

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՆԱԽԱԼՍԱՐԱՆ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ՆԱՏՈՒԿ ՓԼՈՒԽՆԵՐ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԻՐԻՆԱ ԱՐԾՐՈՒՆԻ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՏՈՒԿ ԳԼՈՒԽՆԵՐ

ԵՐԵՎԱՆ

ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ

2018

ՀՏԳ 577.2(07)

ԳՄԴ 28.070g7

Ա 885

*Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի
գիտական խորհուրդը*

Արծունի Իրինա

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

Ձեռնարկում 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 դատափորձագիտության և բժշկագիտության ոլորտներում: «Մոլեկուլային կենսաբանության հատուկ գլուխներ» ուսումնական ձեռնարկը նախատեսվում է կենսաբանության ֆակուլտետի բակալավրիատի բաժնի ուսանողների համար:

ՀՏԳ 577.2(07)

ԳՄԴ 28.070g7

ISBN 978-5-8084-2337-4

© ԵՊՀ հրատ., 2018

© Արծունի Իրինա, 2018

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ	7
ԳԼՈՒԽ 1	
Ժառանգական տեղեկատվության գործարկման մեխանիզմներ	
կամ գեների էքսպրեսիա	9
1.1. ԴՆԹ-ի քիմիական կառուցվածքը.....	11
1.2. Միտոքոնդրիումային և պլաստիդային ԴՆԹ-ներ	18
1.3. Բջջային ՌՆԹ-ների տիպերը	22
ԳԼՈՒԽ 2	
Տրանսլյացիա կամ սպիտակուցի սինթեզ	35
2.1.Տրանսլյացիայի փուլերը: Մեկնարկ	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 քայքայման կարգավորում.....	61
3.3. Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորում մոլեկուլի կովալենտ և ոչ կովալենտ ձևավորությունների միջոցով	68
ԳԼՈՒԽ 4	
ԴՆԹ-ի կրկնապատկում (ռեպլիկացում)	74
ԳԼՈՒԽ 5	
ԴՆԹ-ի վերականգնում կամ ռեպարացում.....	82
ԳԼՈՒԽ 6	
ՌՆԹ-ների սինթեզ և հասունացում	89
6.1. Սպիտակուց կողավորող գեներ.....	96
6.2. ԴՆԹ-ի նույնականացման «մատնահետքերի» մեթոդ և մինիսատելիտային ԴՆԹ.....	104
6.3. ԴՆԹ շարժուն տարրեր.....	106
6.4. Էուկարիոտների ԴՆԹ տրանսպոզոններ	110
6.5. Ռետրանսպոզոններ	112
ԳԼՈՒԽ 7	
Գեների աշխատանքի կարգավորում	118

7.1. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը բակտերիաների բջիջներում.....	120
7.2. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը էուկարիոտների քրոմոսոմներում	121
7.3. Հիստոնների ագետիլացում	127
7.4. Հիստոնների մեթիլացում, ֆոսֆորիլացում, ԱԿՖ-միթրոզիլացում և ուբիխտինացում.....	129
7.5. Հիստոնների դերը քրոմատինի կոնդենսավորման մեջ: Հիստոնային գադտնագիր (կոդ)	131
7.6. Էպիգենետիկական ժառանգում.....	134
7.7. ԴՆԹ-ի մեթիլացում: Էպիգենետիկական արգելակում ԴՆԹ-ի մեթիլացման ճանապարհով	135
7.8. Ոչ հիստոնային սպիտակուցներ	138
7.9. Քրոմատինի ռեմոդելավորում.....	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 ՅՖԳ կոդյակներ.....	152
8.4. Էնհանսերներ և սայլենսերներ	154
8.5. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններ, ՌՆԹ պոլիմերազ II	155
8.6. Տրանսկրիպցիայի ընթացք	160
8.7. Տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլ և ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի հասունացում կամ պրոցեսինգ	166
8.8. Կեպավորում.....	168
8.9. Սպլայսինգ	170
8.10. Նախա-ի-ՌՆԹ-ների 3՝ ճեղքավորում և պոլիադենիլացում ...	176
8.11. Տրանսկրիպցիային մասնակցող սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքը	182
8.12. Էնհանսերների փոխազդեցությունը տրանսկրիպցիայի գործոնների և ՌՆԹ-պոլիմերազային համալիրի հետ	188

8.13.Տրանսկրիպցիա ՌՆԹ պոլիմերազ I-ով և ՌՆԹ պոլիմերազ III-ով	189
--	-----

ԳԼՈՒԽ 9

Ռ-ՌՆԹ-ների և փ-ՌՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)	192
--	------------

9.1. Ռ-ՌՆԹ-ների հասունացում	192
-----------------------------------	-----

9.2.Փ-ՌՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)	195
--	-----

ԳԼՈՒԽ 10

Գեների ակտիվության կարգավորման

հետադանսկրիպցիոն մեխանիզմներ	197
---	------------

10.1. Ի-ՌՆԹ-ների տեղափոխությունը բջջակորիզից ցիտոպլազմ	197
---	-----

10.2.Գեների ակտիվության կարգավորման ցիտոպլազմային մեխանիզմներ	203
--	-----

10.3. Սիկրո ՌՆԹ-ներ	204
---------------------------	-----

10.4. Ինտերֆերենցվող կարճ ՌՆԹ-ներ	205
---	-----

10.5. Չկոդավորող երկար ՌՆԹ	207
----------------------------------	-----

10.6. Ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլների տրանսլյացիան կարող է խթանվել ցիտոպլազմում ընթացող պոլիադենիլացման շնորհիվ	211
---	-----

10.7. Ի-ՌՆԹ-ների քայքայումը ցիտոպլազմում	213
--	-----

10.8. Սպիտակուցի սինթեզի վերահսկման TOR ճանապարհը	216
--	-----

ԳԼՈՒԽ 11

Բջջակորիզային ենթակառուցվածքներ	218
--	------------

11.1. Բջջակորիզային մատրիքս և լամինա	218
--	-----

11.2. Կորիզակ	219
---------------------	-----

ԳԼՈՒԽ 12

Բջիջների բազմացում	224
---------------------------------	------------

12.1. Բջջային բոլորաշրջան	225
---------------------------------	-----

12.2. Էուկարիոտ բջիջների բջջային ցիկլի կարգավորումը ցիկլին կինազներով	227
--	-----

12.3. Ցիկլիններ	229
-----------------------	-----

12.4. CDK-ների ակտիվության կարգավորումը ֆոսֆորիլացման և դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով	232
---	-----

12.5. Ցիկլինների պարունակության կարգավորումը բջջիջներում	235
--	-----

12.6. Տրանսկրիպցիայի գործոն E2F-ի դերը	237
12.7. Արտաքին ազդակների ներգործությունը բջջի բոլորաշրջանի վրա.....	239

ԳԼՈՒԽ 13

Բջջիչների մահ	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

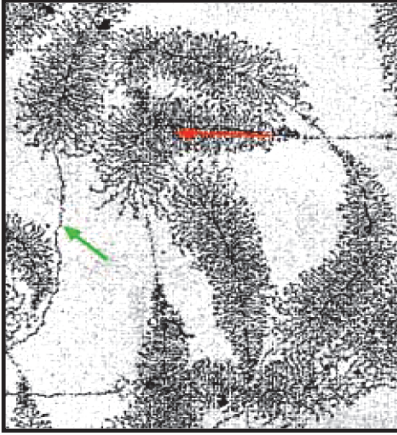
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Կենսաբանական համակարգերը ներկայացված են տարաբնույթ օրգանիզմներով, որոնք գործում են ֆիզիկայի և քիմիայի օրենքների համաձայն: Օրգանիզմների զարմանալի բազմազանության բևեռներից մեկը ներկայացված է մանրադիտակային չափսերի միաբջջի օրգանիզմներով, մյուս բևեռում կենտրոնացած են բարդ բազմաբջջի օրգանիզմները, որոնց չափսերը տատանվում են միլիմետրերից մինչ տասնյակ մետրեր: Ի տարբերություն օրգանիզմների չափերի, ձևերի և կենսակերպերի բազմազանությանը՝ օրգանիզմները դրսևորում 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) միլիոնավոր տարիների ընթացքում փոխվել են օրգանական մոլեկուլների համադրությունների տիպերը, և առաջացել են նորանոր բջջային ձևեր, անփոփոխ է մնացել հիմնական սկզբունքը. բջջի բոլոր օրգանիզմների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ միավորն է:

Բազմաբջջի օրգանիզմների բջջները միացած են բազմաթիվ կապերով, որոնց միջոցով միավորվում են մեկ ամբողջության մեջ: Նման միասնությունն այնքան հզոր է, որ բազմաբջջի օրգանիզմների մեկուսացած բջջները կորցրել են ինքնուրույն ապրելու ունակությունը: Բազմաբջջի օրգանիզմների բջջների միասնական և համաձայնեցված գործունեությունը կարգավորվում է տարբեր ազդակներով, որոնք կատարում են տեղեկատվության փոխադրիչների դեր՝ փոխանցելով տեղեկատվությունը մեկ բջջից մյուսը, հյուսվածքից հյուսվածք, օրգանից օրգան: Ընդհանուր կարգավորիչ մեխանիզմները, ինտեգրելով և համաձայնեցնելով տեղեկատվության հոսքերը, ապահովում են կենսաբանական համակարգի օպտիմալ գործունեությունը: Այսպիսով՝ նույնիսկ ամենաբարդ օրգանիզմը կարելի է դիտարկել որպես զարմանալի միասնությամբ գործող բջջների 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-ՌՆԹ-ների մոլեկուլները: [Lodish H. et al, 8th ed.]

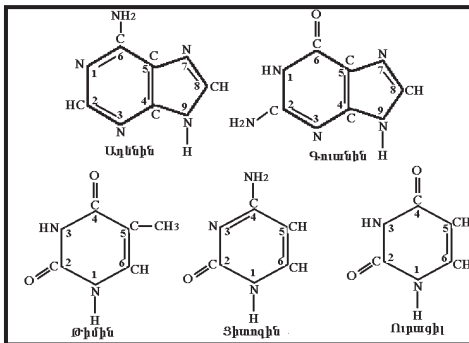
ԳԼՈՒԽ 1

Ժառանգական տեղեկատվության գործարկման մեխանիզմներ կամ գեների էքսպրեսիա

Բջջի կառուցվածքը և գործունեությունն ապահովող տեղեկատվությունը գաղտնագրված է դեզօքսիռիբոնուկլեինաթթվի (ԴՆԹ) մոլեկուլներում: Ժառանգված տեղեկատվության անթերի վերարտադրությունը և վերծանումը ընկած են կենսաբանական տեսակների պահպանման, յուրաքանչյուր առանձնյակի և բջջի կենսագործունեության հիմքում: ԴՆԹ-ի մոլեկուլում տեղեկատվությունը պահպանվում է առանձին միավորների ձևով, որոնք գաղտնագրում են օրգանիզմի ինքնատիպ հատկությունները: Այս միավորները կոչվում են գեներ: Գեները գաղտնագրում են այն տեղեկատվությունը, որն անհրաժեշտ է բջջային գործընթացների վիթխարի բազմազանությունն ապահովող հիմնական մոլեկուլների՝ սպիտակուցների և ռիբոնուկլեինաթթուների սինթեզի համար: «Տրանսկրիպցիա» կոչվող գործընթացում գեներում գաղտնագրված տեղեկատվությունը պատճենվում է ռիբոնուկլեինաթթուների մոլեկուլների ձևաչափով (ՌՆԹ): ՌՆԹ-ների մոլեկուլների երեք հիմնական տիպերն իրականացնում են սպի-

տակուցների կենսասինթեզը: Ինֆորմացիոն Ռ-ՆԹ-ն (ի-Ռ-ՆԹ) Գ-ՆԹ-ի մոլեկուլում գաղտնագրված տեղեկատվության այն մասի պատճենն է, որը պատասխանատու է պոլիպեպտիդային շղթաներում ամինաթթուների որոշակի գծային հաջորդականության համար: Բարդ բազմափուլ գործընթացում, որը կոչվում է «տրանսլյացիա», ի-Ռ-ՆԹ-ում ամփոփված տեղեկատվությունը վերծանվում է և ներկայացվում ամինաթթուների հաջորդականության տեսքով: Տրանսլյացիային մասնակցում են ևս երկու տարբեր տիպերի Ռ-ՆԹ-ներ՝ փոխադրիչ (փ-Ռ-ՆԹ) և ռիբոսոմային Ռ-ՆԹ-ները (ռ-Ռ-ՆԹ): Փ-Ռ-ՆԹ-ները տեղափոխում են ամինաթթուները դեպի ռիբոսոմներ, որոնք կազմված են ռ-Ռ-ՆԹ-ներից և ռիբոսոմային սպիտակուցներից: Տրանսլյացիայի ընթացքում ի-Ռ-ՆԹ-ի մուկլետոիդային հաջորդականությունը «թարգմանվում է» սպիտակուցների ամինաթթվային հաջորդականության:

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



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

1.1. ԴՆԹ-ի քիմիական կառուցվածքը

ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի առաջնային կառուցվածքները նման են, քանի որ երկուսն էլ նուկլեոտիդային մոնոմերներից բաղկացած գծային պոլիմերներ են: Տարբեր տիպի ՌՆԹ-ների երկարությունը պայմանավորված է մոլեկուլը կազմող նուկլեոտիդների թվով, որը տատանվում է մի քանի տասնյակից մինչև մի քանի հազար նուկլեոտիդներ: ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարող է բաղկացած լինել մի քանի միլիոն նուկլեոտիդներից, սակայն մոլեկուլի երկարությունն այս դեպքում որոշում է նուկլեոտիդների թվի $1/2$ -ը, որովհետև նուկլեոտիդները հավասարաչափ բաշխված են ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կազմող երկու շղթաների միջև: ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդների կազմի մեջ են մտնում 5 տարբեր ազոտական հիմքեր: Դրանք են պուրիններ ադենինը (Ա), գուանինը (Գ), որոնց բնորոշ են երկու արոմատիկ օղակներ և մեկ արոմատիկ օղակ ունեցող պիրիմիդինները՝ ցիտոզինը (Ց), թիմինը (Թ) և ուրացինը (Ու) (նկար 2): Թիմինը բնորոշ է միայն ԴՆԹ-ին, մինչդեռ ուրացինը՝ ՌՆԹ-ներին: ԴՆԹ-ն և ՌՆԹ-ն տարբերվում են նաև մոլեկուլի կազմի մեջ մտնող շաքարների մնացորդներով: ԴՆԹ-ում ածխաջրածնային մնացորդը դեօքսիռիբոզն է, իսկ ՌՆԹ-ում՝ ռիբոզը: Պուրինային և պիրիմիդինային ազոտական հիմքերը միացած են ածխաջրածնային մնացորդներին որպես կողքային շղթաներ:

Նուկլեինաթթուների 5' ծայրը ներկայացված է ֆոսֆատային խմբով, որը միացած է շաքարի մնացորդին 5' դիրքում: 5' ծայրը համարվում է նուկլեինաթթվի մոլեկուլի սկիզբ, մինչդեռ վերջը 3' ծայրն է, որը ներկայացվում է վերջին ածխաջրածնային մնացորդի 3' ածխածնին միացած հիդրօքսիլ խմբով: Այսպիսով՝ նուկլեինաթթուներին բնորոշ է 5'-3' ուղղվածությունը: Ոչ կովալենտ կապերի առաջացմամբ նուկլեոտիդների շղթայական մոլեկուլները ոլորվում են և ծալվում, ինչի շնորհիվ ձեռք են բերում երրորդային տարածական կառուցվածք: Թեև ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի առաջնային կառուցվածքները շատ նման են, դրանց երրորդային կառուցվածքները միմյանցից խիստ տարբերվում են:

Մոլեկուլային կենսաբանության զարգացումը սկսվեց Ջեյմս Ուոտսոնի և Ֆրենսիս Կրիկի կողմից ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կառուցվածքի

բացահայտումից հետո: Ելնելով ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ռենտգենյան ճառագայթների դիֆրակցիայի պատկերից՝ գիտնականներն առաջարկեցին մոլեկուլի երկշրթա պարուրաձև կառուցվածքի մոդելը: Համաձայն այդ մոդելի՝ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կազմված է երկու հակազուգահեռ (5'-3' և 3' -5') պոլինուկլիոտիդային շղթաներից, որոնք, ոլորվելով երևակայական ուղղահայաց առանցքի շուրջը, 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: Ադենինը միշտ զուգավորվում է թիմինի հետ երկու ջրածնական կամրջակներով, իսկ գուանինը 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: Երկշրթա կառուցվածքն էլ ավելի է կայունացնում հիդրոֆոր և վանդերվալյան փոխազդեցությունների շնորհիվ: Խոշոր պուրինների և ավելի փոքր պիրիմիդինների կապն անվանում են Ուոտսոն-Կրիկի գույգ-հիմքեր:

Վերը նշված երկու պոլինուկլեոտիդային շղթաները, որոնց բոլոր նուկլեոտիդները կազմում են Ուոտսոն-Կրիկի գույգեր, կոչվում են **կոմպլեմենտար կամ փոխըացնող** (նկար 3): Տեսականորեն կարող են կազմվել նուկլեոտիդների ոչ սովորական գույգեր, որոնք հաճախ հանդիպում են արհեստականորեն սինթեզված ԴՆԹ-ների մոլեկուլներում: Թեպետ ԴՆԹ-ում Գ-Թ և Յ-Թ գույգեր չեն պարունակվում միաշրթա ՌՆԹ-ների այն տեղամասերում, որտեղ մոլեկուլը ծալվում և առաջացնում է կրկնակի պարույր, բավականին հաճախ հանդիպում են Գ-Ու գույգեր:

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

քը կոչվում է ԴՆԹ-ի B-ձև, և այն բնորոշ է գրեթե բոլոր բջջային ԴՆԹ-ներին: Հակազուգահեռ պոլիմուկլեոտիդային շղթաների երկ-պարույրին հատուկ են տարբեր մեծության ակոսներ՝ մեծ և փոքր (նկար 4Ա): Որոշ կարճ, կրկնվող Գ-Ց հաջորդականություններից կազմված ԴՆԹ-ի մոլեկուլների պարուրումը կարող է լինել ձախա-կողմյան: Այս ձևը կոչվում է ԴՆԹ-ի Z ձև, քանի որ կողքից մոլեկուլն ունի զիգզագի տեսք: Ենթադրվում է, որ բջիջներում ԴՆԹ-ն կարող է հանդես գալ նաև Z ձևով, թեև նման մոլեկուլների ֆունկցիան և կեն-սաբանական դերը պարզաբանված չեն: ԴՆԹ-ի B ձևը փոխվում է A ձևի չոր միջավայրում: ՌՆԹ-ԴՆԹ և ՌՆԹ-ՌՆԹ երկպարույրները թե՛ բջջում, թե՛ in vitro (օրգանիզմից դուրս) արհեստական պայման-ներում հանդես են գալիս A ձևով (նկար 4): Սինթետիկ ԴՆԹ-ի մոլե-կուլները 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):

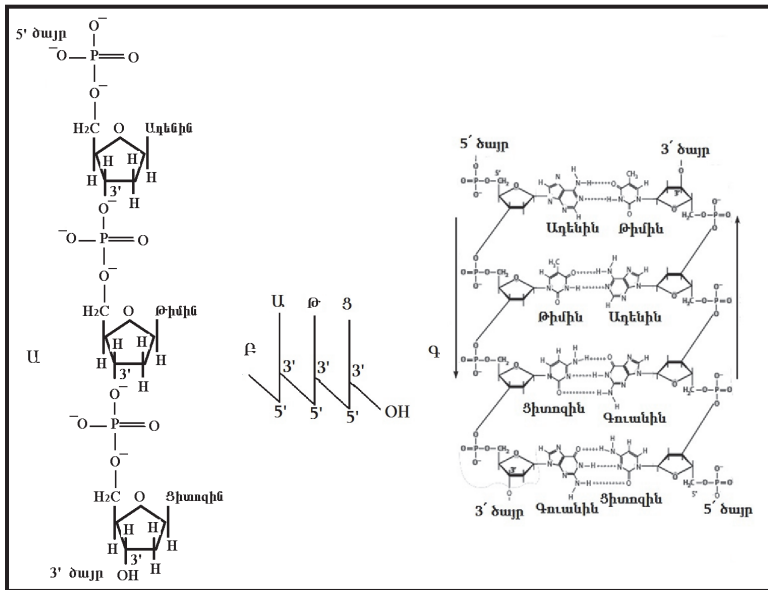
Թեև ԴՆԹ-ի երկշղթա մոլեկուլում գործում են բազմաթիվ ջրած-նական կապեր, հիդրոֆոր և վանդերվալսյան փոխազդեցություններ, երկպարույրը մեծ ճկունություն է դրսևորում: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ճկու-նությունը պայմանավորված է նրանով, որ ԴՆԹ-ում ջրածնական կապերը դասավորված են ոչ թե մոլեկուլի երկայնակի առանցքին զուգահեռ, այլ դրան ուղղահայաց: Նման դասավորության շնորհիվ սպիտակուցների հետ կապվելուց հետո ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարողա-նում է կքվել և կորանալ (նկար 5Բ): Կորանալու, կքվելու հատկությու-նը ապահովում է ԴՆԹ-ի դինամիկ փոփոխվող փաթեթավորումը քրոմատինում:

Բջջի կենսագործունեության որոշակի պահերին (բջջի բաժա-նում, տրանսկրիպցիա, ԴՆԹ-ի վնասվածքների վերականգնում) անհրաժեշտություն է ծագում տարանջատելու և միմյանցից հեռաց-նելու ԴՆԹ-ի շղթաները: Բոլոր նշված գործընթացներն իրականաց-վում են բարդ սպիտակուցային համալիրների կողմից, որոնք կղի-տարկվեն հետագա շարադրանքի ընթացքում:

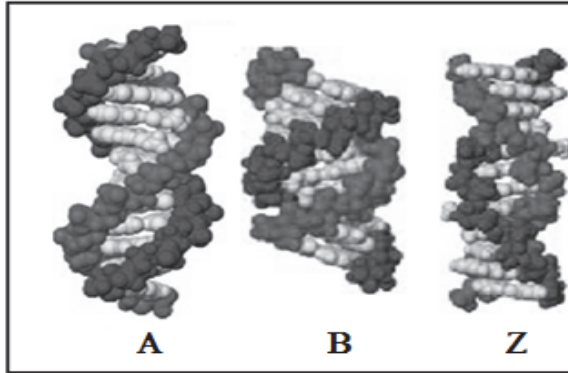
ԴՆԹ-ի շղթաների ապապարուրման և միմյանցից տարածապես հե-ռացման գործընթացն in vitro պայմաններում կոչվում է ԴՆԹ-ի բնա-

փոխում կամ «հալում»: Քանի որ ԴՆԹ-ի երկու շղթաների միասնությոնն ապահովում են բազմաթիվ ջրածնական կապերը, հիդրոֆոր և վանդերվալսյան փոխազդեցությունները, ակնհայտ է, որ ցանկացած ներգործություն, որն ազդում է այդ թույլ կապերի վրա, կարող է հանգեցնել շղթաների առանձնացման: Երբ տաքացնում են ԴՆԹ-ի «լուծույթը» (լինելով բարձրապոլիմերային մոլեկուլ՝ ԴՆԹ-ն չի կարող առաջացնել իսկական լուծույթներ), ատոմների ջերմային շարժման ուժգնացման հետևանքով քայքայվում են երկշղթան կառուցվածքը բոլոր թույլ, ոչ կովալենտ կապերը: Հալման ջերմաստիճանի (Tm) մոտակայքում նույնիսկ ջերմաստիճանի չնչին փոփոխությունը հանգեցնում է թույլ կապերի միանվագ խախտմանը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ողջ երկայնքով: ԴՆԹ-ի շղթաների փոխադարձ կապի ուժգնությունը կախված է մասն 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 փոքրանում է, էկրանավորումը թուլանում է, և բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային մնացորդների փոխադարձ վանումն ուժեղանում է: Վանող ուժերի գերակայման հետևանքով ԴՆԹ-ի շղթաները հեռանում են, և մոլեկուլի հալման ջերմաստիճանը (Tm-ը) նվազում է: Զիմիական այն նյութերը, որոնք քայքայում են ջրածնական կապերը (ֆորմամիդ, միզանյութ), նույնպես իջեցնում են Tm-ը: Հալման ջերմաստիճանի վրա ազդում է մասն 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 լուծույթում ընդունում են անկանոն կծիկի ձև: Իջեցնելով ԴՆԹ-ի լուծույթի ջերմաստիճանը և մեծացնելով կատիոնների պարունակությունը չեզոք pH-ում՝ կարելի է վերամիավորել կոմպլեքսնատար շղթաները և վերականգնել ԴՆԹ-ի մոլեկուլի երկպարույր կառուցվածքը: ԴՆԹ-ի բնափոխումն ու վերականգնումը ընկած են ժամանակակից մոլեկուլային կենսաբանության ամենահզոր մեթոդական մոտեցումների

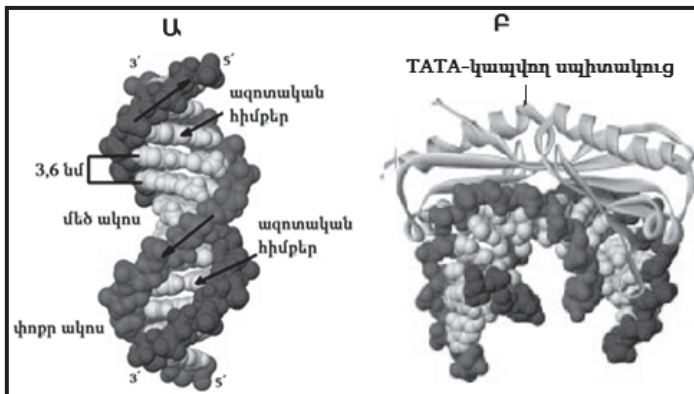
հիմքում: Դրանցից է **հիբրիդացման** մեթոդը, որը թույլ է տալիս նույնականացնել կամ համեմատել տարբեր ԴՆԹ-ների նմուշներ, հայտնաբերել և խառնուրդից անջատել ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի որոշակի հատվածներ: Նուկլեինաթթուների հիբրիդացման մեթոդը դարձավ այն հարթակը, որից սկսվեց մոլեկուլային կենսաբանության կտրուկ վերելքը:



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

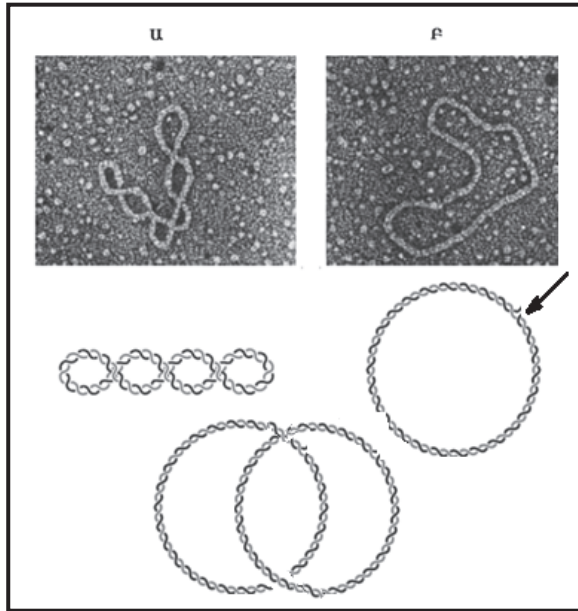


Նկար 4. ԴՆԹ երկպարույրի տարածական ձևերը: Բջիջներում ԴՆԹ-ի մոլեկուլը հիմնականում ներկայացված է B ձևով, իսկ A ձևը հատուկ է ցածր խոնավության պայմաններում գտնվող ԴՆԹ մոլեկուլին: Z ձևին բնորոշ է յուրահատուկ ձախակողմյան պարուրում, կենսաբանական ֆունկցիան պարզաբանված չէ, կարող է լինել բջիջներում խիստ սահմանափակ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



Նկար 5. Երկշղթա ԴՆԹ մոլեկուլի բիմիական կառուցվածքը: Սլաքներով 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 կքում է (կորացնում է) ԴՆԹ-ի մոլեկուլը (Բ):

Էուկարիոտների բջջակորիզներում ԴՆԹ-ն ներկայացված է գծային մոլեկուլների տեսքով: Սակայն միտոքոնդրիումներում և բուսական բջիջների պլաստիդներում պարունակվող ԴՆԹ-ների մոլեկուլներն **օղակաձև** են: Ինչպես պարզվեց, օղակաձև են նաև որոշ միաբջիջ էուկարիոտների, պրոկարիոտների և բազմաթիվ վիրուսների ԴՆԹ-ների մոլեկուլները: Ազատ ծայրերի բացակայությունն (օղակաձև կառուցվածքում) ունի կարևոր հետևանք: Յանկացած տեղային ապապարուրում ԴՆԹ-ի օղակաձև մոլեկուլում առաջացնում է պտուտային լարվածություն, ինչի հետևանքով այն ենթարկվում է լրացուցիչ ոլորման՝ իր իսկ շուրջն առաջացնելով գերպարույր: Այս երևույթը մեծ դեր է խաղում նաև էուկարիոտների կորիզային ԴՆԹ-ի փաթեթավորման գործընթացում: Բջջակորիզային ԴՆԹ-ն մուկլեոպլազմում ազատ չի լողում և մոլեկուլի որոշակի հատվածներով միացած է կորիզային մատրիքսի (բջջակորիզի կմախք) թելիկներին և քրոմոսոմների սպիտակուցային հենքին: Դրա հետևանքով **էուկարիոտների ԴՆԹ-ն առաջացնում է օղակաձև կառուցվածքներ, որոնք գերպարուրվում 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՝ տոպոիզոմերազ I-ը և II-ը: Տոպոիզոմերազ I-ը կապվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլին և ճեղքում է շղթայի շաքարաֆոսֆատային հենքի ֆոսֆոդիեթերային կապերից մեկը՝ վերացնելով պտուտային լարվածությունը: Նման կտրվածքը կոչվում է «**նիք**»: Տոպոիզոմերազ II-ն առաջացնում է կտրվածք միաժամանակ ԴՆԹ-ի երկու շղթաներում, այնուհետև ֆերմենտն այնպես է շրջում շղթաները, որ փոխվում է երկպարույրի պտույտի ուղղությունը (աջակողմյանից դառնում է ձախակողմյան): Այս հատկությունների շնորհիվ տոպոիզոմերազ II-ը կարող է ԴՆԹ-ի երկու օղակներ միմյանց միացնել կամ անջատել: Պտուտային լարվածությունը (տորգիոն լարվածություն) վերացնելուց հետո տոպոիզոմերազները միացնում են ԴՆԹ-ի շղթաների կտրված ծայրերը և վերականգնում մոլեկուլի ամբողջականությունը (նկար 6):



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

1.2. Միտոքոնդրիումային և պլաստիդային ԴՆԹ-ներ

Բջջային ԴՆԹ-ի հիմնական զանգվածը կենտրոնացած է բջջակորիզում: Շատ ավելի փոքր մասը գտնվում է կենդանիների, բույսերի և սնկերի միտոքոնդրիումներում և բույսերի պլաստիդներում: Համաձայն իշխող տեսակետի՝ վերոհիշյալ օրգանելները հայտնվել են բջջում էվոլյուցիայի վաղ փուլերում որպես էնդոզեն սիմբիոնտներ: Ենթադրվում է, որ դրանք ազատ վիճակում եղել են սեփական օղակաձև ԴՆԹ ունեցող բակտերիաներ: Էվոլյուցիայի ընթացքում տեղեկատվության մի մասն այդ ԴՆԹ-ներից տեղափոխվել է տերբջջի բջջակորիզ: Ժամանակակից բջիջների միտոքոնդրիումների և պլաստիդների ԴՆԹ-ն պարունակում է օրգանելներին մենահատուկ

սպիտակուցները գաղտնագրող գեներ, ինչպես նաև վերջիններիս սինթեզն ապահովող ռիբոսոմային և փոխադրիչ ՌՆԹ-ներ: Այսպիսով՝ էուկարիոտներին հատուկ է **երկու գենետիկական համակարգերի առկայություն՝ գերիշխող կորիզային համակարգ և լրացուցիչ համակարգ՝ ի դեմս միտոքոնդրիումների և պլաստիդների 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 մոլեկուլ 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՛ միտոքոնդրիումների թիվը, թե՛ դրանցում պարունակվող ԴՆԹ-ի մոլեկուլների թիվը զանազան տիպի բջիջներում կարող են տարբեր լինել:

Կաթնասունների մոտ և բազմաբջիջ այլ օրգանիզմներում սպերմատոզոիդները 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 էգ ծնողից և միայն 0,01 %-ը՝ արուից: Բարձրակարգ բույսերի մոտ մ-ԴՆԹ-ի ժառանգումը տեղի է ունենում քաջառապես մայրական օրգանիզմից (ձվաբջջով):

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

Միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ները տարբերվում են չափերով և գաղտնագրված սպիտակուցների թվով: Չամազան օրգանիզմների մոտ կարող է տարբերվել անգամ դրանց գենետիկական կոդը: Մարդկային մ-ԴՆԹ-ն ամենափոքրն է հայտնի մ-ԴՆԹ-ներից և կազմված է **16 569 գույզ մուկլեոտիդներից**: Այն գաղտնագրում է միտոքոնդրիումների ռիբոսոմների ռ-ՌՆԹ-ներն ու 22 փոխադրիչ ՌՆԹ-ներ, որոնք անհրաժեշտ են միտոքոնդրիումների ի-ՌՆԹ-ների տրանսլյացիայի համար: Ի հակադրություն բջջակորիզային ԴՆԹ-ի՝ **կաթնասունների մ-ԴՆԹ-ն գուրկ է ինտրոններից** (գեների ներքին հատվածներ, որոնք ամինաթթուներ չեն կոդավորում): Բույսերի մ-ԴՆԹ-ները շատ ավելի մեծ են, քան մնացած բազմաբջիջ օրգանիզմների մ-ԴՆԹ-ները: Անգամ մեկ բուսական ընտանիքի ներկայացուցիչների մ-ԴՆԹ-ները կարող են շատ տարբեր չափեր ունենալ: Օրինակ՝ ձմերուկի մ-ԴՆԹ-ն կազմված է 330 հազար գույզ մուկլեոտիդներից (հզմ), իսկ սեխի մ-ԴՆԹ-ի մեծությունը հասնում է 2500 հզմ: Բուսական մ-ԴՆԹ-ը, ի տարբերություն կենդանական և սնկերի մ-ԴՆԹ-ների, պարունակում է կրկնվող մուկլեոտիդային 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 ՌՆԹ-տրանսկրիպտները (այն ՌՆԹ-ները, որոնք արտատպվել են ԴՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի ընթացքում) մնում են միտոքոնդրիումներում, իսկ սպիտակուցները սինթեզվում են միտոքոնդրիումների ռիբոսոմներում: **Միտոքոնդրիումներում գտնվող ռիբոսոմների ՌՆԹ-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-ՌՆԹ-ները կոդավորվում են բացառապես **մ-ԴՆԹ-ներով**: Միտոքոնդրիումային ռիբոսոմների սպիտակուցային կազմը, չափերը և կայունությունը հակաբիոտիկների հանդեպ նման են բակտերիաների ռիբոսոմներին բնորոշ համապատասխան չա-

փանիշներին, ինչը սպասելի է՝ ելնելով օրգանելի էվոլյուցիոն ծագումից: Օրինակ՝ քլորամֆենիկոլը ճնշում է սպիտակուցի սինթեզը բակտերիաների և միտոքոնդրիումների ռիբոսոմներում, իսկ ցիկլոհեքսիմիդը՝ ոչ: Ֆիտոպլազմում գտնվող ռիբոսոմները, հակառակը, զգայուն են ցիկլոհեքսիմիդի և կայուն են քլորամֆենիկոլի նկատմամբ: Թերևս ամենասկսնառու տարբերությունը բջջակորիզային և մ-ԴՆԹ-ի միջև այն է, որ վերջինիս գենետիկական կոդը տարբերվում է պրոկարիոտների, էուկարիոտների և սնկերի համընդհանուր գենետիկական կոդից: Ավելին, մ-ԴՆԹ-ի գենետիկական կոդը տարբերվում է անգամ տարբեր կենսաբանական տեսակների մոտ: Այս տարբերությունների բուն պատճառը թերևս պարզաբանված չէ: Օրինակ՝ UGA հաջորդականությունը բույսերի միտոքոնդրիումներում «դադար» է ազդանշանում, իսկ մարդու և սնկերի միտոքոնդրիումներում այն կոդավորում է տրիպտոֆան ամինաթթուն: Կորիզային ԴՆԹ-ի AGA և AGG հաջորդականությունները կոդավորում են արգինինը սնկերի և բույսերի միտոքոնդրիումներում, իսկ կաթնասունների մ-ԴՆԹ-ում հանդես են գալիս որպես «դադարի» ազդանշան, պտղաճանճ *Drosophila*-ի մոտ կոդավորում են սերին ամինաթթուն:

Տարբեր գործոնների ազդեցությունից հետո (իոնիզացնող ճառագայթահարում, ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների և քիմիական նյութերի ներգործություն և այլն) մ-ԴՆԹ-ն ենթարկվում է մուտացիաների: Սակայն ի տարբերություն բջջակորիզային ԴՆԹ-ի՝ մուտացիաները կարող են շոշափել ոչ բոլոր միտոքոնդրիումների ԴՆԹ-ն, և որոշ օրգանիզմների մ-ԴՆԹ-ները կարող են մուտացիայի չենթարկվել (պահպանվում է, այսպես կոչված, «վայրի տիպի» մ-ԴՆԹ-ն): Նման իրավիճակը կոչվում է **հետերոպլազմիա**: Յուրաքանչյուր դուստր բջիջ միտոզից հետո ստանում է գրեթե հավասար քանակությամբ միտոքոնդրիումներ: Ամեն անգամ, երբ բջիջը բաժանվում է, տեղի է ունենում մուտացիա և վայրի տիպի մ-ԴՆԹ-ներ կրող միտոքոնդրիումների պատահական բաշխում դուստր 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):

Միտոքոնդրիումային ԴՆԹ-ի կազմի մեջ մտնող NADH-CoQ ռեդուկտազի 4-րդ ենթամիավորը կոդավորող գենի մուտացիայի պատճառով խախտվում է տեսողական կենտրոնի նեյրոնների էներգետիկ փոխանակությունը, և տեսողական նյարդը հետաճ է ապրում: Տեսողական նյարդի հետաճի 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 Կիռն-Սայրեի ախտանիշը, որը բնորոշվում է կենտրոնական նյարդային համակարգի դեգեներատիվ փոփոխություններով և անկանոն սրտային ռիթմով: Մուտացիաները կարող են շոշափել նաև միտոքոնդրիումների փոխադրիչ ՌՆԹ-ները կոդավորող մ-ԴՆԹ-ի հատվածները: Եթե վնասվում է մ-ԴՆԹ-ի այն հատվածը, որը կոդավորում է լիզինը տեղափոխող փ-ՌՆԹ-ի TΨCG շրջանը, միտոքոնդրիումներում խախտվում է սպիտակուցների սինթեզը: Դրա հետևանքով զարգանում է մկանաթելերի «մաշվածության» ախտանիշը, որը դրսևորվում է հիվանդի անկանոն և կտրուկ շարժումներով:

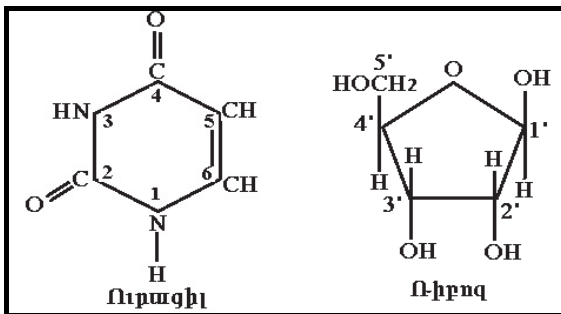
1.3. Բջջային ՌՆԹ-ների տիպերը

ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվության վերծանման վերջնանյութը միշտ չէ, որ սպիտակուց է, այն կարող է լինել ՌՆԹ-ի մոլեկուլ: Բջջային ՌՆԹ-ների թվին են պատկանում **տեղեկատվական կամ միջնորդ ՌՆԹ-ները, ռիբոսոմային ՌՆԹ-ները, փոխադրիչ ՌՆԹ-ները** և տարաբնույթ **ՌՆԹ-ներ, որոնք ակտիվորեն մասնակցում են սպիտակուցների սինթեզի կարգավորման գործընթացներին (տրանսկրիպցիայի ակտիվություն, տրանսլյացիա):**

ՌՆԹ-ների մոլեկուլների քիմիական կառուցվածքը շատ մման է ԴՆԹ-ների մոլեկուլների կառուցվածքին: Ինչպես ԴՆԹ-ները, ՌՆԹ-ները ևս պոլիմերներ են, որոնք կազմված են նուկլեոտիդային

միավորներից: Ռ-ՆԹ-ների ազոտական հիմքերը միանում են շաքարային մնացորդների միջև գործող ֆոսֆորիլեթերային կապով: Դ-ՆԹ-ի և Ռ-ՆԹ-ի կառուցվածքների միջև գոյություն ունեն սկզբունքային տարբերություններ:

1. Ռ-ՆԹ-ի կառուցվածքում շաքարի մնացորդը ռիբոզն է, իսկ ազոտական հիմք թիմինի փոխարեն հանդես է գալիս ուրացիլը (նկար 7):
2. Ռ-ՆԹ-ների և Դ-ՆԹ-ի երկրորդային և երրորդային կառուցվածքներն էապես տարբերվում են:
3. Ռիբոզի 2' դիրքում գտնվող ագխածնի հետ կապված հիդրօքսիլ խումբը **քիմիապես ակտիվ է, ինչի շնորհիվ որոշ Ռ-ՆԹ-ներ կարող են կատարել կատալիտիկ ֆունկցիաներ**: Բացի դրանից՝ հիդրօքսիլ խմբի առկայության հետևանքով Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլը, ի տարբերություն Դ-ՆԹ-ի, հիմնային միջավայրում հեշտությամբ հիդրոլիզվում է՝ քայքայվելով մինչև մոնոնուկլեոտիդներ:



Նկար 7. Ռ-ՆԹ-ի բաղադրության մեջ մտնող ազոտական հիմք ուրացիլի և շաքարի՝ ռիբոզի քիմիական կառուցվածքը:

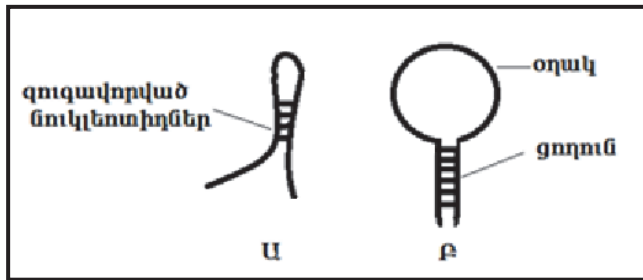
Ռ-ՆԹ-ի պոլինուկլեոտիդային շղթաները կարող են առաջացնել Ռ-ՆԹ-Դ-ՆԹ երկշղթա հիբրիդային մոլեկուլներ, որոնցում մի շղթան պատկանում է Ռ-ՆԹ-ին, իսկ մյուսը՝ Դ-ՆԹ-ին: Բջջային Ռ-ՆԹ-ները հիմնականում միաշղթա են, սակայն մոլեկուլի ճկունությունը թույլ է տալիս առաջացնել բազմազան տարածական ձևեր, և Ռ-ՆԹ-ների

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

ՌՆԹ-ի ամենապարզ երկրորդային կառուցվածքը «ծամկալն» է (նկար 8): Ծամկալը առաջանում է, երբ 5-10 նուկլեոտիդ երկարությամբ ՌՆԹ-ի մոլեկուլի հատվածների ազոտական հիմքերը զուգավորվում են կոմպլեմենտարության սկզբունքով: Երբ 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 համադրված կառույցներ, որոնք արդեն դասվում են ՌՆԹ-ի երրորդային կառուցվածքին:

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

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



Նկար 8. ՌՆԹ-ի պոլիմուկլեռտիղային պոլիմերային շղթաների երկրորդային կառուցվածքների հիմնական ձևերը:
Ա) ծամկալ, Բ) օղակ-ցողուն:

Որոշ ռիբոզիմներ գործում են տրանսկրիպցիայի «սալլալսինգ» կոչվող գործառնություն, որտեղ նախ կտրում են նորաստեղծ ի-ՌՆԹ-ի միջանկյալ հատվածները, ապա միացնում են հատվածների կտրված եզրերը՝ վերականգնելով մոլեկուլի ամբողջականությունը:

Բջջային ՌՆԹ-ները բաժանվում են երկու հիմնական խմբերի՝ սպիտակուց կոդավորող և սպիտակուց չկոդավորող: Վերը նկարագրված ՌՆԹ-ներից միայն ի-ՌՆԹ-ն է սպիտակուց կոդավորում, իսկ փ-ՌՆԹ-ները և ռ-ՌՆԹ-ները թեև անհրաժեշտ են սպիտակուցի սինթեզի համար, բայց դասվում են սպիտակուց չկոդավորող կամ պարզապես չկոդավորող ՌՆԹ-ների խմբին:

Ի-ՌՆԹ-ներին (տեղեկատվական ՌՆԹ) հատուկ 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-ՌՆԹ-ներում և կոչված են ապահովել մոլեկուլի կայունությունը՝ պաշտպանելով դրա ծայրերը էկզոնուկլեազների քայքայիչ ներգործությունից:

Փ-ՌՆԹ-ներ (փոխադրիչ ՌՆԹ-ներ): Փոխադրիչ ՌՆԹ-ները հատուկ դեր են կատարում սպիտակուցի սինթեզի ժամանակ՝ թարգմանելով ի-ՌՆԹ-ի մուկլեռտիղային գաղտնագիրը (մուկլեինաթթուների մուկլեռտիղների լեզվից) համապատասխան ամինաթթվային

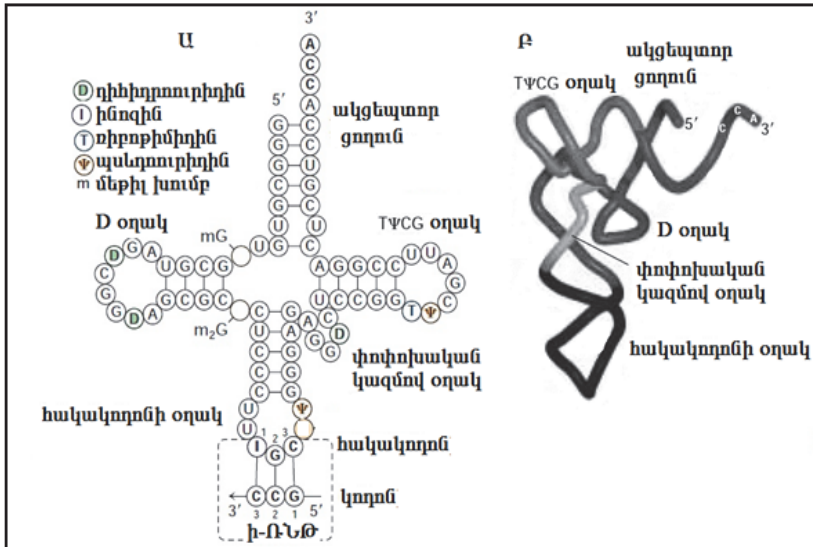
հաջորդականությունների (սպիտակուցների ամինաթթվային լեզվի): Յուրաքանչյուր ամինաթթվին համապատասխանում է փ-Ռ-ՆԹ-ների խումբ, որոնք միանում են ամինաթթվին և փոխադրում այն դեպի պոլիպեպտիդային շղթայի աճող ծայրը: Ի-Ռ-ՆԹ-ի գաղտնագրին (երեք նուկլեոտիդներ-**կոդոն**) համապատասխանող ամինաթթվին միացած փ-Ռ-ՆԹ-ն ընտրվում է համաձայն փ-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլում գտնվող **հակակոդոնի**: Այն ներկայացնում է ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնին կոմպլեմենտար երեք նուկլեոտիդներ, որոնք զուգավորվում են ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնի նուկլեոտիդների հետ:

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

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

1. Ի-ՌՆԹ-ի կողոնի փոփոխական (թրթռացող) դիրքում գտնվող երրորդ նուկլեոտիդը կարող է գուգավորվել չորս ոչ սովորական ձևերով: Շատ կարևոր են գուանին-ուրացիլ արտասովոր գույգերը:
2. Փ-ՌՆԹ-ի հակակողոնում «թրթռացող» դիրքում գտնվում է առաջին նուկլեոտիդը: Եթե այն ներկայացված է գուանինով, ապա կարող է գուգավորվել ի-ՌՆԹ-ի երկու տարբեր կողոնների հետ, որոնց թրթռացող դիրքում գտնվում է կամ ցիտոզինը կամ ուրացիլը:

Ֆենիլ ալանինը գաղտնագրող կողոններ ՌԻՌԻՑ-ն և ՌԻՌԻՌ-ն ճանաչվում են ԳԱԱ հակակողոն ունեցող փ-ՌՆԹ-ներով: Ադենինը հազվադեպ է գտնվում հակակողոնի փոփոխական (թրթռացող) դիրքում, սակայն բուսական և կենդանական շատ փ-ՌՆԹ-ներն այդ դիրքում կարող են ունենալ ինոզին, որը դեգամինացված ադենին է: Ինոզինը հեշտությամբ արտասովոր գույգեր է կազմում ադենինի, ցիտոզինի և ուրացիլի հետ, և հակակողոնի առաջին դիրքում գտնվող ինոզինը կարող է ճանաչել համապատասխան ի-ՌՆԹ-ների այն կողոնները, որոնք երրորդ դիրքում ունեն ադենին, ցիտոզին կամ ուրացիլ: Դրա հետևանքով ինոզին-պարունակող փ-ՌՆԹ-ները ակտիվորեն մասնակցում են այն ամինաթթուների տրանսլյացիային, որոնք ունեն հոմանիշ կողոններ: Օրինակ՝ լեյցինը կոդավորվում է վեց տարբեր կողոններով: Դրանցից չորսը՝ ՅՌԻԱ, ՅՌԻՑ, ՅՌԻՌ, ՌԻՌԱ, ճանաչվում են նույն փ-ՌՆԹ-ով, որը ունի 3'-ԳԱԻ-5' հակակողոնը:

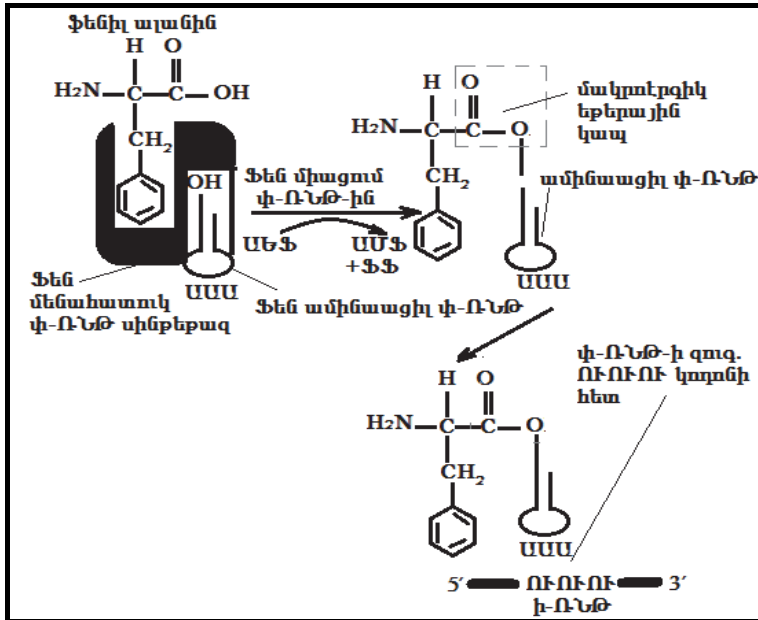


Նկար 9. Ա) փ-Ռ-ՆԹ երկչափ և Բ) եռաչափ պատկերները: Ցողունը կազմված է չորսական զուգավորված մուկլետոիդներից, օղակները երեքն են: Բոլոր փ-Ռ-ՆԹ-ների 3' ծայրը ներկայացված է CCA եռյակով: Որոշ մուկլետոիդներ քիմիապես ձևափոխված են (մոդիֆիկացված են):

Գիհիդրուրիդինը միշտ գտնվում է D օղակում, ռիբոքսինիդինը և պսևդուրիդինը՝ TΨCG օղակում:

Կողմն-հակակողմն զուգավորումը և համապատասխան ամինաթթվի ընտրությունն իրականում գենետիկական գաղտնագրի վերծանման առաջին քայլը չեն: Գենետիկական գաղտնագրի վերծանման առաջին քայլը մենահատուկ ամինաթթվի միացումն է համապատասխան փ-Ռ-ՆԹ-ին, որը խթանվում է ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ սինթեթազ ֆերմենտով: Գոյություն ունեն քսան տարբեր ամինաացիլ-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-ՆԹ-ի 3' ծայրի ադենոզինի 2-րդ կամ 3-րդ դիրքում գտնվող հիդրօքսիլ խմբին՝ ծախսելով ԱԵՖ-ի էներգիան: Ամինաթթուն անցնում է **ակտիվացած վիճակի**, քանի որ միանում է փ-Ռ-ՆԹ-ին մակրոտերզիկ

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



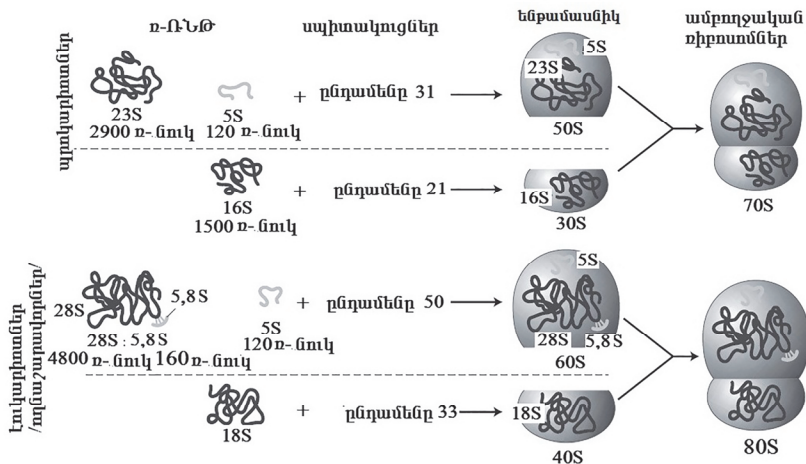
Նկար 10. Ամինասացիլ փ-Ռ-ՆԹ-ի առաջացումը ամինասացիլ փ-Ռ-ՆԹ սինթետազ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում:

Ուրբախյան ՌՆԹ (ո-ՌՆԹ) և ռիբոսոմներ: Պարզ քիմիական օրինաչափությունները չեն կարող ապահովել սպիտակուցների սինթեզի բարձր արդյունավետությունը բջիջներում: Յանկագած 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-ՌՆԹ-ների և ի-ՌՆԹ-ների քանակի ավելացումը բջջում ոչ միայն էներգետիկորեն արդյունավետ չէ, այլև անհամատեղելի է բջիջների կենսազորոնությունը:

համար պահանջվող պայմաններին: Էվոլյուցիայի 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 «**տրանսլյացիա**»: Տրանսլյացիայի ընթացքում ամինաթթվային մնացորդները պեպտիդային կապի միջոցով միանում են միմյանց՝ առաջացնելով պոլիպեպտիդային շղթա:

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

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



Նկար 11. Պրոկարիոտների և էուկարիոտների ռիբոսոմների կառուցվածքի գծապատկերներ:

Սվեդբերգի նստվածքագոյացման (սեդիմենտացման) միավորը ցենտրիֆուգման ժամանակ նյութի գծային շարժման արագության և արագացման հարաբերությունն է՝ $v/r\omega^2$: Ցենտրիֆուգման արագացումը հավասար է $r\omega^2$ -ի, r -ը պտույտի շառավիղն է, ω -ն՝ անկյունային արագացումը՝ ռադիան/րոպ: Սվեդբերգի միավորը՝ 1S-ը, ցույց է տալիս, որ ցենտրիֆուգման 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 $10^{-13} \times 50 \times 10^5 \text{ g} = 50 \times 10^{-8} \text{ մ}$: 10 սմ երկարություն ունեցող ցենտրիֆուգման անոթի հատակին նստվածք ձևավորելու համար 50S մասնիկները պետք է անցնեն $10 \text{ սմ} = 10^{-2} \text{ մ}$ հեռավորություն: Այդ հեռավորությունը 50S մասնիկը կանցնի $10^{-2} \text{ մ} / 50 \times 10^{-8} \text{ մ/վրկ} = 19\,800 \text{ վրկ} = 5,5 \text{ ժամ}$: Այսպիսով՝ **Սվեդբերգի միավորը հնարավորություն է տալիս հաշվարկելու խառնուրդից մասնիկի անջատման փորձարարական չափանիշները:**

Փոքր ռիբոսոմային 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 ռղնաշարավորների մոտ՝ ևս մեկ՝ 5,8 S ռ-ՌՆԹ մոլեկուլ: Բակտերիաների և էուկարիոտների ռիբոսոմները տարբերվում են ոչ միայն ռ-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների չափերով, այլև ենթամասնիկների կազմի մեջ մտնող սպիտակուցների քանակով: Այդ տարբերությունների շնորհիվ բակտերիաների ռիբոսոմները 70S չափսի են, իսկ էուկարիոտներինը՝ 80S: Սակայն շատ ավելի էական է բոլոր կենսաբանական տեսակների ռիբոսոմների գործունեության ընդհանրությունը: Անկախ մուկլեոտիդային հաջորդականությունների տարբերությունից՝ բոլոր տիպի ռ-ՌՆԹ-ների մուկլեոտիդները զուգավորվում են՝ առաջացնելով մույնատիպ օղակ-ցողուն կառուցվածքներ, որոնք և ձևավորում են տարբեր տեսակի օրգանիզմների ռիբոսոմների երրորդային կառուցվածքը: Ռիբոսոմների զանգվածի 60 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, որոնք արտաքինից պատված են սպիտակուցներով: Էուկարիոտների բջիջների ցիտոպլազմում կան միլիոնավոր ռիբոսոմներ: Ռիբոսոմների մեծ և փոքր ենթամասնիկները կազմավորվում են կորիզակում, ուր ռ-ՌՆԹ-ների սինթեզից և հասունացումից հետո դրանց միանում են ռիբոսոմային սպիտակուցները: **Ռիբոսոմային սպիտակուցները սինթեզվում են ցիտոպլազմում և տեղափոխվում են նախ կորիզ, ապա՝ դեպի կորիզակ:** Կորիզակում ձևավորված ռիբոսոմային ենթամասնիկները բջջակորիզի թաղանթային անցքուղիներով դուրս են գալիս ցիտոպլազմ, ուր ընթանում է սպիտակուցի սինթեզի կամ տրանսլյացիայի գործընթացը: Տրանսլյացիայի ընթացքում ռիբոսոմները սահում են ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի երկայնքով, և մուկլեոտիդային հաջորդականությունների ձևով պատճենագրված ժառանգական տեղեկատվությունը «թարգմանվում» է ամինաթթվային հաջորդականությունների: Բջջիջների կենսագործունեության հիմքում ընկած է սպիտակուցների կազմի մեջ գտնվող **ամինաթթուների** հերթականության խիստ համապատասխանությունը այն տեղեկատվությանը, որը գաղտնագրված է ԴՆԹ-ի մոլեկուլում **մուկլեոտիդային** հաջորդականությունների ձևաչափով:

Ռիբոսոմները՝ որպես ամբողջական օրգանելներ, ձևավորվում են միայն սպիտակուցի սինթեզի ժամանակ, երբ մեծ և փոքր ռիբոսոմային ենթամասնիկները միավորվում են՝ խմբվելով ի-Ռ-ՆԹ-ի 5' ծայրի շուրջը: Համալիրի կազմավորումից հետո ի-Ռ-ՆԹ-ն կարծես ներքաշվում է ռիբոսոմի մեջ, և սկսվում է պոլիպեպտիդային շղթային սինթեզը, որն ավարտվում է այն պահին, երբ ռիբոսոմը հասնում է դադարի կոդոնին: Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի դադարից հետո նորաստեղծ պոլիպեպտիդն ազատ է արձակվում ռիբոսոմից: Ռիբոսոմային ենթամասնիկները հեռանում են միմյանցից և կարող են խմբվել ի-Ռ-ՆԹ-ի նոր մոլեկուլի շուրջը:

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

Աղյուսակ 1.

Բջջային Ռ-ՆԹ-ների տիպեր	
Ռ-ՆԹ տիպ	Ֆունկցիա
Ի-Ռ-ՆԹ (mRNA)	Ինֆորմացիոն Ռ-ՆԹ-ներ – սպիտակուցների կողավորում (գաղտնագրում)
Ռ-Ռ-ՆԹ (rRNA)	Ռիբոսոմային Ռ-ՆԹ-ներ – ռիբոսոմի հիմնական կառուցվածքային միավոր

Փ-ՌՆԹ (tRNA)	Փոխադրիչ ՌՆԹ-ներ – փոխադրում են ամինաթթուները դեպի ռիբոսոմներ, սպիտակուցների սինթեզում կատարում են գլխավոր դերերից մեկը՝ միջնորդելով ի-ՌՆԹ-ի կոդի թարգմանությունը համապատասխան ամինաթթվի
Կ. կ. ՌՆԹ (snRNA)	Կորիզային կարճ ՌՆԹ-ներ – նախա-ի-ՌՆԹ-ի սպլայսինգ
Կ.կոր. ՌՆԹ (snoRNA)	Կորիզակային կարճ ՌՆԹ-ներ – ռ-ՌՆԹ-ի հասունացում և քիմիական ձևափոխություն
Միկ. ՌՆԹ (miRNA)	ՄիկրոՌՆԹ-ներ, կարգավորում են գեների էքսպրեսիան՝ կապվելով և ճնշելով ի-ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիան ցիտոպլազմում
Իմտ. կ. ՌՆԹ (siRNA)	Ինտերֆերենցվող կարճ ՌՆԹ-ներ, որոնք լեցնում են գեները՝ քայքայելով համապատասխան ի-ՌՆԹ-ները և կոմպենսավորելով (խտացնելով) քրոմատինը
Փի.ՌՆԹ (piRNA)	Փի-ՌՆԹ-ները փոխադրում են բնային բջիջների փի- սպիտակուցների հետ՝ պաշտպանելով բջիջներին տրանսպոզոններից
Զկող.երկ. ՌՆԹ (lncRNA)	Զկողավորող երկար ՌՆԹ-ներ – X քրոմոսոմի իմակտիվացում

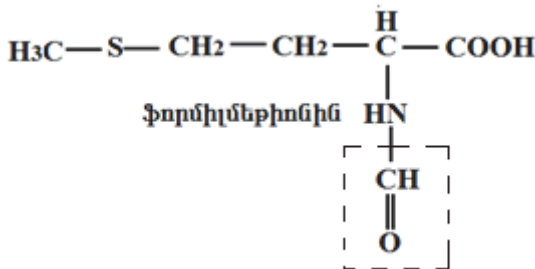
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Berger J., Wang J. C. (1996). Recent development in DNA topoisomerase II structure and mechanism. Curr. Opin. Struc.Biol. 6:84-90.
2. 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.
3. Lehninger A. Principles of Biochemistry (2017). Edition 6 by David L. Nelson, Michael M. Cox: Freeman, W. H. & Company.
4. Wigley D. B. (1995). Structure and mechanism of DNA topoisomerases. Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struc. 24:185-208.

ԳԼՈՒԽ 2

Տրանսլյացիա կամ սպիտակուցի սինթեզ

Բջջիջների 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 գործընթացներ՝ բջջակորիզային ԴՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվության արտատպումը ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների ձևաչափով (**տրանսկրիպցիա**) և ցիտոպլազմում ընթացող պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզը ռիբոսոմներում (**տրանսլյացիա**): Ամմիջականորեն տրանսկրիպցիայից հետո մինչ ցիտոպլազմ անցնելը էուկարիոտների ի-ՌՆԹ-ների (նախա-ի-ՌՆԹ-ների) մոլեկուլները **«հասունանում են»**: Բոլոր տիպերի նախա-ՌՆԹ-ների հասունացման գործընթացը կոչվում է **պրոցեսինգ**: Պրոցեսինգի ընթացքում նախա-ի-ՌՆԹ-ն ենթարկվում է մի շարք փոփոխությունների, որոնցից հետո մոլեկուլը կարճանում է, իսկ ծայրերը քիմիապես ձևափոխվում են: Սիայն հասունացած ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլները կարող են դուրս գալ բջջակորիզից ցիտոպլազմ: Ֆիտոպլազմում ռիբոսոմների, փ-ՌՆԹ-ների և ի-ՌՆԹ-ների համաձայնեցված գործողությունների շնորհիվ իրականացվում է սպիտակուցների սինթեզի երկրորդ գործընթացը՝ **տրանսլյացիան**:



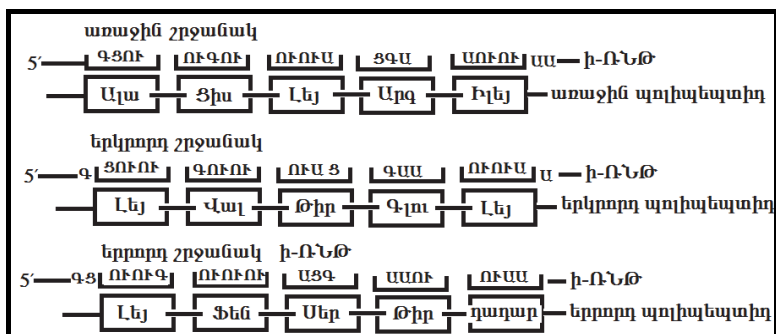
Սպիտակուցների գործունեությունը մեծապես պայմանավորվում է մոլեկուլների տարածական ձևով (կոնֆորմացիայով), որը կախված է ամինաթթուների հաջորդականությունից պոլիպեպտիդային շղթաներում: Թեև տրանսլյացիայի ընթացքում բջջում սինթեզվում են ահռելի բազմազանությամբ սպիտակուցներ, **բոլոր պոլիպեպտիդային շղթաների սինթեզը սկսվում է մեթիոնին ամինաթթվից:** Բակտերիաների մոտ առաջին մեթիոնինի ամինային խմբի ջրածինը տեղակալված է ֆորմիլ խմբով (ֆորմիլ-մեթիոնին): Որպես կանոն, առաջին ամինա-ծայրային մեթիոնինն ի-Ռ-ՆԹ-ում կոդավորվում է **ԱՌԳ** կոդոնով (եռյակով): Որոշ դեպքերում առաջնային եռյակն էուկարիոտների մոտ կարող է լինել ՅՌԳ: Բակտերիաների մոտ ի-Ռ-ՆԹ-ների առաջնային եռյակը ԳՌԳ-ն է: **ՌԿԱԱ, ՌԳԱ և ՌԿԱԳ եռյակները ամինաթթու չեն գաղտնագրում և այդ պատճառով ազդանշանում են պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտը (եզրափակող 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-Ռ-ՆԹ-ների ճնշող մեծամասնությունն ունի մեկ ընթերցման շրջանակ, սակայն հայտնի են մի քանի հազար սպիտակուցներ, որոնց ի-Ռ-ՆԹ-ներն ունեն այլընտրանքային ընթերցման շրջանակներ: Այս երևույթի հիմքում ընկած է **շրջանակի շեղումը:** Շրջանակի շեղումը կարող է պայմանավորված լինել երկու պատճառով:

1. Ամինաթթուն հազվադեպ գաղտնագրվում է ոչ թե երեք այլ չորս նուկլեոտիդներով, և հետագա եռյակների թարգմանությունը 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 թարգմանությունը մինչև դադարի կոդոնը (նկար 12):

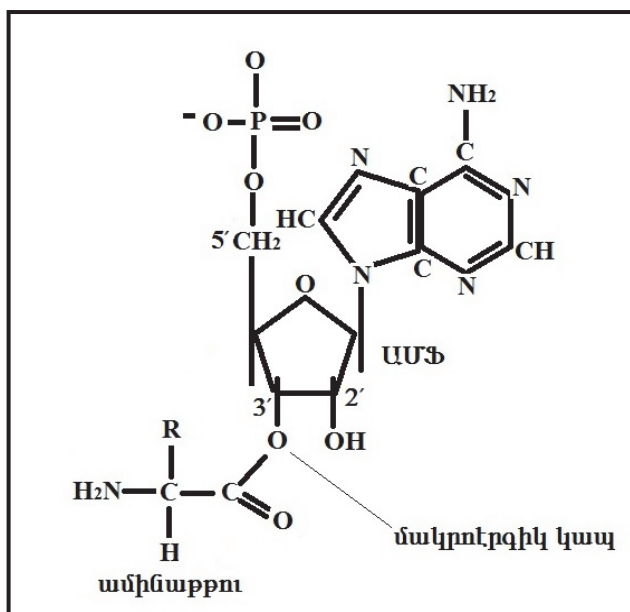
Այդուսակ 2-ում ներկայացված են ի-Ռ-ՆԹ-ների նուկլեոտիդային եռյակներին համապատասխանող ամինաթթուները: Հարկ է նշել, որ այս համապատասխանությունը պահպանվում է բոլոր օր-

գանձիզմների մոտ, ինչը հիմք է տալիս գենետիկական կոդը (Ժառանգական գաղտնագիրը) համարելու համընդհանուր կամ **ունիվերսալ**: Այնուամենայնիվ, ինչպես արդեն նշվել է, միտոքոնդրիումներում, միաբջջիչ ացետոբուլարիա բույսում և որոշ նախակենդանիների մոտ դիտվում են ժառանգական գաղտնագրի որոշ տարբերություններ: Աղյուսակի 2-ից հետևում է, որ այդպիսի շեղումները կապված են նրա հետ, որ դադարի եռյակներն ընթերցվում են որպես ամինաթթու: Հավանաբար, ժառանգական գաղտնագրի ունիվերսալության խախտումները զարգացել են էվոլյուցիայի ավելի ուշ փուլերում, երբ համընդհանուր գաղտնագիրն օրգանիզմների մեծամասնության մոտ արդեն ձևավորված էր:

Տրանսլացիայի ժամանակ ամինաթթուները տեղափոխվում են դեպի ռիբոսոմներ, որտեղ տեղի է ունենում պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզ փ-ՌՆԹ-ների մասնակցությամբ: **Ամինաթթուն կարող է մասնակցել պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզին միայն ակտիվացնալուց հետո, ինչն իրականացվում է ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ սինթետազ կոչվող ֆերմենտների միջոցով**: Քանի որ ամինաթթուն կարող է գաղտնագրվել ի-ՌՆԹ-ում մի քանի տարբեր եռյակներով (աղյուսակ 2), ապա մեկ ամինաթթվին կարող են համապատասխանել տարբեր հակակոդոններով փ-ՌՆԹ-ներ: Այսպիսով՝ մեկ ամինաթթուն կարող է կապվել տարբեր, բայց ամինաթթվին համապատասխան հակակոդոններ ունեցող փ-ՌՆԹ-ների հետ, և այդ պատճառով բջջներում գործում են 20 տարբեր ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ սինթետազներ: Ակտիվացման գործընթացը սկսվում է ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ սինթետազի կողմից ամինաթթվի ադենիլացումից (նկար 10), որի ժամանակ օգտագործվում է ԱԵՖ-ի էներգիան: Ադենիլացումից հետո ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում կապված ամինաթթուն միանում է ԱՄՖ-ին (նկար 13):



Նկար 12. Ընթերցման շրջանակի շղման տարբերակներ:



Նկար 13. Ադենիլացված ամինաթթու:

*Աղյուսակ 2. Ի-Ռ-ՆԹ-ի նուկլեոտիդային եռյակները և դրանց
համապատասխանող ամինաթթուները*

Առաջին դիրք 5' ծայր	Երկրորդ դիրք				Երրորդ դիրք 3' ծայր
	ՈՒ	Ց	Ա	Գ	
ՈՒ	Ֆեն	Մեր	Թիր	Ցխ	ՈՒ
	Ֆեն	Մեր	Թիր	Ցխ	Ց
	Լեյ	Մեր	դադար	դադար	Ա
	Լեյ	Մեր	դադար	Տրիպ	Գ
Ց	Լեյ	Պրո	Հխ	Արգ	ՈՒ
	Լեյ	Պրո	Հխ	Արգ	Ց
	Լեյ	Պրո	Գլի	Արգ	Ա
	Լեյ*Մեթ	Պրո	Գլի	Արգ	Գ
Ա	Իզովեյ	Տրե	Ասպ	Մեր	ՈՒ
	Իզովեյ	Տրե	Ասպ	Մեր	Ց
	Իզովեյ	Տրե	Լիզ	Արգ	Ա
	Մեթ/սկիզբ	Տրե	Լիզ	Արգ	Գ
Գ	Վալ	Ալա	Ասպ	Գլի	ՈՒ
	Վալ	Ալա	Ասպ	Գլի	Ց
	Վալ	Ալա	Գլու	Գլի	Ա
	Վալ/Մեթ*	Ալա	Գլու	Գլի	Գ

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

Ժառանգական գաղտնագրի 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 գործընթացներում հանգեցնում է պոլիպեպտիդային շղթայի առաջնային կառուցվածքի փոփոխության,

ինչը կարող է ճակատագրական լինել սպիտակուցի գործունեության համար: Այդ իսկ պատճառով էվոլյուցիայի ընթացքում մշակվել է մեխանիզմ, որն ուղղված է տրանսլյացիայի ժամանակ առաջացած «սխալների սրբագրմանը»: Մնալով միացած փ-ՌՆԹ-ամինաացիլ սինթետազի հետ՝ ամինաթթվի ԱՄՖ-ին կապված կարբօքսիլ խումբը տեղափոխվում է փ-ՌՆԹ-ի ծայրային մնացորդի 3' հիդրօքսիլ խմբի վրա (նկար 14): **Սինթետազներն ընտրում են հակակոդոնին համապատասխանող «ճիշտ» ամինաթթուն** երկաստիճան կարգավորիչ մեխանիզմի շնորհիվ: Այդ մեխանիզմը գործում է նրա շնորհիվ, որ ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ սինթետազներն ունեն ոչ միայն ամինաթթվի կապման, այլև «սրբագրման» կայք:

Հակակոդոնին համապատասխանող ամինաթթվի ընտրության **առաջին փուլը** հետևյալն է: «Ճիշտ» ամինաթթուն **օժտված է ամենամեծ մենահատուկ խնամակցությամբ սինթետազի ակտիվ կենտրոնի հանդեպ:** Եթե ամինաթթուն մեծ է սինթետազի ակտիվ կենտրոնից, այն պարզապես չի կապվի վերջինիս հետ, և ֆերմենտը չի կատալիզի ամինաթթվի կապման ռեակցիան փ-ՌՆԹ-ի հետ: Այն դեպքերում, երբ ամինաթթուների չափերն ու կառուցվածքները շատ մոտ են, օրինակ՝ վալինը և իզոլեյցինը (տարբերվում են մեկ մեթիլ խմբով), սկսում է գործել «սխալների սրբագրման» մեխանիզմի երկրորդ լծակը: Նրանից հետո, երբ ամինաթթուն կովալենտ կապվում է ԱՄՖ-ին, և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին է մոտենում փ-ՌՆԹ-ն, սինթետազը ջանում է դուրս մղել ադենիլացված ամինաթթուն կապման կայքից դեպի երկրորդ՝ «սրբագրման» կայքը: «Սխալ» ամինաթթուն, անգամ եթե այն հասցրել է կապվել փ-ՌՆԹ-ին՝ ունենալով ավելի թույլ խնամակցություն սինթետիկ կենտրոնին, դուրս է մղվում վերջինիցս և ուղղվում է դեպի «սրբագրման» 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 սինթետիկ կենտրոնի հանդեպ, դուրս չի մղվում, ինչը թույլ է տալիս ավարտին հասցնել ամինաթթվի ակտիվացման գործընթացը (նկար 15): «Սխալների սրբագրման» մեխանիզմը շատ արդյունավետ է, և, օրինակ, *E.coli* աղիքային ցուպիկի մոտ սխալ

2.1.Տրանսլացիայի փուլերը: Մեկնարկ

Տրանսլացիայի առաջին փուլում մեծ և փոքր ռիբոսոմային ենթամասնիկները խմբվում են ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջը՝ պարփակելով այն երկու կոմից: Տրանսլացիայի բազմափուլ գործընթացի անխափան ընթացքն ապահովում են A (ամինաթթվային կենտրոն), P (պեպտիդային կենտրոն) և E (ելքի կայք) կայքերը, որոնք գտնվում են ռիբոսոմի ենթամասնիկների միացման մակերևույթի կենտրոնական շրջանում: Համապատասխան ամինաթթուներին կոմպլեմետ կապված ամինաազիլ-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 լքում է ռիբոսոմը: Փ-Ռ-ՆԹ-ները կարող են կապվել ռիբոսոմի A և P կայքերին միայն այն դեպքում, երբ դրանց հակակոդոնները կոմպլեմենտար են տվյալ պահին փոքր ռիբոսոմային ենթամասնիկի միջով ձգվող ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոններին:

Ինչպես արդեն նշվել է, ցանկացած պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի սկիզբն ազդանշանում է AUG կոդոնը, որը գաղտնագրում է մեթիոնին ամինաթթուն: Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի մեկնարկի ճիշտ դիրքը որոշիչ 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 մեթիոնին ամինաթթվին համապատասխանում են երկու փ-Ռ-ՆԹ-ներ՝ **մեկնարկային մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկն}** և **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն**, որն ապահովում է մեթիոնինի միացումը պոլիպեպտիդային շղթային սինթեզի ընթացքում: Թե՛ մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկն}-ն, թե՛ մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն սինթեզվում են նույն ամինաազիլ փ-Ռ-ՆԹ սինթետազով, սակայն **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկն}**-ը կարող է միանալ միայն ռիբոսոմի P կայքին: Երկրորդը՝ **մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ն**, ինչպես և այլ ամինաազիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ները, կարող են միանալ ռիբոսոմի միայն A կայքին:

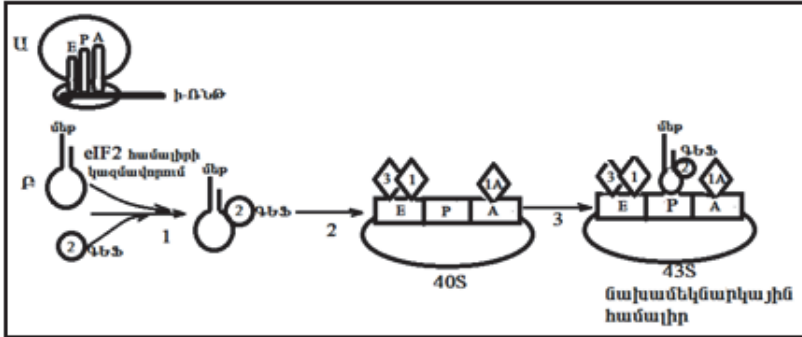
Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզը, ինչպես նշվել է, սկսում է **մեկնարկային մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկն}**-ի միացումից P կայքին ի-Ռ-ՆԹ-ի մեկնարկային ԱՌԴԳ կոդոնի դիմաց: A կայքին միացած ամինաա-

ցիլ-փ-ՌՆԹ-ն տեղափոխում է իր հետ կոմպլեքս կապված ամինա-
թթուն P կայք, որտեղ առաջանում է պեպտիդային կապ նորանուս
ամինաթթվի և մեկնարկային մեթ-փ-ՌՆԹ^{մեկն}-ի միջև: Պոլիպեպտի-
դային շղթան երկարում է այնքան, մինչև ռիբոսոմը հասնում է
ի-ՌՆԹ-ի ավարտի կոդոնին, որից հետո հետո պոլիպեպտիդային
շղթան տեղափոխվում է ելքի կայք (E) և լքում ռիբոսոմը:

Էուկարիոտների մոտ այս գործընթացի բնականոն ընթացքն
ապահովում են հատուկ սպիտակուցներ, որոնք անվանվում են **էու-
կարիոտների տրանսլյացիայի մեկնարկման գործոններ (eIF-
eukaryotic translation initiation factors)**: Մինչ տրանսլյացիայի սկիզբը
ռիբոսոմների փոքր և մեծ ենթամասնիկները միացած չեն, քանի որ
դրան խանգարում են փոքր ենթամասնիկին կապված **eIF1, eIF1A և
eIF3 տրանսլյացիայի մեկնարկման գործոնները**:

Տրանսլյացիայի առաջին փուլը **43S նախամեկնարկային** հա-
մալիրի կազմավորումն է: Այս համալիրը ձևավորվում է, երբ ռիբո-
սոմի 40S ենթամասնիկին, որին միացած են eIF1, eIF1A և eIF3 գոր-
ծոնները, միանում է «**եռակի համալիրը**»: **Եռակի համալիրը բաղկա-
ցած է մեթ-փ-ՌՆԹ^{մեկն}-ից և ԳԵՖ-ին (գուանիդին եռֆոսֆատ) միա-
ցած eIF2-ից** (նկար 16): Քանի որ **eIF2-ԳԵՖ-ի** առաջացումը ունի
առանցքային նշանակություն սպիտակուցի սինթեզի կարգավորման
բջջային մեխանիզմների գործունեության համար, համառոտ նկա-
րագրենք գույզի կազմավորումը:

eIF2 գործոնը կարող է միանալ և՛ ԳԵՖ-ին, և՛ ԳԿՖ-ին, սակայն
մեթ-փ-ՌՆԹ^{մեկն}-ն կարող է կապվել միայն eIF2-ԳԵՖ գույզի հետ:
eIF2-ԳԵՖ-ն առաջանում է eIF2-ԳԿՖ-ից, երբ գուանիդին կրկնա-
ֆոսֆատը տեղակալվում է գուանիդին 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 մեթ-
փ-ՌՆԹ^{մեկն}-ն կարող է միանալ միայն eIF2-ԳԵՖ-ին, արգելակվում
են մեթ-փ-ՌՆԹ^{մեկն}-ի միացումը eIF2-ԳԵՖ-ին և սպիտակուցի սին-
թեզի մեկնարկման փուլը:



Նկար 16. Ա) Կայքերի դիրքը ռիբոսոմում; Բ) 1-մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ի միացումը eIF2-ԳԵՖ-ին, 3-մեթ-փ-Ռ-ՆԹ- eIF2 խումբը միանում է 40S համալիրին, 3- eIF5-ի միացումը 43S-ին և նախամեկնարկային համալիրի ձևավորում:

Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի մեկնարկման համար անհրաժեշտ է նաև տրանսլյացիայի ենթակա ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի ակտիվացում: Ի-Ռ-ՆԹ-ն ակտիվանում է՝ միանալով բարդ eIF4 համալիրին, որը մի կողմից փոխազդում է ի-Ռ-ՆԹ-ի 5'-կեպավորված ծայրի հետ, մյուս կողմից՝ ի-Ռ-ՆԹ-ի պոլիադենիլացված ծայրին միացած **պոլիադենիլ-կապվող սպիտակուցի (ՊԱԿՍ, PABP-polyadenile binding protein)** հետ: Այս կապի առաջացման համար օգտագործվում է ԱԵՖ-ի էներգիան: Ի-Ռ-ՆԹ-ների ճնշող մեծամասնության տրանսլյացիան սկսվում է մմանօրինակ փուլից: Կեպին միացող eIF4 համալիրի ենթամիավորներն ունեն տարբեր ֆունկցիաներ:

1. 4E-ն միանում է ի-Ռ-ՆԹ-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-Ռ-ՆԹ-ի 5' ծայրում գտնվող երկրորդային կառուցվածքները:

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

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

80S մեկնարկային համալիրի ձևավորում: eIF5-ի eIF5B ենթամիավորը պատասխանատու է նաև ռիբոսոմների 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 ռիբոսոմային մեծ ենթամասնիկի միավորումը 48S համալիրին: Ռիբոսոմային մեծ և փոքր մասնիկների միավորումից հետո eIF5 գործոնի 5A ենթամիավորը խթանում է ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը 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): Ռիբոսոմների ենթամասնիկների միավորումը և ԳԵՖ-ի հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը eIF5B-ով վերահսկում են տրանսլյացիայի գործընթացի հետագա ընթացքը:

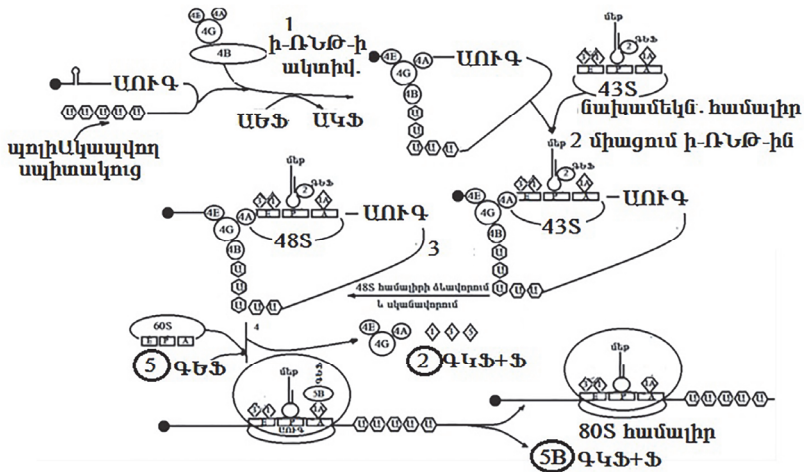
Բակտերիաներում տրանսլյացիան կարող է մեկնարկել ոչ միայն անմիջականորեն Ի-Ռ-ՆԹ-ների 5' ծայրից, այլ նաև այդ կայքից հեռու (դեպի 3' ծայրը) դասավորված կետերից, որոնք կոչվում են **ռիբոսոմի մուտքի ներքին** կայքեր (internal ribosome entry site-**IRES**): IRES-ները միանալով eIF4A և eIF4G մեկնարկման գործոններին՝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

բնորոշ գործընթացից: Բակտերիաների օպերոններից պատճենված ի-Ռ-ՆԹ-ները պոլիցիստրոնային են, ինչը նշանակում է, որ ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլը գաղտնագրում է մի քանի տարբեր սպիտակուցներ: Բակտերիաների ի-Ռ-ՆԹ-ների ԱՌԻԳ մեկնարկման կոդոնից 4-7 նուկլեոտիդ առաջ գտնվում են 6 նուկլեոտիդներ, որոնք կոմպլեմենտար են փոքր ռիբոսոմային մասնիկի *ռ-Ռ-ՆԹ-ի* 3' ծայրի նուկլեոտիդներին: Ի-Ռ-ՆԹ-ի նշված նուկլեոտիդները կոչվում են **Շայն-Դալգարնոյի հաջորդականություն**, և դրանց զուգավորումը փոքր ռիբոսոմային մասնիկի *ռ-Ռ-ՆԹ-ի* 3' ծայրի նուկլեոտիդների հետ ապահովում է փոքր ռիբոսոմային մասնիկի ճիշտ դիրքավորումը: Այնուհետև խաղի մեջ են մտնում eIF1A, eIF2, eIF3 գործոններին մնանվող գործոններ, և ֆորմիլ-մեթ-փ-Ռ-ՆԹ^{մեկն.}-ն կապվում է փոքր ենթամասնիկին: Այս գործընթացներն ավարտվում են ռիբոսոմային մեծ մասնիկի միացումով, ինչն ազդանշում է տրանսլյացիայի սկիզբը:

Ռիբոսոմի փոքր ենթամիասնիկը ներկայացնում է հարթակ, որտեղ ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ները համադրվում են ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնների հետ, մինչդեռ մեծ ենթամասնիկը կատալիզում է ամինաթթուների միջև պեպտիդային կապի առաջացման ռեակցիան: Ռիբոսոմի ենթամասնիկների դիրքավորումից և միավորումից հետո 80S մեկնարկային համալիրը սկսում է ամինաթթուների հաջորդական ավելացումը մեկնարկային մեթ-փ-Ռ-ՆԹ-ին: Յուրաքանչյուր հերթական ամինաթթվի ավելացման արագությունը կախված է համապատասխան ամինաացիլ փ-Ռ-ՆԹ-ների քանակից և ռիբոսոմը դիֆուզման արագությունից դեպի ի-Ռ-ՆԹ-ն: Միջինում էուկարիոտների ռիբոսոմների համար այդ արագությունը կազմում է 2 ամինաթթվի ավելացում մեկ վայրկյանում: Բակտերիաների ռիբոսոմների արդյունավետությունը մոտ 10 անգամ ավելի բարձր է՝ կազմելով 20 ամինաթթվի ավելացում երկարացող պոլիպեպտիդային շղթային մեկ վայրկյանի ընթացքում: Երկարացման փուլում գործընթացի համար պահանջվում է յուրահատուկ սպիտակուցների մասնակցություն, որոնք կոչվում են **երկարացման կամ էլոնգացման 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 ամինաացիլ փ-Ռ-ՆԹ-ն մտնում է ռիբոսոմ՝ կապված լինելով երկարացման գործոն **E α -ԳԵՖ-ին**:



Նկար 17. 1) Ռիբոսոմի մեծ և փոքր ենթամիավորների միավորումը տրանսլյացիայի ենթակա ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջը և տրանսլյացիայի մեկնարկային համալիրի ձևավորման եզրափակիչ փուլը: 2) 43S նախամեկնարկային համալիրն ի-Ռ-ՆԹ-ին միանալուց հետո սահում է ի-Ռ-ՆԹ-ի երկայնքով 5'-3' ուղղությամբ մինչ մեկնարկի կոդոնին հանդիպելը: 3) տեղի է ունենում eIF2-ին միացած ԳԵՖ-ի հիդրոլիզ, և առաջանում է 2-eIF2-ԳԿԳ-ը: 4) eIF2-ԳԿԳ-ը տեղակալվում է 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 ԳԿԳ, 5B-ԳԿԳ-ն անջատվում է, և ձևավորում է 80S մեկնարկային համալիրը:

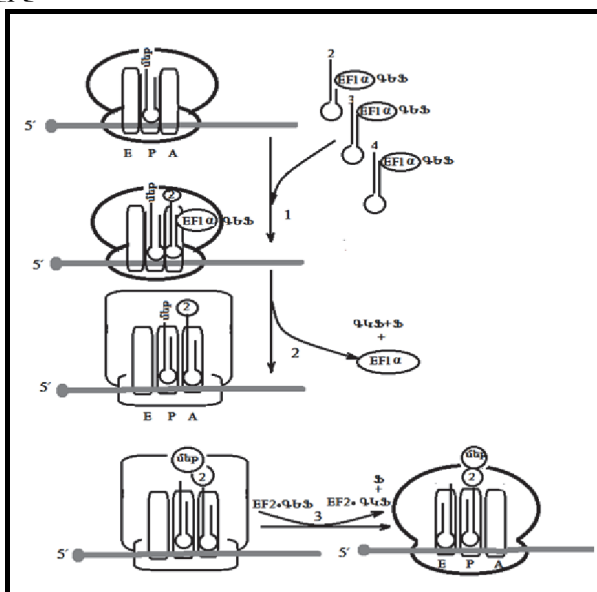
Այն դեպքում, երբ ամինաազիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ի հակակոդոնը **չի փոխալրացնում ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնը, ամինաազիլ փ-Ռ-ՆԹ-EF α -ԳԵՖ** եռակի համալիրը լքում է A կայքը՝ տեղ ազատելով մեկ ուրիշ եռակի համալիրի համար: Այս գործընթացը շարունակվում է այնքան ժամանակ, մինչև A կայքում չի կապվում այն ամինաազիլ փ-Ռ-ՆԹ-EF α -ԳԵՖ համալիրը, որի հակակոդոնը փոխալրացնում է ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնը: Երկարացման հաջորդ քայլը իրականանում է **միայն այն դեպքում, երբ փ-Ռ-ՆԹ-ի հակակոդոնը գուգավորվում է A կայքում գտնվող ի-Ռ-ՆԹ-ի կոդոնի հետ:** Այդ ժամանակ ամինաազիլ փ-Ռ-ՆԹ-EF α -ԳԵՖ եռակի համալիրը կապվում է ռիբոսոմի A կայքում (քայլ 1, նկար 18): Այսպիսով՝ միայն ճիշտ ամինաթթվով բեռնված փ-Ռ-ՆԹ-ն կարող է մասնակցել պեպտիդային շղթայի երկարացման գործընթացին և ապահովել սպիտակուցի բնականոն սինթեզը:

A կայքին միանալուց հետո ամինաազիլ փ-Ռ-ՆԹ-EF α -ԳԵՖ եռակի կոմպլեքսում Ռ-ՆԹ-ների փոխազդեցության շնորհիվ EF α -ը կատալիզում է ԳԵՖ-ի քայքայումը մինչև ԳԿՖ և անօրգանական ֆոսֆատ (քայլ 2, նկար 18): ԳԵՖ-ի հիդրոլիզը փոխում է EF α -ի կոնֆորմացիան, և EF α -ԳԿՖ-ն անջատվում է ռիբոսոմից: ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի էներգիայի հաշվին՝

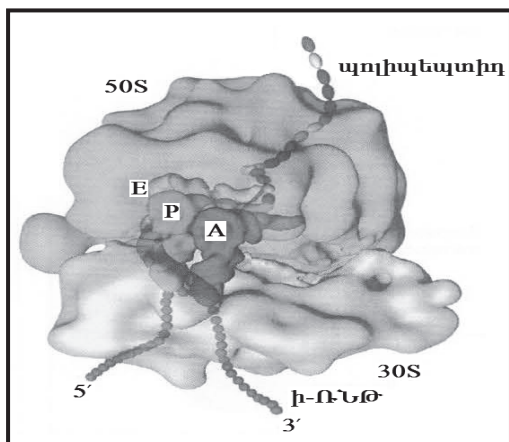
- փոխվում է ռիբոսոմի կոնֆորմացիան, ինչը հանգեցնում է A կայքի և ամինաազիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ի կապի ուժեղացմանը, ամինաազիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ի ամինաազիլացված 3' ծայրը մոտենում է P կայքին (նկ.18, քայլ 3): Մերձեցման շնորհիվ A կայքում գտնվող ազիլացված ամինաթթվի ամինային խմբի ազոտի և P կայքում գտնվող ազիլ խմբի ածխածնի փոխազդեցության հետևանքով առաջանում է պեպտիդային կապ (նկար 18):
- Պեպտիդային կապի առաջացումից հետո ռիբոսոմը տեղաշարժվում է ի-Ռ-ՆԹ-ի երկայնքով մեկ կոդոնի չափով: Պեպտիդիլ փ-Ռ-ՆԹ-ն տեղափոխվում է ռիբոսոմի P կայք, իսկ նախորդ փ-Ռ-ՆԹ-ն մղվում է ելքի E կայքը:

Նկարագրված պեպտիդիլ-տրանսֆերազային ռեակցիան կատալիզվում է ռիբոսոմի մեծ ենթամասնիկի **ռ-Ռ-ՆԹ-ներով**, որոնք ճշգրտորեն կոդմոդոնում են ռեակցիային մասնակցող ատոմական

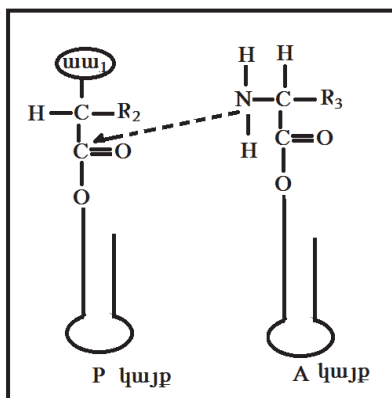
խմբերը: Ռիբոսոմի տեղաշարժն ուղեկցվում է ռիբոսոմի կոնֆորմացիայի փոփոխությամբ, որի հետևանքով մեկն. մեթ.-ի փ-ՌՆԹ-ն արդեն առանց ակտիվացած մեթիոնինի հայտնվում է ռիբոսոմի E (exit) ելքի կայքում: Ռիբոսոմի գործունեության հաջորդ բոլորաշրջանի սկզբում տեղի ունեցող կոնֆորմացիայի փոփոխությունները դուրս են մղում փ-ՌՆԹ-ն ռիբոսոմի ելքի կայքից և ռիբոսոմից: Միևնույն ժամանակ երկապտիդին կովալենտ կապված երկրորդ փ-ՌՆԹ-ն հայտնվում է P կայքում (նկար 18, քայլ 3): Վերը նկարագրված իրադարձությունների հետևանքով ռիբոսոմի կոնֆորմացիան վերադառնում է ելակետային վիճակին, որին համապատասխանում է ազատ A կայքը: Նման վիճակում ռիբոսոմի A կայքին կարող է կապվել նոր ամինաացիլ-փ-ՌՆԹ, որին հետևում է ռիբոսոմի աշխատանքի նոր բոլորաշրջան:



Նկար 18. Սպիտակուցի սինթեզի երկարացման (էլոնգացման) փուլ:
 1) երկարացման գործոն $EF\alpha$ -ԳԵՖ-ն և ամինաացիլ փ-ՌՆԹ-ն մտնում են ռիբոսոմ և միանում A կայքին; 2) ԳԵՖ-ի ճեղքման էներգիան ծախսվում է ռիբոսոմի կոնֆորմացիայի փոփոխման վրա; 3) ամինաաթթուների միջև առաջանում է պեպտիդային կապ:



Նկար 19. Պեպտիդային կապի առաջացումը ռիբոսոմում:



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

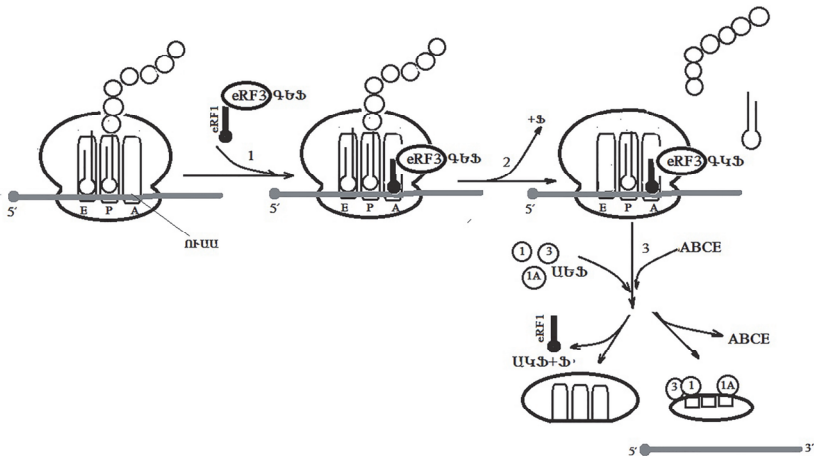
2.3. Պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտ (տերմինացում)

Ռիբոսոմի գործունեության յուրաքանչյուր բոլորաշրջանի ընթացքում պեպտիդային շղթայի C ծայրին ավելացվում է մեկ ամինաթթու: Գործընթացը շարունակվում է այնքան, մինչև ռիբոսոմը հասնում է ի-Ռ-ՆԹ-ի ավարտի կոդոնին:

Սպիտակուցի սինթեզի եզրափակիչ կամ ավարտի փուլը մեկնարկի և երկարացման փուլերի մասն մույնպես ընթանում է հատուկ սպիտակուցային գործոնների անմիջական մասնակցությամբ: Այդ գործոնները երկու տիպի են և կոչվում են **սպիտակուցի ազատ արձակման գործոններ (protein release factors)** և նշվում են RF տառերով: Սպիտակուցի սինթեզի ավարտի փուլում, ինչպես և նախորդող փուլերում, մեծ դեր են կատարում Գ-Բ-ի հետ կապված սպիտակուցները: Էուկարիոտների օրգանիզմներում գործող Գ-Բ-կապված արձակման գործոնները՝ eRF3-ը (eRF3-Գ-Բ) և eRF1-ը, խթանում են պեպտիդիլ-փ-Ռ-ՆԹ-ի անջատումը ռիբոսոմից (նկար 21, քայլ 2): Բակտերիաներում սպիտակուցի սինթեզի ավարտի փուլին մասնակցում են երկու արձակման գործոններ՝ RF1-ը և RF2-ը, որոնք համարժեք են eRF1-ին և eRF3-ին: Գործոն eRF1-ի միջոցով ավարտի կոդոնին միացած համալիրի ներսում eRF3-ն իրականացնում է Գ-Բ-ի հիդրոլիզը մինչ Գ-Բ: Այս ռեակցիան երաշխավորում է երեք ավարտի կոդոններից յուրաքանչյուրի ճշգրիտ ճանաչումը և արգելակում է ռիբոսոմի հետագա տեղափոխությունն ի-Ռ-ՆԹ-ի երկայնքով: Բացի դրանից՝ Գ-Բ-ի հիդրոլիզի էներգիան օգտագործվում է նորագոյացած պեպտիդը փ-Ռ-ՆԹ-ին միացնող կապի քայքայման համար, ինչի հետևանքով պեպտիդային շղթան ազատ է արձակվում ռիբոսոմից, իսկ փ-Ռ-ՆԹ-ն դուրս է մղվում P կայքից դեպի E կայքը և ռիբոսոմից դուրս: Այս քայլից հետո ռիբոսոմի A կայքում մնում է ավարտի կոդոնին կապված eRF1-eRF3-Գ-Բ-ն, և առաջանում է հետտերմինացման համալիրը (նկար 21):

Ռիբոսոմների ենթամասնիկների անջատման և ի-Ռ-ՆԹ-ի ազատ արձակման համար օգտագործվում է ԱԲ-ում պաշարված

էնէրգիան, երբ եռֆոսֆատը ճեղքավորվում է ABCE 1 սպիտակուցով մինչ ԱԿՖ: Տեսականորեն միջավայրում գտնվող մեկնարկի գործոնները, կրկին կապվելով ազատ 40S ենթամիավորի վրա, սկիզբ են դնում ռիբոսոմի աշխատանքի նոր բոլորաշրջանի: Իրականում ի-ՌՆԹ-ն երբեք ազատ չի արձակվում, քանի որ դրան միացած են մնում երկարացման փուլի տարբեր ֆազերում գտնվող այլ ռիբոսոմներ: Միջին չափի սպիտակուցի սինթեզը էուկարիոտների ռիբոսոմներում տևում է 1-2 րոպե: Սպիտակուցների սինթեզի արդյունավետությունը բջջում զգալիորեն մեծանում է նրա շնորհիվ, որ ռիբոսոմների ենթամասնիկները, որոնք անջատվում են ի-ՌՆԹ-ի 3' ծայրից սպիտակուցի սինթեզի բոլորաշրջանի վերջում, արագ վերամիավորվում են: Երկրորդ ավելի կարևոր հանգամանքն այն է, որ մեկ մոլեկուլ ի-ՌՆԹ-ի վրա գործում են մի քանի ռիբոսոմներ: Այդ կառույցները հստակորեն երևում են էլեկտրոնային մանրադիտարկման ժամանակ, և դրանք կոչվեցին պոլիռիբոսոմներ կամ **պոլիսոմներ**:



Նկար 21. 1) Տեղաշարժվելով ի-ՌՆԹ-ի երկայնքով՝ ռիբոսոմը հասնում է ՌԻԱԱ ավարտի կոդոնին, որին միանում է eRF1-eRF3-ԳԵՖ համալիրը; 2) ԳԵՖ-ը ճեղքվում է, անջատվում է ֆոսֆորական մնացորդը; 3) ABCE 1 սպիտակուցով ԱԵՖ-ի ճեղքման էնէրգիան ծախսվում է տրանսլյացիայի գործոնների, ռիբոսոմի ենթամասնիկների և ի-ՌՆԹ-ի անջատման համար:

կոմպլեքսներ հակակոդոնով փ-ՌՆԹ-ն, որը բեռնված է համապատասխան ամինաթթվով: eF1α-ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի հետևանքով փոխվում են թե՛ eF1α-ի, թե՛ ռիբոսոմի կոնֆորմացիաները: Այդ փոփոխությունների շնորհիվ eF1α-ն ազատ է արձակվում և փ-ՌՆԹ-ի 3' ամինաացետիլացված 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 կոդոնի չափով ռիբոսոմի տեղափոխության համար: Տերմինացման գործոն eRF3-ի և ԳԵՖ-ի առաջացած համալիրը որոշիչ դեր է կատարում նաև պեպտիդային շղթայի սինթեզի ավարտի փուլում (նկար 21): Քանի որ ԳԵՖ-ի մակրոէրգիկ ֆոսֆոդիֆերային 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 rihosome 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 dynamtc ribosome machine. *Nat. Rev. Mol. Cell Bioi*. 9:242-253.

ԳԼՈՒԽ 3

Սպիտակուցների կոնֆորմացիայի ձևավորում

3.1. Չապերոններ և չապերոնիններ

Նորաստեղծ պոլիպեպտիդային շղթայի կոնֆորմացիայի ձևավորման վրա մեծապես ազդում են ցիտոպլազմում պարունակվող սպիտակուցների կամ այլ կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի մոլեկուլները: Հայտնի է, որ նույն առաջնային կառուցվածքով պոլիպեպտիդային շղթաները կարող են ունենալ տարբեր թերմոդինամիկորեն թույլատրելի տարածական ձևեր: Սպիտակուցների ընդհանուր պարունակությունը ցիտոպլազմում հասնում է 300մգ/մլ: Ցիտոպլազմում սպիտակուցների բարձր պարունակության պատճառով նորաստեղծ պոլիպեպտիդային 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 գործառնությ 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 **չապերոններն են: Չապերոնները ներկայացնում են յուրահատուկ սպիտակուցների խումբ, որոնք ապահովում են նորաստեղծ պոլիպեպտիդային շղթայի տարածական «ճիշտ» կառուցվածքը:** Չապերոնները ներկա են բոլոր բջիջներում՝ սկսած բակտերիաներից մինչև մարդու բջիջները, հաճախ ունեն գրեթե նույն ամինաթթվային կազմը և ազդեցության մեխանիզմները: **Չապերոնները ճեղքում են ԱԵՖ-ը մինչև ԱԿՖ և անջատված էներգիան օգտագործում են պոլիպեպտիդային շղթայի կառուցվածքում որոշակի փոփոխություններ կատարելու համար:** Չապերոնները ձևավորում են նորաստեղծ պոլիպեպտիդային շղթայի այն կոնֆորմացիան, որն անհրաժեշտ է

տվյալ սպիտակուցի կենսաբանական գործունեության համար, և կարող են կատարել «**ռչ ճիշտ**» կոնֆորմացիաների վերաձևավորումը «ճիշտ» կոնֆորմացիայի: Չապերոնները կարող են՝

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

Չապերոնները գործում են էուկարիոտների բոլոր ենթաբջջային կառույցներում և օրգանելներում: Հայտնի են չապերոնների **մի քանի դասեր**, որոնք **տարբերվում են ըստ ԱԵՖ-ի հիդրոլիզից ազատված էներգիայի օգտագործման եղանակի**: Չապերոնները մեծ խնամակցությամբ կապվում են թիրախային սպիտակուցների հետ և «**միացնում**» ԱԵՖ-կախյալ ձևափոխությունների մեխանիզմը: Երբ ավարտվում է սպիտակուցի անհրաժեշտ կոնֆորմացիայի ձևավորումը, չապերոնը անջատվում է սպիտակուցի մոլեկուլից և վերադառնալով ելակետային վիճակին՝ կարող է միանալ թիրախային սպիտակուցի մեկ այլ մոլեկուլի հետ: Կոնֆորմացիայի փոփոխության արագությունը որոշվում է ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի արագությամբ:

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

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

թյունների հաստատմանը և ճնշում սպիտակուցային մոլեկուլների հետագա ագրեգացումը:

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 ագրեգացվում և չեն քայքայվում:
- **Չապերոնիններ**, որոնք ձևավորում են գծային կամ ոչ ամբողջովին պարուրված սպիտակուցների մոլեկուլների կոնֆորմացիայի կազմավորման 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 բջջում՝ 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 մմանակները հիմնական չապերոններն են, որոնք ներկա են գրեթե բոլոր օրգանիզմների բջիջներում: Մոնոմերային Hsp 70-ը, կապվելով ԱԵՖ-ին, ձեռք է բերում, այսպես կոչված, «բաց» կոնֆորմացիա: «Բաց» կոնֆորմացիային հատուկ է հիդրոֆոբային գրպանիկի ապաքողարկում, ինչի շնորհիվ Hsp 70-ը կարողանում է հիդրոֆոբային կապերով միանալ անավարտ երրորդային կառուցվածք ունեցող թիրախային սպիտակուցի մոլեկուլի հիդրոֆոբային մնացորդներին: ԱԵՖ-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 ագրեգացումը այլ սպիտակուցների հետ: ԱՇՖ-ի հիդրոլիզն իրականացնում են **կոչապերոնային** օժանդակ սպիտակուցներ **DnaJ-ն** (բակտերիաներում) և **Hsp40-ը** (էուկարիոտներում): Hsp 70-ին միացած ԱՇՖ-ը փոխարինվում է ԱՇՖ-ի նոր մոլեկուլով **GrpE** (բակտերիաներում), **BAG 1**, **HspBP** (էուկարիոտներում) կոչապերոնների միջոցով: Դրանից հետո Hsp 70-ն կրկին ընդունում է «բաց» կոնֆորմացիա, և լիարժեք երրորդային կառուցվածք ձեռք բերած թիրախային սպիտակուցն ազատ է արձակվում: Եթե թիրախային սպիտակուցի երրորդային կառուցվածքն ունենում է թերացումներ, ապա բոլորաշրջանը կրկնվում է մինչև 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 բջիջների տարբեր օրգանելների Hsp 90-ները տարբեր են: Hsp 90-ը ցիտոզոլի ամենամեծաքանակ սպիտակուցների թվին է պատկանում՝ կազմելով սպիտակուցի ընդհանուր պարունակության 1-2%-ը: Hsp 90 չապերոնները կենսականորեն անհրաժեշտ են բջջին: Դրանք օգնում են հաղթահարել սթրեսային վիճակներով (ջերմային շոկ և այլն) պայմանավորված սպիտակուցների բնափոխման ծանր հետևանքներն ու ապահովում են իրենց սուրստրատների (որոնք կոչվում են «**կլիենտներ**» կամ «հաճախորդներ») բնականոն կոնֆորմացիայի վերականգնումը և ակտիվ գործունեությունը: Հաճախ «**կլիենտ**» սպիտակուցը բջջում գտնվում է Hsp 90-ի հետ կապված վիճակում, և համալիրը բաժանվում է միայն համապատասխան ազդակի 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 ֆոսֆորիլացման միջոցով կարգավորում են բազմաթիվ ֆերմենտների ակտիվությունը: Ի տարբերություն Hsp 70-ի՝ **Hsp 90-ները դիմերներ են**: Կլիենտները կապվում են Hsp 90-ներին, երբ դրանք գտնվում են «բաց» կոնֆորմացիայում: ԱՇՖ-ի միացումից հետո դիմերի ԱՇՖ-կապող դոմեններ-

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

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

Չապերոնիններ: Բազմաթիվ նորաստեղծ սպիտակուցների ճիշտ կոնֆորմացիայի ձևավորմանը մասնակցում են օժանդակ մոլեկուլների երկրորդ ընտանիքի անդամները՝ **չապերոնինները** կամ **Hsp60** սպիտակուցները։ Չապերոնիններից կազմվում են հսկայական վերմոլեկուլային կառուցվածքներ։ Չապերոնինները բաժանվում են երկու խմբերի, որոնք տարբերվում են կառուցվածքով, ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմի առանձնահատկություններով և տեղակայմամբ։ Առաջին խմբի չապերոնինները 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)։ Կաթնասունների բջիջներում գործում են երկրորդ խմբի չապերոնինները, որոնց վերմոլեկուլային կառուցվածքի օղակները բաղկացած են 8-9 ենթամիավորներից (**TriC**)։

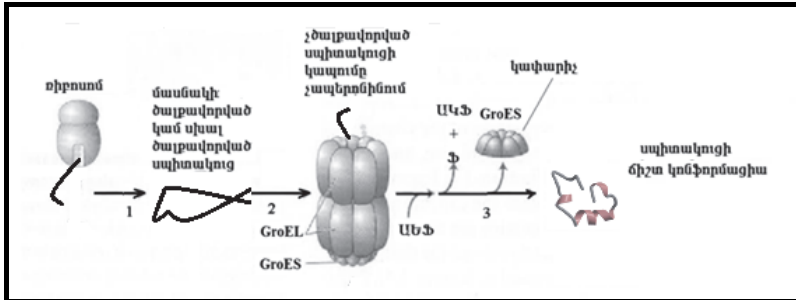
Չապերոնինների GroEL ենթամիավորներից կազմված օղակների միավորումն առաջացնում է տակառանման կառույց (նկար 23), որի կազմի մեջ մտնում է 14 նույնատիպ ենթամիավոր։ «Տակառն» ունի երկու ենթախցիկ, որոնցում իրականացվում է սպիտակուցների ծալքավորումը և յոթ GroES ենթամիավորներից կազմված կափարիչ, որը կարող է միանալ տակառի 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 մինչև 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: Երբ ավարտվում է ԱԵՖ-ի հիդրոլիզը, բացվում 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, ուր կրկնվում է գործողությունների նկարագրված հաջորդականությունը:

3.2. Սպիտակուցների սինթեզի և քայքայման 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 բջջը գտնվի ստացիոնար վիճակում և կենսագործունեության օպտիմալ ռեժիմում: Դրա համար կարգավորվում են թե՛ ֆերմենտային սպիտակուցների ակտիվությունը, թե՛ կատալիտիկ ակտիվությունից զուրկ սպիտակուցների կենսաբանական ակտիվությունը, ինչը պայմանավորում է տարաբնույթ թաղանթային 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 քայքայման ճնշմամբ,**
- **զուգակցելով երկու գործառույթները:**



Նկար 23. Չապերոնինների 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-ՌՆԹ-ի քանակից,**
- **տրանսլյացիայի արագությունից:**

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

Սպիտակուցների քայքայման 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 սթրեսային ներգործությունների հետևանքով (ջերմային շոկ, ցիտոտոքսիկ 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 քայքայման: Նորմալ կոնֆորմացիայով և գործունեությամբ սպիտակուցները կաթնասուների բջիջներում ավելի դանդաղ են քայքայվում (ընդհանուր քանակի 1-2 %-ը մեկ ժամում):

Սպիտակուցների քայքայումն էուկարիոտների բջիջներում կատարվում է մի քանի եղանակներով: Շատ սպիտակուցներ քայքայվում են **լիզոսոմներում**, որոնք գտնվում են ցիտոպլազմում և ներկայացնում են հիդրոլիտիկ ֆերմենտներով լցված թաղանթապատ պոպուլյուսներ՝ ներքին թթվային միջավայրով: **Լիզոսոմային ուղին գերիշխում է արտաքինից բջիջ ներմուծված սպիտակուցների քայքայման և ծերացած կամ վնասված բջջային օրգանելների հեռացման ժամանակ աուտոֆագիա** կոչվող բջջային գործընթացում:

Կաթնասուների բջջային **սպիտակուցների շուրջ 90 %-ը քայքայվում է պրոտեոսոմային ուղով**:

Պրոտեոսոմները շատ խոշոր վերմոլեկուլային կառույցներ են, որոնք ներգրավված են կարևորագույն բջջային գործընթացներում (բջջային բոլորաշրջան, իմունային ֆունկցիաներ, տրանսկրիպցիա, ԴՆԹ-ի ռեպարացում կամ վերականգնում, ապոպտոզ, սխալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցների ճեղքավորում): Միջինում կաթնասուների բջիջներում գործում են մոտ 30 000 պրոտեոսոմներ: Պրոտեոսոմները կազմված են 50 սպիտակուցային ենթամիավորից, որոնց գումարային զանգվածը մոտավորապես $2-2.4 \times 10^6$ դալտոն է: Պրոտեոսոմի կատալիտիկ ակտիվությամբ օժտված կենտրոնական

հատվածը 14,8 մմ երկարությամբ և 11.3 մմ 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: Ճեղքավորելով ԱԵՖ-ը՝ կափարիչներն էներգիա են մատակարարում՝ սպիտակուցներն ապապարուրելու և դեպի կատալիտիկ ակտիվություն ունեցող կենտրոնական խողովակ տեղափոխելու համար: Պրոտեոսոմների կենտրոնական մասը կազմված է երկու α և երկու β - օղակներից (α , β , β և α հաջորդականությամբ): Սպիտակուցները քայքայվում են կենտրոնական խողովակի β -օղակներով սահմանափակված միջնամասում: Յուրաքանչյուր β -ներքին օղակ բաղկացած է 7 ենթամիավորից: Ամեն օղակում կա երեք կայք, որոնցում կատարվում է սպիտակուցի պրոտեոլիտիկ ճեղքավորումը: Դեպի պրոտեոսոմ ուղղորդվող, ճեղքավորման ենթակա սպիտակուցները պետք է անցնեն α -օղակների կենտրոնական անցուղով (տրամագիծը՝ 1,7 մմ): Այդ անցքով կարող են անցնել միայն գծային պոլիպեպտիդները: Սպիտակուցների միացումը և երրորդային կառուցվածքի պարզեցումը մինչև գծային ձևն ապահովում են պրոտեոսոմի կափարիչները, որոնց ենթամիավորներն օժտված են ԱԵՖազային ակտիվությամբ: β -ներքին օղակների պրոտեոլիտիկ կայքերում ճեղքավորված պոլիպեպտիդային շղթաները վեր են ածվում 2-24 ամինաթթվային մնացորդներից բաղկացած կարճ պեպտիդների, որոնք դուրս են գալիս խողովակից ցիտոպլազմ, որտեղ պեպտիդազները վերջնականապես քայքայում են դրանց մինչև ազատ ամինաթթուներ: Պրոտեոսոմների երկարատև արգելակման հետևանքով բջիջները մահանում են: Հայտնի է, որտեղ նորմալ կենսագործունեության համար բջիջներին անհրաժեշտ է վերապրման գործոն՝ NF κ B-ն սպիտակուցը (բջջակորիզային կապա p): NF κ B-ի ակտիվությունը դրսևորվում է այն ժամանակ, երբ նրանից անջատվում և պրոտեոսոմներով քայքայվում է IkB ինհիբիտորը: Քաղցկեղի բուժամիջոցների զինանոցում օգտագործվում են դեղամիջոցներ, որոնք ունակ են պրոտեոսոմների կարճատև մասնակի արգելակմանը: Այդ դեղամիջոցները ճնշում են IkB ճեղքավորումը, ինակտիվացնում NF κ B

սպիտակուցը, որի թերացումների նկատմամբ ավելի զգայուն են ուռուցքի բջիջները:

Սպիտակուցների ուրբիխտինացում: Պրոտեոսոմներն արագ վերացնում են անկատար կոնֆորմացիա ունեցող սպիտակուցները և այն սպիտակուցները, որոնք ավելորդ են դարձել այս կամ այն պատճառով: Սակայն հարց է ծագում՝ ինչպես են պրոտեոսոմները ճանաչում դրանց: Պարզվեց, որ բջիջները նշադրում են քայքայման ենթակա սպիտակուցները՝ մոլեկուլին կովալենտ միացնելով **ուրբիխտինի** շղթան: Ուրբիխտինը 76 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված պոլիպեպտիդ է: Ուրբիխտինի կառուցվածքը գրեթե չի տարբերվում խմորասնկերի և մարդու մոտ: Ուրբիխտինի մոլեկուլները կարող են կազմել պոլիուրբիխտինային շղթա, որի միացումը սպիտակուցին պատկերավորության համար անվանում են **«մահվան համբույր»**, քանի որ այն դատապարտում է սպիտակուցը ոչնչացման պրոտեոսոմներում: Ուրբիխտինացումն ընթանում է երեք փուլով:

1. Ուրբիխտին-ակտիվացնող E1 ֆերմենտն ակտիվանում է, որովհետև ԱԵՖ-ի էներգիայի հաշվին ֆերմենտի մոլեկուլին միացվում է ուրբիխտինի մոլեկուլը:
2. Ֆերմենտին միացած ուրբիխտինը տեղափոխվում է հաջորդ ուրբիխտին-միացնող E2 ֆերմենտի ցիստեինային մնացորդի վրա:
3. **Ուրբիխտին-պրոտեին լիգազ** կոչվող E3 ֆերմենտը կատալիզում է E2-ին միացած ուրբիխտինի 76-րդ C-ծայրային զիցինի կարբօքսիլ խմբի և թիրախային սպիտակուցի լիզինային մնացորդի ամինախմբի միջև կովալենտ կապի առաջացումը: Նման կապը 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 թիրախային սպիտակուցին միացած ուրբիխտինի 48-րդ լիզինային մնացորդի կողքային շղթային իզոպեպտիդային կապով միացվում է մեկ այլ ուրբիխտինի մոլեկուլ: Չորս կամ ավելի ուրբիխտինային մնացորդների միացումից հե-

տո ուրիշիստինացված սպիտակուցը կապվում է պրոտեոսոմի կա-
փարիչի հետ, ապապարուրվում է և տեղափոխվում դեպի պրոտեո-
սոմի կենտրոնական խողովակը, որտեղ ընթանում է պրոտեոլիտիկ
ճեղքավորումը: Կենտրոնական խողովակում ուրիշիստինային մնա-
ցորդներն ու ուրիշիստին-սպիտակուց միացնող կապերը քայքայվում
են **դեուրիստինազներով (Dubs):** Ուրիշիստինի ազատված մոլեկու-
լները կարող են մասնակցել սպիտակուցի մեկ այլ մոլեկուլի պոլիու-
րիստինացման գործընթացին:

Մարդու գենոմում 600 գեն կոդավորում են զանազան ուրիշիս-
տին լիզազներ (E3): Ուրիշիստին լիզազների բազմազանությունը կոչ-
ված է ժամանակի ցանկացած պահին ապահովել տարաբնույթ սպի-
տակուցների սպառիչ պոլիուրիստինացումը: Որոշ E3 լիզազներ
կապված են չապերոնների հետ, որոնք ճանաչում են ապապարուր-
ված կամ սխալ կոնֆորմացիայով սպիտակուցներին: Օրինակ կա-
րող է ծառայել E3 լիզազ CHIP-ը, որը Hsp 70-ի կոչապերոնն է: E3 լի-
զազի և չապերոնների համատեղ գործունեությունը թույլ է տալիս
բջջին շատ ճկուն կարգավորել կոնֆորմացիայի թերություններ ունե-
ցող սպիտակուցների քայքայումը: Կարելի է ասել, որ **չապերոն-պո-
լիուրիստինացում-պրոտեոսոմ** համակարգը սպիտակուցների
որակի վերահսկման մեխանիզմ է:

Ուրիշիստինացում/դեուրիստինացում անցումները շատ ավելի
բազմազան են, քան ֆոսֆորիլացում/դեֆոսֆորիլացումով պայմանա-
վորված անցումները: Ուրիշիստինացումը կարող է ընթանալ երեք
տարբեր ուղիներով:

- Մեկ մոլեկուլ ուրիշիստինը միանում է թիրախային սպիտա-
կուցին (մոնոուրիշիստինացում):
- Մի քանի ուրիշիստինի մոլեկուլներ միանում են թիրախային
սպիտակուցի տարբեր կայքերում (մուլտիուրիշիստինացում):
- Սպիտակուցի մեկ կայքին միանում է պոլիուրիշիստինային
շղթա (պոլիուրիշիստինացում):

Ուրիշիստինացում/դեուրիշիստինացում անցումների բազմազա-
նությունը բխում է նաև նրանից, որ պոլիուրիշիստինային շղթայի
կազմավորման ժամանակ իզոպեպտիդային կապով կարող են միա-
նալ առանձին ուրիշիստինների տարբեր կարբօքսիլ 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 լիզազները:

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

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

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

ծելի սպիտակուցային կնձիկները ձևավորվում են ամիլոիդային թելիկներից, որոնք բջջաթաղանթի կազմում գտնվող նորմալ Tau ամիլոիդային սպիտակուցի և ախտածին **prion** սպիտակուցների ածանցյալներն են: Անհայտ պատճառներով ելակետային պարուրածև սպիտակուցների մոլեկուլները ընդունում են β -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 խենթություն կոչվող հիվանդությունը մարդկանց է փոխանցվում համապատասխան prion սպիտակուցի միջոցով:

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

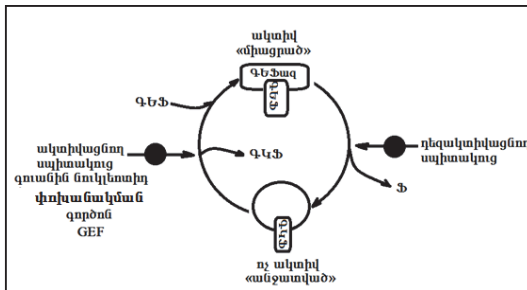
Սպիտակուցների ակտիվության կարգավորման երկրորդ ուղին իրականացվում է սպիտակուցների կառուցվածքի ոչ կովալենտ ձևափոխությունների ճանապարհով: Բազմաթիվ կարգավորիչ ֆերմենտների ակտիվությունը վերահսկվում է ալոստերիկ մոդիֆիկատորների միջոցով: Ալոստերիկ մոդիֆիկատորները միանում են ֆերմենտների կարգավորիչ կենտրոնին ոչ կովալենտ կապերով և այնպես են փոխում ակտիվ կենտրոնի կոնֆորմացիան, որ փոխվում է ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը: Մենք կքննարկենք կարգավորման երկու մեխանիզմներ, որոնք բախտորոշ ազդեցություն ունեն բջջի կենսագործունեության վրա՝ պայմանավորելով ազդանշանների փոխանցման բջջային ուղիների գործունեությունը: Առաջին մեխանիզմը հիմնվում է նրա վրա, որ սպիտակուցին ոչ կովալենտ կապերով միանում են Ca^{+2} -ի իոնները կամ ԳԵՖ-ի մոլեկուլները: Ի տարբերություն թթվածնի 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: Ֆիտոզոլում ազատ Ca⁺²-ի իոնների կոնցենտրացիան պահպանվում է կայուն մոտ 10⁻⁷ Մ մակարդակի վրա շնորհիվ նրա, որ բջջաթաղանթի հատուկ սպիտակուցներն ավելցուկային իոնները հեռացնում են բջիջներից թաղանթային 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՝ ապաքողարկելով 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 թվին են պատկանում նաև գուանիլինային նուկլեոտիդների հետ կապվող բազմաթիվ սպիտակուցներ, որոնք պատկանում են Գ-Եֆազների ընդարձակ ընտանիքին: Ինչպես հետևում է անվանումից, այս սպիտակուցները ֆերմենտներ են, որոնք ճեղքավորում են Գ-Եֆ-ը մինչ Գ-Կֆ: Գ-Եֆազային ընտանիքի սպիտակուցները մասնակցում են սպիտակուցի սինթեզին, ազդանշանների փոխանցման ուղիների գործունեությանը, մոլեկուլների տեղափոխմանը բջջակորիզաթաղանթային անցուղիներով, բջիջների ակտինային կմախքի ձևափոխություններին: Գ-Եֆ/Գ-Կֆ անջատիչի նման է գործում ԱԵֆ/ԱԿֆ անջատիչը, որի օրինակ է Hsp70 սպիտակուցը: Գ-Եֆազային 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 տարբեր թիրախային սպիտակուցների՝ ակտիվացնելով դրանց գործունեությունը: «Անջատիչն» անցնում է ոչ ակտիվ անջատված ձևի, երբ ԳԵՖ ազալին ակտիվության շնորհիվ ԳԵՖ-ը դանդաղ հիդրոլիզվում է մինչ ԳԿՖ: Այսպիսով՝ «անջատիչի» ակտիվ վիճակում գտնվելու ժամանակը կարգավորվում է սպիտակուցի ԳԵՖազալին ակտիվությամբ: ԳԵՖազալին «անջատիչների» կենսաբանական նշանակությունն այնքան մեծ է, որ բջջում գործում են դրանց ակտիվությունը վերահսկող լրացուցիչ մեխանիզմներ: Բջջային բազմաթիվ սպիտակուցներ վերահսկում են «անջատիչների» ԳԵՖազալին ակտիվությունը: Կարգավորմանը մասնակցում են նաև հատուկ սպիտակուցներ՝ **ԳԵՖ-ի փոխանակման գործոններ** (GEFեր), որոնք կարող են տեղակալել «անջատիչին» կապված ԳԿՖ-ը ԳԵՖ-ով (նկար 24):



Նկար 24. ԳԵՖազալին անջատիչի գործունեության բոլորաշրջանը: Միանալով ԳԵՖ-ին՝ սպիտակուցը ձեռք է բերում ակտիվ կոնֆորմացիա և կարողանում է փոխազդել թիրախային սպիտակուցների հետ: Ակտիվացնող սպիտակուցի ԳԵՖազալին ակտիվության շնորհիվ ԳԵՖ-ը քայքայվում 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 ֆոսֆորիլացում-դեֆոսֆորիլացում անցումներով և մասնակի պրոտեոլիզի ճանապարհով: Սպիտակուցի ակտիվությունը բջջում կարող է կարգավորվել ոչ միայն ոչ կովալենտ, այլև մոլեկուլի կովալենտ ձևափոխությունների միջոցով: Առավել մեծ է **սպիտակուցային մոլեկուլների ֆոսֆորիլացման և դեֆոսֆորիլացման** գործընթացների նշանակությունը:

Սպիտակուցների ֆոսֆորիլացումն իրականացնող **պրոտեին կինազներ** կոչվող ֆերմենտները տեղափոխում են ԱԵՖ-ի γ-օրտոֆոսֆատային մնացորդը սպիտակուցի **սերինային, տրեոնինային կամ թիրոզինային** ամինաթթվային մնացորդների կողքային հիդրօքսիլ խմբերի վրա: Դեֆոսֆորիլացումը իրականացնում են **ֆոսֆատազները**: Պրոտեին կինազների և ֆոսֆատազների հակամետ գործունեությունն ապահովում է սպիտակուցների ֆոսֆորիլացման **կենսաբանական** դարձելիությունը: Ֆոսֆորիլացման հետևանքով փոխվում է սպիտակուցի գոմարային էլեկտրական լիցքը, ինչը հանգեցնում է մոլեկուլի կոնֆորմացիայի և ակտիվության փոփոխությունների: Հայտնի է, որ շատ սպիտակուցներ ունեն հատուկ դոմեններ, որոնք կապվում են ֆոսֆորիլացված պեպտիդների հետ: Նման փոխազդեցությունները մեծ դեր են կատարում սպիտակուցային վերմոլեկուլային համալիրների առաջացման մեջ: Նման բարդ սպիտակուցային համալիրները գործում են գրեթե բոլոր հիմնարար կենսաբանական մեխանիզմներում: Կառուցվածքային, կմախքահենարանային, բջջաթաղանթային անցուղիների գործունեությունն իրագործող, տարաբնույթ կարգավորիչ ֆերմենտների և ազդանշանային մոլեկուլների գործունեությունը կարգավորող բազմաթիվ սպիտակուցների ակտիվությունը վերահսկվում է ֆոսֆորիլացման/դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով: Եթե որևէ սպիտակուցի ակտիվությունը կարգավորվում է ֆոսֆորիլացում/դեֆոսֆորիլացումով, ապա այդ թիրախային սպիտակուցն ունի մենահատուկ պրոտեին կինազ և ֆոսֆատազ: Միևնույն ժամանակ որոշ պրոտեինկինազներ դրսևորում են խմբային սպեցիֆիկություն և կարող են ֆոսֆորիլացնել մի քանի սպիտակուցներ: Հաճախ պրոտեինկինազները կամ ֆոսֆատազներն իրենք են թիրախ ծառայում այլ կինազների կամ ֆոսֆատազների համար՝

առաջացնելով ֆերմենտային «կասկադներ», որոնք ծառայում են առաջնային թույլ ազդանշանի բազմակի ուժեղացմանը և ծավալմանը:

Սպիտակուցների ֆոսֆորիլացման և ուբիխտինացման 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 դեֆոսֆորիլացման և դեուբիխտինացման 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 քայքայման միջոցով**: Ակտիվության կարգավորման նման ուղու դասական օրինակ է մարսողական ֆերմենտներ պեպսինի, տրիպսինի և քեմոտրիպսինի ոչ ակտիվ զիմոգեն ձևերի ակտիվացումը: Մեկ այլ օրինակ է պեպտիդային հորմոն ինսուլինը: Այն սինթեզվում է երկար պոլիպեպտիդային շղթայի ձևով, որը նախքան բջջից արտազատվելը որոշակի պեպտիդային կապերի քայքայման շնորհիվ ձեռք 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 մակարդեղիությունն ապահովող և բնածին իմունիտետի ակտիվացման գործընթացում (կոմպլեմենտի համակարգի ակտիվացում): Առանձին դեպքերում որոշ էուկարիոտիկ բջիջներում և բակտերիաների մոտ ընթանում է սպիտակուցների **ինքնասպալասինգի** գործընթացը: Ինքնասպալասինգի ժամանակ պոլիպեպտիդի ներքին հատվածը հեռացվում է, իսկ առաջացած երկու ծայրային հատվածները միմյանց են միացվում: Սա ինքնակատալիտիկ կամ աուտոկատալիտիկ ռեակցիա է, որն իրականացվում է սպիտակուցային մոլեկուլի կողմից առանց ֆերմենտների մասնակցության: Սպիտակուցների աուտոկատալիտիկ ճեղքավորումը կարող է ընթանալ առանց առաջացած հատվածների հետագա միացման (Հեջհոգի

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 սուբստրատների (եթե սպիտակուցները ֆերմենտներ են) բջջային տեղակայման կամ տեղային կոնցենտրացիաների վերահսկման ճանապարհով: Կասկածից վեր է, որ բջիջների բնականոն գործունեությունը պահանջում է սպիտակուցների որոշակի բաշխում բջջի ծավալում և առանձին օրգանելներում՝ միտոքոնդրիումներում, բջջակորիզում, լիզոսոմներում: Նման բաշխումը կոչվում է **կոմպարտմենտացում**: Կոմպարտմենտացման շնորհիվ ոչ միայն տեղի են ունենում ելանյութերի մուտքը և վերջնանյութերի ելքը, այլև հնարավոր է դառնում ժամանակի նույն հատվածում իրականացնել հակադարձ ուղղվածության ռեակցիաներ:

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. Bubu B., J. Weissman and A. Horwich. (2006). Molecular chaperones and proteome 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.

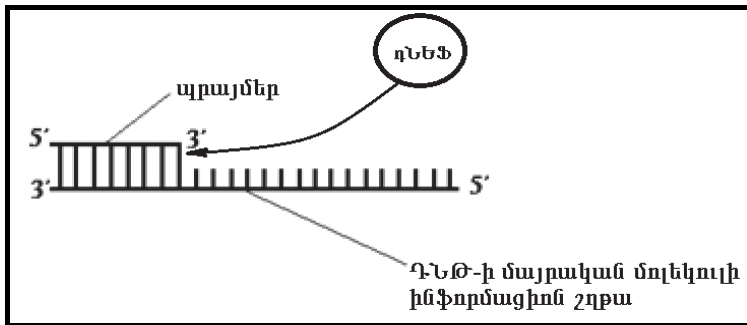
ԳԼՈՒԽ 4

ԴՆԹ-ի կրկնապատկում (ռեպլիկացում)

Երկշղթա կառուցվածքի շնորհիվ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարող է հա-րաբերականորեն ինքնուրույն վերարտադրվել՝ ապահովելով տեղե-կատվության լիարժեք փոխանցումը նորագոյացած ԴՆԹ-ի մոլեկու-լին: Ուտտոնը և Կրիկն առաջարկեցին ԴՆԹ-ի կրկնապատկման կիսակոնսերվատիվ (կիսապահպանողական) կամ սեմիկոնսերվա-տիվ մեխանիզմը: Համաձայն այդ մեխանիզմի՝ յուրաքանչյուր նոր սինթեզված ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շղթաներից մեկը պատկանում է մայ-րական ԴՆԹ-ի մոլեկուլին, իսկ երկրորդ շղթան սինթեզվում է որպես մայրական շղթային կոմպլեմենտար նոր շղթա: **Կիսակոնսերվատիվ** կամ կիսապահպանողական կրկնապատկման մոդելի հիմքում ըն-կած են ԴՆԹ-ի մայրական մոլեկուլի երկու շղթաների տարամի-տումը և մայրական յուրաքանչյուր շղթային կոմպլեմենտար նոր շղթաների սինթեզը: **ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շղթաներից մեկի պատճենա-վորումը կոմպլեմենտարության սկզբունքով** հիմնարար գործառույթ է, որն ընկած է **տրանսկրիպցիայի, ԴՆԹ-ի կրկնապատկման (ռեպ-լիկացման), վերականգնման (ռեպարացման) և ԴՆԹ-ի հատվածնե-րի վերադասավորումների (ռեկոմբինացման)** գործընթացների հիմ-քում:

ԴՆԹ-ն սինթեզվում է **դեզօքսիռիբոնուկլեոտիդ եռֆոսֆատնե-րից** (դՆԵՖ), և մոլեկուլը աճում է 5'-3' ուղղությամբ, քանի որ սինթեզ-վող շղթան առաջանում է ի հաշիվ դեզօքսիռիբոզի 3' թթվածնի ու դՆԵՖ-ի օրտոֆոսֆատի միջև դիեթերային կապի գոյացման շնոր-հիվ: Ի հակադրություն ՌՆԹ պոլիմերազների՝ ԴՆԹ պոլիմերազ-ներն ընդունակ չեն ինքնուրույն նախաձեռնելու ԴՆԹ-ի դուստր շղթայի սինթեզը: ԴՆԹ պոլիմերազները կարող են սկսել ԴՆԹ-ի նոր շղթայի սինթեզը միայն **պրայմեր** 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-

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



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

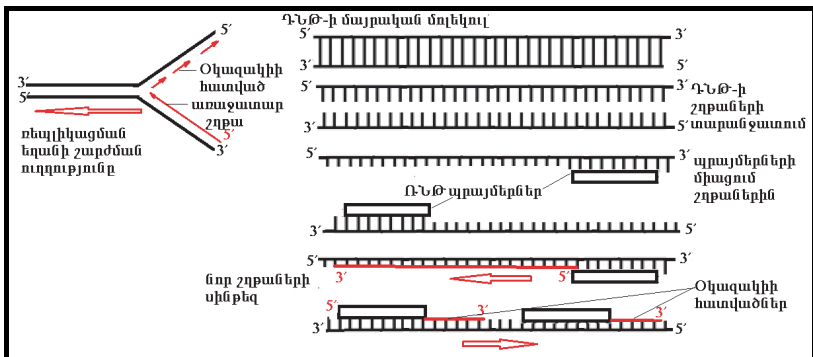
ԳՆԹ-ի մայրական մոլեկուլի շղթաների հեռացումը միմյանցից իրականացնում են **հելիկազները**: Հելիկազների գործունեությունը սկսում է մայրական ԳՆԹ-ի մոլեկուլի **ռեպլիկացման օրիջին** կամ պարզապես **օրիջին** անվանվող կայքերում: Օրիջինների նուկլեոտիդային կազմը կախված է օրգանիզմի տեսակային պատկանելությունից, բայց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

կազման եղան: Ռեպլիկացման գործընթացում եղանին միացած սպիտակուցները լքում են օրիջինի շրջանը: Հելիկազների գործունեության հետևանքով գոյացած ԴՆԹ-ի շղթաների տեղային ապապարուրումն առաջացնում է ուժեղ պտուտային լարվածություն, և ԴՆԹ-ի վարընթաց հատվածները գերպարուրվում են: Այդ գերպարուրները վերացվում են **տոպոիզոմերազ I** ֆերմենտի կողմից: ԴՆԹ պոլիմերազի առաջընթաց շարժման համար անհրաժեշտ է ոչ միայն հելիկազների ապապարուրող գործունեությունը, այլև տոպոիզոմերազ I-ի կողմից կատարվող գերպարուրների վերացումը:

Ռեպլիկացման եղանի մեխանիզմի կատարյալ աշխատանքին խանգարում է երկու հանգամանք. մայրական ԴՆԹ-ի շղթաներն ունեն հակառակ ուղղվածություն, և ԴՆԹ պոլիմերազը կարող է ավելացնել նուկլեոտիդներ միայն 5'-3' ուղղությամբ: ԴՆԹ-ի դուստր շղթաներից մեկի սինթեզը սկսվում է մեկ պրայմերից և շարունակվում է 5'-3' ուղղությամբ առանց ընդհատումների: Այդ շղթան կոչվում է **առաջատար շղթա (leader strand)**, և այդ շղթայի սինթեզի ուղղությունը համընկնում է ռեպլիկացման եղանի շարժման ուղղության հետ: Նորաստեղծ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի երկրորդ շղթայի սինթեզը չի կարող ընթանալ 3'-5' ուղղությամբ: Բջջի լուծում է այս խնդիրը հետևյալ կերպ: 3'-5' մայրական շղթայի ազատված հատվածի երկայնքով ռեպլիկացման եղանի գազաթից սկսած և դրա շարժմանը հակառակ ուղղությամբ դասավորվում են մի քանի ՌՆԹ պրայմերներ: Պրայմերներից յուրաքանչյուրը աճում է 5'-3' ուղղությամբ՝ առաջացնելով կարճ (մի քանի հարյուր գույգ նուկլեոտիդ) երկարությամբ հատվածներ, որոնք անվանվում են **Օկազակիի ֆրագմենտներ կամ հատվածներ**: Երևույթը հայտնագործող գիտնականի անվամբ: Յուրաքանչյուր Օկազակիի ֆրագմենտի ՌՆԹ պրայմերը հեռացվում է և փոխարինվում հարևան Օկազակիի ֆրագմենտի սինթեզված ԴՆԹ-ի հատվածով: Հարևան ֆրագմենտների միացումը իրականացնում է **ԴՆԹ լիգազը** (նկար 26): ԴՆԹ-ի դուստր մոլեկուլի երկրորդ շղթայի սինթեզը քիչ ետ է մնում առաջատար շղթայի սինթեզից, ինչի պատճառով այդ շղթան կոչվում է **հապադող (lagging strand) շղթա**:

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

սի օղակաձև 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 հակաժինը**: Մեծ T հակաժնի հեքսամերն օժտված է հելիկազային ակտիվությամբ և կոչվում է **ռեպլիկացման հելիկազ**: Ռեպլիկացման հելիկազը, օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, ապապարտություն է մայրական ԴՆԹ-ի շղթաները: Այնուհետև առաջատար և հապաղող շղթաների վրա պրայմազները սինթեզում են մոտ 10 նուկլեոտիդից բաղկացած ՌՆԹ-ի հատված, և **ԴՆԹ պոլիմերազ α-ն** (Պոլ α) երկարացնում է պրայմերը ևս 20 նուկլեոտիդով: Առաջացած պրայմերը ներկայացնում է ՌՆԹ-ի և ԴՆԹ-ի հիբրիդային մոլեկուլ: Պրայմերի հետագա երկարացումը և ԴՆԹ-ի համապատասխան դուստր 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 հակաժին)**՝ կազմելով համալիր, որն անմիջապես պրայմերի սինթեզից հետո դուրս է մղում պրայմազ-Պոլ α համալիրը և զբաղեցնում է դրա տեղը: PCNA-ն հոմոտրիմեր է՝ կազմված է երեք նույնատիպ միավորներից, որոնք միացած են այնպես, որ կենտրոնում ձևավորվում է անցուղի: Այդ անցուղով ձգվում են նորաստեղծ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնակի շղթաները:

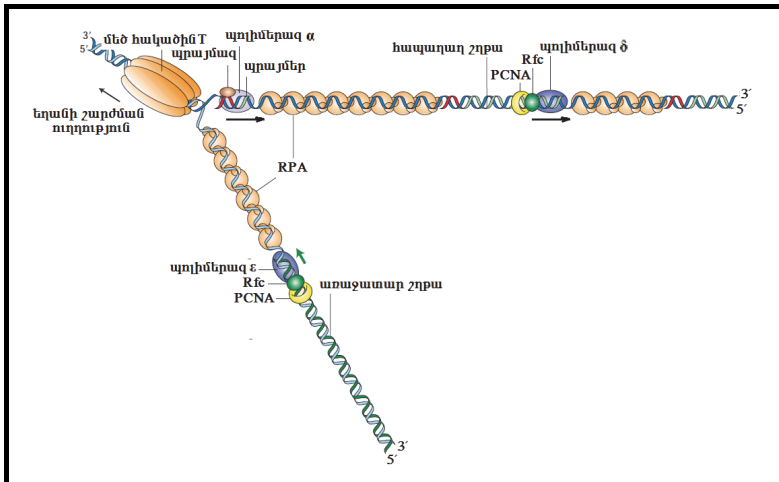


Նկար 26. Ռեպլիկացման եղանի շարժման ուղղությունը և դուստր շղթաների առաջացումը:

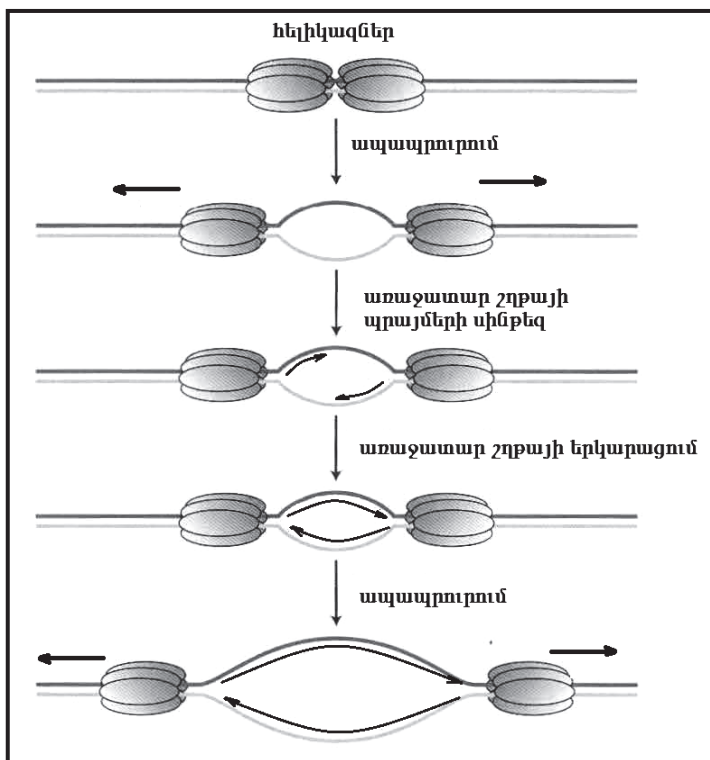
PCNA-ն, միավորելով Rfc-Պոլ **δ** և Rfc-Պոլ **ε**, համալիրները թույլ չի տալիս դրանց պոկվել ռեպլիկացման եղանից և այդ պատճառով անվանվում է **սահքիփական (sliding clamp)**: Rfc-ն անվանվում է **փականի տեղադրիչ (clamp loader)**, և վերջինիս դերն այն է, որ PCNA-ի անցումը պահում է բաց վիճակում, որպեսզի դրա միջով անցնի Պոլ **α**-ի կողմից սինթեզված կարճ ԴՆԹ-հատվածը: Մայրական ԴՆԹ-ի շղթաների բաժանումից հետո յուրաքանչյուր շղթային միանում են **ռեպլիկացման սպիտակուց A-ի (replication protein A-RPA)** բազմաթիվ մոլեկուլներ, ինչի շնորհիվ առանձնացված շղթաները պահպանում են ԴՆԹ-ի սինթեզի համար անհրաժեշտ կոնֆորմացիան: RPA սպիտակուցները դուրս են մղվում մայրական ԴՆԹ-ի շղթայով առաջ սահող ԴՆԹ պոլիմերազների մոլեկուլներով (Պոլ **α**, Պոլ **δ** և Պոլ **ε**-ով): Տոպոիզոմերազը կապվում է մայրական ԴՆԹ-ին ռեպլիկացման հեղիկայից առաջ, այսինքն՝ հակաժին T-ից դեպի ձախ (նկար 27): Օկլադակիի ֆրագմենտների 5' ծայրի նուկլեոտիդները հեռացվում են ռիբոնուկլեազներ H-ի և FEN I-ի կողմից, և Պոլ **δ**-ն դրանց փոխարինում է դեզոքսիռիբոնուկլեոտիդներով հաջորդ օկլադակիի ֆրագմենտին հասնելուն պես: Օկլադակիի ֆրագմենտները միմյանց միացվում են ԴՆԹ լիգազով սովորական 5'-3' ֆոսֆոդիֆերային կապի միջոցով:

ԴՆԹ-ի կրկնապատկումը սկսվում է օրիջինի կայքում 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 մուկլեոտիդների հեռավորության վրա: Էուկարիոտների օրիջիններին ճանաչում է վեց միավորից կազմված **ORC (origin recognition complex)** սպիտակուցը: Այն կապվում է և օրիջինների շուրջը հավաքագրում ռեպլիկացման հեղիկազները:

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



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



Նկար 28. Ռեպլիկացման եղանակների շարժումը հակառակ ուղղություններով: Օրիջինին միանում են հակաժին T-ի երկու մոլեկուլներ, որոնք առաջացնում են հակառակ ուղղություններով շարժվող երկու ռեպլիկացման եղանակներ:

Հայտնի ԴՆԹ պոլիմերազները երկարացնում են ԴՆԹ-ի շղթաները 3' ծայրից, և բոլորի գործունեության համար անհրաժեշտ են պրայմերներ: Երբ ռեպլիկացման եղանակը հասնում է գծային քրոմոսոմի 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 ռեպլիկացումից հետո դուստր ԴՆԹ-ի շղթան պետք է կարճանաք հապաղող շղթայի սինթեզի ավելի վաղ ավարտի պատճառով: Կենդանի բջիջներում դա

տեղի չի ունենում, քանի որ գործում է հատուկ 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 գուանինոլ հարուստ օլիգոնուկլեոտիդային հատվածներ: Մարդու և ողնաշարավորների ճնշող մեծամասնության մոտ այդ կրկնվող հատվածներն ունեն հետևյալ կազմը՝ ԹԹԱԳԳԳ: Այս հաջորդականությամբ հատվածները խմորասնկերի և նախակենդանիների քրոմոսոմների ծայրերում կրկնվում են հարյուրավոր անգամ, իսկ ողնաշարավորների մոտ՝ մի քանի հազար անգամ: Այսպիսով՝ քրոմոսոմների ծայրային հատվածները՝ **թելոմերները**, ունեն հատուկ կառուցվածք: Թելոմերներում ԴՆԹ-ի շղթայի 3' գուանինոլ հարուստ ծայրը մոտ 12-16 նուկլեոտիդի չափով ավելի երկար է կոմպլեմենտար շղթայի ցիտոզինոլ հարուստ 5' ծայրից: Թելոմերներին միացած են հատուկ սպիտակուցներ, որոնք պաշտպանում են շղթաներն էկզոնուկլեազների քայքայիչ ազդեցությունից և կապում են քրոմոսոմները բջջակորիզային հատուկ դոմենների 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 դեզօքսիռիբոնուկլեոտիդային շղթա, և թելոմերազի կողմից սինթեզված ԴՆԹ-ի շղթան լրացնում է մայրական ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումից հետո դուստր ԴՆԹ-ի կարճացած ծայրային հատվածը: Թելոմերազներ կողավորող գեներն ակտիվ են բնային բջիջներում և ինակտիվանում են բջիջների մասնագիտական զարգացման ընթացքում: Մասնագիտացած բջիջների հազվադեպ ռեպլիկացումների ժամանակ թելոմերազները կրկին ակտիվանում են: Թելոմերազային գեները լիովին վերականգնում են սկզբնական ակտիվությունը չարորակ վերասերում ապրած բջիջներում՝ ապահովելով վերջիններիս արագ բազմացումը:

ԳԼՈՒԽ 5

ԴՆԹ-ի վերականգնում կամ ռեպարացում

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

Բազմաթիվ ներբջջային ռեակցիաներ (էլեկտրոնների տեղափոխությունները էլեկտրոն-փոխադրող շղթայով միտոքոնդրիումներում, լիպիդների օքսիդացումը պերօքսիսոմներում) ընթանում են հիդրօքսիլ ռադիկալների կամ սուպերօքսիդի (O_2) առաջացմամբ: **Այս ռադիկալները վնասում են ԴՆԹ-ն:** Մուտացիայի հետևանքով կարող է առաջանալ դադարի կոդոն, կամ սպիտակուցի տրանսլյացիայի ժամանակ կարող է շեղվել ընթերցման շրջանակը: Ամենահաճախ հանդիպող կետային մուտացիան դեզամինացումն է, ինչի հետևանքով ցիտոզինը վեր է ածվում ուրացիլի, իսկ 5-մեթիլ ցիտոզինը՝ թիմինի: Եթե այդ փոփոխությունները չեն վերականգնվում, ապա ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումից հետո դառնում են կայուն ժառանգվող փոփոխություններ: Մուտացիաներ կարող են ծագել նաև ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնապատկման ընթացքում, երբ ԴՆԹ պոլիմերազը նորաստեղծ ԴՆԹ-ի շղթայի մեջ «սխալմամբ» մտցնում է մայրական շղթայի նուկլեոտիդին ոչ կոմպլեմենտար նուկլեոտիդ: Նման «սխալների» կուտակումը կարող է էականորեն խեղաթյուրել ժառանգական տե-

դեկատվությունը՝ հանգեցնելով բջջային ֆունկցիաների լիակատար խախտմանը:

ԴՆԹ-ում տեղ գտած մուտացիաները չեզոքացնելու համար էվոլյուցիայի ընթացքում զարգացել են հատուկ գործընթացներ, որոնք կոչվում են **ԴՆԹ-ի վերականգնման մեխանիզմներ կամ ԴՆԹ-ի ռեպարացում**: Բակտերիաների և էուկարիոտների ԴՆԹ-նե-րի վնասվածքների վերականգնման մեխանիզմներում գործում են գրեթե նույն սպիտակուցները, ինչը վկայում է դրանց վաղ էվոլյու-ցիոն ծագման մասին: ԴՆԹ-ի վերականգնման բոլոր մեխանիզմնե-րի գործունեությունը հենվում է մեկ ընդհանուր սկզբունքի վրա. վնասվածք պարունակող շղթայի հատվածը կտրվում և հեռացվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլից, առաջացած բացը լրացվում է ԴՆԹ պոլիմերա-զով, իսկ լիզազը միացնում է սինթեզված կոմպլեմենտար շղթան կտրված շղթայի ծայրին:

ԴՆԹ-ի տարաբնույթ վնասվածքների վերականգնման համար էվոլյուցիայի ընթացքում առաջացել են զանազան մեխանիզմներ, որոնք ուղղված են վերականգնելու մոլեկուլի երակետային կառուց-վածքը: Այդ մեխանիզմներից մեկը, որը կոչված է վերականգնելու ԴՆԹ-ի երկշղթա խզումները, մեծ դեր է կատարում սեռական բջիջ-ներում գեների նոր համադրությունների առաջացման ժամանակ, երբ փոխանակվում են հայրական և մայրական գծերով ժառանգված հոմոլոգ քրոմոսոմների համապատասխան հատվածները (քրոսին-գովեր): ԴՆԹ-ի վերականգնման կամ ռեպարացման մեխանիզմների անբավարար գործունեության հետևանքով գենոմում կուտակվում են ԴՆԹ-ի այնպիսի վնասվածքներ, որոնք կարող են շոշափել բջիջնե-րի բաժանումն իրականացնող գեների գործունեությունը: Նման դեպ-քերում խախտվում են միտոզի նորմալ ընթացքն ու կարգավորումը, և բջջային բաժանումների անվերահսկելի ակտիվացումը դառնում է չարորակ նորագոյացումների պատճառ:

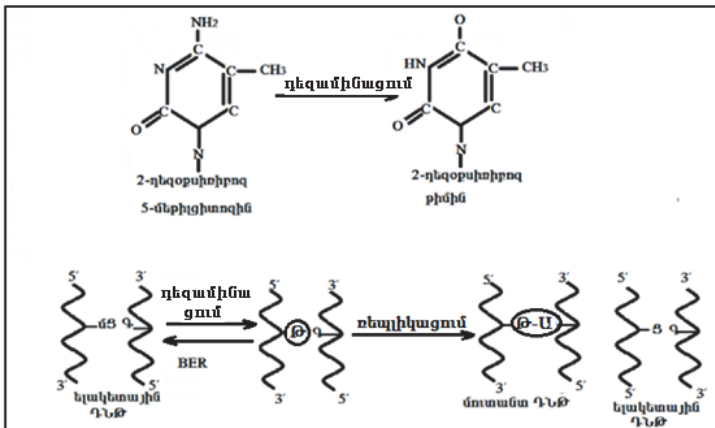
ԴՆԹ-ի վնասվածքների դեմ պայքարի առաջին գծում ԴՆԹ պոլիմերազներն են: Թեև *E.coli*-ի ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ժամանակ 10000 նուկլեոտիդներից մեկը ($1/10^4$) նորաստեղծ շղթայում չի համա-պատասխանում մայրական ԴՆԹ-ի բնօրինակին, մուտացիաների հաշվարկը ցույց է տալիս, որ նորաստեղծ ԴՆԹ-ում «սխալները»

շատ ավելի հազվադեպ են. հանդիպում են $1/10^9$ հաճախականությամբ: Նման ճշգրտությունը բակտերիաների և էուկարիոտների ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման ժամանակ բացատրվում է նրանով, որ ԴՆԹ պոլիմերազներ **Տ**-ն ու **Է**-ն օժտված են նաև 3'-5' էկզոնուկլեազային ակտիվությամբ: Երբ «սխալ» նուկլեոտիդը մտնում է նոր սինթեզված ԴՆԹ-ի շղթայի մեջ, այն չի կարողանում զուգավորվել 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:

Բացակայող ազոտական հիմքերի վերականգնման մեխանիզմ
(base excision repair-BER): Մարդու օրգանիզմում ամենատարածված կետային մուտացիան ցիտոզինի փոխարինումն է թիմինով, ինչը պայմանավորված է 5-մեթիլ ցիտոզինի դեզամինացմամբ: BER-ի մեխանիզմի գործունեության կրիտիկական պահը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կազմում գտնվող բնականոն թիմինների հստակ տարանջատումն 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-մեթիլ ցիտոզինի դեզամինացման հետևանքով առաջացած թիմինները մնում են զուգավորված ԴՆԹ-ի նորմալ շղթայի գուանինների հետ՝ առաջացնելով արտառոց գուանին-թիմին զույգեր (նորմալ գուանին-ցիտոզին զույգերի փոխարեն): Անբնական զույգերը 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 զույգերը ճանաչվում են **ԴՆԹ գլիկոզիլազ** 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 ֆոսֆոդիեթերային կապը, և թիմինը հեռացվում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլից:

Դրանից հետո խաղի մեջ է մտնում **ապուրինային էնդոնուկլեազը (AP)**, որը ճեղքում է ԴՆԹ-ի շղթան այն կետում, որտեղ բացակայում է պուրինային հիմքը, և հիմքից զրկված դեզօքսիռիբոզ-ֆոսֆատը հեռացվում է: Բացը ԴՆԹ-ի մոլեկուլում լրացնում է **ԴՆԹ պոլիմերազ β-ն**, որը, ընթերցելով ԴՆԹ-ի կոմպլեմենտար շղթան, գուանինի դիմաց դասավորում է ցիտոզինը, իսկ **AP լիգազը** 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:

Մարդու 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:

Շաքարային մնացորդներն ադենինին և գուանինին միացնող գլիկոզիլային կապը կարող է ինքնաբոխ քայքայվել, ինչի հետևանք-

քով հիմքերը հեռանում են ԴՆԹ-ի շղթայից: Նման փոփոխությունները նույնպես 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 (ինգերցիա), և հակառակը՝ նուկլեոտիդները կարող են սղվել: Թվարկված փոփոխությունների վերականգնումը բջիջներում ընթանում է **անհամապատասխանությունների վերականգնման մեխանիզմով (mismatch excision repair mechanism-MER)**: Ինչպես և BER մեխանիզմի գործունեության ժամանակ, թվարկված դեպքերում կրկին ծագում է ԴՆԹ-ի նորմալ և մուտացիայի ենթարկված շղթաների տարբերակման խնդիրը: Առայժմ 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 կողմնորոշ գեների մուտացիան հանգեցնում է ուռուցքազոյացման և տիպիկ է հաստ աղիների չարորակ ուռուցքների բջիջների համար:

Հաճախ ԴՆԹ-ի ազոտական հիմքերը ենթարկվում են քիմիական այնպիսի ձևափոխությունների, որոնց հետևանքով առաջացած անանցյալներն ընդունակ են ԴՆԹ-ի առանձին հատվածներում առաջացնելու մոլեկուլի կոնֆորմացիայի փոփոխություններ: Նման վնասվածքների վերականգնումն ընթանում է **սղված 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 TFIIH-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 TFIIH-ի առկայությամբ: Այսպիսով՝ բնությունը կարծես ջանում է առաջնահերթ վերականգնել ԴՆԹ-ի այն վնասվածքները, որոնք անմիջականորեն կարող են ազդել տրանսկրիպցիայի վրա: Երբ ՌՆԹ պոլիմերազը հանդիպում է ԴՆԹ-ի վնասված հատվածին, նրան միանում է CSB սպիտակուցը, որը միջնորդում է TFIIH միացումը: TFIIH-ը, օգտագործելով ԱԶՖ-ի էներգիան, ապապարտում է ԴՆԹ-ի մոտ 25 զն երկարություն ունեցող հատված: Այնուհետև համալիրին են միանում XP-G և RPA սպիտակուցները, որոնք, օժտված լինելով էնդոնուկլեազային ակտիվությամբ, կտրում են ԴՆԹ-ի շղթան վնասված կետից 25-32 զն հեռավորության վրա: Ձևափոխված նուկլեոտիդներ ընդգրկող ԴՆԹ-ի հատվածը հեռացվում է: Կտրված հատվածի փոխարեն ԴՆԹ-պոլիմերազը սինթեզում է նոր հատված, որը կոմպլեմենտար է ԴՆԹ-ի չվնասված շղթայի համապատասխան հատվածին: Նորոգված շղթայի կտրված ծայրերը միացնում է ԴՆԹ լիգազը:

Իոնիզացնող ճառագայթահարման և որոշ հակաքաղցկեղային դեղերի ներգործության հետևանքով ԴՆԹ-ի մոլեկուլում կարող են առաջանալ երկշղթա խզումներ: Այսպիսի վնասվածքների հետևանքները շատ ավելի վնասաբեր 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 recombinations HR) և ոչ հոմոլոգ (nonhomologous recombination NHR) վերադասավորումների մեխանիզմները**: Ըստ էության, ԴՆԹ-ի վնասված հատվածները կարող են վերականգնվել նրա շնորհիվ, որ ստեղծվում է հոմոլոգ քրոմոսոմի համապատասխան հատվածի պատճեն, որը փոխարինում է ԴՆԹ-ի վնասված հատվածին: Կարող է տեղի ունենալ նաև ԴՆԹ-ի հոմոլոգ շղթաների հատվածների փոխանակում այնպես, ինչպես մեյոզում քրոմոսոմների քրոսինգովերի ժամանակ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Barnes D. E., Lindahl T. (2004). Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Ann. Retv. Genet.* 38:445-476.
2. Bell C. E. (2005). Strucrure and mechanism of Eschericia 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. Opm. Struc. 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 Bioi.* 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 narure 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. Blophys.* 41:41-101.
11. Stillman B. (2008). DNA polymerases at the replication fork in eukaryores. *Cell* 30:259-260.
12. Yoshida K., Miki Y. (2004). Role of BRCA land BRCA2 as regulators of DNA repair, transcnprion, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci.* 95:866-871.

ԳԼՈՒԽ 6

ՌՆԹ-ների սինթեզ և հասունացում

Օրգանիզմի գենների ամբողջականությունը կոչվում է **գեոմ**: **ԴՆԹ-ի** այն հատվածը, որը գաղտնագրում է պոլիպեպտիդային շղթա կամ 3 տիպի հիմնական **ՌՆԹ-ներից** (փոխադրիչ, ինֆորմացիոն, ռիբոսոմային) որևէ մեկի մոլեկուլը կոչվում է **գեն**: Գենի կազմի մեջ մտնող այն մուկլեոտիդային հաջորդականությունները, որոնք գաղտնագրում են ամինաթթուներ կամ հիմնական տիպի **ՌՆԹ-ներ**, կոչվում են **կոդավորող (գաղտնագրող) շրջաններ**: Բացի կոդավորող շրջաններից՝ գենը պարունակում է այնպիսի մուկլեոտիդային հաջորդականություններ, որոնք անհրաժեշտ են ոչ հիմնական, տարբեր տիպի **ՌՆԹ-ների** սինթեզի համար (աղյուսակ 1): Գենների այն շրջանները, որոնք կարգավորում են տվյալ գենի տրանսկրիպցիայի հոգրությունը, կարող են գտնվել կոդավորող շրջանից 50Կբ (50 000 գն) հեռավորության վրա: Գենների այդ շրջանները կոչվում են **էնհանսերներ**: Գենի կազմի մեջ են մտնում նաև **պրոմոտոր** կոչվող հատվածները, 3՝ ծայրում **ճեղքում-պոլիադենիլացում**ն ապահովող մուկլեոտիդային հաջորդականությունները և նախա-**ՌՆԹ-ների** **սալայ-սինգը** պայմանավորող **սալայսինգի կայքերը**:

Բակտերիաների ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլները կոդավորում են կենսաքիմիական փոխակերպումների մեկ շղթայում ընդգրկված սպիտակուցներ (տրիպտոֆանի օպերոն, լակ-օպերոն, որոնք կարգավորում են համապատասխանաբար տրիպտոֆան ամինաթթվի սինթեզը կամ լակտոզի ճեղքավորումը): Նման ի-ՌՆԹ-ներն անվանվում են պոլիցիստրոնիկ: Ցիստրոնը գենետիկական միավոր է, որը կոդավորում է մեկ սպիտակուց: Էուկարիոտների ի-ՌՆԹ-ները մոնոցիստրոնիկ են: Բակտերիաների և էուկարիոտների ի-ՌՆԹ-ների վերը նշված տարբերության հետևանքով բակտերիաների և էուկարիոտների տրանսլյացիայի գործընթացներն ունեն արտահայտված տարբերություններ:

1. **Բակտերիաների մոտ ռիբոսոմի և ի-ՌՆԹ-ի միացման կայքը գտնվում է յուրաքանչյուր սպիտակուց-կոդավորող շրջանի**

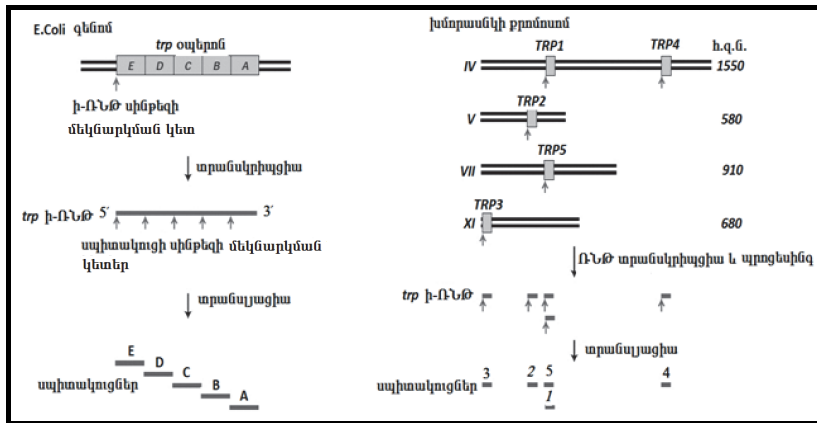
կամ ցիտորոնի մեկնարկի կայքի հարևանությամբ: Տրանսլյացիան կարող է սկսել ցանկացած միացման կայքից՝ առաջացնելով մի քանի տարբեր սպիտակուցներ միաժամանակ (նկար 30):

2. **Էուկարիոտների մոտ Ի-Ռ-ՆԹ-ի միացումը ռիբոսոմին իրականանում է միայն մոլեկուլի 5՝ կեպավորված ծայրի միջոցով, և տրանսլյացիան մեկնարկում է մոտակա ԱՌԳ-եռյակից:** Այսպիսով՝ ի հակադրություն պրոկարիոտների տրանսլյացիայի՝ **էուկարիոտների տրանսլյացիան սկսում է եզակի մեկնարկային կայքից:**

Բազմաբջիջ էուկարիոտների գեների սպիտակուց կոդավորող հատվածները կոչվում են **էկզոններ**: Էկզոնների միջև գտնվում են հատվածներ, որոնք ամինաթթուներ չեն կոդավորում: Այդ հատվածները կոչվում են **ինտրոններ**: Ի-Ռ-ՆԹ-ի սինթեզից հետո մոլեկուլի **հասունացման (պրոցեսինգի)** փուլում ինտրոններին համապատասխանող հատվածները մոլեկուլից հեռացվում են: Ի-Ռ-ՆԹ-ների պրոցեսինգն ընթանում է բջջակորիզում: Ինտրոնների երկարությունը կարող է մի քանի անգամ գերազանցել էկզոնների երկարությունը: Մարդու մոտ ինտրոնի միջին երկարությունը հասնում է 3,3 Կբ (3300 զն), իսկ ամենամեծ ինտրոնը հայտնաբերված է կմախքային մկաններում գտնվող տիտին սպիտակուցը կոդավորող **տիտին-գեն**ում: Տիտինի ինտրոնի երկարությունը հասնում է 17 106 զն (կամ գրեթե 17 Կբ) այն պարագայում, որ էկզոնների երկարությունները միջինում չեն գերազանցում 50-200 զն: Միջին չափի սպիտակուց կոդավորող գենի երկարությունը մարդու մոտ կազմում է 50000 զն, բայց այդ հաջորդականությունների 95 %-ը կազմում են ինտրոնները և 5՝ և 3՝ ծայրային «**էկզոավորող**» հաջորդականությունները: **Բակտերիաների և միաբջիջ էուկարիոտների գեներն ինտրոններ չեն պարունակում:**

Բարձրակարգ օրգանիզմների բազմաթիվ խոշոր սպիտակուցներին հատուկ է որոշակի կառուցվածքային դոմենների կրկնություն: Այդպիսի սպիտակուցներ կոդավորող գեներն ունեն մույնատիպ կրկնվող էկզոններ, որոնք տարբեր սպիտակուցներին համապատասխանող գեներում միմյանցից անջատված են տարբեր երկարություն ունեցող ինտրոններով: Նման գեների տիպիկ ներկայացու-

ցիչ է միջբջջային մատրիքսի (հենքի) ֆիբրոնեկտին սպիտակուցը կողավորող գենը: Բարձրակարգ էուկարիոտների մոտ սպիտակուց կողավորող էկզոնները կարծես թե շրջապատված են անգործունյա ԴՆԹ-ով: ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականության վերլուծությունը (սիկվենսավորում) բացահայտեց, որ նույն 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 ֆունկցիոնալ նշանակությունը մեծ չէ: Այնուամենայնիվ, ինտրոնները զգալի դեր են կատարում էվոլյուցիայում, քանի որ ստեղծում են բազմադոմեն և դոմենների նոր համադրություններով սպիտակուցների առաջացման հնարավորություններ: Բացի դրանից՝ աղյուսակ 1-ում նշված փոքր կորիզային, չկողավորող երկար և միկրո-ՌՆԹ-ների մի ստվար խումբ առաջանում է ինտրոններից:

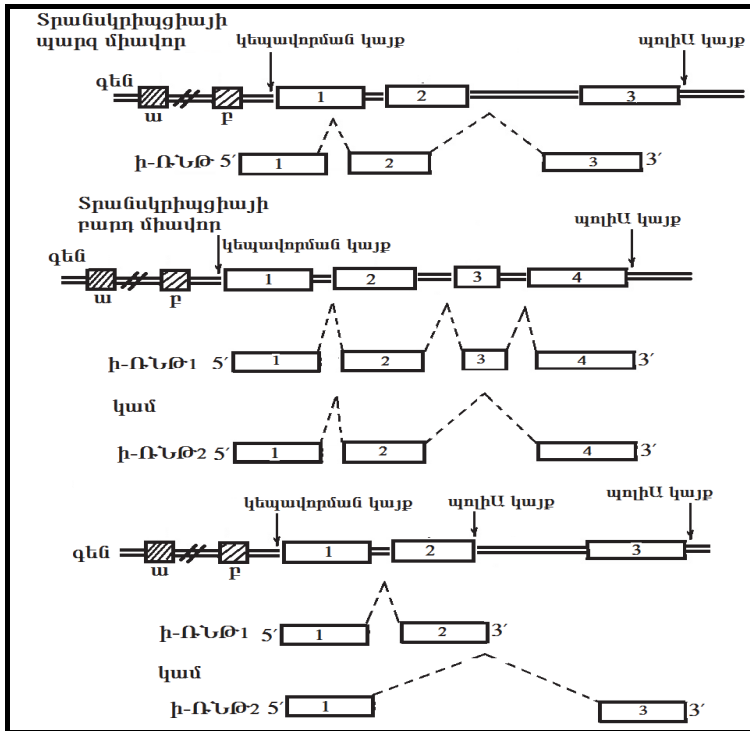


Նկար 30. Տրանսկրիպցիայի և տրանսլացիայի գործընթացների տարբերությունները պրոկարիոտների և էուկարիոտների մոտ: Խմորասնկի մոտ տրիպտոֆանի սինթեզն իրականացնող սպիտակուցների գենները գտնվում են տարբեր քրոմոսոմներում - IV, V, VII, XI:

Տրանսկրիպցիայի միավորներ: Բակտերիաների օպերոնները կազմված են գեների խմբերից, որոնց տրանսկրիպցիան սկսում է մեկ պրոմոտորից և ավարտվում մեկ տերմինացման կայքով: Օպերոնի տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզվում է մեկ պոլիցիստրոն ի-ՌՆԹ-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:

Էուկարիոտների մոտ տրանսկրիպցիայի միավորները լինում են պարզ և բարդ (նկար 31): Տրանսկրիպցիայի պարզ միավորի վրա սինթեզված նախա-ի-ՌՆԹ-ն հասունացումից հետո առաջացնում է մեկ տիպի ի-ՌՆԹ, որը կոդավորում է մեկ սպիտակուց: Ցանկացած մուտացիա, որը տեղի է ունենում էկզոններում, ինտրոններում, տրանսկրիպցիայի կարգավորման կայքերում կամ պրոմոտորում անխուսափելիորեն հանգեցնում է սպիտակուցի փոփոխությանը: Մարդու մոտ տրանսկրիպցիայի պարզ միավորները համեմատաբար հազվադեպ են (β-գլոբինի գեն):

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



Նկար 31. Տրանսկրիպցիայի բարդ և պարզ միավորներ: 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-ՌՆԹ-ներից յուրաքանչյուրը մոնոցիստրոն է, քանի որ կոդավորում է մեկ պոլիպեպտիդային շղթա: Տարբեր բջիջներում կամ հյուսվածքներում նույն գենից պատճենված նախա-ի-ՌՆԹ-ի այլընտրանքային սպլայսինգի արդյունքում հաճախ առաջանում են տարբեր տիպի ի-ՌՆԹ-ներ, ինչը և պայմանավորում է տվյալ սպիտակուցի հյուսվածքային առանձնահատկությունները: Օրինակ՝ ֆիբրինեկտին (միջբջջային հենքային սպիտակուց) սպիտակուցը կոդավորող ի-ՌՆԹ-ները տարբեր են լյարդի և մկանային բջիջների մոտ:

Այդ ալլընտրանքային ի-Ռ-ՆԹ-ներից սինթեզված ֆիբրինեկտինի մոլեկուլները տարբերվում են ընդամենը մի դոմենով, որը պայմանավորում է սպիտակուցի միացումը բջջաթաղանթին: Ի-Ռ-ՆԹ-ի ալլընտրանքային սպլախինգի կենսաբանական դերն այն է, որ այդ երևույթն ապահովում է բարձրակարգ օրգանիզմների սպիտակուցների առեղծվածի բազմազանությունը գենոմի սահմանափակ ծավալի պարագայում:

Մուտացիան կարող է տեղի է ունենալ տրանսկրիպցիայի կարգավորման կայքում կամ այն էկզոնում, որն ընդհանուր է ալլընտրանքային սպլախինգից առաջացած տարբեր ի-Ռ-ՆԹ-ների համար: Նման մուտացիան կփոխի ի-Ռ-ՆԹ-ների բոլոր տարբերակները, հետևաբար դրանց կողմից կոդավորվող բոլոր սպիտակուցները: Այն դեպքում, երբ մուտացիայի է ենթարկվում այնպիսի էկզոն, որը ներկա է ալլընտրանքային սպլախինգի միայն մեկ վերջնանյութում, ապա կփոխվի միայն այդ ի-Ռ-ՆԹ-ի կողմից կոդավորվող սպիտակուցը:

Էուկարիոտ օրգանիզմների գենոմի վիթխարի մեծությունն առաջ է քաշում կարևոր հարց. արդյոք գենոմում պարունակվող ԴՆԹ-ի քանակությունը պայմանավորված է գենների մեծ քանակությամբ, որը տասնյակ-հարյուրավոր անգամ գերազանցում է պրոկարիոտների գենների քանակը: Հարցի պատասխանը ուրվագծվեց 60-ականների վերջում, երբ բացահայտվեց, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլում պարունակվում են բազմաթիվ կրկնվող նուկլեոտիդային հաջորդականություններ: Այդ փորձերում ԴՆԹ-ն տրոհում էին փոքր հատվածներ, որոնք ենթարկվում էին ջերմային բնափոխման: Ջերմային բնափոխումից հետո ջերմաստիճանի հետագա իջեցման հետևանքով միաշղթա հատվածները ռենատուրացվում են (վերականգնվում է հատվածների երկշղթա կառուցվածքը): Ռենատուրացման արագությունը կախված է նուկլեոտիդային հաջորդականությունների կազմից: Օրինակ՝ դիտարկենք բակտերիայի և որևէ կաթնասունի ԴՆԹ-ները: Քանի որ էուկարիոտների 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: Դրանից բխում 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 տարբեր 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 մուկլեոտիդային հաջորդականություններ բազմիցս կրկնվում են: Ուրցագեղձի ԴՆԹ-ի մնացած 60 %-ը շատ ավելի դանդաղ է ռենատուրացվում, քան բակտերիաների ԴՆԹ-ն: Այսպիսով՝ էուկարիոտների ԴՆԹ-ն, ըստ ռենատուրացման կինետիկայի, բաժանվում է երկու տարբեր տիպերի՝ արագ ռենատուրացվող, որը կազմված է կրկնվող մուկլեոտիդային հաջորդականություններից, և դանդաղ ռենատուրացվող, որը կազմված է չկրկնվող մուկլեոտիդային 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 տարբեր 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 մաս որոշ սպիտակուց կոդավորող գեների (հիստոնային գեներ) կամ ռիբոսոմային ՌՆԹ-ները կոդավորող գեների 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 թույլ տվեց կազմել ԴՆԹ-ի տարբեր տիպերի և ֆունկցիոնալ նշանակության հատվածների պարունակության մոտավոր աղյուսակը (աղյուսակ 3):

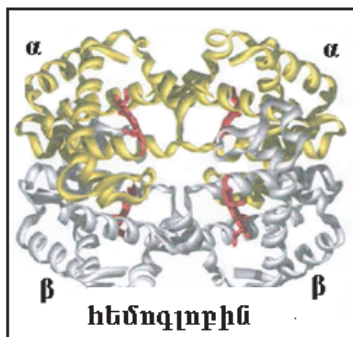
6.1. Սպիտակուց կողավորող գեներ

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

Բազմաբջիջ օրգանիզմների քրոմոսոմների հապլոիդ հավաքակազմում սպիտակուց կողավորող գեների 25-50 %-ը ներկայացված է եզակի գեներով: Եզակի գեների ամենալավ ուսումնասիրված օրինակը թռչունների լիզոցիմ սպիտակուցը կողավորող գենն է: Լիզոցիմ սպիտակուցով հարուստ է թռչունների ձվի սպիտակուցը, և այն պարունակվում է կաթնասունների թթում և արցունքահեղուկում: Լիզոցիմը ճեղքավորում է բակտերիաների բջջապատի պոլիսախարիդները, ինչով և պայմանավորված է ֆերմենտի բակտերիասպանունակությամբ: Լիզոցիմ կողավորող գենի երկարությունը հասնում է 15 հզն: Այն 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 մուլիլետտիզային կազմը շատ մոտ է, սակայն մույնական չէ: Իրականում այս խմբի գեները գենոմում ներկայացված են ոչ թե պատճեններով, այլ մմանակներով: Սովորաբար դրանք դասավորված են մեկը մյուսի հետևից, և ԴՆԹ-ի այն հատվածը, ուր տեղակայված են մմանակ գեները, ձգվում է 5-50 հզն: **Նմանակ գեների ամբողջությունը, որը կողավորում է մմանատիպ, բայց ոչ մույն ամի-**

նաթթվային հաջորդականությամբ սպիտակուցներ, կոչվում է գեների ընտանիք: Այն սպիտակուցները, որոնք կոդավորվում են գեների ընտանիքի կողմից, կազմում են սպիտակուցների ընտանիքներ: Սպիտակուցների նման ընտանիքների օրինակներ են պրոտեինկինազները, իմունոազլոբուլինները, բազմաթիվ բջջային ռեցեպտորները և այլն: Սպիտակուցների ընտանիքները կարող են պարունակել մի քանի հարյուր անդամ (կորիզային ռեցեպտորներ), բայց կարող են ավելի սակավաթիվ 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_γ , G_γ , ϵ : Այս գեներով գաղտնագրված պոլիպեպտիդները համապատասխանաբար անվանվում են β , δ , A_γ , G_γ , ϵ 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):

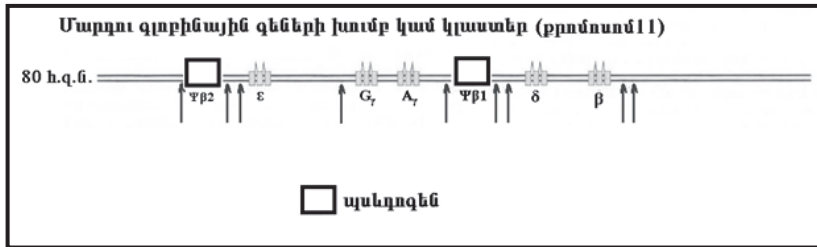


Նկար 32. Հեմոգլոբինի մոլեկուլի կառուցվածքը: Կարմիր գույնով նշված են հեմային (երկաթ-պորֆիրինային) խմբերը:

Բնականաբար, սպիտակուցների մույն ընտանիքի անդամների միևնույն դոմենները կոդավորող ԴՆԹ-ի հատվածների մուկլետոպիդային հաջորդականությունները կրկնվում են, սակայն քանի որ սպիտակուց կոդավորող գեների ընհանուր պարունակությունը չնչին է (աղյուսակ 3), ԴՆԹ-ի նման կրկնությունները զգալի դեր չեն կատարում:

Թեև β -գլոբինային գեների ընտանիքի տարբեր գեներով կոդավորվող հեմոգլոբինների տիպերը մարդու օրգանիզմում կատարում են նույն ֆունկցիան՝ թթվածնի տեղափոխությունը, յուրաքանչյուր տիպի հեմոգլոբին ունի ուրույն դեր մարդու օրգանիզմի զարգացման տարբեր փուլերում: Օրինակ՝ A_γ կամ G_γ պոլիպեպտիդներն արտադրվում են միայն սաղմնային զարգացման փուլում: Սաղմնային հեմոգլոբիններն ավելի բարձր խնամակցություն են դրսևորում թթվածնի հանդեպ, քան զարգացման ավելի ուշ փուլերում արտադրվող հեմոգլոբինները, և դրա շնորհիվ կարողանում են թթվածին կորզել ընկերքում շրջանառվող մայրական արյունից: Հետսաղմնային զարգացման փուլերում արտադրվող հեմոգլոբիններն ավելի ցածր խնամակցություն ունեն թթվածնի նկատմամբ, ինչի շնորհիվ հեշտությամբ անջատում են թթվածին և տալիս այն հյուսվածքների բջիջներին: Հասուն օրգանիզմի բջիջներում հատկապես, մկանային հյուսվածքների բջիջներում էներգիայի ծախսերը կտրուկ աճում են, ինչի հետ կապված աճում է թթվածնի սպառումը: Հավանաբար, էվոլյուցիայի ընթացքում β -գլոբինային գեները ծագել են մեկ «ծնողական» գենից մեյոտիկ ռեկոմբինացման շնորհիվ: Առաջացած նմանակ գեներում կուտակվել են զանազան մուտացիաներ, և գեների այն տարբերակները, որոնք ապահովել են թթվածնի տեղափոխման համար ավելի արդյունավետ գործող հեմոգլոբինները, ամրագրվել են բնական ընտրության ընթացքում: Գեների կազմում նման մուտացիաների ամրագրումը ստացել է «հաջորդականությունների տեղաշարժ» կամ «սահք» անվանումը: Այսպիսով՝ մարդու գլոբինային գեների ներկա բազմազանության պատճառը գեների կրկնապատկումն է և գեներում կատարված «հաջորդականությունների սահքը»: β -գլոբինային գեների քլաստերը (գեների խումբը) պարունակում է հաջորդականություններ, որոնք թեև նման են աշխատող գեների նուկլեոտիդային հաջորդականություններին, սակայն անգործունակ են (դրանցից տրանսկրիպցիա չի կատարվում): Այդ նուկլեոտիդային հաջորդականությունները կոչվեցին **պսևդոգեներ կամ կեղծ գեներ** (նկար 33): Նուկլեոտիդային հաջորդականությունների վերլուծությունը ցույց տվեց, որ պսևդոգեները, ինչպես և նորմալ գեները կա-

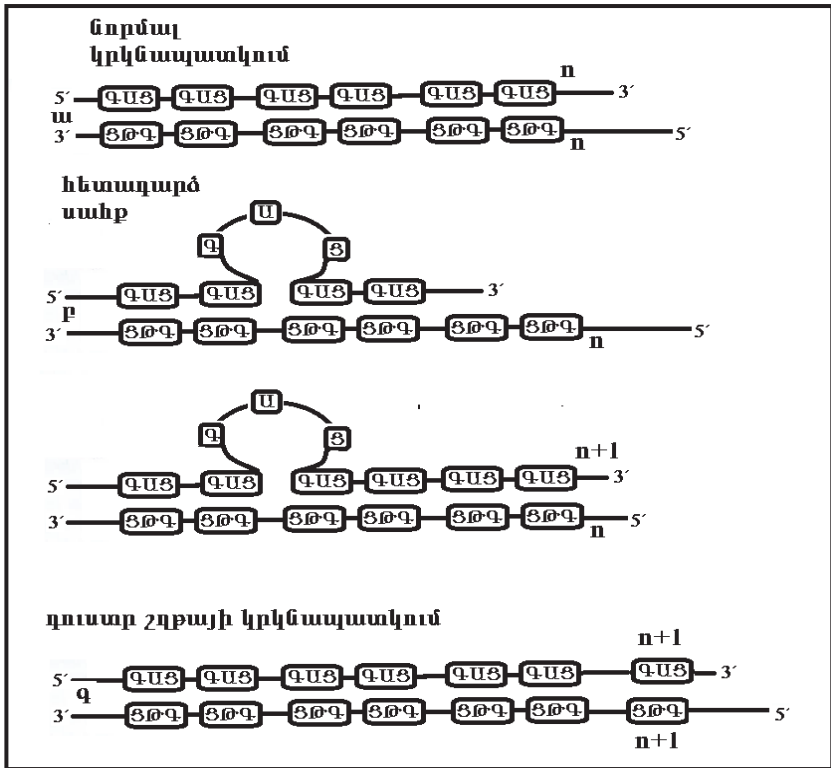
ռուցված են էկզոններից և ինտրոններից: Էվոլյուցիայի ընթացքում պսևդոգեները ծագել են «հաջորդականությունների սահքի» հետևանքով: Հավանաբար «հաջորդականությունների սահքը» առաջացրել է նուկլեոտիդային այնպիսի հաջորդականություններ, որոնք հանգեցրել են կա՛մ համապատասխան ի-ՌՆԹ-ի տրանսլյացիայի վաղաժամ ընդհատմանը, կա՛մ խաթարել են ի-ՌՆԹ-ի հասունացումը (պրոցեսինգը)՝ արգելակելով վերջինիս մասնակցությունը համապատասխան սպիտակուցի սինթեզի գործընթացին:



Նկար 33. Մարդու գլոբինային գեների ընտանիք: Սլաքերով նշված են *Alu* ռեպտրիկտացով ԴՆԹ-ի ճեղքավորման կայքերը:

Էվոլյուցիայի ընթացքում կրկնապատկվել են ոչ միայն առանձին գեներ, այլև ամբողջ քրոմոսոմների առանձին հատվածներ: **Քրոմոսոմների հատվածների կրկնապատկումը կոչվում է սեգմենտային կրկնապատկում:** Սեգմենտային կրկնապատկման գույակցումը «հաջորդականությունների սահքի» հետ հանգեցրել է ոչ միայն պսևդոգենների, այլև գենային ընտանիքների առաջացմանը: Հաճախ գեների ընտանիքի անդամները կարող են տեղավորված լինել տարբեր քրոմոսոմների վրա: Մասնավորապես դա վերաբերում է α -գլոբինների գեներին, որոնք, ինչպես և β -գլոբինները, առաջացել են ընդհանուր «ծնողական» գենից, սակայն բաժանվել են β -գլոբինների կլաստերից քրոմոսոմային տրանսլոկացման հետևանքով: Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի որոշ հատվածներ կարող են կրկնվել գենոմում սպիտակուցների գենային ընտանիքների գոյության շնորհիվ և հիստոնային ու ռիբոսոմային գեների տանդեմային կրկնությունների հետևանքով: Վերոհիշյալ պատճառներով պայմանավորված ԴՆԹ-ի հատվածներ

րի կրկնությունը կազմում է դիտվող կրկնությունների չնչին մասը (աղույսակ 3):



Նկար 34. ԴՆԹ-ի առանձին հատվածի կրկնապատկումը ռեպլիկացման երկու փուլերից հետո: ԴՆԹ-ի սինթեզվող դուստր շղթան մերկայացված է 3'-5' ուղղությամբ, n-ով նշված է մուկլետոսիդային եռյակների թիվը: Երկրորդ ռեպլիկացման ժամանակ առաջին փուլի դուստր շղթան հանդես 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**: Միջի-

նում սատելիտային ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների երկարությունը տատանվում է 1-500 գն: Դրանք կազմում են գենոմի մոտ 6 %-ը: Մարդու և այլ կաթնասունների համար կրկնվող պարզ նուկլեոտիդային հաջորդականությունները զբաղեցնում են 1-5 հզն երկարությամբ շրջաններ, որոնք ընդգրկում են 20-50 կրկնվող հատվածներ: Այն կրկնվող հատվածները, որոնք կազմված են 14-100 զույգ նուկլեոտիդներից, կոչվում են **միմիսատելիտներ՝** ի տարբերություն **միկրոսատելիտների**, որոնք կազմված են 1-13 զույգ նուկլեոտիդներից: Միմիսատելիտների երկարությունների ամենաչնչին տարբերությունները հայտնաբերվում են Սաուզերն-բլոթինգի և պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի (PCR) մեթոդներով, որոնք միավորվում են «ԴՆԹ-ի մատնահետքերի» մեթոդի անվան տակ:

Միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածների երկարությունը սովորաբար 1-4 զույգ նուկլեոտիդ է, և այդ հատվածները կրկնվում են մոտ 150 անգամ: Հավանաբար միկրոսատելիտները ծագել են ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնապատկման ժամանակ, երբ դուստր շղթան հետ է սահել մայր շղթայի վրայով (նկար 34): **Միկրոսատելիտները գտնվում են տրանսկրիպցիայի միավորների սահմաններում:** Մարդկային պոպուլյացիայում հանդիպում են առանձնյակներ, որոնց մոտ որոշ գեների 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 ռեցեսիվ կամ դոմինանտ դրսևորում: Ապացուցված է, որ միկրոսատելիտների ընդլայնված խմբերը ավելի քան 14 տարբեր տիպի նեյրոմկանային հիվանդությունների պատճառ են: Այդ հիվանդություններից շատերը պայմանավորված են նրանով, որ գենի էկզոնում կրկնվում է նուկլեոտիդային որևէ եռյակ, ինչի հետևանքով սինթեզվում է մեկ ամինաթթվի պոլիմերային մոլեկուլ: Այդպիսի ամինաթթվային պոլիմերները, կուտակվելով նյարդային բջիջներում, առաջացնում են ագրեգատներ (ծուլվում են)՝ խաթարելով նյարդային բջիջների բնականոն գործունեությունը: Ընդլայնված միկրոսատելիտները կարող են գտնվել նաև գենի սպիտակուց չկոդավորող մասերում: Սովորաբար գտնվելով նման դիրքում՝ միկրոսատելիտներ-

րը խախտում են գենից արտատպվող ի-ՌՆԹ-ների հասունացման գործընթացը (այլընտրանքային սպլայսինգը) և դրսևորում են դոմինանտ մուտացիային հատուկ վարք:

Հարկ է նշել, որ պարզ հաջորդականություններով կրկնվող ԳՆԹ-ի մեծ մասը ներկայացված է 14-500 գույգ նուկլեոտիդ երկարությամբ հատվածների տանդեմային կրկնություններով, որոնց գումարային երկարությունը կազմում է 20-100 հգն: ԳՆԹ-ի մնացած հատվածները գտնվում են հատուկ քրոմոսոմային շրջաններում: Դրանց ճնշող մեծամասնությունը դասավորված է ցենտրոմերների մոտ, որոնց միանում են բաժանման իլիկի թելիկները միտոզի և մեյոզի ժամանակ: ԳՆԹ-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 ԳՆԹ-ն գտնվում է մակ քրոմոսոմների թելոմերային շրջաններում: Այդ դիրքում նրանք ապահովում են քրոմոսոմների ծայրերի ամբողջականությունը և արգելակում են տարբեր քրոմոսոմների ծայրերի միացումը:

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

Աղյուսակ 3.

ԴՆԹ-ի հիմնական դասերը և դրանց պարունակությունը մարդու գենոմում

	ԴՆԹ-ի հատվածի երկարություն	Քանա- կություն	% պարունակությու- նը մարդու գենոմում
Սպիտակուց կոդավորող գեներ	0.5-22 00 հ.գ.ն	25 000	55 -ինտրոնների հետ միասին 1,1 - միայն էկզոններ
Տանդեմային կրկնվող գեներ			
U2snRNAs կամ (U2փ.կ.ՌՆԹ)	6.1 հգն	20	0.001-ից փոքր
Ռ-ՌՆԹ	4.3 հգն	300	0.4
ԴՆԹ-ի կրկնվող հատվածներ			
Պարզ հաջորդա- կանությամբ ԴՆԹ հատված- ներ	1-500 հգն	Փոփո- խական քանակ	6
Անկանոն բաշխվածությամբ կրկնվող հատվածներ (ԴՆԹ-ի շարժուն տարրեր)			
ԴՆԹ տրանսպո- զոններ	2-3 հգն	300 000	3
LTR ռետրանս- պոզոններ	6-11 հգն	440 000	8
Ոչ-LTR ռետրանսպոզոններ			
LINE-ներ	6-8 հգն	860 000	21
SINE-ներ	100-400 հգն	1 600 000	13
Կեղծ գեներ (պսևդոգեներ)	Փոփոխական	1-100	0.4
Չդասակարգված միջանկյալ ԴՆԹ (սպեյսեր ԴՆԹ)	Փոփոխական	անհայտ	25

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

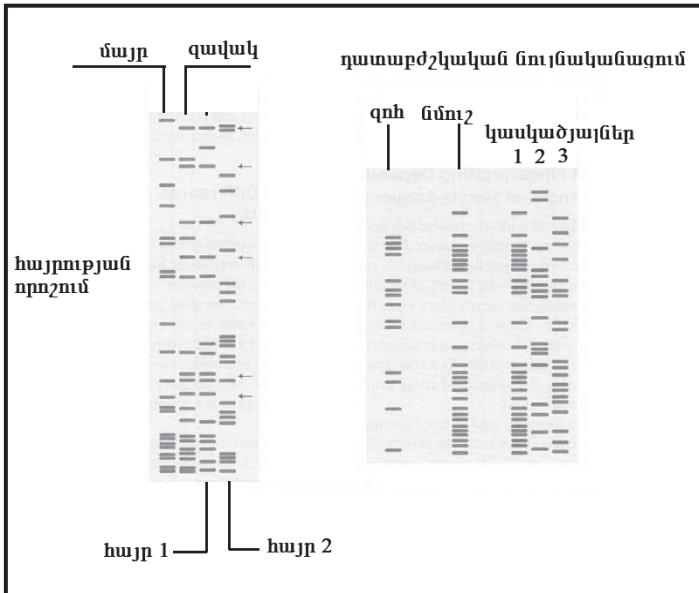
6.2. ԴՆԹ-ի նույնականացման «մատնահետքերի» մեթոդ և միմիսատելիտային ԴՆԹ

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 հատվածների անհավասարաչափ խաչաձև փոխանակումն է մեյոզի ժամանակ (քրոսինգովեր): Քանի որ նման քրոսինգովերը կրում է անվերարտադրելի պատահական բնույթ, կրկնությունների թիվը դառնում է եզակի յուրաքանչյուր առանձնյակի համար: ԴՆԹ-ի նույնականացման համար հետազոտվում են այն միմիսատելիտները, որոնցում հատվածները կրկնվում են 30-50 անգամ: Կրկնությունների թիվը տարբերվում է հոմոլոգ 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 միմիսատելիտների ամենաչնչին տարբերությունները, ինչն ընկած է ԴՆԹ-ի դատաբժշկական նույնականացման մեթոդի հիմքում:

Մարդու 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, հնչում 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**-ներ բնորոշում են մարդու մոտ տարբեր ծանր հիվանդությունների դրսևորման հավանականությունը: **SNP-ների մեծամասնությունը գտնվում է ԴՆԹ-ի սպիտակուց չկոդավորող շրջաններում, դասավորված են հաջորդաբար, գրավում են քրոմոսոմի որոշակի տիրույթ և համատեղ են ժառանգվում: SNP-ների այդ տիրույթները կոչվում են հապլոտիպ, և դրանք նկարագրված են HapMap կոչվող տվյալների բազայում:**



Նկար 35. Նկարի ձախակողմյան հատվածում պատկերված են մայրական և երկու ենթադրյալ հայրերի միմիաստեղիտային ԴՆԹ-ների էլեկտրաֆորեզրամները: Երեխայի միմիաստեղիտային հատվածներն ակնհայտորեն համընկնում են առաջին անձի (հայր 1) միմիաստեղիտային հատվածների հետ: Նկարի աջ կողմում ներկայացված է կասկածյալ 1-ի ԴՆԹ-ի միմիաստեղիտների նույնությունը հանցագործության վայրում հայտնաբերված ԴՆԹ-ի նմուշի միմիաստեղիտների հետ: Սլաքերով նշված են երեխայի և հոր ընդհանուր ֆրագմենտները: Դատաբժշկական 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 քրոմոսոմների կառուցվածքի ձևավորման ժամանակ:

6.3. ԴՆԹ շարժուն տարրեր

ԴՆԹ շարժուն տարրերը հայտնաբերված են թե՛ պրոկարիոտների, թե՛ էուկարիոտների մոտ: Այն շարժուն տարրերը, որոնք տեղափոխվում են ԴՆԹ-ի հատվածների ձևաչափով, կոչվում են ԴՆԹ տրանսպոզոններ կամ պարզապես տրանսպոզոններ: Այն տրանսպոզոնները, որոնց տեղաշարժը միջնորդվում է ՌՆԹ-ի մոլեկուլով, կոչվում են ռետրանսպոզոններ: Ռետրանսպոզոնները, ըստ էության, սինթեզում են իրենց պատճենը և ներմուծում այն գենոմի որևէ նոր կայքում, իսկ «քնօրինակը» մնում է հին տեղում: Ռետրանսպոզոնների տեղաշարժը նման է ռետրովիրուսային վարակմանը: ԴՆԹ տրանսպոզոնները տեղաշարժվում են համակարգչային «cut and paste», իսկ ռետրանսպոզոնները՝ «copy and paste» սկզբունքներով (նկար 36): Պրոկարիոտների շարժուն տարրերի մեծամասնությունը ԴՆԹ տրանսպոզոններն են, իսկ էուկարիոտների մոտ՝ ռետրանսպոզոնները:

Ռետրանսպոզոններ 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 (տրանսպոզումը) տեղի է ունենում սեռական բջիջներում, ապա ԴՆԹ-ի նոր դիրքը ժառանգվում է հաջորդ սերնդներին: Էվոլյուցիայի ընթացքում էուկարիոտների գենոմում ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերի թիվն աճել, և դրանք կուտակվել են:

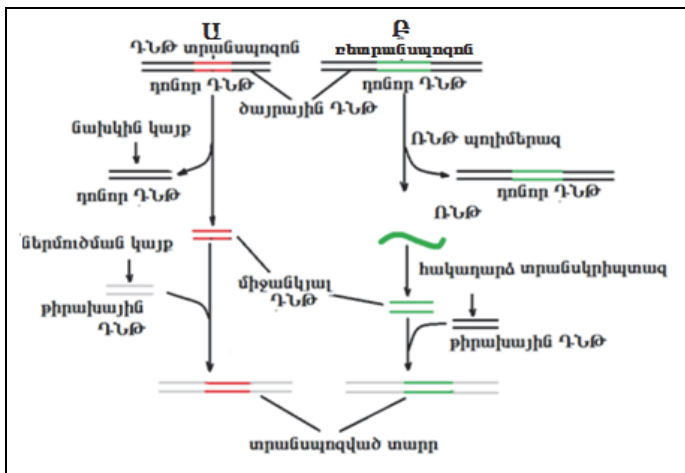
Տրանսպոզումը համեմատաբար հազվադեպ երևույթ է մարդու համար և տեղի է ունենում 8 առանձնյակներից մեկի մոտ: Քանի որ մեր ԴՆԹ-ի 98,5 %-ը չի կոդավորում ո՛չ սպիտակուց, ո՛չ ՌՆԹ, տրանսպոզումներն էապես չեն ազդում գեների գործունեության վրա: Ներկայումս գենոմի շարժական տարրերը համարվում են որոշակի ֆունկցիայից զրկված **մոլեկուլային սիմբիոտներ**, որոնց Ֆրենսիս Կրիկը համարում էր «էգոիստ ԴՆԹ»: Տրանսպոզումը կարող է տեղի ունենալ սոմատիկ բջիջներում, որի դեպքում այն ժառանգվում է միայն այդ սոմատիկ բջջից առաջացած դուստր բջիջներին: Տրանսպոզումը հազվադեպ կարող է վնասաբեր լինել: Օրինակ՝ տրանսպոզումը կարող է ճնշել ուռուցքազոյացումը-արգելակող գենի ակտիվությունը, ինչի հետևանքով տեղի է ունենում բջջի չարորակ վերասերում:

ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերի գոյությունը բացահայտեց **Բարբառա ՄակԿլինտոկը** 1940-ականներին: Եզիպտացորենի վրա կատարված գենետիկական փորձերի տվյալները (ամտոցիան գունանյութը կոդավորող գենի ժառանգում) ցույց տվեցին, որ հատիկների գունավորումը պայմանավորող գեները պարունակում են այնպիսի տարրեր, որոնք կարող են տեղաշարժվել քրոմոսոմում: Հետագայում 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 պոլիմերազի կողմից հատուկ տրանսպոզոմանը ենթակա ԴՆԹ-ի հատվածից, որից հետո ՌՆԹ-ի մոլեկուլը հակառակ տրանսկրիպտազի միջոցով վեր է ածվում երկշղթա ԴՆԹ-ի:

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

կամ IS տարրեր: Ներկայումս հայտնաբերված են 20 տարբեր IS տարրեր, որոնց դիրքը բակտերիայի օդակաձև մոլեկուլում կարող է փոխվել: IS տարրերի տեղաշարժը (**տրանսպոզումը**) հազվադեպ է, քանզի տեղի է ունենում 10^5 - 10^7 բջիջներից մեկում: Հաճախ տրանսպոզումը ինակտիվացնում է կարևոր գեներ և դառնում է մահացու բջջի համար: IS տարրերը կարող են ներդրվել պլազմիդների և լիզոգենիկ վիրուսների գենոմի մեջ, և վերջիններս, վարակելով այլ բջիջներ, տեղափոխում են IS տարրերը տեր-բջիջների որևէ քրոմոսոմի մեջ:

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



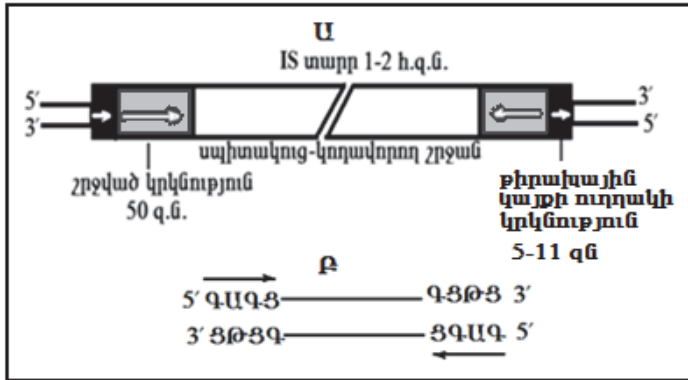
Նկար 36. Տրանսպոզոնների և ռետրանսպոզոնների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմներ: Կարմիր և կանաչ գույներով նշված են ԳՆԹ-ի այն հատվածները, որոնք ենթակա են տեղափոխության:

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

- 1) Դոնորային ԴՆԹ-ից կտրում է IS հատվածը:
- 2) Առաջացնում է կարճ կաշուն 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 լիզազի կողմից (նկար 38):

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



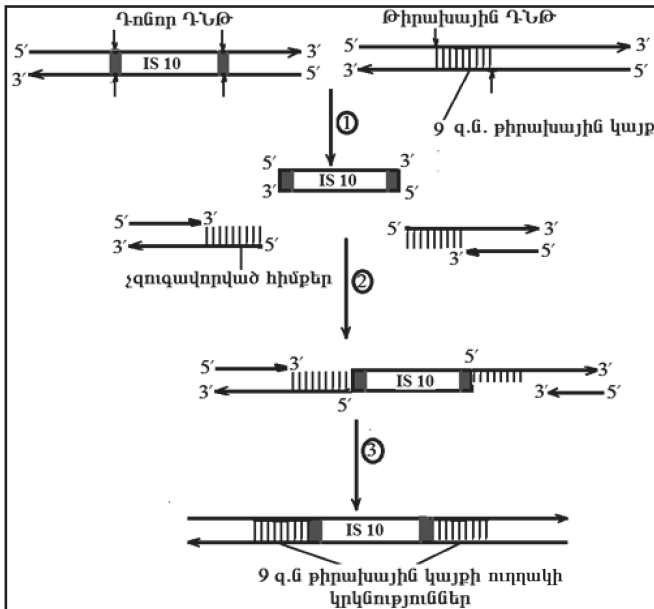
Նկար 37. Ա) IS տարրի կառուցվածքը: Սլաքներով ցույց է տրված հատվածների ուղղվածությունը: Հարաբերականորեն մեծ կենտրոնական շրջանը, որը կոդավորում է տրանսպոնազը, երկու ծայրերից եզերված է շրջված կրկնությունների հատվածներով: Բ) շրջված կրկնություն: Շրջված կրկնություններն ունեն գրեթե մույն հաջորդականությունները, բայց հակառակ ուղղվածություն:

6.4. Էուկարիոտների ԴՆԹ տրանսպոզոններ

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

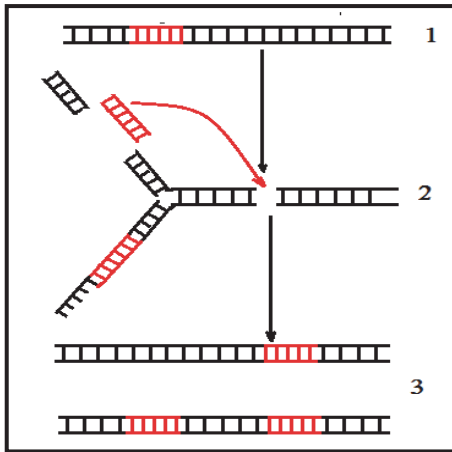
Մուտացիա կրող հատիկները սպիտակ են, մինչդեռ վայրի տիպի գենը (մուտացիայի չենթարկված) կրողները՝ մանուշակագույն: Ինչպես պարզվեց, վերը նշված գենի մուտացիաները լինում են դարձելի և անդարձելի: Հետաքրքրականն այն էր, որ անդարձելի մուտացիաները կարող են դառնալ դարձելի, եթե զուգակցվում են դարձելի մուտացիայի հետ: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

(dissociation *Dc*), քանի որ դրանք խնամակցություն էին դրսևորում քրոմոսոմային 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 կոդավորող հատվածը: *Dc* տարրերը ինքնուրույն չեն կարող տեղափոխվել, քանի որ դրանցում բացակայում է տրանսպոնազ կոդավորող հատվածը, հետևաբար բացակայում է տրանսպոնազ ֆերմենտը: Սակայն *Ac* տարրերի ներկայությամբ դրանք կարող են տեղափոխվել սեփական շրջված հաջորդականությունների և *Ac*-ներով կոդավորած տրանսպոնազի շնորհիվ:



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

Եթե տրանսպոզոնը կատարվում է բջջային բոլորաշրջանի S փուլում, երբ տեղի է ունենում գենոմային ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումը, կրկնապատկվում է նաև տրանսպոզված հատվածը (նկար 39), և առաջացած դուստր մոլեկուլներից մեկը կրում է կրկնապատկված ԴՆԹ տրանսպոզոն: Նման գործընթացի հետևանքով էվոլյուցիայի ընթացքում մարդու գենոմում կուտակվել են շուրջ 300 000 տրանսպոզոններ:



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

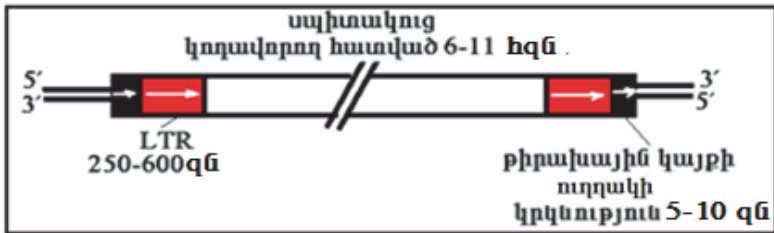
6.5. Ռետրանսպոզոններ

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

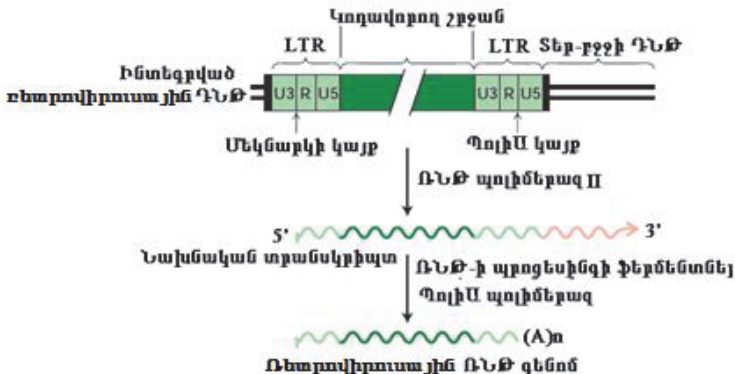
մում է գենոմային ԴՆԹ-ի մոտ 8 %-ը, ընդ որում՝ գերակայում են LTR-ռետրանսպոզոնները: Մնացած կաթնասունների մոտ մեծամասնություն են կազմում LTR-չպարունակող ռետրանսպոզոնները: Ռետրանսպոզոններում ուղղակի կրկնություններով հատվածների երկարությունը հասնում է 200-600 գ՝-ի: LTR-ռետրանսպոզոնները նման են ռետրովիրուսների ԴՆԹ-ին և կոդավորում են գրեթե բոլոր ռետրովիրուսային սպիտակուցները՝ բացառությամբ վիրուսային պատիճի սպիտակուցների: Այդ պատճառով ինտեգրվելով տեր-բջջիների գենոմում՝ ռետրանսպոզոնները չեն կարող վիրուսային մասնիկի նման տեղափոխվել և վարակել հարևան բջջիները: Քանի որ ռետրանսպոզոնների կապը ռետրովիրուսների հետ կասկած չի հարուցում, հաճախ ռետրանսպոզոններին կոչում են **ռետրովիրուսանման տարրեր**: Ռետրանսպոզոնները մեծ դեր են կատարում մարդու գենոմի էվոլյուցիայում: Դիտարկենք ռետրովիրուսի բազմացման բոլորաշրջանը, որն ընկած է ռետրանսպոզոնների առաջացման հիմքում:

Ռետրովիրուսի ԴՆԹ-ի երկու ծայրային հատվածներում գտնվում են LTR-ներ, որոնք բաղկացած են երեք տարբեր ենթակայքերից՝ U3, R և U5: Ռետրովիրուսի ձախակողմյան LTR-ը ծառայում է որպես պրոմոտոր տեր-բջջի ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի համար, ինչի հետևանքով ֆերմենտը սկսում է տրանսկրիպցիայի գործընթացը ձախակողմյան R հաջորդականության 5' նուկլեոտիդից: Նախնական տրանսկրիպտի սինթեզի ավարտից հետո խաղի մեջ են մտնում ռետրովիրուսի աջակողմյան LTR-ի հաջորդականությունները: Տեր-բջջի ՌՆԹ-ի հասունացման գործընթացի ֆերմենտները ճեղքում են նախնական տրանսկրիպտը և ավելացնում են պոլիադենիլային պոչիկ աջակողմյան R-հաջորդականության 3' ծայրին: Սինթեզված ՌՆԹ-ն դուրս է գալիս տեր-բջջի բջջակորիզից և անցնում է ցիտոպլազմ: Ռետրովիրուսի սպիտակուց-կոդավորող հատվածը կոդավորում է ինտեգրազ և հակառակ տրանսկրիպտազ ֆերմենտները, ինչի շնորհիվ ռետրովիրուսի ՌՆԹ-ն տեր-բջջի 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-

փոխվում են բջջակորիզ: Ռետրովիրուսների ինտեգրացները շատ նման են ԳՆԹ տրանսպոնազներով կոդավորվող տրանսպոզոնների և դրանց նման կարող են ներդնել ԳՆԹ-ի հատվածներ տերբջջի գենոմի մեջ: Հոմոլոգ քրոմոսոմների LTR-ները կարող են ռեկոմբինացվել, ինչի հետևանքով կարող են առաջանալ էկզոնների կամ անգամ ամբողջական գենների կրկնօրինակներ (նկար 41):



Նկար 40. Ռետրանսպոզոնի կառուցվածքը: Կարմիր գույնով նշված են կրկնվող հաջորդականություններով երկար ծայրերը (LTR-ները): ԳՆԹ տրանսպոզոնների նման ռետրանսպոզոնների երկու ծայրերում գտնվում են կարճ թիրախային կայքերի ուղղակի կրկնությամբ հատվածներ: Սպիտակուց կոդավորող հատվածը կազմում է ռետրանսպոզոնի գրեթե 80 %-ը և կոդավորում է հակառակ տրանսկրիպտազ, ինտեգրազ և ռետրովիրուսային այլ սպիտակուցներ:



Նկար 41. Ռետրովիրուսային ՌՆԹ-ի վերադրությունը տերբջջում:

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

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

մոտ 40 %-ը բաժին է ընկնում LINE-ներին, 60 %-ը՝ SINE-ներին, ընդ որում՝ վերջիններիս 90 %-ը կազմում են A/u-տարրերը:

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

Մարդու մի քանի ժառանգական հիվանդություններ պայմանավորված են ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերով: Օրինակ՝ շարժուն տարրի ներմուծումն արյան մակարդելիության IX գործոնը կողավորող գենի մեջ առաջացնում է հեմոֆիլիա հիվանդությունը, իսկ դիստրոֆին սպիտակուցը գաղտնագրող գենում առաջացնում է մկանային դիստրոֆիա: Այս երկու գեներն էլ գտնվում են X քրոմոսոմում: Քանի որ արական սեռի գենոմում X քրոմոսոմը ներկայացված է մեկ օրինակով (XY), ապա այդ քրոմոսոմի թերացումներն արտահայտվում են ֆենոտիպորեն վերը նշված հիվանդությունների ձևով: Պրիմատների տարբեր տեսակների գլոբինային գենների կլաստերների ուսումնասիրությունը բացահայտեց, որ α և γ գեները ծագել են մեկ նախնական գենը երկու կողմից պարփակող LTR-ների ոչ հավասարազոր կրոսինգովերի հետևանքով: Ոչ հավասարազոր կրոսինգովերը հոմոլոգ 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 տարբեր գենների ինտրոններում գտնվող շարժուն տարրերի միջև (օրինակ՝ Alu տարրերի), ինչի հետևանքով կարող են ծագել տակավին նոր գեներ: **ԴՆԹ-ի շարժուն էլեմենտները գենների ընտանիքների կա՛մ գենների կրկնապատկման, կա՛մ նոր գենների ծագման պատճառ են:** Ներկայումս ԴՆԹ-ի շարժուն տարրերը դիտարկվում են որպես գենային թերապիայի գործուն միջոցներ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Black D. L. (2003). Mechanism of alternative pre-messenger RNA splicing, *Ann. Rev. Biochem.* 72:291-336.
2. Giardina E., Spinella A. and Novelli G. (2011). Past, present and future 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

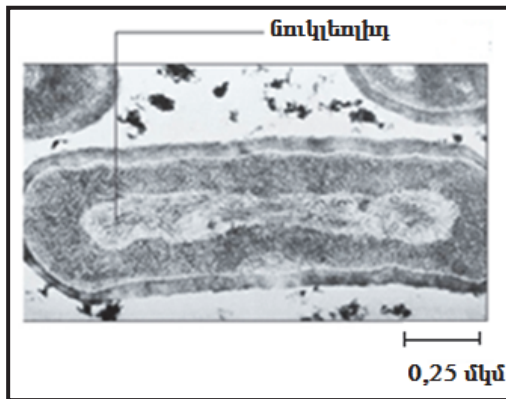
Գեների աշխատանքի կարգավորում

Արտաքին միջավայրի փոփոխություններին դիմակայելու համար բակտերիաների բջիջները ստիպված են փոխել նյութափոխանակությունն այնպես, որ կարողանան վերապրել և բազմանալ: Բազմաբջիջ 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 կենսագործունեությունը, ամբողջականությունը և բազմացումը: Կարգավորման բազմաստիճան մեխանիզմների մեջ է մտնում առանձին գեների կամ գեների խմբերի (քլաստերների) աշխատանքի խթանումը («միացում») կամ արգելակումը («անջատում»): Օրինակ, ի պատասխան թթվածնի պակասի (հիպօքսիա)՝ 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 մազանոթների առաջացումը և նորաստեղծ մազանոթների տարածումը դեպի հիպօքսիայի ենթակա հյուսվածքները: Թե՛ բակտերիալ բջիջների, թե՛ հիպօքսիայի ենթարկված բջիջների գեների ընտրողական ակտիվացումը դարձելի գործընթացներ են, և գեների ակտիվությունը վերադառնում է մեկնարկային մակարդակին ազդակի վերանալուց հետո: Սակայն գեների ակտիվացման կամ լռեցման գործընթացները կարող են լինել անդարձելի, ինչն առավել ցայտուն է դրսևորվում օրգանիզմների սաղմնային զարգացման շրջանում: Գեների խիստ համաձայնեցված աշխատանքն անհրաժեշտ նախապայման է զարգացող սաղմի հյուսվածքների և օրգանների ճիշտ ձևավորման համար: Շատ 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 ոսպնյակի 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 բջջի 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 շուրջը, որոնք կազմում են **նուկլեոսոմ** կոչվող կառույցը: Նուկլեոսոմային թելիկները ենթարկվում են հետագա պարուրման՝ առաջացնելով քրոմատինի տարբեր աստիճանի խտացված (կոնդենսացված) կառույցներ:

7.1. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը բակտերիաների բջիջներում

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



Նկար 42. Նուկլեոիդը բակտերիայում:

Նուկլեոիդը սահմանագատված չէ թաղանթով, թեև ԴՆԹ-ի կնձիկը հստակորեն առանձնանում է ցիտոպլազմից: **Բակտերիաների ԴՆԹ-ն փաթաթված է հիմնային հիստոնանման սպիտակուցների շուրջը, գերապարտված է և առաջացնում է 20 000 զմ-ից կազմված կիսաօղներ:** Ի լրումն քրոմոսոմի՝ բակտերիաների բջիջները կարող են պարունակել մեկ կամ մի քանի **պլազմիդներ**: Պլազմիդները, որպես կանոն, ԴՆԹ-ի փոքր օղակաձև մոլեկուլներ են, որոնք գաղտնագրում են սեփական վերարտադրությունը ապահովող սպիտակուցներ: Պլազմիդների կրկնապատկումը ինքնուրույն և տեր-բջջի քրոմոսոմի ռեպլիկացումից անկախ գործընթաց է, թեև համաձայնեցվում է վերջինիս հետ, ինչն ապահովում է պլազմիդների մոտավորա-

պես հավասար քանակների պահպանումը բակտերիաների յուրաքանչյուր սերնդում:

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

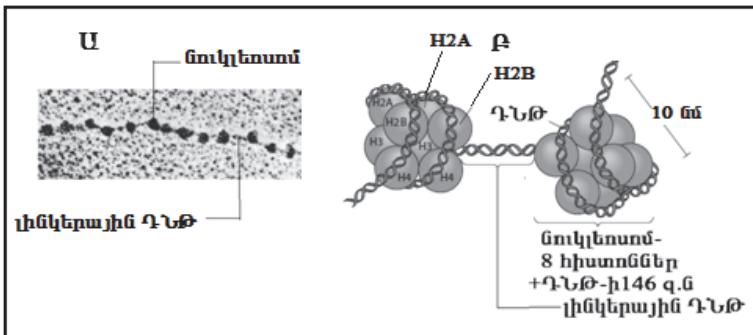
1. F-(ֆերտիլացման) գործոններ – մասնակցում են բջիջների կոնյուգացմանը:
2. R-(դիմադրության) գործոններ – բակտերիայի բջջին տալիս են հակաբիոտիկներին դիմակայելու ունակություն:
3. col-կոլիկինոգենիկ գործոններ, որոնց շնորհիվ բակտերիայի բջիջը կարողանում է արտադրել կոլիկիններ, որոնք սպանում են col-գործոններից զուրկ բակտերիաների բջիջները:
4. Վիրուլենտության (վարակատարածման) գործոններ – մեծացնում են բակտերիալ բջջի այն սպիտակուցների և ֆերմենտների արտադրությունը, որոնք հեշտացնում են բակտերիայի թափանցումը տեր-բջջի մեջ և առաջ են բերում հյուսվածքների վնասում:
5. Մեթաբոլիկ պլազմիդներ – պատասխանատու են այնպիսի ֆերմենտների սինթեզի համար, որոնք անհրաժեշտ են յուրահատուկ մեթաբոլիկ ռեակցիաների համար:
6. Կրիպտիկ պլազմիդներ – պարունակում են բացառապես պլազմիդի վերարտադրությունը և տարածումը ապահովող գեններ:

7.2. ԴՆԹ-ի փաթեթավորումը էուկարիոտների քրոմոսոմներում

Էուկարիոտների գենոմային ԴՆԹ-ի երկարությունը միջինում հարյուր հազար անգամ ավելի մեծ է բջջի տրամագծից, ինչից բխում է, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի գծային երկարությունը բջջակորիզում կարճանում է փաթեթավորման շնորհիվ, մոտավորապես այնպես, ինչպես մանվածքի գծային երկարությունը փոքրանում է մինչ դրանից փաթեթված կծիկի տրամագիծը: Բջջի նորմալ կենսագործունեության համար չափազանց կարևոր է, որ ԴՆԹ-ի առանձին մոլեկուլներ

(հիշենք, որ յուրաքանչյուր քրոմոսոմ Γ -ՆԹ-ի մեկ մոլեկուլ է) բջջի բաժանման ժամանակ չխճճվեն, քանի որ դրանք պետք է ճշգրտորեն տարամիտեն դեպի դուստր բջիջներ:

Γ -ՆԹ-ի խտացումը և քրոմոսոմային կառույցների ձևավորումն իրականացնում են կորիզային հատուկ սպիտակուցները՝ **հիստոնները**: **Γ -ՆԹ-հիստոնային համալիրը կոչվում է քրոմատին**: Ըստ զանգվածի՝ քրոմատինի մոտ 50 %-ը բաժին է ընկնում Γ -ՆԹ-ին, մնացած 50 %-ը կազմում են սպիտակուցները: Γ -ՆԹ-ի մոլեկուլի գծային երկարությունը յուրաքանչյուր քրոմոսոմում միջինում կազմում է 10 սմ: Թեև փաթեթավորման արդյունքում մոլեկուլի երկարությունը հասնում է միկրոչափերի, այնուամենայնիվ մոլեկուլի որոշակի հատվածներ մնում են մատչելի տրանսկրիպցիայի, Γ -ՆԹ-ի կրկնապատկման (ռեպլիկացում), ռեպարացման (վերականգնում) և ռեկոմբինացման համար: 1974 թ. Ադա և Դոմալդ Օլիմաները հրապարակեցին էուկարիոտ բջիջների քրոմատինի էլեկտրոնամանրադիտակային պատկերը, որտեղ քրոմատինը ներկայացված էր միմյանց թելիկներով միացած փոքր կլորավուն մարմնիկների շարանի տեսքով: Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ «հուլունքաշար» հիշեցնող կառույցի կլորավուն մասնիկները **Γ -ՆԹ-հիստոնային համալիրներ են, որոնք կոչվեցին նուկլեոսոմներ**, իսկ նուկլեոսոմները միացնող Γ -ՆԹ-ի թելիկները անվանվեցին **լինկերային Γ -ՆԹ**:



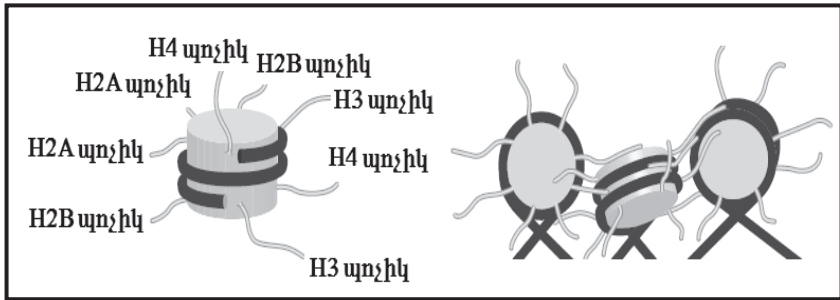
Նկար 43.Ա) քրոմատինի 10 nm թելիկի էլեկտրոնային մանրադիտակային պատկերը: Բ) Քրոմատինի 10 nm թելիկի և նուկլեոսոմի կառուցվածքի գծանկար:

Կորներգի և Թոմսոնի հետազոտությունները բացահայտեցին, որ նուկլեոտիդները կազմված են հիստոնային օկտամերից, որի շուրջը 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: Նուկլեոտիդներում հիստոնները ներկայացված են գրեթե հավասար քանակներով: **Հիստոնները հիմնային սպիտակուցներ են, որոնց մոլեկուլը հարուստ է դրական լիցք կրող հիմնային ամինաթթուներով:** Դրական լիցքի շնորհիվ հիստոնները կայուն կապ են հաստատում բացասական լիցք կրող ԴՆԹ-ի հետ (ԴՆԹ-ի գոմարային լիցքը պայմանավորված է բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերով): Երկվալենտ իոնների բացակայության պայմաններում անջատված քրոմատինը ներկայացնում է 10 nm տրամագծով թելիկ, որում նուկլեոտիդները միացած են լինկերային ԴՆԹ-ով (նկար 43): Նուկլեոտիդների շուրջը պարուրված ԴՆԹ-ի երկարությունը կազմում է 146 գն: Այդ թելիկը համարվում է քրոմատինի հիմնական 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 գն միջակայքում, սակայն միջինում չի գերազանցում 50 գն:

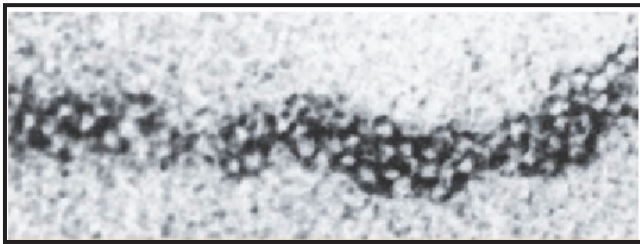
Յուրաքանչյուր կորային հիստոնի մոլեկուլի N-ծայրում, իսկ H3 և H4 հիստոնների նաև C-ծայրերում կան ամինաթթուներ, որոնք նուկլեոտիդի մակերևույթից դուրս են «ցցվում»: Դրանք հիստոնների, այսպես կոչված, «պոչիկներն են»: Հիստոն H4-ի պոչիկի 16-րդ դիրքում գտնվող լիզինը խիստ անհրաժեշտ է քրոմատինի թելիկի հետագա փաթեթավորման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

Էուկարիոտների օրգանիզմում, բացի հիմնական կորային հիստոններից, փոքր քանակություներով ներկայացված են այլ հիստոններ (**միմորային հիստոններ**), որոնք կատարում են խիստ մասնագիտական ֆունկցիաներ: Հիստոնային պոչիկների քիմիական կոմպլեքսը փոփոխություններն և հիստոնների միմորային ձևերն առա-

ջացնում են քրոմատինի տարածական փաթեթավորման բազմաթիվ տարբերակներ:



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



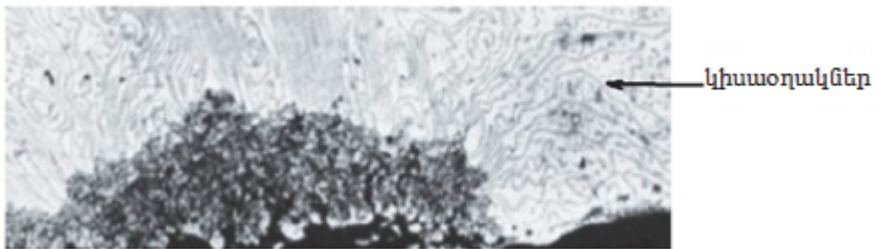
Նկար 45. Քրոմատինի 30 մ թելիկի մանրապատկեր:

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

հիստոնների կազմի յուրաքանչյուր ամինաթթու խիստ կարևոր է կենսաքանական ֆունկցիաների համար:

Նուկլեոտոմների հուլունքաշարը քրոմատինի փաթեթավորման **առաջին** մակարդակն է: Դրան հետևում է քրոմատինի 30 մմ տրամագծով թելիկի առաջացումը: 30 մմ թելիկը առաջանում է նրա հետևանքով, որ H1 լինկերային հիստոնը, կատարելով ամրակի դեր, միացնում է հարևան նուկլեոտոմները: Նման միացումների շնորհիվ նուկլեոտոմային 10 nm թելիկի 6-ական նուկլեոտոմային խմբեր պարուրվում են ուղղահայաց առանցքի շուրջը՝ առաջացնելով 30 մմ տրամագծով գերպարույր (**փաթեթավորման 2-րդ մակարդակ**):

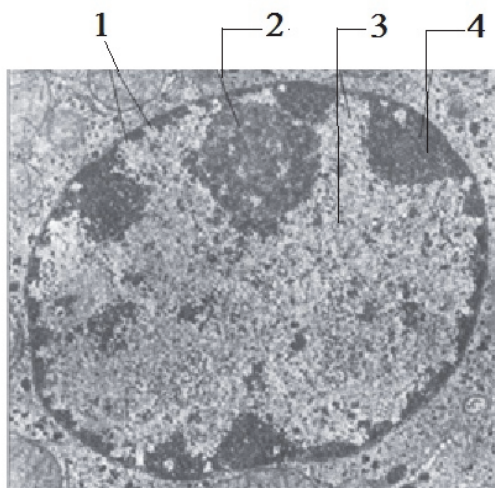
Քրոմատինի փաթեթավորման հաջորդ **3-րդ մակարդակը** 30 nm թելիկների հետագա պարուրումն է, ինչի հետևանքով առաջանում են 50000-100000 զմ երկարությամբ կիսաօղակներից կազմված քրոմատինային դոմեններ: Կիսաօղակներն առաջանում են նրա շնորհիվ, որ ԴՆԹ-ն կպումներ է առաջացնում որոշ անլուծելի ոչ հիստոնային սպիտակուցների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



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

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

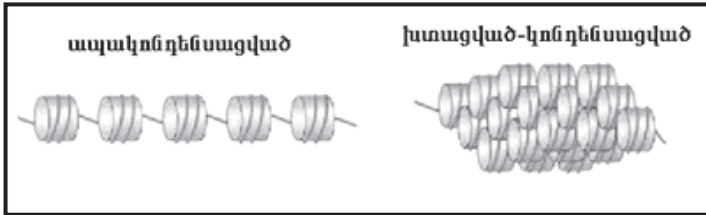
տին»: Ավելի բաց գունավորում ունեցող շրջանները, որոնք խտացված չեն և ունեն ավելի փուխր կառուցվածք, կոչվեցին **«էուքրոմատին»** (նկար 47): Հետերոքրոմատինային ԴՆԹ-ն տրանսկրիպցիային չի մասնակցում, մինչդեռ էուքրոմատինային ԴՆԹ-ն դրսևորում է տրանսկրիպցիայի մեծ ակտիվություն: Մեթաբոլիկ մեծ ակտիվություն ունեցող բջիջներում քրոմատինի գերակշռող մասը ներկայացված է էուքրոմատինի ձևով: Երբ բջիջը 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) կորիզաթաղանթային 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 նուկլեոսոմում կրճատում է ԴՆԹ-ի երկարությունը մոտավորապես 7 անգամ,

իսկ 30 nm թելիկում այն փոքրանում է ևս 6 անգամ: Մարդու բջիջների բաժանումից առաջ քրոմոսոմի միջին երկարությունը կազմում է 4-5 միկրոմետր, իսկ փաթեթավորված ԴՆԹ-ի գծային երկարությունը հասնում է 75 մմ: ԴՆԹ-ի փաթեթավորման աստիճանը մարդու քրոմոսոմում տատանվում է 15 000-20 000:



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

Հետերոքրոմատինը սովորաբար կապված է լինում կորիզաթաղանթի ներքին թերթիկին, գտնվում է կորիզակների շրջանում և յուրահատուկ կորիզային գոտիներում: Քրոմոսոմների ցեմտրոմերները, թելոմերներն ու ոչ ակտիվ գործող գեները գտնվում են հետերոքրոմատինային գոտիներում: Քրոմոսոմների այլ հետերոքրոմատինային շրջանները, որպես կանոն, կազմված են 30 նմ-ոց թելիկներից: Առավել ակտիվ աշխատող գեները գտնվում են էուքրոմատինում:

7.3. Հիստոնների ագեաիլացում

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

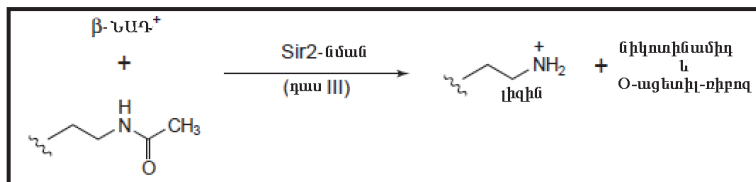
Հիստոնների N-ծայրային պոչիկների լիզինային մնացորդները, ունենալով դրական էլեկտրական լիցք, միանում են հարևան մուլլեո-

սոմների բացասական լիցք կրող մակերևույթին: Ինչպես վերը նշվել է, նուկլեոսոմների նման փոխազդեցությունները կարևոր դեր են կատարում 30 նմ-ոց թելիկի ձևավորման համար (նկար 44): Հիստոնային պոչիկների գոմարային 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, մեթիլացումը, ագետիլացումը, ուրիխիտինացումը և ԱԿՖ-ռիբոզիլացումը:**

Հիստոնային N-ծայրային պոչիկների **ագետիլացման** հետևանքով քրոմատինի փաթեթավորման 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 քայքայվում է էուքրոմատինային շրջանների ԴՆԹ-ն: Զանի 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 գեների ԴՆԹ-ն կապված է ագետիլացված հիստոնների հետ և շատ ավելի զգայուն է ԴՆ-ազ I-ի նկատմամբ: Քրոմատինի որոշ շրջաններ գերզգայուն են ԴՆ-ազ I-ի նկատմամբ՝ քայքայվելով ֆերմենտի ամենափոքր կոնցենտրացիաների կողմից: Քրոմատինի նման հատվածները կոչվեցին **ԴՆ-ազ I գերզգայուն հատվածներ:** Դրանք գտնվում են ակտիվ գործող գեների տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կայքից առաջ մի քանի հարյուր զն հեռավորության վրա:

Բազմաթիվ գեների ակտիվացման համար անհրաժեշտ հիստոնների պոչիկների լիզինային մնացորդների ագետիլացումն իրականացնում են **հիստոն ագետիլ տրանսֆերազները** (HATs- histone transferases): Բացի հիստոններից՝ այս ֆերմենտներն ագետիլացնում են նաև այլ գեների գործարկման համար անհրաժեշտ սպիտակուցների լիզինային մնացորդները և այդ պատճառով հաճախ անվանվում են **կորիզային լիզին ագետիլ տրանսֆերազներ** (KAT): **Հիստոն**

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



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

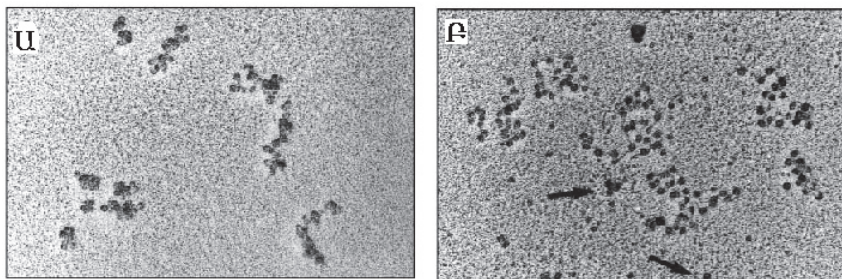
7.4. Հիստոնների մեթիլացում, ֆոսֆորիլացում, ԱԿՖ-ոլիգոլացում և ուրիլսիտինացում

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

Եթե հիստոնների պոչիկները ներկայացված են սերինով կամ տրեոնինով, ապա ամինաթթուների հիդրօքսիլ ($-\text{OH}$) խումբը կարող է ենթարկվել դարձելի **ֆոսֆորիլացման**, ինչը պոչիկներին բացասական լիցք է հաղորդում: Լիցքի յուրաքանչյուր փոփոխություն ազդում է այն ոչ հիստոնային սպիտակուցների կապման վրա, որոնք, միաձուլվ 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 ամինաթթուն կարող է դարձելիորեն կապվել 76 ամինաթթվային մնացորդներից բաղկացած **ուբիխտին** կոշվող սպիտակուցի հետ (մոնոուբիխտինացում): Հայտնի է, որ եթե որևէ սպիտակուցի հետ կապվում են ուբիխտինի մի քանի մոլեկուլներ, սպիտակուցը քայքայվում է պրոտեոսոմային համալիրի կողմից: Կապվելով ուբիխտինի **մեկ մոլեկուլի** հետ՝ հիստոնները չեն քայքայվում, սակայն փոխվում է այլ սպիտակուցների հետ հիստոնների փոխազդեցության որակը:

Հիստոնների պոչիկների հետտրանսլյացիոն քիմիական կարևոր ձևափոխություններից է **պոլի-ԱԿՖ-նիբրոզիլացումը**: Պոլի-ԱԿՖ-նիբրոզիլացումն իրականացնում է պոլի-ԱԿՖ-նիբրոզ պոլիմերազ 1 ֆերմենտը (ՊԱՌՊ 1): Քայքայելով ՆԱԴ⁺-ը՝ ֆերմենտը տեղափոխում է ԱԿՖ-նիբրոզի մնացորդը հիստոնային պոչիկի գլուտամինի կարբօքսիլ խմբի վրա և հաջորդաբար ավելացնելով ԱԿՖ-նիբրոզային մնացորդների քանակը հիստոնային պոչիկին՝ ստեղծում է բացասական լիցքավորված ԱԿՖ-նիբրոզի պոլիմերային երկար շղթա: Հիստոնների մնա ձևափոխությունը մի կողմից արգելակում է մեթիլացումը և քրոմատինի համապատասխան շրջանի խտացումը, մյուս կողմից, բացասական լիցք տալով պոչիկներին՝ վանում է հարևան մոլեկուլներն և ապակոնդենսավորում քրոմատինը (նկար 50):



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

7.5. Հիստոնների դերը քրոմատինի կոնդենսավորման մեջ: Հիստոնային 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 հիստոնների ամինաթթվային կազմը ցույի և ծովաստղի մոտ տարբերվում է ընդամենը 1 ամինաթթվով, իսկ ոլոռից՝ 4 ամինաթթուներով: Հակառակ դրան՝ H1 հիստոնի ամինաթթվային կազմը տարբեր տեսակների մոտ ավելի փոփոխական է: Ամինաթթվային առաջնային հաջորդականության էվոլյուցիոն պահպանողականությունը, ամենայն հավանականությամբ, արտացոլում է այն փաստը, որ առաջնային շղթաները առաջացնում են գրեթե նման երրորդային կառուցվածքներ, որոնք և ապահովում են հիստոնների կենսաբանական ֆունկցիաները: Ողնաշարավորների մոտ, բացի հիստոնների հիմնական խմբերից, առկա են նաև փոքրաքանակ, այսպես կոչված, «միմորային» հիստոններ: Օրինակ՝ քրոմոսոմների որոշ շրջաններում գտնվող նուկլեոսոմների կազմում H2A-ը փոխարինված է H2AX տարբերակով: Եթե տեղի է ունենում ԳՆԹ-ի երկշղթա կտրվածք, H2AX-ը ֆոսֆորիլացվում է և դառնում ԳՆԹ-ի ռեպարացման գործընթացների մասնակից՝ հավանաբար գրավելով ԳՆԹ-ի ռեպարացման սպիտակուցների համալիրը դեպի վնասված կայքը: Յենտրոմերներում H3 հիստոնի փոխարեն նուկլեոսոմների կազմի մեջ ընդգրկված է CNEP-A հիստոնը, որին ամրանում են միտոտիկ իլիկի թելիկները:

Բազմաթիվ գենների ակտիվությունը կարգավորող շրջանները գտրվ են նուկլեոսոմային կառուցվածքից և գերզգայուն են ԳՆազ I-ի հանդեպ: Նման հատվածները երկու ծայրերից եզրափակվում են նուկլեոսոմներով, որոնց կորային հիստոն H2A-ն փոխարինված է H2AZ միմորային տարբերակով: Ենթադրվում է, որ H2AZ պարունակող նուկլեոսոմները հեշտությամբ ապամոնտաժվում են (քանդվում է կառուցվածքը):

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

Հետերոքրոմատինում H3 հիստոնի պոչիկի 9-րդ կամ 27-րդ լիզինները մեթիլացված են, մինչդեռ էուքրոմատինում 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 նուկլեոսոմին՝ կազմավորելով 30 նո-ոց թելիկը: Նուկլեոսոմի կորային հիստոնները կարող են կրել ոչ թե մեկ, այլ մի քանի քիմիական ձևափոխություններ: Դա նշանակում է, որ հիստոնների մոլեկուլի տարբեր դիրքերում գտնվող ամինաթթուները կարող են մեթիլացվել, ֆոսֆորիլացվել և այլն՝ ստեղծելով քիմիական ձևափոխությունների համադրությունների նոր տարբերակներ: Հիստոնների քիմիական ձևափոխությունների բազմազանությունը թույլ է տալիս ենթադրություն անել, այսպես կոչված, **«հիստոնային գաղտնագրի»** կամ **«կոդի»** գոյության մասին: Հիստոնային կոդն ազդում է քրոմատինի ակտիվության վրա՝ ստեղծելով կամ վերացնելով այն կայքերը, որոնց միանում են քրոմատինի ֆունկցիաները կարգավորող սպիտակուցները:

Հիստոնային պոչիկների քիմիական ձևափոխությունների միջոցով գաղտնագրված տեղեկատվությունը **«վերծանվում»** կամ **«ընթերցվում է»** հատուկ սպիտակուցներով: Այդ սպիտակուցները միանում են հիստոնների ձևափոխված պոչիկներին և կոնդենսացնում կամ ապակոնդենսացնում քրոմատինը՝ կազմավորելով քրոմատինի **«բաց»** և **«փակ»** կառույցներ, որոնք, ինչպես հայտնի է, տարբերվում են ԴՆԱ-ի հանդեպ դրսևորվող զգայնությամբ: Բարձրակարգ էուկարիոտներին հատուկ են սպիտակուցներ, որոնք ունեն **«քրոմոդոմեններ»**: **Քրոմոդոմենները** բնորոշվում են նրանով, որ միանում են հիստոնային պոչիկների մեթիլացված լիզիններին: Նման սպիտակուցներից է HP1 հետերոքրոմատինային սպիտակուցը: HP1-ի քրոմոդոմենը միանում է H3-ի N-ծայրային պոչիկին միայն այն դեպքում, երբ նրա 9-րդ լիզինը եռմեթիլացված է: Քրոմոդոմենի հետ մեկտեղ

HP1-ն ունի նաև երկրորդ «**քրոմոշոդք**» կոչվող դոմեն: Բրոմոշոդքը կարող է միանալ մեթիլ տրանսֆերազի հետ, որը մեթիլացնում է հարևան նուկլեոտի H3-ի 9-րդ լիզինը: Այսպիսով՝ HP1-ին կապված հետերոքրոմատինի հարակից շրջանների հիստոնային պոչիկների 9-րդ լիզինները նույնպես մեթիլացվում են: Այս գործընթացի հաջորդական կրկնությունը (HP1-ի քրոմոդոմենի միացում H3-ի պոչիկի 9-րդ եռմեթիլացված լիզինին, քրոմոշոդքի միացում մեթիլ տրանսֆերազին, հարևան նուկլեոտի պոչիկի 9-րդ լիզինի մեթիլացում) հանգեցնում է հետերոքրոմատինային շրջանի ընդլայնմանը՝ «**հետերոքրոմատինացմանը**»: Գործընթացը շարունակվում է քրոմոսոմի երկայնքով մինչ **սահմանային տարրը**: Սահմանային տարրերը քրոմատինի այն շրջաններն են, որոնց միացած ոչ հիստոնային սպիտակուցներն արգելակում են հիստոնների մեթիլացումը: Վերը նկարագրված հետերոքրոմատինացման գործընթացի շնորհիվ միտոզից հետո դուստր բջիջներում տեղի է ունենում նույնատիպ հետերոքրոմատինացված շրջանների ձևավորում: ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո եռմեթիլացված H3 հիստոններն ու հիստոնային օկտամերների մյուս անդամները հավասարապես բաշխվում են դուստր քրոմոսոմներում: Եռմեթիլացված H3-ի հետ կապված HP1-ը սկիզբ է դնում հետերոքրոմատինացմանը վերը նկարագրված ճանապարհով: Այսպիսով՝ հետերոքրոմատինացումը իրականանում է «**էպիգենետիկական կոդով**», որը կախված է ոչ թե ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականությունից, այլ պայմանավորված է դուստր բջիջներում միևնույն գեների ակտիվության ընտրողական արգելակմամբ:

Էուքրոմատինին նույնպես բնորոշ է փոխազդեցություն հատուկ սպիտակուցների հետ: Օրինակ՝ **քրոմոդոմեններ** ունեցող սպիտակուցները կապվում են ագետիլացված հիստոններին և այդ պատճառով գտնվում են տրանսկրիպցիայի բարձր ակտիվություն դրսևորող էուքրոմատինային շրջաններում: Բրոմոդոմեններ է պարունակում տրանսկրիպցիայի գործոն TFIID-ի մեծ միավորը: Բրոմոդոմեններ պարունակող սպիտակուցներն օժտված են ագետիլազային ակտիվությամբ և պահպանում են հիստոնների գերադեթիլացված վիճակը, ինչը հնարավորություն է տալիս ակտիվացնելու քրոմատինի համապատասխան հատվածի տրանսկրիպցիան: Այսպիսով՝ էպիգե-

նետիկական կողի առկայությունն արդեն վաղ սաղմնային զարգացման փուլում որոշում է հետերոքրոմատինի և էուքրոմատինի տարբեր 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 սաղմների զարգացման վաղ փուլում տեղի է ունենում X քրոմոսոմներից մեկի անդարձելի խտացում (կոնդենսացում), ընդ որում՝ քրոմոսոմների մեծ 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 (Xմ): Այսպիսով՝ հասուն էգ օրգանիզմների սոմատիկ բջիջները քիմերներ են, որոնց մի մասը կրում է Xh, իսկ մյուս մասը՝ Xմ քրոմոսոմներ: Արգելակված X քրոմոսոմի հիստոններին բնորոշ են հետերոքրոմատինին հատուկ 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 նույն քրոմոսոմում գտնվող **արգելակման կենտրոնի** կողմից: Արգելակման կենտրոնում գտնվում է *Xist* գենը, որը գաղտնագրում է երկար, սպիտակուց չկողավորող ՌՆԹ: Այդ ՌՆԹ-ն կարող է փոխազդել միայն X քրոմոսոմի հետ՝ դրանով իսկ ուժգնացնելով լռեցման գործընթացը: X քրոմոսոմի արգելակման գործընթացին մասնակցում է նաև **Polycomb** (Պոլիքոմբ) կորիզային սպիտակուցային համալիրը: Պոլիքոմբ սպիտակուցային համալիրի ենթամիավորներից մեկը պարունակում է քրոմոդոմեն, որը կապվում է հիստոն H3-ի եռմեթիլացված լիզին 27-ի հետ: Պոլիքոմբ համալիրի մեկ այլ ենթամիավոր ունի

մեթիլ տրանսֆերազային ակտիվություն, որը եռմեթիլացնում է մոտակա 27-րդ դիրքում գտնվող լիզինը՝ տարածելով հետերոքրոմատինացման գործընթացը X քրոմոսոմի երկայնքով: Մեթիլացման 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 էպիգենետիկ կարգավորման դասական օրինակ է:

Էպիգենետիկական փոփոխությունների հիմքում կարող են ընկած լինել ոչ միայն հիստոնների քիմիական ձևափոխությունները, այլև ԴՆԹ-ի մեթիլացումը, քրոմատինի կոնդենսացման աստիճանը, յուրաքանչյուր բջջային պոպուլյացիայում գործող տրանսկրիպցիայի գործոնները, որոնց հավաքակազմը մենահատուկ է տվյալ հյուսվածքին: Օրինակ՝ լիմֆոիդ և միելոիդ բնային բջիջները գենետիկորեն նույնն են, բայց տարբերվում են էպիգենետիկորեն: Այդ էպիգենետիկական 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 մեթիլացման շնորհիվ: **Հիստոնների հետտրանսլյացիոն ձևափոխությունները և ԴՆԹ-ի մեթիլացումը այն հիմնական մեխանիզմներն են, որոնք պատասխանատու են էպիգենետիկական ժառանգականության համար:**

7.7. ԴՆԹ-ի մեթիլացում: Էպիգենետիկական արգելակում ԴՆԹ-ի մեթիլացման ճանապարհով

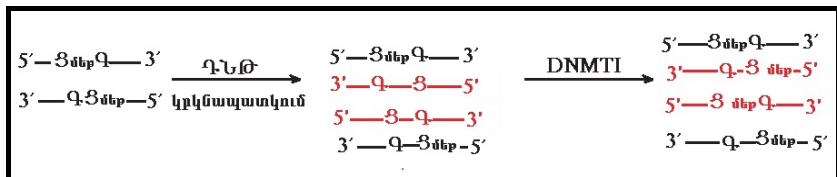
Կաթնասունների գեների պրոմոտորների (գենի հատված, որին միանում է ՌՆԹ պոլիմերազը) մեծամասնությունը ներկայացված է ՅՖԳ կոդյակների ձևով (ԴՆԹ-ի հատված, որը հարուստ է ցիտոզինով, որը ֆոֆոթերային կապով միացած է գուանինին): Ակտիվ գե-

ների ՅՖԳ պրոմոտորների ցիտոզինը մեթիլացված չէ, և այդ պրոմոտորների շրջանում մուլիեոսոմները 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 գենների ՅՖԳ 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 թվին են պատկանում **մեթիլ-ՅՖԳ-կապող սպիտակուցները (MBDs-methyl CpG-binding proteins)**: Այս սպիտակուցները միանում են հիստոն դեացետիլազներին 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 ՅՖԳ 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 քլիջների բաժանմանը նախորդող ԴՆԹ-ի կրկնապատկումից հետո նորագոյացած ԴՆԹ-ի շղթաներից մեկը մեթիլացված է (ծնողական շղթան), ապա DNMT1 մեթիլազը մեթիլացնում է նորագոյացած շղթաների (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 լռեցում (տրանսկրիպցիայի արգելակում): Այսպիսով՝ ԴՆԹ-ի մեթիլացումը հնարավոր է դարձնում որոշակի գեների կամ գեների խմբերի ակտիվության նույնատիպ կարգավորումը տարբեր սերունդներում՝ առանց փոխելու ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային կոդը: 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 ռեստրիկտազային վերլուծության արդյունքները, մեթիլացման կայքերը տարբեր հյուսվածքներում ունեն տարբեր դասավորություն: Օրինակ՝ ՅՖԳ կոդյակները գլոբինային գենի պրոմոտորի շրջանում մեթիլացված են այն հյուսվածքներում, որոնցում հեմոգլոբին չի արտադրվում, բայց մեթիլացված չեն էրիթրոցիտներում:

ԴՆԹ-ի մեթիլացումը մեծ դեր է խաղում **«գենոմային ինփրին-տինգ»** կոչվող գործընթացում: **Գենոմային ինփրինթինգը գեների ակտիվության այնպիսի փոփոխությունն է, որը կախված է նրանից, թե գենը, որ ծնողից է ժառանգվել:** Օրինակ՝ որոշ գեներ կարող են ակտիվ լինել, եթե ժառանգվում են մայրական օրգանիզմից և հակառակը՝ 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 ախորժակի և գիրացման (**Պրադեր-Ուիլլիի ախտանիշ**) պատճառ: Եթե նույն գեները արգելակված են մոր կողմից ժառանգված քրոմոսոմում, առանձնյակի մոտ ի հայտ է գալիս **Անգելմանի ախտանիշը**՝ հաճախակի ծիծաղ և ժպիտ, 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 կապում կամ ժամանակավոր փոփոխվող կապերի մեջ են մտնում բազմաթիվ ոչ հիստոնային սպիտակուցներ, որոնք մեծ նշանակություն ունեն թե՛ փաթեթավորման բարձր մակարդակների կազմավորման, թե՛ քրոմատինի ֆունկցիաների 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 տրանսկրիպցիայի տարբեր միավորների կամ գեների միջև, որոնք դասավորված են կիսաօղակի վրա: Հաճախ դրանք կատարում են մեկուսիչի (**ինսուլյատորի**) դեր՝ միմյանցից անջատելով հարևան գեները: Ինտերֆազային քրոմոսոմների կիսաօղակները կարող են ամրանալ քրոմատինի **SMC սպիտակուցներին (structural maintenance of chromatin)**: SMC սպիտակուցներն ապահովում են քրոմոսոմների խիստ կոնդենսացված վիճակը միտոզի ընթացքում:

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

mobility group proteins-**HMG**): **HMG** սպիտակուցներով հարուստ է էուքրոմատինը: Ենթադրվում է, որ **HMG** սպիտակուցները, միանալով քրոմատինին, դուրս են մղում H1 հիստոնը, 30 մմ-ոց քրոմատինային թելիկներն ապապարտրվում են, և քրոմատինը ապակոնդենսանում է: Էուքրոմատինից **HMG** սպիտակուցները հեռացնելուց հետո ակտիվ աշխատող գեները կորցնում են ԴՆԱ-ի 1-զգայունությունը, ինչը վկայում է քրոմատինի համապատասխան հատվածների կոնդենսացման մասին:

7.9. Քրոմատինի ռեմոդելավորում

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

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

հելիկազային ակտիվությամբ և միանում է թե՛ կորային հիստոնների, թե՛ դրանց շուրջը պարուրված ԴՆԹ-ին: Օգտագործելով ԱԾՖ-ի հիդրոլիզի էներգիան՝ այդ ենթամիավորը տեղաշարժում է ԴՆԹ-ն հիստոնային միջուկի նկատմամբ՝ թուլացնելով ԴՆԹ-նուկլեոսոմային միջուկ փոխադարձ կապը: Կրկնվող գործողությունների շնորհիվ նուկլեոսոմը տեղաշարժվում է (սահելով) քրոմատինի թելիկի երկայնքով: ԱԾՖ-կախյալ քրոմատինի ռենդեկավորման կոմպլեքսները բազմազան են և կարող են բաղկացած լինել 10 կամ ավելի ենթամիավորներից: Այս կոմպլեքսների շնորհիվ քրոմատինի նուկլեոսոմային 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., Kleinshmith 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 սպիտակության վերահսկման միջոցով

Բջջիջների կառուցվածքն ու գործունեությունը պայմանավորված են սպիտակուցների հավաքակազմով: Վերահսկելով տրանսկրիպցիան՝ բջջիջները 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-Ռ-ՆԹ-ի քանակությունը, և նվազում է այդ ի-Ռ-ՆԹ-ով կոդավորված սպիտակուցի կամ սպիտակուցների սինթեզի հզորությունը:

Գեների աշխատանքը դրսևորվում է բարդ գործընթացի ձևով, որի առաջին փուլում Դ-ՆԹ-ում գաղտնագրված տեղեկատվությունն արտատպվում է Ռ-ՆԹ-պատճենների ձևաչափով: Սպիտակուցների պոլիպեպտիդային շղթայում ամինաթթուների հաջորդականությունը գաղտնագրող տեղեկատվությունը պատճենվում է ինֆորմացիոն կամ միջնորդ Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլներում (ի-Ռ-ՆԹ կամ մ-Ռ-ՆԹ), իսկ ռիբոսոմային և փոխադրիչ Ռ-ՆԹ-ների գեների տեղեկատվությունը պատճենվում է ռ-Ռ-ՆԹ-ների և փ-Ռ-ՆԹ-ների ձևով: Ռ-ՆԹ-պատճենների ձևավորումից հետո ի-Ռ-ՆԹ-ները, ռ-Ռ-ՆԹ-ները և փ-Ռ-ՆԹ-ները իրականացնում են սպիտակուցի սինթեզը՝ փոխակերպելով ի-Ռ-ՆԹ-ների նուկլեոտիդային հաջորդականություններով գաղտնագրված տեղեկատվական ազդանշանները համապատասխան ամինաթթվային հաջորդականությունների սինթեզվող պոլիպեպտիդային շղթայում: **Գենի էքսպրեսիան վերջնանյութի սինթեզն է (գեն-պրո-դուկտ), որը կարող է ներկայացնել սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթա, ռ-Ռ-ՆԹ կամ փ-Ռ-ՆԹ:**

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

1. տրանսկրիպցիայի մեկնարկ,
2. Ռ-ՆԹ-ի էլոնգացման փուլ,

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

Տրանսկրիպցիայի մեկնարկային և ՌՆԹ-ի էլոնգացման փուլերն ունեն առանցքային նշանակություն, և դրանց կարգավորումը պայմանավորում է գեների աշխատանքի ակտիվությունը: Ինքնին տրանսկրիպցիայի գործընթացը բաղկացած է հաջորդական փուլերից, որոնցից յուրաքանչյուրը ենթակա է կարգավորման:

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

8.1. Գենների աշխատանքի կարգավորումը պրոկարիոտների մոտ

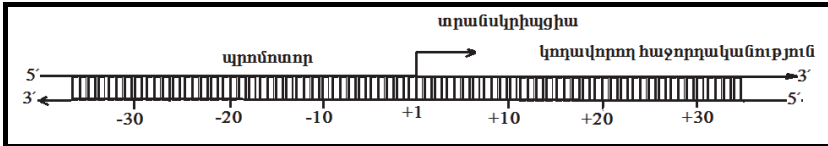
Միաբջիջ օրգանիզմների և բակտերիաների մոտ գենների ակտիվությունը կարգավորվում է այնպես, որ բջիջներում գործող ֆերմենտային համակարգերն ու ենթակառուցվածքներն առավել հարմարված լինեն արտաքին միջավայրի և սննդային շրջապատի ընթացիկ փոփոխություններին: Այսպիսով՝ Ժամանակի ցանկացած պահին բակտերիալ բջիջը սինթեզում է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

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

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

Առանձին գենների և օպերոնների ակտիվությունը բակտերիալ բջջում կարգավորվում է ՌՆԹ պոլիմերազի, ռեպրեսորների և ակտիվատորների բարդ հարաբերություններով: **Օպերոնների կամ առանձին գենների տրանսկրիպցիան կարող է սկսվել միայն նրանից հետո, երբ ՌՆԹ պոլիմերազը կապվում է սիզմա գործոններից մեկի հետ (σ-գործոն):** Բակտերիաներում ամենատարածված սիզմա գործոնը

σ^{70} -ն է: Այն մի կողմից միանում է Ռ-ՆԹ պոլիմերազին՝ հանդես գալով որպես Ռ-ՆԹ պոլիմերազի ենթամիավոր, մյուս կողմից՝ Գ-ՆԹ-ի պրոմոտորային հաջորդականությանը: σ^{70} -ը ճանաչում և միանում է տրանսկրիպցիայի սկիզբն ազդանշանող (+1) կետից 10 նուկլեոտիդ առաջ գտնվող (վերընթաց ուղղություն)(-10)-(-35) դասավորված հաջորդականություններին (նկար 52):



Նկար 52. +1-ով նշված է տրանսկրիպցիայի սկզբնակետը: Ռ-ՆԹ պոլիմերազը շարժվում է ձախից աջ: Սկզբնակետից առաջ գտնվող հաջորդականությունները նշված են (-)-ով (վերընթաց ուղղություն), իսկ +1-ից հետո գտնվող հաջորդականությունները՝ (+)-ով (վարընթաց ուղղություն): Վերընթաց շրջանում տեղակայվում են Ռ-ՆԹ պոլիմերազի հետ կապվող նուկլեոտիդային հաջորդականությունները:

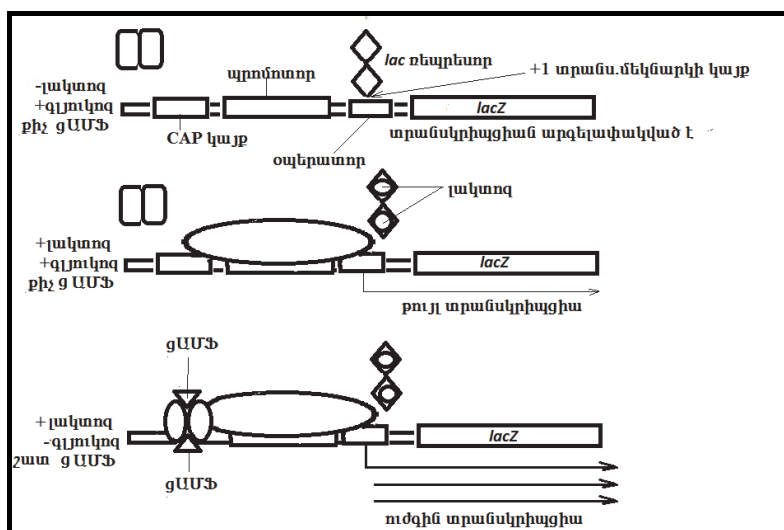
Այսպիսով՝ (-10)-ից մինչև (-35) դիրքում գտնվող նուկլեոտիդների հաջորդականությունը հանդես է գալիս պրոմոտորի դերում: Իրականում *E. coli*-ի Ռ-ՆԹ պոլիմերազը կապվում է Գ-ՆԹ-ի շատ ավելի ընդարձակ հատվածին, որն ընկած է (-50)-ից (+20) նուկլեոտիդների միջև: σ^{70} -ը ոչ միայն միացնում է Ռ-ՆԹ պոլիմերազը Գ-ՆԹ-ին, այլ նաև օգնում է ֆերմենտին ապապարուրել Գ-ՆԹ-ի մոլեկուլը տրանսկրիպցիայի մեկնարկման (+1) կայքում և կապել կողավորող մատրիցային շղթան Ռ-ՆԹ պոլիմերազի ակտիվ կենտրոնին: σ^{70} -ի և Ռ-ՆԹ պոլիմերազն առավել մեծ խնամակցությամբ են միանում նուկլեոտիդների հետևյալ հաջորդականությանը՝ **ԹԹԳԱՑԱԹ(-35 շրջան)-15-17 գն-ԹԱԹԱԱԹ(-10 շրջան)**: Այս հաջորդականությունները բնորոշ են բակտերիալ ուժեղ պրոմոտորներին, իսկ տառաչափի տարբերությունը 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 մեթաբոլիկ պահանջներին: Երբ *E. coli*-ի շրջակա միջավայրում բացակայում է կաթնաշաքարը (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, երբ միջավայրում գլյուկոզ չատավելի քիչ է պարունակվում, քան լակտոզ: Մեթաբոլիզմի շեղումը գլյուկոզի ճեղքավորումից դեպի լակտոզի ճեղքավորումը պայմանավորված է նրանով, որ բակտերիայի բջջում ***lac* օպերոնի արգելակումը կամ ռեպրեսիան դարձելի է**: *Lac* օպերոնի տրանսկրիպցիան կարգավորվում է ***lac* ռեպրեսորով** և **կատաբոլիզմի խթանիչ 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** (նկար 53):

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

լակտոզ, ապա ռեպրեսորի մոլեկուլների միայն մի մասն է կապվում լակտոզին: Օպերատորը մասնակիորեն ազատվում է ռեպրեսորից, և Ռ-ՆԹ պոլիմերազը σ^{70} գործոնի հետ հնարավորություն են ստանում միանալու պրոմոտորին: Սկսվում է օպերոնի դանդաղ տրանսկրիպցիան (տրանսկրիպցիայի արագությունը չափվում է մեկ թուպեում պրոմոտորին կապվող Ռ-ՆԹ պոլիմերազի մոլեկուլների քանակությամբ), ինչի հետևանքով սինթեզվում է սահմանափակ քանակությամբ *lac* ինֆորմացիոն Ռ-ՆԹ, և Z-հատվածով կողավորվող սպիտակուցները սինթեզվում են սահմանափակ քանակությամբ:



Նկար 53. *Lac* օպերոնի կառուցվածքն ու աշխատանքի կարգավորումը:

Ռ-ՆԹ պոլիմերազն ու σ^{70} (պատկերված են էլիպսի տեսքով), *lac Z*-ը β -գալակտոզիդազի և լակտոզի մեթաբոլիզմի համար պահանջվող ֆերմենտները կողավորող գենների շրջանն է: Տրանսկրիպցիայի վերահսկման շրջանը բաղկացած է մոտ 100 գն երկարությամբ հատվածից, որի մեջ են մտնում 3 սպիտակուց կապող հատվածներ՝ CAP-ի կապման կայք, *lac* պրոմոտորը, որին միանում են σ^{70} -ը և Ռ-ՆԹ պոլիմերազը, *lac* օպերատորը, որին միանում է ռեպրեսորը:

Երբ գլյուկոզը հեռացվում է միջավայրից, և գլյուկոզի ներքջային քանակությունը նվազում է, *E. coli*-ի բջիջներում սկսվում է ցիկլիկ ԱՄՖ-ի (gԱՄՖ) սինթեզ: Կոնցենտրացիայի մեծացման հետևանքով g-ԱՄՖ-ի մոլեկուլները կարողանում են միանալ CAP-ի մոլեկուլներին: CAP-ի և g-ԱՄՖ միացման հետևանքով CAP-ի կոնֆորմացիան այնպես է փոխվում, որ այն կարողանում է կապվել օպերոնի CAP-կայքի հետ: **CAP-g-ԱՄՖ** 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 մեթաբոլիզմի 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 դրսևորող պրոմոտորները, որոնք գուրկ են -35 և -10 դասական նուկլեոտիդային հաջորդականություններից, կոչվում են **թույլ պրոմոտորներ**: *lac* օպերոնի պրոմոտորը դասվում է թույլ պրոմոտորների շարքին, որի գործունեությունը կարող է ակտիվացվել g-ԱՄՖ-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՝ g-ԱՄՖ) կամ ակտիվատոր սպիտակուցի հետտրանսլյացիոն փոփոխություններով (օրինակ՝ ֆոսֆորիլացում): Բակտերիաների որոշ պրոմոտորների ակտիվացման համար անհրաժեշտ են այլ σ գործոններ: Այս այլընտրանքային σ գործոնները, որպես կանոն, անհրաժեշտ են այն գեների տրանսկրիպ-

ցիայի ակտիվացման համար, որոնք կողավորում են ջերմային շոկի, սննդանյութերի պակասի կամ սպորագոյացման համար անհրաժեշտ սպիտակուցները: Ի լրումն հիմնական σ^{70} գործոնին՝ *E. coli*-ն ունի վեց լրացուցիչ σ գործոն: Այլընտրանքային σ գործոնների 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 ՌՆԹ պոլիմերազներով: Նման գեների տրանսկրիպցիան ակտիվացնող ակտիվատորները ԴՆԹ-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 մեթաբոլիզմը շրջակա միջավայրի պայմաններին, այնպես որ բջիջը կարողանա նորմալ աճել ու բազմանալ: Բազմաբջիջ օրգանիզմներում նման խնդիր դրված է ոչ թե առանձին բջջի, այլ ողջ օրգանիզմի առջև: Դա նշանակում է, որ ի պատասխան արտաքին և ներքին միջավայրերի փոփոխությունների՝ օրգանիզմի որակապես տարբեր բջիջներում պետք է տեղի ունենան մեթաբոլիզմի համաձայնեցված փոփոխություններ: Էվոլյուցիայի ընթացքում բազմաբջիջ օրգանիզմների մոտ ձևավորվել են բարդ ազդանշանային համակարգեր, որոնք ոչ միայն ինտեգրում են տարաբնույթ արտաքին և ներքին ազդակներն ամբողջ օրգանիզմի մակարդակով, այլև ապահովում են բջիջների օպտիմալ ֆիզիոլոգիական պատասխանի ձևավորման համար մեթաբոլիզմի համարժեք և անհրաժեշտ փոփոխությունները: Բազմաբջջիջ օրգանիզմի բջիջները կարող են խթանել կամ արգելակել որոշակի գեների աշխատանքը: Ամենաբարդ կենսաբանական խնդիրը ծագում է բազմաբջիջ օրգանիզմի սաղմնային զարգացման շրջանում, երբ տեղի է

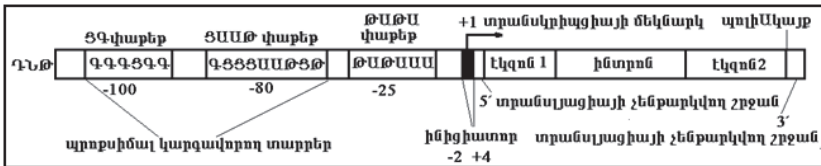
ունենում բջիջների մասնագիտացում և մասնագիտացած բջիջների հետագա զարգացում: Ակնհայտ է, որ նույն գենետիկական նյութը ժառանգած սաղմնային բջիջների մասնագիտացման ընթացքում դադարում են գործել, կամ հակառակը՝ ակտիվանում են բջջի մասնագիտացումը պայմանավորող գեների զանազան խմբեր: Տարբեր բջիջների, հյուսվածքների և 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 տարբերությունը պրոկարիոտների գեների ակտիվության վերահսկման մեխանիզմներից: **Պրոկարիոտների գեների ակտիվացումն ու արգելակումը միշտ դարձելի են, մինչդեռ էուկարիոտների բջիջներում 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 քրոմատինի բարդ տարածական կառուցվածքի փոփոխությունները տրանսկրիպցիայի ակտիվության կարգավորման լրացուցիչ լծակ են:

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

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

են պատկանում **TATA-փաթեթները (TATA-box), ինիցիատորները և ՅՖԳ կոդյակները:**

Պատմականորեն առաջինը պարզվեցին վիրուսային գեների-
նուկլեոտիդային հաջորդականություններն ու էուկարիոտների այն
գեների նուկլեոտիդային կազմը, որոնք կոդավորում էին որոշակի
հյուսվածքներում կամ բջջային բոլորաշրջանի խիստ որոշակի փու-
լում գործող սպիտակուցներ: Պարզվեց, որ մասն գեների տրանսկ-
րիպցիայի մեկնարկային կետից առաջ գտնվող ԴՆԹ-ի (-31)-ից
մինչև (-26)-րդ նուկլեոտիդների հատվածում ամգամ մեկ նուկլեոտի-
դի փոփոխությունը խիստ դանդաղեցնում է հարակից գենի տրանսկ-
րիպցիայի արագությունը:



Նկար 54. Էուկարիոտ բջջի գենի կարգավորիչ տարրերի գծանկար:

ՌՆԹ պոլիմերազ II -ով իրականացվող տրանսկրիպցիան կար-
գավորում են 4 տարբեր տիպի ԴՆԹ հաջորդականություններ՝

1. կարճ ինիցիատոր, որը շրջապատում է մեկնարկի կետն և կազմված է հիմնականում ադենինային մնացորդներից,
2. TATA փաթեթ, որը դասավորված է մեկնարկային կետից 25 նուկլեոտիդ առաջ: Կազմված է ԹԱ նուկլեոտիդներից և լրացուցիչ 2-3 ադենինային մնացորդներից,
3. ՅԳ կամ ՅՖԳ-փաթեթ (CG-box),
4. ՅԱԱԹ փաթեթ (CAAT-box):

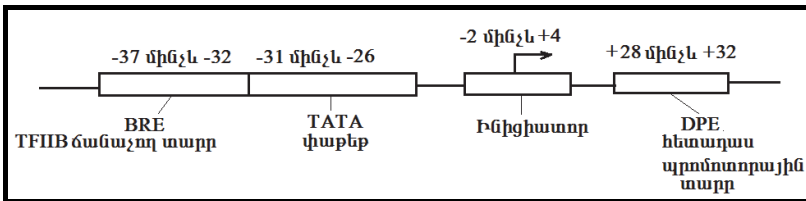
ՅԳ- փաթեթ և ՅԱԱԹ-փաթեթները, որոնք գտնվում են տրանսկ-
րիպցիայի մեկնարկի կետից մոտ (-100)-ից (-200) դիրքում, կոչվում
են պրոքսիմալ կարգավորիչ տարրեր, ինչով տարբերվում են շատ
ավելի հեռու դասավորված էնհանսերներից, որոնք կարող են գտնվել
ամգամ գենից հեռու գտնվող հաջորդականություններում: Երբ փորձ-
նական ճանապարհով տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից հե-

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

ՌՆԹ պոլիմերազ III-ի պրոմոտորները, որպես կանոն, գտնվում են **փ-ՌՆԹ-ների և 5S ռ-ՌՆԹ-ի գեների մեկնարկային կետից հետո և ունեն մոտ 10 զն երկարություն**: Փ-ՌՆԹ-ի կարգավորիչ տարրերն A (A box) և B փաթեթներն են (B box): 5S ռ-ՌՆԹ-ի գեների պրոմոտորներն ունեն A և C փաթեթներ:

8.3. Ինիցիատորներ և ՑՖԳ կոդյակներ

Էուկարիոտների որոշ գեներ ԹԱԹԱ փաթեթի փոխարեն ունեն այլընտրանքային պրոմոտոր, որը կոչվում է **ինիցիատոր**: Ինիցիատորների (-1)-ին դիրքում գտնվում է ցիտոզինը, իսկ տրանսկրիպցիայի մեկնարկի կետում դասավորված է ադենինը:



Նկար 55. Պրոմոտորային տարրերի դասավորությունը կաթնասունների գեոմում:

Ինիցիատորների ճշգրիտ մոլեկուլառաջին հաջորդականությունները լիովին պարզված չեն, բայց հայտնի է, որ ինիցիատորի հզորությունը կախված է մեկնարկային կետը շրջապատող մոլեկուլառաջին հաջորդականություններից: Հաճախ կաթնասունների սպիտակուց կոդավորող գեների ակտիվությունը կարող է կարգավորվել լրացուցիչ պրոմոտորային տարրերով: Վերջիններս ԴՆԹ-ի այնպիսի հաջորդականություններ են, որոնք ունակ են միանալու տրանսկրիպցիան ակտիվացնող որոշակի սպիտակուցներին (**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:

Այն գեների տրանսկրիպցիան, որոնց պրոմոտորը ներկայացված է ԹԱԹԱ փաթեթով, միշտ մեկնարկում է մեկ որոշակի կետից: Կաթնասունների սպիտակուց կողավորող գեների 60-70 %-ը գուրկ են ԹԱԹԱ փաթեթից, և դրանց տրանսկրիպցիան այդքան ակտիվ չէ, որքան ԹԱԹԱ փաթեթ կամ ինիցիատոր ունեցող պրոմոտորների տրանսկրիպցիան: Նվազ ակտիվ գեները, որպես կանոն, կողավորում են մեթաբոլիզմի միջանկյալ ուղիների ֆերմենտները (այդ գեները կոչվում են «տնային տնտեսուհի» գեներ): «Տնային տնտեսուհի» գեների պրոմոտորները ներկայացված են տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից 100-1000 զն առաջ գտնվող ԴՆԹ-ի հատվածներով, որոնք հարուստ են ցիտոզինով և գուանինով: ԴՆԹ-ի մման հատվածները կոչվում են **ՅԳ կամ ՅՖԳ կոդյակներ ընդգծելու համար այն փաստը, որ դրանցում դիտվում է ցիտոզին-գուանին զույգերի կենտրոնացում: ՅՖԳ կոդյակներում ցիտոզինը միանում է գուանինին ֆոսֆատային խմբով: Կաթնասունների գենոմում ՅՖԳ կոդյակների սահմաններից դուրս գտնվող ՅԳ զույգերի ցիտոզինը մեթիլացված է:** Մեթիլացված ցիտոզինը ինքնաբուխ դեզամիմացվում է և վեր է ածվում թիմինի: Այդ պատճառով կաթնասունների գենոմում ՅԳ զույգերի պարունակությունը համեմատաբար ցածր է: ՅՖԳ կոդյակներում ցիտոզինները մեթիլացված չեն, և պատահական դեզամիմացման հետևանքով առաջացնում են ուրացիլի մնացորդներ: Ուրացիլները ԴՆԹ-ի կազմում արագ ճանաչվում են ԴՆԹ-ն վերանորոգող սպիտակուցային համալիրների կողմից (ռեպարացման համալիրներ) և փոխարինվում են ցիտոզինով: Այսպիսով՝ ՅՖԳ կոդյակներում պահպանվում է ՅԳ մուկլեոտիդային զույգերի համեմատաբար բարձր պարունակությունը: ՅՖԳ զույգերով հարուստ ԴՆԹ-ի հատվածները ճկուն չեն և ինքնաքերաքար չեն կարող պարուրվել հիստոնների շուրջ: Այդ պատճառով ՅՖԳ կոդյակները գուրկ են մուկլեոսոմներից, և դրանցում ԴՆԹ-ն գտնվում է ազատ վիճակում:

Ենթադրվում է, որ դրա շնորհիվ տրանսկրիպցիայի գործոնները հեշտությամբ կապվում են ՖՖԳ կոդյակներում՝ ի վերջո հանգեցնելով տրանսկրիպցիայի ակտիվության մեծացմանը: ՖՖԳ կոդյակների 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, երբ սինթեզված Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի երկարությունը հասնում է 1000 նուկլեոտիդի: **ՖՖԳ կոդյակները, ինիցիատորները, ԹԱԹԱ, ՑԱԱԹ փաթեթները միասին դասվում են տրանսկրիպցիայի հիմնական կամ կորային (core promoter) պրոմոտորների խմբին:**

8.4. Էնհանսերներ և սայլենսերներ

Բացի կորային պրոմոտորներից՝ տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը կարող է վերահսկվել գենի պրոմոտորից շատ ավելի հեռու գտնվող Դ-ՆԹ-ի հատվածներով, ընդ որում՝ դրանք կարող են գտնվել գենից առաջ, միջնամասում կամ գենից հետո: Տրանսկրիպցիայի կարգավորման մասն տիպի տարրերը կոչվում են **էնհանսերներ**, եթե ակտիվացնում են, և **սայլենսերներ**, եթե արգելակում են գենի տրանսկրիպցիան: Ընդհանրացված անունով այս տարրերը նախկինում կոչվում էին կարգավորման **դիստալ (հեռավոր) տարրեր**, քանի որ կարող են գտնվել կարգավորվող պրոմոտորից հազարավոր գն հեռավորության վրա և անգամ կարող են ունենալ պրոմոտորի ուղղվածությանը հակառակ ուղղվածություն: Հետագայում պարզվեց, որ էնհանսերները կարող են կարգավորվող գենին բավականին մոտ գտնվել և անգամ կարող են գտնվել գեների ինտրոններում, ինչպես հակամարմիններ կողավորող գեներում: Էնհանսերները կարգավորում են բազմաթիվ գեների տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը: Որպես կանոն, էնհանսերները կազմված են մի քանի տարրեր կարճ կարգավորիչ Դ-ՆԹ-ի հատվածներից: Այդ Դ-ՆԹ-ի հատվածները կարող են միանալ զանազան սպիտակուցներ, որոնք կարող են ազդել

տրանսկրիպցիայի ակտիվության վրա այնպես, ինչպես պրոկարիոտների ռեպրեսորները կամ ակտիվատորները: Էնհանսերների կազմի մեջ կարող են մտնել ՅՖԳ կոդյակներ 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: Շատ հաճախ դժվար է հստակորեն տարբերակել 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 բջիջներում հաճախ ակտիվացման ենթակա գեների քլաստերը կարող է գտնվել այն գեների կլաստերի հարևանությամբ, որոնք պետք է լռեցվեն: Նման դեպքերում այդ կլաստերները միմյանցից սահմանազատվում են **ինսուլյատոր** կոչվող ԴՆԹ հատվածներով: Ինսուլյատորներն ու դրանց միացած սպիտակուցները ստեղծում են ֆիզիկական պատնեշ, որը թույլ չի տալիս, որ էնհանսերի կամ սայլենսերի ազդեցությունը տարածվի միաժամանակ երկու գենային քլաստերների վրա: Հաճախ ինսուլյատորների դերում հանդես են գալիս քրոմատինի կիսաօղակների հիմքերը, որոնք խաբսխված են բջջակորիզային մատրիքսի մանրաթելերում (MAR-ում):

8.5. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններ, ԴՆԹ պոլիմերազ 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 տարբերություն 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 ԳՆԹ-ի շղթաները միմյանցից, որ ինֆորմատիվ շղթան կարողանա մուտք գործել պոլիմերազի ակտիվ կենտրոն: Հիմնականում տրանսկրիպցիայի գործոնները մուլտիմերային սպիտակուցներ են:

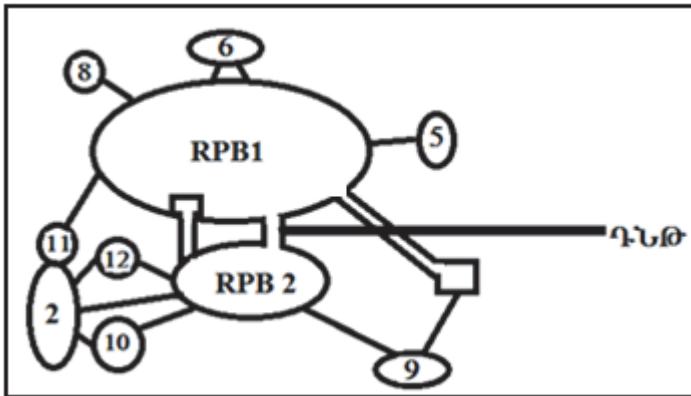
Ամենախոշորը տրանսկրիպցիայի գործոնը **TFIID**-ն է: Այն կազմված է մեկ 384Դ գանգվածով միավորից (**TBP**) և **13 փոքր ենթամիավորներից (TBP-associated factors-TAFs)**: TBP-ն անմիջականորեն միանում է ԹԱԹԱ փաթեթին և կոչվում է ԹԱԹԱ փաթեթին միացող սպիտակուց (**TATA box binding protein-TBP**): **TAF-ներին բնորոշ 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 համալիրը, 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 բջջակորիզները պարունակում են երեք տարբեր տիպի ՌՆԹ պոլիմերազներ: Դրանք են ՌՆԹ պոլիմերազ I-ը, II-ը և III-ը: Այս պոլիմերազներն ունեն տարբեր մակերևութային լիցքեր

և տարբերվում են **ամանիտինի** (որոշ սնկերի կողմից արտադրվող բունավոր օկտապեպտիդ) հանդեպ դրսևորած զգայնությամբ:

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

Ռ-ՆԹ պոլիմերազ I-ը գտնվում է կորիզակում և իրականացնում է **ռիբոսոմային Ռ-ՆԹ-ների գեների տրանսկրիպցիան**, առաջացած ռիբոսոմային մախա-Ռ-ՆԹ-ները հասունացումից (պրոցեսինգից) հետո սկիզբ են տալիս **28 S, 5.8 S և 18 S ռիբոսոմային Ռ-ՆԹ-ներին**:



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

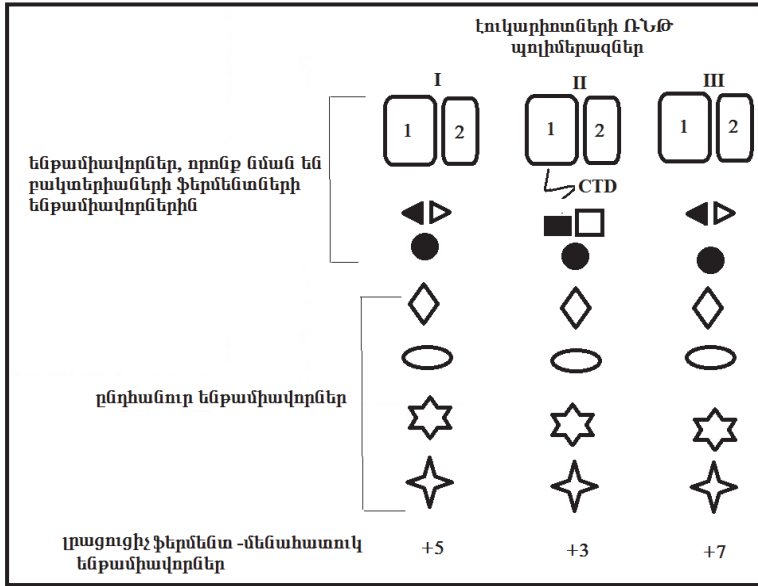
Ռ-ՆԹ պոլիմերազ III-ը իրականացնում է **փ-Ռ-ՆԹ-ների, 5S, սալայսինգին մասնակցող U6 Ռ-ՆԹ-ի և պեպտիդները դեպի էնդոպ-**

լազմատիկ ցանցի խտրականներն ուղղորդող ազդանշանային համակարգի (SRP) ՌՆԹ միավորը կողավորող գեների տրանսկրիպցիան:

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

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

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



Նկար 57. Էուկարիոտների Ռ-ՆԹ պոլիմերազների կառուցվածքային տարբերությունները: CTD-Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ի մեծ ենթամիավորի կարբօքսիտերմինալ դոմեն (C-ծայրային դոմեն):

Ռ-ՆԹ պոլիմերազ I-ի և Ռ-ՆԹ պոլիմերազ III-ի լրացուցիչ ենթամիավորներից երեքը մնան են Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ի լրացուցիչ ենթամիավորներին: Ռ-ՆԹ պոլիմերազ I-ի մնացած երկու լրացուցիչ ենթամիավորները մնան են տրանսկրիպցիայի գործոն THIF-ին, իսկ Ռ-ՆԹ պոլիմերազ III-ի 4 լրացուցիչ ենթամիավորները հոմոլոգ են տրանսկրիպցիայի գործոն THIF-ին և TFIIIE-ին:

Երբ Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ի ակտիվ կենտրոնի մոտ գտնվող Ռ-ՆԹ-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 Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ը կարծես խաբսխվում է վարընթաց ԴՆԹ-ի երկշղթա մոլեկուլին: Խաբսխված ֆերմենտին է միանում տրանսկրիպցիայի էլոնգացման գործոն DSIF-ն, որը ապահովում է Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ի կապը

ԴՆԹ-ի հետ տրանսկրիպցիայի ողջ ընթացքում: Տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո սինթեզված ՌՆԹ-ն դուրս է գալիս ֆերմենտի, այսպես կոչված, «ելքի ակոսից»: Դրանից հետո ՌՆԹ պոլիմերազ II-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 գն): ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի միջին արագությունը կազմում է 1-2 հգն/րոպ: Այսպիսով՝ դիստրոֆին սպիտակուցի գենի տրանսկրիպցիան տևում է մոտ 1 օր, և ՌՆԹ պոլիմերազ II-ը այդ ընթացքում չի դիսոցվում ԴՆԹ-ից: ՌՆԹ պոլիմերազների բոլոր ենթամիավորներն անհրաժեշտ են բջիջների կենսունակության ապահովման համար: ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի ամենամեծ՝ RPB1 ենթամիավորն ունի պոչիկ, որը կազմված է 7 ամինաթթուների կրկնվող հատվածներից: Այս պոչիկը հատուկ է **քա-ցառապես ՌՆԹ պոլիմերազ II-ին** և կոչվում է **կարբօքսի-ծայրային դոմեն (carboxyl-terminal domain, CTD)**: Խմորասնկերի մոտ այս դոմենը կազմված է հեքսապեպտիդի 26 կամ ավելի կրկնություններից, իսկ ողնաշարավորների մոտ կրկնությունների թիվը հասնում է 52-ի: CTD-ն անհրաժեշտ է կենսունակության ապահովման համար, և դրանվազագույն երկարությունը խմորասնկերի մոտ պետք հասնի առնվազն 10 կրկնությունների: Տրանսկրիպցիայի մեկնարկման պահին ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի CTD-ն ֆոսֆորիլացված չէ: Սակայն մեկնարկից գրեթե անմիջապես հետո, երբ ֆերմենտը լքում է պրոմոտորը, CTD-ն կազմող հեքսապեպտիդների կազմի մեջ մտնող **սերիններն ու քիրոզինները ֆոսֆորիլացվում են**:

8.6. Տրանսկրիպցիայի ընթացք

Էուկարիոտների տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների մոլեկուլները մոտ են ամինաթթվային կազմով և գործունեության բնույթով: ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի (Պոլ II) և դրան հատուկ տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների համալիրի միացումը պրոմոտորին

ձևավորում է տրանսկրիպցիայի **նախամեկնարկային համալիր**: Դի-տարկենք Պոլ II նախամեկնարկային համալիրի ձևավորումը ԹԱԹԱ փաթեթով պրոմոտորի վրա:

Գործընթացը սկսում է նրանից, որ ԹԱԹԱ պրոմոտորին է միանում TBP սպիտակուցը (**TATA binding protein**), որը **մոլտիմերային 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 մնամատիպ 180 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված C-ծայրային դոմեններ**: TBP-ն կապվում է ԴՆԹ-ի փոքր ակոսիկում և զգալիորեն կորացնում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլը (գրեթե 80°-ով): Նրանից հետո, երբ ԹԱԹԱ պրոմոտորին միանում է TFIID-ն, հնարավոր է դառնում հաջորդ գործոնի՝ **TFIIB-ի** միացումը գոյացած համալիրին: TFIIB-ն մոնոմերային սպիտակուց է, որը քիչ ավելի փոքր է TBP-ից: **TFIIB-ի C-ծայրային դոմենը** միանում է և՛ ԴՆԹ-ին, և՛ TBP-ին ԹԱԹԱ փաթեթի երկու կողմերից, իսկ **N-ծայրային դոմենը** ունակ է ներթափանցելու Պոլ II-ի ելքի ակոսիկի մեջ: TFIIB-ի միացումից հետո է Պոլ II-ը ընդունակ դառնում կատարելու երկու կարևոր ֆունկցիա.

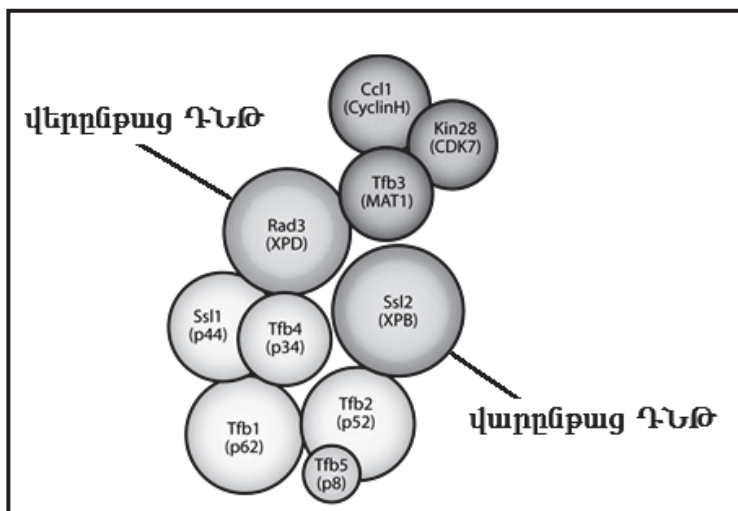
- տարանջատել ԴՆԹ-ի շղթաները (հալեցնել ԴՆԹ-ն) տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կայքում,
- կապել ԴՆԹ-ի ինֆորմատիվ շղթան ակտիվ կենտրոնում:

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:

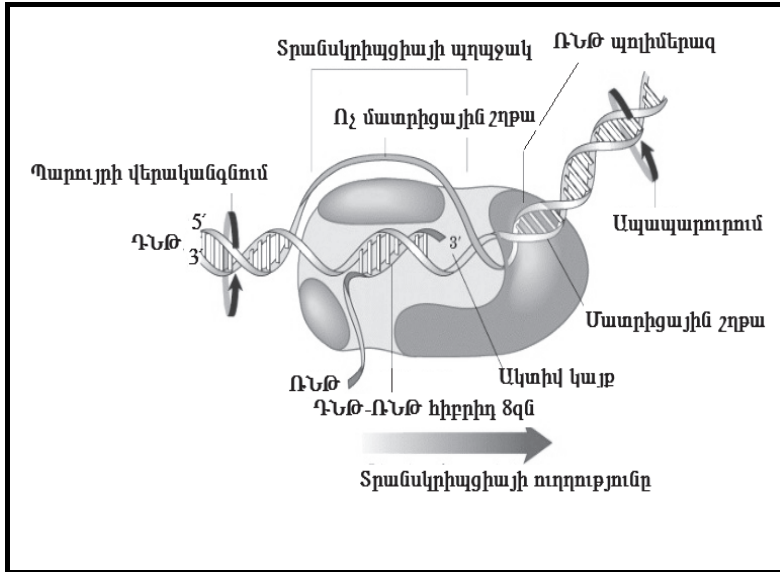
ԴՆԹ-ի շղթաների տարամիտման համար անհրաժեշտ են ևս երկու գործոններ: Դրանցից առաջինը տետրամերային սպիտակուց **TFIIE**-ն է, որը բաղկացած է երկու տարբեր դիմերներից: TFIIE-ն ստեղծում է անհրաժեշտ հարթակ հերթական տրանսկրիպցիայի գործոնի կապման համար: Այդ գործոնը **TFIIH**-ն է, որը բաղկացած է 10 ենթամիավորներից, 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 պոպջակի» առաջացմանը: Տրանսկրիպցիայի պոպջակը ներառում է 20-25 զն երկարությամբ ապապարուրված ԴՆԹ-ի հատված, որը միացած է նախամեկնարկային համալիրի և Պոլ II-ի ակտիվ կենտրոնի հետ (նկար 59): Յիկլին-կախյալ կինազային համալիրը կատարում է Պոլ II-ի C-պոչիկի **յուրաքանչյուր 5-րդ սերինային մնացորդի ֆոսֆորիլացումը**: TFIID-ի միացումով ավարտվում է նախամեկնարկային համալիրի ձևավորումը in vitro պայմաններում: TFIID-ի հելիկազային ակտիվություն ունեցող ենթամիավորը, օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, ապապարուրում է ԴՆԹ-ն մեկնարկային կայքում:

Նկար 58. Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոն TFIID-ի



ենթակառուցվածքը [Gibbons B et al,2012]:



Նկար 59. Տրանսկրիպցիայի պոլյազակի կառուցվածքը:

TFIIH-ի նշանակությունը չի սահմանափակվում գուտ տրանսկրիպցիայի գործոնի դերով: Այն մասնակցում է նաև ԴՆԹ-ի վնասվածքների վերականգնման գործընթացին: Հանդիպելով ԴՆԹ-ի խզվածքի՝ Պոլ II-ը կանգ է առնում: TFIIH-ի հեղիկազային ակտիվություն դրսևորող 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 XPB-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 XPB-ի և XPD-ի գեների մուտացիաներով, Կոկոնյի ախտանիշն է (մտավոր թերզարգացում, մազածածկի և եղունգների սխալ

ձևավորում, վաղաժամ ծերացում, հակվածություն չարորակ նորագոյացումներին):

Տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոններն ապահովում են տրանսկրիպցիան *in vitro* պայմաններում (օրգանիզմից դուրս-արհեստական համակարգեր): Պարզվեց, որ բազմաքիչ օրգանիզմներում նախամեկնարկային համալիրի ձևավորման համար անհրաժեշտ է լրացուցիչ տրանսկրիպցիայի 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: Շատ գեների մոտ, որոնք զուրկ 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 խթանում են տրանսկրիպցիան: **TAF-երը մասնակցում են առնվազն երկու գործընթացի.**

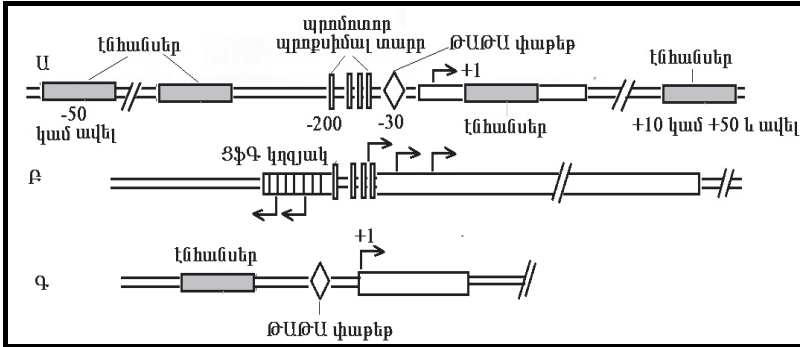
- այն գեների տրանսկրիպցիայի նախամեկնարկային համալիրի ստեղծմանը, որոնց պրոմոտորի դերում հանդես է գալիս ԹԱԹԱ փաթեթը,
- թույլ պրոմոտորներով գեների նախամեկնարկային համալիրների ստեղծմանը (ՅՖԳ կոդյակներ, ինիցիատորներ):

TFIID-ի կազմի մեջ մտնող TAF-երը կարող են բազմաթիվ թույլ կապերով միանալ ՅՖԳ կոդյակների կամ այլ թույլ պրոմոտորների մի քանի այլընտրանքային հաջորդականություններին, ինչի հետևանքով տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնները կարող են հավաքվել տարբեր այլընտրանքային կալքերում: Այս պարագայում տրանսկրիպցիայի մեկնարկի կալքը զուրկ է խիստ որոշակի դիրքից, ինչը հատուկ է ԹԱԹԱ պրոմոտորով գեների տրանսկրիպցիային:

Ինչպես արդեն ասվել է, բազմաթիվ պրոմոտորների աշխատանքն էուկարիոտների մոտ կարող է խթանվել էնհանսերներով, որոնք գտնվում են հազարավոր գույգ նուկլեոտիդների հեռավորությ-

յան վրա: Էնհանսերները սովորաբար կազմված են մի քանի տիպի նուկլեոտիդային հաջորդականություններից, որոնցից յուրաքանչյուրը կարող է կապվել որոշակի տրանսկրիպցիայի գործոնի հետ (մման հաջորդականությունների թիվը միջինում հասնում է 10^6 : Բազմաբջիջ կենդանիների մոտ էնհանսերները կարող են գտնվել պրոմոտորից առաջ, ինտրոններում կամ անգամ գենի վերջին էկզոնից հետո: Շատ էնհանսերների դիրքը փոփոխվում է բջիջների տեսակից կախված, և մի գենի տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը կարող է կարգավորվել մի քանի էնհանսերների կողմից: Խմորասնկերի մոտ էնհանսերները, որպես կանոն, գտնվում են պրոմոտորներից առաջ 200 զն հեռավորության վրա և կոչվում են **վերընթաց ակտիվացնող հաջորդականություններ (Upstream Activating Sequences-UAS)**: Էնհանսերները, ինչպես և պրոմոտոր-պրոքսիմալ այլ տարրեր, կարող են խթանել տրանսկրիպցիան անգամ, եթե շրջված են մեկնարկային կետի նկատմամբ 180° -ով: Նկար 60-ում ի մի են բերված ժամանակակից պատկերացումները, և գծապատկերում ընդհանրացված է տրանսկրիպցիան խթանող բոլոր հայտնի տարրերի հարաբերական դիրքը ԹԱԹԱ պրոմոտոր ունեցող գենի նկատմամբ: Նկարից երևում է, որ ԹԱԹԱ պրոմոտորը գտնվում է գենի 5' ծայրի առաջին տրանսկրիպցիայի ենթարկվող նուկլեոտիդից -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 հակադրություն դրանց՝ էնհանսերներն ավելի երկար են՝ 50-200 զն, և դրանց մեջ են մտնում 6-10 զն երկարությամբ տարբեր հատվածներ: Էնհանսերները կարող են գտնվել ԹԱԹԱ պրոմոտորից 50 000 զն հեռավորության վրա: Կաթնասունների գեների մոտ 60-70 %-ի տրանսկրիպցիան կարգավորվում է ոչ թե ԹԱԹԱ պրոմոտորով, այլ ՅՖԳ կոդյակներով: Այն գեների տրանսկրիպցիան, որոնց պրոմոտորը ՅՖԳ կոդյակներն են, կարող է սկսվել մի քանի այլընտրանքային մեկնարկային կետերից: Թեև տրանսկրիպցիան միաժամանակ ընթանում է երկու հակամետ ուղղություններով, 1000 զն երկարությամբ ի-ՌՆԹ-ի շղթայի սինթեզից հետո սկսում է գերակայել տրանսկրիպցիայի իմաստավորված ուղղությունը: Խմորասնկերի գեները սովորաբար կարգա-

վորվում են մեկ UAS տարրով, որը գտնվում է տրանսկրիպցիայի մեկնարկային կետից մի քանի հարյուր գույգ նուկլեոտիդ առաջ, իսկ ԹԱԹԱ փաթեթը՝ 90 գն առաջ:



Նկար 60. Էնհանսերների հնարավոր դիրքերը գենի պրոմոտորի նկատմամբ: Ա) կաթնասունների գեներ ԹԱԹԱ փաթեթային պրոմոտորով; Բ) կաթնասունների գեներ ՅՖԳ պրոմոտորով; Գ) խմորասնկի գեն ԹԱԹԱ պրոմոտորով:

8.7. Տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլ և ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի հասունացում կամ պրոցեսինգ

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

ների 5' ծայրերի կեպավորման ֆերմենտները: **Կեպավորման գործընթացը հատուկ է միայն Պոլ II -ով իրականացվող ի-Ռ-ՆԹ-ների համար:**

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

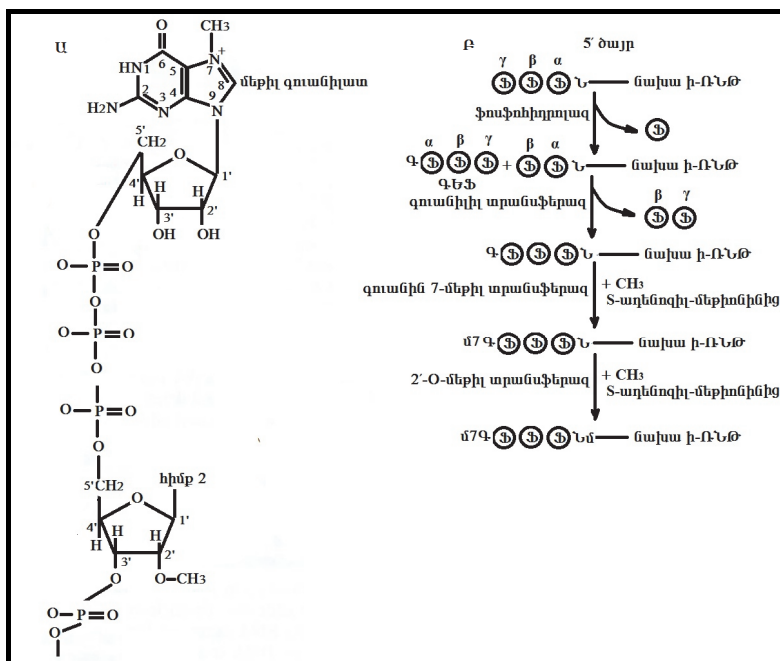
Տրանսկրիպցիայի մեկնարկից հետո տեղի են ունենում ևս 3 կարևոր գործընթացներ, որոնք ապահովում են գործունակ ինֆորմացիոն Ռ-ՆԹ-ների առաջացումը նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլներից: Դրանք են՝ **5' կեպավորումը, 3' ճեղքավորում-պոլիադենիլացումն ու սալլայսինգը:** Թվարկած գործընթացները կոչված են հեռացնելու ոչ ինֆորմատիվ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

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

8.8. Կեպավորում

Ամփջապես նրանից հետո, երբ նորաստեղծ ի-ՌՆԹ-ի երկարությունը հասնում է մոտավորապես 25 նուկլեոտիդի, և մոլեկուլը դուրս է գալիս ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի ակոսիկից, նրա 5' ծայրին միացվում է պաշտպանիչ **կեպը** (տերմինը ծագել է անգլերեն cap բառից): Կեպը ի-ՌՆԹ-ին բնորոշ ձևավորություն է և պաշտպանում է մոլեկուլի 5' ծայրն էկզոնուկլեազների քայքայիչ ազդեցությունից թե՛ բջջակորիզում, թե՛ ցիտոպլազմում: Կեպավորումն իրականացնում է դիմերային կառուցվածք ունեցող կեպավորող ֆերմենտը, որը կապվում է ՌՆԹ-պոլիմերազի ֆոսֆորիլացված CTD դոմենին: Հիշենք, որ CTD դոմենի յուրաքանչյուր 5-րդ սերինային մնացորդը (Tyr-**Ser**-Pro-Thr-**Ser**-Pro-Ser) ֆոսֆորիլացված է տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոն TFIIH-ի կողմից: Կապվելով CTD-ի ֆոսֆորիլացված սերինային մնացորդներին՝ կեպավորող ֆերմենտն ակտիվանում է, և ակտիվացած մոլեկուլները խմբվում են նորաստեղծ նախա-ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի վրա: Կեպավորման գործընթացը հատուկ է միայն ի-ՌՆԹ-ներին, քանի որ ՌՆԹ պոլիմերազներ I-ը և III-ը չունեն CTD դոմեն: Կեպավորող ֆերմենտի ենթամիավորներից մեկը ճեղքում և հեռացնում է նորաստեղծ ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի **γ**-ֆոսֆորական խումբը: Մյուս ենթամիավորը ԳԵՖ-ից անջատված ԳՄՖ-ը տեղափոխում է

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



Նկար 61. Կեպավորում: Ա) նորաստեղծ Ռ-ՆԹ-ի 5' ծայրի Վ ֆոսֆորական մնացորդը տեղակայվել է մեթիլ գուանիլատով, որը կապվել է Ռ-ՆԹ-ի շղթայի մեթիլացված նուկլեոտիդի հետ 5' - 5' ֆոսֆոդիֆերային կապով; Բ) կեպավորման գործընթացի հաջորդական փուլերի գծապատկեր; Ն-նուկլեոտիդ, մԳ-մեթիլ գուանիլատ, Նմ-մեթիլացված նուկլեոտիդ:

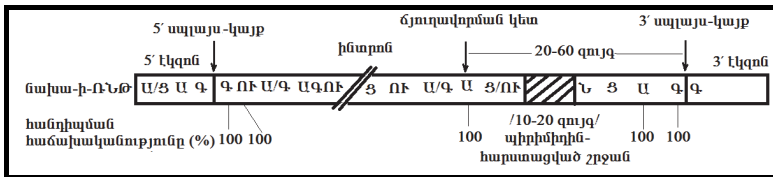
8.9. Սպլայսինգ

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

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

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

Սպլայսինգի կայքերը գտնվում են նախա-ՌՆԹ-ի էկզոն-ինտրոն սահմանագծին: Կլոնավորված ԴՆԹ-ների և համապատասխան ի-ՌՆԹ-ների համադրությունը ցույց տվեց, որ սպլայսինգի կայքերը նուկլեոտիդային որոշակի հաջորդականություններ են, որոնք գտնվում են ինտրոնների երկու ծայրերում (նկար 62): Սպլայսինգի կայքերի (սպլայս-կայքերի) նուկլեոտիդային հաջորդականությունները նույնն են էվոլյուցիոն կազմակերպման տարբեր մակարդակներին փրա գտնվող տեսակների մոտ:



Նկար 62. Սպլայս-կայքերում գտնվող նուկլեոտիդային հաջորդականություններ: Թեք գծերով նշված է մասշտաբի փոփոխությունը, ինչն ընդգծում է ինտրոնների չափերի և ծայրային նուկլեոտիդների որոշակի հաջորդականություններին համապատասխանող հատվածների հարաբերական մեծությունները: Սպլայս-կայքերի միջև գտնվող ինտրոնային հաջորդականությունների զգալի հատվածի հեռացումը չի ազդում սպլայսինգի վրա, եթե պահպանված են ծայրային նուկլեոտիդային հաջորդականությունները (30-40 նուկլեոտիդ ինտրոնի յուրաքանչյուր ծայրում):

Սպլայսինգի գործընթացի միջանկյալ փուլն տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիաների հաջորդականությունն է, որոնց ընթացքում ինտրոններից ձևավորվում են **«լարիատներ»**: Լարիատները այնպիսի կառույցներ են, որոնցում 5' գուանինը անսովոր 2'-5' ֆոսֆոդիեթերային կապով միացած է ինտրոնի մյուս ծայրում գտնվող ադենոզինին (նկար 63): Այն կայքը, որտեղ գտնվում է ադենոզինը, կոչվում է

Է **ճյուղավորման կետ**, քանի որ այդ կետում Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլը կորցնում է գծային ձևը և ձևավորում է լարիատային կիսաօղակ: Լարիատների առաջացման ժամանակ ֆոսֆոեթերային կապերի քանակի փոփոխություն տեղի չի ունենում, և ռեակցիայում էներգիա չի ծախսվում:

Սալլայսինգի գործընթացն իրականացնում են փոքր կորիզային Ռ-ՆԹ-ները (snRNA), որոնց համապատասխան հատվածները զուգավորվում են նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի կոմպլեքսնառար մուկլեոտիդների հետ: Այդ փ.կ.Ռ-ՆԹ-ները կապված են շուրջ 170 տարբեր կորիզային սպիտակուցների հետ: **Սալլայսինգին մասնակցում են U1, U2, U4, U5 և U6 փոքր կորիզային Ռ-ՆԹ-ները**, որոնք հարուստ են ուրացիլով: Այս փ.ն.Ռ-ՆԹ-ներից յուրաքանչյուրը կապված է 6-10 սպիտակուցների հետ՝ կազմելով էուկարիոտների բջջակորիզներին հատուկ **ռիբոնուկլեին՝ ապրոտեինային մասնիկներ (snRNP)**: U1, U2, U4, U5 և U6 կորիզային Ռ-ՆԹ-ները, նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ն և գործընթացին մասնակցող այլ սպիտակուցներ համատեղ կազմում են մեծ ռիբոնուկլեինաապրոտեինային համալիր, որը կոչվում է **սալլայսատմ**: Սալլայսատմի զանգվածը մոտ է ռիբոսոմի զանգվածին:

Սալլայսինգի համար անհրաժեշտ են նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի 5' սալլայս-կայքը և U1-ի կազմի մեջ մտնող Ռ-ՆԹ-ի 5' ծայրային հատվածը: Հաջորդ կրիտիկական գործառույթը U2-ի և Ա-ճյուղավորման կետի շրջանում գտնվող մուկլեոտիդների զուգավորումն է (նկար 63): Նախա ի-Ռ-ՆԹ-ի շղթայի արտափքումը ճյուղավորման կետում թույլ է տալիս ադենինի 2' հիդրօքսիլ խմբին մասնակցել առաջին տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիային:

Սպլայաստմի ձևավորումը սկսում է Ս1-ի կազմի մեջ մտնող փ.կ.ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդների զուգավորումից նախա-ի-ՌՆԹ-ի 5' սպլայա-կայքի նուկլեոտիդների հետ (նկար 64): Դրան հետևում է SF1-ի (splicing factor 1-սպլայսինգի գործոն 1) միացումը Ա-ճյուղավորման կետին: Միաժամանակ U2AF (U2-associated factor - U2 կապված գործոն) հետերոդիմերային սպիտակուցն իր մեծ ենթամիավորով միանում է պոլիպիրիմիդին-հարստացված շրջանին, իսկ փոքր ենթամիավորով՝ ինտրոնի 3' ծայրում գտնվող ԱԳ նուկլեոտիդներին: Երբ U2-ի փ. կ. ՌՆԹ-ն զուգավորվում է Ա-ճյուղավորման կետի շրջանում գտնվող նուկլեոտիդների հետ, SF1-ը անջատվում է համալիրից: Ս4-ի և Ս6-ի փ. կ. ՌՆԹ-ները զուգավորվում են, որից հետո դրանց է միանում Ս5-ը: Ս4/Ս6/Ս5 եռակի համալիրը միանում է նախապես կազմավորված Ս1/ Ս2-նախա-ի-ՌՆԹ համալիրին՝ ավարտելով սպլայաստմի ձևավորումը: Սպլայաստմի ձևավորումից հետո նախա-ի-ՌՆԹ-ների և կ.փ. ՌՆԹ-ների նուկլեոտիդների զուգավորման կարգը փոխվում է, ինչի հետևանքով համալիրից անջատվում են Ս1-կ.փ. ՌՆԹ-ները: Հաջորդ քայլում սպլայսոսոմում տեղի են ունենում նոր վերախմբավորումներ, ինչի հետևանքով անջատվում է Ս4-ՌՆԴ-ն (Ս-4-ն համապատասխան սպիտակուցային համալիրի հետ): Ս4-ՌՆԴ-ի անջատումից հետո իրականացվում է առաջին տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիան, և ինտրոնի 5'ծայրի ֆոսֆատի և Ա-ճյուղավորման կետի 2' հիդրօքսիլի միջև ձևավորվում է 2'-5' ֆոսֆոդիեթերային կապը: Սպլայաստմը կազմող Ս-ՌՆԴ-ների նուկլեոտիդների միջև նոր զույգերի և Ս-ՌՆԴ-ների նոր համադրությունների առաջացման գործընթացը շարունակվում է, և երկրորդ տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիայի հետևանքով երկու էկզոնները միանում են միմյանց, իսկ ինտրոնը կամ միջանկյալ էկզոնը կ. փ. ՌՆԴ-ներին միացած լարիատային կիսաօղակի ձևով հեռացվում է (նկար 64): Լարիատ-ինտրոն-ՌՆԴ համալիրն արագ դիսոցվում է, և ազատված կ. փ. ՌՆԴ-ները կարող են մասնակցել սպլայսինգի նոր բոլորաշրջանին: Կտրված ինտրոնը կամ էկզոնը քայքայվում է հատուկ ՌՆԱզներով:

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

մնում յուրահատուկ **հետերոգեն կորիզային ռիբոնուկլեինապրոտեիններին (hnRNP- հկ.ՌՆՊ-ներ)**՝ կազմավորելով **էկզոնների միացման համալիր**: Էկզոն-միացման համալիրի ՌՆՊ-ներից մեկը ՌՆԹ-էքսպորտի կամ ՌՆԹ-արտահանման գործոն REF-ն է, որը մասնակցում է հասունացած ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի արտահանմանը բջջակորիզից ցիտոպլազմ: Համալիրի մյուս անդամներն իրականացնում են որակի վերահսկման գործառույթները՝ ակտիվացնելով այն մեխանիզմները, որոնք պատասխանատու են սխալ սպլայսինգի հետևանքով ձևավորված ի-ՌՆԹ-ների քայքայման 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 սպլայսինգին, ի լրումն վերը նշված Ս-ՌՆՊ-ների, մասնակցում են լրացուցիչ Ս-փ.կ.ՌՆՊ-ներ:

Տրիպանատմների, էվզենանների և կլոր որդերի հասուն ի-ՌՆԹ-ների 10-15%-ն առաջացել են տարբեր ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների սպլայսինգի (կցումների) հետևանքով: Այդ գործառույթը կոչվում է տրանս-սպլայսինգ և ընդհանուր առմամբ նման է սպլայսինգին:

ՌՆԹ-ի սպլայսինգի և պոլիադենիլացման գործոնները կապվում են ի-ՌՆԹ-ի ֆոսֆորիլացված CTD դոմենին, ինչի շնորհիվ դրանց տեղային կոնցենտրացիան կտրուկ աճում է այն պահին, երբ ՌՆԹ պոլիմերազը պատճենում է սպլայս-կայքերն և պոլի Ա կայքերին համապատասխանող ԴՆԹ հատվածները: Մյուս կողմից, հետերոգեն կորիզային ՌՆՊ-ների միացումը նորաստեղծ ՌՆԹ-ի մոլեկուլին ուժեղացնում է ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի կապն էլոնգացման գործոններ DSIF և CDK9-cyclin T-ի հետ՝ արագացնելով տրանսկրիպցիան: Այսպիսով՝ նախա-ի-ՌՆԹ-ն կարող է սինթեզվել միայն այն ժամանակ, երբ ճիշտ դիրքավորված են հասունացման գործընթացի բոլոր գործոնները: **Էկզոնների ծայրային սպլայս կայքերի փոխազդեցության արդյունքում կազմված համալիրները կոչվում են էկզոնի ճանաչման կոմպլեքսներ (Exon definition complexes-EDCs).**

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

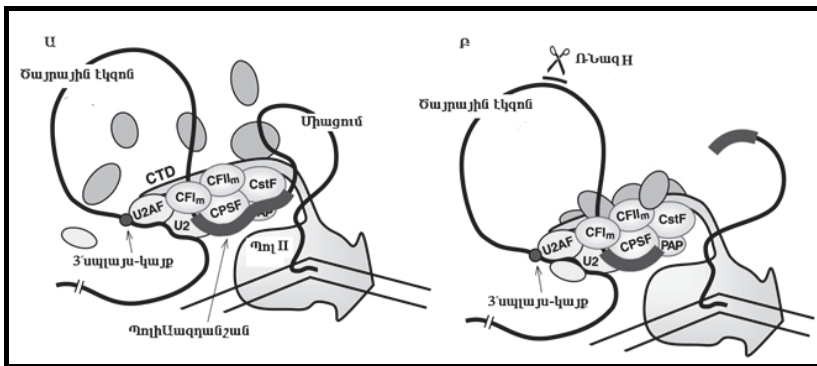
այն հատվածում կարող են պարունակվել էկզոններին հատուկ սալայա կամ Ա-ճյուղավորման կայքերին բնորոշ կարճ նուկլեոտիդային հաջորդականություններ: Բուն էկզոնային սալայա-կայքերը տարբերվում են մման ինտրոնային հատվածներից հետևյալ կերպ: Նախա-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի էկզոններում կան **էկզոնային սալայսինգի կայքեր**, որոնք կոչվում են **սալայսինգի էնհանսերներ**: Սալայսինգի էնհանսերներին միանում են **SR-սպլիտակուցները**, որոնք կոոպերատիվ փոխազդեցությունների շնորհիվ ուժեղացնում են Ս1-փ. կ. ՌՆՊ-ի կապը 5' սալայա-կայքին և Ս2-փ. կ. ՌՆՊ կապը՝ ճյուղավորման կետին, ինչը մեծացնում է էկզոնային սալայսինգի հզորությունը:

8.10. Նախա-ի-ՌՆԹ-ների 3' ճեղքավորում և պոլիադենիլացում

Էուկարիոտների բջիջներում բոլոր ի-ՌՆԹ-ներն 3' ծայրում ունեն բազմաթիվ ադենիլային մնացորդներից կազմված դոմեն, որը կոչվում է 3' պոլիԱպոչիկ: **Բացառություն են կազմում հիստոնային ի-ՌՆԹ-ները, որոնք սինթեզվում են բջջային բոլորաշրջանի S փուլում, և դրանց 3' ծայրի ճեղքավորմանը չի հաջորդում պոլիադենիլացման գործառույթը:**

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

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



Նկար 65. EDC համալիրի ձևավորում և Դ/Ա գործընթաց:

Կենդանական ծագման ի-ՌՆԹ-ների զննումը բացահայտեց, որ պոլիադենիլային պոչիկից մոտ 10-35 նուկլեոտիդ առաջ գտնվում է **ԱԱՌԱԱԱ** հաջորդականությունը: Այս հաջորդականության սահմաններում տեղի ունեցած ցանկացած մուտացիա, բացառությամբ ԱՌԱԱԱԱ փոփոխությանը, հանգեցնում է ի-ՌՆԹ-ների հասունացման գործընթացի 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):

Ճ/Ա գործընթացը սկսում է նրանից հետո, երբ մախա-ի-Ու-ՆԹ-ի վերընթաց ԱԱՈԱԱԱ պոլիԱ ազդանշանին միանում է 5 պոլիպեպտիդային շղթաներից կազմված 360 ԿԴ մեծություն ունեցող **CPSF գործոնը (cleavage polyadenylation specific factor-ճեղքավորման-պոլիադենիլացման մենահատուկ 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 թվարկված սպիտակուցները համախմբվում են մեկ հենքային **սիմպլեկին** կոչվող սպիտակուցի շուրջ: Նախքան ճեղքավորումը համալիրին միանում է պոլիադենիլ պոլիմերազ ֆերմենտը (**PAP**): Դրա շնորհիվ անմիջապես 3' ծայրի ճեղքավորումից հետո Ու-ՆԹ-ին միանում է պոլիադենիլային պոլիմերը, ինչը պաշտպանում է 3' ծայրն էկզոնուկլեազների քայքայիչ ազդեցությունից: Ճեղքավորման/պոլիադենիլացման գործոնների հավաքագրումը հատուկ կայքում շատ նման է տրանսկրիպցիայի մախամեկնարկային համալիրի ձևավորմանը ԹԱԹԱ պրոմոտորում: Երկու դեպքում էլ մուլտիսպիտակուցային համալիրի անդամները փոխազդում են բազմաթիվ սպիտակուց-սպիտակուց և սպիտակուց-նուկլեինաթթու կապերի միջոցով՝ դրսևորելով բարձր կոոպերատիվություն: 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 մախա-ի-Ու-ՆԹ-ի մոլեկուլը կորանում է: Առաջացած համալիրը և կոնֆորմացիան կայունանում են CFI և CFII միացման հետևանքով: Նրանից հետո, երբ համալիրին միանում է պոլիադենիլ պոլիմերազը (PAP), սկսվում է մա-

խա-ի-Ռ-ՆԹ-ի ճեղքավորումը պոլիԱ կայքում, որը գտնվում է առաջին վերընթաց պոլիադենիլացման ազդանշանից 10-35 նուկլեոտիդ հետո: Նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի ճեղքավորումից հետո ճեղքավորման գործոններ CStF-ը, CFI-ը և CFII-ը անջատվում են համալիրից, և ճեղքավորված Ռ-ՆԹ-ն արագորեն քայքայվում է ռիբոնուկլեազներով: PAP-ը, մնալով կապված նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ին, դանդաղ սկսում է 12 ադենիլալին մնացորդների հաջորդական միացումը 3' հիդրօքսիլ խմբին: Պոլիադենիլացման գործընթացը զգալիորեն արագանում է նրանից հետո, երբ կարճ պոլիադենիլալին պոչիկին միանում են բազմաթիվ պոլիադենիլ-կապվող սպիտակուցի մոլեկուլներ (**PABP II- polyA binding protein II**): 200-250 ադենիլալին մնացորդների միացումից հետո PAP-ը դադարեցնում է պոլիադենիլացման գործընթացը: PABP II-ի միացումը նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ին անհրաժեշտ է նաև մոլեկուլի տեղափոխման համար բջջակորիզից ցիտոպլազմ: Նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի հասունացման ընթացքում հեռացվում է նախնական տրանսկրիպտի նուկլեոտիդների 95 %-ը: Ինտրոնները, որոնք հեռացվում են նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի հասունացման ընթացքում քայքայվում են էկզոռիբոնուկլեազներով, որոնք ճեղքավորում են դրանց թե՛ 5', թե՛ 3' ծայրերից: 11 էկզոնուկլեազները միավորվում են Ռ-ՆԹ հեղիկազների հետ՝ կազմելով **էկզասոմ** կոչվող կառույցներ: Էկզասոմներում Ռ-ՆԹ հեղիկազները քայքայում են Ռ-ՆԹ-ի նուկլեոտիդների զուգավորման և Ռ-ՆԹ-սպիտակուց փոխազդեցության հետևանքով առաջացած Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի ոչ գծային տեղամասերը՝ հեշտացնելով դրանց ճեղքավորումը էկզոնուկլեազների կողմից: Էկզասոմները գործում են ոչ միայն կորիզում այլև ցիտոպլազմում, որտեղ դրանք քայքայում են ոչ լիարժեքորեն հասունացած ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները:

Այսպիսով՝ ընդհանրացնելով նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի հասունացման կամ պրոցեսինգի փուլերի հիմնական գործառույթները՝ կարելի է ասել հետևյալը:

- Էուկարիոտ օրգանիզմների բջջակորիզներում նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ները կապված են հետերոգեն ռիբոնուկլեինաթթու-պրոտեինային (հոRNP) մոլեկուլների հետ, և հասուն ի-Ռ-ՆԹ-ն ձևավորվում է կեպավորման, սպլայսինգի և ճեղքավորման/պոլիադենիլացման գործընթացներում: Միայն **հա-**

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

- Տրանսկրիպցիայի մեկնարկից հետո ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի CTD դոմենին, որի 5-րդ դիրքում գտնվող սերինները ֆոսֆորիլացվել էին TFIIH-ի կողմից, միանում են կեպավորող ֆերմենտները, որոնք իրականացնում են նորաստեղծ ի-ՌՆԹ-ի 5' ծայրի կեպավորումը:
- Սպլայսինգը, 3' ծայրի ճեղքավորումը և պոլիադենիլացումը կատարող գործոնները CTD դոմենին են միանում նրանից հետո, երբ P-TEFb-ն ֆոսֆորիլացնում է դոմենի 2-րդ դիրքերում գտնվող սերինները տրանսկրիպցիայի էլոնգացման փուլում: Տրանսկրիպցիայի արագությամբ և նախա-ի-ՌՆԹ-ի հասունացումը շաղկապված են:
- Սպլայսինգը իրականացնում են 5 փոքր կորիզային ՌՆԹ-ներ (փ.կ.ՌՆԹ), որոնց նուկլեոտիդները զուգավորվում են միմյանց և նախա-ի-ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդների հետ՝ ձևավորելով սպլայսասոմ: Սպլայսասոմում ընթացող կոնֆորմացիոն վերադասավորությունների շնորհիվ իրականանում են երկու հաջորդական տրանսեքերիֆիկացման ռեակցիաներ, որոնց հետևանքով երկու էկզոնների ծայրերը միաձուլվում են, իսկ միջանկյալ ինտրոն-լարիատային կառույցը սղվում է և հետագայում քայքայվում:
- Երկար նախա-ի-ՌՆԹ-ների մոտ, որոնց բնորոշ են մեծ ինտրոնային հատվածներ, սպլայսինգի նորմալ ընթացքի համար անհրաժեշտ են SR սպիտակուցները, որոնք, միանալով էկզոնային սպլայսինգի էնհանսերներին և փոխազդելով փ.կ.ՌՆԹ-ների հետ, ապահովում են էկզոնների փոխադարձ ճանաչումը և սպլայսինգի կայքերի ճիշտ ճանաչումը:
- Փ.կ.ՌՆԹ-ներին բնորոշ է բարդ երրորդային կառուցվածք, և դրանք օժտված են ֆերմենտային ակտիվությամբ:
- Բարձրակարգ օրգանիզմներին հատուկ երկար տրանսկրիպցիոն միավորների վրա սինթեզված նախա-ի-ՌՆԹ-ների սպլայսինգը սկսում է զուգահեռ ՌՆԹ-ի մոլեկուլի սինթեզին,

իսկ 3' ծայրի ճեղքավորումը/պոլիադենիլացումը սկսում են պոլիԱ կայքի տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո:

- Սպլայսինգի ժամանակ սղված ինտրոնները և ճեղքավորման/պոլիադենիլացման հետևանքով առաջացած ՌՆԹ-ի հատվածները քայքայվում են 11 3'-5' էկզոռիբոնուկլեազներից և հեղիկազներից բաղկացած մուլտիսպլիտակուցային 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 TFIID PNAS 7, vol. 109 no. 6, 1949–1954.
4. Moore M. J., Proudfoot N. J. (2009). Pre-mRNAprocessing 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 transcnption elongation complex as a nexut 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 processing to translation, Curr. Opin. Genet. Dev. 19:424-436.

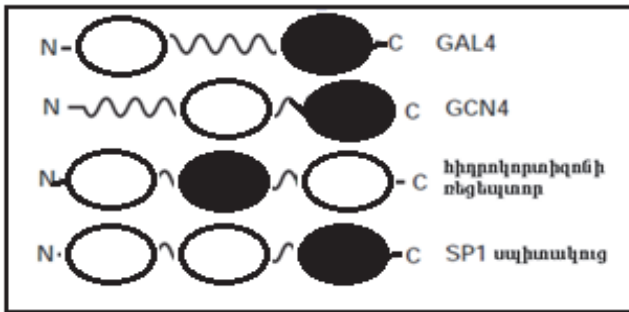
8.11. Տրանսկրիպցիային մասնակցող սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքը

Տրանսկրիպցիայի գործընթացը թե՛ պրոկարիոտ, թե՛ էուկարիոտ օրգանիզմներում չի կարող ընթանալ առանց որոշակի սպիտակուցների, որոնք, մասնակցելով տրանսկրիպցիայի առանձին փուլերին, կարող են հանդես գալ խթանող 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 խմորասնկերում գալակտոզի յուրացման համար անհրաժեշտ ֆերմենտներ կոդավորող 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** դոմեն:

Տրանսկրիպցիան ակտիվացնող սպիտակուցները կարող են ունենալ երկու ակտիվացման դոմեններ: Ակտիվացման դոմեններն ու ԴՆԹ կապող դոմենները միմյանց միացված են ճկուն պեպտիդային շղթաներով (նկար 66): Էուկարիոտների տրանսկրիպցիայի ակտիվատորների (խթանիչների) և ռեպրեսորների (արգելակիչների) ԴՆԹ կապող դոմենները բազմազան են և ունեն տարաբնույթ վերերկրորդային կառուցվածք (կառուցվածք, որը ներկայացված է մի քանի երկրորդային կառուցվածքների յուրահատուկ համադրությամբ): Այդ վերերկրորդային կառուցվածքները անվանվում են **«մոտիվներ»**:



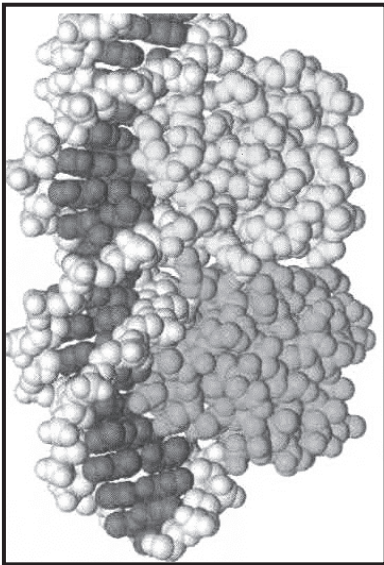
Նկար 66. Տրանսկրիպցիան ակտիվացնող սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքի գծապատկեր: Սև գույնով պատկերված են ԴՆԹ կապող, սպիտակով՝ ակտիվացման դոմենները:

Ենթադրվում է, որ ակտիվացման դոմենները, թեև անմիջականորեն չեն կապվում ԴՆԹ-ի հետ, խթանում են տրանսկրիպցիան՝ միանալով տրանսկրիպցիայի գործոններին:

ԴՆԹ-ի հետ կապվող սպիտակուցների ԴՆԹ կապող դոմենների α -պարուրաձև շղթաները հիմնականում միանում են ԴՆԹ-ի **մեծ** ակոսիկի շրջանում գտնվող որոշակի մուկլեոտիդային հաջորդականություններին ոչ կովալենտ կապերով: Ոչ կովալենտ կապերն առաջանում են սպիտակուցների դրական լիցքավորված արգինինի և լիզինի 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:

Առաջին ԴՆԹ կապվող սպիտակուցները հայտնաբերվեցին բակտերիաների տրանսկրիպցիայի ռեպրեսորների ուսումնասիրության արդյունքում: Բակտերիաների ռեպրեսորները, որպես կանոն, դիմերային սպիտակուցներ են, որոնց յուրաքանչյուր ենթամիավորը մտնում է ԴՆԹ-ի մեծ ակոսիկի մեջ: Նկար 67-ում պատկերված է բակտերիալ ռեպրեսորի α շղթան, որի ամինաթթուները մխրճվում են ԴՆԹ-ի մեծ ակոսիկի մեջ: ԴՆԹ-ի հետ կապվող α շղթան կոչվում է **ճանաչող շղթա**:

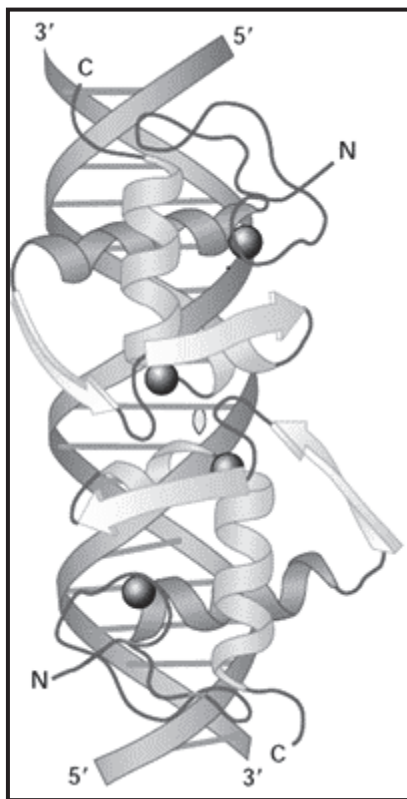


Նկար 67. Բակտերիայի ռեպրեսորի միացումը ԴՆԹ-ի մոլեկուլին:

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

Էուկարիոտներում տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոններ, որոնք գործում են սաղմնային զարգացման շրջանում, ունեն 60 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված մոտիվ, որը կոչվում է **հոմեոդոմեն**: Հոմեոդոմենը կրկնում է բակտերիաների ռեպրեսորներին բնորոշ պարույր-առ-պարույր մոտիվը: **Հոմեոդոմենային սպիտակուցները** խիստ պահպանողական են էվոլյուցիայի առումով և դեկավարում են մարմնի ձևի և օրգանների դասավորությունը պայմանավորող գործընթացները 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 ցիստեինային մնացորդներով: Յինգ-ֆինգերային մոտիվ կարող են ունենալ նաև ԴՆԹ-ի հետ չկապվող սպիտակուցները: Տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոնների կազմի մեջ մտնում են ցինկ- C_2H_2 մոտիվներ, որոնցում ցինկի կենտրոնական իոնին միացած են երկու ցիստեինային մնացորդներ: Մյուս տիպի ցինկ-ֆինգերային կառուցվածքները կոչվում են **C₄-ֆինգերներ**, քանի որ դրանցում ցինկին միանում են 4 ցիստեինային 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. Գլուկոկորտիկոիդների դիմերային ռեցեպտորի միացումը ԴՆԹ-ին: Սլաքներով ներկայացված են β շղթաները, Zn^{+2} -ը սև գնդիկ, մուգ գունավորված α պարույրները կապվում են ԴՆԹ-ի հետ մեծ ակոսիկի շրջանում ցիստեինային մնացորդների միջոցով:

Լեյցին-գիպերային սպիտակուցների տիպին են պատկանում տրանսկրիպցիայի բազմաթիվ գործոններ: Այս տիպի սպիտակուցների պոլիպեպտիդային շղթայի յուրաքանչյուր 7-րդ դիրքը զբաղեցնում է հիդրոֆոբ ամինաթթու լեյցինը: Այդ լեյցինային մնացորդներն անհրաժեշտ են լեյցին-գիպերային սպիտակուցների դիմերիզացման համար, քանի որ ԴՆԹ-ին լեյցին-գիպերային 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 α 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: Խմորասնկերի GAL4, GCN4 գործոնները հարուստ են թթվային ամինաթթուներով (ասպարազինաթթվի և գլյուտամինաթթվի մնացորդներ): Թթվային դոմենները կարող են հարստացված լինել ոչ միայն ասպարազինաթթվի և գլյուտամինաթթվի և գլյուտամինաթթու-պրոլին մնացորդներով, այլև հիդրօքսիլ խմբերով հարուստ սերին-տրեոնին ամինաթթուներով: Տրանսկրիպցիայի ակտիվացման **թթվային դոմեններն** ունակ են խթանելու տրանսկրիպցիան բոլոր էուկարիոտ բջիջներում: Թթվային դոմենները զուրկ են կանոնավոր կառուցվածքից, և այդ դոմենների պեպտիդային շղթաները կարծես կծիկ են կազմում: Թթվային դոմենները կարող են խթանել տրանսկրիպցիան այն պարագայում, երբ միանում են համաակտիվացնող սպիտակուցին (**co-activator**): Միանալով համաակտիվացնող 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 պատասխան gԱՄՖ-ի ներթոցային պարունակության մեծացմանը՝ CREB-ը ֆոսֆորիլացվում է, ինչից հետո միանում է **CBP համաակտիվացնող 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 հետազոտված: Որոշ կորիզային ռեցեպտորների գլոբուլային լիզանդ-կապող դոմեններ կարող են գործել որպես ռեպրեսորներ մենահատուկ լիզանդ-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 տարբեր համադրությունների ստեղծման համար, ինչն էլ ավելի է ընդլայնում տրանսկրիպցիայի կարգավորման հնարավորությունները:

8.12. Էնհանսերների փոխազդեցությունը տրանսկրիպցիայի գործոնների և ՌՆԹ-պոլիմերազային համալիրի հետ

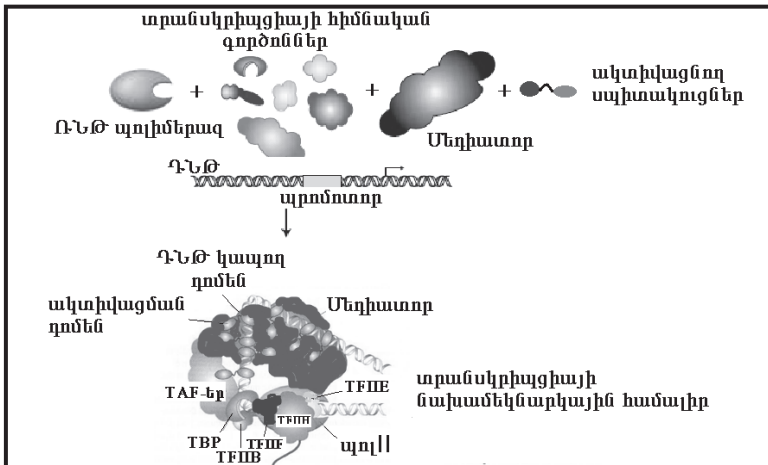
Էնհանսերների գործունեությունը քննարկելիս անհրաժեշտ է նշել, թե ինչպես է գենից հեռու գտնվող տարրը խթանում տրանսկրիպցիան: Էնհանսերի և գենի փոխազդեցությունները իրականանում են երկու հիմնական ճանապարհով:

1. ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կորացումը կիսաօղակի ձևով կարող է մոտեցնել էնհանսերն անմիջականորեն գենի պրոմոտորին:
2. Էնհանսերի և պրոմոտորին միացած ՌՆԹ պոլիմերազային համալիրի փոխազդեցությունը միջնորդվում է համաակտիվացնող սպիտակուցներով:

Համաակտիվացնող սպիտակուցների դերում կարող են հանդես գալ քրոմատինի ռեմոդելավորման սպիտակուցներն ու հիստոնները մոդիֆիկացնող ֆերմենտները, որոնք մեծ դեր են կատարում քրոմատինի կոմֆորմացիայի ձևավորման մեջ: Այդպիսի դեր է կատարում խոշոր մուլտիպրոտեինային համալիրը, որն անվանվում է **Մեդիատոր**: Մեդիատորը կամրջում է էնհանսերը և ՌՆԹ պոլիմերազին կապված ակտիվացնող սպիտակուցները՝ միացնելով էնհանսերը տրանսկրիպցիայի մեկնարկային համալիրին: Մեդիատորները համարվում են կարգավորման այնպիսի միավորներ, որոնք կարող են թե՛ ակտիվացնել, թե՛ արգելակել տրանսկրիպցիան:

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

կապված գործունեությունը ներկայացվում է **գեների ակտիվության կարգավորման համադրական մոդելով**:



Նկար 69. Նկարում պատկերված է մի քանի ակտիվացնող սպիտակուցների փոխազդեցությունը Մեդիատորի, տրանսկրիպցիայի հիմնական գործոնների և ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի հետ: Ակտիվացնող սպիտակուցները կապվում են էնհանսերին՝ ձևավորելով էնհանսեոսոմ:

8.13. Տրանսկրիպցիա ՌՆԹ պոլիմերազ I-ով և ՌՆԹ պոլիմերազ III-ով

ՌՆԹ պոլիմերազ I-ով և III-ով իրականացվող տրանսկրիպցիայի մեկնարկային համալիրների ձևավորումը սկզբունքորեն նման է ՌՆԹ պոլիմերազ II-ի մեկնարկային համալիրների ձևավորմանը: Սակայն ՌՆԹ պոլիմերազ I-ը և III-ը տարբերվում են տրանսկրիպցիայի գործոնների հավաքակազմով և ԴՆԹ-ի կարգավորիչ տարրերով:

18S, 5.8S և 28S r-ՌՆԹ-ները կոդավորող տրանսկրիպցիայի միավորի երկարությունը մոտ 14 հն է: **ՌՆԹ պոլիմերազ I-ի համար ԴՆԹ-ի կարգավորիչ տարրը** նուկլեոտիդների հաջորդականությունն

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 տարր**:

Տրանսկրիպցիան պոլիմերազ 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 պոլիմերազ I-ի մենահատուկ ենթամիավորներին և առաջնորդում ֆերմենտը դեպի մեկնարկային կետը: Տրանսկրիպցիայի համար անհրաժեշտ են **նաև TIF-LA գործոնը, կազեին կինազը 2-ը (CK 2), կորիզային ակտինը և միոզինը, դեացետիլազ SIR T7-ը և տոպոիզոմերազ I-ը**, որը կանխարգելում է ԴՆԹ-ի գերպարությունը: Պոլիմերազ I-ի կողմից իրականացվող *ն-ՌՆԹ-ների* տրանսկրիպցիայի ակտիվությունը կարգավորվում է տրանսկրիպցիայի գործոնների հետտրանսլյացիոն ձևավոխությունների միջոցով, որոնց թվին են պատկանում ֆոսֆորիլացումը, ագետիլացումը, էլոնգացման արագության կարգավորումն ու էպիգենետիկական այն գործոնների ներգործությունը, որոնք ազդում են *ն-ՌՆԹ-ների* ակտիվ գործող գեների քանակության վրա հետերոքրոմատինացման ճանապարհով: Անցումը գեների ակտիվ վիճակից դեպի «լռելյալ» վիճակը իրականացվում է **քրոմատին-ռենդելավորող NoRC** համալիրի կողմից: NoRC-ի գործունեության հետևանքով պոլիմերազ I-ի մեկնարկային կետից առաջ տեղակայվում է նուկլեոսոմ, որը խոչընդոտում է նախամեկնարկային համալիրի հավաքագրմանը:

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

չփոփոխվող ընդհանուր հատվածները: 5S ռ-ՌՆԹ-ների գեներն ունեն ներքին շրջանում տեղակայված C փաթեթ (C-box): Փ-ՌՆԹ-ների և 5S ռ-ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիայի մեկնարկման համար անհրաժեշտ են TFIIC և TFIIIB տրանսկրիպցիոն գործոնները, իսկ 5S ռ-ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիայի համար պահանջվում է նաև TFIUA գործոնը: TFIIIB գործոնը միանում ՌՆԹ-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 համար: 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 MAFI սպիտակուցով, որի մուտքը ցիտոպլազմից բջջակորիզ վերահսկվում է ֆոսֆորիլացման մեխանիզմներով: ՌՆԹ պոլիմերազ III-ի տրանսկրիպցիան արգելակվում է նաև p53 սպիտակուցով և ռետինաբլաստոմայի ընտանիքի սպիտակուցներով:

Գլուխ 9

Ռ-ՌՆԹ-ների և փ-ՌՆԹ-ների հասունացում (պրոցեսինգ)

9.1. Ռ-ՌՆԹ-ների հասունացում

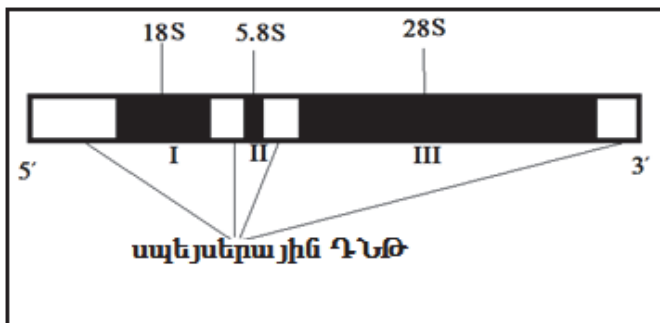
Կաթնասունների արագ աճող բջիջներում (HeLa բջջային կուլտուրայում) ՌՆԹ-ի ընդհանուր պարունակության 80 %-ը կազմում են ռ-ՌՆԹ-ները, 15%-ը՝ փ-ՌՆԹ-ները, մնացածը՝ սպիտակուց կոդավորող ի-ՌՆԹ-ն: Ռ-ՌՆԹ-ները և փ-ՌՆԹ-ներն սինթեզից հետո անցնում են հասունացման կամ պրոցեսինգի փուլ: Ինչպես արդեն նշվել է, ռիբոսոմները զարգացած և խիստ մասնագիտացած օրգանելներ են, որոնց կառուցվածքն առավելագույնս համապատասխանեցված է ֆունկցիային՝ պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզին: Ռիբոսոմների սինթեզի համար պահանջվում է բջջային երեք ՌՆԹ պոլիմերազների համաձայնեցված գործունեությունը: Տրանսլյացիայի ընթացքում ռիբոսոմների ենթամասնիկների միավորման ընթացքում ժամանակավոր անցողիկ կապեր են հաստատվում առնվազն 150 տարբեր սպիտակուցների հետ: Բացի դրանից՝ ռ-ՌՆԹ-ների բազմաթիվ նուկլեոտիդային հիմքեր և ռիբոզի մնացորդներ ենթարկվում են քիմիական ձևփոխությունների, որոնք կոչված են նպաստելու օրգանելի մասնագիտական ֆունկցիային: Ռիբոսոմային ենթամասնիկների սինթեզի և կազմավորման փուլերի մեծամասնությունը տեղի է ունենում կորիզակում, ավելի փոքր մասն ընթանում է նուկլեոպլազմում, երբ մասնիկը կորիզակից տեղափոխվում է դեպի բջջակորիզային անցուղիները: Բջջակորիզային անցուղիների միջով դեպի բջջի ցիտոպլազմ կարող են տեղափոխվել միայն վերջնականապես և անթերի ձևավորված ռիբոսոմային ենթամասնիկները:

Էուկարիոտների ռիբոսոմների մեծ ենթամասնիկի 28S և 5.8S ռ-ՌՆԹ-ները, ինչպես նաև փոքր ենթամասնիկի կազմի մեջ մտնող 18S ռ-ՌՆԹ-ն կոդավորվում են **տրանսկրիպցիայի մեկ միավորով**: Մարդու բջիջներում ՌՆԹ պոլիմերազ I-ով ընթացող տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզվում է 45S մեծության (մոտ 13.7 հգն) նախնական տրանսկրիպտ (նախա-ռ-ՌՆԹ), որի հասունացման (պրոցեսին-

գի) հետևանքով առաջանում են ռիբոսոմային 28S, 5.8S և 18S ռ-ՌՆԹ-ները: Չորրորդ ռիբոսոմային ՌՆԹ-ն՝ 5S-ը, գաղտնագրվում է կորիզակի սահմաններից դուրս գտնվող ԴՆԹ-ի հատվածում ՌՆԹ պոլիմերազ III-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 սպեյսերային ԴՆԹ-ի շրջաններով: Սպեյսերային ԴՆԹ-ի երկարությունը տատանվում է 2հզն (գորտի մոտ) մինչ 30 հզն (մարդու մոտ):
2. Գեոմային 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 պրոցեսինգի ժամանակ: Հավանաբար, նախա-ռ-ՌՆԹ-ի այդ հատվածները անհրաժեշտ են մոլեկուլի ճիշտ ծալքավորման համար, որից հետո կորցնում են նշանակությունը և արագորեն քայքայվում:

Նախա-ռ-ՌՆԹ-ների սինթեզն ու պրոցեսինգը 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 ռիբոսոմի մյուս բաղադրամասերը: **Կորիզակի կազմի մեջ են մտնում նախա-ռ-ՌՆԹ-ն և արդեն կազմավորված ռիբոսոմային ենթամասնիկները:** Ինչպես նախա-ի-ՌՆԹ-ի պրոցեսինգի ժամանակ, նորաստեղծ նախա-ռ-ՌՆԹ-ի մոլեկուլներին անմիջապես միանում են սպիտակուցներ՝ կազմավորելով նախառիբոսոմային ռիբո-նուկլեոպրոտեինային մասնիկներ (նախա-ռ-ՌՆԴ-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: Խմորասնկերի մոտ նախա-*ռ-ՌՆԹ* մոլեկուլի տրանսկրիպցիայի տևողությունը մոտ վեց րոպե է: Տրանսկրիպցիայի ավարտից հետո 10 վարկյանի ընթացքում *ռ-ՌՆԹ*-ն ճեղքավորվում է, ռիբոզի մնացորդները և որոշ նուկլեոտիդային հիմքեր քիմիապես ձևավորվում են: Խմորասնկերի արագ աճող բջիջներում յուրաքանչյուր վարկյանում կազմավորվում, հասունանում և ցրտալվազմ են արտահանվում մոտ 40 գույզ ռիբոսոմային ենթամասնիկներ: Ռիբոսոմների սինթեզի բարձր արագությունը պայմանավորված է նրանով, որ ռիբոսոմային գեները կորիզակում ներկայացված են բազմաթիվ կրկնակներով (խմորասնկերի մոտ 100-200 օրինակ), որոնց տրանսկրիպցիան *ՌՆԹ* պոլիմերազ I-ով ընթանում է միանվագ: Ռիբոսոմային գենի նախնական տրանսկրիպտի երկարությունը 7 հզն է: Պրոցեսինգի ընթացքում այն կտրատվում է էկզոնուկլեազներով մինչ այն չափերը, որոնք բնորոշ են հասուն ռիբոսոմներում առկա *ռ-ՌՆԹ*-ներին: Հասունացման ժամանակ տեղի է ունենում նաև որոշ ռիբոզային մնացորդների 2'-OH խմբերի մեթիլացում և առանձին ուրիդինային մնացորդների փոփոխարինում պսևդուրիդինով: Հավանաբար տրանսկրիպցիայից հետո տեղի ունեցող քիմիական այդ փոփոխություններն անհրաժեշտ են ռիբոսոմներում սպիտակուցի սինթեզի օպտիմալ ընթացքի համար, ինչի մասին է վկայում դրանց էվոլյուցիոն պահպա-

նողականությունը: Բիմիական ձևափոխության ենթակա ռիբոզային և ուրիդինային մնացորդների դիրքը որոշում են 150 փոքր 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 մեթիլ տրանսֆերազները և ուրիդին 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 ռիբոնուկլեայոտեինային 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: Ձևափոխությունները կարելի է բաժանել 3 հիմնական խմբերի:

1. 3' ծայրում գտնվող ուրացիլի մնացորդները տեղակալվում են ՅՅԱ հաջորդականությամբ, ինչը անհրաժեշտ է հասուն փ-Ռ-ՆԹ-ի և ամինաացիլ-փ-Ռ-ՆԹ սինթեթազի միացման համար: ՅՅԱ-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' ՕՀ-ները մեթիլացվում են:
3. Որոշ ուրիդինային մնացորդներ փոխվում են դիհիդրոուրիդինի, պսևդուրիդինի և ռիբոթիմիդինի:

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

1. այն իրականացվում է ոչ թե ռիբոզիմներով, այլ սպիտակուց-ներով,
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 էքսպորտին t-ի միջոցով:

ԳԼՈՒԽ 10

Գեների ակտիվության կարգավորման հետտրանսկրիպցիոն մեխանիզմներ

Այս կամ այն գենով կոդավորվող սպիտակուցների քանակը բջջում կախված է ոչ միայն գենի տրանսկրիպցիայի ակտիվությունից, այլ նաև սինթեզված ի-ՌՆԹ-ների բջջակորիզից դեպի ցիտոպլազմ տեղափոխության արդյունավետությունից, ի-ՌՆԹ-ների կայունությունից և տրանսլյացիայի արդյունավետությունից: Այսպիսով՝ գեների ակտիվությունը, որի չափամիջը 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 բջջակորիզից ցիտոպլազմ

Հասունացումից հետո ի-ՌՆԹ-ները բջջակորիզում կապվում են հետերոգեն ՌՆԹ-սպիտակուցների (hnRNP) հետ, և այդ համալիրները կոչվում են կորիզային ի-ՌՆԴ-ներ (կորիզային ռիբոնուկեոպրոտեիններ): Սպիտակուցների տրանսլյացիան տեղի է ունենում ցիտոպլազմում, և ակնհայտ է, որ այն կարող է մեկնարկել միայն նրանից հետո, երբ ի-ՌՆԹ-ները բջջակորիզից անցնում են ցիտոպլազմ:

Բջջակորիզը ցիտոպլազմից բաժանվում է երկշերտ թաղանթով, որը կոչվում է բջջակորիզաթաղանթ: Բջջակորիզաթաղանթի ամենաուշագրավ առանձնահատկությունը խոշոր անցուղիների առկայությունն է: Բջջակորիզային թաղանթի անցուղիների միջոցով իրականանում է կորիզ-ցիտոպլազմ «երկխոսությունը», և խոշոր մոլեկուլային համալիրների (կորիզային ՌՆԴ, ռիբոսոմային ենթամասնիկ) տեղափոխությունը ցիտոպլազմ: Բջջակորիզաթաղանթային անցուղիները (nuclear pore complexes-NPC) մոտ 30 տարբեր **նուկեոպորիններ** կոչվող սպիտակուցներից կազմված խոշոր վերմոլեկուլային համա-

լիւրներ են: NPC-ներն ընկղմված են բջջակորիզաթաղանթի 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-նուկլեոպորինների** մասնակցությամբ: FG-նուկլեոպորիններն ունեն գլոբուլային դոմեն, որով խարխավում 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 **գլիցինով**: Ֆենիլալանինի և գլիցինի բազմակի կրկությունները կոչվում են **FG-կրկնություններ**: Կենտրոնական խողովակի ներսում այդ պեպտիդային թելիկները ձևավորում են ամպանման կառույց: Ամպանման կառույցի թելիկների մի ծայրն ուղղված է դեպի նուկլեալլազմ, իսկ մյուսը դուրս է գալիս ցիտոպլազմ: Ամպանման կառույցն արգելք է մակրոմոլեկուլների ազատ դիֆուզիայի համար NPC-ների միջով, մինչդեռ չի արգելակում ջրի, տարբեր իոնների, մեթաբոլիտների և մինչև 40-60ԿԴ մեծություն ունեցող սպիտակուցների ազատ դիֆուզիան: Ավելի մեծ սպիտակուցներն ու կորիզային ՌՆԴ-ները տեղափոխվում են հատուկ սպիտակուցներով՝ **փոխադրիչներով**: Ֆիտոպլազմից 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 պրոլինով, լիզինով և արգինինով (դրական լիցքավորված ամինաթթուներով):

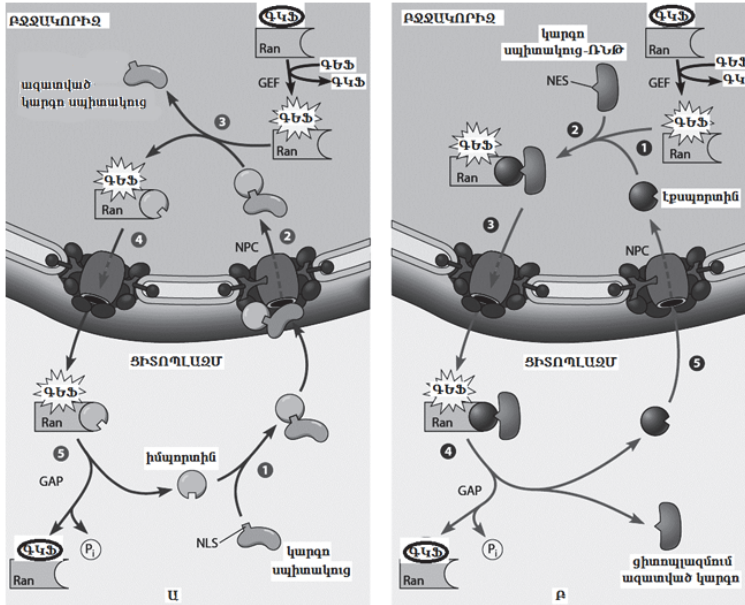
վում է բջջակորիզաթաղանթային անցուղիների կենտրոնական շրջանում գտնվող FG-նուկլեոպորիններին: Հաջորդաբար տեղաշարժվելով մեկ նուկլեոպորինից մյուսը՝ կարգո համալիրները առանց էներգետիկ ծախսերի շարժվում են անցուղու միջով: Նուկլեոպորինում իմպորտին-սպիտակուց համալիրը միանում է ԳԵՖ-ին կապված Ran սպիտակուցին: Իմպորտինի և Ran-ի միացումից հետո տեղի է ունենում համալիրի կոնֆորմացիայի փոփոխություն, ինչի հետևանքով ներկրվող սպիտակուցն անջատվում է, և ազատ է արձակվում նուկլեոպորին: **Ran-ԳԵՖ-իմպորտին** համալիրը կապվում է NPC-ի դեպի ցիտոպլազմ ուղղված ցիտոպլազմային թելիկներին, որոնց կազմի մեջ է մտնում **ԳԵՖ-ազային ակտիվություն խթանող 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 բջջակորիզ NTF2-ի միջոցով (նկար 72, Ա):

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

Իմպորտին, էքսպորտին և Ran-ԳԵՖ միջնորդվող տեղափոխությունների ուղղությունը կարգավորում է Ran-ԳԵՖ-ի պարունակությունը բջջակորիզում: Բջջակորիզում 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: Ֆիտոպլազմում, հակառակը, ակտիվ գործում է **ԳԵՖ-ազ ակտիվացնող սպիտակուց (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 զույգը լքում 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: Յուրաքանչյուր կարգո մոլեկուլի տեղափոխության ուղղություն որոշվում է նրանով, թե ինչ բջջակորիզային տեղակայման դոմեն ունի կարգոն՝ NLS թե NES:

Կաթնասունների արագ աճող բջիջները 1 թուպեում սինթեզում են 20 000 ռիբոսոմային ենթամասնիկներ: Մեկ բջջակորիզային անցուղով ռիբոսոմային ենթամասնիկների տեղափոխման արագությունը կազմում է 5-6 ենթամասնիկ/րոպե: Նկատի ունենալով այն, որ կորզաթաղանթային անցուղիների թիվը հասնում է 3000-4000-ի, կարելի է հաշվարկել, որ 1 թուպեում բջջակորիզից ցիտոպլազմ կարող են տեղափոխվել 15000-24000 ռիբոսոմային ենթամասնիկներ: Ֆիտոպլազմից բջջակորիզ կատարվող տեղափոխությունների քանակը էլ ավելի ակտիվ է: Քրոմոսոմների կրկնապատկումից հետո քրոմատինի կառուցվածքի ձևավորման համար անհրաժեշտ հիստոնների մուտքի արագությունը յուրաքանչյուր անցուղով պետք է կազմի 100 հիստոնի մոլեկուլ/րոպե:



Նկար 72. Ա) Սպիտակուցի տեղափոխությունը ցիտոպլազմից բջջակորիզ:

1-իմպորտինը ցիտոպլազմում միանում է տեղափոխվող սպիտակուցին (կարգո); 2-իմպորտին-կարգո համալիրն անցնում է կորիզաթաղանթի անցուղով 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-ԳԴՖ-ի, և իմպորտինը ազատ է արձակվում: Բ) Ռիբոնուկլեինապրոտեինի տեղափոխությունը բջջակորիզից ցիտոպլազմ: 1-ՌՆՊ-ի սպիտակուցային մասի NES-ը ճանաչվում է էքսպորտինի կողմից; 2-կազմվում է էքսպորտին-կարգո ՌՆՊ-Ran-ԳԵՖ-համալիրը; 3-էքսպորտին-կարգո ՌՆՊ-Ran-ԳԵՖ-համալիրը տեղափոխվում է անցուղով դեպի ցիտոպլազմ; 4-GAP-ը ճեղքում է համալիրի կազմում գտնվող ԳԵՖ-ը մինչև ԳԴՖ, ինչի շնորհիվ ցիտոպլազմ են արձակվում էքսպորտինը և կարգո ՌՆՊ-ն [Hardin J. et al, 8th ed, 2012]:

10. 2. Գեների ակտիվության կարգավորման ցիտոսլլազմային մեխանիզմներ

Գեների էքսպրեսիայի կարգավորման հետ տրանկրիպցիոն մեխանիզմները չեն սահմանափակվում բջջակորիզում ընթացող գործառնություններով: Գեների էքսպրեսիան կարգավորվում է նաև ցիտոսլլազմային գործընթացներով: Թվարկենք գեների ակտիվության կարգավորման **ցիտոսլլազմային գործընթացները**.

- **կորիզից ցիտոսլլազմ տեղափոխված ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների կայունության ապահովում,**
- **ցիտոսլլազմում հայտնված ի-ՌՆԹ-ների ճիշտ դիրքավորում,**
- **սպիտակուցի սինթեզի փուլերի կարգավորման մեխանիզմներ:**

Գեների էքսպրեսիայի կարգավորման ցիտոսլլազմային փուլում առանցքային դեր են կատարում երկու խումբ կարճ ՌՆԹ-ների մոլեկուլներ, որոնք կազմված են 22 նուկլեոտիդներից: Դրանք են **miՌՆԹ-ները** և **կարճ ինտերֆերենցվող ՌՆԹ-ներ (siՌՆԹ-ներ)** են: Նշված ՌՆԹ-ները, զուգավորվելով կոմպլեմենտար նուկլեոտիդային հաջորդականություն ունեցող ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների հետ, արգելակում են վերջիններիս տրանսկրիպցիան (ինչը բնորոշ է miՌՆԹ-ներին) կամ ճեղքավորում են միացած ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլը (այս գործընթացը հատուկ է siՌՆԹ-ներին): Հայտնաբերված են մոտ 500 miՌՆԹ-ներ: Դրանցից շատերը առկա են միայն որոշակի մասնագիտացած բջիջներում սաղմի կազմավորման տարբեր փուլերում և անմիջականորեն հետծննդյան շրջանում: Բազմաթիվ miՌՆԹ-ներ կարող են կապվել ոչ թե մեկ, այլ մի քանի ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների հետ:

10.3. Միկրո Ռ-ՆԹ-ներ

Բազմաբջիջ բուսական և կենդանական օրգանիզմներում սպիտակուցների տրանսլյացիայի կարգավորմանը լայնորեն մասնակցում են միկրո Ռ-ՆԹ-ները (miՌ-ՆԹ-ներ): Պարզվեց, որ **մարդու գեների գրեթե մեկ երրորդի էքսպրեսիան կարգավորվում է miՌ-ՆԹ-ներով**:

Առաջին miՌ-ՆԹ-ն հայտնաբերվեց 1993 թվականին: Այն սինթեզվում է *lin-4* գենային լուկուսում և ներկայացնում է 22 նուկ. բաղկացած Ռ-ՆԹ, որը մասնակիորեն կոմպլեմենտար է (փոխլրացնում է) քիրախային *lin-14* գենի ի-Ռ-ՆԹ-ի 3' ծայրային տրանսլյացիայի չենթարկվող հաջորդականությանը: miՌ-ՆԹ-ների գեները գենոմում կազմում են խմբեր, որոնց տրանսկրիպցիան պոլիցիստրոնային է (սինթեզվում է մեկ մոլեկուլ ի-Ռ-ՆԹ) և կատարվում է Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II-ով: Նման նախա-miՌ-ՆԹ-ների երկար մոլեկուլի կազմի մեջ են մտնում մի քանի հարյուրից մինչև հազարավոր նուկլեոտիդներ, որոնք ներկայացնում են մի քանի miՌ-ՆԹ-ների մոլեկուլներ: miՌ-ՆԹ-ները կարող են առաջանալ նաև նախա-ի-Ռ-ՆԹ-ի հասունացման ընթացքում կտրված ինտրոնային հատվածներից:

Երկար նախա-miՌ-ՆԹ-ների մոլեկուլները կարող են առաջացնել երկշղթա ծամկալներ, որոնք ներառում են 70 նուկլեոտիդային մնացորդներ: Ծամկալային կառուցվածքները կազմավորում են օղակ-ցողունային կառուցվածքներ (ցողունային հատվածում կարող է տեղի ունենալ նուկլեոտիդների ոչ կոմպլեմենտար զուգավորում): Այս մոլեկուլները նման են սպիտակուց կոդավորող ի-Ռ-ՆԹ-ներին և ունեն մեթիլ-7-գուանինային կեպ 5' ծայրում և պոլիԱ պոչիկ 3' ծայրում: Երկար նախա-miՌ-ՆԹ-ները ճեղքվում են 60-70 նուկ. երկարությամբ նախա-miՌ-ՆԹ-ների **Դրոշա** սպիտակուցով, որն օժտված է ռիբոնուկլեազային ակտիվությամբ և գործում է մի քանի օժանդակ սպիտակուցների հետ համատեղ (նկար 73): **Դրոշա-DGRC8** սպիտակուցների համալիրը ճեղքում է երկար նախա-miՌ-ՆԹ-ների օղակ-ցողունային կառույցները ցողունի հիմքում՝ ձևավորելով առաջին miՌ-ՆԹ-ներ:

Առաջնային միՌՆԹ-ները ցիտոպլազմ են տեղափոխվում էքսպորտին-5-ի միջոցով: Ցիտոպլազմում մախա-միՌՆԹ-ները ճեղքավորվում են **Ռայսեր** սպիտակուցների կողմից՝ առաջացնելով 22-24 մուկ. երկարությամբ մոլեկուլներ, որոնց մի շղթան հասուն միՌՆԹ-ն է, իսկ մյուսը՝ այդ շղթայի թերմոդինամիկորեն անկայուն կրկնակը, որը հետագայում քայքայվում է: Հասուն միՌՆԹկարող է զուգավորվել թիրախային ի-ՌՆԹ 5' և 3' տրանսլյացիայի չենթարվող հատվածների հետ: Այդ զուգավորման համար որոշիչ դեր են կատարում միՌՆԹ-ի 5' ծայրի 6-7 մուկլեոտիդների և ի-ՌՆԹ-ի 3' ծայրի մուկլեոտիդների կոմպլեմենտարությունը:

Համաձայն նորագույն տվյալների՝ միՌՆԹ-ները կարող են զուգավորվել անգամ ի-ՌՆԹ կողավորող հատվածների հետ: միՌՆԹ-ները ճնշում են իրենց հետ զուգավորված թիրախային ի-ՌՆԹ-ների տրանսլյացիան, խթանում ի-ՌՆԹ-ի քայքայումը: Ենթադրվում է, որ ի-ՌՆԹ-ների 30-50% ակտիվությունը կարգավորվում է միՌՆԹ-ներով, ինչը զգալի դեր է կատարում գենների աշխատանքի արդյունավետության կարգավորման մեջ:

10.4. Ինտերֆերենցվող կարճ ՌՆԹ-ներ

Ինտերֆերենցվող ՌՆԹ-ները (iՌՆԹ-ներ) հայտնաբերվել են պատահականորեն, երբ հետազոտողները փորձում էին ճնշել *C. elegans* որդի որոշ գենների էքսպրեսիան **հակասենսային արգելակման մեթոդով**: Հակասենսային արգելակման մեթոդի էությունն այն է, որ միկրոներարկման եղանակով բջիջ են ներմուծվում թիրախային գենի ի-ՌՆԹ-ին կոմպլեմենտար միաշղթա ՌՆԹ-ի երկար մոլեկուլներ, որոնք, զուգավորվելով ի-ՌՆԹ-ի հետ, արգելակում են վերջինիս տրանսլյացիան: Փորձերի ընթացքում պարզվեց, որ մի քանի հարյուր մուկլեոտիդից կազմված երկշղթա հակասենս ՌՆԹ-ի մոլեկուլը շատ ավելի արդյունավետ է ճնշում գենի էքսպրեսիան, քան միաշղթա հակասենս ՌՆԹ-ի մոլեկուլը: Երկար ինտերֆերենցվող ՌՆԹ-ների մոլեկուլները լիովին արգելակում են սպիտակուցի սինթեզը բջջում, և այս հանգամանքը սահմանափակում է դրանց կիրառութ-

յունը առանձին գեների էքսպրեսիայի ընտրովի ճնշման համար: Այդ թերությունից զուրկ են ինտերֆերենցվող կարճ Ռ-ՆԹ-ները:

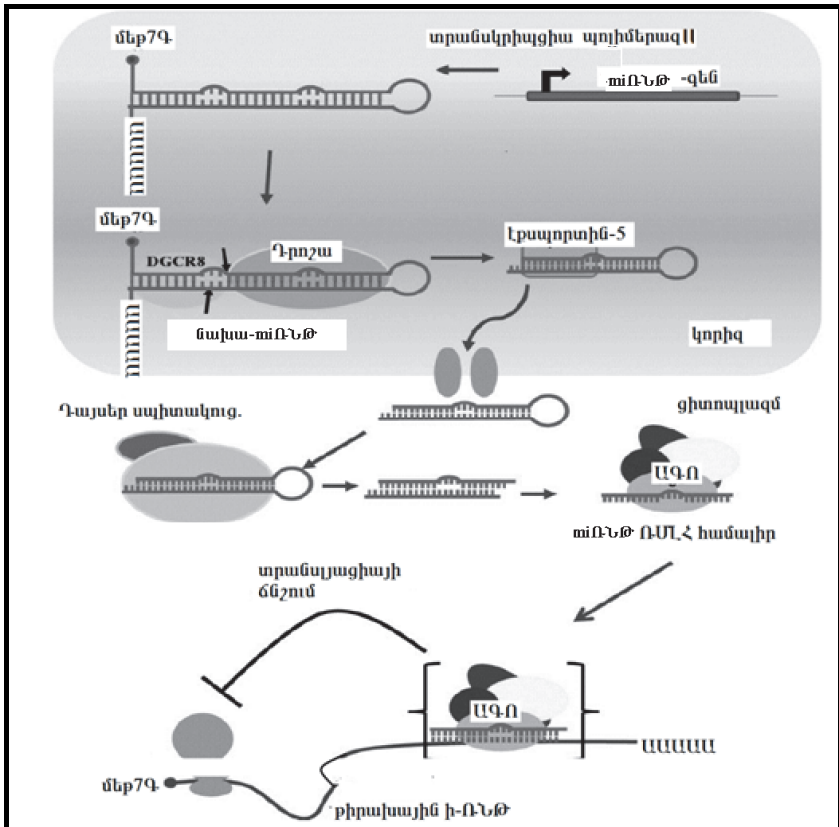
Ինտ. կ.Ռ-ՆԹ-ները առաջանում են երկար երկշղթա Ռ-ՆԹ-ների ճեղքավորման հետևանքով: Երկար երկշղթա Ռ-ՆԹ-ները սինթեզվում են կորիզում Ռ-ՆԹ պոլիմերազ II (Պոլ II) ֆերմենտի կողմից և տեղափոխվում ցիտոպլազմ: Ցիտոպլազմում դրանք ճեղքավորվում են 20-25 նուկ. երկարությամբ հատվածների **Դայսեր** կոչվող ֆերմենտով, որը պատկանում է երկշղթա Ռ-ՆԹ-ները ճեղքավորող ռիբոնուկլեազների ընտանիքին: Ինտ.կ.Ռ-ՆԹ-ների 5' ծայրի երկու շղթաներն էլ ավարտվում են ֆոսֆատային, իսկ 3' ծայրում՝ հիդրօքսիլ խմբերով: Երկշղթա Ռ-ՆԹ-ի շղթաներից մեկը կոչվում է ուղղորդող, մյուսը՝ ուղեկից: Դայսերով ճեղքավորվելուց հետո երկշղթա Ռ-ՆԹ-ն կապվում է **Արգոնավտ (Ագո)** սպիտակուցների համալիրին, որոնք, օժտված լիմեյով ռիբոնուկլեազային ակտիվությամբ, ճեղքավորում են ուղեկից շղթան: Ուղղորդող շղթան մնում է կապված ԱԳՈ2 համալիրի հետ: Ագո2 համալիրն առաջնորդում է ինտ.կ.Ռ-ՆԹ-ի ուղղորդող շղթան դեպի **Ռ-ՆԹ-մակաժված արգելակող համալիր (ՌՄԼՀ-RISC)** կոչվող սպիտակուցների խումբը, որը կապվում է թիրախային ի-Ռ-ՆԹ-ին: ՌՄԼՀ-ի-Ռ-ՆԹ-ինտ.կ.Ռ-ՆԹ համալիրը ՌՄԼՀ-ի սպիտակուցների էնդոնուկլեազային ակտիվության շնորհիվ ճեղքավորում է զուգավորված շղթաների 10-րդ և 11-րդ մնացորդները կապող ֆոսֆոդիեթերային կապը: Քանի որ ի-Ռ-ՆԹ-ների ծայրային հատվածները կեպավորման և պոլիադենիլացման շնորհիվ ձեռք են բերում երկրորդային և երրորդային կառուցվածքներ, դրանք չեն ճանաչվում ՌՄԼՀ-ի կողմից, և համալիրի արդյունավետությունը կարող է խիստ նվազել:

Ինտ.կ.Ռ-ՆԹ-ների առաջացումը որոշիչ դեր է կատարում բույսերի, ճանճերի և որդերի հակավիրուսային պաշտպանության գործում: Ինչպես հայտնի է, Ռ-ՆԹ-վիրուսներով վարակվելուց հետո տերթջջում սկսվում է վիրուսային գենոմի կրկնապատկումը, որի ընթացքում առաջանում են միջանկյալ երկար երկշղթա Ռ-ՆԹ մոլեկուլներ: Այդ Ռ-ՆԹ մոլեկուլները ճանաչվում և վեր են ածվում վիրուսային կ. ինտ. Ռ-ՆԹ-ների Դայսեր սպիտակուցների կողմից: Բույսերի տերթջիջների Ագո պարունակող ՌՄԼՀ-ները, միացնելով վիրուսային-

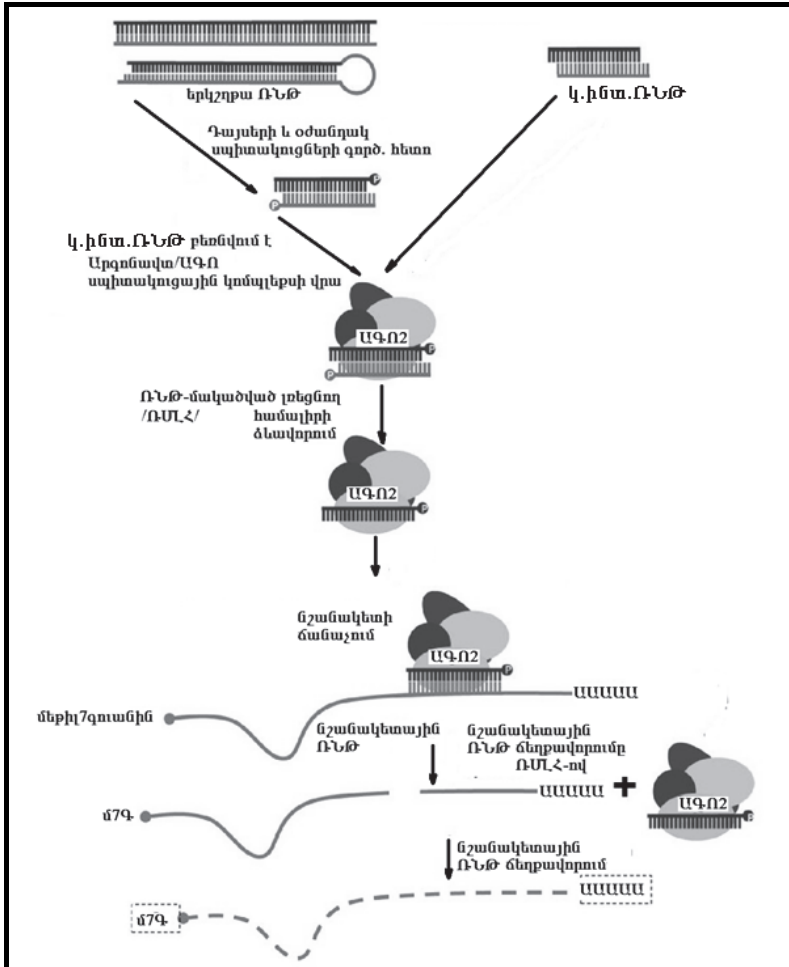
նինտ.կ.ՌՆԹ-ները, լիովին քայքայում են վիրուսային գենոմային ՌՆԹ-ն:

10.5. Չկողավորող երկար ՌՆԹ

Առաջին սպիտակուց չկողավորող երկար ՌՆԹ-ն հայտնաբերվեց 1990 թվականին: Հետագայում հայտնաբերվեցին հազարավոր երկ.չկող.ՌՆԹ-ներ: Չկող.երկ.ՌՆԹ-ների երկարությունը գերազանցում է 200 նուկ., և դրանք նման են ի-ՌՆԹ-ներին. ունեն 5՝ կեպ (մեթիլ7 գուանոզին) և պոլիադենիլային պոչիկ: Չկող.երկ.ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիան հաճախ ընթանում է կողավորող ի-ՌՆԹ-ների հետ համատեղ: Չկող.երկ.ՌՆԹ-ները կարող են ազդել տրանսկրիպցիայի ակտիվության վրա՝ կապվելով և արգելակելով տրանսկրիպցիայի գործոնները կողավորող գեների պրոմոտորների աշխատանքը: Չկող.երկ.ՌՆԹ-ները ներգործում են ի-ՌՆԹ հաստնացման գործընթացի առանձին փուլերի, դեպի ցիտոպլազմ ի-ՌՆԹ տեղափոխության վրա, գուգավորվելով թիրախային ի-ՌՆԹ-ի հետ՝ արգելակում են տրանսլյացիան և խթանում ի-ՌՆԹ քայքայումը: Չկող.երկ.ՌՆԹ-ները առանցքային դեր են կատարում իգական երկրորդ X քրոմոսոմի լեեցման գործում:



Նկար 73. Միկրո-ՌՆԹ-ների առաջացման և գործունեության գծապատկերը: ՌՄԼՀ-ՌՆԹ-մակադված լեցնող համալիր [Kung T.Y. et al, Genetics, 2013]:



Նկար 74. Գեների էքսպրեսիայի կարգավորումը ինտ.կ.ՌՆԹ-ով:
Ինտ.կ.ՌՆԹ փոխազդում են ԱԳՈ 2 սպիտակուցների հետ՝ ձևավորելով
ՌՄԼՀ: ՌՄԼՀ ձևավորման ժամանակ ինտ.կ.ՌՆԹ-ի ուղղորդող շղթան
բեռնվում է ԱԳՈ2 վրա, մինչդեռ ուղեկից շղթան քայքայվում է: Ակտիվ
ՌՄԼՀ ձևավորումից հետո կ.ինտ.ՌՆԹ-ի ուղղորդող շղթան գուգավորվում է
թիրախային ի-ՌՆԹ-ի հետ, ճեղքավորում և քայքայում է այն [Patil S. et al
Crit Rev Biochem Mol Biol. 2014]:

Չկողավորող թե՛ երկար և թե՛ կարճ Ռ-ՆԹ-ները, մասնակցելով բազմաթիվ հիմնարար բջջային գործընթացներին, մեծ նշանակություն ունեն ախտածին զարգացումների համար: Ենթադրվում է, որ **միՌ-ՆԹ-ները** ներգործում են հարյուրավոր գեների էքսպրեսիայի վրա: Չարորակ նորագոյացումների ժամանակ ախտահարված հյուսվածքների բջիջներում հայտնաբերվում են մոտ 21 **միՌ-ՆԹ-ներ**, որոնք բացակայում են առողջ բջիջներում: Պարզվել է, որ շիզոֆրենիայով և Ալցհայմերի հիվանդությամբ տառապող անձանց 15 **միՌ-ՆԹ-ների** պարունակությունը տարբերվում է դրանց պարունակությունից առողջ անձանց մոտ: Հայտնաբերվել է, որ մետաստազներ առաջացնող ուռուցքների բջիջները շուրջ 3-անգամ ավելի շատ չկող.երկ.Ռ-ՆԹ են պարունակում, քան տարածվելու հակում չդրսևորող ուռուցքների բջիջները: Հաճախ **միկրո, իմտերֆերենցվող փոքր և չկողավորող երկար Ռ-ՆԹ-ները միավորվում են մեկ անվան տակ և կոչվում են հակասենս (antisense) Ռ-ՆԹ-ներ**: Հակասենս Ռ-ՆԹ-ների որոշակի գեներ լեցնելու ունակությունը կամ ի-Ռ-ՆԹ-ների տրանսլյացիայի արգելակման ունակությունը դրանց դարձնում է անփոխարինելի գործիք գենային թերապիայի համար: Հակասենս Ռ-ՆԹ-ների կիրառական նշանակությունը սահմանափակվում է այն հանգամանքով, որ վերջիններս պետք է մախ և առաջ ներմուծվեն բջիջ, ուր և պետք է իրականացնեն իրենց հատուկ գործունեությունը: Սակայն հայտնի է, որ ցիտոպլազմում ակտիվորեն գործում են բազմաթիվ ռիբոնուկլեազներ, որոնք քայքայում են անպիտան կամ օտարածին Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլները: Ներբջջային ռիբոնուկլեազներից պաշտպանելու համար հակասենս Ռ-ՆԹ-ները մախապես ենթարկում են քիմիական տարբեր ձևափոխությունների (մոդիֆիկացումների): Պետք է նկատի ունենալ, որ հակասենս Ռ-ՆԹ-ների մոդիֆիկացումը չպետք է խաթարի թիրախային գենի կամ ի-Ռ-ՆԹ-ի հետ կապման գործընթացը: Այս պահանջներին բավարարում են շաքարային մնացորդների, ֆոսֆորիթերային կապի թթվածնային ատոմների փոխարինումը մեթիլային, թիոլային խմբերով կամ ազոտական հիմքերի ամփոփացումը: Ներկայումս հակասենս Ռ-ՆԹ-ները կիրառվում են խոշոր եղջերավոր կենդանիների բրուցելյոզ հիվանդության հարուցիչ *Trypanosoma brucei*-ի ոչնչացման համար: Հակասենս Ռ-ՆԹ-ն

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

10.6. Ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլների տրանսլյացիան կարող է խթանվել ցիտոպլազմում ընթացող պոլիադենիլացման շնորհիվ

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

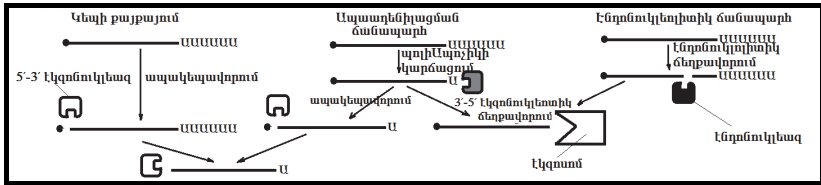
Բազմաթիվ ի-Ռ-ՆԹ-ների տրանսլյացիան հնարավոր է դառնում միայն ցիտոպլազմային պոլիադենիլացումից հետո: **Ի-Ռ-ՆԹ-ների ցիտոպլազմային պոլիադենիլացումը մեծ նշանակություն ունի կենդանիների սաղմնային զարգացման վաղ փուլերում՝ ապահովելով գեների ընտրողական էքսպրեսիան:** Օոցիտների (ձվաբջիջների) ցիտոպլազմում պարունակվում են բազմաթիվ ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլներ, որոնց տրանսլյացիայի գործընթացը մեկնարկում է միայն բեղմնավորումից հետո: Այս «պահեստային» ի-Ռ-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

տրանսլացիայի մեկնարկային համալիրի ձևավորումը, և այդ պատճառով «պահեստային» ի-ՌՆԹ-ների տրանսլացիան գրեթե լիովին արգելափակված է: Չվաբջջի բեղմնավորումից հետո ցիտոպլազմում գտնվող «պահեստային» ի-ՌՆԹ-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 տրանսլացիայի ինտենսիվությունը: Ցիտոպլազմում պոլիադենիլային պոչիկների երկարացման համար անհրաժեշտ է, որ բջջակորիզից ցիտոպլազմ անցած ի-ՌՆԹ-ների 3' ծայրային UTR-ներում գործեն երկու ազդանշանային հաջորդականություններ: Դրանք են՝ **ԱԱՌԻԱԱԱ պոլիադենիլացման ազդանշանը, որը գործում է նաև նախա-ի-ՌՆԹ-ների բջջակորիզային պոլիադենիլացման ժամանակ** և մեկ կամ մի քանի CPE-ներ (cytoplasmic polyadenylation element-ցիտոպլազմային պոլիադենիլացման տարրեր), որոնք հարուստ են ուրացիլով: CPE-ները միանում են CPE-կապող սպիտակուցին (CPEB): Խթանիչ ազդանշանի բացակայության պարագայում CPE-ներին միացած CPEB-ները միացած են **Maskin** կոչվող սպիտակուցի հետ, որն իր հերթին միանում է ի-ՌՆԹ-ի մոլեկուլի 5' կեպավորված ծայրին միացած մեկնարկման գործոն eiF4E-ի հետ: Այս կապերի շնորհիվ տրանսլացիայի մեկնարկման մնացած գործոնները չեն կարողանում միանալ 40S ռիբոսոմային ենթամասնիկին, և սպիտակուցի սինթեզն արգելակվում է: Խթանիչ գործոնների թվին է պատկանում պրոգեստերոն հորմոնը, որի ներգործության հետևանքով գորտի հասունացող ձվաբջիջներում ակտիվանում է CPEB-ի սերինային մնացորդները ֆոսֆորիլացնող պրոտեին կինազը: CPEB-ի սերինային մնացորդների ֆոսֆորիլացման հետևանքով Maskin սպիտակուցն 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-Ռ-ՆԹ-ների քայքայումը ցիտոպլազմում

Ի-Ռ-ՆԹ-ների քանակությունը ցիտոպլազմում կախված է թե՛ մոլեկուլի սինթեզի և թե՛ քայքայման արագություններից: Այսպես, օրինակ, եթե երկու գեների տրանսկրիպցիան ընթանում է միևնույն արագությամբ, ավելի մեծ կլինի այն ի-Ռ-ՆԹ-ի պարունակությունը, որն ավելի կայուն է: Ի-Ռ-ՆԹ-ի կոնցենտրացիան իր հերթին ազդում է նաև կոդավորված սպիտակուցի տրանսլյացիայի վրա: Կայուն ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլներով կոդավորված սպիտակուցի սինթեզը շարունակվում է անգամ համապատասխան գենի ռեպրեսիայից հետո: Բակտերիաների ի-Ռ-ՆԹ-ներն 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՝ բազմաբջջի օրգանիզմների բջջյան ճնշող մեծամասնությունն ապրում է հարաբերականորեն կայուն միջավայրում և կատարում է մասնագիտական բնորոշ ֆունկցիաներն օրերի, ամիսների և անգամ օրգանիզմի ողջ կյանքի ընթացքում (նյարդային բջջյան): Բազմաբջջի օրգանիզմների ի-Ռ-ՆԹ-ներն 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 ցիտոկինների (իմունային համակարգի ազդանշանային մոլեկուլներ) սինթեզը և արտազատումը նման են պայթյունի, երբ մոլեկուլների թիվը կարճ ժամանակում արագորեն աճում է: Բջջի բազմացման բոլորաշրջանի S փուլի այնպիսի սպիտակուցներ, ինչպես՝ c-Fos-ն ու c-Jun-ը սինթեզվում են շատ կարճ ժամանակահատվածում, և դրանց գեների տրանսկրիպցիան արագ ակտիվանում և արգելակվում է, իսկ համապատասխան ի-Ռ-ՆԹ-ների կյանքի կիսատևողությունը կազմում է մոտ 30 րոպե կամ ավելի քիչ:

Ցիտոպլազմում ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները կարող են քայքայվել 3 հիմնական ուղիներով, որոնք պատկերված են նկար 75-ում:



Նկար 75.Ցիտոպլազմում ի-Ռ-ՆԹ-ների քայքայման ճանապարհները:

Ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլների մեծամասնությունը ցիտոպլազմում ճեղքավորվում է ապաադենիլացման ճանապարհով: Ապաադենիլացումն իրականացնում է հատուկ ապաադենիլացնող էնդոնուկլեազը, որը, քայլ առ քայլ ճեղքավորելով երկար պոլիԱ-պոչիկը, այնքան է կարճացնում այն, որ պոլիԱ կապվող սպիտակուցն այլևս չի կարողանում միանալ և կայունացնել 5' կեպի և տրանսլյացիայի մեկնարկային գործոնների համալիրը: Մերկացած կեպը քայքայվում է ապակեպավորող ֆերմենտներով, իսկ ի-Ռ-ՆԹ-ի անալաշտպան 5' ծայրը ճեղքավորվում է 5'-3' էկզոնուկլեազով: Պոլի Ա պոչիկի հեռացումն ունի մեկ հետևանք՝ ևս: Ի-Ռ-ՆԹ-ն դառնում է ավելի զգայուն 3'-5' էկզոնուկլեազների հանդեպ, որոնք գերիշխում են կաթնասունների էկզոսոմներում: Ապակեպավորող ֆերմենտները և 5'-3' էկզոնուկլեազները կենտրոնացած են ցիտոպլազմում գտնվող **P մարմնիկներում**: P մարմնիկները ցիտոպլազմի սահմանազատված շրջաններ են, որոնք առանձնանում են արտասովոր մեծ խտությամբ:

Որոշ ի-Ռ-ՆԹ-ների քայքայումը կատարվում է մոլեկուլի ապաադենիլացման գործընթացից անկախ: Հաճախ ի-Ռ-ՆԹ-ի 5' ծայրում գտնվող նուկլեոտիդների յուրահատուկ համադրությունը մեծացնում է 5' կեպի զգայնությունն ապակեպավորող ֆերմենտների նկատմամբ, որոնք ճեղքավորում են կեպը: Այս խմբի ի-Ռ-ՆԹ-ների քայքայման արագությունն ուղիղ համեմատական է ապակեպավորման արագությանը և հակադարձ համեմատական է տրանսլյացիայի մեկնարկման հաճախականությանը: Որքան մեծ է տրանսլյացիայի մեկնարկման հաճախականությունը, այնքան ավելի դանդաղ է ընթա-

նում ապաադենիլացման գործընթացը: Հավանաբար, դա պայմանավորված է 5' կեպին միացած տրանսլյացիայի մեկնարկման գործոնների ազդեցությամբ, որոնք կայունացնում են ի-Ռ-ՆԹ-ի պոլիադենիլային պոչիկի կապը պոլի Ա-կապվող սպիտակուցի հետ՝ անհասանելի դարձնելով այն ապաադենիլացնող էկզոնուկլեազի համար:

Կաթնասունների բջիջներում կարճ ապրող ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլների 3' UTR շրջանում կան ԱՌԻՌԻՌԻԱ նուկլեոտիդային հաջորդականություն ունեցող բազմաթիվ կրկնվող հատվածներ: Գոյություն ունեն յուրահատուկ Ռ-ՆԹ-կապվող սպիտակուցներ, որոնք, մի կողմից, միանում են նշված 3' ԱՌԻ-հարուստ հատվածներին, մյուս կողմից՝ ապաադենիլացնող ֆերմենտին և էկզասոմին: Նման փոխազդեցության հետևանքով տեղի է ունենում մոլեկուլի արագընթաց ճեղքավորում 3'-5' ուղղությամբ: Ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլներին քայքայման արագությունն այս մեխանիզմով կախված չէ տրանսլյացիայի մեկնարկման հաճախականությունից: Այսպիսով՝ 3' UTR-ում ԱՌԻՌԻՌԻԱ հատվածներ պարունակող ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները կարող են ունենալ տրանսլյացիայի մեկնարկման մեծ հաճախականություն և նույնչափ արագ կարող են քայքայվել: Նման մեխանիզմը հնարավորություն է տալիս իրականացնելու կոդավորվող սպիտակուցի սինթեզի թե՛ արագընթաց աճը, թե՛ նույնչափ սրընթաց արգելակումը (նկար 75): Նկար 75-ում պատկերված է նաև ի-Ռ-ՆԹ-ի քայքայման էնդոնուկլեոլիտիկ մեխանիզմը, որում բացակայում են ապակեպավորման և ապաադենիլացման քայլերը: Էնդոնուկլեոլիտիկ քայքայման մեխանիզմը գործում է նրա շնորհիվ, որ ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները հիբրիդացվում են կոմպլեմենտար ինտերֆերենցվող կարճ Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլների հետ և զանգվածաբար քայքայվում (նկար 74): Ի-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլները ցիտոպլազմում կարող են քայքայվել P մարմնիկներում: Ինչպես արդեն նշվել է, P մարմնիկները շրջաններ են, որոնք առանձնանում են մնացած ցիտոպլազմից չափազանց մեծ խտությամբ: P մարմնիկներում միկրո-Ռ-ՆԹ-ներին կապված ի-Ռ-ՆԹ-ների մոլեկուլները քայքայվում են ՌՄԼՀ-երում (Ռ-ՆԹ-մակածված լռեցնող համալիր) (նկար 73, 74): **P մարմնիկներում կենտրոնացած են ապակեպավորող ֆերմենտները, ապակեպավորման խթանիչները, 5'-3' էկզոնուկլեազը, և կուտակվում են ի-Ռ-ՆԹ-ները:** P մարմնիկները

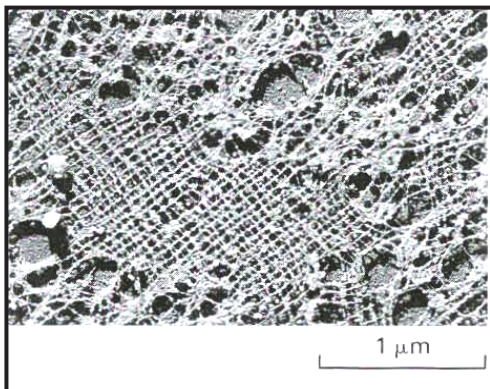
չունեն կայուն չափեր, և նրանց մեծությունը կարող է փոխվել՝ կախված ի-ՌՆԹ-ների մոլեկուլների միացման և քայքայման արագություններից, ինչպես նաև այն արագությունից, որով ի-ՌՆԹ-ները կարող են լքել P մարմնիկը և միավորվել տրանսլացիայի ենթարկվող ի-ՌՆԹ-ների հետ:

10.8. Սպիտակուցի սինթեզի վերահսկման TOR ճանապարհը

Ի պատասխան օտար օրգանի պատվաստմանը (օրգանների տրանսպլանտացիա)՝ սկսում է գործել օրգանիզմի իմունային համակարգը՝ դրսևորելով պաշտպանական ռեակցիաներ, որոնք ուղղված են օտարածինի ներխուժման դեմ: Իմունային համակարգի ռեակցիաներն ի վերջո հանգեցնում են ներմուծված օրգանի մահվան, ինչը զրոյացնում է տրանսպլանտացիայի արդյունավետությունը: Իմունային համակարգի ռեակցիաները ճնշելու համար կիրառվում է ռապամիցին հակաբիոտիկը, որը ստանում են *Streptomyces* բակտերիաներից: Խմորասնկերի որոշ մուտանտներ կայուն են ռապամիցինի նկատմամբ: Այդ կայունության մեխանիզմների ուսումնասիրությունը թույլ տվեց հայտնաբերել ռապամիցինի բջջային թիրախը (**target of rapamycin-TOR**): TOR-ը խոշոր սպիտակուց է, որը կազմված է մոտ 2400 ամինաթթվային մնացորդներից և օժտված է պրոտեին կինազային ակտիվությամբ: Խմորասնկի բջջում TOR-ը կարգավորում է այն կենսաքիմիական շղթաների գործունեությունը, որոնք կապված են սննդային միջավայրի փոփոխության հետ: Բազմաբջիջ էուկարիոտ օրգանիզմների բջիջներում (**metazoanTOR-mTOR**) mTOR-ը մասնակցում է բազմաթիվ արտաբջջային ազդանշանների մեմբրանային ռեցեպտորների (թաղանթային 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 ռիբոսոմային սպիտակուցները,

- ֆոսֆորիլացնելով տրանսկրիպցիայի այն գործոնները, որոնք խթանում են տրանսլյացիայի գործոնները կողավորող ի-Ռ-ՆԹ-ների և փ-Ռ-ՆԹ-ների սինթեզը:



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

ԳԼՈՒԽ 11

Բջջակորիզային ենթակառուցվածքներ

11.1. Բջջակորիզային մատրիքս և լամինա

Բջջակորիզային մատրիքսն և լամինան հենք են ծառայում բջջակորիզային ենթակառուցվածքների համար: Թեև բջջակորիզի զանգվածի 80-90 %-ը կազմում են քրոմատինային թելիկները, վերջիններիս գրեթե ամբողջական հեռացումից հետո (բջջակորիզի մշակում նուկլեազներով և դետերգենտներով) բջջակորիզը պահպանում է հատուկ ձևը և չափերը: Ինչպես պարզվեց 70-ականներին, դա ապահովում են անլուծելի սպիտակուցային թելիկները, որոնք առաջացնում են եռաչափ ցանց բջջակորիզի ներսում և հարթ ցանց, որը անմիջականորեն պատում է բջջակորիզաթաղանթի ներքին թերթիկը (**լամինա**): Այս կառույցը կոչվեց **բջջակորիզային մատրիքս** կամ բջջակորիզային կմախք: Քրոմատինային թելիկները անմիջականորեն կապվում են կորիզային մատրիքսին, և, ինչպես պարզվեց, հպման կայքերի միջև գտնվող ԴՆԹ-ի հատվածներից ընթանում է ակտիվ տրանսկրիպցիա և ԴՆԹ-ի կրկնապատկում: Ենթադրվում է, որ կորիզային մատրիքսը, խարսխելով քրոմատինային թելիկները, բաժանում է դրանց առանձին ֆունկցիոնալ հատվածների (հիշենք, որ քրոմատինի կիսաօղակներն ամրացվում են սպիտակուցային հենքին), որոնք էլ հանդիսանում են տրանսկրիպցիայի և ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման միավորներ: Ավելին, բջջակորիզային մատրիքսի թելիկները կարող են կազմել կիսախողակներ, որոնցով հասունացած ի-ՌՆԹ-ն տեղափոխվում է դեպի բջջակորիզաթաղանթի անցուղիները:

Բջջակորիզային լամինայի կառուցվածքն ավելի լավ է ուսումնասիրված: Լամինայի ցանցաձև կառուցվածքը հուսալի հենք է բջջակորիզաթաղանթի համար: Լամինայի առանձին թելիկների հաստությունը կազմում է 10-40 նմ, և դրանք պատկանում են **միջին հաստության լամինար թելիկների ընտանիքին**: Այս ընտանիքի սպիտակուցները մեծ դեր են կատարում, և սպիտակուցները կողավորող

գեների նույնիսկ մեկ ազոտական 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 գալիս ծերացմանը բնորոշ հատկանիշներ՝ սրտանոթային հիվանդություններ, մազաթափություն, մաշկի, մկանների, ոսկորների հետզարգացում և վաղահաս մահ:

Բջջակորիզային լամինան կազմված է երեք տարբեր տիպի սպիտակուցներից՝ լամին A, լամին B և լամին C-ից: Լամիններ A-ն և C-ն կողավորվում են նույն տրանսկրիպցիայի միավորով և տարբերվում են մախա-ի-ՌՆԹ-ի ավտերնատիվ կամ այլընտրանքային սպլայսինգի շնորհիվ: Այս լամինները տարբերվում 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) հիդրոֆոր մնացորդը, որը հեշտությամբ մխրճվում է կորիզաթաղանթի ներքին թերթիկի լիպիդային երկշերտի մեջ՝ ապահովելով լամին B-ի սերտ միացումը կորիզաթաղանթի ներքին շերտին: Միտոզի 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 բջջակորիզաթաղանթի ներքին թերթիկին: Մատրիքսի և լամինայի ապապոլիմերացումը ապահովում է բջջակորիզաթաղանթի և բջջակորիզի ապամոնտաժի գործընթացը միտոզի ժամանակ:

11.2. Կորիզակ

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

շրջանները թաղանթով տարանջատված չեն և մման են մուկլեոպլազմում կախված գնդիկների: Այդ բջջակորիզային ենթակառուցվածքներում կուտակված են յուրահատուկ սպիտակուցներ և ՌՆԹ-ների մոլեկուլներ: Ամենակարևոր բջջակորիզային մարմնիկը **կորիզակն** է, որում ընթանում են ռիբոսոմային ենթամասնիկների սինթեզի և կազմավորման գործընթացները: Բջջակորիզային սպիտակուցների ֆլուորեսցենտային նիշավորումը ցույց տվեց, որ բջջակորիզն ունի արտակարգ դիմամիկ կառուցվածք, որին բնորոշ են սպիտակուցների արագ տեղափոխությունները մուկլեոպլազմի ողջ ծավալում: Բջջակորիզային մարմնիկներում կենտրոնացած սպիտակուցները մույնպես շարժվում են մարմնիկի սահմաններից դեպի դուրս ու ներս, բայց մման տեղափոխությունների արագությունն ավելի փոքր է, քան սպիտակուցների շարժման միջին արագությունն ազատ մուկլեոպլազմում: Եթե փորձենք անցկացնել զուգահեռներ, ապա բջջակորիզային մարմնիկները կարելի է դիտել որպես հետերոգեն թերմոդինամիկական համակարգի ստացիոնար հավասարակշռության առանձին կայքեր, որտեղ շարժունակ սպիտակուցները, փոխազդելով միմյանց հետ, առաջացնում են ինքնակազմակերպվող կառույցներ: Այդ կառույցներում ստացիոնարության վիճակն ապահովում է սպիտակուցների այնպիսի փոխազդեցություն, որի շնորհիվ դրանք խմբավորվում են, բայց պահպանում են կայքից հեռանալու և վերադառնալու ունակությունը:

Ներկայումս բացահայտվել են կորիզակների լրացուցիչ ֆունկցիաներ: Պարզվել է, որ սպիտակուցների բջջային արտազատմանն (սեկրեցիա բջջից դուրս) և էնդոպլազմային ցանցի թաղանթների ներփքման գործընթացներին մասնակցող ՌՆՊ-ները խմբավորվում են կորիզակում, ինչից հետո տեղափոխվում են ցիտոպլազմ, որտեղ տեղի է ունենում դրանց վերջնական հասունացումը: Միտոզի վերջնական փուլին մասնակցող **Cdc14 պրոտեին ֆոսֆատազը** մինչ քրոմոսոմների տարամիտումը կենտրոնացած է լինում կորիզակում:

Կորիզակում է գտնվում մաս ուռուցքազոյացումն արգելակող **ARF սպիտակուցը**, որը մասնակցում է p53 սպիտակուցի (այս սպիտակուցը կողավորող գենի մուտացիան հայտնաբերված է ուռուցքային բջիջների շուրջ 50 %-ի մոտ) ակտիվության կարգավորման գոր-

ծընթացին: Ի պատասխան ԴՆԹ-ի վնասվածքի՝ ARF սպիտակուցը դուրս 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 0,2-1μm տրամագծով գնդաձև կառուցվածքներ են, որոնք հայտնաբերվել են շուրջ 100 տարի առաջ: Պարզվել է, որ Cajal մարմնիկներում տեղի է ունենում սպլայսատմներում գործող ռիբոնուկլեինոպրոտեինային կոմպլեքսների (ՌՆՊ-ների) կազմավորում: Cajal մարմնիկներում snՌՆԹ-ները (աղյուսակ 1) n-ՌՆԹ-ների նման ենթարկվում են քիմիական ձևափոխությունների. ուրիդիլային մնացորդների մի մասը փոխվում է պսևդուրիդիլին, և որոշ ռիբոզների 2'OH-ը մեթիլացվում է: Այս փոփոխություններն ուղղորդվում են snՌՆԹ-ի (աղյուսակ 1) տիպի մոլեկուլներով, որոնք կոչվում են **փոքր Cajal մարմնիկների հետ կապված ՌՆԹ-ներ (small Cajal body-associated RNAs-scaRNAs)**: Սպլայսինգի ժամանակ նախա-ի-ՌՆԹ-ի կազմից յուրաքանչյուր ինտրոնի հեռացումից հետո U4, U6, U5 մոլեկուլներն ազատ են արձակվում: Cajal մարմնիկներում տեղի է ունենում ի-ՌՆԹ-ի սպլայսինգն իրականացնող U4/U6/U5-snՌՆՊ կոմպլեքսի վերամիավորումը: Մարմնիկները պարունակում են նաև U7 snՌՆՊ, որը մասնակցում է հիստոնային ի-ՌՆԹ-ների 3' ծայրի պրոցեսինգին (հիշենք, որ **հիստոնների ի-ՌՆԹ-ները չունեն պոլիադենիլային պոչիկ**), և, հավանաբար, հիստոնային ի-ՌՆԹ-ների հաստունացման այս փուլը, ինչպես նաև թելոմերազային ՌՆՊ-ների ձևավորումը, նույնպես ընթանում են Cajal մարմնիկներում:

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

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

1μմ տրամագծով: Հավանաբար այս մարմնիկներում կուտակված են ԴՆԹ-ի ռեպարացման (նորոգման) և ապոպտոզի մակաժման համար անհրաժեշտ սպիտակուցներն և p53 սպիտակուցը, որը հայտնի է, որպես ուռուցքազոյացումը ճնշող սպիտակուց: Ի պատասխան ԴՆԹ-ի վնասվածքների p 53-ը ենթարկվում է հետ տրանսլյացիոն ֆոսֆորիլացման 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): Պրոմիլեոտիկ լեյկեմիայի բջջակորիզային մարմնիկները մասնակցում են ԴՆԹ-վիրուսների հակազդող բջջային պատասխանների ձևավորմանը (ինտերֆերոնների արտազատում): PML մարմնիկներում տեղի է ունենում մասնաբաժանման փոքրիկ սպիտակուց՝ **SUMO1** (small ubiquitin-like moiety- I)-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 տրանսկրիպցիայի արգելակման գործընթացին:

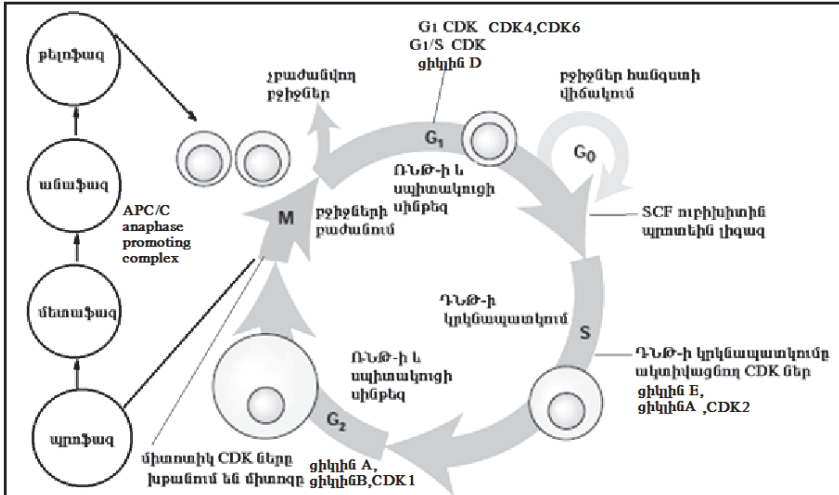
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

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.

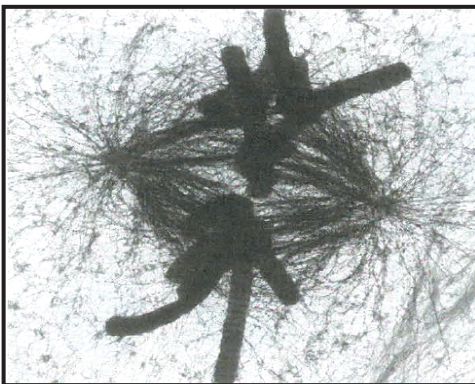
5. Burke B., Ellenberg J. (2002). Remodeling the walls of the nucleus. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3:487-497.
6. Chook Y. M., Blobel G. (2001). Karyopherins and nuclear import. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11:703-715.
7. Dreyfuss G., Kim V. N., Kataoka N. (2002). Messenger-RNA-binding proteins and the 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

Բջջի ցիկլի փուլերի փոփոխություն



Նկար 77. Բջջային բոլորաշրջանի գծապատկեր: Բջջի ցիկլի փուլերը կատարվում է M փուլում: G₁ և G₁/S CDK-ները նախապատրաստում են S փուլը, SCF ուրբիխիտին պրոտեին լիգազը մակաժուլում է S փուլը, միտոտիկ CDK-ները խթանում են միտոզը:



Նկար 78. Քրոմոսոմների միացումը բաժանման իլիկի մանրաթելերին:

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 ԴՆԹ-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: **Բջիջների 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 ԴՆԹ-ի արդեն կրկնապատկված կառուցվածքները, որոնք խտացած են և տեսանելի են լուսային մանրադիտակով: Այսպիսով՝ յուրաքանչյուր քրոմոսոմ բաղկացած է ԴՆԹ-ի երկու նմանատիպ մոլեկուլներից (ԴՆԹ-ի կրկնապատկման հետևանքով), հիստոններից և ոչ հիստոնային սպիտակուցներից: ԴՆԹ-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 թաղանթն անմիջականորեն միացած է էնդոպլազմատիկ ցանցի թաղանթներին: M փուլի պրոֆագում այդ կապը խախտվում է, և էնդոպլազմատիկ ցանցի թաղանթների առանձին հատվածներ կորանալով պարփակվում են՝ առաջացնելով պոպուսկներ: Այս գործընթացը հնարավորություն է ընձեռում ցենտրոսոմներին միացած մանրաթելերին այնպես միանալու քրոմոսոմներին, որպեսզի կազմավորվի բաժանման իլիկը: Դրա համար յուրաքանչյուր ցենտրոմերում ձևավորվում է կինետոխոր: Բջջակորիզի թաղանթի քայքայումից հետո քույր քրոմատիդներ

րի կինետոխորները միաձուլվում են բաժանման իլիկի հակառակ բևեռներից դուրս եկող մանրաթելերի հետ: Մ փուլի մետաֆազում քրոմոսոմները դիրքավորվում են բաժանվող բջջի կենտրոնական կամ հասարակածային հարթությունում (նկար 78):

Անաֆազում տեղի է ունենում քույր քրոմատիդների տարանջատում: Քույր քրոմատիդները ձգվում են դեպի բաժանման իլիկի հակառակ բևեռները, որոնց շարունակական տարամիտումը հանգեցնում է քրոմատիդների լիակատար անջատմանը միմյանցից: Քրոմոսոմների վերջնական տարանջատումից հետո սկսում է բաժանման իլիկի քայքայումը և քրոմոսոմների ապակոնդենսվորումը: Միտոզի այս փուլը կոչվում է թելոֆազ: Թելոֆազի ընթացքում յուրաքանչյուր քրոմոսոմի շուրջ ձևավորվում են բջջակորիզաթաղանթային պատիճներ, որոնց հետագա միաձուլման հետևանքով առաջանում է ամբողջական բջջակորիզաթաղանթ: Ֆիտոպլազմի բաժանմամբ (ցիտոկինեզով) ավարտվում է մեկ մայրական բջջից երկու դուստր բջիջների առաջացման գործընթացը: Միտոզից հետո բջիջները մտնում են բջջային բոլորաշրջանի G1 փուլը: Թեև բջջային բոլորաշրջանի փուլերը ընդհանուր 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, միտոզը՝ 30 րոպե: Ի տարբերություն դրան՝ խմորասնկերի բջջային բոլորաշրջանի տևողությունը 90 րոպե է, իսկ *Drosophila melanogaster* պտղաճանճի սաղմի զարգացման վաղ փուլերում այն տևում է ընդամենը 8 րոպե: Բազմաբջիջ օրգանիզմների ուրոշ մասնագիտացած բջիջներ (նյարդային բջիջներ, աչքի ուպնյակի 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 (նկար 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. Լուկարիոտ բջիջների բջջային ցիկլի կարգավորումը ցիկլին կինազներով

Բջջային բոլորաշրջանի փուլերի ճիշտ հերթափոխությունը կարգավորվում է հետերոդիմերային պրոտեին կինազներով, որոնք բաղկացած են կատալիտիկ և կարգավորիչ ենթամիավորներից: Կատալիտիկ ենթամիավորներն հավաքականորեն անվանվում են **ցիկլին-կախյալ կինազներ (CDK-եր)**: CDK-ների կոնցենտրացիան կայուն է և չի փոխվում բջջային բոլորաշրջանի ողջ ընթացքում, սակայն կատալիտիկ ակտիվություն դրանք կարող են ձեռք բերել միայն կարգավորիչ ենթամիավորին միանալուց հետո: **Կարգավորիչ ենթամիավորները կոչվում են ցիկլիններ:** Բջջային բոլորաշրջանի յուրաքանչյուր փուլին հատուկ է ցիկլինների խիստ որոշակի հավաքակազմ: Յուրաքանչյուր կատալիտիկ միավոր կարող է միանալ տարբեր ցիկլինների հետ, որոնք էլ որոշում են ֆոսֆորիլացման ենթակա սպիտակուցի ընտրությունը: Բջջային բոլորաշրջանի ընթացքում ցիկլինների քանակական պարունակությունը բջիջներում 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 ֆոսֆորիլացման միջոցով: Այլ կերպ ասած՝ բջջային բոլորաշրջանի կանոնավոր ընթացքի համար անհրաժեշտ է «ճիշտ» ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվացումը «ճիշտ» ժամանակին: Օրինակ՝ S 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 ինքնաարգելակող ազդեցությունը:

CDK-ները պատկանում են 30-40 ԿԴ մեծություն ունեցող սերին/տրեոնինային կինազների ընտանիքին: CDK-ների ֆերմենտային ակտիվությունը սկսում է դրսևորվել 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 փուլի CDK-ներ S փուլի 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 թուլի CDK-ներ են և խթանում 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 ֆոսֆորիլացման ճանապարհով: Ընդ որում՝ ֆոսֆորիլացումը կարող է թե՛ ակտիվացնել, թե՛ արգելակել CDK-ների ակտիվությունը:

12.3. Ցիկլիններ

Ցիկլին անվանումը պայմանավորված է նրանով, որ այս մոլեկուլների ներբջջային պարունակությունը ենթակա է բջջային բոլորաշրջանի (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 բոլորաշրջանի խիստ որոշակի փուլում: Բջջային բոլորաշրջանի 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 բնականոն առաջընթացը:

Ըստ ներկայության և դրսևորած ակտիվության՝ ցիկլինները բաժանվում են չորս դասերի՝ **G1 ցիկլիններ**, **G1/S ցիկլիններ**, **S փուլի ցիկլիններ** և **միտոտիկ ցիկլիններ** (աղյուսակ 4): Թեև ցիկլինները միմյանցից տարբերվում են ամինաթթվային կազմով, բոլորին հատուկ է ցիկլինային փաթեթի առկայությունը, որը որոշակի երրորդային կառուցվածքով 100 ամինաթթուներից 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 գործոններից կախված ազդանշանային ուղիների գործունեությունը: Բազմաբջջի 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 բջջային բոլորաշրջանի ամբողջ ընթացքում:

G1/S ցիկլիններն այլ կերպ կոչվում են **E ցիկլիններ**: E ցիկլինների քանակությունն աճում է բոլորաշրջանի G1 փուլում և հասնում է առավելագույն մեծության, երբ բջիջները թևակոխում են S փուլը: S փուլի ընթացքում G1/S ցիկլինների պարունակությունը բջիջներում 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 պահն անվանվում է **START կետ**: START կետն ազդանշում է բջջի անվերադարձ մուտքը բջջային բոլորաշրջան, որն ավարտվում է բջջի կրկնապատկմամբ: START կետում տեղի են ունենում հետևյալ փոփոխությունները. բջջում սկսվում են **ԴՆԹ-ի ռեպլիկացումն 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 էլ միանում են CDK 2-ին և ուղղակիորեն պատասխանատու են ԴՆԹ-ի սինթեզի համար: Այս պրոտեին կինազները ֆոսֆորիլացնում և ակտիվացնում են այն սպիտակուցները, որոնք խթանում են ԴՆԹ հեղիկազների ակտիվությունը և ճիշտ դիրքավորում են ԴՆԹ պոլիմերազները ԴՆԹ-ի մոլեկուլի վրա:

Միտոտիկ ցիկլինները միանում են CDK 1-ին՝ խթանելով միտոզի սկիզբը և հետագա ընթացքը: Միտոտիկ ցիկլինների թվին 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-ՌՆԹ-ների մոլեկուլներից, դրանց ակտիվությունը ճնշված է մնում մինչ ԴՆԹ-ի սինթեզի ավարտը (նկար 79): Միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվությունն արգելակվում է որոշակի կայքերի ֆոսֆորիլացման շնորհիվ, և համալիրների կինազային ակտիվությունը վերականգնվում է միայն այդ կայքերի դեֆոսֆորիլացումից հետո: Ակտիվացած միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրները ֆոս-

ֆորիլացնում են այն սպիտակուցները, որոնք խթանում են քրոմոսոմների կոնդենսացումը, բջջակորիզաթաղանթի քայքայումը, մասնակցում են բաժանման իլիկի ձևավորմանը և մետաֆազում նպաստում են քրոմոսոմների տեղաբախմանը բջջի հասարակածային հարթությունում: Անաֆազի ժամանակ, երբ դուստր քրոմատիդները սկսում են տարամիտվել դեպի բջջի հակառակ բևեռներ, բոլոր ցիկլին B-երը սկսվում են քայքայվել: Միտոտիկ ցիկլինների քայքայումն իրականացնում է **APC համալիրը (anaphase-promoting complex)**՝ պոլիուբիխիտինացնելով միտոտիկ ցիկլինների մոլեկուլները: APC համալիրները պոլիուբիխիտինացնում են առանցքային կարգավորիչ սպիտակուցները՝ դատապարտելով դրանց ճեղքավորման պրոտեոսոմներում: APC համալիրի ակտիվ գործունեությունը կախված է մեկ այլ սպիտակուցի միացումից: Այդ օժանդակ սպիտակուցը որոշում է ակտիվացած APC համալիրի սուբստրատի ընտրությունը: Եթե APC համալիրը միանում է APC-մենահատուկ գործոն **Cdh1-ին (APC specificity factor)**, ապա այն պոլիուբիխիտինացնում է և դատապարտում ճեղքավորման միտոտիկ ցիկլին B-ն: Cdh1-ը ակտիվանում է ուշ անաֆազում, երբ քրոմոսոմները միմյանցից բավականին հեռացած են լինում: Մինչ այդ Cdh1-ը չի կարող միանալ APC-ին, որովհետև այն ֆոսֆորիլացված է լինում G1 փուլում գործող ցիկլին-CDK-ներով: APC համալիրների երկրորդ թիրախային սուբստրատը **սեկյուրինն** է, որը, միացած լինելով **սեպարազ** ֆերմենտին (կասպազների ընտանիքին պատկանող ֆերմենտ), ճնշում է վերջինիս ակտիվությունը: Այս թիրախը պոլիուբիխիտինացնելու համար APC համալիրին պետք է միանա **Cdc 20 սպիտակուցը**:

Հայտնի է, որ դուստր քրոմատիդները միանում են ցենտրոմերներով և սպիտակուցային համալիրներով, որոնք հավաքականորեն կոչվում են **կոհեզիններ** (նկար 80): Սեկյուրինը արգելակում է երկու դուստր քրոմատիդները միացնող կոհեզինների քայքայումը՝ պահպանելով քրոմատիդների միացումը և կապը բաժանման իլիկի թելիկների հետ: Վաղ անաֆազում, երբ արդեն բոլոր քրոմոսոմների կինետոխոմերները միացած են լինում բաժանման իլիկի թելիկներին, և դրանք դասավորվում են բջջի հասարակածային հարթությունում (միտոտիկ թիթեղ), APC համալիրները միանում են Cdc 20-ին և պո-

լիութիխիտինացնում են սեկյուրինը՝ ապահովելով վերջինիս ճեղքավորումը պրոտեոսոմներում: Սեկյուրինից ազատված սեպարազը քայքայում է կոհեզինները, ինչի հետևանքով դուստր քրոմատիդները 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**, երբ 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:

Շատ 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 գրպանիկի հարևան դիրքերում գտնվող թիրոզինի (15 դիրք) և թրեոնինի (14 դիրք) ֆոսֆորիլացումը խախտում է ԱԵՖ-ի ճիշտ դիրքավորումն ակտիվ կենտրոնում և հանգեցնում է ֆերմենտային ակտիվության արգելակմանը: CDK-ի նման ֆոսֆորիլացումը կատարում է **Weel կինազը**, իսկ դեֆոսֆորիլացման համար պատասխանատու է **Cdc 25 պրոտեինն 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 ֆոսֆորիլացված մինչ ԴՆԹ-ի կրկնապատկման ավարտը: Միտոտիկ CDK-ները խթանում են իրենց իսկ ակտիվությունը դրական հակադարձ կապով՝ ճնշելով Wee1 կինազը և ակտիվացնելով Cdc 25 ֆոսֆատազը: Ֆոսֆորիլացնելով բջջակորիզային մատրիքսի լամինները և կորիզաթաղանթային անցուղիների օղակները կազմող սպիտակուցները՝ միտոտիկ ցիկլինները բաղդատում են բջջակորիզային թաղանթը:

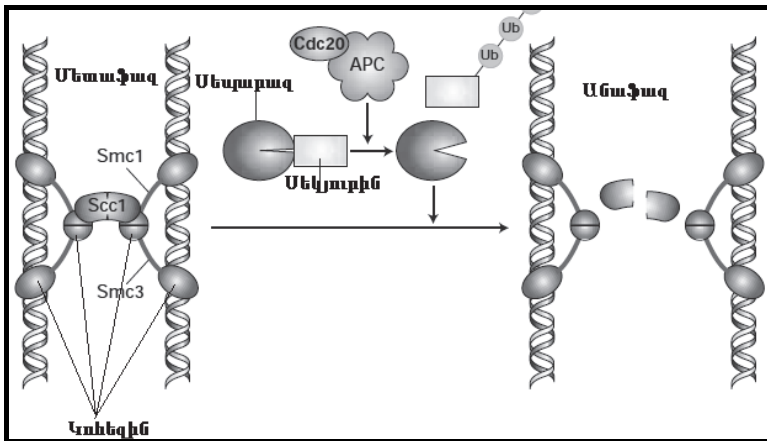
Ֆոսֆատազները միշտ ներկա են բջջում, և դրանց աշխատանքի հետևանքով դեֆոսֆորիլացվում են այն սպիտակուցները, որոնք ենթարկվել էին ֆոսֆորիլացման միտոտիկ ցիկլին-CDK համալիրներով: Միտոտիկ ցիկլինների քայքայման հետևանքով ճնշվում է միտոտիկ ցիկլին-CDK-համալիրների կինազային ակտիվությունը, ինչի շնորհիվ ֆոսֆատազների գործունեությունը դառնում է գերակայող: Ֆոսֆատազների դեֆոսֆորիլացնող գործունեության հետևանքով թելոֆազում տարամիտված քրոմոսոմներն ապակոնդենսանում են, սկսում է վերականգնվել բջջակորիզաթաղանթը, և առանձին հատվածներից ձևավորվում են ապագա դուստր բջիջների Գուլջիի ապարատները: Ի վերջո, բաժանվում է ցիտոպլազմը, և առաջանում են երկու դուստր բջիջներ:

Բջջի հաջորդ բոլորաշրջանի G1 փուլում Ֆոսֆատազները դեֆոսֆորիլացնում են ԴՆԹ-ի նախառեպլիկացման համալիրի սպիտակուցները, որոնք ֆոսֆորիլացվել էին դեռևս նախորդ բոլորաշրջանի S փուլի ցիկլին-կինազային համալիրներով: Այս սպիտակուցների ֆոսֆորիլացած վիճակը պահպանվել էր ավելի ուշ գործող միտոտիկ ցիկլին-կինազների շնորհիվ: Դեֆոսֆորիլացման հետևանքով նշված սպիտակուցները կարողանում են խմբավորվել ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման օրիջինների մոտ՝ նախապատրաստելով հաջորդող S փուլի բնականոն ընթացքը: G1ցիկլին-CDK համալիրները G1 փուլի վերջում ֆոսֆորիլացնում 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 ցիտոկինեզ:

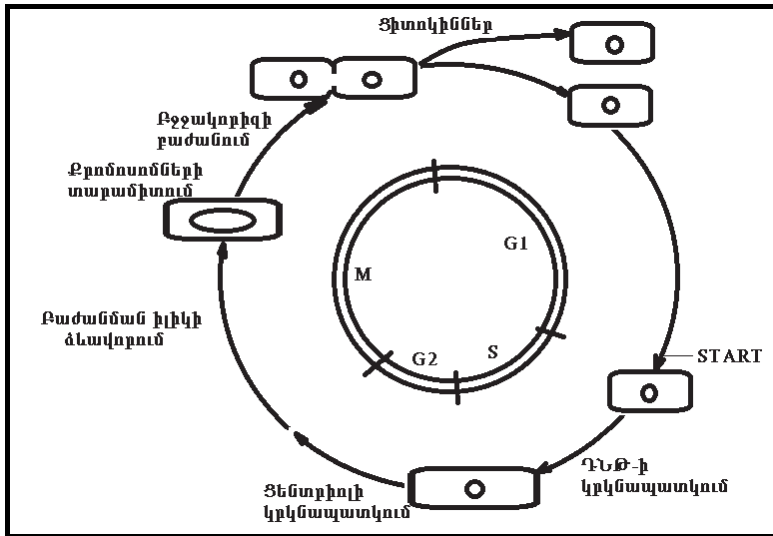
Նշված անցումները համարվում են բջջային բոլորաշրջանի կրիտիկական կետեր, քանի որ տեղի են ունենում սպիտակուցների ճեղքավորման հետևանքով և անդարձելի են: Անցումային գործընթացների անդարձելիության շնորհիվ բջջային բոլորաշրջանն ընթանում է խիստ որոշակի ուղղությամբ: Բարձրակարգ օրգանիզմներում բջջային բոլորաշրջանը կարգավորվում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



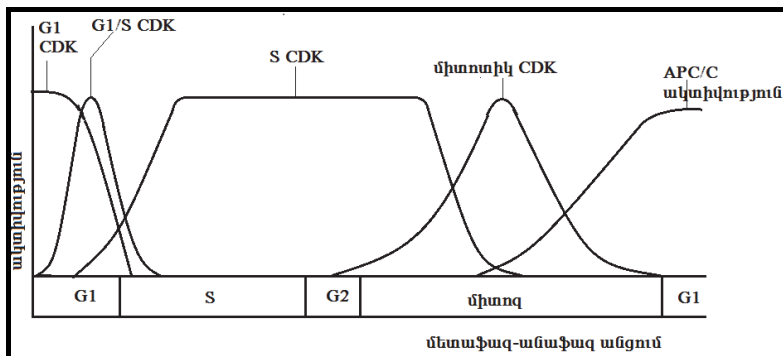
Նկար 79. APC-Cdc20 համալիրի գործունեության մեխանիզմն անաֆազում: Դուստր քրոմատիդների միացումը կոհեզինային համալիրներով: SMC1-ը և SMC3-ը կոհեզինային համալիրի սպիտակուցներ են:

12.5. Գիլյինների պարունակության կարգավորումը բջջիջներում

Վերը քննարկվեցին ցիկլին-CDK համալիրների ակտիվության կարգավորման մեխանիզմները, որոնք միջնորդվում էին CDK ենթամիավորի ֆոսֆորիլացմամբ-դեֆոսֆորիլացմամբ կամ ցիկլինային միավորի քայքայումով (APC): Բազմաթիվ արտաբջջային **աճի գործոններ գործում են որպես միտոգեններ** (միտոզի խթանիչներ)՝ մակածելով G1 ցիկլին-CDK համալիրների ենթամիավորի սինթեզը: Նրանից հետո, երբ բջջիջները թևակոխում են START կետը, միտոգենների հեռացումը բջջային միջավայրից չի ազդում բոլորաշրջանի առաջընթացի վրա: Ակնհայտ է, որ բազմաբջջ օրգանիզմում հյուսվածքների և օրգանների ճիշտ ձևավորումը և հետագա գործունեությունը մեծապես կախված են բջջի բոլորաշրջանի բնականոն 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 բջջիջներում ցիկլինների տրանսկրիպցիայի ալիքաձև փոփոխությունները պայմանավորված են հատուկ տրանսկրիպցիայի գործոնների պարբերական ակտիվացմամբ: Նման մեխանիզմի գործունեության հիմնական սկզբունքն այն է, որ տրանսկրիպցիայի ակտիվացման հետևանքով սինթեզվում են տրանսկրիպցիայի գործոններ, 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 բոլորաշրջանի տարբեր 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 (**ռետինաբլաստոմայի սպիտակուց**), որին միացած են հիստոնների պոչիկների լիզինային մնացորդները դեացետիլացնող և մեթիլացնող ֆերմենտներ: Rb սպիտակուցի հարակից շրջաններում բրոմատինը 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 գեները, որոնք մասնակցում են ԴՆԹ-ի սինթեզին և տրանսկրիպցիայի գործոններ են G1/S փուլի ցիկլինների և S փուլի ցիկլինների գեների տրանսկրիպցիայի համար: G1-CDK-ները, ֆոսֆորիլացնելով Rb սպիտակուցը, ոչ միայն արգելակում են դրա միացումը E2F-ներին, այլև նպաստում են Rb սպիտակուցի դուրսբերմանը բջջակորիզից ցիտոպլազմ: Ազատված E2F-ներն բջջակորիզում ակտիվացնում է և՛ սեփական, և՛ այն գեների տրանսկրիպցիան, որոնց աշխատանքն անհրաժեշտ է S փուլի բնականոն ընթացքի համար: Այսպիսով՝ Rb սպիտակուցի մոլեկուլների ֆոսֆորիլացումը մակաձում 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, երբ G1/S ցիկլինները և CDK-ներն ուժեղացնում են իրենց իսկ սինթեզը: Առանց այս կենսաքիմիական շղթայական փոխակերպումների բջիջը չի կարող թևակոխել G1 փուլի START կետը: Ինչպես տեսնում ենք, Rb սպիտակուցն առանցքային դեր է կատարում G1/S ցիկլինների ակտիվության կարգավորման մեջ, և Rb սպիտակուցը կոդավորող գենի (*RB*) մուտացիան զույգ անլեւներում աչքի ցանցաթաղանթի չարորակ ուռուցքի (ռետինաբլաս-

տոմայի) պատճառ է: S, G2 և միտոզի վաղ փուլերում Rb սպիտակուցի ֆոսֆորիլացված 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 դեֆոսֆորիլացումը: Թույլ ֆոսֆորիլացված 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, խթանելով G1-CDK-ների ակտիվությունը, սկիզբ են դնում Rb սպիտակուցի ֆոսֆորիլացմանը և E2F-ների վրա Rb-ի արգելակող ազդեցության չեզոքացմանը: E2F-ները խթանում են ոչ միայն G1/S ցիկլինների գենների տրանսկրիպցիան, այլև միտոտիկ ցիկլինների գենների 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 գենների ակտիվացում, որին հետևում է համապատասխան ցիկլինի սինթեզը), այլև տվյալ բջջային փուլի համար ավելորդ ցիկլինների քայքայման մեխանիզմները: Սպիտակուցի ճեղքավորումն անդարձելի գործընթաց է, և ցիկլինների քայքայման անդարձելիությունն ապահովում է բոլորաշրջանի փուլերի ուղղվածությունը G1-ից մինչև միտոզ և դրանց անդարձելիությունը: **Ցիկլինների քայքայման ամենատարածված մեխանիզմը սպիտակուցների ուբիկվիտինացումով միջնորդված ճեղքավորման ուղին է:**

CDK-ների ակտիվության կարգավորումն արգելակիչներով:

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

մը: Ի պատասխան պրոլիֆերացիան (բջջի բաժանումը) արգելակող արտաբջջային ազդակների՝ CKi-ների ընտանիքի մի խումբ սպիտակուցներ, որոնք կոչվում են կինազ 4-ի ինհիբիտորներ (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:

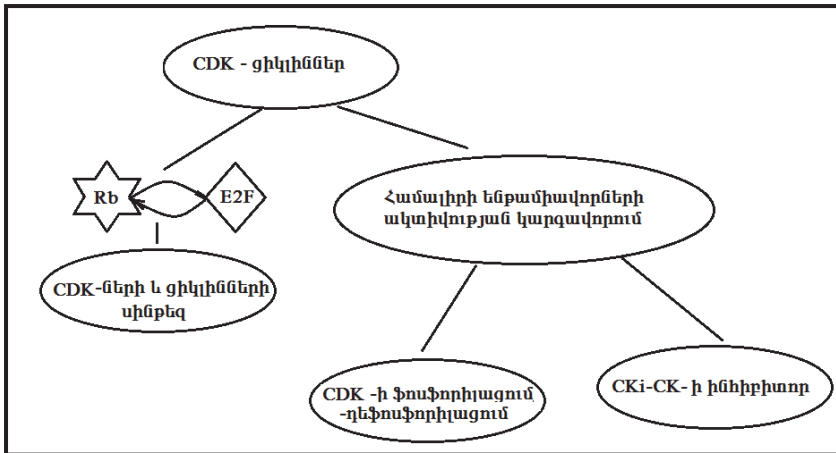
12.7. Արտաքին ազդակների ներգործությունը բջջի բուրաշրջանի վրա

Խմորասնկերի բջիջները բուրաշրջան են մտնում, երբ հասնում են որոշակի չափերի (կրիտիկական չափս): Բջջի կրիտիկական չափսը կարգավորվում է սնուցող նյութերի պարունակությամբ շրջակա միջավայրում: Բազմաբջիջ օրգանիզմների մոտ սնուցող նյութերի պարունակությունն արտաբջջային միջավայրում համեմատաբար կայուն է և բավարար բջիջների բազմացման համար: Այս պարագայում բջիջների բաժանումը կախված է միտոգենների և հակամիտոգենների պարունակությունից:

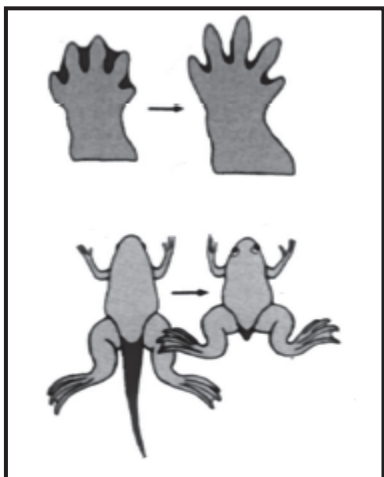
Միտոգեններն ակտիվացնում են բազմաթիվ գենների տրանսկրիպցիան: Այս գենները բաժանվում են երկու հիմնական խմբի՝ **վաղ արձագանքող և ուշ արձագանքող գեններ**՝ կախված նրանից, թե որքան արագ է հայտնվում գենի համապատասխան ի-ՌՆԹ-ն բջջում: Վաղ արձագանքող գենների տրանսկրիպցիան սկսվում է միտոգենի ներգործությունից մի քանի րոպե հետո, քանի որ ներբջջային ազդանշանային ուղիները բջջի ցիտոպլազմում և նուկլեոպլազմում ակտիվացնում են արդեն իսկ գոյություն ունեցող համապատասխան տրանսկրիպցիայի գործոնները: Վաղ արձագանքող գենների շարքին են պատկանում c-Fos և c-Jun գենները, որոնք պատասխանատու են ուշ արձագանքող գենների ակտիվացման համար: Վաղ արձագանքող գենների տրանսկրիպցիայի գործոններից AP-1-ը և Myc-ը ակտիվացնում են G1 ցիկլինների և CDK-ների գենների տրանսկրիպցիան: Որոշ հյուսվածքներում միտոգենները ճնշում են CKi-ների ընտանիքի ան-

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

Որպես կանոն, մասնագիտացած բջջիջները դադարում են բաժանվել և մտնում են G0 հանգստի փուլ: Որոշ մասնագիտացած բջջիջներ (ֆիբրոբլաստներ, լիմֆոցիտներ, հեպատոցիտներ) կարող են նորից մտնել բջջային բոլորաշրջան և կրկնապատկվել: Մասնագիտացած բջջիջների մեծ մասը երբեք չի բաժանվում նրա շնորհիվ, որ հակամիտոզեններն և մասնագիտացման մեխանիզմները կանխարգելում են G1 CDK-ների կուտակումը՝ ճնշելով ցիկլինների 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
շերտավորված պոչի վերացումը սաղմնա-
յին զարգացման փուլում:

ԳԼՈՒԽ 13

Բջիջների մահ

13.1. Ապոպտոզ

Ապոպտոզ է կոչվում բջիջների մահվան այն եղանակը, որ ընթանում է միմյանց հաջորդող կենսաքիմիական և կառուցվածքային փոփոխությունների խիստ որոշակի փուլերով: Ապոպտոզի հետևանքով բջիջները բաղդատվում են բջջաթաղանթի մնացորդների մեջ պարփակված առանձին մասնիկների՝ ապոպտիկ մարմնիկների: Ապոպտիկ մարմնիկները ենթարկվում են ֆագոցիտոզի հարևան առողջ բջիջների կամ մասնագիտացված ֆագոցիտների կողմից: Ապոպտոզն էներգակախյալ գործընթաց է: Ի տարբերություն **նեկրոզի**՝ բջիջների ապոպտիկ մահը բորբոքային պրոցեսներ չի հարուցում, ինչի պատճառով մահվան այս ձևը կոչվում է բջջի ֆիզիոլոգիական մահ: Ապոպտոզի հաջորդ առանձնահատկությունն այն է, որ ապոպտոզով կարող է մահանալ մեկ առանձին բջիջ, մինչդեռ նեկրոզով մահանում են բջիջների մեծ խմբեր: Ապոպտոզ տերմինն առաջին անգամ շրջանառության մեջ մտցվեց 1972 թվականին: Մադմա-յին զարգացման փուլում ապոպտոզի շնորհիվ ձևավորվում են մարմնի և առանձին օրգանների խոռոչները, դաստակների և ոտնաթաթերի մատների ձևավորման ժամանակ ապոպտոզով մահանում են միջանկյալ մեզենխիմալ բջիջները, ձևավորվում են սեռական օրգանները, վերանում են սաղմնային զարգացման վաղ փուլում առաջացած նեյրոնների ավելի քան 50 %-ը, ապոպտոզով են վերանում շերտփուկների պոչի բջիջները (նկար 83): Մարդու իմունային համակարգում յուրաքանչյուր օր առաջանում են հարյուր հազարավոր B և T լիմֆոցիտներ, որոնց գրեթե 95 %-ը մահանում է ապոպտոզով: Ցանկացած բջիջ, 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, հորմոն-կախյալ հետաճների, աուտոիմունային հիվանդությունների և չարո-

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

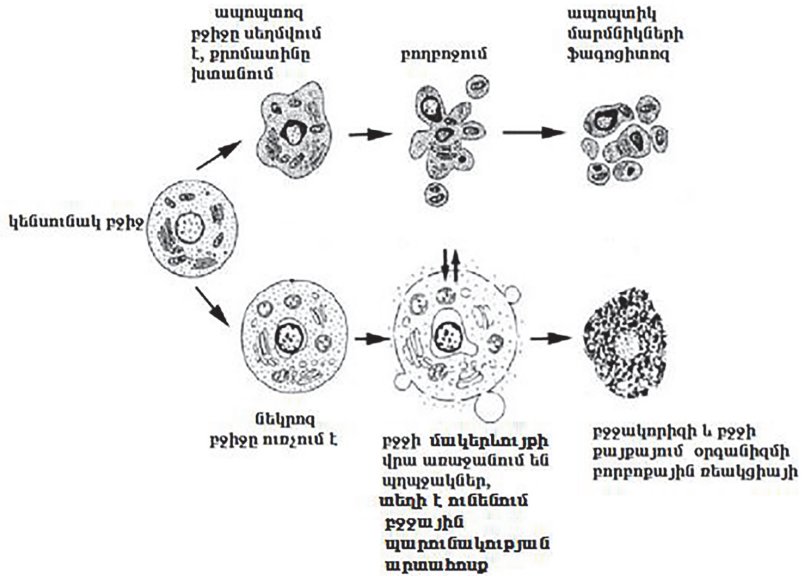
Ապոպտոզին բնորոշ կառուցվածքային և կենսաքիմիական փոփոխությունների ուսումնասիրության դասական առարկա դարձավ *C.elegance* կլոր որդը: Այս որդի բջիջները զարգանում են միևնույն գենետիկական ծրագրով, որն անփոփոխ է բոլոր առանձնյակների մոտ: Հասուն որդի օրգանիզմն առաջանում է զիգոտի մոտ 10 բջջային բոլորաշրջաններից հետո, և որդի մարմնի մեծությունը հասնում է 1 մմ-ի: Սաղմնային շրջանում որդերի մարմինը կազմված է 1090 բջիջներից, որոնցից 131-ը մահանում է ապոպտոզով սեռական հասունացման շրջանում, իսկ հասուն հերմաֆրոդիտ որդերի մարմինը կազմված է 959 բջիջներից: Բջիջների ապոպտիկ մահն ունի կառուցվածքային փոփոխությունների բնորոշ պատկեր (նկար 84): Մահացող 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 գենետիկական ծրագրերով (ծրագրավորված մահ): Հետագայում պարզվեց, որ կազմակերպված ապամոնտաժումը 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 ֆագոցիտների կողմից՝ առանց բորբոքային ռեակցիայի: Ենթադրվում է, որ արդյունավետ ֆագոցիտոզը պայմանավորված է նրանով, որ դեպի դուրսը կողմնորոշված ֆոսֆատիդիլսերինային մնացորդների շնորհիվ ապոպտիկ մարմնիկների թաղանթները ճանաչելի են ֆագոցիտոզի համար: Կենսունակ բջիջների մոտ ֆոսֆատիդիլսերինը գտնվում է թաղանթի դեպի ցիտոպլազմ - կողմնորոշված մակերևույթի վրա: Ապոպտոզին բնորոշ կենսաքի-

միական փոփոխություններն ուղեկցվում են նույնչափ բնորոշ, որքան կառուցվածքային փոփոխություններով:

Ներկայումս ընդունված է այն տեսակետը, որ ապոպտոզը վերահսկող գեները կոդավորում են երեք տարբեր 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 ենթակառուցվածքները,
3. **կլանման** սպիտակուցներ, որոնք խթանում են ապոպտիկ մարմնիկների ֆագոցիտոզն այլ բջիջների կողմից:

C.elegance-ի ապոպտոզով մահացող 131 բջիջներում կենսաքիմիական փոփոխությունները սկսում են մի խումբ ցիստեին պրոտեազների ակտիվացմամբ (*ced-3*, *ced-4*, *ced-9*): Գենետիկական հետազոտությունների արդյունքում պարզվեց, որ *ced-3*, *ced-4* սպիտակուցները կոդավորող գեներ *ced-3*-ի և *ced-4*-ի մուտացիան կանխարգելում է դատապարտված 131 բջիջների 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 **պեպտիդային շղթայի ասպարագինաթթվի մնացորդին հաջորդող կայքում**, իսկ դրանց ֆերմենտային ակտիվությունը պայմանավորված է **ֆերմենտիակտիվ կենտրոնում գործող ցիստեինի մնացորդով**: Ապոպտոզի պրոտեազները հավաքականորեն կոչվեցին կասպազներ (կ-ցիս, ասպ-ասպարտատ):



Նկար 84. Բջիջների կառուցվածքային փոփոխություններն ապոպտոզի և ցեկրոզի ժամանակ:



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

Կաթնասունների մոտ դիտվող ապոպտոզում առանցքային դեր կատարող առաջին զենքը կլոնավորվեց մարդու ֆոլիկուլային լիմֆոմայի բջջից (չարորակ վերասերում ապրած լիմֆոցիտ): Իմունային բջիջներին հատուկ գենային վերադասավորության հետևանքով լիմֆոմայի բջիջներում *bcl-2* գենի սպիտակուց կոդավորող հատվածը ենթարկվում է իմունագլոբուլինային գեների էնհանսների հզոր խթանիչ 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:
- Բջջակորիզային ԴՆԹ-ն ճեղքավորում է ակտիվացած $\text{Ca}^{+2}\text{Mg}^{+2}$ - և Mg^{+2} -կախյալ էնդոնուկլեազներով ինտերնուկլեոսոմային հատվածներում: ԴՆԹ-ի ճեղքավորումն օլիգոնուկլեոսոմային հատվածների ապոպտոզի ամենաբնորոշ կենսաքիմիական փոփոխությունն է, որն ազդարարում է գործընթացի անդարձելիությունը:
- Խթանվում է ֆագոցիտային ճանաչման գործընթացը:

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 էքստեռնալիզացում են ապրում նաև որոշ թաղանթային սպիտակուցներ: Այդ սպիտակուցներն են **Անեքսին I-ը (Annexin I) և կալլեոտիկուլինը (Annexin V)**: Կալլեոտիկուլինը մի ծայրով կապվում է ապոպտոզային բջջի թաղանթի արտաքին շերտում

գտնվող ֆոսֆատիդիլսերինին, իսկ մյուս ծայրով՝ կլանող բջջի թաղանթային հատուկ ռեցեպտորային սպիտակուցին՝ արագացնելով ֆագոցիտոզը:

13.2. Կասպազների ակտիվացում

Բջջիջներում 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 հաստնացման համար օրգանիզմի սեպտիկ ախտահարման ժամանակ, **կասպազ-12-ը** միջնորդում է ամփոփող β-ով հրահրված ցիտոտոքսիկությունը, **կասպազ 13-ը** հայտնաբերված է խոշոր եղջերավորների մոտ, և **կասպազ 14-ն** առկա է միայն սաղմնային հյուսվածքների բջջիջներում:

Կասպազները գործում են հոմոդիմերների ձևով, որոնց մոնոմերներից մեկը կայունացնում է մյուսի ֆերմենտային ակտիվությունը սկզբնական դրանք: Բոլոր կասպազների ակտիվացման համար պետք է տեղի ունենա մասնակի պրոտեոլիզ: Ինիցիատոր կամ մեկնարկային նախակասպազներ -8-ի և -10-ի մոտ մասնակի պրոտեոլիզով հեռացվում է «մահվան էֆեկտոր դոմեն» (DED) պարունակող մասը, իսկ նախակասպազ -9-ի և -2-ի մոտ՝ այն հատվածը, որի կազմի մեջ մտնում է «հավաքագրման» դոմենը (CARD): Օրինակ՝ կասպազ-9-ի ակտիվացման համար այն պետք է ազդեցացվի Apaf-1-ի հետ: Էֆեկտոր կամ կատարածու կասպազներն ունեն նախախնամություն որո-

շակի ամինաթթվային հաջորդականություններ պարունակող սպիտակուցների հանդեպ: Դրանց մենահատուկ բջջային թիրախներն են կորիզային լամինայի և բջջային կմախքի սպիտակուցները:

13.3. Ապոպտոզի մոլեկուլային մեխանիզմները

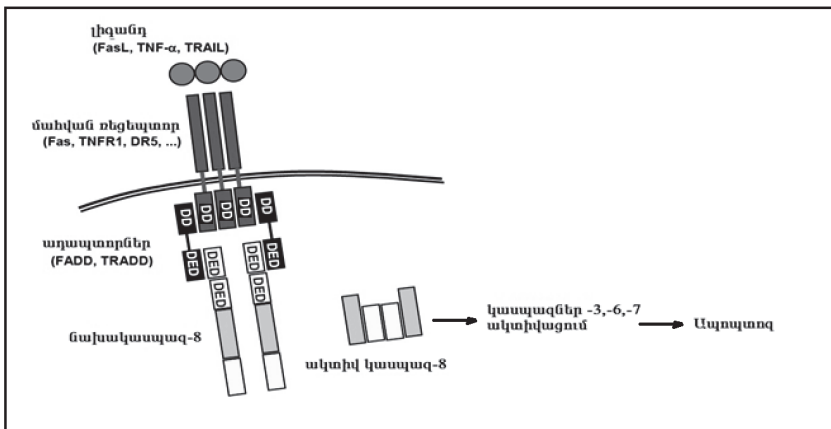
Ապոպտոզի ֆիզիոլոգիական դերը նույնքան մեծ է, որքան միտոզինը, և զարմանալի չէ, որ բջջային մահվան այս ձևն ունի կարգավորման նույնքան բարդ մեխանիզմներ:

Ներկայումս առավել նկարագրված են ապոպտոզի երկու հիմնական մեխանիզմներ՝ **արտաբջջային ազդակներով (extrinsic pathway) և ներքին ազդակներով (intrinsic pathway) խթանված մեխանիզմները**: Ապոպտոզի ևս երկու մեխանիզմներ իրականացնում են T-լիմֆոցիտների ցիտոտոքսիկ ներգործությամբ պայմանավորված բջիջների մահը և **գրանգիմ/պերֆորին**-կախված բջջային մահը: Գրանգիմները սերինային պրոտեազներ են, որոնք պերֆորինի հետ համատեղ պարունակվում են ցիտոտոքսիկ T-լիմֆոցիտների և բնական քիլեր իմունային բջիջների ցիտոպլազմային գրանուլներում: Պերֆորինը յուրահատուկ անցուղի առաջացնող սպիտակուց է, որը մասնակցում է նաև հակաբորբոքային իմունային պատասխանի մեջ: **Ապոպտոզի արտաքին, ներքին և գրանգիմ B-ով մակածված ձևերը զուգամիտում են վերջին «կատարողական փուլում»**: Այդ փուլին հատուկ են ԴՆԹ-ի ինտերնուկլեոսոմային ճեղքավորումը, բջջային կմախքի և կորիզային լամինայի քայքայումը, ապոպտիկ մարմնիկների ձևավորումը, ֆագոցիտոզի համար անհրաժեշտ լիզանոզների ապաքողարկումը կամ ձևավորումը: Գրանգիմ A-ով մակածված ապոպտոզի ժամանակ առանցքային դեր են կատարում ԴՆԹ-ի միաշղթա խզումները:

Արտաբջջային ազդակներով հարուցված ապոպտոզի (extrinsic pathway) մեխանիզմում առանցքային դեր է կատարում տրանսմեմբրանային ռեցեպտորների մասնակցությամբ իրականացվող արտաբջջային ազդանշանի հաղորդման ուղիների ներդաշնակ գործունեությունը: Նման ռեցեպտորներին թվին են պատկանում **TNF-ի**

(**tumor necrosis factor**) ռեցեպտորները: Լինելով մեկ սպիտակուցային ընտանիքի անդամներ՝ այս ռեցեպտորներն ունեն կառուցվածքային ընդհանրություններ՝ ցիտեինով հարուստ արտաբջջային դոմեն և մոտ 80 ամինաթթուներից բաղկացած ցիտոպլազմային դոմեն, որը կոչվում է «մահի դոմեն» (**death domain-DD**): DD դոմենը կենտրոնական դեր է կատարում արտաբջջային ազդանշանի ընկալման բջջային գործընթացում: Ներկայացնենք առավել հայտնի մահաբեր ազդակները (լիզանդները, 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-լիզանդ միացումից հետո տեղի է ունենում «ադապտոր» կոչվող 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 արտաբին ազդակով հրահրված ապոպտոզի ընթացքում:

Ադապտոր սպիտակուցների մահվան դոմենները դիմերացվում են նախակասպազ-8-ի մահվան դոմենների հետ՝ գոյացնելով **մահի մակածման 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: Մահի 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

Իմունային 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 թիրախային 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 (բջջաթաղանթը խոցող) անցուղի առաջացնող մոլեկուլներ (**պերֆորիններ**), որոնք թիրախային բջիջների բջջաթաղանթներում առաջացնում են անցուղիներ: Այդ նորագոյացած անցուղիներով կատարվում է ցիտոպլազմային լիտիկ մասնիկների տեղափոխությունը քիլեր բջիջ դեպի թիրախային 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 ինհիբիտոր 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 ամենակարճ ուղին կասպազ-3-ի ակտիվացումն է: Այս ճանապարհը թույլ է տալիս շրջանցել ապոպտոզի մախապատրաստական փուլը և անմիջականորեն թևակոխել կատարողական փուլ:

Գրանզիմ A-ն նույնպես մեծապես նպաստում է CTL-ների ցիտոտոքսիկ ազդեցության դրսևորմանը: Հայտնվելով թիրախային բջջում՝ գրանզիմ A-ն ակտիվացնում է ԴՆԹ-ի միաշղթա խզումներ՝ առաջացնող էնդոնուկլեազ NM23-H1-ը: Այս ԴՆԱզը մեծ դեր ունի ուռուցքային բջիջների վերացման գործընթացում: ԴՆԱզ NM23-H1-ի ակտիվությունը բջիջներում արգելակվում է նուկլեոսոմների կազմավորումը կարգավորող սպիտակուցների **SET սպիտակուցային համալիրով**: Գրանզիմ A-ն քայքայում 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 փաթեթավորումն ապահովող սպիտակուցներ Ape1-ը, p32, HMG2-ը: Քայքայելով SET համալիրը՝ գրանզիմ A-ն նաև ապակայունացնում է քրոմատինի կատուցվածքը, ինչն ինքնին ապոպտոզը խթանող ազդակ է:

13.5. Ներքին ազդակներով հարուցված ապոպտոզ

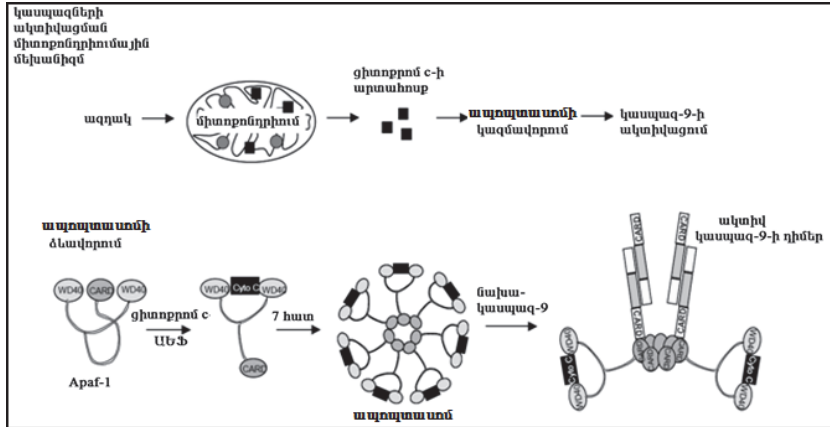
Ներքին ազդակներով հարուցված ապոպտոզը կախված չէ բջջաթաղանթային ռեցեպտորների գործունեությունից և իրականացնում է այն ներբջջային ազդանշանային ուղիների ակտիվացման շնորհիվ, որոնց վերջնական թիրախը միտոքոնդրիումներն են կամ բջջակորիզային **ԴՆԹ-ն**: Ներքին ազդակներով խթանված ապոպտոզի մեխանիզմը կարող է ակտիվանալ աճի գործոնների, հորմոնների և ցիտոկինների բացակայության պարագայում (**բացասական**

ազդակներ): Նման ազդակների բացակայությունը վերացնում է դրանց արգելափակող գործունեությունը, և գործի է դրվում ապոպտոզի ծրագիրը: Մյուս տիպի (**դրական**) ազդակների թվին են պատկանում ճառագայթահարումը, թույները, թթվածնի պակասը (հիպօքսիա), միջավայրի բարձր ջերմաստիճանը (հիպերթերմիա), վիրուսային ախտահարումը, ազատ ռադիկալները: Դրական ազդակների ճնշող մեծամասնությունը ներգործում է միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթի կառուցվածքի վրա, որի հետևանքով թաղանթներում բացվում են անցուղիներ, վերանում է միտոքոնդրիումների տրանսմեմբրանային էլեկտրական պոտենցիալը, միտոքոնդրիումի միջթաղանթային տարածությունից դեպի բջջի ցիտոպլազմա է արտահոսում ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցների երկու խումբ: Առաջին սպիտակուցային խմբի մեջ են մտնում **ցիտոքրոմ c-ն, Smac/DIABLO-ն, սեռիմային պրոտեազ HtrA/Omi-ն**: Այս սպիտակուցներն ակտիվացնում են **ապոպտոզի կասպազ կախյալ միտոքոնդրիումային մեխանիզմը**: Smac/DIABLO և HtrA2/Omi խթանում են ապոպտոզը՝ ճնշելով **IAP-ները (inhibitors of apoptosis proteins)**:

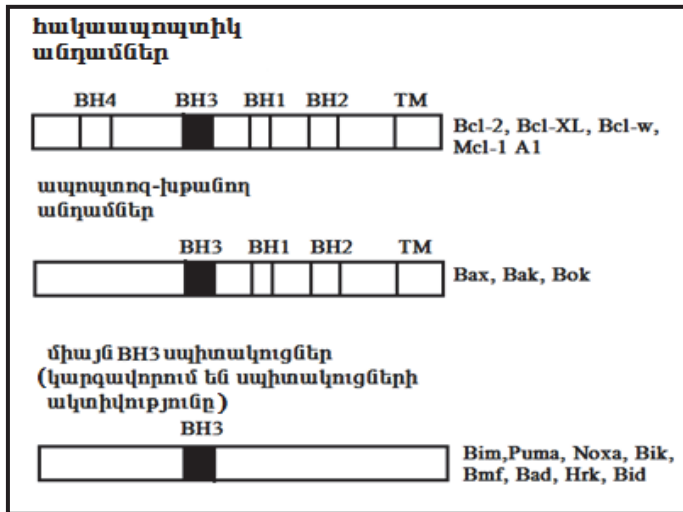
Միտոքոնդրիումներից արտահոսած սպիտակուցների երկրորդ խմբի մեջ են մտնում **AIF-ը (apoptosis inducing factor), էնդոնուկլեազ G-ն, CAD-ը (caspase activated DNase)**: Երկրորդ խմբի սպիտակուցների արտահոսքը միտոքոնդրիումից ավելի ուշ է տեղի ունենում: AIF-ը տեղափոխվում է բջջակորիզ և առաջ բերում քրոմատինի նախնական խտացում և ճեղքավորում 50-300 հզն հատվածների: Էնդոնուկլեազ G-ն մույնպես տեղափոխվում է բջջակորիզ, որտեղ իրականացնում է քրոմատինի հետագա ճեղքավորումը մինչ օլիգոնուկլեոտոմային հատվածներ: Բջջիցների 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 բջջակորիզ, որտեղ կասպազ-3-ը քայքայում է ֆերմենտի ինհիբիտորը: CAD-ը շարունակում է քրոմատինի հետագա ճեղքավորումը և ավելի է ուժգնացնում քրոմատինի խտացումը:

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

ներով: Bcl-2 սպիտակուցների ընտանիքի անդամները կողմնակալում են 25 գեներով, կարգավորում են միտոքոնդրիումների թաղանթների թափանցելիությունը և ըստ գործունեության բնույթի՝ բաժանվում են **երկու** խմբի՝ **հակաապոպտոզային** և **ապոպտոզ-խթանող** սպիտակուցների (աղյուսակ 5):



Նկար 87. Ապոպտոզային ազդակի նեգործության հետևանքով միտոքոնդրիումից արտահոսում է ցիտոքրոմ c-ն: Յիսոպլազմում ցիտոքրոմ c-ն (սև ուղղանկյուն) միանում է Apaf-1-ին (apoptosis activating factor), և 7 միավորված մոլեկուլներ կազմում են «**ապոպտոզա-կազմավորում**» կոչվող անփականման կառույց: Ապոպտոզա-կազմավորումն են միանում մախակասպազ-9-ի մոլեկուլները: Ապոպտոզա-կառույցվածքային առանձնահատկությունների շնորհիվ ակտիվանում են մախակասպազ-9-ի միավորները, որոնք դիմերացվելով դառնում են ակտիվ կասպազ-9:



Նկար 88. Bcl-2 ընտանիքի սպիտակուցների դոմենային կառուցվածքը:

Աղյուսակ 5.

Հակաապոպտոզային և ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցներ

Bcl-2 ընտանիքի սպիտակուցներ	
Հակաապոպտոզային սպիտակուցներ	Ապոպտոզ-խթանող սպիտակուցներ (ապոսպոպտիկ)
Bcl-2	Bcl-10
Bcl-x	Bax
BclXL	Bak
BclXS	Bid
Bcl-w	Bad
BAG	Bim
Bik	Puma
Blk	Noxa

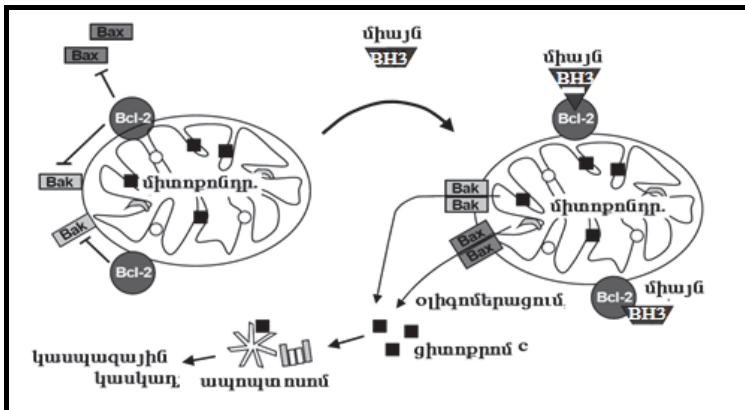
Bcl-2 ընտանիքի սպիտակուցների մասնակցությունն ապոպտոզին բազմաբնույթ է, և ներկայումս առաջարկված են երկու վարկածներ, որոնք բացատրում են Bcl-2 սպիտակուցների կարգավորիչ դերը: Համաձայն առաջին մոդելի՝ Bcl-2 սպիտակուցներն անմիջական

նորեն վերահսկում են կասպազների ակտիվացման գործընթացները, երկրորդ մոդելը հենվում է նրա վրա, որ Bcl-2 սպիտակուցները վերահսկում են միտոքոնդրիումների թաղանթների ամբողջականությունը: Bcl-2 սպիտակուցների ընտանիքի բոլոր անդամներն ունեն **Bcl-2-հոմոլոգ դոմեններ (BH)**, ընդունակ են առաջացնել օլիգոմերներ, շատերը տրանսթաղանթային սպիտակուցներ են (խոցում են թաղանթը): Ողնաշարավորների մոտ Bcl-2 ընտանիքի **Bax կամ Bak** անդամներն անհրաժեշտ են միտոքոնդրիումների թաղանթների թափանցելիության փոփոխության համար և խթանում են ապոպտոզը: Ընտանիքի մյուս պրոապոպտիկ սպիտակուցների նման դրանք ունեն նմանատիպ երրորդային կառուցվածքներ և **BH** դոմեններ (նկար 88): Bax-ը և Bak-ը գտնվում են միտոքոնդրիումի արտաքին թաղանթում և ամուր կապված են Bcl-2-ին: Երբ այս համալիրներում Bax-ը և Bak-ը տեղակալվում են միայն BH3 դոմեն պարունակող սպիտակուցներով, ազատված Bax-ը և Bak-ը ձեռք են բերում օլիգոմերներ կազմելու ունակություն: Bax-ի և Bak-ի օլիգոմերները խոցում են միտոքոնդրիումի արտաքին թաղանթը, և ցիտոքրոմ c-ն արտահոսում է ցիտոպլազմ: Ֆիտոզոլում ցիտոքրոմ c-ի մոլեկուլները կապվում են Apaf-1-ի հետ, ակտիվացնում այն: Ակտիվացած Apaf-1-ն իր հերթին ակտիվացնում է կասպազ-9-ը (նկար 88):

Կաթնասունների և ճանճերի մոտ ապոպտոզի ներքին ազդակներով մակաձված մեխանիզմը բարդացված է **ապոպտոզիհիմիքիտոր սպիտակուցների (IAPs)** կարգավորիչ գործունեությամբ: IAP-ները գործում են նորմալ բջիջներում և արգելակում են կասպազների ակտիվությունը, ինչն անհրաժեշտ է բջիջն ապոպտոզից պաշտպանելու համար միտոքոնդրիումների պատահական վնասվածքների դեպքում: Երբ ծագում է բջջի վերացման անհրաժեշտությունը, IAP-ների գործունեությունը դադարեցվում է **SMAC/DIABLO ընտանիքի սպիտակուցներով**, որոնք դուրս են հոսում միտոքոնդրիումից Bax/Bak հետերոդիմերով առաջացած անցուղիներից: Այսպիսով՝ կաթնասունների մոտ ապոպտոզ մակաձող ներքին ազդակն առաջացնում է Bax և Bak սպիտակուցների հոմոդիմերներ և հետերոդիմերներ, որոնք միտոքոնդրիումի արտաքին թաղանթում ստեղծում են անցուղիներ: Անցուղիներով միտոքոնդրիումից դեպի ցիտոպլազմ են

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

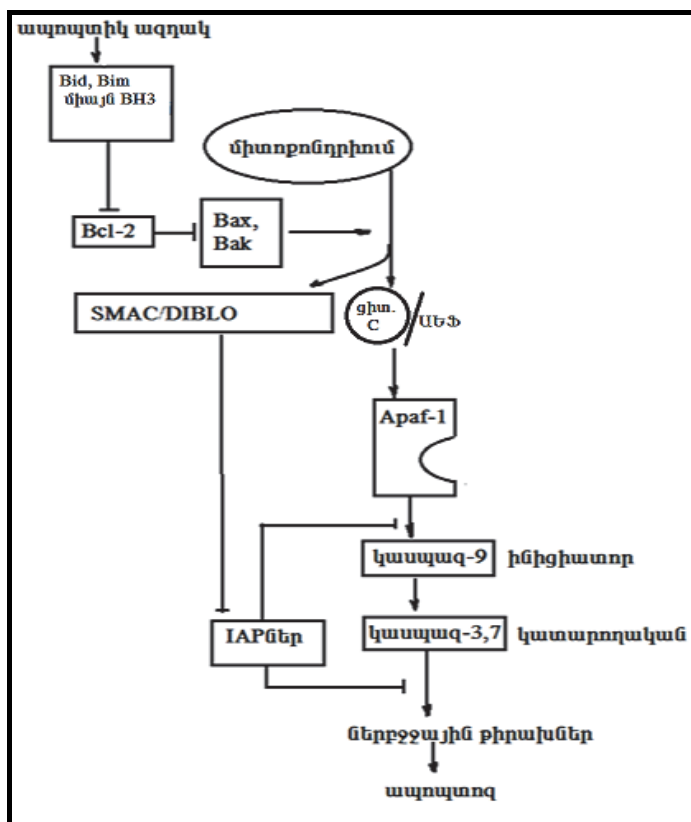
Ապոպտոզի մակաձման հզոր ներքջային ազդակների թվին են պատկանում բջջակորիզային ԴՆԹ-ի տարաբնույթ վնասվածքները և բջջային բոլորաշրջանի խախտումները: Թե՛ ճառագայթահարման, թե՛ քիմիական ազդեցությունների հետևանքով առաջացած ԴՆԹ-ի վնասվածքներն ի վերջո հանգեցնում են **p53 սպիտակուցի** ակտիվացմանը: p53-ը տրանսկրիպցիայի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



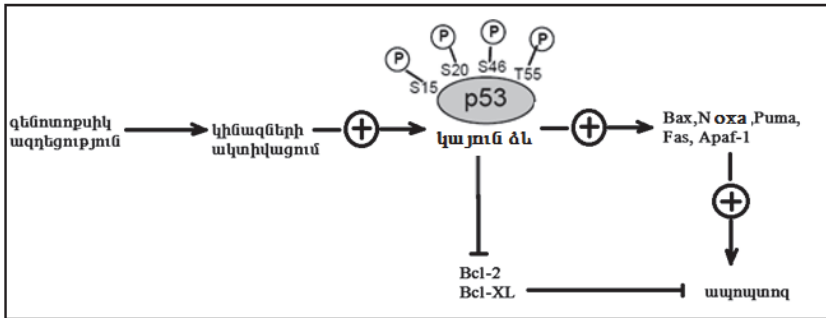
Նկար 88. Bax և Bak սպիտակուցների պրոապոպտիկ դերը: Սև քառակուսիներով նշված են ցիտոքրոմ c-ի մոլեկուլները:

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

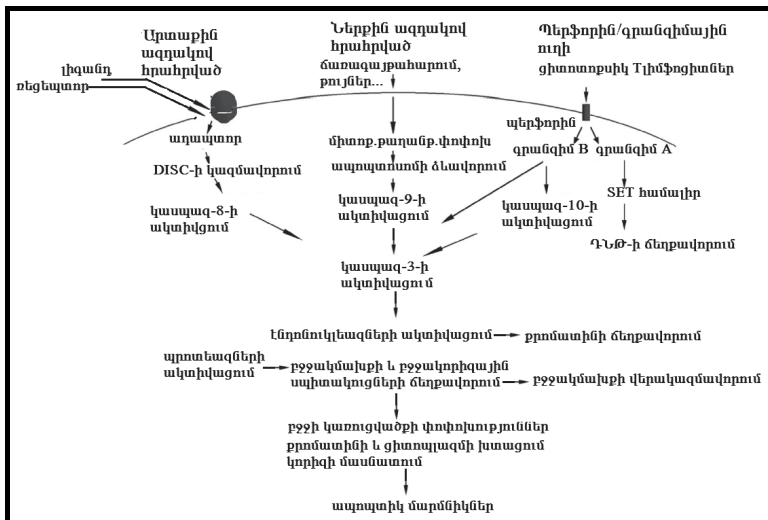
պայմանավորված է նրանով, որ ապոպտոզի մախապատրաստական փուլի առանցքային սպիտակուցները բազմաթիվ կապերով միացած են ներքջային կարգավորիչ այլ մեխանիզմներին, որոնցից կարևորագույնը պոլի (ԱԿՖ-ռիբոզ) պոլիմերազային կարգավորման ուղին է: Պոլի (ԱԿՖ-ռիբոզ) պոլիմերազային կարգավորումը հանդես է գալիս որպես բանալի, որը կատարում է մահվան 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:



Նկար 89. Գենոտոքսիկ ներգործություններն ակտիվացնում են պրոտեին կինազները, որոնք ֆոսֆորիլացնում են p 53 սպիտակուցի որոշակի սերինային մնացորդները: Ֆոսֆորիլացումը կայունացնում է p 53-ը և այն տեղափոխվելով բջջակորիզ՝ փոխում է ապոպտոզը կարգավորող և իրականացնող սպիտակուցների գեների էքսպրեսիան:



Նկար 99. Ապոպտոզի ուղիների ընդհանուր պատկերը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Baehrecke 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. 24:13978–13982 *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 ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԻՐԻՆԱ ԳԵՂԱՄԻ ԱՐԾՐՈՒՆԻ

**ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՏՈՒԿ ԳԼՈՒԽՆԵՐ**

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

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

Ստորագրված է տպագրության՝ 10.12.2018:
Չափսը՝ 60x84 ¹/₁₆: Տպ. մամուլը՝ 16.25:
Տպաքանակը՝ 100:

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



ՀՐԱՏԱՐԱՎՈՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 2018
publishing.ysu.am