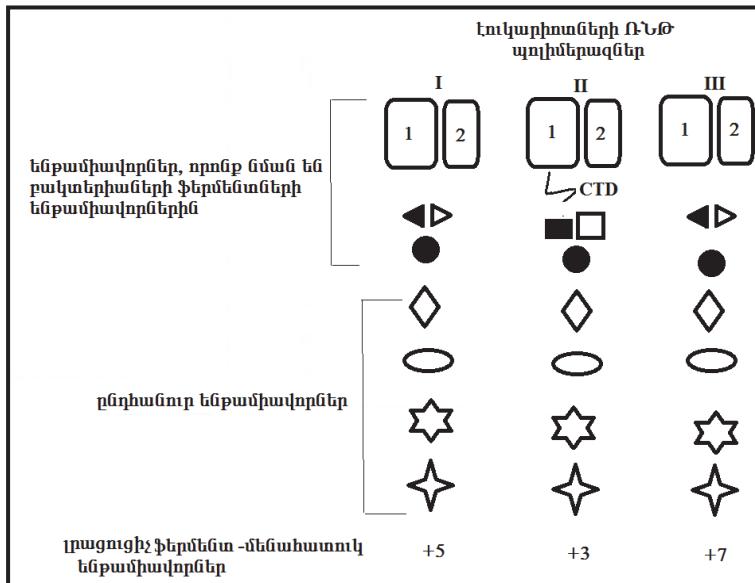
Ո-ՆԹ պոլիմերազ III-ը իրականացնում է **Վ-Ո-ՆԹ-ների**, 5S, սպլայսինզին մասնակցող **U6 Ո-ՆԹ**-ի և պեպտիդները դեպի էնրոպ-

լազմատիկ ցանցի խուղակներն ուղղորդող ազդանշանային համալիրի (SRP) ՈՆԹ միավորը կողավորող գեների տրանսլիպցիան:

ՈՆԹ պոլիմերագ II-ը իրականացնում է բոլոր սպիտակուց կողավորող գեների տրանսլիպցիան և պատասխանատու է ի-ՈՆԹ-ի սինթեզի համար: **Ֆերմենտն իրականացնում է** նաև այն գեների տրանսլիպցիան, որոնք կողավորում են ինտերֆերենցվող ՈՆԹ-ներ, տրանսլյացիան կարգավորող micro-ՈՆԹ-ներ, ՈՆԹ-ի սպլայսինգին մասնակցող 5 ՈՆԹ-ներից 4-ը:

Բոլոր ՈՆԹ պոլիմերազներն ունեն նույնատիպ կառուցվածք: Դրանք կազմված են երկու մեծ և 10-14 ավելի փոքր ենթամիավորներից, որոնցից մի քանիքը ընդհանուր են բոլոր ՈՆԹ պոլիմերազների համար (նկար 57):

Բացի վերը բվարկած ՈՆԹ պոլիմերազներից՝ բույսերին հատուկ են լրացուցիչ ՈՆԹ պոլիմերազներ IV-ը և V-ը, որոնք շատ նման են բուսական ՈՆԹ պոլիմերագ II-ին: Այդ լրացուցիչ ՈՆԹ պոլիմերազների մեծ ենթամիավորը շատ ավելի խոշոր է, և նշված պոլիմերազները ունեն մի քանի հավելյալ փոքր ենթամիավորներ: Այս ֆերմենտները բույսերում մասնակցում են փ. ինտ. ՈՆԹ-ներով տրանսլիպցիայի արգելակման գործընթացին: ՈՆԹ պոլիմերազների միանման կառուցվածքները վկայում են, որ ֆերմենտներն առաջացել են էվոլյուցիայի ամենավաղ շրջանում՝ ապահովելով հիմնական կենսաբանական գործընթացներից մեկի կայունությունն ու վերարտադրելիությունը՝ ՈՆԹ-ի ինֆորմացիայի փոխակերպումը ՈՆԹ-ի մոլեկուլների: Յուրաքանչյուր ՈՆԹ պոլիմերագ ունի մի քանի ֆերմենտ-մենահատուկ փոքր ենթամիավորներ, որոնք բացակայում են մնացած տիպի ՈՆԹ պոլիմերազներում:



Նկար 57. Էռլարիտոտների ՈՆԹ պոլիմերազների կառուցվածքային տարրերությունները: CTD-ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի մեջ ենթամիավորի կարբօքսիտերմինալ դոմեն (C-ծայրային դոմեն):

ՈՆԹ պոլիմերազ I-ի և ՈՆԹ պոլիմերազ III-ի լրացուցիչ ենթամիավորներից երեքը նման են ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի լրացուցիչ ենթամիավորներին: ՈՆԹ պոլիմերազ I-ի մնացած երկու լրացուցիչ ենթամիավորները նման են տրանսկրիպցիայի գործոն THIIF-ին, իսկ ՈՆԹ պոլիմերազ III-ի 4 լրացուցիչ ենթամիավորները հոմոլոգ են տրանսկրիպցիայի գործոն THIIF-ին և TFIIE-ին:

Եթե ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի ակտիվ կենտրոնի մոտ գտնվող ՈՆԹ-ԴՆԹ հիբրիդային մոլեկուլի 8-9 զն երկարությամբ հատվածը հայտնվում է RBP1-ի և RBPI2-ի (Նկար 56) միջև, ֆերմենտի կոնֆորմացիան ենթարկվում է այնպիսի փոփոխության, որ ՈՆԹ պոլիմերազ II-ը կարծես խարսխվում է վարընթաց ԴՆԹ-ի երկշղթա մոլեկուլին: Խարսխված ֆերմենտին է միանում տրանսկրիպցիայի էլունգացման գործոն DSIF-ն, որը ապահովում է ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի կապը

ԴՆԹ-ի հետ տրանսկրիպցիայի ողջ ընթացքում: Տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո սինթեզված ՌՆԹ-ն դրւու է գալիս ֆերմենտի, այսպես կոչված, «ելքի ակոսից»: Դրանից հետո ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ի կոնֆորմացիան կրում է ևս մեկ փոփոխություն՝ ազատ արձակելով ֆերմենտը: Նման մեխանիզմն ապահովում է տրանսկրիպցիայի անընդհատությունը նույնիսկ այն պարագայում, երբ տրանսկրիպցիան ընթանում է շատ մեծ գեների վրա (դիստրոֆին սպիտակուցի գենի երկարությունը կազմում է մոտ 2 000000 զն): ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի միջին արագությունը կազմում է 1-2 հզն/րոպ: Այսպիսով դիստրոֆին սպիտակուցի գենի տրանսկրիպցիան տևում է մոտ 1 օր, և ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ը այդ ընթացքում չի դիտողվում ԴՆԹ-ից: ՌՆԹ պոլիմերացների բոլոր ենթամիավորներն անհրաժեշտ են բջիջների կենսունակության ապահովման համար: ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ի ամենամեծ՝ RPB1 ենթամիավորն ունի պոչիկ, որը կազմված է 7 ամինաթրուների կրկնվող հատվածներից: Այս պոչիկը հատուկ է **քացառապես ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ին** և կոչվում է **կարբօքսի-ծայրային դրմեն** (carboxyl-terminal domain, CTD): Խմբրանկերի մոտ այս դրմենը կազմված է հեքսապետիդի 26 կամ ավելի կրկնություններից, իսկ ողնաշարավորների մոտ կրկնությունների թիվը հասնում է 52-ի: CTD-ն անհրաժեշտ է կենսունակության ապահովման համար, և դրա նվազագույն երկարությունը խմբրանկերի մոտ պետք հասնի առնվազն 10 կրկնությունների: Տրանսկրիպցիայի մեկնարկման պահին ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ի CTD-ն ֆոսֆորիլացված չէ: Սակայն մեկնարկից գորեթե անմիջապես հետո, երբ ֆերմենտը լրում է պրոմոտորը, CTD-ն կազմող հեքսապետիդների կազմի մեջ մտնող **սերիններն ու թիրոզինները ֆոսֆորիլացվում են:**

8.6. Տրանսկրիպցիայի ընթացք

Էռլարիուտների տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների մոլեկուլները մոտ են ամինաթրվային կազմով և գործունեության բնույթով: ՌՆԹ պոլիմերաց Ա-ի (Պոլ Ա) և դրան հատուկ տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների համալիրի միացումը պրոմոտորին

ձևավորում է տրանսկրիպցիայի նախամեկնարկային համալիր: Դիտարկենք Պոլ II նախամեկնարկային համալիրի ձևավորումը ԹԱԹՍ փաթեթով պրոմոտորի վրա:

Գործընթացը սկսում է նրանից, որ ԹԱԹՍ պրոմոտորին է միանում TBP սպիտակուցը (TATA binding protein), որը մուտիմերային TFIID գործոնի ենթամիավորներից մեկն է (նկար 58): Բացի TBP-ից՝ TFIID-ի կազմի մեջ են մտնում ևս 13-15 փոքր ենթամիավորներ, որոնք կոչվում են TAF-ներ (transcription activating factors): Բոլոր հայտնի TBP սպիտակուցներն ունեն նմանատիպ 180 ամինաքրվային մնացորդներից կազմված C-ծայրային դրոմեններ: TBP-ն կապվում է ԴՆԹ-ի փոքր ակրոսիկում և զգալիորեն կորացնում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլը (գրեթե 80° -ով): Նրանից հետո, եթե ԹԱԹՍ պրոմոտորին միանում է TFIID-ն, հնարավոր է դառնում հաջորդ գործոնի՝ TFIIB-ի միացումը գոյացած համալիրին: TFIIB-ն մոնոմերային սպիտակուց է, որը թիզ ավելի փոքր է TBP-ից: TFIIB-ի C-ծայրային դրոմենը միանում է և ԴՆԹ-ին, և TBP-ին ԹԱԹՍ փաթեթի երկու կողմերից, իսկ N-ծայրային դրոմենը ունակ է ներքափանցելու Պոլ II-ի եթի ակրոսիկի մեջ: TFIIB-ի միացումից հետո է Պոլ II-ը ընդունակ դառնում կատարելու երկու կարևոր ֆունկցիա.

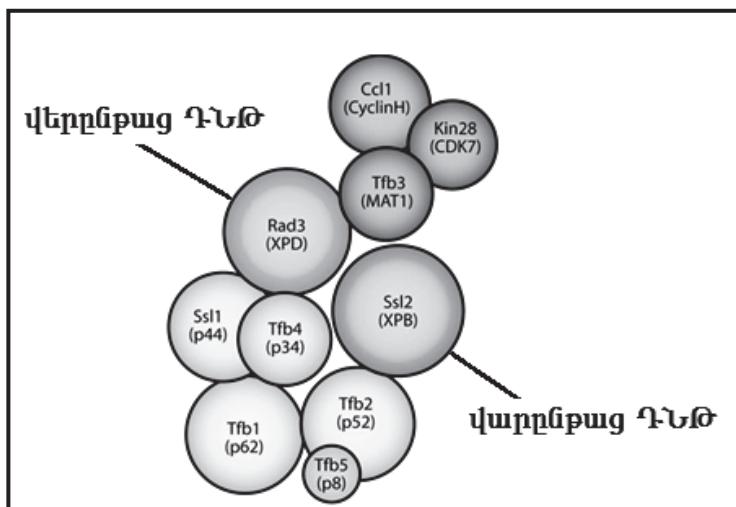
- տարանջատել ԴՆԹ-ի շղթաները (հալեցնել ԴՆԹ-ն)
- տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կայքում,
- կապել ԴՆԹ-ի ինֆորմատիվ շղթան ակտիվ կենտրոնում:

TFIIB-ի միացումից հետո համալիրին է միանում նախապես ձևավորված TFIIF-Պոլ II համալիրը: Ինքնին TFIIF-գործոնը հետերոդիմերային սպիտակուց է, որն ուղղորդում է Պոլ II-ը և ապահովում ֆերմենտի ճշգրիտ դիրքավորումը մեկնարկային կայքում:

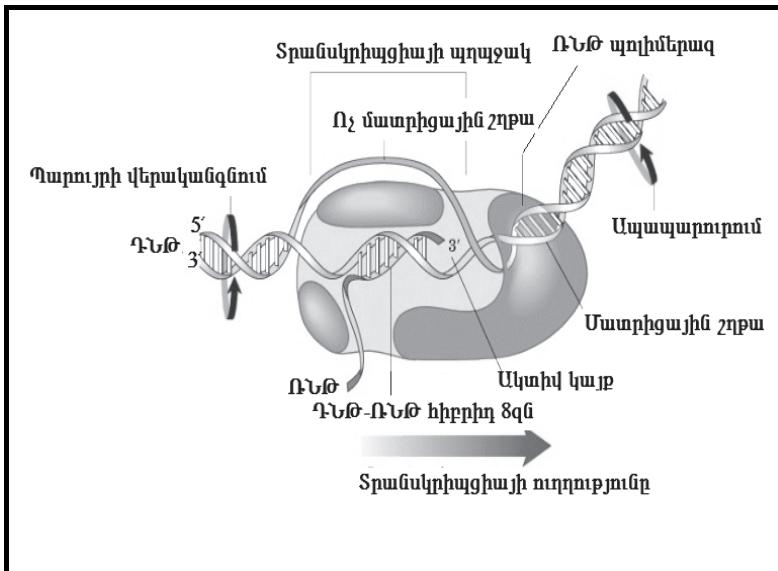
ԴՆԹ-ի շղթաների տարամիտման համար անհրաժեշտ են ևս երկու գործոններ: Դրանցից առաջինը տետրամերային սպիտակուց TFIIE-ն է, որը բաղկացած է երկու տարբեր դիմերներից: TFIIE-ն ստեղծում է անհրաժեշտ հարթակ հերթական տրանսկրիպցիայի գործոնի կապման համար: Այդ գործոնը TFIIF-ն է, որը բաղկացած է 10 ենթամիավորներից, որոնցից 7-ը կազմում են կորային համալիր (հիմնական կառույց): Կորային համալիրի XPD սպիտակուցի շուրջը համախմբվում են ցիկլին-կախյալ կինազային համալիրը և երկու են-

թամիավորներ, որոնցից մեկն ունի հելիկազային, իսկ մյուսը՝ ԱԵՖազային ակտիվություն (նկար 58): Այս բարդ սպիտակուցային համալիրը մասնակցում է «տրանսկրիպցիայի պղպջակի» առաջացմանը: Տրանսկրիպցիայի պղպջակը ներառում է 20-25 զն երկարությամբ ապապարուրփած ԴՆԹ-ի հատված, որը միացած է նախամեկնարկային համալիրի և Պոլ II-ի ակտիվ կենտրոնի հետ (նկար 59): Ցիկլին-կախյալ կինազային համալիրը կատարում է Պոլ II-ի C-պոչիկի յուրաքանչյուր 5'-րդ սերինային մնացորդի ֆուֆորիլացումը: TFIIH-ի միացումով ավարտվում է նախամեկնարկային համալիրի ձևափորմը *in vitro* պայմաններում: TFIIH-ի հելիկազային ակտիվություն ունեցող ենթամիավորը, օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, ապապարուրում է ԴՆԹ-ն մեկնարկային կայքում:

Նկար 58. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոն TFIIH-ի



Ենթակառուցվածքը [Gibbons B et al,2012]:



Նկար 59. Տրանսկրիպցիայի պղպջակի կառուցվածքը:

TFIIH-ի նշանակությունը չի սահմանափակվում գուտ տրանսկրիպցիայի գործոնի դերով: Այն մասնակցում է նաև ԴՆԹ-ի վճառվածքների վերականգնման գործընթացին: Հանդիպելով ԴՆԹ-ի խզվածքի՝ Պոլ II-ը կանգ է առնում: TFIIH-ի հելիկազային ակտիվությունը դրսւորող ենթամիավորը, ճանաչելով Պոլ II-ը, միանում են ֆերմենտին: Հավաքագրելով ԴՆԹ-ի վերականգնումն իրականացնող այլ սպիտակուցներ՝ TFIIH-ը մասնակցում է խզվածքի նորոգմանը: Եթե գենետիկական մուտացիաների հետևանքով վնասվում են TFIIH-ի կորային ենթամիավորներ XPD-ի և XPD-ի գեները, ապա այդպիսի մուտացիաներ կրող առանձնյակների մաշկն արագ գունավորվում է լուսային ճառագայթների ներգործության ժամանակ, և գունավորված շրջաններում առաջանում են խոցեր (xeroderma pigmentosum): Հաջորդ հիվանդությունը, որը պայմանավորված է XPD-ի և XPD-ի գեների մուտացիաներով, Կոկոյնի ախտանիշն է (մտավոր թերզարգացում, մազածածկի և եղունգների սխալ

ձևավորում, վաղաժամ ծերացում, հակվածություն չարորակ նորագոյացումներին):

Տրանսլիփացիայի հիմնական գործոններն ապահովում են տրանսլիփացիան in vitro պայմաններում (օրգանիզմից դուրս-արհեստական համակարգեր): Պարզվեց, որ բազմաքիչ օրգանիզմներում նախամեկնարկային համալիրի ձևավորման համար անհրաժեշտ է լրացուցիչ տրանսլիփացիայի գործոն TFIIA-ն: TFIIA-ն կապվում է TBP-ի այն կողմից, որը գտնվում է պրոմոտորի վերընթաց հատվածում:

TFIID-ի TAF ենթամիավորները մասնակցում են նաև այն գեների նախամեկնարկային համալիրների ձևավորմանը, որոնք չունեն ԹԱԹԱ պրոմոտոր: Մասնավորապես, դրանք կապվում են ինիցիատորների հետ, ինչը բացատրում է ինիցիատորների գործունեությունը որպես պրոմոտոր: Չափ գեների մոտ, որոնք գորկ են ԹԱԹԱ պրոմոտորից, TAF-ները կարող են միանալ վարընթաց պրոմոտորային տարրին (DPE-ին), որը գտնվում է մոտավորապես +30 դիրքում: Այսպիսով՝ միացնելով TFIID-ն և DPE-ները՝ TAF-երը խրանում են տրանսլիփացիան: **TAF-երը մասնակցում են առնվազն երկու գործընթացի.**

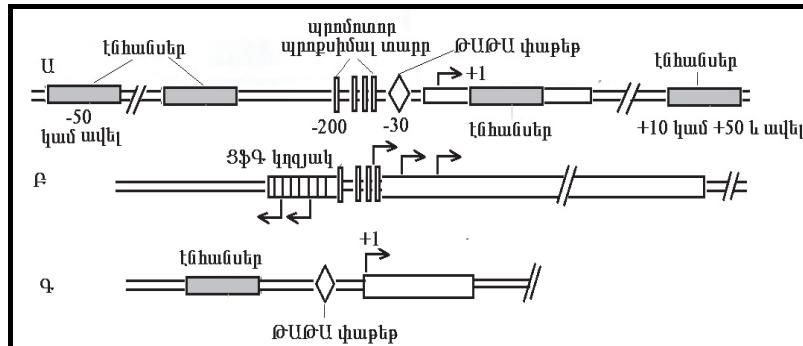
- այն գեների տրանսլիփացիայի նախամեկնարկային համալիրի ստեղծմանը, որոնց պրոմոտորի դերում հանդես է գալիս ԹԱԹԱ փաթերը,
- թույլ պրոմոտորներով գեների նախամեկնարկային համալիրների ստեղծմանը (ՅֆԳ կղզյակներ, ինիցիատորներ):

TFIID-ի կազմի մեջ մտնող TAF-երը կարող են բազմաթիվ թույլ կապերով միանալ ՅֆԳ կղզյակների կամ այլ թույլ պրոմոտորների մի քանի այլընտրանքային հաջորդականություններին, ինչի հետևանքով տրանսլիփացիայի հիմնական գործոնները կարող են հավաքվել տարբեր այլընտրանքային կայքերում: Այս պարագայում տրանսլիփացիայի մեկնարկի կայքը գորկ է խիստ որոշակի դիրքից, ինչը հատուկ է ԹԱԹԱ պրոմոտորով գեների տրանսլիփացիային:

Ինչպես արդեն ասվել է, բազմաթիվ պրոմոտորների աշխատանքն էուկարիոտների մոտ կարող է խրանվել ենիսանսերներով, որոնք գտնվում են հազարավոր գորկ նուկլեոտիդների հեռավորութ-

յան վրա: Էնիանսերները սովորաբար կազմված են մի քանի տիպի նույլետիդային հաջորդականություններից, որոնցից յուրաքանչյուրը կարող է կապվել որոշակի տրանսկրիպցիայի գործոնի հետ (նման հաջորդականությունների թիվը միջինում հասնում է 10^6 : Բազմաթիվ կենդանների մոտ էնիանսերները կարող են գտնվել պրոմոտորից առաջ, ինտրոններում կամ անգամ գենի վերջին էկզոնից հետո: Շատ էնիանսերների դիրքը փոփոխվում է բջիջների տեսակից կախված, և մի գենի տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը կարող է կարգավորվել մի քանի էնիանսերների կողմից: Խմբասնկերի մոտ էնիանսերները, որպես կանոն, գտնվում են պրոմոտորներից առաջ 200 զն հեռավորության վրա և կոչվում են **Վերընթաց ակտիվացնող հաջորդականություններ** (Upstream Activating Sequences-UAS): Էնիանսերները, ինչպես և պրոմոտոր-պրոքսիմալ այլ տարրեր, կարող են խրանել տրանսկրիպցիան անգամ, եթե շրջված են մեկնարկային կետի նկատմամբ 180^0 -ով: Նկար 60-ում ի մի են բերված ժամանակակից պատկերացումները, և գծապատկերում ընդհանրացված է տրանսկրիպցիան խրանող բոլոր հայտնի տարրերի հարաբերական դիրքը ԹԱԹՍ պրոմոտոր ունեցող գենի նկատմամբ: Նկարից երեսում է, որ ԹԱԹՍ պրոմոտորը գտնվում է գենի 5' ծայրի առաջին տրանսկրիպցիայի ենթարկվող նույլետիդից -31-ից -26 դիրքում, դրան հետևում են մեկնարկման կետից 200 զն հեռավորության վրա գտնվող հարաբերականորեն կարճ պրոմոտոր-պրոքսիմալ տարրերը, որոնց երկարությունը կազմում է 6-10 զն: Ի հակառարություն դրանց՝ էնիանսերներն ավելի երկար են՝ 50-200 զն, և դրանց մեջ են մտնում 6-10 զն երկարությամբ տարրեր հատվածներ: Էնիանսերները կարող են գտնվել ԹԱԹՍ պրոմոտորից 50 000 զն հեռավորության վրա: Կաթնասունների գեների մոտ 60-70 %-ի տրանսկրիպցիան կարգավորվում է ոչ թե ԹԱԹՍ պրոմոտորով, այլ ՑՓԳ կոդյակներով: Այն գենների տրանսկրիպցիան, որոնց պրոմոտորը ՑՓԳ կոդյակներն են, կարող է սկսվել մի քանի այլնուրանքային մեկնարկային կետերից: Թեև տրանսկրիպցիան միաժամանակ ընթանում է երկու հակամետ ուղղություններով, 1000 զն երկարությամբ ի-ՈՆԹ-ի շղթայի սինթեզից հետո սկսում է գերակայել տրանսկրիպցիայի իմաստավորված ուղղությունը: Խմբասնկերի գենները սովորաբար կարգա-

Վորվում են մեկ UAS տարրով, որը գտնվում է տրանսկրիպցիայի մեջնարկային կետից մի քանի հարյուր զույգ նուկլեոտիդ առաջ, իսկ ԹԱԹՍ փաթեթը՝ 90 զն առաջ:



Նկար 60. Էնհանսերների հնարավոր դիրքերը գենի պրոմոտորի նկատմամբ: Ա) կարնասուների գեներ ԹԱԹՍ փաթեթային պրոմոտորով; Բ) կարնասուների գեներ ՅΦΦ պրոմոտորով; Գ) խմբանկի գեն ԹԱԹՍ պրոմոտորով:

8.7. Տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլ և ՌՆԹ պոլիմերագ II-ի հասունացում կամ արոցեսինգ

Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների հավաքագրումից հետո Պոլ II-ը սկսում է ինֆորմատիվ շղթայի արտատպումը: Սահելով ապապարուրված ԴՆԹ-ի մատրիցային շղթայի երկայնքով 3'-5' ուղղությամբ՝ ֆերմենտը սինթեզում է ՌՆԹ-ի շղթա, որն աճում է 5'-3' ուղղությամբ: Եթե պոլիմերագը հեռանում է պրոմոտորից, նախամեկնարկային համալիրի հիմնական գործոնները, բացառությամբ TFIID-ի, անջատվում են: TFIIB-ի N-ծայրային դրմենը դուրս է զալին Պոլ II-ի ակոսիկից, որովհետև այն դուրս է մղվում նորաստեղծ ՌՆԹ-ի 5' ծայրով: Պոլ II-ի CTD պոչիկի ֆուֆորիլացված սերինային մնացորդները (TFIIP-ով ֆուֆորիլացված յուրաքանչյուր 5'-րդ սերինը) առաջացնում են հարթակ, որին միանում են նորաստեղծ ՌՆԹ-

ների 5' ծայրերի կեպավորման ֆերմենտները: **Կեպավորման գործընթացը հասուկ է միայն Պոլ II -ով իրականացվող ի-ՈՆԹ-ների համար:**

Բազմաբջիջ օրգանիզմների մնշող մեծամասնության մոտ 20-50 նուկլեոտիդային երկարությամբ ՈՆԹ-ի շղթայի սինթեզից հետո տրանսկրիպցիայի գործընթացը կանգ է առնում: ՈՆԹ պոլիմերաց II-ի հետագա առաջընթացին խանգարում են **Էլենգացման բացասական գործոնի** (NELF-negative elongation factor) և ՈՆԹ պոլիմերաց II-ին միացած DSIF-ի մոլեկուլները: ՈՆԹ պոլիմերաց II-ի հետագա առաջընթացը տրանսկրիպցիայի ենթարկվող ԴՆԹ-ի հատվածի երկայնքով տեղի է ունենում միայն այն դեպքում, եթե ֆոսֆորիլացվում են NELF-ը, DSIF-ը և ֆերմենտի CTD պոչիկի յուրաքանչյուր երկրորդ դիրքում գտնվող **սերինները** (Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser): Այդ ֆոսֆորիլացում իրականացնում է CDK9-ցիկլին T-ն, որին հաճախ անվանում են P-TEFb: Էլոնգացման փուլում գործող սպիտակուցները կարգավորում են նաև այն գեների տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլը, որոնց պրոմոտորները ներկայացված են ՅՓԳ-կղզյակներով: Ինչպես տեսնում ենք, տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլի կարգավորումը պրոմոտորի հարակից շրջաններում ներկայացնում է գենի տրանսկրիպցիայի ակտիվության վերահսկման լրացուցիչ մակարդակ:

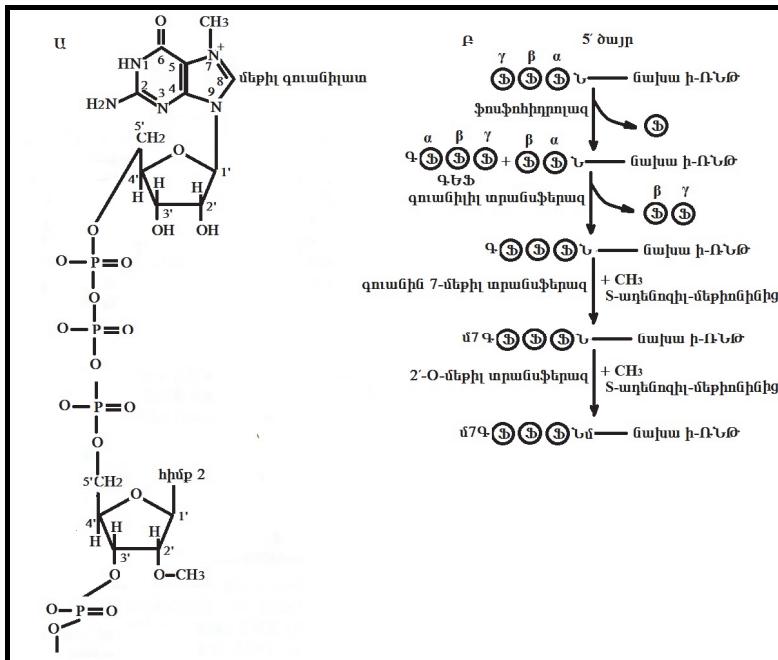
Տրանսկրիպցիայի մեկնարկից հետո տեղի են ունենում ևս 3 կարևոր գործընթացներ, որոնք ապահովում են գործունակ ինֆորմացիոն ՈՆԹ-ների առաջացումը նախա-ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլներից: Դրանք են՝ 5' կեպավորումը, 3' ճեղքավորում-պոլիազենիլացումն ու սպլայսինզը: Թվարկած գործընթացները կոչված են հեռացնելու ոչ ինֆորմատիվ ինտրոնային հատվածներն ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլից և պաշտպանելու նորաստեղծ ի-ՈՆԹ-ի 5' և 3' ծայրերը ճեղքավորող ֆերմենտների ազդեցությունից: 5' կեպավորված և 3' պոլիազենիլացված ծայրերը դրսերում են այն քնորոշ հատկանիշները, որոնք տարբերում են ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլները կորիզային մյուս ՈՆԹ-ներից: Սինթեզված ի-ՈՆԹ-ն ազատ չէ և բջջակորիզում գտնվում է սպիտակուցների հետ կապված վիճակում: Այդ սպիտակուցները որոշիչ դեր են կատարում դեպի ցիտոպլազմ ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլի տե-

դափոխման գործընթացում, որտեղ դրանց կայունությունն ապահովում են արդեն ցիտոպլազմային սպիտակուցները: Նախքան ցիտոպլազմ տեղափոխվելը ի-ՈՒԹ-ի մոլեկուլից հեռացվում են ինտրոններից արտատպված հաջորդականություններին համապատասխանող հատվածները, և էկզոնային հատվածները միացվում են միմյանց սպլայսինգի գործընթացում: Այլընտրանքային սպլայսինգը հնարավորություն է ստեղծում մեկ գենի միջոցով կոդավորելու տարբեր ֆունկցիոնալ դրմեններով սպիտակուցներ, որոնք կատարում են հյուսվածք-մենահատուկ կամ օրգան-մենահատուկ ֆունկցիաներ: Նախա-ի-ՈՒԹ-ի հասունացման գործընթացները տեղի են ունենում տրանսկրիպցիային գուգահեռ:

8.8. Կեպավորում

Անմիջապես նրանից հետո, եթե նորաստեղծ ի-ՈՒԹ-ի երկարությունը հասնում է մոտավորապես 25 նուկլեոտիդի, և մոլեկուլը դուրս է գալիս ՈՒԹ պոլիմեր ազ II-ի ակրոսիկից, նրա 5' ծայրին միացվում է պաշտպանիչ կեպը (տերմինը ծագել է անգլերեն սարքադից): Կեպը ի-ՈՒԹ-ին բնորոշ ձևափոխություն է և պաշտպանում է մոլեկուլի 5' ծայրը էկզոնուկլեազների քայլայիշ ազդեցությունից քե՛քօքակորիզում, քե՛ք ցիտոպլազմում: Կեպավորումն իրականացնում է դիմերային կառուցվածք ունեցող կեպավորող ֆերմենտը, որը կապվում է ՈՒԹ-պոլիմերազի ֆուֆորիլացված CTD դրմենին: Հիշենք, որ CTD դրմենի յուրաքանչյուր 5-րդ սերինային մնացորդը (Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser) ֆուֆորիլացված է տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոն TFIIE-ի կողմից: Կապվելով CTD-ի ֆուֆորիլացված սերինային մնացորդներին՝ կեպավորող ֆերմենտն ակտիվանում է, և ակտիվացած մոլեկուլները խմբվում են նորաստեղծ նախա-ի-ՈՒԹ-ի 5' ծայրի վրա: Կեպավորման գործընթացը հասուն է միայն ի-ՈՒԹ-ներին, քանի որ ՈՒԹ պոլիմերազներ I-ը և III-ը չունեն CTD դրմեն: Կեպավորող ֆերմենտի ենթամիավորներից մեկը ճեղքում և հեռացնում է նորաստեղծ ի-ՈՒԹ-ի 5' ծայրի γ-ֆուֆորական խումբը: Մյուս ենթամիավորը ԳԵՖ-ից անջատված ԳՄՖ-ը տեղափոխում է

Նախա-ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի դիֆոսֆատային մնացորդի վրա՝ առաջացնելով անսովոր 5'-5' եռֆոսֆատային կառույց: Գործընթացը շարունակում է հաջորդ ֆերմենտը՝ 2' մեթիլ տրանսֆերազը, որը նախ S-մեթիլ աղենոզինի մեթիլ խումբը տեղափոխում է գուանինի 7-րդ դիքում գունվող ածխածնի վրա՝ առաջացնելով մեթիլ գուանին, ապա մեթիլացնում է դիբոզի 2' թթվածինը (նկար 61 ա, բ): Նախա-ՌՆԹ-ի կեպավորումը սերտորեն կապված է ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի գործունեության հետ տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլում: Բազմաթիվ օրգանիզմներում ընթացող տրանսկրիպցիայի սկզբնական փուլում ՌՆԹ պոլիմերազ II-ը շատ դանդաղ է շարժվում ընթերցվող ԴՆԹ-ի երկայնքով, քանի որ պլրոմոտոր-պլրոքսիմալ շրջանում նրան միանում է NELF գործոնը (negative elongation factor-էլոնգացման բացասական գործոն): Անմիջապես նրանից հետո, եթե սինթեզված նախա-ՌՆԹ-ի 5' ծայրը կեպավորվում է (նորաստեղծ ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի երկարությունը հասնում է մոտ 25 նուկլեոտիդի), ՌՆԹ պոլիմերազ II-ը կանգ է առնում: Ֆերմենտի հետագա առաջընթացը հնարավոր է դառնում միայն նրանից հետո, եթե CDK9-ցիկլին T պլրոտեին կինազը ֆոսֆորիլացնում է ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի CTD դոմենի երկրորդ դիքում գունվող սերինային մնացորդները, NELF-ն և DSIF-ը: Այս ֆոսֆորիլացման գործառույթների հետևանքով ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի շարժման արագությունն աճում է, և այն արագորեն հեռանում է պլրոմոտորի հարակից շրջանից: Այսպիսով՝ տրանսկրիպցիայի մեկնարկից կարճ ժամանակ անց ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի դադարը և ֆերմենտի հետագա առաջընթացը լիովին կախված են նորաստեղծ նախա-ՌՆԹ մոլեկուլի 5' ծայրի կեպավորման հետ, առանց որի չի կայանա ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի CTD դոմենի և էլոնգացման գործոնների ֆոսֆորիլացումը:



Նկար 61. Կեպավորում: (Ա) նորաստեղծ ՌՆԹ-ի 5' ծայրի Վ ֆուֆորական մնացորդը տեղակալվել է մերիլ գուանիլատով, որը կապվել է ՌՆԹ-ի շղրայի մեթիլացված նուկլեոտիդի հետ 5' - 5' ֆուֆոդեքտերային կապով; (Բ) կեպավորման գործընթացի հաջորդական փուլերի գծապատկեր; Ն-նուկլեոտիդ, մԱ-մերիլ գուանիլատ, Նմ-մեթիլացված նուկլեոտիդ:

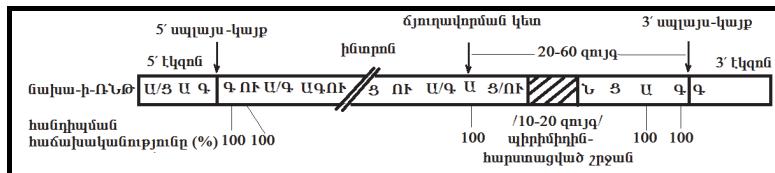
8.9. Սպլայսինգ

Հասուն ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլում բացակայում են այն նուկլեոտիդային հաջորդականությունները, որոնք պատճենվել են գենի ինտրոնային հատվածներից:

Սպլայսինգ կոչվող գործընթացի արդյունքում հասուն ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլում ինտրոնների պատճենները բացակայում են, իսկ էկզոններին համապատասխանող հատվածների ծայրերը միացած են

միմյանց: **Փոքր** տրանսկրիպցիոն միավորների տրանսկրիպցիայի ընթացքում սպլայսինգի գործընթացը սկսում է **Շեղավորման-պոլիադենիլացման** գործընթացից հետո (գենի տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո): **Մեծ** տրանսկրիպցիոն միավորների մոտ, որոնց էկզոնները շատ են, սպլայսինգը սկսում է նախքան տրանսկրիպցիայի ավարտը:

Սպլայսինգի կայքերը գտնվում են նախա-Ո-ՆԹ-ի էկզոն-ինտրոն սահմանագծին: Կլոնավորված ԴՆԹ-ների և համապատասխան ի-Ո-ՆԹ-ների համադրությունը ցույց տվեց, որ սպլայսինգի կայքերը նույլեռոտիդային որոշակի հաջորդականություններ են, որոնք գտնվում են ինտրոնների երկու ծայրերում (նկար 62): Սպլայսինգի կայքերի (սպլայս-կայքերի) նույլեռոտիդային հաջորդականությունները նույնն են էվոլյուցիոն կազմակերպման տարրեր մակարդակների վրա գտնվող տեսակների մոտ:



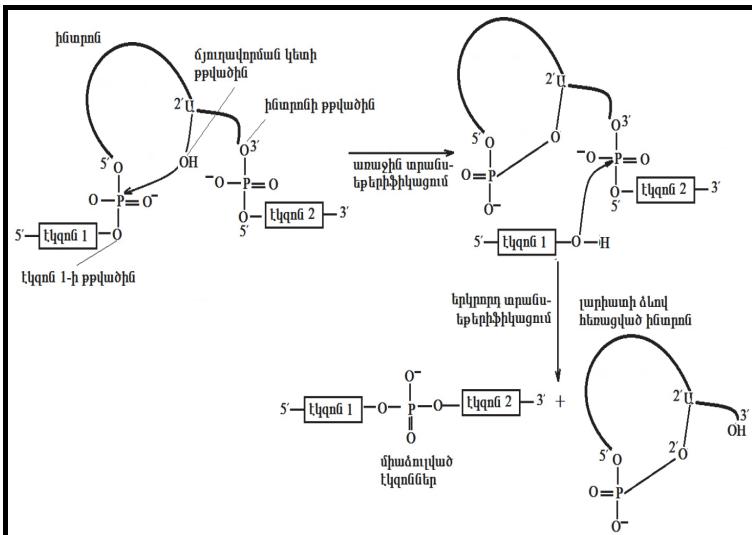
Նկար 62. Սպլայս-կայքերում գտնվող նույլեռոտիդային հաջորդականություններ: Թեր գծերու նշված է մասշտաբի փոփոխությունը, ինչն ընդգծում է ինտրոնների չափերի և ծայրային նույլեռոտիդների որոշակի հաջորդականություններին համապատասխանող հատվածների հարաբերական մեծությունները: Սպլայս-կայքերի միջև գտնվող ինտրոնային հաջորդականությունների զգականությունը չի ազդում սպլայսինգի վրա, եթե պահպանված են ծայրային նույլեռոտիդային հաջորդականությունները (30-40 նույլեռոտիդ ինտրոնի յուրաքանչյուր ծայրում):

Սպլայսինգի գործընթացի միջանկյալ փուլն տրանսերերի կացման ռեակցիաների հաջորդականությունն է, որոնց ընթացքում ինտրոններից ձևավորվում են «կարիատներ»: Լարիատները այնպիսի կառույցներ են, որոնցում 5' գուանինը անտվոր 2'-5' ֆոսֆոդիերային կապով միացած է ինտրոնի մյուս ծայրում գտնվող աղենողին: (նկար 63): Այն կայքը, որտեղ գտնվում է աղենողինը, կոչվում է

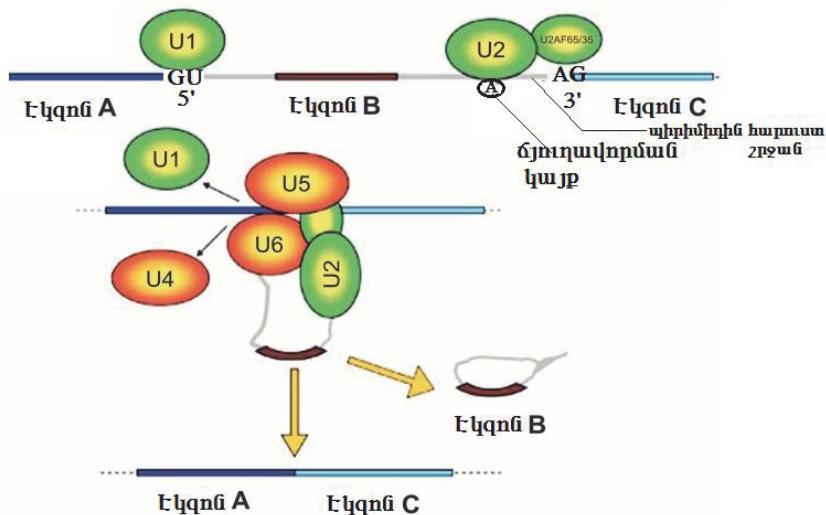
Ե ճյուղավորման կետ, քանի որ այդ կետում ՈՆԹ-ի մոլեկուլը կորցնում է գծային ձևը և ձևավորում է լարիատային կիսաօղակ: Լարիատների առաջացման ժամանակ ֆուֆոներային կապերի քանակի փոփոխություն տեղի չի ունենում, և ռեակցիայում էներգիա չի ծախսվում:

Սպլայսինգի գործընթացն իրականացնում են փոքր կորիզային ՈՆԹ-ները (snRNA), որոնց համապատասխան հատվածները զուգավորվում են նախա-ի-ՈՆԹ-ի կոմպլեմենտար նուկլեոտիդների հետ: Այդ փ.կ.ՈՆԹ-ները կապված են շուրջ 170 տարբեր կորիզային սպիտակուցների հետ: **Սպլայսինգին մասնակցում են U1, U2, U4, U5 և U6 փոքր կորիզային ՈՆԹ-ները**, որոնք հարուստ են ուրացիլով: Այս փ.ն.ՈՆԹ-ներից յուրաքանչյուրը կապված է 6-10 սպիտակուցների հետ՝ կազմելով էուկարիոտների բջջակորիզներին հատուկ **ռի-քոնուկեին՝ ապրոտեինային մասնիկներ** (snRNP): U1, U2, U4, U5 և U6 կորիզային ՈՆԹ-ները, նախա-ի-ՈՆԹ-ն և գործընթացին մասնակցող այլ սպիտակուցներ համատեղ կազմում են մեծ ռիքոնուկեինապրոտեինային համալիր, որը կոչվում է **սպլայսառմ**: Սպլայսառմի գանգվածը մոտ է ռիքոնումի գանգվածին:

Սպլայսինգի համար անհրաժեշտ են նախա-ի-ՈՆԹ-ի 5' սպլայս-կայքը և U1-ի կազմի մեջ մտնող ՈՆԹ-ի 5' ծայրային հատվածը: Հաջորդ կրիտիկական գործառույթը U2-ի և Ա-ճյուղավորման կետի շրջանում գտնվող նուկլեոտիդների զուգավորումն է (նկար 63): Նախա ի-ՈՆԹ-ի շղթայի արտափրումը ճյուղավորման կետում թույլ է տալիս աղենինի 2' հիդրօքսիլ խմբին մասնակցել առաջին տրանսերիֆիկացման ռեակցիային:



Նկար 63. Հաջորդական տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիաները
սպլայսինգի ընթացքում:



Նկար 64. Սպլայսատոմի ձևավորումը և աշխատանքը:

Սպլայսատոմի ձևավորումը սկսում է U1-ի կազմի մեջ մտնող փ.կ.ՈՆԹ-ի նուկլեոտիդների գուգավորումից նախա-ի-ՈՆԹ-ի 5' սպլայս-կայքի նուկլեոտիդների հետ (նկար 64): Դրան հետևում է SF1-ի (splicing factor 1-սպլայսինգի գործոն 1) միացումը U-ճյուղավորման կետին: Միաժամանակ U2AF (U2-associated factor - U2 կապված գործոն) հետերոդիմերային սպիտակուցն իր մեծ ենթամիավորով միանում է պոլիալիքին-հարստացված շրջանին, իսկ փոքր ենթամիավորով՝ ինտրոնի 3' ծայրում գտնվող ԱԳ նուկլեոտիդներին: Եթե U2-ի փ. կ. ՈՆԹ-ն գուգավորվում է Ա-ճյուղավորման կետի շրջանում գտնվող նուկլեոտիդների հետ, SF1-ը անջատվում է համալիրից: U4-ի և U6-ի փ. կ. ՈՆԹ-ները գուգավորվում են, որից հետո դրանց է միանում U5-ը: U4/U6/U5 եռակի համալիրը միանում է նախապես կազմավորված U1/ U2-նախա-ի-ՈՆԹ համալիրին՝ ավարտելով սպլայսատոմի ձևավորումը: Սպլայսատոմի ձևավորումից հետո նախա-ի-ՈՆԹ-ների և կ.փ. ՈՆԹ-ների նուկլեոտիդների գուգավորման կարգը փոխվում է, ինչի հետևանքով համալիրից անջատվում են U1-կ.փ. ՈՆԹ-ները: Հաջորդ քայլում սպլայստոմում տեղի են ունենում նոր վերախմբավորումներ, ինչի հետևանքով անջատվում է U4-ՈՆՊ-ն (U-4-ն համապատասխան սպիտակուցային համալիրի հետ): U4-ՈՆՊ-ի անջատումից հետո իրականացվում է առաջին տրանսերթերիֆիկացման ռեակցիան, և ինտրոնի 5'ծայրի ֆուֆատի և Ա-ճյուղավորման կետի 2' հիդրօքսիլի միջև ձևավորվում է 2'-5' ֆուֆողիեթերային կապը: Սպլայսատոմը կազմող U-ՈՆՊ-ների նուկլեոտիդների միջև նոր գույգերի և U-ՈՆՊ-ների նոր համադրուքյունների առաջացման գործընթացը շարունակվում է, և երկրորդ տրանսերթիֆիկացման ռեակցիայի հետևանքով երկու էկզոնները միանում են միմյանց, իսկ ինտրոնը կամ միջանկյալ էկզոնը կ. փ. ՈՆՊ-ներին միացած լարիատային կիսաօղակի ձևով հեռացվում է (նկար 64): Լարիատ-ինտրոն-ՈՆՊ համալիրն արագ դիսոցվում է, և ազատված կ. փ. ՈՆՊ-ները կարող են մասնակցել սպլայսինգի նոր բոլորաշրջանին: Կտրված ինտրոնը կամ էկզոնը քայլայվում է հատուկ ՈՆազներով:

Սպլայսինգի ավարտից հետո էկզոնների միացման սահմանից 5' ծայրի ուղղությամբ գտնվող շուրջ 20 նուկլեոտիդներ միացած են

մնում յուրահասուկ հետերզեն կորիզային ռիբոնուկլեինապրոտեիններին (hnRNP- հկ.ՈՆՊ-ներ)՝ կազմավորելով էկզոնների միացման համալիք: Էկզոն-միացման համալիքի ՈՆՊ-ներից մեկը ՈՆԹ-էքսպորտի կամ ՈՆԹ-արտահանման գործոն REF-ն է, որը մասնակցում է հասունացած ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլի արտահանմանը բջջակորիզից ցիտոպլազմի: Համալիքի մյուս անդամներն իրականացնում են որակի վերհսկման գործառույթները՝ ակտիվացնելով այն մեխանիզմները, որոնք պատասխանատու են սխալ սպլայսինզի հետևանքով ձևավորված ի-ՈՆԹ-ների քայլայման համար:

Որոշ ինտրոններ (մարդու բջիջներում <1%) սկսվում են ոչ թե ԳՈՒ-ով և ավարտվում ԱԳ-ով, այլ սկսվում են ԱՈՒ-ով և ավարտվում են ԱՅ-ով: Նման ինտրոնների սպլայսինզին, ի լրումն վերը նշված Ս-ՈՆՊ-ների, մասնակցում են լրացուցիչ U -փ.կ.ՈՆՊ-ներ:

Տրիպանատոմների, էվգլենաների և կլոր որդերի հասուն ի-ՈՆԹ-ների 10-15%-ն առաջացել են տարբեր ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլների սպլայսինզի (կցումների) հետևանքով: Այդ գործառույթը կոչվում է տրանս-սպլայսինզ և ընդհանուր առմամբ նման է սպլայսինզին:

ՈՆԹ-ի սպլայսինզի և պոլիադենիլացման գործոնները կապվում են ի-ՈՆԹ-ի ֆոսֆորիլացված CTD դրոմենին, ինչի շնորհիվ դրանց տեղային կոնցենտրացիան կտրուկ աճում է այն պահին, եթե ՈՆԹ պոլիմերազը պատճենում է սպլայս-կայրերն և պոլի U կայրերին համապատասխանող ԴՆԹ հատվածները: Մյուս կողմից, հետերզեն կորիզային ՈՆՊ-ների միացումը նորաստեղծ ՈՆԹ-ի մոլեկուլին ուժեղացնում է ՈՆԹ պոլիմերազ II-ի կապն էլոնգացման գործոններ DSIF և CDK9-cyclin T-ի հետ՝ արագացնելով տրանսկրիպցիան: Այսպիսով՝ նախա-ի-ՈՆԹ-ն կարող է սինթեզվել միայն այն ժամանակ, եթե ճիշտ դիլքավորված են հասունացման գործընթացի բոլոր գործոնները: Էկզոնների ծայրային սպլայս կայրերի փոխազդեցության արդյունքում կազմված համալիքները կոչվում են էկզոնի ճանաչման կոմպլեքսներ (Exon definition complexes-EDCs).

Էկզոնների երկարությունը մարդու գենոմում կազմում է միջինում 150 զն, մինչդեռ ինտրոններին՝ մոտ 3500 զն և ավելին: Դա մեծացնում է այն հավանականությունը, որ երկար ինտրոնի այս կամ

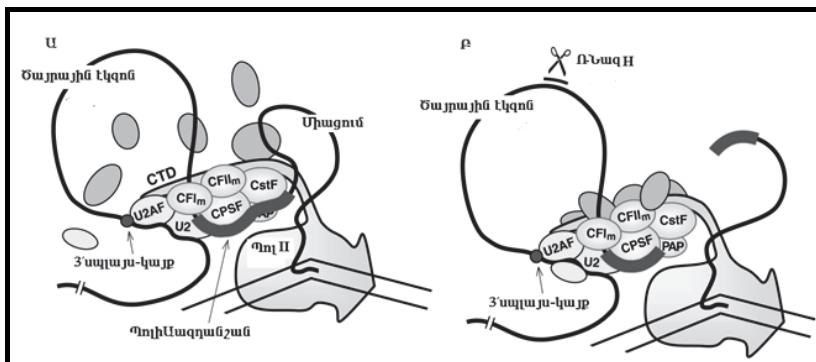
այն հատվածում կարող են պարունակվել էկզոններին հատուկ սպլայս կամ Ա-ճյուղավորման կայքերին բնորոշ կարծ նույլեռտիդային հաջորդականություններ: Բուն էկզոնային սպլայս-կայքերը տարրերվում են նման ինտրոնային հատվածներից հետևյալ կերպ: Նախա-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլի էկզոններում կան էկզոնային սպլայսինգի կայքեր, որոնք կոչվում են սպլայսինգի էնիանսներներ: Սպլայսինգի էնիանսներին միանում են SR-սպիտակուցները, որոնք կոռայերատիվ փոխազդեցությունների շնորհիվ ուժեղացնում են U1-փ. կ. Ո-ՆՊ-ի կապը 5' սպլայս-կայքին և U2-փ. կ. Ո-ՆՊ կապը՝ ճյուղավորման կետին, ինչը մեծացնում է էկզոնային սպլայսինգի հզորությունը:

8.10. Նախա-ի-Ո-ՆԹ-ների 3' ճեղքավորում և պոլիադենիլացում

Էռևարիուտների բջիջներում բոլոր ի-Ո-ՆԹ-ներն 3' ծայրում ունեն բազմաթիվ աղենիլային մնացորդներից կազմված դրմեն, որը կոչվում է 3' պոլիԱպոչիլ: Բացառություն են կազմում հիստոնային ի-Ո-ՆԹ-ները, որոնք սինթեզվում են բջջային բոլորաշրջանի S փուլում, և դրանց 3' ծայրի ճեղքավորմանը չի հաջորդում պոլիադենիլացման գործառույթը:

Նախա-ի-Ո-ՆԹ-ների պոլիադենիլացման գործընթացն անխախտելիորեն կապված է նորաստեղծ Ո-ՆԹ-ի ճեղքավորման գործընթացին, և այդ պատճառով նշված երկու գործառույթները դիտվում են որպես ի-Ո-ՆԹ-ների հասունացման մեկ ամբողջական փուլ Ծ/Ա (ճեղքավորում/աղենիլացում): Էռևարիուտների ի-Ո-ՆԹ-ների ճնշող մեծամասնության Ծ/Ա փուլը մեկնարկում է նախա-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլների պոլիԱ ազդանշանային կայքից: **ՊոլիԱ կայքն ազդանշում է տրանսկրիպցիայի ավարտը Պոլ II-ով: ՊոլիԱ կայքը մասնակցում է էլոնգացման, կեպավորման, սպլայսինգի փուլերին և հասունացած ի-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլների եքսպորտի գործընթացին (տեղափոխություն բջջակորիզից ցիտոպլազմ): Նախա-ի-Ո-ՆԹ-ի ճեղքավորումը պոլիԱ կայքում իրականացնելու համար Ծ/Ա փուլի մասնա-**

կից սպիտակուցները նախ պետք է հավաքվեն ՊոլII-ի CTD դրմենի վրա: Ողնաշարավորների մոտ նշած խմբավորումը ֆերմենտի CTD պոչիկի հատվածում հնարավոր է դառնում, եթե ՊոլII-ն ավարտում է 3' ծայրում գտնվող էկզոնի տրանսկրիպցիան: Այդ ժամանակ արդեն ընթանում է սպլայսինզի գործնականացում, որի ընթացքում տեղի է ունենում էկզոնի ծայրային սպլայս կայքերի փոխազդեցությունը: 3' ծայրային էկզոնների համար 3' ծայր է պոլիU կայքը: Այս կայքում հավաքված սպլայսինզի գործոնները, փոխազդելով ՊոլII-ի CTD դրմենի վրա հավաքված Շ/Ա գործոնների հետ, կազմում են 3' ծայրային EDC (էկզոնի ճանաչման համալիր), որը համատեղում է սպլայսինզի և Շ/Ա գործնականացները: Գործնականացի համար անհրաժեշտ է նորաստեղծ ՌՆԹ-ի շղթայով միջնորդված կայուն կապի առաջացում պոլիU ազդանշանային կայքի և ՊոլII-ի միջև (նկար 65):



Նկար 65. EDC համալիրի ձևավորում և Շ/Ա գործնականացում:

Կենդանական ծագման ի-ՌՆԹ-ների գմնումը բացահայտեց, որ պոլիատենիլային պոչիկից մոտ 10-35 նուկլեոտիդ առաջ գտնվում է **ԱՍՈՒԱՍՍ** հաջորդականությունը: Այս հաջորդականության սահմաններում տեղի ունեցած ցանկացած մուտացիա, բացառությամբ ԱՌՈՒԱՍՍ փոփոխությանը, հանգեցնում է ի-ՌՆԹ-ների հաստնացման գործնականացի խախտման, որին հետևում է դրանց ոչնչացումը: Կրիտիկական նշանակություն ունեցող հաջորդ կայքը գտնվում է նախա-ի-ՌՆԹ-ի ճեղքավորման կայքից շուրջ 50 նուկլեոտիդ հետո:

Այդ կայքի կազմում գերակայում են գուանինը և ուրացիլը, ինչի պատճառով շրջանը կոչվում է Ու-հարստացված շրջան (U-rich region):

Շ/Ա գործընթացը սկսում է նրանից հետո, երբ նախա-ի-ՈՒԹ-ի վերընթաց ԱԱՈՒԱԱՍ պոլիԱ ազդանշանին միանում է 5 պոլիպեպ-տիդային շղթաներից կազմված 360 ԿԴ մեծություն ունեցող **CPSF գործոնը (cleavage polyadenylation specific factor-ճեղքավորման-պոլիադենիլացման մեջահատուկ գործոն)**: Դրան հետևում է ևս երեք սպիտակուցների միացում:

1. Ճեղքավորումը խթանող գործոն 200ԿԴ (**CStF-cleavage stimulatory factor**): CStF-ը կապվում է Գ/Ու շրջանի նուկլեոտիդներին:
2. 150 ԿԴ տետրամերային **ճեղքավորման գործոն 1-ը(CFI - cleavage factor 1):**
3. **ճեղքավորման գործոն II-ը CFII (cleavage factor II):**

Բոլոր բարկած սպիտակուցները համախմբվում են մեկ հենքային **սիմպլեկին** կոչվող սպիտակուցի շորջ: Նախքան ճեղքավորումը համալիրին միանում է պոլիադենիլ պոլիմերազ ֆերմենտը (**PAP**): Դրա շնորհիվ անմիջապես 3' ծայրի ճեղքավորումից հետո ՈՒԹ-ին միանում է պոլիադենիլային պոլիմերը, ինչը պաշտպանում է 3' ծայրն էկզոնուկլեազների քայրայիշ ազդեցությունից: Ճեղքավորման/պոլիադենիլացման գործոնների հավաքագրումը հասուլ կայքում շատ նման է տրանսկրիպցիայի նախամեկնարկային հանալիրի ձևավորմանը ԹԱԹՎ պրոմոտորում: Երկու դեպքում էլ մուլտիսպիտակուցային համալիրի անդամները փոխազդում են բազմաթիվ սպիտակուց-սպիտակուց և սպիտակուց-նուկլեինաքրու կապերի միջոցով՝ դրսերելով բարձր կոռպարատիվություն: Ճեղքավորման/պոլիադենիլացման գործընթացը սկսվում է վերընթաց պոլիադենիլացման ազդանշանին ճեղքավորման **CPSF** գործոնի միացումից: Դրան հետևում է **CStF-ի** միացումը ԳՈւ կամ ուրացիլ հարուստ (U-rich) հատվածին մի կողմից և մյուս կողմից՝ **CPSF-ին**, ինչի շնորհիվ նախա-ի-ՈՒԹ-ի մոլեկուլը կորանում է: Առաջացած հանալիրը և կոնֆորմացիան կայունանում են CFI և CFII միացման հետևանքով: Նրանից հետո, երբ համալիրին միանում է պոլիադենիլ պոլիմերազը (**PAP**), սկսվում է նա-

Խաս-ի-ՈՆԹ-ի ճեղքավորումը պոլիԱ կայքում, որը գտնվում է առաջին վերջնիքաց պոլիադենիլացման ազդանշանից 10-35 նուկլեոտիդ հետո: Նախա-ի-ՈՆԹ-ի ճեղքավորումից հետո ճեղքավորման գործոնները CStF-ը, CFI-ը և CFII-ը անջատվում են համալիրից, և ճեղքավորված ՈՆԹ-ն արագորեն քայքայվում է ոիքոնուկլեազներով: PAP-ը, մնալով կապված նախա-ի-ՈՆԹ-ին, դանդաղ սկսում է 12 ադենիլային մնացորդների հաջորդական միացումը 3' հիդրօքսիլ խմբին: Պոլիադենիլացման գործընթացը զգալիորեն արագանում է նրանից հետո, եթե կարծ պոլիադենիլային պոչիկին միանում են բազմաթիվ պոլիադենիլ-կապվող սպիտակուցի մոլեկուլներ (**PABP II- polyA binding protein II**): 200-250 ադենիլային մնացորդների միացումից հետո PAP-ը դադարեցնում է պոլիադենիլացման գործընթացը: PABP II-ի միացումը նախա-ի-ՈՆԹ-ին անհրաժեշտ է նաև մոլեկուլի տեղափոխման համար քջակորիգից ցիտոպլազմ: Նախա-ի-ՈՆԹ-ի հասունացման ընթացքում հեռացվում է նախնական տրանսկրիպտի նուկլեոտիդների 95 %-ը: Ինտրոնները, որոնք հեռացվում են նախա-ի-ՈՆԹ-ի հասունացման ընթացքում քայքայվում են էկզոռիքրոնուկլեազներով, որոնք ճեղքավորում են դրանց թե՛ 5', թե՛ 3' ծայրերից: 11 էկզոռնուկլեազները միավորվում են ՈՆԹ հելիկազների հետ՝ կազմելով **Էկզասոմ** կոչվող կառույցներ: Էկզասոմներում ՈՆԹ հելիկազները քայքայում են ՈՆԹ-ի նուկլեոտիդների գուգավորման և ՈՆԹ-սպիտակուցի փոխազդեցության հետևանքով առաջացած ՈՆԹ-ի մոլեկուլի ոչ գծային տեղամասերը՝ հեշտացնելով դրանց ճեղքավորումը Էկզոռնուկլեազների կողմից: Էկզոռնուկլերը գործում են ոչ միայն կորիգում այլև ցիտոպլազմում, որտեղ դրանք քայքայում են ոչ լիարժեքորեն հասունացած ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլները:

Այսպիսով՝ ընդհանրացնելով նախա-ի-ՈՆԹ-ի հասունացման կամ այրոցեսինզի փուլերի հիմնական գործառույթները՝ կարելի է ասել հետևյալը:

- Էռուկարիոտ օրգանիզմների քջակորիզներում նախա-ի-ՈՆԹ-ները կապված են հետերոգեն ոիքոնուկլեինաքրուայրուտեսինային (hnRNP) մոլեկուլների հետ, և հասուն ի-ՈՆԹ-ն ձևափորվում է կեպավորման, սպլայսինզի և ճեղքավորման/պոլիադենիլացման գործընթացներում: **Միայն հա-**

սունացած ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլները կարող են տեղափոխվել կորիզից ցիտոպլազմ:

- Տրանսկրիպցիայի մեկնարկից հետո Ո-ՆԹ պոլիմերագ II-ի CTD դռմենին, որի 5-րդ դիրքում գտնվող սերինները ֆուֆորիլացվել էին TFIIB-ի կողմից, միանում են կեայավորող ֆերմենտները, որոնք իրականացնում են նորաստեղծ ի-ՈՆԹ-ի 5' ծայրի կեայավորումը:
- Սպլայսինգը, 3' ծայրի ճեղքավորումը և պոլիադենիլացումը կատարող գործուները CTD դռմենին են միանում նրանից հետո, եթե P-TEFb-ն ֆուֆորիլացնում է դռմենի 2-րդ դիրքում գտնվող սերինները տրանսկրիպցիայի էլուզացման փուլում: Տրանսկրիպցիայի արագությունը և նախա-ի-Ո-ՆԹ-ի հասունացումը շաղկապված են:
- Սպլայսինգը իրականացնում են 5 փոքր կորիզային Ո-ՆԹ-ներ (Փ.կ.Ո-ՆԹ), որոնց նուկլեոտիդները գուգավորվում են միմյանց և նախա-ի-Ո-ՆԹ-ի նուկլեոտիդների հետ՝ ձևավորելով սպլայսասոմ: Սպլայսասոմում ընթացող կոնֆորմացիոն վերադասավորությունների շնորհիվ իրականանում են երկու հաջորդական տրանսերերի ֆիկացման ռեակցիաներ, որոնց հետևանքով երկու էկզոնների ծայրերը միաձուվում են, իսկ միջանկյալ ինտրոն-լարիատային կառույցը սղվում է և հետագայում քայլայվում:
- Երկար նախա-ի-Ո-ՆԹ-ների մոտ, որոնց բնորոշ են մեծ ինստրունյային հատվածներ, սպլայսինգի նորմալ ընթացքի համար անհրաժեշտ են SR սպիտակուցները, որոնք, միանալով էկզոնային սպլայսինգի էնիանսերներին և փոխազդելով Փ.կ.Ո-ՆԹ-ների հետ, ապահովում են էկզոնների փոխադարձ ճանաչումը և սպլայսինգի կայքերի ճիշտ ճանաչումը:
- Փ.կ.Ո-ՆԹ-ներին բնորոշ է բարդ երրորդային կառուցվածք, և դրանք օժտված են ֆերմենտային ակտիվությամբ:
- Բարձրակարգ օրգանիզմներին հատուկ երկար տրանսկրիպցիոն միավորների վրա սինթեզված նախա-ի-Ո-ՆԹ-ների սպլայսինգը սկսում է գուգահեռ Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլի սինթեզին,

իսկ ՅՇ ծայրի ճեղքավորումը/պոլիադենիլացումը սկսում են պոլիԱ կայքի տրանսլիպիացիայի ավարտից հետո:

- Սպլայսինգի ժամանակ աղված ինտրոները և ճեղքավորման/պոլիադենիլացման հետևանքով առաջացած ՌՆԹ-ի հատվածները քայլայփում են 11 ՅՇ՝ էկզոնիբոնուկինազներից և հելիկազներից քաղկացած մուլտիսպիտակուցային համալիրում, որը կոչվում է **էկզասոմ**:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Bergkessel M., G. M. Wilmes, C. Guthrie (2008). SnapShot:formation of mRNPs. Cell,136:794.
2. de Almeida S. F., M. Carmo-Fonseca (2008). The CTD role in cotranscriptional RNA processing and surveillance,FEBS LETT. 582, 1971-1976.
3. Gibbons B. J., Brignole E. J., Azubela M., Murakamia K., VossN. R, Bushnella D. A., Asturias F. J., Kornberg R. D. (2012). Subunit architecture of general transcription factor TFIIH PNAS 7, vol. 109 no. 6, 1949–1954.
4. Moore M. J., Proudfoot N. J. (2009). Pre-mRNAAprocesssmg reaches back to transcription and ahead to translation. Cell 136,688-700.
5. Nag A., Narsinh K., Kazerouninia A. (2006). Martinson H. G. The conserved AAUAAA hexamer of the poly(A) signal can act alone to trigger a stable decrease in RNA polymerase II transcription velocity. RNA, 12:1534–1544.
6. Nag A., Narsinh K., Martinson H. G. (2007). The poly(A)-dependent transcriptional pause is mediated by CPSF acting on the body of the polymerase. Nat. Struct. Mol. Biol. ;14:662–669.
7. Perales R. and D. Bentley (2009). Corranscriptionality: the transcription elongation complex as a nexus for nuclear transactions. Mol. Cell.36:178-191.

8. Rigo F., Martinson H. G. (2009). Polyadenylation releases mRNA from RNA polymerase II in a process that is licensed by splicing, 15(5): 823-836.
9. Rigo F., Martinson H. G. (2008). Functional coupling of last intron splicing and 3'-end processing to transcription in vitro: The poly(A) signal couples to splicing before committing to cleavage. Mol. Cell. Biol. 28:849–862.
10. Valadkhan S. (2010). Role of the snRNAs in spliceosomal active site RNA Biol. 7:345-353.
11. Wahl M. C, Will C. I., R. Lührmann (2009). The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. Cell,136:701-718.
- 12.Zhong X. Y., et al. (2009). SR proteins in vertical integration of gene expression from transcription to RNA processmg to translation,Curr. Opin. Genet. Dev. 19:424-436.

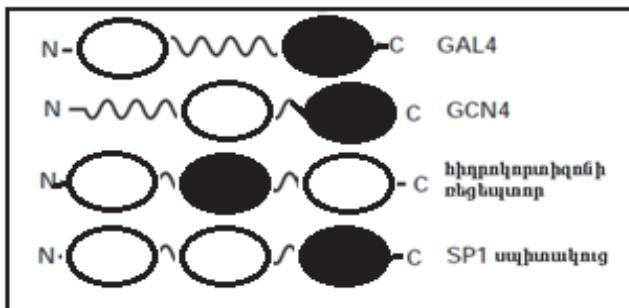
8.11. Տրանսկրիպցիային մասնակցող սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքը

Տրանսկրիպցիայի գործնթացը թե՛ պրոկարիոտ, թե՛ էուկարիոտ օրգանիզմներում չի կարող լնիքանալ առանց որոշակի սպիտակուցների, որոնք, մասնակցելով տրանսկրիպցիայի առանձին փուլերին, կարող են հանդես գալ խրանող կամ արգելակող գործոնների դերում: Տրանսկրիպցիային մասնակցող սպիտակուցների ստվար խումբ օժտված է մի կողմից ԴՆԹ-ին կապվելու, մյուս կողմից՝ այլ սպիտակուցների հետ միանալու և փոխազդելու ունակությամբ:

GAL4 սպիտակուցը **տրանսկրիպցիան ակտիվացնող սպիտակուց** է, որն անհրաժեշտ է խմբրանելերում գալակտոզի յուրացման համար անհրաժեշտ ֆերմենտներ կողավորող գեների գործարկման համար: Այս սպիտակուցի օրինակի վրա ցույց տրվեց, որ տրանսկրիպցիայի ակտիվացմանը մասնակցող սպիտակուցներն ունեն բարդ դոմենային կառուցվածք: GAL4 սպիտակուցի դոմեններից

մեկն անմիջականորեն **կապվում** է **ԴՆԹ-ի** հետ, իսկ մյուսը ակտիվացնում է տրանսկրիպցիան և կոչվում է **ակտիվացման** դրմեն:

Տրանսկրիպցիան ակտիվացնող սպիտակուցները կարող են ունենալ երկու ակտիվացման դրմեններ: Ակտիվացման դրմեններն ու **ԴՆԹ** կապող դրմենները միացանց միացված են ձկուն պետիդային շղթաներով (Նկար 66): Էռլարիդուտների տրանսկրիպցիայի ակտիվատորների (խրանիչների) և ռեալբուտների (արգելակիչների) **ԴՆԹ** կապող դրմենները բազմազան են և ունեն տարաբնույթ վերերկրորդային կառուցվածք (կառուցվածք, որը ներկայացված է մի քանի երկրորդային կառուցվածքների յուրահատուկ համադրությամբ): Այդ վերերկրորդային կառուցվածքները անվանվում են «**մոտիվներ»:**



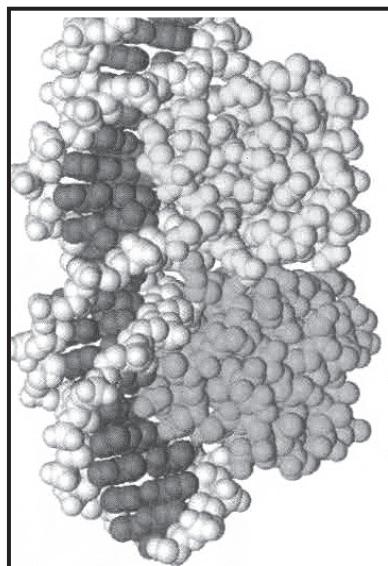
Նկար 66. Տրանսկրիպցիան ակտիվացնող սպիտակուցների դրմենային կառուցվածքի գծապատճեր: Սև գույնով պատկերված են **ԴՆԹ** կապող, սպիտակով՝ ակտիվացման դրմենները:

Ենթադրվում է, որ ակտիվացման դրմենները, թեև անմիջականորեն չեն կապվում **ԴՆԹ-ի** հետ, խրանում են տրանսկրիպցիան՝ միանալով տրանսկրիպցիայի գործուներին:

ԴՆԹ-ի հետ կապվող սպիտակուցների **ԴՆԹ** կապող դրմենների **α**-պարուրաձև շղթաները հիմնականում միանում են **ԴՆԹ-ի մեծ** ակոսիկի շրջանում գտնվող որոշակի նուկլեոտիդային հաջորդականություններին ոչ կովալենտ կապերով: Ոչ կովալենտ կապերն առաջանում են սպիտակուցների դրական լիցքավորված արգինինի և լի-գինի մնացորդների և **ԴՆԹ-ի** մոլեկուլի շաքարաֆոսֆատային հենքի բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային մնացորդների միջև իոնա-

կան կապերի շնորհիվ: Որոշ դեպքերում սպիտակուց-ԴՆԹ կապի առաջացմանը կարող են մասնակցել նաև ԴՆԹ-ի փոքր ակոսիկում գտնվող ատոմները:

Սուածին ԴՆԹ կապվող սպիտակուցները հայտնաբերվեցին բակտերիաների տրանսլիբացիայի ռեպրեսորները, որպես կանոն, դիմերային սպիտակուցներ են, որոնց յուրաքանչյուր ենթամիավորը մտնում է ԴՆԹ-ի մեծ ակոսիկի մեջ: Նկար 67-ում պատկերված է բակտերիալ ռեպրեսորի աշղթան, որի ամինաթթուները միարձգում են ԴՆԹ-ի մեծ ակոսիկի մեջ: ԴՆԹ-ի հետ կապվող α շղթան կոչվում է **ճանաչող շղթա**:



Նկար 67. Բակտերիայի ռեպրեսորի միացումը ԴՆԹ-ի մոլեկուլին:

Սպիտակուցի ճանաչող շղթան հիդրոֆոր փոխազդեցություններով միացած է երկրորդ α-պարուրած շղթային, որն օժանդակում է սպիտակուցի կապմանը ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդներին: Նման մոտիվ հետագայում հայտնաբերեցին այլ ԴՆԹ կապող սպիտակուցներում, և այն կոչվեց **պարույր-առ-պարույր մոտիվ (helix-turn-helix)**:

Եռկարիոտներում տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոններ, որոնք գործում են սաղմնային զարգացման շրջանում, ունեն 60 ամինարթվային մնացորդներից կազմված մոտիվ, որը կոչվում է **հոմեոդոմեն**: Հոմեոդոմենը կրկնում է բակտերիաների ռեարեսորներին բնորոշ պարույր-առ-պարույր մոտիվը: Հոմեոդոմենային սպիտակուցները խիստ պահպանողական են էվլուցիայի առումով և դեկավարում են մարմնի ձևի և օրգանների դասավորությունը պայմանավորող գործնաթացները օրգանիզմների սաղմնային զարգացման շրջանում:

Բազմաթիվ սպիտակուցներ ունեն **ցինկ-ֆինգերային դոմեններ**: Այդ կառուցվածքային մոտիվը ներկայացնում է ցինկի (Zn^{+2}) իոնի շուրջը փաթաթված պոլիպեպտիդային շղթա, որը կապվում է մետաղի իոնին ցիստեհնային մնացորդներով: Ցինկ-ֆինգերային մոտիվ կարող են ունենալ նաև ԴՆԹ-ի հետ չկապվող սպիտակուցները: Տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոնների կազմի մեջ մտնում են ցինկ-C₂H₂ մոտիվներ, որոնցում ցինկի կենտրոնական իոնին միացած են երկու ցիստեհնային մնացորդներ: Մյուս տիպի ցինկ-ֆինգերային կառուցվածքները կոչվում են **C₄-ֆինգերներ**, քանի որ դրանցում ցինկին միանում են 4 ցիստեհնային մնացորդներ: Տրանսկրիպցիայի մոտ 50 գործոններ մարդու մոտ պատկանում են **C₄-ֆինգերների** տիպին: C₄-ֆինգերների տիպին են պատկանում ստերոիդային հորմոնների կորիզային ռեցեպտորները: C₄-ֆինգերային սպիտակուցները ԴՆԹ-ին են միանում հոմոդիմերների կամ հետերոդիմերների ձևով:



Նկար 68. Գլուկոզուտիկուլուների դիմերային ռեցեպտորի միացումը
ԴՆԹ-ին: Սլաքներով ներկայացված
են β շղթաները, Zn^{+2} -ը սև գնդիկ,
մուգ գունավորված ռ պարույրները
կապվում են ԴՆԹ-ի հետ մեծ ակուսիկի շրջանում ցիստեհնային մնացորդների միջոցով:

Լեյցին-զիպերային սպիտակուցների տիպին են պատկանում տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոններ: Այս տիպի սպիտակուցների առկիալեստիլային շղթայի յուրաքանչյուր 7-րդ դիրքը գրադեցնում է հիդրօֆոր ամինաթրու լեյցինը: Այդ լեյցինային մնացորդներն անհրաժեշտ են լեյցին-զիպերային սպիտակուցների դիմերիզացման համար, քանի որ ԴՆԹ-ին լեյցին-զիպերային սպիտակուցները կարող են միանալ միայն դիմերացված վիճակում: Դիմերային տրանսկրիպցիայի գործոնների տիպին են պատկանում նաև **պարույր-կիսաօղակ-պարույր մոտիվներով սպիտակուցները**: Այս տիպի սպիտակուցների յուրաքանչյուր մոնոմեր կազմված է երկու ռ պարույր-

ներից, որոնք միմյանցից բաժանվում են անկանոն կառուցվածք ունեցող պոլիպեպտիդային շղթայի հատվածով:

Տրանսկրիպցիայի ակտիվացման բազմաթիվ գործոնների շարքում հաճախ հանդիպում են սպիտակուցներ, որոնց դոմենները հարուստ են որոշակի տիպի ամինաթթուներով: Խմբասնկերի GAL4, GCN4 գործոնները հարուստ են թթվային ամինաթթուներով (ասպարագինաթթվի և գլյուտամինաթթվի մնացորդներ): Թթվային դոմենները կարող են հարստացված լինել ոչ միայն ասպարագինաթթվի և գլյուտամինաթթվի և գլյուտամինաթթու-պրոլին մնացորդներով, այլև հիդրօքսիլ խմբերով հարուստ սերին-տրեոնին ամինաթթուներով: Տրանսկրիպցիայի ակտիվացման **թթվային դոմեններն** ունակ են խթանելու տրանսկրիպցիան բոլոր էուկարիտ քիչներում: Թթվային դոմենները գործ են կանոնավոր կառուցվածքից, և այդ դոմենների պեպտիդային շղթաները կարծես կծիկ են կազմում: Թթվային դոմենները կարող են խթանել տրանսկրիպցիան այն պարագայում, եթե միանում են համապատասխանող սպիտակուցին (**co-activator**): Միանալով համապատասխանող սպիտակուցին՝ թթվային դոմենները ձեռք են բերում կանոնավոր 2 α-պարույրների տեսք: Բոլորից լավ ուսումնասիրված տրանսկրիպցիայի գործոնը, որ պարունակում է թթվային դոմեն, **CREB սպիտակուցն** է: Ի պատճախան ցԱՍՖ-ի ներքջային պարունակության մեծացմանը՝ CREB-ը ֆունքորիլացվում է, ինչից հետո միանում է **CBP համապատիվացնող սպիտակուցին (CREB Binding Protein)**: CREB-CBP համալիրը միանում է գեների ակտիվությունը կարգավորող այն հատվածներին, որոնք պարունակում են CREB-ի կապման կայքեր և ակտիվացնում այդ գեների տրանսկրիպցիան:

Տրանսկրիպցիայի ռեպրեսիայի դոմեններն ավելի քիչ են հետագոտված: Որոշ կորիզային ռեցեպտորների գլոբուլային լիգանդ-կապող դոմեններ կարող են գործել որպես ռեպրեսորներ մենահատուկ լիգանդ-հորմոնի բացակայության դեպքում: Ռեպրեսիայի դոմենները կարող են համագործակցել համառեպրեսող սպիտակուցների հետ՝ համատեղ արգելակելով տրանսկրիպցիայի մեկնարկը:

Ինչպես արդեն նշվել է, տրանսկրիպցիայի գործոնները կարող են աշխատել հոմոդիմերների և հետերոդիմերների ձևաչափով: Հե-

տերողիմերացման հնարավորությունը լայն դաշտ է բացում տարրեր համադրությունների ստեղծման համար, ինչն էլ ավելի է ընդլայնում տրանսկրիպցիայի կարգավորման հնարավորությունները:

8.12. Ենիանսերների փոխազդեցությունը տրանսկրիպցիայի գործոնների և ՈՆԹ-պոլիմերազային համալիրի հետ

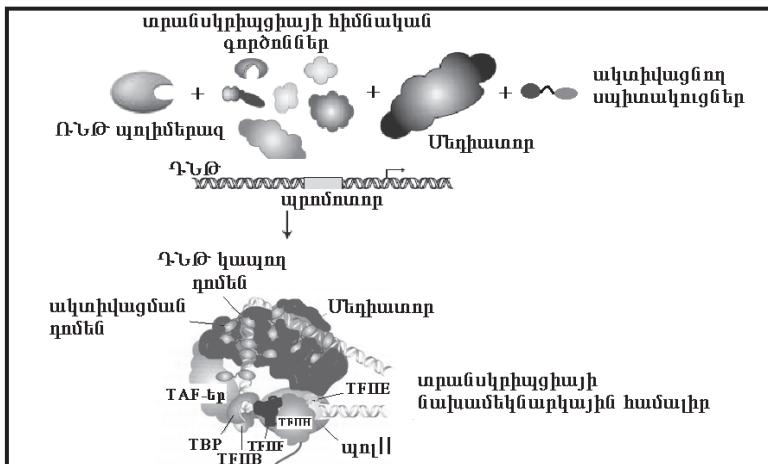
Ենիանսերների գործունեությունը քննարկելիս անհրաժեշտ է նշել, թե ինչպես է գենից հեռու գտնվող տարրը խթանում տրանսկրիպցիան: Ենիանսերի և գենի փոխազդեցությունները իրականանում են երկու հիմնական ճանապարհով:

1. ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կորացումը կիսաօղակի ձևով կարող է մոտեցնել Ենիանսերն անմիջականորեն գենի պրոմոտորին:
2. Ենիանսերի և պրոմոտորին միացած ՈՆԹ պոլիմերազային համալիրի փոխազդեցությունը միջնորդվում է համականությանու սպիտակուցներով:

Համականությանու սպիտակուցների դերում կարող են հանդես գալ քրոմատինի ռեմոդելավորման սպիտակուցներն ու հիստոնները մոդիֆիկացնող ֆերմենտները, որոնք մեծ դեր են կատարում քրոմատինի կոնֆորմացիայի ձևավորման մեջ: Այդպիսի դեր է կատարում խոշոր մոլտիպլոտեինային համալիրը, որն անվանվում է **Սեղիատորը**: Սեղիատորը կամրջում է Ենիանսերը և ՈՆԹ պոլիմերազին կապված ակտիվացնող սպիտակուցները՝ միացնելով Ենիանսերը տրանսկրիպցիայի մեկնարկային համալիրին: Սեղիատորները համարվում են կարգավորման այնպիսի միավորներ, որոնք կարող են թե՛ ակտիվացնել, թե՛ արգելակել տրանսկրիպցիան:

Գեների դիֆերենցված տրանսկրիպցիան կախված է նրանից, թե քջում որ տրանսկրիպցիայի գործոններն ու ինչ ակտիվացնող սպիտակուցներ են ներկա: Տրանսկրիպցիայի կարգավորման բազմաթիվ մասնակիտացած ԴՆԹ հատվածների և վերոհիշյալ տրանսկրիպցիայի գործոնների տարրեր համադրությունների փոխ-

կապված գործունեությունը ներկայացվում է գեների ակտիվության կարգավորման համադրական մոդելով:



Նկար 69. Նկարում պատկերված է մի քանի ակտիվացնող սպիտակուցների փոխազդեցությունը Մեջիատորի, տրանսկրիպցիայի հիմնական գործուների և ՈՆՁ պոմուսորի հետ: Ակտիվացնող սպիտակուցները կապվում են էնհանսերին՝ ձևավորելով էնհանսեոսոմ:

8.13.Տրանսկրիպցիա ՈՆՁ պոմուսորագ I-ով և ՈՆՁ պոմուսորագ III-ով

ՈՆՁ պոմուսորագ I-ով և III-ով իրականացվող տրանսկրիպցիայի մեկնարկային համալիրների ձևավորումը սկզբունքորեն նման է ՈՆՁ պոմուսորագ II-ի մեկնարկային համալիրների ձևավորմանը: Սակայն ՈՆՁ պոմուսորագ I-ը և III-ը տարրերվում են տրանսկրիպցիայի գործուների հավաքակազմով և ԴՆՁ-ի կարգավորիչ տարրերով:

18S, 5.8S և 28S ռ-ՈՆՁ-ները կողավորող տրանսկրիպցիայի միավորի երկարությունը մոտ 14 հն է: **ՈՆՁ պոմուսորագ I-ի համար ԴՆՁ-ի կարգավորիչ տարրը** նույնականացնությունն

է, որը գտնվում է մեկնարկային կետից -40-ից մինչև +5 հեռավորության վրա: Այդ հաջորդականությունը կոչվում է **կորային տարր**: Բացի կորային տարրից՝ մեկնարկային կետից -155-ից մինչև -60 հեռավորության վրա գտնվում է լրացուցիչ **վերընթաց կարգավորիչ տարրը**:

Տրանսկրիպցիան պողիմերազ I-ով սկսվում է նախամեկնարկային համալիրի ձևավորումից: Սկզբում վերընթաց կարգավորիչ տարրին միանում են վերընթացին միացող գործոնը (UBF-upstream binding factor) և SL1-ը (selectivity factor-ընտրողականության գործոն): SL1-ը կազմված է մի քանի ենթամիավորներից, որոնց մեջ մտնում են TBP-ն և ևս 4 TBP-կապված գործոններ (TAF-եր): SL1-ը միանում է պրոմոտորային շրջանին: TAF-երը անմիջականորեն կապվում են ՌՆԹ պողիմերազ I-ի մենահատուկ ենթամիավորներին և առաջնորդում ֆերմենտը դեպի մեկնարկային կետը: Տրանսկրիպցիայի համար անհրաժեշտ են նաև TIF-LA գործոնը, կազեին կիմազը 2-ը (CK 2), կորիզային ակտինը և միոզինը, դեացետիլազ SIR T7-ը և տոպոիզոմերազ I-ը, որը կանխարգելում է ԴՆԹ-ի գերպարուրումը: Պողիմերազ I-ի կողմից իրականացվող ռ-ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը կարգավորվում է տրանսկրիպցիայի գործոնների հետորպանայցին ձևափոխությունների միջոցով, որոնց թվին են պատկանում ֆուֆորիլացումը, ացետիլացումը, Էլոնգացման արագության կարգավորումն ու էպիգենետիկական այն գործոնների ներգործությունը, որոնք ազդում են ռ-ՌՆԹ-ների ակտիվ գործողությունը, որոնք ազդում են ռ-ՌՆԹ-ների ակտիվության վրա հետերոռոմատինացման ճանապարհով: Անցումը գեների ակտիվ վիճակից դեպի «լուելյալ» վիճակը իրականացվում է **քրոմատին-ռեմոդելավորող NoRC** համալիրի կողմից: NoRC-ի գործունեության հետևանքով պողիմերազ I-ի մեկնարկային կետից առաջ տեղակայվում է նույլեոսոմ, որը խոչընդոտում է նախամեկնարկային համալիրի հավաքագրմանը:

Տրանսկրիպցիա ՌՆԹ պողիմերազ III-ով: Ի տարբերություն ի-ՌՆԹ-ները և ռ-ՌՆԹ-ները կողավորող գեների՝ փ-ՌՆԹ-ների գեների պրոմոտորները գտնվում են տրանսկրիպցիայի ենթակա հատվածների միջնամասում: Այդ **ներքին** պրոմոտորային տարրերը կոչվում են A և B փարեթներ (A, B-boxes): A և B փարեթները կատարում են ոչ միայն պրոմոտորի դեր, այլև կողավորում են փ-ՌՆԹ-ների

չփոփոխվող ընդհանուր հատվածները: ՏՏ ո-ՌՆԹ-ների գեներն ունեն ներքին շրջանում տեղակայված C փաթեթ (C-box): Փ-ՌՆԹ-ների և ՏՏ ո-ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիայի մեկնարկման համար անհրաժեշտ են TFIIC և TFIII B տրանսկրիպցիոն գործոնները, իսկ ՏՏ ո-ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի համար պահանջվում է նաև TFIUA գործոնը: TFIIII B գործոնը միանում ԴՆԹ-ին և տարանջատում է շղթաները, մյուս կողմից կապվում է ՌՆԹ պոլիմերազ III-ի մենահատուկ ենթամիավորներից մեկին: Այսպիսով՝ այն նույնացվում է TBP-ի հետ, որը տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոն է բոլոր երեք ՌՆԹ պոլիմերազների հանար: ՌՆԹ պոլիմերազ III-ը կատարում է նաև այն փոքր կորիզային ՌՆԹ-ների գեների տրանսկրիպցիան, որոնց վերընթաց պրոմոտորի կազմի մեջ մտնում է ԹԱԹԱ փաթեթը:

ՌՆԹ պոլիմերազ III-ի կողմից իրականացվող տրանսկրիպցիան արգելակվում է MAF1 սպիտակուցով, որի մուտքը ցիտոպլազմից բջջակորիզ վերահսկվում է ֆուֆորիլացման մեխանիզմներով: ՌՆԹ պոլիմերազ III-ի տրանսկրիպցիան արգելակվում է նաև p53 սպիտակուցով և ռետինարլաստոմայի ընտանիքի սպիտակուցներով:

Գլուխ 9

Ո-ՈՆԹ-ների և փ-ՈՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)

9.1. Ո-ՈՆԹ-ների հասունացում

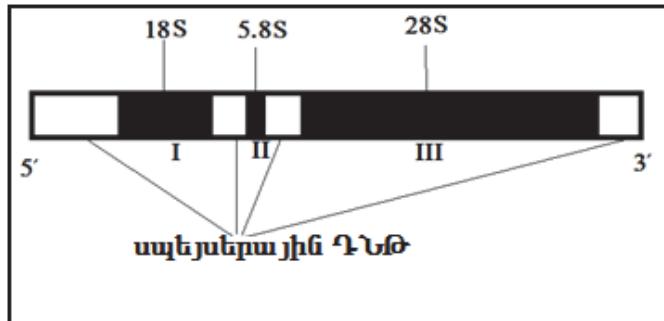
Կարնասունների արագ աճող բջիջներում (HeLa բջջային կուլտուրայում) Ո-ՆԹ-ի ընդհանուր պարունակության 80 %-ը կազմում են ո-ՈՆԹ-ները, 15%-ը՝ փ-ՈՆԹ-ները, մնացածը՝ սպիտակուց կողմանորող ի-Ո-ՆԹ-ն: Ո-ՈՆԹ-ները և փ-ՈՆԹ-ներն սինթեզից հետո անցնում են հասունացման կամ պրոցեսինգի փուլ: Ինչպես արդեն նշվել է, ոիքոստմները զարգացած և խիստ մասնագիտացած օրգաններներ են, որոնց կառուցվածքն առավելագույնս համապատասխանեցված է ֆունկցիային՝ պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզին: Ո-իքոստմների սինթեզի համար պահանջվում է բջջային երեք Ո-ՆԹ պոլիմերազների համաձայնեցված գործունեությունը: Տրանսլյացիայի ընթացքում ոիքոստմների ենթամասնիկների միավորման ընթացքում ժամանակավոր անցորդիկ կապեր են հաստատվում առնվազն 150 տարբեր սպիտակուցների հետ: Բացի դրանից՝ ո-ՈՆԹ-ների բազմաթիվ նուկլեոտիդային հիմքեր և ոիքոզի մնացորդներ ենթարկվում են քիմիական ձևոփոխությունների, որոնք կոչված են նպաստելու օրգանների մասնագիտական ֆունկցիային: Ո-իքոստմային ենթամասնիկների սինթեզի և կազմավորման փուլերի մեծամասնությունը տեղի է ունենում կորիզակում, ավելի փոքր մասն ընթանում է նուկլեոպլազմում, երբ մասնիկը կորիզակից տեղափոխվում է դեպի բջջակորիզային անցությունները: Բջջակորիզային անցությունների միջով դեպի բջջի ցիտոպլազմ կարող են տեղափոխվել միայն վերջնականապես և անթերի ձևափորված ոիքոստմային ենթամասնիկները:

Եռկարիոտների ոիքոստմների մեծ ենթամասնիկի 28S և 5.8S ո-Ո-ՆԹ-ները, ինչպես նաև փոքր ենթամասնիկի կազմի մեջ մտնող 18S ո-Ո-ՆԹ-ն կողավորվում են տրանսկրիպցիայի մեջ միավորով: Մարդու բջիջներում Ո-ՆԹ պոլիմերագ I-ով ընթացող տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզվում է 45S մեծության (մոտ 13.7 հզն) նախնական տրանսկրիպտ (նախա-ո-Ո-ՆԹ), որի հասունացման (պրոցեսին-

զի) հետևանքով առաջանում են ոիրոսումային 28S, 5.8S և 18S ռ-ՌՆԹ-ները: Չորրորդ ոիրոսումային ՌՆԹ-ն՝ 5S-ը, գաղտնազրպում է կորիզակի սահմաններից դուրս գտնվող ԴՆԹ-ի հատվածում ՌՆԹ պոլիմերաց ԻՌ-ով: 45S նախա-ռ-ՌՆԹ-ն կողավորող ԴՆԹ-ի հատվածն էուկրիոտների մոտ ունի հետևյալ ընդհանուր հատկանիշները:

1. Նախա-ռ-ՌՆԹ-ների գեները կազմված են խմբերից, որոնք միմյանցից տարանջատվում են սպեցերային ԴՆԹ-ի շրջաններով: Սպեցերային ԴՆԹ-ի երկարությունը տատանվում է 2հզն (գորտի մոտ) մինչ 30 հզն (մարդու մոտ):
2. Գենոմային շրջանները դասավորված են 5'-3' ուղղությամբ հետևյալ հաջորդականությամբ՝ 18S, 5.8S և 28S (նկար 70):
3. Բոլոր էուկարիոտ և անգամ պրոկարիոտ բջիջներում նախա-ռ-ՌՆԹ-ների գեները կողավորում են նախա-ռ-ՌՆԹ-ի այնպիսի շրջաններ, որոնք հեռացվում են պրոցեսինզի ժամանակ: Հավանաբար, նախա-ռ-ՌՆԹ-ի այդ հատվածները անհրաժեշտ են մոլեկուլի ճիշտ ծալքավորման համար, որից հետո կորցնում են նշանակությունը և արագորեն քայրավում:

Նախա-ռ-ՌՆԹ-ների սինթեզն ու պրոցեսինզը հիմնականում ընթանում են կորիզակում: Կորիզակի կառուցվածքի ուսումնասիրության արդյունքները ցույց տվեցին, որ կորիզակի ձևավորման համար բավարար է անգամ մեկ նախա-ռ-ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի միավոր: **Նախա-ռ-ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի միավորը, որից կազմավորվում է կորիզակը կոչվեց կորիզակի կազմակերպիչ (nucleolar organizer):** Կորիզակի կազմակերպիչի շուրջը համախմբվում են ապագա ոիրոսումի մյուս բաղադրամասերը: **Կորիզակի կազմի մեջ են մտնում նախա-ռ-ՌՆԹ-ն և արդեն կազմավորված ոիրոսումային ենթամասնիկները:** Ինչպես նախա-ի-ՌՆԹ-ի պրոցեսինզի ժամանակ, նորաստեղծ նախա-ռ-ՌՆԹ-ի մոլեկուլներին անմիջապես միանում են սպիտակուցներ՝ կազմավորելով նախառիրոսումային ոիրոնուկեռապրոտեինային մասնիկներ (նախա-ռ-ՌՆՊ-ներ):



Նկար 70. Մարդու ռ-ՌՆԹ-ները կողավորող գեների դասավորությունը:

I հատվածում խմբավորված են 18S, II-5.8S և III-28S գեները:

Նախա-ռ-ՌՆԹ-ի բաղդատումը մասերի սկսում է միայն նախա-ռ-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի ամբողջական տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո: Խմբավորման մոտ նախա-ռ-ՌՆԹ մոլեկուլի տրանսկրիպցիայի տևողությունը մոտ վեց րոպե է: Տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո 10 վարկյանի ընթացքում ռ-ՌՆԹ-ն ճեղքավորվում է, ոիբոքի մնացորդները և որոշ նույնականացները հիմքեր քիմիապես ձևափոխվում են: Խմբավորման արագ աճող քիչներում յուրաքանչյուր վայրկյանում կազմավորվում, հասունանում և ցիտոպլազմ են արտահանվում մոտ 40 զույգ ոիբոստմային ենթամասների: Ռիբոսումների սինթեզի բարձր արագությունը պայմանավորված է նրանով, որ ոիբոսումային գեները կորիզակում ներկայացված են բազմաթիվ կրկնակներով (խմբավորման մոտ 100-200 օրինակ), որոնց տրանսկրիպցիան ՌՆԹ պոլիմերաց 1-ով ընթանում է միանվագ: Ռիբոսումային գենի նախնական տրանսկրիպտի երկարությունը 7 հզն է: Պրոցեսինգի ընթացքում այն կտրատվում է եկզոնուկլեազներով մինչ այն չափերը, որոնք բնորոշ են հասուն ռիբոսումներում առկա ռ-ՌՆԹ-ներին: Հասունացման ժամանակ տեղի է ունենում նաև որոշ ռիբոզային մնացորդների 2'-OH խմբերի մերիլացում և առանձին ուրիշինային մնացորդների փոփոխարինում պակաղուրիդինով: Հավանաբար տրանսկրիպցիայից հետո տեղի ունեցող քիմիական այդ փոփոխություններն անհրաժեշտ են ռիբոսումներում սպիտակուցի սինթեզի օպտիմալ ընթացքի համար, ինչի մասին է վկայում դրանց էվոլյուցիոն պահպա

նողականությունը: Քիմիական ձևափոխության ենթակա ռիբոզային և ուրիշնային մնացորդների դիրքը որոշում են 150 վոքք կորիզակային Ռ-ՆԹ-ները (snoRNAs), որոնք առաջացնում են ժամանակավոր հիբրիդներ նախա-Ռ-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլների հետ: snoRNA-ները կապվում են սպիտակուցների հետ՝ կազմելով ռիբոնուկլեոպրոտեինային մասնիկներ՝ snoRNP-ն եր, որոնք ուղղորդում են մերիլ տրանսֆերազները և ուրիշին մոդիֆիկացնող ֆերմենտները:

9.2.Փ-Ռ-ՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)

Փ-Ռ-ՆԹ-ները, որոնց միջին երկարությունը կազմում է 75-80 նուկլեոտիդ, սինթեզվում են բջջակորիզում Ռ-ՆԹ պոլիմերազ III-ի միջնորդությամբ երկար նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլների տեսքով: Հասուն փ-Ռ-ՆԹ-ում պարունակվում են բազմաթիվ ազոտական հիմքեր, որոնք բացակայում են նախափ-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլներում: Փ-Ռ-ՆԹ-ների պրոցեսինգի ընթացքում, որը տեղի է ունենում բջջակորիզում, նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները կտրատվում են, որոշ ազոտական հիմքեր քիմիապես ձևափոխվում են, և նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ների մի մասն անցնում է սպլայսինգի փուլով: Բոլոր նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ների 5' ծայրում առկա է փոփոխական երկարություն ունեցող լրացուցիչ նուկլեոտիդային հաջորդականություն, որը հեռացվում է պրոցեսինգի ժամանակ: 5' ծայրի նուկլեոտիդները ճեղքավորվում են ռիբոնուկլեազ P-ով, որը ռիբոնուկլեապրոտեինային էնդոնուկլեազ է և ակտիվանում է Mg^{+2} -ի իոնների ներկայությամբ: Նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ի նուկլեոտիդային հիմքերի մոտ 10 %-ը պրոցեսինգի ընթացքում ենթարկվում է քիմիական ձևափոխությունների: Զնափոխությունները կարելի է բաժանել 3 հիմնական խմբերի:

1. 3' ծայրում գտնվող ուրացիլի մնացորդները տեղակալվում են ՑՅԱ հաջորդականությամբ, ինչը անհրաժեշտ է հասուն փ-Ռ-ՆԹ-ի և ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ սինթերազի միացման համար: ՑՅԱ-ն միացնող ֆերմենտը կարող է գործել միայն այն պարագայում, եթե նախա-փ-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլները ունեն ճիշտ տարածական կառուցվածք:

2. Պուրինային հիմքերի հետերոցիկլիկ օղակներին միացվում են մեթիլ և իզոպենտենիլ խմբեր, 2' OH-ները մեթիլացվում են:
3. Որոշ ուրիշինային մնացորդներ փոխացվում են դիհիդրոռուրիդինի, պսևդոռուրիդինի և ռիբոռիմիդինի:

Նախա-փ-ՌՆԹ-ները կարող են պարունակել մեկ կամ երկու ինտրոններ, որոնք հեռացվում են սպլայսինգի ժամանակ: Փ-ՌՆԹ-ների սպլայսինգը տարրերվում է ի-ՌՆԹ-ների սպլայսինգից, քանի որ.

1. այն իրականացվում է ոչ թե ռիբոռիմներով, այլ սպիտակուցներով,
2. միանվագ կտրվում են ինտրոնի երկու հակադիր ծայրերը,
3. փ-ՌՆԹ-ի հատվածների միաձուլման համար օգտագործվում է ԳԵՖ-ի և ԱԵՖ-ի էներգիան:

Հասունացած փ-ՌՆԹ բջջակորիզից ցիտոպլազմ է արտահանվում երսպորտին t-ի միջոցով:

ԳԼՈՒԽ 10

Գեների ակտիվության կարգավորման հետաբանսկրիպցիոն մեխանիզմներ

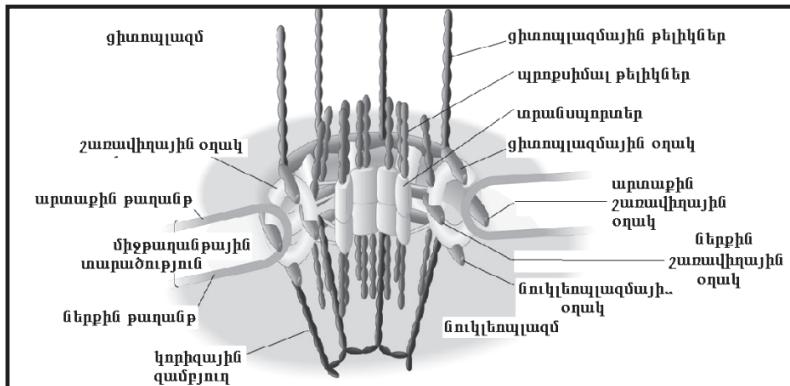
Այս կամ այն գենով կողավորվող սպիտակուցների քանակը բջջում կախված է ոչ միայն գենի տրանսկրիպցիայի ակտիվությունից, այլ նաև սինթեզված ի-ՌՆԹ-ների քջակորիզից դեպի ցիտոպլազմ տեղափոխության արդյունավետությունից, ի-ՌՆԹ-ների կայունությունից և տրանսլյացիայի արդյունավետությունից: Այսպիսով՝ գեների ակտիվությունը, որի չափանիշը սինթեզված սպիտակուցի կամ ՌՆԹ-ի քանակն է, կարգավորվում է տարբեր գործընթացներով, որոնք տեղի են ունենում տրանսկրիպցիայի ավարտից և ՌՆԹ-ի հասունացումից հետո:

10.1. Ի-ՌՆԹ-ների տեղափոխությունը քջակորիզից ցիտոպլազմ

Հասունացումից հետո ի-ՌՆԹ-ները քջակորիզում կապվում են հետերոգեն ՌՆԹ-սպիտակուցների (hnRNP) հետ, և այդ համալիրները կոչվում են կորիզային ի-ՌՆՊ-ներ (կորիզային ռիբոնուկլեոպրոտեիններ): Սպիտակուցների տրանսլյացիան տեղի է ունենում ցիտոպլազմում, և ակնհայտ է, որ այն կարող է մեկնարկել միայն նրանից հետո, եթե ի-ՌՆԹ-ները քջակորիզից անցնում են ցիտոպլազմ:

Քջակորիզը ցիտոպլազմից բաժանվում է երկշերտ թաղանքով, որը կոչվում է քջակորիզաքարանք: Քջակորիզաքարանքի ամենատաքրավ առանձնահատկությունը խոշոր անցուղիների առկայությունն է: Քջակորիզային թաղանքի անցուղիների միջոցով իրականանում է կորիզ-ցիտոպլազմ «երկխոտությունը», և խոշոր նոլեկուլային համալիրների (կորիզային ՌՆՊ, ռիբոսոմային ենթամասնիկ) տեղափոխությունը ցիտոպլազմ: Քջակորիզաքարանքային անցուղիները (nuclear pore complexes-NPC) մոտ 30 տարբեր նոլեկուլային կոչվող սպիտակուցներից կազմված խոշոր վերմուկուլային համա-

լիրներ են: NPC-ներն ընկղմված են բջջակորիգաթաղանքի մեջ և նման են 30 նմ տրամագիծ ունեցող խողովակների կամ սնամեջ գլանիկների (նկար 71): Փոքր մոլեկուլներն ազատ անցնում են NPC-ների միջով, բայց խոշոր մասնիկները կարող են տեղափոխվել միայն **FG-նուկլեոպրինների** մասնակցությամբ: FG-նուկլեոպրիններն ունեն գլոբուլին դոմեն, որով խարխսավում են NPC-ների մյուս մոլեկուլներին՝ կազմելով կենտրոնական խողովակի պատերը: Խարսխման կետերից դուրս են գալիս երկար անկանոն կառուցվածքով թելիկներ, որոնք ուղղված են դեպի սնամեջ խողովակի ներսը: Այդ թելիկները հիդրոֆոր ամինաթթուներից կազմված պեպտիդային շղթաներ են, որոնք հարուստ են **ֆենիլալանինով և օլիցինով:** Ֆենիլալանինի և օլիցինի բազմակի կրկությունները կոչվում են **FG-կրկնություններ:** Կենտրոնական խողովակի ներսում այդ պեպտիդային թելիկները ձևավորում են ամպանման կառույց: Ամպանման կառույցի թելիկների միջայրն ուղղված է դեպի նուկլեապլազմ, իսկ մյուսը դուրս է գալիս ցիտոպլազմ: Ամպանման կառույցն արգելք է մակրոմոլեկուլների ազատ դիֆուզիայի համար NPC-ների միջով, մինչդեռ չի արգելակում ջրի, տարրեր իոնների, մեթարոլիտների և մինչև 40-60ԿԴ մեծություն ունեցող սպիտակուցների ազատ դիֆուզիան: Ավելի մեծ սպիտակուցներն ու կորիզային **ՌՆՊ-ները** տեղափոխվում են հատուկ սպիտակուցներով՝ **փոխադրիչներով:** Ցիտոպլազմից կորիզ տեղափոխվող սպիտակուցներն ունեն հատուկ դոմեն, որին կարող է միանալ փոխադրիչ սպիտակուցը: Այդ դոմենը կոչվում է **կորիզային տեղակայման ազդանշան**(nuclear localization signal-NLS): NLS-ները կազմված են 8-30 ամինաթթուներից և հարուստ են ալրոլինով, լիզինով և արգինինով (դրական լիցքավորված ամինաթթուներով):



Նկար 71. Կորիզաքաղանթային անցուղի: Կորիզաքաղանթային անցուղին նման է միմյանց միացած անիվների (ցիտոպլազմային և նուկլեոպլազմային օպակներ): FG-նուկլեոպորինների թելանման ելուստները, դուրս գալով նուկլեոպլազմ, ձևավորում են «կորիզային զամբյուղը»:

Որպես կանոն, բջջակորիզից դեպի ցիտոպլազմ տեղափոխվում են կորիզում սինթեզված Ω -ՆԹ-ները, բջջակորիզային ի- Ω -ՆՊ-ներն ու ռիբոսոմային ենթամասնիկները: Բջջակորիզից ցիտոպլազմ տեղափոխվելու համար վերը նշված մոլեկուլներին և մասնիկներին պետք է միանան հատուկ փոխադրիչ սպիտակուցներ, որոնք ունեն կորիզային էքսպորտի ազդանշման կոչվող դրմեն (nuclear export signal-NES): Սպիտակուցների տեղափոխությունը ցիտոպլազմից բջջակորիզ նման է բեռնափոխադրման գործընթացին, և այդ պատճառով տեղափոխվող սպիտակուցը պայմանականորեն անվանվում է «կարգո», ինչը անգերեն նշանակում է «բեռ»: Կարգոյի տեղափոխությանը մասնակցում են Ran սպիտակուցը և իմպորտինները:

Ran-ը մոնոնթրային G-սպիտակուց է, որը գոյություն ունի երկու կոնֆորմացիաներով, մեկը՝ միացած Φ -ԵՖ-ին, և մյուսը՝ միացած Φ -ԿՖ-ին: Բացի Ran սպիտակուցից՝ կարգոյի տեղափոխմանը բջջակորիզ և բջջակորիզից դեպի ցիտոպլազմ մասնակցում են նաև NTF2-ը, իմպորտին α -ն, իմպորտին β -ն: Իմպորտին α -ն և իմպորտին β -ն կազմում են հետերոպոլիմեր: Հետերոպոլիմերի α ենթամիավորը միանում է կարգո սպիտակուցի NLS-ին, իսկ իմպորտին β -ն կապ-

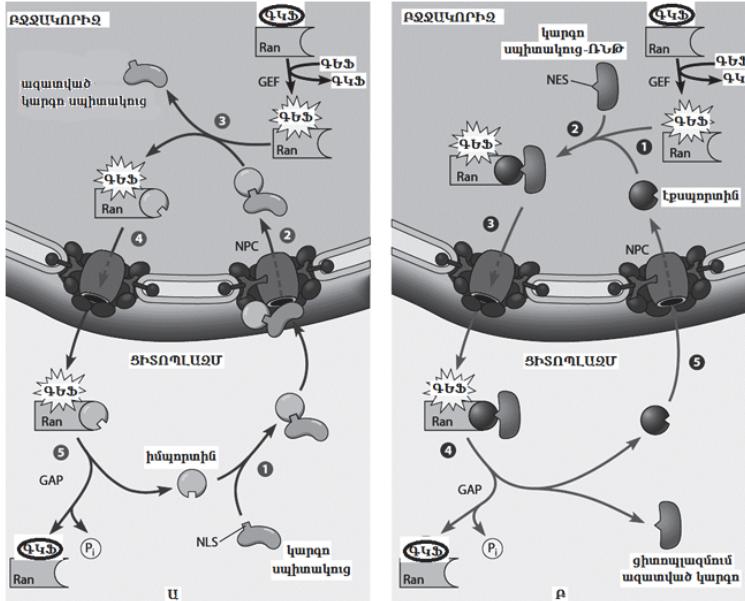
վում է բջջակորիգաթաղանթային անցուղիների կենտրոնական շրջանում գտնվող FG-նուկլեոպորիններին: Հաջորդաբար տեղաշարժվելով մեկ նուկլեոպորինից մյուսը՝ կարգո համալիրները առանց էներգետիկ ծախսերի շարժվում են անցուղու միջով: Նուկլեոպլազմում իմպորտին-սպիտակուց համալիրը միանում է ԳԵՖ-ին կապված Ran սպիտակուցին: Իմպորտինի և Ran-ի միացումից հետո տեղի է ունենում համալիրի կոնֆորմացիայի փոփոխություն, ինչի հետևանքով ներկրվող սպիտակուցն աճչատվում է, և ազատ է արձակվում նուկլեոպլազմ: **Ran-ԳԵՖ-իմպորտին** համալիրը կապվում է NPC-ի դեպի ցիտոպլազմ ուղած ցիտոպլազմային թելիկներին, որոնց կազմի մեջ է մտնում **ԳԵՖ-ազային ակտիվություն խրանող սպիտակուցը (Ran-GAP)**: Ran-GAP-ի ներգործությունից հետո Ran-ին կապված ԳԵՖ-ը հիդրոլիզվում է մինչ ԳԿՖ, ինչի պատճառով Ran-ի կոնֆորմացիան փոխվում է այնպես, որ նվազում է խնամակցությունը իմպորտինի հանդեպ: Այս ճանապարհով իմպորտինն ազատ է արձակվում ցիտոպլազմ և ունակ է լինում կապվելու նոր կարգոյի հետ: Ran-ը վերադարձվում է բջջակորիգ NTF2-ի միջոցով (նկար 72, Ա):

Բջջակորիգի դեպի ցիտոպլազմ տեղափոխվելու համար նուկլեոպլազմում գտնվող **էքսպորտիններ** կոչվող սպիտակուցները պետք է ճանաչեն և միանան կարգո սպիտակուցների կամ Ω-Ն-Պ-ների NES-ներին: Այնուհետև ՈՆՊ-էքսպորտին համալիրին պետք է միանա **Ran-ԳԵՖ-ը**: Այս բարդ գումարային համալիրը տեղափոխվում է դեպի բջջակորիգաթաղանթի անցուղին: Մտնելով անցուղի՝ համալիրը հերքականությամբ կապվում է միմյանց հաջորդող FG-նուկլեոպորիններին՝ տեղափոխվելով նուկլեոպլազմային հարթությունից դեպի ցիտոպլազմային եզրը, և, ի վերջո, ՈՆՊ-ները դուրս են բերվում ցիտոպլազմ (նկար 72, Բ):

Իմպորտին, էքսպորտին և Ran-ԳԵՖ միջնորդվող տեղափոխությունների ուղղությունը կարգավորում է Ran-ԳԵՖ-ի պարունակությունը բջջակորիգում: Բջջակորիգում Ran-ԳԵՖ-ի պարունակությունն ավելի մեծ է, քան ցիտոպլազմում: Դա պայմանավորված է նրանով, որ նուկլեոպլազմում գործում է **գուանին-նուկլեոտիդ-փոխանակող գործոն** (GEF-guanine exchange factor), որը արագ փոխա-

րինում է Ran-ԳԿՖ-ի կրկնաֆոսֆատը ԳԵՖ-ով: Յիտոպլազմում, հակառակը, ակտիվ գործում է **ԳԵՖ-ազ ակտիվացնող սպիտակոց (GAP- GTPase activating protein)**, որը հիդրոլիզում է Ran-ի հետ կապված ԳԵՖ-ը՝ նվազեցնելով Ran-ԳԵՖ-ի կոնցենտրացիան: Քանի որ կարգոն ցիտոպլազմ տեղափոխելիս Ran-ԳԵՖ գույզը լրում է բջջակորիզը, բջջակորիզում Ran-ի ստացիոնար քանակությունը վերականգնվում է վերը նշված բջջակորիզային տրանսպորտի սպիտակուց NTF2-ի շնորհիվ (nuclear transport factor 2), որը Ran-ԳԿՖ-ը ցիտոպլազմից վերադարձնում է բջջակորիզ: Ցուրաքանչյուր կարգն մոլեկուլի տեղափոխության ուղղություն որոշվում է նրանով, թե ինչ բջջակորիզային տեղակայման դոմեն ունի կարգոն՝ NLS թե NES:

Կարնասունների արագ աճող բջջները 1 րոպեում սինթեզում են 20 000 ռիբոսոմային ենթամասնիկներ: Մեկ բջջակորիզային անցուդով ռիբոսոմային ենթամասնիկների տեղափոխման արագությունը կազմում է 5-6 ենթամասնիկ/րոպե: Նկատի ունենալով այն, որ կորուզադանթային անցուդիների թիվը հասնում է 3000-4000-ի, կարելի է հաշվարկել, որ 1 րոպեում բջջակորիզից ցիտոպլազմ կարող են տեղափոխվել 15000-24000 ռիբոսոմային ենթամասնիկներ: Յիտոպլազմից բջջակորիզ կատարվող տեղափոխությունների քանակը էլ ավելի ակտիվ է: Ջրոմոսումների կրկնապատկումից հետո քրոմատինի կառուցվածքի ձևավորման համար անհրաժեշտ հիստոնների մուտքի արագությունը յուրաքանչյուր անցուդով պետք է կազմի 100 հիստոնի մոլեկուլ/րոպե:



Նկար 72. Α) Սպիտակուցի տեղափոխությունը ցիտոպլազմից բջջակորիքի:
 1-իմպորտինը ցիտոպլազմում միանում է տեղափոխվող սպիտակուցին
 (կարգո); 2-իմպորտին-կարգո համալիրն անցնում է կորիզարադարձի ան-
 ցուղով և նուկլեոպլազմում միանում է Ran-ԳԵՖ-ին; 3-կարգո սպիտակուցը
 նուկլեոպլազմում անջատվում է կարգո-Ran-ԳԵՖ համալիրից; 4-Ran-ԳԵՖ-
 ը տեղափոխվում է ցիտոպլազմ; 5-ցիտոպլազմում GAP-ի ազդեցության
 շնորհիվ Ran-ԳԵՖ վերածվում է Ran-ԳԿՖ-ի, և իմպորտինը ազատ է ար-
 ձակվում: Β) Ուրբոնուկլեինապրոտեինի տեղափոխությունը բջջակորիքից
 ցիտոպլազմ: 1-ՈՒՊ-ի սպիտակուցային մասի NES-ը ճանաչվում է էքսպոր-
 տինի կողմից; 2-կազմվում է էքսպորտին-կարգո ՈՒՊ-Ran-ԳԵՖ-համալիրը;
 3-էքսպորտին-կարգո ՈՒՊ-Ran-ԳԵՖ-համալիրը տեղափոխվում է անցո-
 ղով դեպի ցիտոպլազմ; 4-GAP-ը ճեղքում է համալիրի կազմում գտնվող
 ԳԵՖ-ը մինչ ԳԿՖ, ինչի շնորհիվ ցիտոպլազմ են արձակվում էքսպորտինը և
 կարգո ՈՒՊ-ն [Hardin J. et al, 8th ed, 2012]:

10. 2. ԳԵՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ԺԻՍՊԱԼԱԳՄԱՅԻՆ ՄԵԽԱՆԻՋՄԱՆԵՐ

**ԳԵՆԵՐԻ ԷՔՍԱՎԵՍԻԱՅԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ԻԵՍ ՏՐԱՆԿՐԻՎԳԻՆԸ ՄԵ-
ԽԱՆԻՋՄԱՆԵՐԸ ՀԵՆ ՍԱՀՄԱՆԱՎԻԱԼՎՈՒՄ ԲԶՉԱԿՈՐԻԳՈՒՄ ՂՆԹԱԳՈՂ ԳՈՐ-
ԴԱՌՈՒՅԹՆԵՐՈՎ:** ԳԵՆԵՐԻ ԷՔՍԱՎԵՍԻԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՎՈՒՄ Է ԱԱ ԺԻՍՊԱ-
ԼԱԳՄԱՅԻՆ ԳՈՐԾՎԱՑԱՆԵՐՈՎ: ԹՎԱՐԿԵՆՔ ԳԵՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԱՐ-
ԳԱՎՈՐՄԱՆ ԺԻՍՊԱԼԱԳՄԱՅԻՆ ԳՈՐԾՎԱՑԱՆԵՐԸ.

- ԿՈՐԻԳԻԾ ԺԻՍՊԱԼԱԳՄ ՏԵՂԱՎԻՇԱՎԱԾ Հ-ՈՆԹ-ՆԵՐԻ ՄՈԼԵԿՈՎ-
ՆԵՐԻ ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ԱՊԱՀՈՎՈՒՄ,
- ԺԻՍՊԱԼԱԳՄՈՒՄ ԻԱՅՏՆՎԱԾ Հ-ՈՆԹ-ՆԵՐԻ ԴԻՀԱՎՈՐՈՒՄ,
- ՍՎԻՏԱԿՈՒԾԻ ՍԻՆՔԵԶԻ ՎԻՆԱՐԵՐԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ՄԵԽԱՆԻՋՄ-
ԱՆԵՐ:

ԳԵՆԵՐԻ ԷՔՍԱՎԵՍԻԱՅԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ԺԻՍՊԱԼԱԳՄԱՅԻՆ ՎԻՆԱՐԵՐԸ ԱՊԱՀՈՎԱՅԻՆ ԴԵՐ ԵՆ ԿԱՏՈՒՐՈՒՄ ԵՐԿՈՒ ԽՈՒՄՔ ԿԱՐԾ ՈՆԹ-ՆԵՐԻ ՄՈԼԵ-
ԿՈՎՆԵՐ, ՈՐՈՆՔ ԼԱՂՄՎԱԾ ԵՆ 22 ՆՈՎԼԵԿՈՏԻԴՆԵՐԻԾ: ԴՐԱՆՔ ԵՆ
ՏԻՌՆԹ-ՆԵՐԸ և ԿԱՐԾ ԽԱՆԵՐՖԵՐԵՆՏՎՈՎԸ ՈՆԹ-ՆԵՐ (ՏԻՌՆԹ-ՆԵՐ) ԵՆ:
Նշված ՈՆԹ-ՆԵՐԸ, զուգավորվելով կոմպլեմենտար նովլեկոտիդային
հաջորդականություն ունեցող հ-ՈՆԹ-ՆԵՐԻ մոլեկովների հետ, արգե-
լակում են վերջիններիս տրանսյացիան (ինչը բնորոշ է տիՌՆԹ-ՆԵ-
ՐԻՆ) կամ ճեղքավորում են միացած հ-ՈՆԹ-Ի մոլեկովը (այս գործըն-
թացը հատուկ է ՏԻՌՆԹ-ՆԵՐԻՆ): Հայտնաբերված են մոտ 500
ՏԻՌՆԹ-ՆԵՐ: Դրանցից շատերը առկա են միայն որոշակի մասնա-
գիտացած բջիջներում սաղմի կազմավորման տարրեր վիոլերում և
անմիջականորեն հետծննդյան շրջանում: Բազմաթիվ ՏԻՌՆԹ-ՆԵՐ
կարող են կապվել ոչ թե մեկ, այլ մի քանի հ-ՈՆԹ-ՆԵՐԻ մոլեկովների
հետ:

10.3. Միկրո ՌՆԹ-ներ

Բազմաթիվ բուսական և կենդանական օրգանիզմներում սպիտակուցների տրանսլյացիայի կարգավորմանը լայնորեն մասնակցում են միկրո ՌՆԹ-ները (տի՛ֆՆԹ-ներ): Պարզվեց, որ մարդու գեների գրեթե մեկ երրորդի էքսպրեսիան կարգավորվում է տի՛ֆՆԹ-ներով:

Առաջին տի՛ֆՆԹ-ն հայտնաբերվեց 1993 թվականին: Այն սինթեզվում է *lin-4* գենային լոկուսում և ներկայացնում է 22 նուկ. բաղկացած ՌՆԹ, որը մասնակիորեն կոմպլեմենտար է (փոխլրացնում է) թիրախային *lin-14* գենի ի-ՌՆԹ-ի 3' ծայրային տրանսլյացիայի շենքարկվող հաջորդականությանը: Տի՛ֆՆԹ-ների գեները գենոմում կազմում են խմբեր, որոնց տրանսկրիպցիան պոլիցիստրոնային է (սինթեզվում է մեկ մոլեկուլ ի-ՌՆԹ) և կատարվում է ՌՆԹ պոլիմերաց Պ-ով: Նման նախա-տի՛ֆՆԹ-ների երկար մոլեկուլի կազմի մեջ են մտնում մի քանի հարյուրից մինչ հազարավոր նուկլեոտիդներ, որոնք ներկայացնում են մի քանի տի՛ֆՆԹ-ների մոլեկուլներ: Տի՛ֆՆԹ-ները կարող են առաջանալ նաև նախա-ի-ՌՆԹ-ի հասունացման ընթացքում կտրված ինտրոնային հատվածներից:

Երկար նախա-տի՛ֆՆԹ-ների մոլեկուլները կարող են առաջանել երկշերա ծամկաներ, որոնք ներառում են 70 նուկլեոտիդային մնացորդներ: Ծամկալային կառուցվածքները կազմավորում են օղակ-ցողունային կառուցվածքներ (ցողունային հատվածում կարող է տեղի ունենալ նուկլեոտիդների ոչ կոմպլեմենտար գուգավորում): Այս մոլեկուլները նման են սպիտակուց կողավորող ի-ՌՆԹ-ներին և ունեն մերիլ-7-գուանինային կենակ 5' ծայրում և պողիԱ պոչիկ 3' ծայրում: Երկար նախա-տի՛ֆՆԹ-ները ճեղքվում են 60-70 նուկ. երկարությամբ նախա-տի՛ֆՆԹ-ների **Գրոշա** սպիտակուցով, որն օժտված է ոիրոնուկլեազային ակտիվությամբ և գործում է մի քանի օժանդակ սպիտակուցների հետ համատեղ (նկար 73): **Գրոշա-DGRC8** սպիտակուցների համալիրը ճեղքվում է երկար նախա-տի՛ֆՆԹ-ների օղակ-ցողունային կառուցվածքները ցողունի հիմքում՝ ձևավորելով առաջնային տի՛ֆՆԹ-ներ:

Առաջնային տի՛մ-ները ցիտոպլազմ են տեղափոխվում էքսպրոտիմ-5-ի միջոցով: Ցիտոպլազմում նախա-տի՛մ-ները ճեղքավրփում են **Դայսեր** սպիտակուցների կողմից՝ առաջացնելով 22-24 նուկ. երկարությամբ մոլեկուլներ, որոնց մի շղթան հասուն տի՛մ-ն է, իսկ մյուսը՝ այդ շղթայի թերմոդինամիկորեն անկայուն կրկնակը, որը հետագայում քայլայվում է: Հասուն տի՛մ-ներով է զուգավորվել թիրախսային ի-ՈՒԹ 5' և 3' տրանսլյացիայի չենթարվող հատվածների հետ: Այդ զուգավորման համար որոշչի դեր են կատարում տի՛մ-ների 5' ծայրի 6-7 նուկլեոտիդների և ի-ՈՒԹ-ի 3' ծայրի նուկլեոտիդների կոմպլեմենտարությունը:

Համաձայն նորագոյն տվյալների՝ տի՛մ-ները կարող են զուգավորվել անգամ ի-ՈՒԹ կողավորող հատվածների հետ: Տի՛մ-ները ճնշում են իրենց հետ զուգավորված թիրախսային ի-ՈՒԹ-ների տրանսլյացիան, խթանում ի-ՈՒԹ-ի քայլայումը: Ենթադրվում է, որ ի-ՈՒԹ-ների 30-50% ակտիվությունը կարգավորվում է տի՛մ-ներով, ինչը զգալի դեր է կատարում գեների աշխատանքի արդյունավետության կարգավորման մեջ:

10.4. Ինտերֆերենցվող կարճ ՈՒԹ-ներ

Ինտերֆերենցվող ՈՒԹ-ները (ի՛մ-ներ) հայտնաբերվել են պատահականորեն, երբ հետազոտողները փորձում էին ճնշել *C. elegans* որդի որոշ գեների էքսպրեսիան **հակասենաային արգելակման մեքորով**: Հակասենաային արգելակման մեքորով էությունն այն է, որ միկրոներարկման եղանակով բժիջ են ներմուծվում թիրախսային գենի ի-ՈՒԹ-ին կոմպլեմենտար միաշղթա ՈՒԹ-ի երկար մոլեկուլներ, որոնք, զուգավորվելով ի-ՈՒԹ-ի հետ, արգելակում են վերջինիս տրանսլյացիան: Փորձերի ընթացքում պարզվեց, որ մի քանի հարյուր նուկլեոտիդից կազմված երկշղթա հակասենա ՈՒԹ-ի մոլեկուլը շատ ավելի արդյունավետ է ճնշում գենի էքսպրեսիան, քան միաշղթա հակասենա ՈՒԹ-ի մոլեկուլը: Երկար ինտերֆերենցվող ՈՒԹ-ների մոլեկուլները լիովին արգելակում են սպիտակուցի սինթեզը քջում, և այս հանգամանքը սահմանափակում է դրանց կիրառությունը:

յունը առանձին գեների էքսպրեսիայի ընտրովի ճնշման համար: Այդ թերությունից զորկ են ինտերֆերենցվող կարծ ՈՆԹ-ները:

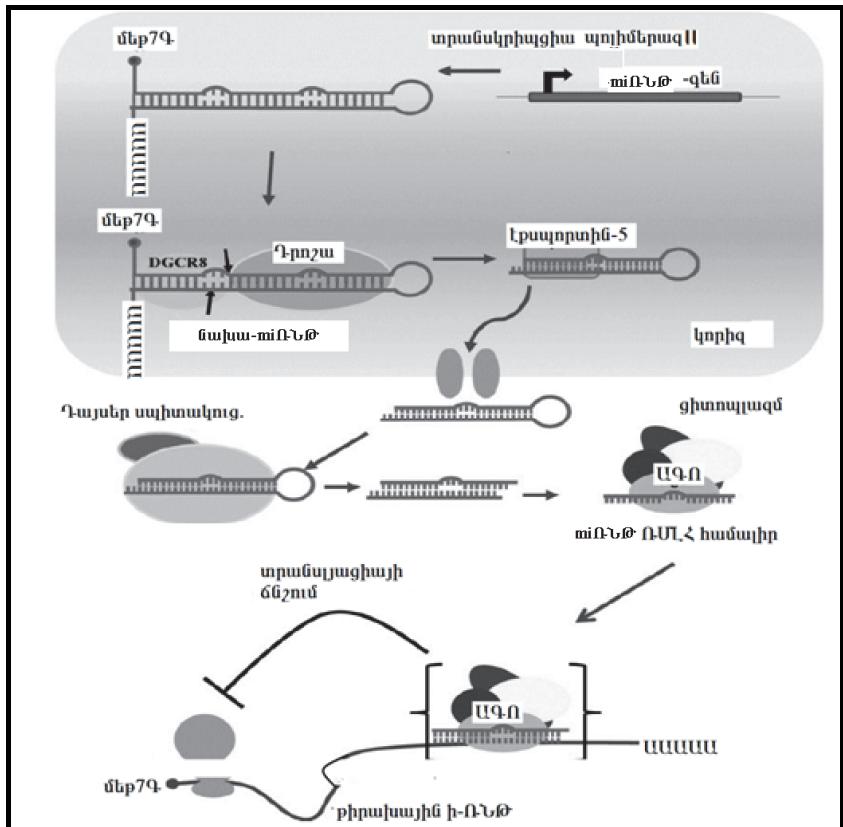
Ինտ. կ.ՈՆԹ-ները առաջանում են երկար երկշղթա ՈՆԹ-ների ճեղքավորման հետևանքով: Երկար երկշղթա ՈՆԹ-ները սինթեզվում են կորիզում ՈՆԹ պոլիմերաց II (Պոլ II) ֆերմենտի կողմից և տեղափոխվում ցիտոպլազմ: Ցիտոպլազմում դրանք ճեղքավորվում են 20-25 նուկ. երկարությամբ հատվածների **Դայսեր** կոչվող ֆերմենտով, որը պատկանում է երկշղթա ՈՆԹ-ները ճեղքավորող ոիբոնուկլեազ-ների ընտանիքին: Ինտ.կ.ՈՆԹ-ների 5' ծայրի երկու շղթաներն ել ավարտվում են ֆուֆատային, իսկ 3' ծայրում՝ հիդրօքսիլ խմբերով: Երկշղթա ՈՆԹ-ի շղթաներից մեկը կոչվում է ուղղորդող, մյուալ՝ ուղեկից: Դայսերով ճեղքավորվելուց հետո երկշղթա ՈՆԹ-ն կապվում է **Արգոնակտ** (Ագո) սպիտակուցների համալիրին, որոնք, օժտված լինելով ոիբոնուկլեազային ակտիվությամբ, ճեղքավորում են ուղեկից շղթան: Ուղղորդող շղթան մնում է կապված ԱԳՈ2 համալիրի հետ: ԱԳՈ2 համալիրն առաջնորդում է ինտ.կ.ՈՆԹ-ի ուղղորդող շղթան դեպի **ՈՆԹ-մակածված արգելակող համալիր** (ՈՒԼՀ-RISC) կոչվող սպիտակուցների խումբը, որը կապվում է թիրախսային ի-ՈՆԹ-ին: ՈՒԼՀ-ի-ՈՆԹ-ինտ.կ.ՈՆԹ համալիրը ՈՒԼՀ-ի սպիտակուցների էնդոնուկլեազային ակտիվության շնորհիվ ճեղքավորում է զուգավորված շղթաների 10-րդ և 11-րդ մնացորդները կապող ֆուֆողիներային կապը: Քանի որ ի-ՈՆԹ-ների ծայրային հատվածները կեպավորման և պոլիաստենիլացման շնորհիվ ճեռք են բերում երկրորդային և երրորդային կառուցվածքներ, դրանք չեն ճանաչվում ՈՒԼՀ-ի կողմից, և համալիրի արդյունավետությունը կարող է խիստ նվազել:

Ինտ.կ.ՈՆԹ-ների առաջացնամք որոշչ դեր է կատարում բույսերի, ճանճերի և որդերի հակավիրուսային պաշտպանության գործում: Ինչպես հայտնի է, ՈՆԹ-վիրուսներով վարակվելուց հետո տերթջում սկսվում է վիրուսային գենոմի կրկնապատկումը, որի ընթացքում առաջանում են միջամկյալ երկար երկշղթա ՈՆԹ մոլեկուլներ: Այդ ՈՆԹ մոլեկուլները ճանաչվում և վեր են ածվում վիրուսային կ. ինտ. ՈՆԹ-ների Դայսեր սպիտակուցների կողմից: Բույսերի տերթիջների Ագո պարունակող ՈՒԼՀ-ները, միացնելով վիրուսայի-

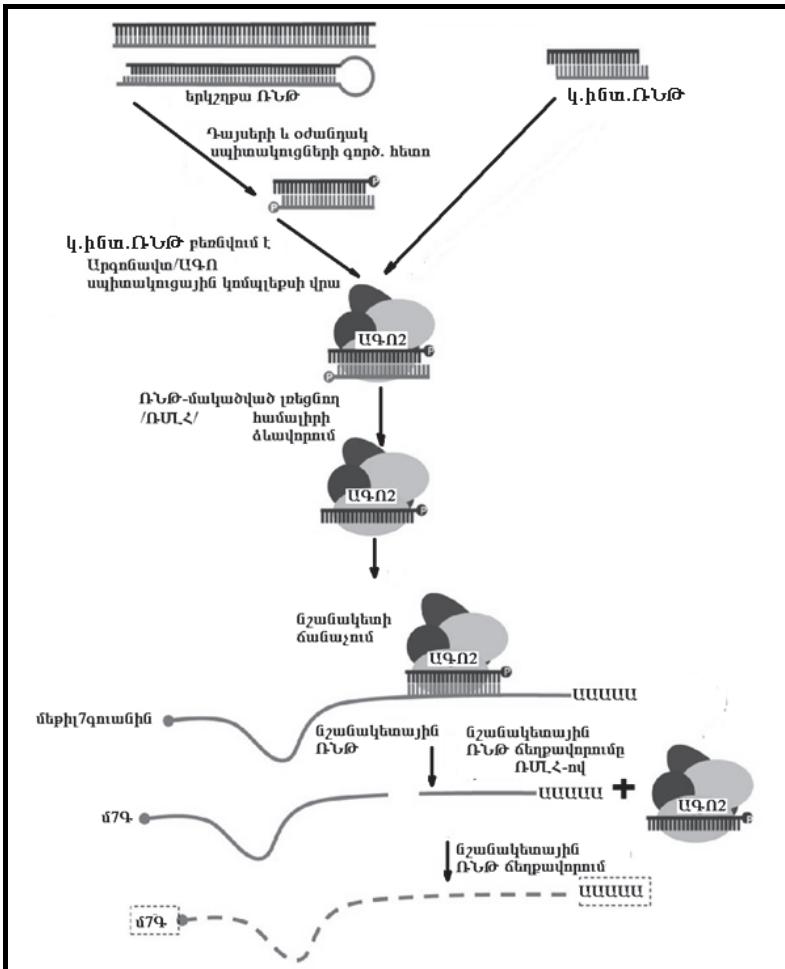
Այստեղ լիովին քայլայում են վիրուսային գենոմային ՈՆԹ-ն:

10.5. Զկողավորող երկար ՈՆԹ

Առաջին սպիտակուց չկողավորող երկար ՈՆԹ-ն հայտնաբերվեց 1990 թվականին: Հետազայում հայտնաբերվեցին հազարավոր երկշկող ՈՆԹ-ներ: Զկող.երկ.ՈՆԹ-ների երկարությունը գերազանցում է 200 նուկ., և դրանք նման են ի-ՈՆԹ-ներին. ունեն 5' կեա (մերիլ7 գուանոզին) և պոլիադենիլային պոչիկ: Զկող.երկ.ՈՆԹ-ների տրանսկրիպցիան հաճախ ընթանում է կողավորող ի-ՈՆԹ-ների հետ համատեղ: Զկող.երկ.ՈՆԹ-ները կարող են ազդել տրանսկրիպցիայի ակտիվության վրա՝ կապվելով և արգելակելով տրանսկրիպցիայի գործոնները կողավորող գեների այրումուրների աշխատանքը: Զկող.երկ.ՈՆԹ-ները ներգործում են ի-ՈՆԹ հաստինացման գործնքացի առանձին փուլերի, դեպի ցիտոպլազմ ի-ՈՆԹ տեղափոխության վրա, գուգավորվելով թիրախսային ի-ՈՆԹ-ի հետ՝ արգելակում են տրանսլյացիան և խթանում ի-ՈՆԹ քայլայումը: Զկող.երկ.ՈՆԹ-ները առանցքային դեր են կատարում իզական երկրորդ X քրոմոսոմի լրեցման գործում:



Նկար 73. Միկրո-ՌՆԹ-ների առաջացման և գործունեության գծապատկերը: ՈՒՍԼՀ-ՌՆԹ-մակածված լրեցնող համալիր [Kung T.Y. et al, Genetics, 2013]:



Նկար 74. Գեների էքսպրեսիայի կարգավորումը ինտ.կ.Ո ւ թ-ով:
Ինտ.կ.Ո ւ թ փոխազդում են ԱԳ-02 սպիտակուցների հետ՝ ձևափորելով
Ո ՍԼՀ: Ո ՍԼՀ ձևափորման ժամանակ ինտ.կ.Ո ւ թ-ի ուղղորդող շղթան
բեռնվում է ԱԳ-02 վրա, մինչդեռ ուղեկից շղթան քայլավում է: Ակտիվ
Ո ՍԼՀ ձևափորումից հետո կ.ի ն տ . Ո ւ թ-ի ուղղորդող շղթան զուգավորվում է
թիրախային ի-Ո ւ թ-ի հետ, ճեղքավորում և քայլայում է այն [Patil S. et al
Crit Rev Biochem Mol Biol. 2014]:

Զկողավորող թե՛ երկար և թե՛ կարճ ՈՆԹ-ները, մասնակցելով
 բազմաթիվ հիմնարար քջային գործընթացներին, մեծ նշանակութ-
 յուն ունեն ախտածին զարգացումների համար: Ենթադրվում է, որ
 մի՛ՆԹ-ները ներգործում են հարյուրավոր գեների էքսպրեսիայի
 վրա: Զարորակ նորագոյացումների ժամանակ ախտահարված
 հյուսվածքների քջաներում հայտնաբերվում են մոտ 21 մի՛ՆԹ-ներ,
 որոնք բացակայում են առողջ քջաներում: Պարզվել է, որ շիզոֆրե-
 նիայով և Ալցիայմերի հիվանդությամբ տառապող անձանց 15
 մի՛ՆԹ-ների պարունակությունը տարբերվում է դրանց պարունա-
 կությունից առողջ անձանց մոտ: Հայտնաբերվել է, որ մետաստաց-
 ներ առաջացնող ուռուցքների քջաները շորջ 3-անգամ ավելի շատ
 չկոդերկ. Ո-ՆԹ են պարունակում, քան տարածվելու հակում չդրսեո-
 րող ուռուցքների քջաները: Հաճախ միկրո, ինտերֆերենցվող փոքր և
 չկողավորող երկար Ո-ՆԹ-ները միավորվում են մեկ անվան տակ և
 կոչվում են հակասենս (antisense) Ո-ՆԹ-ներ: Հակասենս Ո-ՆԹ-ների
 որոշակի գեներ լրեցնելու ունակությունը կամ ի-Ո-ՆԹ-ների տրանս-
 լյացիայի արգելակման ունակությունը դրանց դարձնում է անփոխա-
 րինելի գործիք գենային թերապիայի համար: Հակասենս Ո-ՆԹ-ների
 կիրառական նշանակությունը սահմանափակվում է այն հանգաման-
 քով, որ վերջիններս պետք է նախ և առաջ ներմուծվեն քջիջ, որ և
 պետք է իրականացնեն իրենց հատուկ գործունեությունը: Սակայն
 հայտնի է, որ ցիտոպլազմում ակտիվություն գործում են բազմաթիվ ոի-
 քոնուկեազներ, որոնք քայլայում են անփոխան կամ օտարածին
 Ո-ՆԹ-ների մոլեկուլները: Ներքջային ոիքոնուկեազներից պաշտ-
 պանելու համար հակասենս Ո-ՆԹ-ները նախապես ենթարկում են
 քիմիական տարրեր ձևափոխությունների (մոդիֆիկացումների):
 Պետք է նկատի ունենալ, որ հակասենս Ո-ՆԹ-ների մոդիֆիկացումը
 չպետք է խարարի քիրախային գենի կամ ի-Ո-ՆԹ-ի հետ կապման
 գործընթացը: Այս պահանջներին բավարարում են շաքարային մնա-
 ցորդների, ֆոսֆոլիեթերային կապի թթվածնային աստոմների փո-
 խարինումը մերիլային, թիոլային խմբերով կամ ազոտական հիմքե-
 րի ամիդացումը: Ներկայումս հակասենս Ո-ՆԹ-ները կիրառվում են
 խոշոր եղջերավոր կենդանիների բրուցելյող հիվանդության հարու-
 ցիչ Trypanosoma brucei-ի ոչնչացման համար: Հակասենս Ո-ՆԹ-ն

կոմպլեմենտար է տրիպանոսոմի 5՝ ծայրի 35 նուկլեոտիդներին և հաջողությամբ սպանում է հարուցիչը արյան մեջ: Խոստումնալից է հակասենս Ո-ՆԹ-ների կիրառությունը Herpes simplex ընտանիքի վիրուսների վնասազերծնան համար: Այս բնագավառում կիրառվող հակասենս Ո-ՆԹ-ները արտադրվում են քսուկների ձևով և կիրառվում են ոչ միայն վիրուսի բազմացումն արգելակելու, այլև արդեն իսկ առաջացած խոցերի բուժման համար:

10.6. Ի-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլների տրանսլյացիան կարող է իքանվել ցիտոպլազմում ընթացող պոլիադենիլացման շնորհիվ

Ի-Ո-ՆԹ-ների 5' և 3' տրանսլյացիայի չենթարկվող շրջանները (UTR) սովորաբար պարունակում են հաջորդականություններ, որոնց միանում ենտրանսլյացիայի գործընթացի վրա ազդող հատուկ սպիտակուցներ: Ապիտակուցների միացումը ի-Ո-ՆԹ-ների 3' UTR-ի սահմաններում գտնվող նուկլեոտիդային հաջորդականություններին ենթարկվում է կոռպերատիվ միացման օրինաչափություններին՝ հիշեցնելով տրանսլիպացիայի գործոնների հավաքագրումը գենի պրոմոտորային շրջանում: Որպես կանոն, սպիտակուցների միացումը ի-Ո-ՆԹ-ի 3' UTR-ներին ճնշում է տրանսլյացիայի գործընթացը:

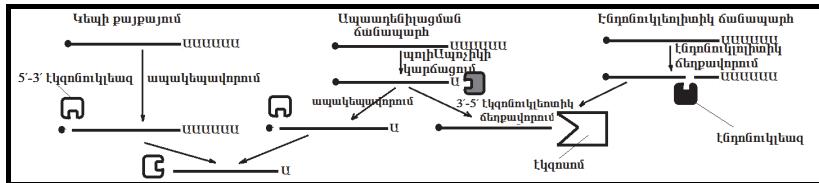
Բազմաթիվ ի-Ո-ՆԹ-ների տրանսլյացիան հնարավոր է դառնում միայն ցիտոպլազմային պոլիադենիլացումից հետո: **Ի-Ո-ՆԹ-ների ցիտոպլազմային պոլիադենիլացումը մեծ նշանակություն ունի կենդանիների սաղմնային գարզացման վաղ փուլերում ապահովելով գեների ընտրողական էքսպրեսիան:** Օօցիտների (ձվարջիջների) ցիտոպլազմում պարունակվում են բազմաթիվ ի-Ո-ՆԹ-ների մոլեկուլներ, որոնց տրանսլյացիայի գործընթացը մեկնարկում է միայն բեղմնավորումից հետո: Այս «պահեստային» ի-Ո-ՆԹ-ներից շատերն ունեն 20-40 A երկարությամբ հատվածներ, որոնց միանում են PABP-ի (պոլիադենիլ-կապող սպիտակուց) մի քանի մոլեկուլներ: Սահմանափակ քանակությամբ PABP-ի մոլեկուլները չեն կարող կայունացնել

տրանսլյացիայի մեկնարկային համալիրի ձևավորումը, և այդ պատճառով «պահեստային» ի-ՈՆԹ-ների տրանսլյացիան գրեթե լիովին արգելափակված է: Զվարջջի բեղմնավորումից հետո ցիտոպլազմում գտնվող «պահեստային» ի-ՈՆԹ-ների պոլիադենիլային պոչիկներին ավելացվում են նոր ադենիլային մնացորդներ, ինչի շնորհիվ դրանք երկարում են և կարողանում են ավելի մեծ քանակությամբ PABP-ի մոլեկուլներ կապել՝ կտրուկ մեծացնելով տրանսլյացիայի ինտենսիվությունը: Ցիտոպլազմում պոլիադենիլային պոչիկների երկարացման համար անհրաժեշտ է, որ քջակորիզից ցիտոպլազմ անցած ի-ՈՆԹ-ների 3'ծայրային UTR-ներում գործեն երկու ազդանշանային հաջորդականություններ: Դրանք են՝ **ԱԱՊԻԱԱԱ պոլիադենիլացման ազդանշանը**, որը գործում է նաև նախա-ի-ՈՆԹ-ների քջակորիզային պոլիադենիլացման ժամանակ և մեկ կամ մի քանի CPE-ներ (*cytoplasmic polyadenylation element*-ցիտոպլազմային պոլիադենիլացման տարրեր), որոնք հարուստ են ուրացիլով: CPE-ները միանում են **CPE-կապվող սպիտակուցին (CPEB)**: Խթանիչ ազդանշանի բացակայության պարագայում CPE-ներին միացած CPEB-ները միացած են **Maskin** կոչվող սպիտակուցի հետ, որն իր հերթին միանում է ի-ՈՆԹ-ի մոլեկուլի 5' կեպավորված ծայրին միացած մեկնարկման գործոն սիF4E-ի հետ: Այս կապերի շնորհիվ տրանսլյացիայի մեկնարկման մնացած գործոնները չեն կարողանում միանալ 40S ոլիոսումային ենթամասնիկին, և սպիտակուցի սինթեզի արգելակվում է: Խթանիչ գործոնների թվին է պատկանում պրոգեստերոն հորմոնը, որի ներգործության հետևանքով գորտի հասունացող ձվարջիջներում ակտիվանում է CPEB-ի սերինային մնացորդները ֆուֆորիլացնող պրոտեին կինազը: CPEB-ի սերինային մնացորդների ֆուֆորիլացման հետևանքով Maskin սպիտակուցին անջատվում է, և դրա տեղը զբաղեցնում են ցիտոպլազմային պոլիադենիլացման հատուկ գործոնը (polyadenylation specific factor CPSF) և ցիտոպլազմային պոլիադենիլ պոլիմերազը: Պոլի Ապոլիմերազի շնորհիվ երկարացված ադենիլային մնացորդների շղթան հնարավորություն է տալիս PABP-ին միանալու և կայունացնելու սպիտակուցի սինթեզի մեկնարկային համալիրի ձևավորումը:

10.7. Ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐԻ ՔԱՅՔԱՅՈՒՄ ԳԻՍՏՈՎԼԱԳԾՈՒՄ

Ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐԻ ՔԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆ ԵՎ ԳԻՍՏՈՎԼԱԳԾՈՒՄ ԿԱԽԱՎԱԾ Է ՔԵ՛ ՄՆԵԿՈՎԻ ՍԻՆԹԵզի և քե՛ ՔԱՅՔԱՅՄԱՆ ԱՐԱԳՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻԳ: Այսպես, օրինակ, եթե երկու գեների տրանսլիդցիան ընթանում է միևնույն արագությամբ, ավելի մեծ կլինի այն ի-ՈՒՆԹ-ի պարունակությունը, որն ավելի կայուն է: Ի-ՈՒՆԹ-ի կոնցենտրացիան իր հերթին ազդում է նաև կողավորված սպիտակուցի տրանսլյացիայի վրա: Կայուն ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐԻ մոլեկուլներով կողավորված սպիտակուցի սինթեզը շարունակում է անգամ համապատասխան գենի ռեպրեսիայից հետո: Բակտերիաների ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐՆ անկայուն են, և դրանց կյանքի տևողությունը, ավելի ճիշտ՝ կիսատևողությունը (ժամանակահատված, որի ընթացքում քայքայվում է մոլեկուլների ընդհանուր քանակության կեսը) կազմում է մի քանի րոպե: Բնական է, որ բակտերիաներն արագ և հեշտությամբ կարողանում են հարմարացնել սինթեզվող սպիտակուցների հավաքակազմն արտաքին միջավայրի փոփոխություններին: Հակառակ դրան՝ բազմարժից օրգանիզմների բջիջների ճնշող մեծամասնությունն ապրում է հարաբերականորեն կայուն միջավայրում և կատարում է մասնագիտական բնորոշ ֆունկցիաներն օրերի, ամիսների և անգամ օրգանիզմի ողջ կյանքի ընթացքում (նյարդային բջիջներ): Բազմարժից օրգանիզմների ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐՆ ավելի կայուն են, և դրանց կյանքի կիսատևողությունը հասնում է մի քանի ժամի: Սակայն որոշ սպիտակուցներ պահանջված են ոչ թե ողջ կյանքի ընթացքում, այլ կարճատև ժամանակահատվածի համար: Նման սպիտակուցների սինթեզին բնորոշ է արագ ընթացք: Օրինակ՝ բազմաթիվ գիտուկների (ինունային համակարգի ազդանշանային մոլեկուլներ) սինթեզը և արտազատումը նման են պայքարունի, եթե մոլեկուլների թիվը կարծ ժամանակում արագորեն աճում է: Բջջի բազմացման բոլորաշրջանի S փուլի այնպիսի սպիտակուցներ, ինչպես՝ c-Fos-ն ու c-Jun-ը սինթեզվում են շատ կարծ ժամանակահատվածում, և դրանց գենների տրանսլիդցիան արագ ակտիվանում և արգելակվում է, իսկ համապատասխան ի-ՈՒՆԹ-ԱԵՐԻ կյանքի կիսատևողությունը կազմում է մոտ 30 րոպե կամ ավելի քիչ:

Յիտոպլազմում ի-ՈՒԹ-ի մոլեկուլները կարող են քայբայվել 3 հիմնական ուղիներով, որոնք պատկերված են նկար 75-ում:



Նկար 75.Յիտոպլազմում ի-ՈՒԹ-ների քայբայման ճանապարհները:

Ի-ՈՒԹ-ների մոլեկուլների մեծամասնությունը ցիտոպլազմում ճեղքավորվում է ապաադենիլացման ճանապարհով: Ապաադենիլացումն իրականացնում է հատուկ ապաադենիլացնող էնդոնուկլեազը, որը, քայլ առ քայլ ճեղքավորելով երկար պոլիԱ-պոչիկը, այնքան է կարծացնում այն, որ պոլիԱ կապվող սպիտակուցն այլևս չի կարողանում միանալ և կայունացնել 5' կեափի և տրանսլյացիայի մեկնարկային գործոնների համալիրը: Մերկացած կեափը քայբայվում է ապակեապավորող ֆերմենտներով, իսկ ի-ՈՒԹ-ի անպաշտպան 5' ծայրը ճեղքավորվում է 5'-3' էկոնոմիկեազով: Պոլի Ա պոչիկի հեռացումն ունի մեկ հետևանք ևս: Ի-ՈՒԹ-ն դառնում է ավելի զգայուն 3'-5' էկոնոմիկեազների հանդեա, որոնք գերիշխուու են կաթնասունների էկոնումներում: Ապակեապավորող ֆերմենտները և 5'-3' էկոնոմիկեազները կենտրոնացած են ցիտոպլազմում գտնվող **P մարմնիկներում**: P մարմնիկները ցիտոպլազմի սահմանազատված շրջաններ են, որոնք առանձնանում են արտասովոր մեծ խտությամբ:

Որոշ ի-ՈՒԹ-ների քայբայմը կատարվում է մոլեկուլի ապաադենիլացման գործընթացից անկախ: Հաճախ ի-ՈՒԹ-ի 5' ծայրում գտնվող նուկլեօտիդների յուրահատուկ համադրությունը մեծացնում է 5' կեափի զգայնությունն ապակեապավորող ֆերմենտների նկատմամբ, որոնք ճեղքավորում են կեալը: Այս խմբի ի-ՈՒԹ-ների քայբայման արագությունն ուղիղ համեմատական է ապակեապավորման արագությանը և հակադարձ համեմատական է տրանսլյացիայի մեկնարկման հաճախականությանը: Որքան մեծ է տրանսլյացիայի մեկնարկման հաճախականությունը, այնքան ավելի դանդաղ է ընթա-

նում ապաադենիլացման գործընթացը: Հավանաբար, դա պայմանա-
վորված է 5՝ կեաին միացած տրանսլացիայի մեկնարկման գործոն-
ների ազդեցությամբ, որոնք կայունացնում են ի-Ո-ՆԹ-ի պոլիադենի-
լային պոչիկի կապը պոլի Ա-կապվող սպիտակուցի հետ՝ անհասա-
նելի դարձնելով այն ապաադենիլացնող էկզոնուկլեազի համար:

Կարնասունների թշիջներում կարճ ապրող ի-Ո-ՆԹ-ների մոլե-
կուլների 3՝ UTR շրջանում կան ԱՈՒՈՒՈՒ նուկլեոտիդային հաջոր-
դականություն ունեցող բազմաթիվ կրկնվող հատվածներ: Գոյություն
ունեն յուրահատուկ Ո-ՆԹ-կապվող սպիտակուցներ, որոնք, մի կող-
մից, միանում են նշված 3՝ ԱՈՒ-հարուստ հատվածներին, մյուս կող-
մից՝ ապաադենիլացնող ֆերմենտին և էկզաստմին: Նման փոխազդե-
ցության հետևանքով տեղի է ունենում մոլեկուլի արագընթաց ճեղա-
վորում 3'-5' ուղղությամբ: Ի-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլների քայլայման արա-
գությունն այս մեխանիզմով կախված չէ տրանսլացիայի մեկնարկ-
ման հաճախականությունից: Այսպիսով՝ 3՝ UTR-ում ԱՈՒՈՒՈՒ հատվածներ
պարունակող ի-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլները կարող են ունե-
նալ տրանսլացիայի մեկնարկման մեծ հաճախականություն և
նույնչափ արագ կարող են քայլայվել: Նման մեխանիզմը հնարավո-
րություն է տալիս իրականացնելու կողավորվող սպիտակուցի սինթե-
զի թե՛ արագընթաց աճը, թե՛ նույնչափ սրընթաց արգելակումը (նկար
75): Նկար 75-ում պատկերված է նաև ի-Ո-ՆԹ-ի քայլայման էնդո-
նուկլեոլիտիկ մեխանիզմը, որում բացակայում են ապակեապվոր-
ման և ապաադենիլացման քայլերը: Էնդոնուկլեոլիտիկ քայլայման
մեխանիզմը գործում է նրա շնորհիվ, որ ի-Ո-ՆԹ-ի մոլեկուլները հիբ-
րիդացվում են կոմպլեմենտար ինտերֆերենցվող կարճ Ո-ՆԹ-ների
մոլեկուլների հետ և զանգվածաբար քայլայվում (նկար 74): Ի-Ո-ՆԹ-
ի մոլեկուլները ցիտոպլազմում կարող են քայլայվել P մարմնիկնե-
րում: Ինչպես արդեն նշվել է, P մարմնիկները շրջաններ են, որոնք
առանձնանում են մնացած ցիտոպլազմից չափազանց մեծ խտութ-
յամբ: P մարմնիկներում միկրո-Ո-ՆԹ-ներին կապված ի-Ո-ՆԹ-ների
մոլեկուլները քայլայվում են Ո-ԱԼՀ-երում (Ո-ՆԹ-մակածված լրեց-
նող համալիր) (նկար 73, 74): P մարմնիկներում կենտրոնացած են
ապակեապվորող ֆերմենտները, ապակեապվորման խթանիչները,
5'-3' էկզոնուկլեազը, և կուտակվում են ի-Ո-ՆԹ-ները: P մարմնիկները

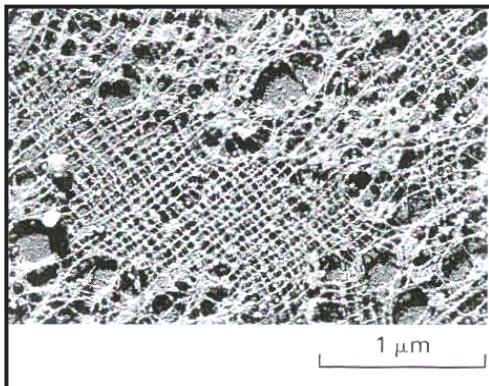
չունեն կայուն չափեր, և նրանց մեծությունը կարող է փոխվել՝ կախված ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլների միացման և քայլայման արագություններից, ինչպես նաև այն արագությունից, որով ի-ՈՆԹ-ները կարող են լրել P մարմնիկը և միավորվել տրանսլյացիայի ենթարկվող ի-ՈՆԹ-ների հետ:

10.8. Սպիտակուցի սինթեզի վերահսկման TOR ճանապարհը

Ի պատճառ օտար օրգանի պատվաստմանը (օրգանների տրանսպլանտացիա)՝ սկսում է գործել օրգանիզմի իմունային համակարգը՝ դրսորենով պաշտպանական ռեակցիաներ, որոնք ուղղված են օտարածինի ներխուժման դեմ: Իմունային համակարգի ռեակցիաներն ի վերջո հանգեցնում են ներմուծված օրգանի մահվան, ինչը գրոյացնում է տրանսպլանտացիայի արդյունավետությունը: Իմունային համակարգի ռեակցիաները ճնշելու համար կիրառվում է ռապամիցին հակարիտիկը, որը ստանում են *Streptomyces* բակտերիաներից: Խմբասնկերի որոշ մուտանտներ կայուն են ռապամիցինի նկատմամբ: Այդ կայունության մեխանիզմների ուսումնասիրությունը բույլ տվեց հայտնաբերել ռապամիցինի բջջային թիրախը (**target of rapamycin-TOR**): TOR-ը խոշոր սպիտակուց է, որը կազմված է մոտ 2400 ամինաքրպակային մնացորդներից և օժտված է արոտեհն կինազային ակտիվությամբ: Խմբասնկի բջջում TOR-ը կարգավորում է այն կենսաքիմիական շղթաների գործունեությունը, որոնք կապված են սննդային միջավայրի փոփոխության հետ: Բազմաթիվ են կարիոտ օրգանիզմների բջջներում (**metazoan TOR-mTOR**) ու TOR-ը մասնակցում է բազմաթիվ արտաքինային ազդանշանների մեմբրանային ռեցեպտորների (բաղանքային ընկալիչների) գործունեությանը և համաձայնեցնում է բջջի աճի ու զարգացման գենետիկական ծրագրերը սննդային միջավայրի պայմաններին: mTOR-ը մեծացնում է սպիտակուցի սինթեզի արագությունը մի քանի ուղղությամբ՝

- ֆոսֆորիլացնելով ոիրոստմային սպիտակուցները,

- ֆոսֆորիլացնելով տրանսկրիպցիայի այն գործոնները, որոնք խթանում են տրանսլյացիայի գործոնները կողավորող ի-ՈՆԹ-Շերի և փ-ՈՆԹ-Շերի սինթեզը:



Նկար 76. Կորիզային լամինայի էլեկտրոնային մանրադիտակային լուսա-նկար [Lodish H et al, 8th ed.]:

ԳԼՈՒԽ 11

Բջջակորիգային ենթակառուցվածքներ

11.1. Բջջակորիգային մատրիքս և լամինա

Բջջակորիգային մատրիքսն և լամինան հենք են ծառայում բջջակորիգային ենթակառուցվածքների համար: Թեև բջջակորիգի զանգվածի 80-90 %-ը կազմում են քրոմատինային թելիկները, վերջիններիս գրեթե ամբողջական հեռացումից հետո (բջջակորիգի մշակում նույնագներով և դետերգենտներով) բջջակորիգը պահպանում է հատուկ ձևը և չափերը: Ինչպես պարզվեց 70-ականներին, դա ապահովում են անլուծելի սպիտակուցային թելիկները, որոնք առաջացնում են եռաչափ ցանց բջջակորիգի ներսում և հարթ ցանց, որը անմիջականորեն պատում է բջջակորիգաթաղանթի ներքին թերթիկը (լամինա): Այս կառույցը կոչվեց բջջակորիգային մատրիքս կամ բջջակորիգային կմախիք: Քրոմատինային թելիկները անմիջականորեն կապվում են կորիգային մատրիքսին, և, ինչպես պարզվեց, հպանա կայքերի միջև գտնվող ԴՆԹ-ի հատվածներից ընթանում է ակտիվ տրանսկրիպցիա և ԴՆԹ-ի կրկնապատկում: Ենթադրվում է, որ կորիգային մատրիքսը, խարսխելով քրոմատինային թելիկները, բաժանում է դրանց առանձին ֆունկցիոնալ հատվածների (հիշենք, որ քրոմատինի կիսաօղակներն ամրացվում են սպիտակուցային հենքին), որոնք ել հանդիսանում են տրամսկրիպցիայի և ԴՆԹ-ի ուղղիկացման միավորներ: Ավելին, բջջակորիգային մատրիքսի թելիկները կարող են կազմել կիսախուլակներ, որոնցով հասունացած ի-ՈՒԹ-ն տեղափոխվում է դեպի բջջակորիգաթաղանթի անցուղիները:

Բջջակորիգային լամինայի կառուցվածքն ավելի լավ է ուսումնասիրված: Լամինայի ցանցաձև կառուցվածքը հուսալի հենք է բջջակորիգաթաղանթի համար: Լամինայի առանձին թելիկների հաստությունը կազմում է 10-40 նմ, և դրանք պատկանում են միջին հաստոքյան լամինար թելիկների ընտանիքին: Այս ընտանիքի սպիտակուցները մեծ դեր են կատարում, և սպիտակուցները կոդավորող

գեների նոյնիսկ մեկ ազտական հիմքի մուտացիան հանգեցնում է բազմաթիվ ծանր հիվանդությունների: Նման հիվանդությունների շարքին է պատկանում Հատչինսոնի պրոգերիան կամ վաղաժամ ծերացումը: Այս հիվանդությունը դրսևորվում է նրանով, որ վաղ մանկական հասակում ի հայտ են զալիս ծերացմանը բնորոշ հատկանիշներ՝ սրտանոքային հիվանդություններ, մազարափություն, մաշկի, մկանների, ոսկորների հետզարգացում և վաղահաս մահ:

Բջջակորիգային լամինան կազմված է երեք տարրեր տիպի սպիտակուցներից՝ լամին A, լամին B և լամին C-ից: Լամիններ A-ն և C-ն կողավորվում են նոյն տրանսկրիպցիայի միավորով և տարրերվում են նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի ալտերնատիվ կամ այլընտրանքային սպլայսինզի շնորհիվ: Այս լամինները տարրերվում են միայն A սպիտակուցի C-ծայրում գտնվող սերինային մեկ մնացորդով, որը բացակայում է լամին C-ում: Լամին B-ն կողավորվում է այլ տրանսկրիպցիայի միավորով և տրանսլյացիայից հետո ենթարկվում է քիմիական ձևափոխության: Մոլեկուլի C-ծայրին միանում է իզոպրենիլի (ճարպաթթու) հիդրոֆոք մնացորդը, որը հեշտությամբ միարձվում է կորիգարադանքի ներքին թերթիկի լիպիդային երկշերտի մեջ՝ ապահովելով լամին B-ի սերտ միացումը կորիգարադանքի ներքին շերտին: Միտոքի G2 փուլում ակտիվացած CDK-ները ֆոսֆորիլացնում են երեք լամինների սերինային մնացորդները, ինչի հետևանքով դրանք ապապոլիմերացվում են (թելիկները անջատվում են միմյանցից): Լամիններ A-ն և C-ն ազատ են արձակվում, իսկ լամին B-ն մնում է խարսխված բջջակորիգարադանքի ներքին թերթիկին: Մատրիքսի և լամինայի ապապոլիմերացումը ապահովում է բջջակորիգարադանքի և բջջակորիզի ապամոնտաժի գործընթացը միտոզի ժամանակ:

11.2. Կորիգակ

Բջջակորիզն ունի բարդ դրմենային կառուցվածք, որում առանձնանում են հատուկ մասնագիտացած շրջաններ: Դրանք հավաքականորեն անվանվեցին բջջակորիգային մարմնիկներ, թեև այդ

շրջանները թարանքով տարանջատված չեն և նման են նույլեռպ-լազմում կախված գնդիկների: Այդ բջջակորիզային ենթակառուց-վածքներում կուտակված են յուրահատուկ սպիտակուցներ և ՈՆԹ-ների մոլեկուլներ: Ամենակարևոր բջջակորիզային մարմնիկը կորի-զակն է, որում ընթանում են ոիքոստմային ենթամասնիկների սինթեզի և կազմավորման գործընթացները: Բջջակորիզային սպիտակուցնե-րի ֆլուորեսցենտային նիշավորումը ցույց տվեց, որ բջջակորիզն ունի արտակարգ դինամիկ կառուցվածք, որին բնորոշ են սպիտակուցնե-րի արագ տեղափոխությունները նույլեռպլազմի ողջ ծավալում: Բջջակորիզային մարմնիկներում կենտրոնացած սպիտակուցները նոյնական շարժվում են մարմնիկի սահմաններից դեպի դուրս ու ներս, բայց նման տեղափոխությունների արագությունն ավելի փոքր է, քան սպիտակուցների շարժման միջին արագությունն ազատ նույլեռպ-լազմում: Եթե փորձենք անցկացնել գուգահեռներ, ապա բջջակորի-զակն մարմնիկները կարելի է դիտել որպես հետերոգեն թերմոդինա-միկական համակարգի ստացիոնար հավասարակշռության առան-ձին կայքեր, որտեղ շարժումնակ սպիտակուցները, փոխազդելով միմ-յանց հետ, առաջացնում են ինքնակազմակերպվող կառույցներ: Այդ կառույցներում ստացիոնարության վիճակն ապահովում է սպիտա-կուցների այնպիսի փոխազդեցություն, որի շնորհիվ դրանք խմբա-վորվում են, բայց պահպանում են կայքից հեռանալու և վերադառնա-լու ունակությունը:

Ներկայում բացահայտվել են կորիզակների լրացուցիչ ֆունկ-ցիաներ: Պարզվել է, որ սպիտակուցների բջջային արտազատմանն (սեկրեցիա բջջից դուրս) և էնդոպլազմային ցանցի թաղանթների ներփակման գործընթացներին մասնակցող ՈՆՊ-ները խմբավորվում են կորիզակում, ինչից հետո տեղափոխվում են ցիտոպլազմ, որտեղ տեղի է ունենում դրանց վերջնական հասունացումը: Միտոզի վերջ-նական փուլին մասնակցող **Cdc14 պրոտեին ֆուֆատազը** մինչ քրո-մուսումների տարամիտումը կենտրոնացած է լինում կորիզակում:

Կորիզակում է գտնվում նաև ուռուցքագոյացումն արգելակող **ARF սպիտակուցը**, որը մասնակցում է p53 սպիտակուցի (այս սպի-տակուցը կողավորող գենի մոլուստացիան հայտնաբերված է ուռուցք-յին բջիջների շուրջ 50 %-ի մոտ) ակտիվության կարգավորման գոր-

ծընթացին: Ի պատասխան ԴՆԹ-ի վնասվածքի՝ ARF սպիտակուցը դրւու է գալիս կորիզակից: Կորիզակին հարակից քրոմատինի շրջանները հաճախ ներկայացած են հետերոքրոմատինի ձևով, ինչը ենթադրում է, որ կորիզակներում ներկա են հետերոքրոմատինացումը պայմանավորող սպիտակուցներ:

Cajal մարմնիկներ և բջջակորիզային ցուպիկներ: Cajal մարմնիկները 0,2-1մմ տրամագծով գնդաձև կառուցվածքներ են, որոնք հայտնաբերվել են շուրջ 100 տարի առաջ: Պարզվել է, որ Cajal մարմնիկներում տեղի է ունենում սպլայսաստմներում գործող ոփրոնուկինոպրոտեինային կոմպլեքսների (ՈՆՊ-ների) կազմավորում: Cajal մարմնիկներում տուն-ՈՆՊ-ները (աղյուսակ 1) ո-ՈՆԹ-ների նման ենթարկվում են քիմիական ձևափոխությունների. ուրիշինային մնացորդների մի մասը փոխվում է պսևդոորիդինի, և որոշ ոփրոզների 2'OH-ը մեթիլացվում է: Այս փոփոխություններն ուղղորդվում են տուն-ՈՆԹ-ի (աղյուսակ 1) տիպի մոլեկուլներով, որոնք կոչվում են **փոքր Cajal մարմնիկների հետ կապված ՈՆԹ-ներ (small Cajal body-associated RNAs-scaRNAs):** Սպլայսինգի ժամանակ նախա-ի-ՈՆԹ-ի կազմից յուրաքանչյուր ինտրոնի հետացումից հետո U4, U6, U5 մոլեկուլներն ազատ են արձակվում: Cajal մարմնիկներում տեղի է ունենում ի-ՈՆԹ-ի սպլայսինգն իրականացնող U4/U6/U5-տունՊ կոմպլեքսի վերամիավորումը: Մարմնիկները պարունակում են նաև U7 տունՊ, որը մասնակցում է հիսոռնային ի-ՈՆԹ-ների 3' ծայրի պրոցեսինգին (հիշենք, որ **հիսոռների ի-ՈՆԹ-ները չունեն պոլիա-դեֆիլային պոչիկ**), և, հավանաբար, հիսոռնային ի-ՈՆԹ-ների հասունացման այս փուլը, ինչպես նաև թելուներազային ՈՆՊ-ների ձևավորումը, նույնպես ընթանում են Cajal մարմնիկներում:

Բջջակորիզային ցուպիկներն ամորֆ կառուցվածքով 0,5-2մմ մարմնիկներ են, որոնց քանակությունը բջջակորիզում տատանվում է 25-50: Այս մասնիկները չունեն կանոնավոր ձև և պահեստավորում են նախա-ի-ՈՆԹ-ի սպլայսինգին մասնակցող տունՊ-ները:

Պրոմիելոտիկ լեյկեմիայի բջջակորիզային մարմնիկներ: Պրոմիելոտիկ լեյկեմիայի բջջակորիզային մարմնիկների (PML-promyelocytic leukemia nuclear bodies) թիվը կարճատևների բջջակորիզներում տատանվում է 10-30: Դրանք գնդաձև մարմնիկներ են 0.3-

1մմ տրամագծով: Հավանաբար այս մարմնիկներում կուտակված են ԴՆԹ-ի ռեպարացման (նորոգման) և ապոպտոզի մակածման համար անհրաժեշտ սպիտակուցներն և p53 սպիտակուցը, որը հայտնի է, որպես ուռուցքագոյացումը ճնշող սպիտակուց: Ի պատասխան ԴՆԹ-ի վնասվածքների ք 53-ը ենթարկվում է հետև տրամայացին ֆուֆորիլացման և ացետիլացման PML մարմնիկներում: Դա ուժեղացնում է p53-ի խթանող ազդեցությունն այն գեների աշխատանքի վրա, որոնք ակտիվանում են ԴՆԹ-ի վնասվածքներով (ԴՆԹ-ի վնասվածքներին արձագանքող գեներ): Պրոմիելուտիկ լեյկեմիայի բջջակորիգային մարմնիկները մասնակցում են ԴՆԹ-վիրուսներին հակագործ բջջային պատասխանների ձևավորմանը (ինտերֆերոնների արտազատում): PML մարմնիկներում տեղի է ունենում նաև ուրիշիտինացնող փոքրիկ սպիտակուց՝ **SUMO1** (small ubiquitin-like moiety- 1)-ի միացումն առանձին սպիտակուցներին, ինչն ուղղորդում է դրանց հետագա շարժումը դեպի նուկլեոպլազմի որոշակի շրջաններ: Տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոններ SUMO-իլացման հետևանքով ինակտիվանում են, և այդ ճանապարհով PML մարմնիկները մասնակցում են տրամակրիպցիայի արգելակման գործընթացին:

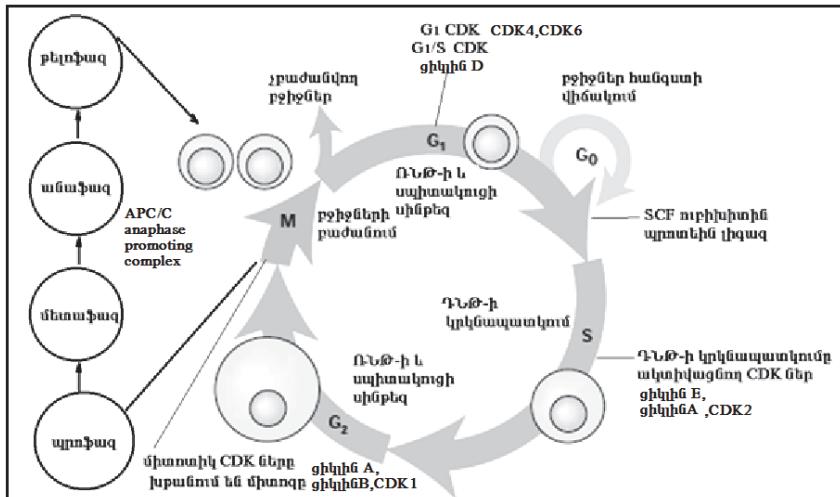
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ambros V. (2001). MicroRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*, 107:823-826.
2. Bentley D. (2002). The mRNA assembly line: transcription and processing machines in the same factory. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14:336-342.
3. Black D. L. (2003). Mechanisms of alternative pre-mRNA splicing. *Ann. Rev. Biochem.* 72:291-336.
4. Blanc V., Davidson N. O. (2003). C-to-U RNA editing: mechanisms leading to genetic diversity. *J. Biol. Chem.* 278:1395-1398.

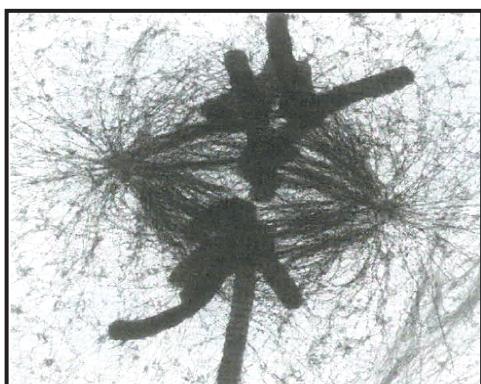
5. Burke B., Ellenberg J. (2002). Remodeling the walls of the nucleus. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3:487-497.
6. Chook Y. M., Blobel G. (2001). Karyopherins and nuclear import. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11:703-715.
7. Dreyfuss G., Kim V. N., Kataoka N. (2002). Messenger-RNA-binding proteins and the messages they carry. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3:195-205.
8. Faustino N. A., Cooper T. A. (2003). Pre-mRNA splicing and human disease. *Genes Devel.* 17:419-437.
9. Hannon G. J. (2002). RNA interference. *Nature* 418:244-251.
10. Kloc M., Zearfoss N. R., Etkin L. D. (2002). Mechanisms of subcellular mRNA localization. *Cell* 108:533-544.
11. Kung J. T. Y., Colognori D., Lee J. T. (2013). Long Noncoding RNAs: Past, Present, and Future, *Genetics*, Vol. 193, 651-669.
12. Maniatis T., Tasic B. (2002), Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans. *Nature* 418:236-243.
13. Moore M. J. (2002). Nuclear RNA turnover. *Cell* 108:431-434.
14. Patil S. V., Zhou R., Tariq R. M. (2014), Gene regulation by noncoding RNAs, *Crit Rev Biochem Mol Biol.*; 49(1): 16-32. doi:10.3109/10409238.2013.844092.
15. Pufall M. Kaplan D. A Mechanisms of eukaryotic transcription, *Genome Biol.* 2013; 14(9): 311.
16. Rout M. P., Aitchison J. D. (2001). The nuclear pore complex as a transport machine. *J. Biol. Chem.* 276:16593-16596.
17. Shatkin A. J., Manley J. L. (2000). The ends of the affair: capping and polyadenylation. *Nature Struct. Biol.* 7:838-842.
18. Van Hoof A., Parker R. (2002). Messenger RNA degradation: beginning at the end. *Curr. Biol.* 12:R285-R287.
19. Wilkinson M. F., Shyu A. B. (2002). RNA surveillance by nuclear scanning? *Nature Cell Biol.* 4:E144-E147.

ԳԼՈՒԽ 12

Բջիջների բազմացում



Նկար 77. Բջջային բոլորաշրջանի գծապատկեր: Բջիջների բաժանումը կատարվում է M փուլում: G₁ և G₁/S CDK-ները նախապատրաստում են S փուլը, SCF ուրիշսինին արոտեհին լիզազը մակածում է S փուլը, միտոտիկ CDK-ները խթանում են միտոզը:



Նկար 78. Քրոմոսոմների միացումը բաժանման իլիկի մանրաբեղին:

12.1. Բջջային բոլորաշրջան

Բջջին բոլորաշրջան է կոչվում այն ժամանակահատվածը, որն ընկած է երկու բջջային բաժանումների միջև, ընթանում է խիստ որոշակի հաջորդականությամբ միմյանց հետևող փուլերով և ավարտվում է բջջի կրկնապատկումով: Բոլորաշրջանը բաժանվում է չորս հիմնական փուլերի: G1 փուլում բջիջները սինթեզում են սպիտակուցներ և ՌՆԹ, աճում են, պատրաստվում են ԳՆԹ-ի սինթեզին: Երբ բջիջները հասնում են որոշակի չափի և կուտակում են անհրաժեշտ սպիտակուցներ, դրանք հասնում են G1 փուլի պայմանական START կետին և պատրաստ են բաժանմանը: **Բջջների բաժանման գործընթացը սկսում է S (synthesis) փուլով**, որում բջիջները կրկնապատկում են քրոմոսոմների հավաքակազմը: M (mitotic) բուն միտոզի փուլը, որն ինքնին բաղկացած է մի քանի ենթափուլերից, սկսվում է միայն G2 փուլից հետո: Բջջային բոլորաշրջանի դիտարկման ժամանակ որպես քրոմոսոմ ընդունվում են ԳՆԹ-ի արդեն կրկնապատկված կառուցվածքները, որոնք խտացած են և տեսանելի են լուսային մանրադիտակով: Այսպիսով՝ յուրաքանչյուր քրոմոսոմ բաղկացած է ԳՆԹ-ի երկու նմանատիպ մոլեկուլներից (ԳՆԹ-ի կրկնապատկման հետևանքով), հիսուններից և ոչ հիսունային սպիտակուցներից: ԳՆԹ-ի երկու նմանատիպ մոլեկուլները կոչվում են քույր քրոմատիդներ: Քույր քրոմատիդներն ամբողջ երկայնքով միանում են միմյանց հատուկ սպիտակուցների միջոցով: **Ինտերֆազը** բջջային բոլորաշրջանի այն հատվածն է, որն ընդգրկում է M փուլի վերջից մինչև մյուս բոլորաշրջանի G1 փուլը ընկած ժամանակահատվածը: Ինտերֆազի ընթացքում բջջակորիզի արտաքին բաղանքն անմիջականորեն միացած է էնդոպլազմատիկ ցանցի բաղանքներին: M փուլի պրոֆազում այդ կապը խախտվում է, և էնդոպլազմատիկ ցանցի բաղանքների առանձին հատվածներ կորանալով պարփակվում են՝ առաջացնելով պղպջակներ: Այս գործընթացը հնարավորություն է ընձեռում ցենտրոսոմներին միացած մանրաթելերին այնպիս միանալու քրոմոսոմներին, որպեսզի կազմավորվի բաժանման իլիկը: Դրա համար յուրաքանչյուր ցենտրոսոմներում ձևավորվում է կինետոխոր: Բջջակորիզի բաղանքի քայլքայումից հետո քույր քրոմատիդները:

թի կինետոխորները միաձուլվում են բաժանման իլիկի հակառակ թևեռներից դուրս եկող մանրաթերի հետ: Մ փովի մետաֆազում քրոմոսոմները դիրքավորվում են բաժանվող բջիջի կենտրոնական կամ հասարակածային հարթությունում (Ակար 78):

Անաֆազում տեղի է ունենում քույր քրոմատիդների տարածատում: Չույր քրոմատիդները ձգվում են դեպի բաժանման իլիկի հակառակ թևեռները, որոնց շարունակական տարամիտումը հանգեցնում է քրոմատիդների լիակատար անշատմանը միմյանցից: Քրոմոսոմների վերջնական տարանջատումից հետո սկսում է բաժանման իլիկի քայրայումը և քրոմոսոմների ապակոնդեսավորումը: Միտոզի այս փուլը կոչվում է բելոֆազ: Թելոֆազի ընթացքում յուրաքանչյուր քրոմոսոմի շորոշ ձևավորվում են բջջակորիզաքարաղանքային պատիճներ, որոնց հետագա միաձուլման հետևանքով առաջանում է ամբողջական բջջակորիզաքարաղանք: Ցիտոպլազմի բաժանմամբ (ցիտոկինեզով) ավարտվում է մեկ մայրական բջջի երկու դրաստր բջիջների առաջացման գործընթացը: Միտոզից հետո բջիջները մտնում են բջջային բոլորաշրջանի G1 փուլը: Թեև բջջային բոլորաշրջանի փուլերը ընդիհանուր են բոլոր էուկարիոտ բջիջների համար, բոլորաշրջանի տևողությունը տարբեր է: Մարդու արագ բազմացող բջիջների մոտ բոլորաշրջանի տևողությունը մոտ 24 ժամ է՝ G1- 9 ժամ, S-10 ժամ, G2- 4,5 ժամ, միտոզ՝ 30 րոպե: Ի տարբերություն դրամ՝ խմորասնկերի բջջային բոլորաշրջանի տևողությունը 90 րոպե է, իսկ *Drosophila melanogaster* պտղաճանձի սաղմի զարգացման վաղ փուլերում այն տևում է ընդամենը 8 րոպե: Բազմաբջիջ օրգանիզմների որոշ մասնագիտացած բջիջներ (նյարդային բջիջներ, աչքի ուսպնյակի բջիջներ) դուրս են գալիս բջջային բոլորաշրջանից և ամբողջ կյանքի ընթացքում չեն բազմանում: Նման «հետմիտոտիկ» բջիջները սովորաբար դուրս են գալիս բջջային բոլորաշրջանից G1 փուլում՝ անցնելով յուրօրինակ G0 փուլ (Ակար 77): Որոշ բջիջներ կարող են դուրս գալ G0 փուլից և ավարտել բաժանման գործընթացը: Բջջային բոլորաշրջան վերադառնալու գործընթացը վերահսկվում է հատուկ մեխանիզմներով, որոնք կոչված են կարգավորելու բջիջների բազմացման արագությունը:

12.2. Էռուկարիոտ բջիջների բջջային ցիկլի կարգավորումը ցիկլին կինազներով

Բջջային բոլորաշրջանի փուլերի ճիշտ հերթափոխությունը կարգավորվում է հետերոդիմերային պրոտեին կինազներով, որոնք բաղկացած են կատալիտիկ և կարգավորիչ ենթամիավորներն անվանվում են **ցիկլին-կախյալ կինազներ (CDK-եր)**: CDK-ների կոնցենտրացիան կայուն է և չի փոխվում բջջային բոլորաշրջանի ողջ ընթացքում, սակայն կատալիտիկ ակտիվությունը դրանք կարող են ձեռք բերել միայն կարգավորիչ ենթամիավորին միանալուց հետո: **Կարգավորիչ ենթամիավորները կոչվում են ցիկլիններ:** Բջջային բոլորաշրջանի յուրաքանչյուր փուլին հասուկ է ցիկլինների խիստ որոշակի հավաքական: Յուրաքանչյուր կատալիտիկ միավոր կարող է միանալ տարրեր ցիկլինների հետ, որոնք ել որոշում են ֆուֆորիլացման ենթակա սպիտակուցի ընտրությունը: Բջջային բոլորաշրջանի ընթացքում ցիկլինների քանակական պարունակությունը բջջներում փոխվում է: Այսպիսով՝ ցիկլինների խիստ համապատասխանությունը բոլորաշրջանի որոշակի փուլին և դրանց պարունակության քանակական տատանումները հնարավորություն են տալիս նրբորեն կարգավորելու ցիկլին-կախյալ CDK-ների ակտիվությունը: Ցիկլին-CDK համալիրները կարող են ակտիվացնել կամ արգելակել բջջային բոլորաշրջանի ընթացքն ապահովող հարյուրավոր սպիտակուցների գործունեությունը ֆուֆորիլացման միջոցով: Այլ կերպ ասած՝ բջջային բոլորաշրջանի կանոնավոր ընթացքի համար անհրաժեշտ է «ճիշտ» ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվացումը «ճիշտ» ժամանակին: Օրինակ՝ Տ փուլի ընթացքում ակտիվ ցիկլին-CDK համալիրները լիովին կորցնում են ակտիվությունը միտոզի փուլում, իսկ միտոտիկ ակտիվ ցիկլին-CDK-ները գործում են միայն միտոզի ընթացքում: Բջջային բոլորաշրջանի բնականոն ընթացքի հիմքում ընկած է CDK-ների պարբերական ակտիվացումը: Նման պարբերական ակտիվացման հիմքում ընկած է հակադարձ դրական կապերի մեխանիզմը, որը թույլ է տալիս յուրաքանչյուր CDK-ին խթանել սեփական սինթեզի գործընթացը: Հակա-

դարձ դրական կապերի օղակները գործում են հակադարձ բացասական կապերի հետ միասին, որոնց գործունեության հիմքում ընկած է CDK-ների ինքնարգելակող ազդեցությունը:

CDK-ները պատկանում են 30-40 ԿԴ մեծություն ունեցող սերին/տրետինինային կինազների ընտանիքին: CDK-ների ֆերմենտային ակտիվությունը սկսում է դրսորվել միայն ցիկլինի (կարգավորիչ ենթամիավորի) միացումից հետո: Կաթնասունների բջիջներում գործում են ինը CDK-ներ, որոնցից չորսի՝ CDK1, CDK2, CDK4 և CDK6 գործունեությունը բջջի բոլորաշրջանում հստակորեն ապացուցված է:

Աղյուսակ 4. Ցիկլիններ և CDK-ներ

CDK	Ցիկլին	Ֆունկցիա	Անվանում
CDK1	ցիկլին A, ցիկլին B	միտոզ	միտոտիկ CDK-ներ
CDK2	ցիկլին E, ցիկլին A	մուտք S փուլ	G1/S փուլ CDK-ներ S փուլ CDK-ներ
CDK4	ցիկլին D	մուտք բջջային բոլորաշրջանի G1 փուլ	G1 CDK-ներ
CDK6	ցիկլին D	մուտք բջջային բոլորաշրջանի G1 փուլ	G1 CDK-ներ

CDK4 և CDK6-ը G1 բուլի CDK-ներ են և խրանում են բջջի մուտքը բոլորաշրջան, CDK2-ը գործում է որպես G1/S անցումային և S փուլի CDK, իսկ CDK 1-ը միտոտիկ CDK է (աղյուսակ 4): CDK-ների ակտիվությունը կարգավորվում է ոչ միայն ցիկլինների միացման շնորհիվ, այլև ֆուֆորիլացման ճանապարհով: Ընդ որում՝ ֆուֆորիլացումը կարող է քե՛ ակտիվացնել, քե՛ արգելակել CDK-ների ակտիվությունը:

12.3. Ցիկլիններ

Ցիկլին անվանումը պայմանավորված է նրանով, որ այս մոլեկուլների ներքջային պարունակությունը ենթակա է բջջային բոլորաշանի (ցիկլի) առանձին փուլերին համապատասխանող պարբերական տատանումների: Ցիկլինները միավորվում են սպիտակուցների մեկ ընտանիքում և դրանց բնորոշ են հետևյալ ընդհանուր հատկությունները:

1. Ցիկլինները, միանալով CDK-ներին, ակտիվացնում են վերջիններիս: Յուրաքանչյուր CDK-ի պրոտեին կինազային ակտիվությունը և սուբստրատի սպեցիֆիկությունը որոշում են ցիկլին-CDK հետերոդիմեր համալիրի ցիկլինի ենթամիավորը:
2. Ցիկլինների յուրաքանչյուր խումբ ներկա է բջջում բոլորաշանի խիստ որոշակի փուլում: Բջջային բոլորաշանի մյուս փուլերում դրանք բացակայում են:
3. Ցիկլինները ոչ միայն կարգավորում են բջջի բոլորաշրջանի այս կամ այն փուլի ընթացքը, այլև նախապատրաստում են հաջորդ փուլը: Այս ճանապարհով ցիկլիններն ուղղորդում են բջջային բոլորաշրջանի բնականն առաջընթացը:

Ըստ ներկայության և դրսևորած ակտիվության՝ ցիկլինները բաժանվում են չորս դասերի՝ G1 ցիկլիններ, G1/S ցիկլիններ, S փուլի ցիկլիններ և Ֆիտոսիկ ցիկլիններ (աղյուսակ 4): Թեև ցիկլինները միմյանցից տարբերվում են ամիսաբթվային կազմով, բոլորին հատուկ է ցիկլինային փարեթի առկայությունը, որը որոշակի երրորդային կառուցվածքով 100 ամինաբթուներից բաղկացած շղթա է:

G1 ցիկլինները որոշիչ դեր են կատարում արտաքին ազդակների ներգործությանը ներդաշնակ բջջային բոլորաշրջանի ընթացքի կարգավորման մեխանիզմում: G1 ցիկլինները կարգավորում են բջջի աճը խթանող կամ արգելակող գործուներից կախված ազդանշանային ուղիների գործունեությունը: Բազմաբջիջ օրգանիզմներում G1 ցիկլիններն անվանվում են նաև **D ցիկլիններ**: G1 ցիկլինները միանում և ակտիվացնում են CDK 4-ը և CDK 6-ը: Ի պատասխան արտաքին միջավայրից եկող ազդանշանների և բջջում սպիտակուցի սինթեզի

մակարդակի փոփոխության՝ G1 ցիկլինների քանակությունն աստիճանաբար մեծանում է քջային բոլորաշրջանի ամբողջ ընթացքում:

G1/S ցիկլիններն այլ կերպ կոչվում են Ե ցիկլիններ: Ե ցիկլինների քանակությունն աճում է բոլորաշրջանի G1 փուլում և հասնում է առավելագույն մեծության, եթե քջանները թևակոխում են S փուլը: S փուլի ընթացքում G1/S ցիկլինների պարունակությունը քջաններում աստիճանաբար նվազում է: G1/S ցիկլինները, միանալով CDK 2-ին և ցիկլին, D-CDK 4/6 հետ միասին խթանում են G1 փուլից S փուլի անցման գործընթացը: Այս անցումային պահին անվանվում է **START կետ:** START կետն ազդանշում է քջի անվերադարձ մուտքը քջային բոլորաշրջան, որն ավարտվում է քջի կրկնապատկմամբ: START կետում տեղի են ունենում հետևյալ փոփոխությունները. քջում սկսվում են **ԴՆԹ-ի ռեալիկացումն ու քրոմոսոմների ցենտրոմերների կրկնապատկումը:**

S փուլի ցիկլինները սինթեզվում են G1 ցիկլինների հետ միաժամանակ: Դրանց մեծ քանակությունը պահպանվում է S փուլի ընթացքում և չի նվազում մինչ միտոզի վաղ շրջանը: Տարբերվում են երկու տիպի S փուլի ցիկլիններ՝ **ցիկլին E և ցիկլին A:** Երկու ցիկլիններն եւ միանում են CDK 2-ին և ուղղակիորեն պատասխանատու են ԴՆԹ-ի սինթեզի համար: Այս պրոտեին կինազմերը ֆուֆորիլացնում և ակտիվացնում են այն սպիտակուցները, որոնք խթանում են ԴՆԹ հելիկազների ակտիվությունը և ճիշտ դիրքավորում են ԴՆԹ պոլիմերացները ԴՆԹ-ի մոլեկուլի վրա:

Միտոտիկ ցիկլինները միանում են CDK 1-ին՝ խթանելով միտոնզի սկիզբը և հետագա ընթացքը: Միտոտիկ ցիկլինների բվին են պատկանում ցիկլին A-ն և ցիկլին B-ն: Ցիկլին A-ն, լինելով միտոտիկ ցիկլին, կարող է միանալ CDK 2-ին և խթանել S փուլը: Թեև միտոտիկ ցիկլիններ-CDK-համալիրները սինթեզվում են S և G2 փուլերում կայուն ի-ՈՆԹ-ների մոլեկուլներից, դրանց ակտիվությունը ճնշված է մնում մինչ ԴՆԹ-ի սինթեզի ավարտը (նկար 79): Միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվությունն արգելակվում է որոշակի կայրերի ֆուֆորիլացման շնորհիվ, և համալիրների կինազային ակտիվությունը վերականգնվում է միայն այդ կայրերի դեֆուֆորիլացումից հետո: Ակտիվացած միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրները ֆու-

Փորիլացնում են այն սպիտակուցները, որոնք խթանում են քրոմոսոմների կոնդենսացումը, բջջակորիզաբաղանքի քայրայումը, մասնակցում են բաժանման իլիկի ձևավորմանը և մետաֆազում նպաստում են քրոմոսոմների տեղաբաշխմանը բջջի հասարակածային հարթությունում: Անաֆազի ժամանակ, երբ դրաստր քրոմատիզները սկսում են տարամիտվել դեպի բջջի հակառակ քենոներ, բոլոր ցիկլին B-երը սկսվում են քայրայվել: Սիստոտիկ ցիկլինների քայրայումն իրականացնում է APC համալիրը (*anaphase-promoting complex*)՝ պոլիուրիխիտինացնելով միտոտիկ ցիկլինների մոլեկուլները: APC համալիրները պոլիուրիխիտինացնում են առանցքային կարգավորիչ սպիտակուցները՝ դատապարտելով դրանց ճեղքավորման պրոտեուտմներում: APC համալիրի ակտիվ գործունեությունը կախված է մեկ այլ սպիտակուցի միացումից: Այդ օժանդակ սպիտակուցը որոշում է ակտիվացած APC համալիրի սուրատրատի ընտրությունը: Եթե APC համալիրը միանում է APC-մենահատուկ գործոն **Cdh1**-ին (**APC specificity factor**), ապա այն պոլիուրիխիտինացնում է և դատապարտում ճեղքավորման միտոտիկ ցիկլին B-ն: Cdh1-ը ակտիվանում է ոչ անաֆազում, երբ քրոմոսոմները միմյանցից բավականին հեռացած են լինում: Մինչ այդ Cdh1-ը չի կարող միանալ APC-ին, որովհետև այն ֆուֆորիլացված է լինում G1 փուլում գործող ցիկլին-CDK-ներով: APC համալիրների երկրորդ թիրախային սուրատրատը **սեկյուրին** է, որը, միացած լինելով **սեպարազ** ֆերմենտին (կասպազների ընտանիքին պատկանող ֆերմենտ), ճնշում է վերջինիս ակտիվությունը: Այս թիրախը պոլիուրիխիտինացնելու համար APC համալիրին պետք է միանա **Cdc 20 սպիտակուցը**:

Հայտնի է, որ դրաստր քրոմատիզները միանում են ցենտրոմերներով և սպիտակուցային համալիրներով, որոնք հավաքականորեն կոչվում են **կոհեզիններ** (նկար 80): Սեկյուրինը արգելակում է երկու դրաստր քրոմատիզները միացնող կոհեզինների քայրայումը՝ պահպանելով քրոմատիզների միացումը և կազմը բաժանման իլիկի թելիկների հետ: Վաղ անաֆազում, երբ արդեն բոլոր քրոմոսոմների կինետիկուրները միացած են լինում բաժանման իլիկի թելիկներին, և դրանք դասավորվում են բջջի հասարակածային հարթությունում (միտոտիկ թիրեղ), APC համալիրները միանում են Cdc 20-ին և պո-

լիուրիխիտինացնում են սեկյուրինը՝ ապահովելով վերջինիս ճեղքավորումը պրոտեոսումներում: Սեկյուրինից ազատված սեպարազը քայրայում է կոհեզինները, ինչի հետևանքով դուստր քրոնատիդները կարողանում են անջատվել միմյանցից և տարամիտվել դեպի բջջի հակադարձ բևեռները:

12.4. CDK-ների ակտիվության կարգավորումը ֆոսֆորիլացման և դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով

CDK-ների ակտիվությունը կարգավորվում է ոչ միայն ցիկլիններով, այլև CDK ենթամիավորի ֆոսֆորիլացումով: Ընդ որում՝ ֆոսֆորիլացումը կարող է և ակտիվացնել, և արգելակել CDK ենթամիավորի ֆերմենտային ակտիվությունը ցիկլին-CDK համալիրի կազմավորումից հետո: **CDK-ները ակտիվանում են**, եթե ակտիվ կենտրոնի հարևանությամբ գտնվող թրեոնինի մնացորդը ֆոսֆորիլացվում է **CAK (CDK-activating kinase)** ֆերմենտով: Որոշ օրգանիզմներում CAK-ը կարող է գործել ցիկլին-CDK համալիրի կազմավորումից հետո, իսկ մյուսներում՝ նախքան ցիկլինի միացումը CDK-ի ենթամիավորին:

Չափ ավելի մեծ նշանակություն ունի CDK ենթամիավորի այնպիսի ֆոսֆորիլացումը, որի հետևանքով արգելակվում է ենթամիավորի ֆերմենտային ակտիվությունը: **Այս արգելակող ֆոսֆորիլացման ժամանակ** CDK-ի մոլեկուլի ԱԵՖ-ը կապող գրանիլիկի հարևան դիբրերում գտնվող թիրոզինի (15 դիբը) և թրեոնինի (14 դիբը) ֆոսֆորիլացումը խախտում է ԱԵՖ-ի ճիշտ դիբքավորումն ակտիվ կենտրոնում և հանգեցնում է ֆերմենտային ակտիվության արգելակմանը: CDK-ի նման ֆոսֆորիլացումը կատարում է **Wee1 կինազը**, իսկ դեֆոսֆորիլացման համար պատասխանատու է **Cdc 25 պրոտեին ֆոսֆատազը**: Նշված ֆոսֆորիլացումները որոշիչ դեր են կատարում միտոտիկ CDK-ների ակտիվությունների կարգավորման մեջ՝ լինելով G1/S և S փուլերի CDK-ների ակտիվությունը վերահսկող մեխանիզմների բաղադրամաս:

Ինչպես արդեն նշվել է, միտոտիկ CDK-ներն ակտիվանում են միտոզի փուլում: Մինչ այդ դրանց ակտիվությունը ճնշվում է նրա շնորհիվ, որ ֆերմենտային ենթամիավորը մնում է ֆուֆորիլացված մինչ ԴՆԹ-ի կրկնապատկման ավարտը: Միտոտիկ CDK-ները խրանում են իրենց իսկ ակտիվությունը դրական հակադարձ կապով՝ ճնշելով Wee1 կինազը և ակտիվացնելով Cdc 25 ֆուֆատազը: Ֆուֆորիլացնելով բջջակորիգային մատրիքսի լամինները և կորիգաքաղանքային անցուղիների օդակները կազմող սպիտակուցները՝ միտոտիկ ցիկլինները բաղդատում են բջջակորիգային թաղանքը:

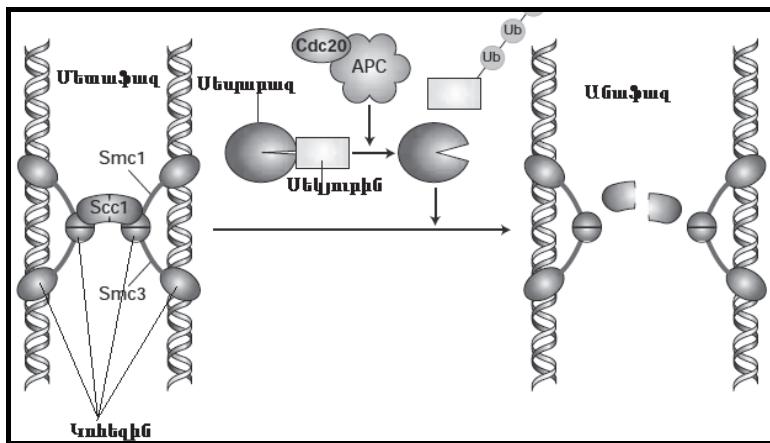
Ֆուֆատազները միշտ ներկա են բջջում, և դրանց աշխատանքի հետևանքով դեֆուֆորիլացվում են այն սպիտակուցները, որոնք ենթարկվել են ֆուֆորիլացման միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրներով: Միտոտիկ ցիկլինների քայլայնան հետևանքով ճնշվում է միտոտիկ ցիկլին-CDK-համալիրների կինազային ակտիվությունը, ինչի շնորհիվ ֆուֆատազների գործունեությունը դառնում է գերակայող: Ֆուֆատազների դեֆուֆորիլացնող գործունեության հետևանքով թելոֆազում տարամիտված քրոմոտոմներն ապակոնդենսանում են, սկսում է վերականգնվել բջջակորիգաքաղանքը, և առանձին հասվածներից ձևավորվում են ապազա դուստրը բջիջների Գոլջիի ապարատները: Ի վերջո, բաժանվում է ցիտոպլազմը, և առաջանում են երկու դուստր բջիջներ:

Բջջի հաջորդ բոլորաշրջանի G1 փուլում ֆուֆատազները դեֆուֆորիլացնում են ԴՆԹ-ի նախառեպիլկացման համալիրի սպիտակուցները, որոնք ֆուֆորիլացվել են դեռևս նախորդ բոլորաշրջանի S փուլի ցիկլին-կինազային համալիրներով: Այս սպիտակուցների ֆուֆորիլացած վիճակը պահպանվել էր ավելի ուշ գործող միտոտիկ ցիկլին-կինազների շնորհիվ: Դեֆուֆորիլացման հետևանքով նշված սպիտակուցները կարողանում են խմբավորվել ԴՆԹ-ի ռեպիլկացման օրիջինների մոտ՝ նախապատրաստելով հաջորդող S փուլի բնականոն ընթացքը: G1ցիկլին-CDK համալիրները G1 փուլի վերջում ֆուֆորիլացնում և ինակտիվացնում են APC համալիրները, որոնց նվազած ակտիվության հետևանքով սկսում են կուտակվել S և միտոտիկ փուլերում գործող ցիկլինները:

Բջջային բոլորաշրջանի ընթացքը ունի երեք կրիտիկական պահ՝

1. անցում G1 փուլից S փուլ,
2. մետաֆազ-անաֆազ անցում,
3. անցում անաֆազից թելոֆազ և ցիտոլինեզ:

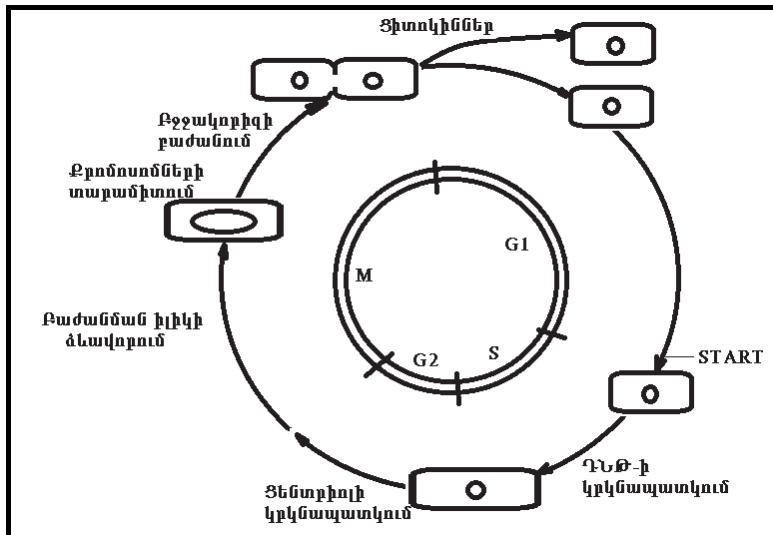
Նշված անցումները համարվում են բջջային բոլորաշրջանի կրիտիկական կետեր, քանի որ տեղի են ունենում սպիտակուցների ճեղքավորման հետևանքով և անդարձելի են: Անցումային գործընթացների անդարձելիության շնորհիվ բջջային բոլորաշրջանն ընթանում է խիստ որոշակի ուղղությամբ: Բարձրակարգ օրգանիզմներում բջջային բոլորաշրջանը կարգավորվում է հիմնականում G1 ցիկլին-CDK համալիրների սինթեզի և ակտիվության վերահսկման շնորհիվ (նկ. 80):



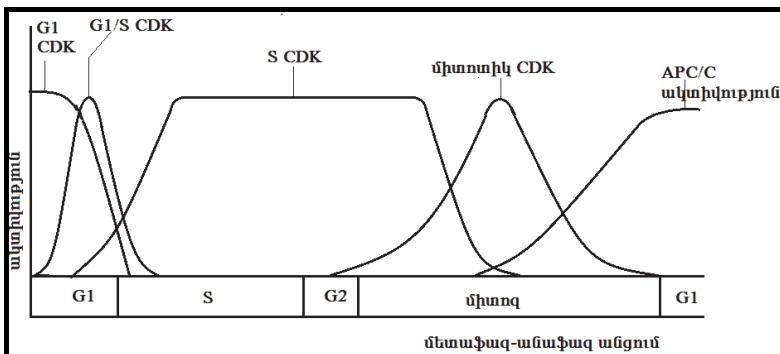
Նկար 79. APC-Cdc20 համալիրի գործունեության մեխանիզմն անաֆազում:
Դուստր քրոմատիզմների միացումը կոհեզինային համալիրներով: SMC1-ը և
SMC3-ը կոհեզինային համալիրի սպիտակուցներ են:

12.5. Ցիկլինների պարունակության կարգավորումը բջջիջներում

Վերը քննարկվեցին ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվության կարգավորման մեխանիզմները, որոնք միջնորդվում էին CDK ենթամիավորի ֆոսֆորիլացմամբ-դեֆոսֆորիլացմամբ կամ ցիկլինային միավորի քայլայումով (APC): Բազմաթիվ արտարջային աճի գործոնները գործում են որպես միտոզեններ (միտոզի խթանիչներ՝ մակածելով G1 ցիկլին-CDK համալիրների ենթամիավորի սինթեզը: Նրանից հետո, եթե բջջները թևակոխում են START կետը, միտոզենների հեռացումը բջջային միջավայրից չի ազդում բոլորաշրջանի առաջընթացի վրա: Ակնհայտ է, որ բազմաթիվ օրգանիզմում հյուսվածքների և օրգանների ճիշտ ձևավորումը և հետագա գործունեությունը մեծապես կախված են բջջի բոլորաշրջանի թևականոն ընթացքից, որը, իր հերթին, կախված է ցիկլինների որակական և քանակական կազմի ճշգրիտ կարգավորումից: Այդ կարգավորումն իրագործում են մի քանի բջջային մեխանիզմներ, որոնք ապահովում են հակադարձ դրական և բացասական կապերի կարգավորիչ գործունեությունը: Նշված կարգավորիչ մեխանիզմների թվին է պատկանում ցիկլինների տրանսկրիպցիայի կարգավորումը բջջում: Սոմատիկ բջջներում ցիկլինների տրանսկրիպցիայի ալիքաձև փոփոխությունները պայմանավորված են հասուկ տրանսկրիպցիայի գործուների պարբերական ակտիվացմամբ: Նման մեխանիզմի գործունեության հիմնական սկզբունքն այն է, որ տրանսկրիպցիայի ակտիվացման հետևանքով սինթեզվում են տրանսկրիպցիայի գործուներ, որոնք ակտիվացնում են այն գենների տրանսկրիպցիան, որոնց գեն-արգասիքներն անհրաժեշտ են բջջային բոլորաշրջանի հաջորդ փուլում հանդես եկող ցիկլինների սինթեզի համար:



Նկար 80. Բջջի բոլորաշրջանի կրիտիկական կետերը պատկերված են փոքր շրջանակն ընդհատող գծիկներով:



Նկար 81. CDK-ների ակտիվության փոփոխությունը բջջային բոլորաշրջացի տարրեր փուլերում:

12.6. Տրանսկրիպցիայի գործոն E2F-ի դերը

G1 ցիկլինները ներկա են ողջ G1 փուլի ընթացքում, և դրանց պարունակությունը մեծանում է բջջային աճի գործոնների ներկայությամբ: G1 ցիկլինների աճող պարունակությունը խթանում է E2F-ընտանիքի տրանսկրիպցիայի գործոնների աշխատանքը: E2F-ընտանիքի տրանսկրիպցիայի գործոնների ազդեցությունն արգելակվում է դրանց հետ կապված **Rb** սպիտակուցով (**ռետինարլաստոնայի սպիտակուց**), որին միացած են հիստոնների պոչիկների լիզինային մնացորդները դեացետիլացնող և մեթիլացնող ֆերմենտներ: Rb սպիտակուցի հարակից շրջաններում քրոմատինը խտանում է, և դրա հետևանքով ճնշվում է այդ հատվածների տրանսկրիպցիան: Այսպիսով միանալով E2F-ին՝ Rb սպիտակուցը գործում է որպես տրանսկրիպցիայի ռեպրեսոր: G1 ցիկլին-CDK համալիրը, ֆոսֆորիլացնելով Rb սպիտակուցը, ազատ է արձակում E2F տրանսկրիպցիայի գործոնը: E2F-ը ակտիվացնում է այն սպիտակուցների գենները, որոնք մասնակցում են ԴՆԹ-ի սինթեզին և տրանսկրիպցիայի գործոններ են G1/S փուլի ցիկլինների և S փուլի ցիկլինների գենների տրանսկրիպցիայի համար: G1-CDK-ները, ֆոսֆորիլացնելով Rb սպիտակուցը, ոչ միայն արգելակում են դրա միացումը E2F-ներին, այլև նպաստում են Rb սպիտակուցի դուրսքերմանը բջջակորիզից ցիտոպլազմ: Ազատված E2F-ներն բջջակորիզում ակտիվացնում է և սեփական, և այն գենների տրանսկրիպցիան, որոնց աշխատանքն անհրաժեշտ է S փուլի բնականոն ընթացքի համար: Այսպիսով՝ Rb սպիտակուցի մոլեկուլների ֆոսֆորիլացումը մակածում է G1/S ցիկլինների և CDK-ների սինթեզը, որոնք, իրենց հերթին, ուժեղացնում են հավելյալ Rb մոլեկուլների ֆոսֆորիլացումը ուշ G1-ում: Սա հակադարձ դրական կապի դասական օրինակ է, եթե G1/S ցիկլինները և CDK-ներն ուժեղացնում են իրենց իսկ սինթեզը: Առանց այս կենսաքիմիական շրջայական փոխակերպումների բջիջը չի կարող թևակրխել G1 փուլի START կետը: Ինչպես տեսնում ենք, Rb սպիտակուցն առանցքային դեր է կատարում G1/S ցիկլինների ակտիվության կարգավորման մեջ, և Rb սպիտակուցը կողավորող գեննի (*RB*) մուտացիան զույգ ալելներում աչքի ցանցարադանքի չարորակ ուռուցքի (ռետինարլաս-

տոմայի) պատճառ է: S, G2 և միտոզի վաղ փուլերում Rb սպիտակուցի ֆուֆորիլացված վիճակն ապահովում են S փուլի և միտոտիկ CDK-ները: Անաֆազի ավարտից հետո և հաջորդ բոլորաշրջանի վաղ G1-ում կամ G0-ում տեղի է ունենում բոլոր ցիկլին-CDK-ների ակտիվության կտրուկ նվազում, ինչին հետևում է Rb սպիտակուցի դեֆուֆորիլացումը: Թույլ ֆուֆորիլացված Rb-ն ճնշում է E2F-ների ակտիվությունը բջջի գալիք բոլորաշրջանի G1-ում կամ G0-ում: G1/S փուլի CDK-ները մնում են ոչ ակտիվ այնքան ժամանակ, որքան բջջում չեն ստեղծվում նախապայմաններ բազմացման նոր բոլորաշրջանի սկսման համար, որոնք, խրանելով G1- CDK-ների ակտիվությունը, սկիզբ են դնում Rb սպիտակուցի ֆուֆորիլացմանը և E2F-ների վրա Rb-ի արգելակող ազդեցության չեզոքացմանը: E2F-ները խրանում են ոչ միայն G1/S ցիկլինների գեների տրանսկրիպցիան, այլև միտոտիկ ցիկլինների գեների ակտիվությունը:

Ցիկլինների առանձին խմբեր, ինչպես բազմիցս նշվել է, հանդես են գալիս բջջի բոլորաշրջանի խիստ որոշակի փուլերում: Այս համապատասխանությունը որոշում են ոչ միայն դրանց սինթեզը կարգավորող (ցիկլինները կողավորող գեների ակտիվացում, որին հետևում է համապատասխան ցիկլինի սինթեզը), այլև տվյալ բջջային փուլի համար ավելորդ ցիկլինների քայլայման մեխանիզմները: Սպիտակուցի ճեղքավորումն անդարձելի գործընթաց է, և ցիկլինների քայլայման անդարձելիությունն ապահովում է բոլորաշրջանի փուլերի ուղղվածությունը G1-ից մինչև միտոզ և դրանց անդարձելիությունը: Ցիկլինների քայլայման ամենատարածված մեխանիզմը սպիտակուցների ուրիշինացումով միջնորդված ճեղքավորման ուղին է:

CDK-ների ակտիվության կարգավորումն արգելակիչներով:

CDK-ների ակտիվության կարգավորումը կատարվում է նաև ինիդրիտոր սպիտակուցներով, որոնք կոչվում են **CDK ինիդրիտորներ (CKi)**: CKi-ները, միանալով ցիկլին-CDK համալիրներին, ճնշում են դրանց ակտիվությունը և մեծ դեր են կատարում G1/S անցման ժամանակ: Պատահական չեն, որ բազմաթիվ ուռուցքային բջիջներում CKi-ներ կողավորող գեները մուտացիայի են ենթարկված: Բոլոր միտոտիկ և S փուլի CDK-ների գործունեությունը ենթակա է կարգավորման CKi-ներով, ինչը կանխարգելում է դրանց ժամանակավրեալ ակտիվացու-

մը: Ի պատասխան պրոլիֆերացիան (բջջի բաժանումը) արգելակող արտաքջային ազդակների՝ CKi-ների ընտանիքի մի խումբ սպիտակուցներ, որոնք կոչվում են կինազ 4-ի ինիփրիտորներ (INK4), ճնշում են G1 փուլի CDK-ները՝ արգելակելով CDK4 և CDK6-ին միացումը ցիկլին D-ին և արգելակում են պրոտեին կինազային ակտիվությամբ օժտված համալիրների առաջացումը:

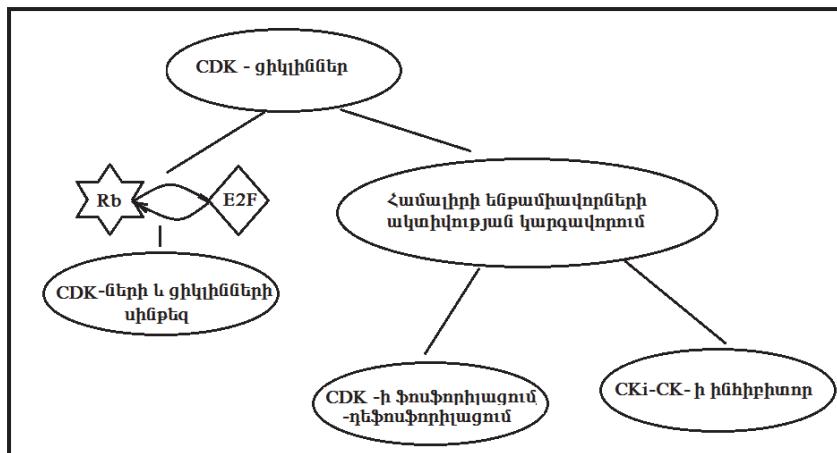
12.7. Արտաքին ազդակների ներգործությունը բջջի բոլորաշրջանի վրա

Խնդրասնկերի բջիջները բոլորաշրջան են մտնում, երբ հասնում են որոշակի չափերի (կրիտիկական չափս): Բջջի կրիտիկական չափսը կարգավորվում է սնուցող նյութերի պարունակությամբ շրջակա միջավայրում: Բազմաթիվ օրգանիզմների մոտ սնուցող նյութերի պարունակությունն արտաքջային միջավայրում համեմատաբար կայուն է և բավարար բջիջների բազմացման համար: Այս պարագայում բջիջների բաժանումը կախված է միտոզենների և հակամիտոզենների պարունակությունից:

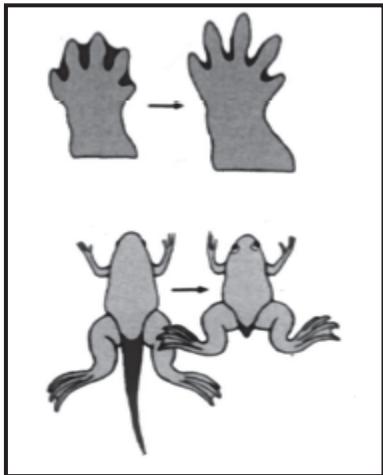
Միտոզեններն ակտիվացնում են բազմաթիվ գեների տրանսկրիպցիան: Այս գեները բաժանվում են երկու հիմնական խմբի՝ **Վաղ արձագանքող և ոչ արձագանքող գեներ**՝ կախված նրանից, թե որքան արագ է հայտնվում գենի համապատասխան ի-Ո-ՆԹ-ն բջջում: Վաղ արձագանքող գեների տրանսկրիպցիան սկսվում է միտոզենի ներգործությունից մի քանի րոպե հետո, քանի որ ներքջային աղդանշանային ուղիները բջջի ցիտոպլազմում և նուկլեոպլազմում ակտիվացնում են արդեն իսկ գոյություն ունեցող համապատասխան տրանսկրիպցիայի գործոնները: Վաղ արձագանքող գեների շարքին են պատկանում c-Fos և c-Jun գեները, որոնք պատասխանատու են ոչ արձագանքող գեների ակտիվացման համար: Վաղ արձագանքող գեների տրանսկրիպցիայի գործոններից AP-1-ը և Myc-ը ակտիվացնում են G1 ցիկլինների և CDK-ների գեների տրանսկրիպցիան: Որոշ հյուսվածքներում միտոզենները ճնշում են CKi-ների ընտանիքի ան-

դամ p15INK4b-ի սինթեզը՝ արգելափակելով համապատասխան գենի արանսկրիպցիան: Ինիբիտորի քանակի նվազումը խթանում է բջջային բոլորաշրջանի G1 փուլը: Բջջների բաժանումը կարգավորվում է ոչ միայն միտոզեններով, այլև հակամիտոզեններով, որոնք ճնշում են բջջային բոլորաշրջանը:

Որպես կանոն, **մասնագիտացած բջիջները դադարում են բաժանվել և մտնում են G0 հանգստի փուլ:** Որոշ մասնագիտացած բջիջներ (ֆիբրոբլաստներ, լիմֆոցիտներ, հեպատոցիտներ) կարող են նորից մտնել բջջային բոլորաշրջան և կրկնապատկվել: Մասնագիտացած բջիջների մեծ մասը երբեք չի բաժանվում նրա շնորհիվ, որ հակամիտոզեններն և մասնագիտացման մեխանիզմները կանխարգելում են G1 CDK-ների կուտակումը՝ ճնշելով ցիկլիների արտադրությունն և խթանելով CKi-ների սինթեզը: Ամենահզոր հակամիտոզենի օրինակ է **տրանսֆորմացնող աճի գործոն 13-ը (TGF-13)**, որն արգելափակում է բոլորաշրջանի G1 փուլը:



Նկար 82. Ցիկլին-CDK-ների ակտիվության կարգավորման ուղիներ:



Նկար 83. Դաստակի ձևավորումն ու
շերեփուկի պոչի վերացումը սաղմնա-
յին զարգացման փուլում:

ԳԼՈՒԽ 13

Քջիջների մահ

13.1. Ապոպտոզ

Ապոպտոզ է կոչվում քջիջների մահվան այն եղանակը, որ ընթանում է միմյանց հաջորդող կենսաքիմիական և կառուցվածքային փոփոխությունների խթան որոշակի փուլերով: Ապոպտոզի հետևանքը քջիջները բաղդատվում են քջաքաղանքի մնացորդների մեջ պարփակված առանձին մասնիկների՝ ապոպտիկ մարմնիկների: Ապոպտիկ մարմնիկները ենթարկվում են ֆազոցիտոզի հարեւան առողջ քջիջների կամ մասնագիտացված ֆազոցիտների կողմից: Ապոպտոզն էներգակախյալ գործընթաց է: Ի տարրերություն նեկրոզի՝ քջիջների ապոպտիկ մահը բորբոքային պրոցեսներ չի հարուցում, ինչի պատճառով մահվան այս ձևը կոչվում է քջի ֆիզիոլոգիական մահ: Ապոպտոզի հաջորդ առանձնահատկությունն այն է, որ ապոպտոզով կարող է մահանալ մեկ առանձին քջիջ, մինչդեռ նեկրոզով մահանում են քջիջների մեծ խմբեր: Ապոպտոզ տերմինն առաջին անգամ շրջանառության մեջ մտցվեց 1972 թվականին: Սաղմնային զարգացման փուլում ապոպտոզի շնորհիվ ձևավորվում են մարմնի և առանձին օրգանների խոռոչները, դաստակների և ոտնաքարերի մատների ձևավորման ժամանակ ապոպտոզով մահանում են միջանկյալ մեզենիմալ քջիջները, ձևավորվում են սեռական օրգանները, վերանում են սաղմնային զարգացման վաղ փուլում առաջացած նեյրոնների ավելի քան 50 %-ը, ապոպտոզով են վերանում շերեփուկների պոչի քջիջները (Ակար 83): Մարդու իմունային համակարգում յուրաքանչյուր օր առաջանում են հարյուր հազարավոր B և T լիմֆոցիտներ, որոնց գորեք 95 %-ը մահանում է ապոպտոզով: Ցանկացած քջիջ, որի բոլորաշրջանը խախտված է, մահանում է ապոպտոզով: Ապոպտոզը ոչ միայն ընկած է օրգանիզմի նորմալ ձևավորման և գործունեության հիմքում, այլև դրա խախտումները բազմաթիվ նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների, իշեմիկ վիճակների, հորմոնակախյալ հետաձերի, առտոմունային հիվանդությունների և շարո-

րակ նորագոյացությունների առաջացման պատճառ են: Ցուրաքանչյուր վայրկյան մարդու օրգանիզմում միտոզով առաջանում են 100 000 նոր բջիջներ, և գրեթե նույնքան բջիջներ մահանում են ապալսոզով:

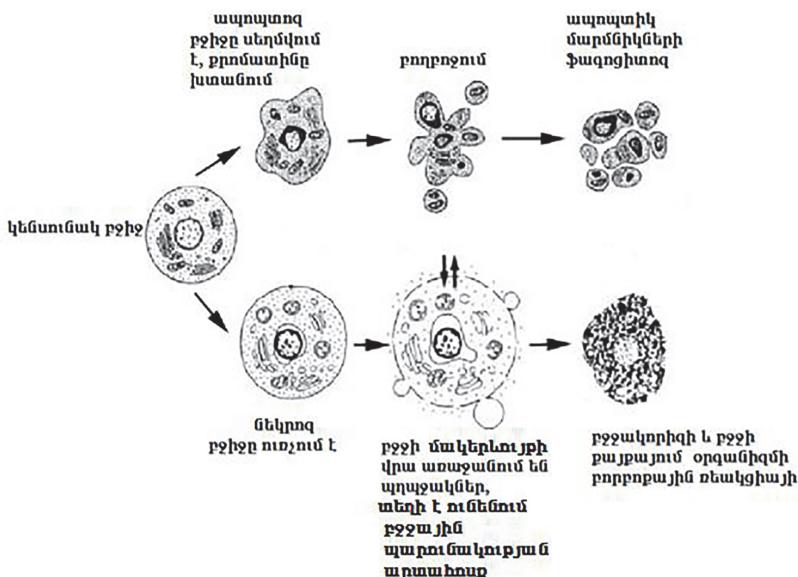
Ապոպտոզին բնորոշ կառուցվածքային և կենսաքիմիական փոփոխությունների ուսումնասիրության դասական առարկա դարձավ *C.elegance* կլոր որդը: Այս որդի բջիջները զարգանում են միևնույն գեննետիկական ծրագրով, որն անփոփոխ է բոլոր առանձնյակների մոտ: Հասուն որդի օրգանիզմն առաջանում է զիգոսի մոտ 10 բջջային բոլորաշրջաններից հետո, և որդի մարմնի մեծությունը հասնում է 1 մմ-ի: Սահմանային շրջանում որդերի մարմինը կազմված է 1090 բջիջներից, որոնցից 131-ը մահանում է ապոպտոզով սեռական հասունացման շրջանում, իսկ հասուն հերմաֆրոտիդ որդերի մարմինը կազմված է 959 բջիջներից: Բջիջների ապոպտիկ մահն ունի կառուցվածքային փոփոխությունների բնորոշ պատկեր (նկար 84): Սահացող բջիջը սեղմվում է, բջջակորիզի պարունակությունը խտանում է, այնուհետև բջջակորիզը և բջիջը բաժանվում են թաղանթով սահմանագատված մասնիկների (ապոպտիկ մարմնիկների): Գործընթացը նման է բարդ կառույցի կանոնավոր ապամոնտաժմանը, ինչը և հիմք ծառայեց ենթադրելու, որ այս կառուցվածքային փոփոխություններն ապահովող կենսաքիմիական ուղիները կանխորոշված են համապատասխան գեննետիկական ծրագրերով (ծրագրավորված մահ): Հետագայում պարզվեց, որ կազմակերպված ապոմոնտաժումը բնորոշ է ոչ միայն ապոպտոզին, և «ծրագրավորված մահ» տերմինը տեղը զիջեց ավելի հստակ ձևակերպումներին: Ապոպտոզի հետևանքով առաջացած ապոպտիկ մարմնիկներն արագ յուրացվում են հարևան կենսունակ բջիջների կամ ֆազոցիտների կողմից՝ առանց բորբոքային ռեսակցիայի: Ենթադրվում է, որ արդյունավետ ֆազոցիտով պայմանավորված է նրանով, որ դեպի դուրսը կողմնորոշված ֆուֆատիդիլսերինային մնացորդների շնորհիվ ապոպտիկ մարմնիկների թաղանքները ճանաչելի են ֆազոցիտովի համար: Կենսունակ բջիջների մոտ ֆուֆատիդիլսերինը գտնվում է թաղանթի դեպի ցիտոպլազմ - կողմնորոշված մակերևույթի վրա: Ապոպտոզին բնորոշ կենսաքի-

միական փոփոխություններն ուղեկցվում են նույնակի բնորոշ, որքան կառուցվածքային փոփոխություններով;

Ներկայումս ընդունված է այն տեսակետը, որ ապոպտոզ վերահսկող գենները կոդավորում են երեք տարրեր ֆունկցիաներով օժտված սպիտակուցների խմբեր.

1. **քիլեր** (սպանող) սպիտակուցներ, որոնք անհրաժեշտ են ապոպտոզի գործընթացը սկսելու համար,
2. **ապամոնտաժող** (դեստրուկտիվ) սպիտակուցներ, որոնք քայքայում են մահացող բջջի ԴՆԹ-ն և այլ բարձրամոլեկուլային բջջային բջջային ենթակառույցները,
3. **կլանման** սպիտակուցներ, որոնք խթանում են ապոպտիկ մարմնիկների ֆագոցիտոզն այլ բջջների կողմից:

C.elegance-ի ապոպտոզով մահացող 131 բջջներում կենարի-միական փոփոխությունները սկսում են մի խուճք ցիստեին պրոտեազների ակտիվացմամբ (ced-3, ced-4, ced-9): Գենետիկական հետազոտությունների արդյունքում պարզվեց, որ ced-3, ced-4 սպիտակուցները կոդավորող գեններ *ced-3*-ի և *ced-4*-ի մուտացիան կանխարգելում է դատապարտված 131 բջջների մահը: *C.elegance* -ի ced-3, ced-4, ced-9, egl-1 ապոպտիկ սպիտակուցներին համապատասխանող ֆունկցիաներով սպիտակուցներ հայտնաբերվեցին կաթնասունների մոտ: Ապոպտոզի ընթացքում ակտիվացող պրոտեազներն իրականացնում են սպիտակուցների ճեղքավորումը պեպտիլայիին շղթայի ասպարագինաթթվի մնացորդին հաջորդող կայքում, իսկ դրանց ֆերմենտացին ակտիվությունը պայմանավորված է ֆերմենտիակտիվ կենտրոնում գործող ցիստեինի մնացորդով: Ապոպտոզի պրոտեազները հավաքականորեն կոչվեցին կասպազներ (կ-ցիս, ասայ-ասպարտատ):



Նկար 84. Բջիջների կառուցվածքային փոփոխություններն ապոպտոզի և նեկրոզի ժամանակ:



Նկար 85. Ապոպտոզի ժամանակ ակտիվացող պրոտեազները *C.elegance*-ի մոտ և դրանց համապատասխանող սպիտակուցները կաթնասունների մոտ: ced-3-ը միակ կասպազմն է, որը գործում է *C.elegance*-ի բջիջների ապոպտոզի ժամանակ, ced-3-ին համապատասխանում է ապոպտիկ պրոտեազներմ ակտիվացնող գործոն Apaf-1-ն: Egl-1-ը: ced-9-ը համապատասխանաբար պրոպոպտիկ (ապոպտոզը խթանող) և հակապոպտիկ (ապոպտոզը արգելակող) Bcl-2 սպիտակուցային ընտանիքի անդամներն են, որոնք մեծ նշանակություն ունեն ապոպտոզի կարգավորման մեջ:

Կարնասունների մոտ դիտվող ապոպտոզում առանցքային դեր կատարող առաջին գենը կլոնավորվեց մարդու ֆոլիկուլային լիմֆոնայի բջիջից (շարորակ վերասերում ապրած լիմֆոցիտ): Ինունային բջիջներին հատուկ գենային վերադասավորության հետևանքով լիմֆոնայի բջիջներում *bcl-2* գենի սպիտակուց կոդավորող հատվածը ենթարկվում է ինունավորությանը գեների էնհանսերի հզոր խրանիչ ներգործությանը: Նման փոփոխություն կրած բջիջներում դիտվում է *Bcl-2* սպիտակուցի ավելցուկային արտադրություն, ինչն արգելակում է վերասերված բջիջների ապոպտոզը: Մարդու *Bcl-2* սպիտակուցը կատարում է նույն դերը, ինչ *C.elegance*-ի *ced-9*-ը, թեպետ այս սպիտակուցների ամինաթթվային կազմը տարբեր է (նույնն են ամինաթթուների 23 %-ը): *Bcl-2* և *ced-9*-ը ճնշում են ապոպտոզը, և երկուսն էլ ունեն տրանսմեմբրանային հատված, որը խոցում և անցնում է միտոքոնդրիումների արտաքին մեմբրանը:

Ապոպտոզով մահացող բջիջներում տեղի են ունենում որոշակի կենսաքիմիական փոփոխություններ:

- Տեղի է ունենում սպիտակուցների ճեղքավորում կասպազների ընտանիքին պատկանող պրոտեազներով:
- Բջջակորիգային Ca^{+2} - Mg^{+2} -կախյալ էնդոնուկլեազներով ինտերնուկլեոսոմային հատվածներում: Ca^{+2} -ի ճեղքավորումն օլիգոնուկլեոսոմային հատվածների ապոպտոզի ամենաքննորոշ կենսաքիմիական փոփոխությունն է, որն ազդարարում է գործնաժացի անդարձելիությունը:
- Խթանվում է ֆագոցիտային ճանաչման գործնաժացը:

Ապոպտիկ մարմնիկների ճանաչումն և արագ կլանումը պայմանավորված են նրանով, որ մասնիկները պարփակող թաղանթի արտաքին մակերևույթն ունի հատուկ նիշ՝ ֆոսֆատիդիլսերին: Ապոպտոզի մեկնարկից հետո ֆոսֆատիդիլսերինի մոլեկուլները «ցատկում են» և հայտնվում թաղանթի արտաքին մակերևույթի վրա: Բացի ֆոսֆատիդիլսերինից՝ նման էքստեռնալիգացում են ապրում նաև որոշ թաղանթային սպիտակուցներ: Այդ սպիտակուցներն են **Անեքսին I-ը (Annexin I)** և **կալրետիկուլինը (Annexin V)**: Կալրետիկուլինը մի ծայրով կապվում է ապոպտոզային բջջի թաղանթի արտաքին շերտում

գտնվող ֆոսֆատիդիլսերինին, իսկ մյուս ծայրով՝ կլանող բջջի բաղանքային հատուկ ռեցեպտորային սպիտակուցին՝ արագացնելով ֆազոցիտոզը:

13.2. Կասպազների ակտիվացում

Բջջներում կասպազները գտնվում են ոչ ակտիվ պրոֆերմենտների կամ զիմոգենների ձևով: Ակտիվանալով դրանք կարող են կասկադային մեխանիզմով ակտիվացնել ընտանիքի մնացած անդամներին՝ առաջացնելով ակտիվ կասպազների քանակի պայթյունանման ավելացում: Ակտիվ կասպազների ներբջջային պարունակության արագ աճը բազմակի անգամ ուժեղացնում է ապոպտոզ խթանող ազդանշանի հզորությունն ու հանգեցնում բջջի արագ ինքնավերացմանը: Կասպազները բաժանվում են երեք դասի՝

1. **ինիցիատոր կամ մեկնարկային** կասպազներ -2, -8, -9, -10,
2. **էֆեկտոր կամ կատարածու** կասպազներ -3, -6, -7,
3. **բորբոքային** կասպազներ -1, -4, -5:

Կասպազ-11-ը կարգավորում է ապոպտոզը և պատասխանատու է ցիտոկինների հասունացման համար օրգանիզմի սեպտիկ ախտահարման ժամանակ, **կասպազ-12-ը** միջնորդում է ամիլիդ թ-ով հրահրված ցիտոստրոսիկությունը, **կասպազ 13-ը** հայտնաբերված է խոշոր եղթերավորների մոտ, և **կասպազ 14-ն** առկա է միայն սաղմնային հյուսվածքների բջջներում:

Կասպազները գործում են հոմոլիմերների ձևով, որոնց մոնոմերներից մեկը կայունացնում է մյուսի ֆերմենտային ակտիվություն դրանորող դրմենք: Բոլոր կասպազների ակտիվացման համար պետք է տեղի ունենա մասնակի պրոտեոլիզ: Ինիցիատոր կամ մեկնարկային նախակասպազներ -8-ի և -10-ի մոտ մասնակի պրոտեոլիզով հեռացվում է «մահկան էֆեկտոր դրմեն» (DED) պարունակող մասը, իսկ նախակասպազ -9-ի և -2-ի մոտ՝ այն հատվածը, որի կազմի մեջ մտնում է «հավաքագրման» դրմենը (CARD): Օրինակ՝ կասպազ-9-ի ակտիվացման համար այն պետք է ազրեգացվի Araf-1-ի հետ: Էֆեկտոր կամ կատարածու կասպազներն ունեն նախախնամություն որո-

շակի ամինաթթվային հաջորդականություններ պարունակող սպիտակուցների հանդեպ: Դրանց մեջահատուկ բջջային թիրախներն են կորիզային լամինայի և բջջային կմախրի սպիտակուցները:

13.3. Ապոպտոզի մոլեկուլային մեխանիզմները

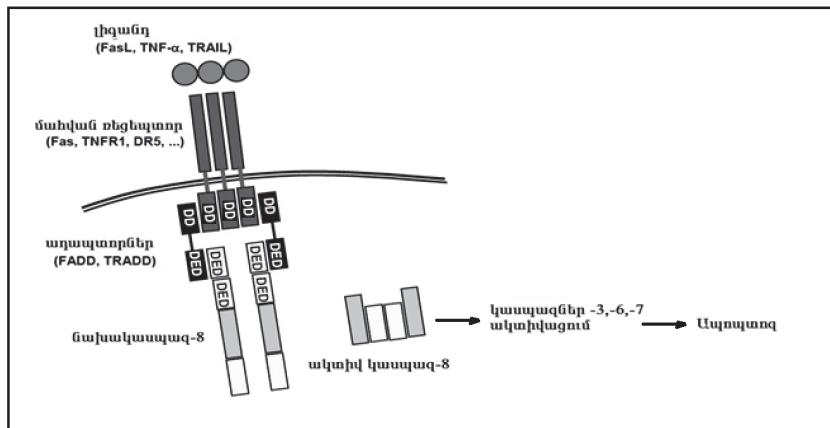
Ապոպտոզի ֆիզիոլոգիական դերը նույնքան մեծ է, որքան միտոզինը, և զարմանալի չէ, որ բջջային մահվան այս ձևն ունի կարգավորման նույնքան բարդ մեխանիզմներ:

Ներկայում առավել նկարագրված են ապոպտոզի երկու հիմնական մեխանիզմներ՝ արտաքջային ազդակներով (extrinsic pathway) և ներքին ազդակներով (intrinsic pathway) խթանված մեխանիզմները: Ապոպտոզի և երկու մեխանիզմներ իրականացնում են T-լիմֆոցիտների ցիտոտոքսիկ ներգործությամբ պայմանավորված բջջների մահը և **գրանզիմ/պերֆորին**-կախված բջջային մահը: Գրանզիմները սերինային արտօնագներ են, որոնք պերֆորինի հետ համատեղ պարունակվում են ցիտոտոքսիկ T-լիմֆոցիտների և բնական քիլեր իմունային բջջների ցիտոպլազմային գրանուլներում: Պերֆորինը յուրահատուկ անցուղի առաջացնող սպիտակուց է, որը մասնակցում է նաև հակաբորբոքային իմունային պատասխանի մեջ: Ապոպտոզի արտաքին, ներքին և գրանզիմ B-ով մակածված ձևերը զուգամիտում են վերջին «կատարողական փուլում»: Այդ փուլին հասուն էն ԴՆԹ-ի ինտերիուկետոսմային ճեղքավորումը, բջջային կմախրի և կորիզային լամինայի քայրայումը, ապոպտիկ մարմնիկների ձևավորումը, ֆազոցիտոզի համար անհրաժեշտ լիգանդների ապաքողարկումը կամ ձևավորումը: Գրանզիմ A-ով մակածված ապոպտոզի ժամանակ առանցքային դեր են կատարում ԴՆԹ-ի միաշերտ խզումները:

Արտաքջային ազդակներով հարուցված ապոպտոզի (extrinsic pathway) մեխանիզմում առանցքային դեր է կատարում տրանսմերժանային ռեցեպտորների մասնակցությամբ իրականացվող արտաքջային ազդանշանի հաղորդման ուղիների ներդաշնակ գործունությունը: Նման ռեցեպտորներին թվին են պատկանում **TNF-ի**

(tumor necrosis factor) ռեցեպտորները: Լինելով մեկ սպիտակուցային ընտանիքի անդամներ՝ այս ռեցեպտորներն ունեն կառուցվածքային ընդհանրություններ՝ ցիստեինով հարուստ արտաքջային դոմեն և մոտ 80 ամինաքրոններից բաղկացած ցիտոպլազմային դոմեն, որը կոչվում է «մահի դոմեն» (death domain-DD): DD դոմենը կենտրոնական դեր է կատարում արտաքջային ազդանշանի ընկալման քջային գործընթացում: Ներկայացնենք առավել հայտնի մահարեր ազդակները (լիգանդները, նշված են L) և համապատասխան ռեցեպտորները (նշված են R): FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/ DR4 և Apo2L/DR5 (նկար 86):

Ռեցեպտոր-լիգանդ միացումից հետո տեղի է ունենում «ադապտոր» կոչող ցիտոպլազմային սպիտակուցների հավաքագրում: Ադապտոր սպիտակուցներն ունեն DD դոմեններ, որոնց միջոցով դրանք միանում են մահվան ռեցեպտորների ցիտոպլազմային հատվածներին: FasL/FasR միացման ժամանակ համալիրին միանում է FADD ադապտոր սպիտակուցը, իսկ TNF- α /TNFR1-ի միացման դեպքում TRADD, FADD և RIP սպիտակուցները:



Նկար 86. Ռեցեպտորներով միջնորդված կասպազների ակտիվացում արտաքին ազդակով հրահրված ապոպտոզի ընթացքում:

Աղապտոր սպիտակուցների մահվան դռմենները դիմերացվում են նախակասպազ-8-ի մահվան դռմենների հետ՝ գոյացնելով մահի մակածնան ազդանշանային համալիր (**death-inducing signaling complex-DISC**): Նախակասպազ-8-ի մոլեկուլները դասավորվում են մոտիկ հարևանությամբ և ձեռք են բերում ինքնակատալիտիկ ունակություն: Նախակասպազ-8-ը անցնում է ակտիվ վիճակի՝ դառնալով կասպազ-8: Կասպազ-8-ի ակտիվացումով ավարտվում է **ապոպտոզի նախապատրաստական**, և սկսվում է **կատարողական** փուլը: Մասի ռեցեպտորներով կարգավորվող ապոպտոզը կարող է ճնշվել c-FLIP սպիտակուցով, որը, միանալով FADD-ին և կասպազ-8-ին, ճնշում է վերջիններիս ակտիվությունը:

13.4. Գրանզիմ/պերֆորին կախյալ մեխանիզմ

Ինունային համակարգի առանցքային դերակատար T լիմֆոցիտների CD+8 ենթապոպուլյացիան (քիլեր լիմֆոցիտներ-CTL) օժտված է ցիտոտոքսիկ հատկությամբ: Քիլերների ցիտոտոքսիկ ազդեցությունը հիմնականում պայմանավորված է նրանով, որ դրանք սպանում են օրգանիզմի ախտահարված թիրախսային բջիջները՝ ակտիվացնելով վերջիններիս ապոպտոզի FasL/FasR-կախյալ ուղին: Պարզվեց, որ CTL-ները կարող են սպանել վիրուսակիր և ուռուցքային վերասերում ապրած բջիջները մեկ այլ ճանապարհով ևս: Ապոպտոզի այս մեխանիզմն իրականացվում է հետևյալ կերպ: CTL-ներն արտադրում են տրանսմեմբրանային (քջաքաղանքը խոցող) անցուղի առաջացնող մոլեկուլներ (**պերֆորիններ**), որոնք թիրախսային բջիջների քջաքաղանքներում առաջացնում են անցուղիներ: Այդ նորագոյացած անցուղիներով կատարվում է ցիտոպլազմային լիտիկ մասնիկների տեղափոխությունը քիլեր բջիջի դեպի թիրախսային բջիջը: Տեղափոխվող ցիտոպլազմային մասնիկները հիմնականում բաղկացած են սերինային պրոտեազներ-գրանզիմներ A-ից և B-ից: **Գրանզիմ B-ն** ճեղքում է սպիտակուցներն ասպարտատի մնացորդների կայքերում՝ ակտիվացնելով նախակասպազ-10-ը: Գրանզիմ B-ն կարող է ակտիվացնել նաև **ԴՆԹ-ի** ճեղքավորումն իրականաց-

նող էնդոնուկլեազ **CAD-ը** (caspase activated DNase)՝ ճեղքելով ֆերմենտի ինիբիտոր սպիտակուց ICAD-ը (Inhibitor of Caspase Activated DNase): Գրանզիմները խթանում են ոչ միայն ապոպտոզի նկարագրված մեխանիզմը, այլև կարող են ակտիվացնել ապոպտոզի ներքին խթանման միտոքոնդրիում-կախյալ մեխանիզմը: Գրանզիմ B-ի ազդեցության ամենակարծ ուղին կասպազ-3-ի ակտիվացումն է: Այս ճանապարհը թույլ է տալիս շրջանցել ապոպտոզի նախապատրաստական փուլը և անմիջականորեն թևակոխել կատարողական փուլ:

Գրանզիմ A-ն նույնապես մեծապես նպաստում է CTL-ների ցիտոտոքսիկ ազդեցության դրակորմանը: Հայտնվելով թիրախային բջջում՝ գրանզիմ A-ն ակտիվացնում է ԴՆԹ-ի միաշղթա խորությունը՝ առաջացնող էնդոնուկլեազ NM23-H1-ը: Այս ԴՆազը մեծ դեր ունի ուռուցքային բջիջների վերացման գործընթացում: ԴՆազ NM23-H1-ի ակտիվությունը բջիջներում արգելակվում է նուկլեոսումների կազմավորումը կարգավորող սպիտակուցների SET սպիտակուցային համալիրով: Գրանզիմ A-ն քայլայում է SET համալիրը և ակտիվացնելով NM23-H1-ը՝ խթանում է ապոպտոզը: Սպիտակուցների SET համալիրի կազմի մեջ են մտնում նաև ԴՆԹ-ի ռեպարացմանը մասնակցող և քրոմատինի փարերավորումն ապահովող սպիտակուցներ՝ Apel-ը, p32, HMG2-ը: Քայլայելով SET համալիրը՝ գրանզիմ A-ն նաև ապակայունացնում է քրոմատինի կատուցվածքը, ինչն ինքնին ապոպտոզը խթանող ազդակ է:

13.5. Ներքին ազդակներով հարուցված ապոպտոզ

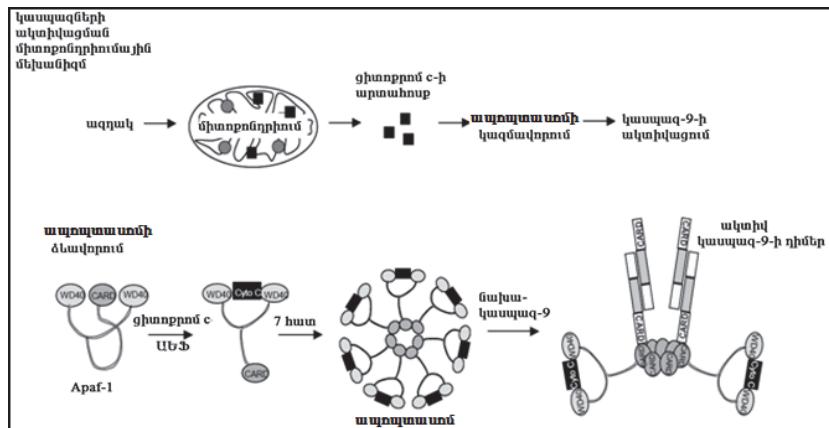
Ներքին ազդակներով հարուցված ապոպտոզը կախված չէ բջջաբաղանթային ռեցեստորների գործունեությունից և իրականանում է այն ներքջային ազդանշանային ուղիների ակտիվացման շնորհիվ, որոնց վերջնական թիրախը միտոքոնդրիումներն են կամ բջջակորիզային ԴՆԹ-ն: Ներքին ազդակներով խթանված ապոպտոզի մեխանիզմը կարող է ակտիվանալ աճի գործուների, հորմոնների և ցիտոկինների բացակայության պարագայում (**քացասական**

ազդակները): Նման ազդակների բացակայությունը վերացնում է դրանց արգելավակող գործունեությունը, և գործի է դրվում ապոպտոզի ծրագիրը: Մյուս տիպի (**ոքական**) ազդակների թվին են պատկանում ճառագայթահարումը, թույները, թթվածնի պակասը (հիպօրսիա), միջավայրի բարձր շերմաստիճանը (հիպերելեմիա), վիրուսային ախտահարումը, ազատ ռադիկալները: Դրական ազդակների ճնշող մեծամասնությունը ներգործում է միտոքոնդրիումների ներքին բաղանքի կառուցվածքի վրա, որի հետևանքով բաղանքներում բացվում են անցուղիներ, վերանում է միտոքոնդրիումների տրանսմեմբրանային էլեկտրական պոտենցիալը, միտոքոնդրիումի միջթաղանթային տարածությունից դեպի քջի ցիտոպլազմ է արտահոսում ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցների երկու խումբ: Առաջին սպիտակուցներն ակտիվացնում են ապոպտոզի կասպազ կախյալ միտոքոնդրիումային մեխանիզմը: Smac/DIABLO և HtrA2/Omi խթանում են ապոպտոզ՝ ճնշելով IAP-ները (*inhibitors of apoptosis proteins*):

Միտոքոնդրիումներից արտահոսած սպիտակուցների երկրորդ խմբի մեջ են մտնում **AIF-ը (apoptosis inducing factor)**, **Էնդոնուկլեազ G-ն, CAD-ը (caspase activated DNase)**: Երկրորդ խմբի սպիտակուցների արտահոսքը միտոքոնդրիումից ավելի ուշ է տեղի ունենում: AIF-ը տեղափոխվում է քջակորիզ և առաջ բերում քրոմատինի նախնական խտացում և ճեղքավորում 50-300 հզն հատվածների: Էնդոնուկլեազ G-ն նույնական տեղափոխվում է քջակորիզ, որտեղ իրականացնում է քրոմատինի հետագա ճեղքավորումը մինչ օլիգոնուկլեոտիդային հատվածներ: Քջիների նորմալ կենսագործունեության ընթացքում CAD-ի ակտիվությունն արգելակվում է ֆերմենտի մոլեկուլին միացած ինհիբիտոր սպիտակուցի շնորհիվ: Ապոպտոզի մեկնարկումից հետո CAD-ը դուրս է գալիս միտոքոնդրիումից և տեղափոխվում է քջակորիզ, որտեղ կասպազ-3-ը քայլայում է ֆերմենտի ինհիբիտորը: CAD-ը շարունակում է քրոմատինի հետագա ճեղքավորումը և ավելի է ուժգնացնում քրոմատինի խտացումը:

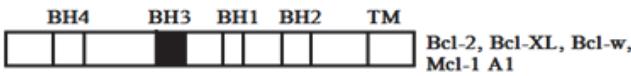
Միտոքոնդրիումների ապոպտոզ-խթանից գործունեությունը խստորեն վերահսկվում է **Bcl-2 սպիտակուցային ընտանիքի** անդամ-

Աերով: Bcl-2 սպիտակուցների ընտանիքի անդամները կողավորվում են 25 գեներով, կարգավորում են միտոքոնյոբիումների բաղանթների թափանցելիությունը և ըստ գործունեության բնույթի՝ բաժանվում են երկու խմբի՝ **հակապոպտոզային** և **ապոպտոզ-խրանող** սպիտակուցների (աղյուսակ 5):

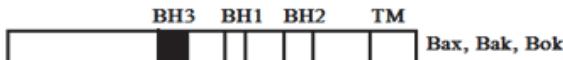


Նկար 87. Ապոպտոզային ազդակի նեգործության հետևանքով միտոքոնյոբիումից արտահոսում է ցիտոռերմ ս-ն: Ցիտոպլազմում ցիտոռերմ ս-ն (սև ուղղանկյուն) միանում է Apaf-1-ին (apoptosis activating factor), և 7 միավորված մոլեկուլներ կազմում են «**ապոպտաստմ**» կոչվող անիվանման կառույց: Ապոպտաստմին են միանում նախակասպազ-9-ի մոլեկուլները: Ապոպտաստմի կառուցվածքային առանձնահատկությունների շնորհիվ ակտիվանում են նախակասպազ-9-ի միավորները, որոնք դիմերացվելով դառնում են ակտիվ կասպազ-9:

**հակասապոպտիկ
անդամներ**



ապոպտոզ-խթանող
անդամներ



միայն BH3 սպիտակուցներ
(կարգավորում են սպիտակուցների
ակտիվությունը)

BH3



Նկար 88. Bcl-2 լնտանիքի սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքը:

Աղյուսակ 5.

Հակասապոպտոզային և ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցներ

Bcl-2 լնտանիքի սպիտակուցներ	
Հակասապոպտոզային սպիտակուցներ	Ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցներ (արոտապոպտիկ)
Bcl-2	Bcl-10
Bcl-x	Bax
BclXL	Bak
BclXS	Bid
Bcl-w	Bad
BAG	Bim
Bik	Puma
Blk	Noxa

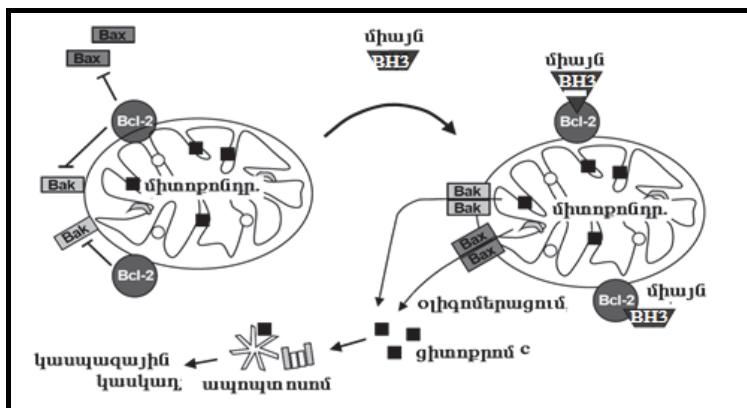
Bcl-2 լնտանիքի սպիտակուցների մասնակցությունն ապոպտոզին բազմաբնույթ է, և ներկայումս առաջարկված են երկու վարկածներ, որոնք բացատրում են Bcl-2 սպիտակուցների կարգավորիչ դերը: Համաձայն առաջին մոդելի՝ Bcl-2 սպիտակուցներն անմիջակա-

Առողեն վերահսկում են կասպազների ակտիվացման գործընթացները, երկրորդ մոդելը հենվում է նրա վրա, որ *Bcl-2* սպիտակուցները վերահսկում են միտոքրոնդրիումների բաղանքների ամրողականությունը: *Bcl-2* սպիտակուցների ընտանիքի բոլոր անդամներն ունեն ***Bcl-2-հոմոլոգ դրմեններ*** (**BH**), ընդունակ են առաջացնել օլիգոմերներ, շատերը տրանսքաղանքային սպիտակուցներ են (խոցում են բաղանքը): Ողնաշարավորների մոտ *Bcl-2* ընտանիքի **Bax կամ Bak** անդամներն անհրաժեշտ են միտոքրոնդրիումների բաղանքների բափանցելիության փոփոխության համար և խթանում են ապոպտոզը: Ընտանիքի մյուս այրուապոպտիկ սպիտակուցների նման դրանք ունեն նմանատիպ երրորդային կառուցվածքներ և **BH դրմեններ** (նկար 88): *Bax*-ը և *Bak*-ը գտնվում են միտոքրոնդրիումի արտաքին բաղանքում և ամուր կապված են *Bcl-2*-ին: Երբ այս համալիրներում *Bax*-ը և *Bak*-ը տեղակալվում են միայն **BH3** դրմեն պարունակող սպիտակուցներով, ազատված *Bax*-ը և *Bak*-ը ձեռք են բերում օլիգոմերներ կազմելու ունակություն: *Bax*-ի և *Bak*-ի օլիգոմերները խոցում են միտոքրոնդրիումի արտաքին բաղանքը, և ցիտոքրոմ *c*-ն արտահոսում է ցիտոպլազմ: Ցիտոզոլում ցիտոքրոմ *c*-ի մոլեկուլները կապվում են *Araf-1*-ի հետ, ակտիվացնում այն: Ակտիվացած *Araf-1*-ն իր հերթին ակտիվացնում է կասպազ-9-ը (նկար 88):

Կարնասունների և ճանճերի մոտ ապոպտոզի ներքին ազդակներով մակածված մեխանիզմը բարդացված է **ապոպտոզիկինիկիտոք սպիտակուցների** (**IAPs**) կարգավորիչ գործունեությամբ: IAP-ները գործում են նորմալ բջիջներում և արգելակում են կասպազների ակտիվությունը, ինչն անհրաժեշտ է բջիջն ապոպտոզից պաշտպանելու համար միտոքրոնդրիումների պատահական վնասվածքների դեպքում: Երբ ծագում է բջջի վերացման անհրաժեշտությունը, IAP-ների գործունեությունը դադարեցվում է **SMAC/DIABLO ընտանիքի սպիտակուցներով**, որոնք դուրս են հոսում միտոքրոնդրիումից *Bax/Bak* հետերոդիմերով առաջացած անցուղիներից: Այսպիսով՝ կարնասունների մոտ ապոպտոզ մակածող ներքին ազդակն առաջացնում է *Bax* և *Bak* սպիտակուցների հոմոդիմերներ և հետերոդիմերներ, որոնք միտոքրոնդրիումի արտաքին բաղանքում ստեղծում են անցուղիներ: Անցուղիներով միտոքրոնդրիումից դեպի ցիտոպլազմ են

արտահոսում SMAC/DIABLO սպիտակուցներն ու ցիտոքրոմ c-ն: Bcl-2 ընտանիքի հակասպովոզային սպիտակուցներն արգելակում են ապոպտոզ՝ կանխարգելելով Bax և Bak մոլեկուլների օլիգոմերացումը: Bcl-2 ընտանիքի ապոպտոզ-հարուցող անդամները (Puma, Bad) խթանում են Bax և Bak մոլեկուլների օլիգոմերացումը և ապոպտոզը:

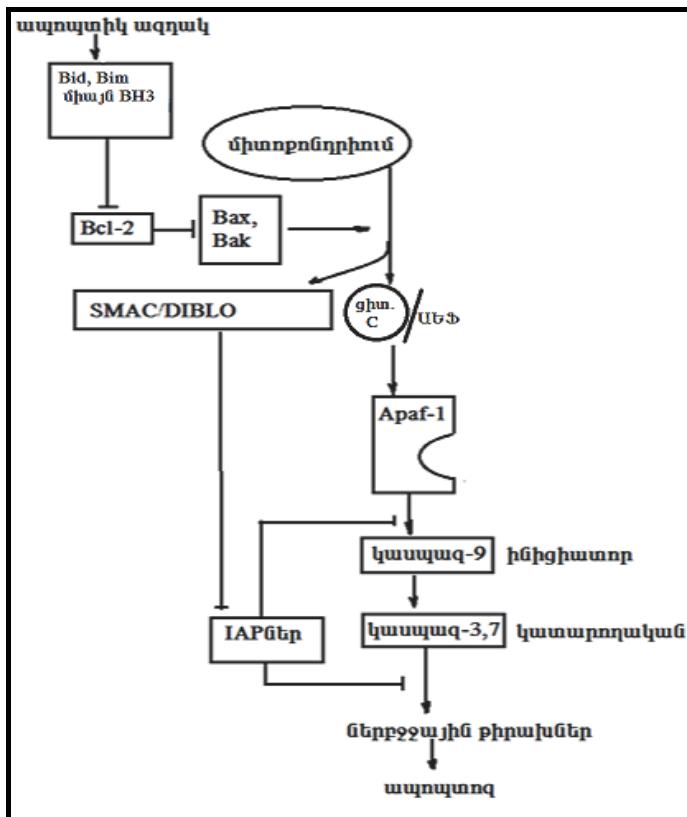
Ապոպտոզի մակածման հզոր ներքջային ազդակների թվին են պատկանում բջջակորիզային ԴՆԹ-ի տարաբնույթ վնասվածքները և բջջային բոլորաշրջանի խախտումները: Թե՛ ճառագայթահարման, թե՛ քիմիական ազդեցությունների հետևանքով առաջացած ԴՆԹ-ի վնասվածքներն ի վերջո հաճգեցնում են p53 սպիտակուցի ակտիվացմանը: p53-ը տրանսկրիպցիայի գործոն է, որը խթանում է Bcl-2 ընտանիքի ապոպտոզ-հարուցող սպիտակուցների (Puma, NOXA, Bax, Fas, Apaf-1) տրանսկրիպցիան և ճնշում հակասպովոզային Bcl-2-ի և BclXL-ի սպիտակուցների տրանսկրիպցիան:



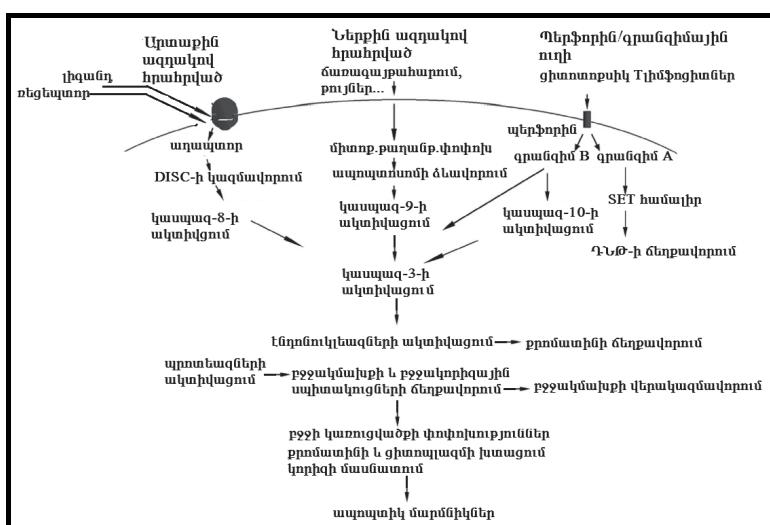
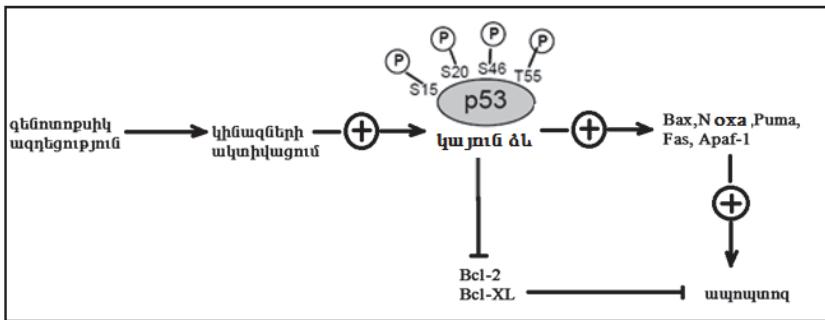
Նկար 88. Bax և Bak սպիտակուցների պրոապոպտիկ դերը: Աև քառակուսիներով նշված են ցիտոքրոմ c-ի մոլեկուլները:

Ապոպտոզի ընթացքում սպառվում է ԱԵՖ-ի էներգիան, և ապոպտոզը մեծապես կախված է բջջի էներգետիկ պաշարներից: Եթե բջիջը չունի ԱԵՖ-ի բավարար պաշարներ, ապա ցանկացած մահվան ազդակ ստանալուն պես այն կմահանա նեկրոտիկ մահով: Դա

պայմանավորված է նրանով, որ ապոպտոզի նախապատրաստական փուլի առանցքային սպիտակուցները բազմաթիվ կապերով միացած են ներքջային կարգավորիչ այլ մեխանիզմներին, որոնցից կարևորագույնը պոլի (ԱԿՖ-ոիրող) պոլիմերազային կարգավորման ուղին է: Պոլի (ԱԿՖ-ոիրող) պոլիմերազային կարգավորումը հանդես է գալիս որպես բանալի, որը կատարում է մահկան այն մեխանիզմի ընտրությունը, որը կենսաբանորեն արդարացված է այս կամ այն պարագայում:



Նկար 88. SMAC/DIABLO և IAP-ների կարգավորիչ դերը ներքին ազդակներով հրահրված ապոպտոզի ընթացքում:



ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆՔՆ

1. Bachrecke E. H. (2002). How death shapes life during development. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3:779-787.
2. Benedict C. A., Norris P. S. and Ware C. F. (2002). To kill or be killed: viral evasion of apoptosis. *Nature Immunol.* 3:1013-1018
3. Bergmann A. (2002), Survival signaling goes BAD. *Devel. Cell* 3:607-608.
4. Cory S., Adams J. M. (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Rev. Cancer* 2:647-656.
5. Elmore S. (2007), Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.*; 35(4): 495-516.
6. Ha H.C. Snyder S. H. (1999), Poly(ADP-ribose) polymerase is a mediator of necrotic cell death by ATP depletion, *PNAS*, v. 96 u no. 2413978–13982 *Cell* 110:5-8.
7. Jacks T., Weinberg R. A. (2002), Taking the study of cancer cell survival to a new dimension. *Cell* 111:923-925.
8. Marsden V. S., Strasser A. (2003). Control of apoptosis in the immune system: Bcl-2, BH3-only proteins and more. *Ann. Rev. Immunol.* 21:71-105.
9. Martin S. J. (2002). Destabilizing influences in apoptosis: sowing the seeds of IAP destruction. *Cell* 109:793-796.
10. Ranger A. M., Malynn B. A., Korsmeyer S. J. (2001). Mouse models of cell death. *Nature Genet.* 28:113-118
- Vaux D. L., Korsmeyer S. J. (1999). Cell death in development. *Cell* 96:245-254.
11. Zuzarte-Luis V., Hurle J. M. (2002). Programmed cell death in the developing limb. *Int'l. J. Devel. Biol.* 46:871-876.

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՍՏԱՏՐԱՆ

ԻՐԻՆԱ ԳԵՂԱՄԻ ԱՐՅՈՒԽԻՆԻ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ՀԱՏՈՒԿ ԳԼՈՒԽՆԵՐ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. խմբագրումը՝ Մ. Հովհաննիսյանի

Տպագրված է «Վարդան Սկրտչյան» ԱԶ-ում:
թ. Երևան, Հր. Ներսիսյան 1/125

Ստորագրված է տպագրության՝ 10.12.2018:
Զափաք՝ 60x84 $\frac{1}{16}$: Տպ. մամուլ՝ 16.25:
Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
թ. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.am



ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԱՌԱՀԱՅՈՒԹ

ԵՐԵՎԱՆ 2018

publishing.yusu.am