

**TOSHMAMATOV B.N.,
NAZAROVA F.SH., DJUMANOVA N.E.**

MOLEKULYAR BIOLOGIYA

DARSLIK

Oliy o'quv yurtlari talabalari uchun

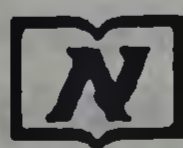
SAMARQAND DAVLAT TIBBIYOT UNIVERSITETI

TOSHMAMATOV B.N., NAZAROVA F.SH., DJUMANOVA N.E.



MOLEKULAR BIOLOGIYA

**Oliy o'quv yurtlari talabalari uchun
DARSLIK**



ARTEX NASHR

SAMARQAND 2024

UDK: 577.217(075)

BBK: 28.070ya7

Mualiflar:

Toshmamatov B.N. - Samarqand davlat tibbiyot universiteti Odam anatomiya kafedrası v.v.b. dotsent

Nazarova F.Sh. - Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedrası katta o'qituvchi

DJumanova N.E. - Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedrası katta o'qituvchi

Annatasiya

Biz bu darslikda genlarni manipulyatsiya qilish, o'zgartirish va izolyatsiya qilish imkonini bergan molekulyar biologiyaning asosiy usullari haqida yoritib beramiz.

Molekulyar biologiya organizmlar hayotining asoslarini makromolekulalar darajasida o'rganadi. Molekulyar biologiyaning maqsadi bu makromolekulalarning tuzilishi va xossalarini bilish asosida ularning roli va faoliyat mexanizmlarini aniqlashdan iborat.

"Molekulyar biologiya" atamasi birinchi marta 1933 yilda Uilyam Astberi tomonidan fibrillyar oqsillarni (kollagen, qon fibrini, mushaklarning kontraktil oqsillari) o'rganish paytida ishlatilgan. Estberi bu oqsillarning molekulyar tuzilishi va biologik, fizik xususiyatlari o'rtasidagi munosabatni o'rgandi. Molekulyar biologiyaning dastlabki davrida RNK faqat o'simliklar va zamburug'larning, DNK esa faqat hayvonlarning tarkibiy qismi hisoblangan. 1935 yilda Andrey Belozerskiy tomonidan DNK ining kashfiyoti DNK har bir tirik hujayrada mavjudligini aniqlashga olib keldi.

ISBN: 978-9910-9527-8-4

© ARTEX NASHR 2024

© TOSHMAMATOV B.N., NAZAROVA F.SH., DJUMANOVA N.E.

MUNDARIJA

| | |
|--|----|
| KIRISH | 9 |
| I BOB. NUKLEIN KISLOTALAR: STRUKTURA VA VAZIFALARI | 13 |
| 1.1 Dezoksiribonuklein kislotasi. O'rganish tarixi | 13 |
| 1.1.2 DNKning tuzilishi va shakllari..... | 15 |
| 1.1.3 Biologik funktsiyalar | 22 |
| 1.1.4 Genetik rekombinatsiya | 24 |
| 1.1.5 Molekulyar biologiyaning markaziy dogmasi. Transfer usullari biologik ma'lumotlar | 25 |
| 1.2 Ribonuklein kislotasi | 29 |
| 1.2.1 Monomerlarning kimyoviy tarkibi va modifikatsiyalari | 30 |
| 1.2.2 RNK tuzilishi..... | 31 |
| 1.2.3 RNK sintezi | 32 |
| 1.2.4. RNK turlari..... | 33 |
| II BOB. GENLAR VA GENOMLAR | 37 |
| 2.1 Genlar: umumiy ma'lumot | 37 |
| 2.1.1. Gen tuzilishi va gen xaritalari | 37 |
| 2.1. 2. Gen, genlarning tasnifi va tashkil etilishi | 43 |
| 2.2 Genom: umumiy biologik jihat | 47 |
| 2.3 Duplikatsiyalar, takrorlanuvchi ketma-ketliklar. | 50 |
| 2.4 DNK takrorlanishi va inson genomi loyihasi | 51 |
| 2.5 Ortiqcha DNKning funksional ahamiyati..... | 51 |
| 2.6 Xromatin | 52 |
| 2.7 Mitoxondriyalarning genetik tizimi | 53 |
| III BOB. REPLIKATSIYA KOMPONENTLARINING XUSUSIYATLARI, REPLIKATORLARDAGI TRANSFORMATSIYALAR VA REPLIKATSIYA KOMPLEKSLARINING SHAKLLANISHI..... | 55 |
| 3.1 Replikatsiya jarayonining xususiyatlari | 55 |
| 3.2 E. colida elongatsiya replikatsiyasi | 59 |
| 3.3 E. coli replikativ kompleksi: ta'sir mexanizmi | 62 |
| 3.4 E. colida replikatsiyaning tugashi | 64 |
| 3.5 Bakterial DNK replikatsiyasi: bosqichlari..... | 65 |
| IV BOB. DNK replikatsiyasining molekulyar mexanizmi | 74 |
| 4.1 Asosiy replikatsiya fermentlari. Replikativ polimerazalar..... | 74 |
| 4.2 Invivo replikatsiyani boshlash: boshqarish mexanizmlari | 78 |
| 4.3 Eukaryotik DNK polimerazalari: kirish | 82 |
| 4.4 Eukaryotik replikatsiya vilkasi..... | 85 |
| 4.5 Eukaryotik xromosomalarning replikatsiyasi | 89 |
| 4.6 Replisoma modellari..... | 92 |

| | |
|--|-----|
| 4.7 G1 va S fazalarida eukariotlarda replikatsiyaning boshlanishi va uzayishida protein kinaz va siklinkinaz komplekslarining roli..... | 103 |
| 4.8 Replikatsiya, transkripsiya va hujayra siklini tartibga solish uchun zarur bo'lgan xromatinni qayta qurish omili va transkripsiya omillari | 108 |
| 4.9 Eukaryotik xromosomalarning telomer qismlarining replikatsiyasi... | 113 |
| 4.10 Halqa DNK replikatsiyasi va RNK viruslarining replikatsiyasi..... | 118 |
| V BOB. TRANSKRIPSIYA | 121 |
| 5.1 Transkripsiya: Kirish | 121 |
| 5.2. Prokariotlarda transkripsiya bosqichlari..... | 126 |
| 5.3 Eukariotlarda transkripsiya inisiatsiyasi..... | 135 |
| 5.4. Transkripsiya elongatsiyasi..... | 144 |
| 5.5 5S rRNK genlari. tRNK genlari | 148 |
| 5.6 Ribosoma genlarining transkripsiya darajasini tartibga solish..... | 150 |
| 5.7 Eukariotlarda transkripsiya terminatsiyasi. | 152 |
| 6.8 mya RNP va odam kasalliklari..... | 155 |
| 7. BOB. RNKNING YETILISHI | 157 |
| 7.1 RNKning prosesingi. mRNKning etilishi. | 157 |
| 8-BOB. GEN FAOLLIGINING REGULATSIYASI | 158 |
| 8.1 Genlar faolligining regulatsiyasining ^{9*} umumiy tamoyillari va mexanizmlari..... | 158 |
| 8.2 Prokariotlarda transkripsiyaning tartibga solish. | 159 |
| 8.3 Prokariotlar promotori | 171 |
| 8.4 Sutmizuvchilarda transkripsiya: tartibga solish, umumiy ma'lumot. | 174 |
| 8.5 Transkripsiya: tartibga soluvchi hududlarni tashkil etishning murakkabligi | 175 |
| 8.6 Gomeodomenli oqsillari: DNKdagi halqalar..... | 179 |
| IX BOB. TRANSKRIPSIYA OMILLARI | 183 |
| 9. 1 Turli organizmlarda TF ning konservatizmi..... | 183 |
| 9.2 TF faoliyatini tartibga solish..... | 185 |
| 9.3 TF tuzilishi | 187 |
| 9.4 Klinik jihatlar | 191 |
| 9.5 TF ning tasnifi | 192 |
| X BOB. TRANSLYATSIYA | 195 |
| 10.1 Genetik kod va uning xossalari | 195 |
| 10.2 Transport RNKning tuzilishi..... | 203 |
| 10.3 Prokariotlarda ribosomada polipeptidlarning sintezi | 206 |
| 10.4 Eukaryotik ribosomalarning tuzilishi | 210 |
| 10.5 Translatsiya inisiatsiyasi..... | 213 |
| 10.6 Translatsiya terminatsiyasi..... | 219 |
| 10.7 Translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar..... | 221 |

| | | |
|--|--|------------|
| 10.8 | Protsessing yoki oqsillarning translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar | 223 |
| 10.9 | Yangi sintezlangan polipeptid zanjirlarini degradatsiyadan himoya qilish uchun folding va tizimlar | 227 |
| 10.10 | UPR (ozgarmagan oqsil reaksiyasi): umumiy ma'lumot..... | 232 |
| XI BOB. GEN MUHANDISLIGI | | 234 |
| 11.1 | Gen Injenerligi- umumiy ma'lumot | 234 |
| 11.2 | Genetika muhandisligi: usullari: umumiy ma'lumot..... | 236 |
| 11.3 | Gen injeneriyasida qo'llaniladigan fermentlar | 238 |
| 11.4 | Polimeraza zanjiri reaksiyasi | 248 |
| 11.5 | DNKni klonlash..... | 251 |
| 11.6 | Genlar kutubxonalarini | 252 |
| 11.7 | DNKni sekvenirlash..... | 253 |
| 11.8 | Vektorlar: umumiy ma'lumot | 255 |
| 11.9 | Gen klonotekalari | 255 |
| 11.10 | Odam genomini xaritalash: Kirish | 256 |
| 11.11 | Fizik xaritalash: xromosomalar boylab yurishi..... | 259 |
| 11.12 | Past aniqlikdagi fizik xaritalar | 262 |
| 11.13 | Restriktiv xaritalar. | 264 |
| 11.14 | Genom xaritasi: elektroforetik usullar..... | 269 |
| 11.15 | RNK va DNKning S1 xaritasi..... | 270 |
| XII BOB. TRANSGENNOZ VA YANGI MOLEKULYAR GENETIKA.... | | 273 |
| 12.1 | Transgennoz: umumiy ma'lumot..... | 273 |
| 12.2 | Asosiy tadqiqotlarda transgennoz: umumiy ma'lumot..... | 275 |
| 12.3 | Maqsadni belgilash (Targeting) | 276 |
| 12.4 | Hayvonlarning genomiga genlarni kiritish usullari DNK mikroin'ektsiyasi | 277 |
| XIII BOB. HUJAYRA SIKLI | | 283 |
| 13.1 | Hujayra sikli: umumiy ko'rinish..... | 283 |
| 13.2 | Hujayra sikli: nazorat qiluvchi oqsillar | 286 |
| 13.3 | Siklinlar: Cdk faollashuvi | 289 |
| 13.4 | Hujayra sikli: G1-dan S-fazaga o'tishni tartibga solish..... | 294 |
| 13.5 | Siklinga bog'liq bo'lgan individual kinazalarning faolligini hujayra siklining turli davrlarida siklinlar tomonidan tartibga solish..... | 296 |
| 13.6 | E2Fga bog'liq genlar | 298 |
| 13.7 | Hujayra siklining S fazasi: DNK sintezi | 298 |
| 13.8 | Hujayra sikli: G2 dan M fazaga o'tishi regulatsiyasi | 300 |
| 13.9 | p53 oqsili e2f omillari va hujayra siklining faolligini tartibga solishdagi ahamiyati. | 303 |
| 13.10 | p53 disfunktsiyasida taqqoslash nuqtalarining nazorati..... | 307 |

| | |
|--|------------|
| 13.11 p53 faollashganda apoptoz va hujayra siklini to'xtatish o'rtasidagi tanlov. | 310 |
| 13.12 p53 modifikatsiyalarining ta'siri..... | 311 |
| 13.13 Hujayra siklini taqqoslash nuqtalari: o'simta hujayralarida nazorat. | 312 |
| XIV BOB. MITOZNING TARTIBGA SOLINISHI..... | 316 |
| 14.1 Mitozning asosiy regulyatorlari | 317 |
| 14.2 Transformatsion o'sish omili beta (TGF beta)..... | 321 |
| 14.3 Hujayralarning hujayradan tashqari matritsaga biriktirilishiga bog'liqligi: kirish | 324 |
| 14.4 Integrinlarni hujayradan tashqari matritsaga bog'lash orqali hujayralarni stimulyatsiya qilish..... | 325 |
| 14.5 Kadxerinlar o'simta supressorlari sifatida: umumiy ma'lumot | 327 |
| 14.6 Beta-katenin: hujayralararo yopishqoqlikni (adgezivni) tartibga solish | 329 |
| XV BOB. HUYAYRAGA TASHQI SIGNALNING UZATILISHI. HUYAYRA ICHIDAGI MEDIATORLAR..... | 333 |
| 15.1 Hujayraga signalni uzatish: umumiy ma'lumot | 333 |
| 15.2 Gormonal signalizatsiya: adenilat siklaza yo'li..... | 335 |
| 15.3 Signal uzatish: cGMP yo'li..... | 338 |
| 15.4 Fosfolipaz C gamma PLC. Hujayra ichidagi signal uzatilishi: fosfatidilinositol (PI) yo'li | 339 |
| 15.5 PI3K: umumiy ma'lumot..... | 341 |
| 15.6 Hujayra ichidagi signal uzatish: ras yo'lining faollashishi: Grb2 * Sos | 342 |
| 15.7 MAP kinaz kaskadi..... | 346 |
| 15.8 Transkripsiya omillari:TF 1.1.1. AP-1oilalari | 350 |
| XVI BOB. APOPTOZ..... | 353 |
| 16.1 Apoptoz: kirish | 353 |
| 16.2 Apoptozning mexanizmi. Apoptozning bosqichlari. | 360 |
| 16.3 Apoptoz va kaspazlar..... | 370 |
| 16.4 Kaspazlar: umumiy ma'lumot Initiator kaspazalarning faollashishi: modellar | 374 |
| 16.5 Mitoxondriya va apoptoz. Mitoxondriya va hujayra o'limi: Kirish.. | 381 |
| 16.6 p53 oqsili: apoptozda ishtirok etishi..... | 388 |
| 16.7 Prokaspazlar: kofaktorlar bilan faollashuv. | 392 |
| 16.8 Hujayra ichidagi signalizatsiya: sfingomiyelin yo'li va apoptoz..... | 395 |
| XVII BOB. ONKOGENETIKA | 398 |
| 17.1 Hujayra siklini tartibga solishda onkogenlar va antionkogenlar: kirish. | 398 |

| | |
|---|------------|
| 17.2 Monogen irsiyatga ega bo'lgan oilaviy havfli o'smalar..... | 406 |
| 17.3 O'smalarda xromosoma o'zgarishlari. Odamlarda saraton rivojlanishining sabablari. | 413 |
| 17.4 Saraton rivojlanishining virusli nazariyasi. Virusli karsinogenez. ... | 415 |
| 17.5 Kanserojenlarning organotropizmi. Kanserojenlarning tropikligi. . | 418 |
| 17.6 Onkogenlarning ochilishi va umumiy tavsifi | 422 |
| 17.7 Hayvon va odam o'smalarining hujayrali onkogenlari va kanserogenez | 428 |
| 17.8 Hujayra onkogenlarini lokalizatsiya qilish va ularning kanserogenezda birgalikda ishtirok etishi | 429 |
| 17.9 Hujayra onkogenlarini faollashtirish mexanizmlari..... | 430 |
| 17.10 Inson T-hujayrali leykemiya onkogeni..... | 433 |
| FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR | 481 |

QISQARTMALAR, BELGILAR RO'YXATI

- ADF - adenzin difosfor kislotasi, adenzin difosfat
AMF (AMR) - adenzin monofosfat cAMR - siklik adenzin-3',5'-
monofosfat
ATF (adenzin trifosfor kislotasi)
AFRT - adenin fosforiboziltransferaza
GDF - guanzin difosfat
GMF - guanzin monofosfat
GTF - guanzin trifosfat
Da - Dalton
DNK - deoksiribonuklein kislotasi dNTF (dNTF) -
deoksinukleozid trifosfat IMF - inozin monofosfat kDA - kilodalton
KoA - koenzim A
NAD⁺ - nikotinamid adenin dinukleotid
NADF⁺ - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NTF - nukleozid trifosfat RNK - ribonuklein kislotasi
M RNK - xabarchi RNK
m RNP - kichik yadroviy ribonukleoproteinlar r RNK - ribosoma
RNK tRNK - transfer RNK TTF - timidin trifosfat
UDF - uridin difosfat
UMF - uridin monofosfat
UTF - uridin trifosfat
FAD⁺ - flavin adenin dinukleotidi
Fn (Pi) - noorganik fosfat
(PPi) - noorganik pirofosfat
FRPF - fosforibozil pirofosfat
SDF - sitidin difosfat
SMF - sitidin monofosfat (P) - adenin (A), guanin (G), urasil (U)
va sitozinning (C) psevdoridini

KIRISH

Zamonaviy biokimyoviy genetika 1869-yilda Fridrix Misher tomonidan DNKni kashf etgandan beri boshlangan. U yiringli massa va hujayra yadrolaridan olingan moddaning oqsillardan organik fosfor tarkibi bilan ham, proteolitik fermentlar tomonidan parchalanishga chidamliligi bilan farq qilishini aniqladi. Kimyogarlarning keyingi tadqiqotlari shuni ko'rsatdiki, DNK azotli asos purin (adenin yoki guanin) yoki pirimidin (sitozin yoki timin) bilan bog'langan fosforlangan shakar, dezoksiriboza fosfatni o'z ichiga oladi. Biofizik usullar yordamida DNK molekulasi bir nukleotidning fosfor kislotasi qoldiqlari va boshqa nukleotidning deoksiribozasi orasidagi fosfodiester bog'lari orqali bir-biriga bog'langan ko'p sonli takrorlanuvchi nukleotidlardan iborat ekanligi aniqlandi. 20-asrning 50-yillariga qadar DNKning aniq tuzilishi, shuningdek, irsiy ma'lumotni uzatish usuli noma'lum bo'lib qoldi. DNK bir nechta nukleotid zanjirlaridan iborat ekanligi aniq ma'lum bo'lsa-da, hech kim bu zanjirlarning nechtasi va ular qanday bog'langanligini aniq bilmas edi.

Molekulyar biologiyaning asoslari F. Griffit asarlarida qo'yilgan (1928), O.T. Averi, C.M. Makleod, MakKarti (1944), A.D.Hershi, M.Cheyz (1952), J.D.Uotson, Krik (1953). Ular irsiy materialning tashkil etilishi va faoliyati asoslari barcha tirik organizmlarda bir xil ekanligini isbotladilar. Barcha tirik organizmlarda (hujayradan oldingi va hujayrali) genetik ma'lumotlarning tashuvchisi DNKdir.

Griffit sichqonlarni patogen bo'lmagan shtammi IIR va patogen qizdirilgan IIS shtammi aralashmasi bilan yuqtirgan bu pnevmoniya va sichqonlarning o'limiga sabab bo'lgan. Griffit sichqonlarning o'limini pnevmokokk IIR ning patogen bo'lmagan shtammi IIS patogen shtamiga transformatsiyasi bilan izohladi. Keyinchalik, O.T. Averi, C.M. Makleod, MakKarti (1944) Griffitning hujayralarda o'tkazgan tajribalarini takrorladilar va transformatsiya mexanizmi patogen va patogen bo'lmagan shtammlar o'rtasidagi DNK rekombinatsiyasiga asoslanganligini ko'rsatdilar, ya'ni. DNK transformatsiya omil bo'lib xizmat qiladi.

O. Xershi va M. Cheyz (1952) ichak tayoqchasining T2 bakteriofagida o'tkazilgan tajribalarda DNK irsiy axborot tashuvchisi ekanligi nihoyat isbotlangan. Izotop bilan belgilangan DNK bakteriya hujayrasiga kirib bordi va izotop bilan belgilangan oqsil qobig'i hujayra yuzasida qoldi, shunga qaramay, ma'lum vaqt o'tgach, infeksiyalangan

hujayradan atrof-muhitga yangi hosil bo'lgan fag zarralari paydo bo'ldi. Bu ma'lumotlar T2 fagida genlarning mutatsiyalari va rekombinatsiyalari mavjudligi va yuqori organizmlardagi kabi belgilarning irsiylanish tabiati bilan tasdiqlangan. 1953 yilda Jeyms Uotson va Frensis Krik DNK tuzilishining mashhur qo'sh spiral modelini taklif qilishdi va ko'plab tadqiqotchilarning fikriga ko'ra, 1953 yilda molekulyar biologiya vujudga keldi.

DNK qo'sh spiralining tuzilishi 1953 yilda Frensis Krik va Jeyms Uotson tomonidan Moris Uilkins va Rozalind Franklin tomonidan olingan rentgen nurlari difraksiyasi ma'lumotlari va "Chargaff qoidalari" asosida taklif qilingan, unga ko'ra har bir DNK molekulasida qat'iy munosabatlar kuzatiladi. , har xil turdagi azotli asoslar sonini bog'laydi. Keyinchalik, Uotson va Krik tomonidan taklif qilingan DNK tuzilishi modeli isbotlandi va ularning ishlari 1962 yilda fiziologiya yoki tibbiyot bo'yicha Nobel mukofotiga sazovor bo'ldi.

Qizig'i shundaki, 1957 yilda amerikaliklar Aleksandr Rich, Gari Felsenfeld va Devid Devis uchta spiraldan tashkil topgan nuklein kislotani tasvirlab berishgan. Va 1985-1986 yillarda Moskvada Maksim Davidovich Frank-Kamenetskiy ikki zanjirli DNKning ikki emas, balki uchta DNK zanjiridan tashkil topgan H shaklidagi burmalanishini ko'rsatdi

Genlarning ta'sir mexanizmini o'rganishga urinishlar bilan bog'liq asosiy harakatlar boshqa ob'ektlarda, birinchi navbatda, bakteriofaglar (bakterial viruslar) va E. coli ustida amalga oshirilad. 1962 yilda T4 fagida proflavin bilan bog'liq mutatsiyalar bilan oqlangan tajribalar natijasida Frensis Krik va Sidney Brenner genetik kodni dekodlashdi. Ushbu dekodlashning to'g'riligini tasdiqlash bir vaqtning o'zida biokimyogarlardan Marshall Nirenberg va Geynrix Mattei tomonidan hujayrasiz tizimda olingan.

Genetik kodni dekodlash genetikaning ajoyib yutug'i bo'lib, u DNK tilining oqsil molekulalari tiliga qanday tarjima qilinishini tushuntirdi.

Darhaqiqat, yer yuzidagi barcha tirik organizmlar uchun umumiy bolgan genetik kodning ochilishi irsiyatning elementar asosi sifatidagi gen nazariyasining rivojlanishidagi yakuniy bosqich bo'ldi.

1970 yilda bakterial ikki zanjirli DNK cheklovchi fermenti (bu fermentlar -restriksion fermentlar yoki endonukleazlar deb ataladi) kashf qilindi, u fosfat bog'larini faqat ma'lum pallindromik nukleotidlar ketma-ketligida kesadi. Ko'p o'tmay, turli uzunlikdagi nukleotidlar ketma-

ketligini tanib olish va keyinchalik kesish qobiliyatiga ega bo'lgan ko'plab fermentlar topildi. Shu bilan birga, DNK nukleotidlarining ketma-ketligini aniqlash uchun sekvensiya deb ataladigan usullar ishlab chiqilmoqda. Alohida genlarni ajratib olish va ularni E. coli kabi turli xujayralarda ko'paytirish mumkin bo'ladi. Genomlarning ketma-ketligi (genom deganda organizmning barcha genlari tushuniladi), birinchi navbatda nisbatan sodda, keyin esa tobora murakkablashib borayotgan organizmlarda boshlanadi. 1990 yilda Milliy Sog'liqni Saqlash Institullari (AQSh) Inson Genomi loyihasi boshlanganini e'lon qildi, uning maqsadi aniq genetik xaritaning yaratish, inson genomining fizik xaritasini yaratish va o'z ichiga olgan butun genomni ketma-ketlashtirish bo'lgan

Inson biokimyoviy genetikasining yutuqlari ko'plab irsiy nuqsonlar va metabolik anormalliklarning asosiy sababini (molekulyar mexanizmini) ochib berdi, bu esa bemorlarni tez va erta aniqlash imkonini beruvchi ekspress diagnostika usullarini ishlab chiqishga va ko'plab ilgari davolab bo'lmaydigan irsiy kasalliklarni davolashga yordam berdi. Ko'pincha davolash irsiy nuqson tufayli organizmda hosil bo'lmagan moddalarni kiritish yoki ularni irsiy qobiliyatsizligi natijasida organizmga toksik ta'sir ko'rsatadigan maxsus parhezlar bartaraf qilinadi. 1953 yildan boshlab irsiy metabolik kasalliklarni davolashning biokimyoviy tabiati haqidagi bilimlarga asoslangan muvaffaqiyatli patogenetikning yangi davri boshlandi deb hisoblash mumkin. Ko'pgina mamlakatlarda fenilketonuriya (PKU) uchun nisbatan oddiy diagnostika usullari ishlab chiqilgan va yangi tug'ilgan chaqaloqlarda PKU mavjudligini tekshirish uchun amaliyotga joriy qilingan. Bemorlarni davolash uchun ishlab chiqilgan parhez bilan birgalikda bu butun dunyo bo'ylab minglab va minglab PKU bemorlarini davolash va normal hayotga qaytarish imkonini berdi.

Faqatgina alohida hollarda odamlarda irsiy patologiya bo'yicha tadqiqotlar gen tuzilishi va funksiyasini o'rganishga inqilobiy hissa qo'shadi. Bunday tadqiqotlar, birinchi navbatda, Linus Paulingning 1949 yilda nashr etilgan ishini o'z ichiga olishi kerak. Ushbu ishda elektroforezning bir turidan foydalangan holda, o'roqsimon anemiya bilan og'rigan bemorlarda gemoglobinlarning elektr maydonida odatdagidan farqli harakatchanligi ko'rsatilgan. Bemorlarning ba'zi sog'lom qarindoshlarida elektroforez normal va g'ayritabiiy harakatchanlik bilan gemoglobinning ikki fraksiyasini aniqladi. Bu natijalar shuni ko'rsatdiki, o'roqsimon anemiya tashuvchisi bo'lgan

bemorlarning sog'lom qarindoshlarida ham normal, ham mutant gemoglobin, bemorlarda esa faqat mutant gemoglobin mavjud. Ushbu ishning yakuniy xulosasi shundan iboratki, bitta genning o'zgarishi ushbu gen tomonidan boshqariladigan oqsilning tuzilishini o'zgartiradi. Ushbu ish tufayli Bidl va Tatumning "bitta gen - bitta ferment" gipotezasi "bitta gen - bitta oqsil" formulasiga aylantiriladi va shu bilan gen funksiyasini aniqroq belgiladi.

Genetik kodni ochishga yaqinroq bo'lgan navbatdagi qadamni V. Ingram 1956 yilda xuddi shu o'roqsimon hujayrali gemoglobin ustida o'tkazgan tajribada qo'ydi. Birinchidan, Ingram g'ayritabiiy gemoglobin faqat bitta peptidda me'yordan farq qilishini, keyin esa bu peptid faqat bitta aminokislota bilan normaldan farq qilishini ko'rsata oldi. Ushbu natijadan deyarli bir ma'noda genlar oqsillardagi aminokislotalarning ketma-ketligini aniqlaydi.

Genetik muhandislik usullarini yaratish va takomillashtirish, shuningdek, xalqaro Inson genomi loyihasining ishga tushirilishi odamlarda irsiy kasalliklar genlarini o'rganish bo'yicha ishlarni katta darajada rag'batlantirdi. Nisbatan qisqa vaqt ichida irsiy kasalliklarning bir necha yuzlab genlarining nukleotidlar ketma-ketligi klonlandi va o'rganildi. DNK bilan ishlashning yangi usullari birinchi navbatda tegishli genlarni va shundan keyingina sintezini boshqaradigan oqsillarni o'rganishni qulayroq qildi, chunki oqsilning tuzilishi uni kodlovchi genning nukleotidlar ketma-ketligi bilan aniq belgilanadi.

I BOB. NUKLEIN KISLOTALAR: STRUKTURA VA VAZIFALARI

1.1 Dezoksiribonuklein kislotalari. O'rganish tarixi

Kimyoviy modda sifatida DNK 1868 yilda Iogan Fridrix Misher tomonidan yiring tarkibidagi hujayralar qoldiqlaridan ajratilgan. U tarkibida azot va fosfor bo'lgan moddani ajratib oldi. Avvaliga yangi modda nuklein deb ataldi, keyinchalik Misher bu moddaning kislotali xossaga ega ekanligini aniqlagach, modda nuklein kislota deb ataldi. Yangi kashf etilgan moddaning biologik funktsiyasi noaniq edi va uzoq vaqt davomida DNK tanadagi fosfor manbai hisoblangan. Bundan tashqari, 20-asrning boshlarida ham ko'plab biologlar DNKning axborot uzatish bilan hech qanday aloqasi yo'q deb ishonishgan, chunki ularning fikriga ko'ra, molekula tuzilishi juda bir xil va kodlangan ma'lumotni o'z ichiga olmaydi.

Genetik ma'lumotni tashuvchisi ilgari o'ylanganidek, oqsillar emas, balki DNK ekanligi asta-sekin isbotlandi. Birinchi hal qiluvchi dalillardan ba'zilari Osvald Averri, Kolin MakLeod va Maklin MakKartining (1944) bakterial transformatsiya tajribalaridan olingan. Ular pnevmokokklardan ajratilgan DNK transformatsiya uchun mas'ul ekanligini ko'rsatishga muvaffaq bo'lishdi. (Amerikalik olimlar Alfred Xershey va Marta Cheyz (Hershey-Cheyz tajribasi, 1952) tomonidan radioaktiv izotoplar bilan nishonlangan bakteriofagarning oqsillari va DNKlari bilan olib borilgan tajriba shuni ko'rsatdiki, zararlangan hujayraga faqat fag nuklein kislotalari o'tadi va fagning yangi avlodi o'z ichiga bir xil oqsillar va nuklein kislotalarni oladi.

20-asrning 50-yillariga qadar DNKning aniq tuzilishi, shuningdek, irsiy ma'lumotni uzatish usuli noma'lum bo'lib qoldi. DNK bir nechta nukleotid zanjirlaridan iborat ekanligi aniq ma'lum bo'lsa-da, hech kim bu zanjirlarning nechtasi va ular qanday bog'langanligini aniq bilmas edi.

DNK qo'sh spiralining tuzilishi 1953 yilda Frensis Krik va Jeyms Uotson tomonidan Moris Uilkins va Rozalind Franklin tomonidan olingan rentgen nurlari difraksiyasi ma'lumotlari va "Chargaff qoidalari" asosida taklif qilingan, unga ko'ra har bir DNK molekulasida qat'iy har xil turdagi azotli asoslar sonini bog'lovch munosabatlar kuzatiladi. Keyinchalik, Uotson va Krik tomonidan taklif qilingan DNK tuzilishi modeli isbotlandi va ularning ishi 1962 yilda fiziologiya yoki tibbiyot

bo'yicha Nobel mukofotiga sazovor bo'ldi. Mukofot olgan laureatlar orasida o'sha paytda saraton kasalligidan vafot etgan Rozalind Franklin bo'lmagan, chunki mukofot vafotidan keyin berilmaydi [Fiziologiya yoki tibbiyot bo'yicha Nobel mukofoti 1962].

Qizig'i shundaki, 1957 yilda amerikaliklar Aleksandr Rich, Gari Felsenfeld va Devid Devis uchta spiraldan tashkil topgan nuklein kislotani tasvirlashdi. Ammo 1985-1986 yillarda Moskvada Maksim Davidovich Frank Kamenetskiy ikki zanjirli DNKning ikki emas, balki uchta DNK zanjiridan tashkil topgan H-shaklida qanday qilib qatlanayotganini ko'rsatdi.

Chargaff qoidasi. DNKdagi azotli asoslarning har xil turlari o'rtasidagi miqdoriy munosabatlarni tavsiflovchi empirik aniqlangan qoidalari 1949-1951 yillarda bioximik Ervin Chargaff guruhining ishi natijasida tariflandi.

Chargaff guruhining ishidan oldin "tetranukleotid" nazariyasi hukmronlik qilgan, unga ko'ra DNK to'rt xil azotli asoslarning yani adenin, timin, guanin va sitoziinning takrorlanuvchi bloklaridan iborat. Chargaff va uning hamkasblari qog'oz xromatografiyasi yordamida DNK nukleotidlarini ajratib olishdi va har xil turdagi nukleotidlarning aniq miqdoriy nisbatlarini aniqlay olishdi. Chargaff tomonidan adenin (A), timin (T), guanin (G) va sitozin (C) uchun aniqlangan nisbatlar quyidagicha edi:

1. Adenin miqdori timin miqdoriga, guanin esa sitozinga teng: $A=T, G=C$.

2. Purinlar soni pirimidinlar soniga teng: $A+G=T+C$.

3. Pirimidinning 4-pozitsiyasida va purin yadrolarining 6-pog'onasida aminoguruhda bo'lgan asoslar soni bir xil holatda joylashgan oksoguruhni o'z ichiga olgan asoslar soniga teng: $A+C=G+T$.

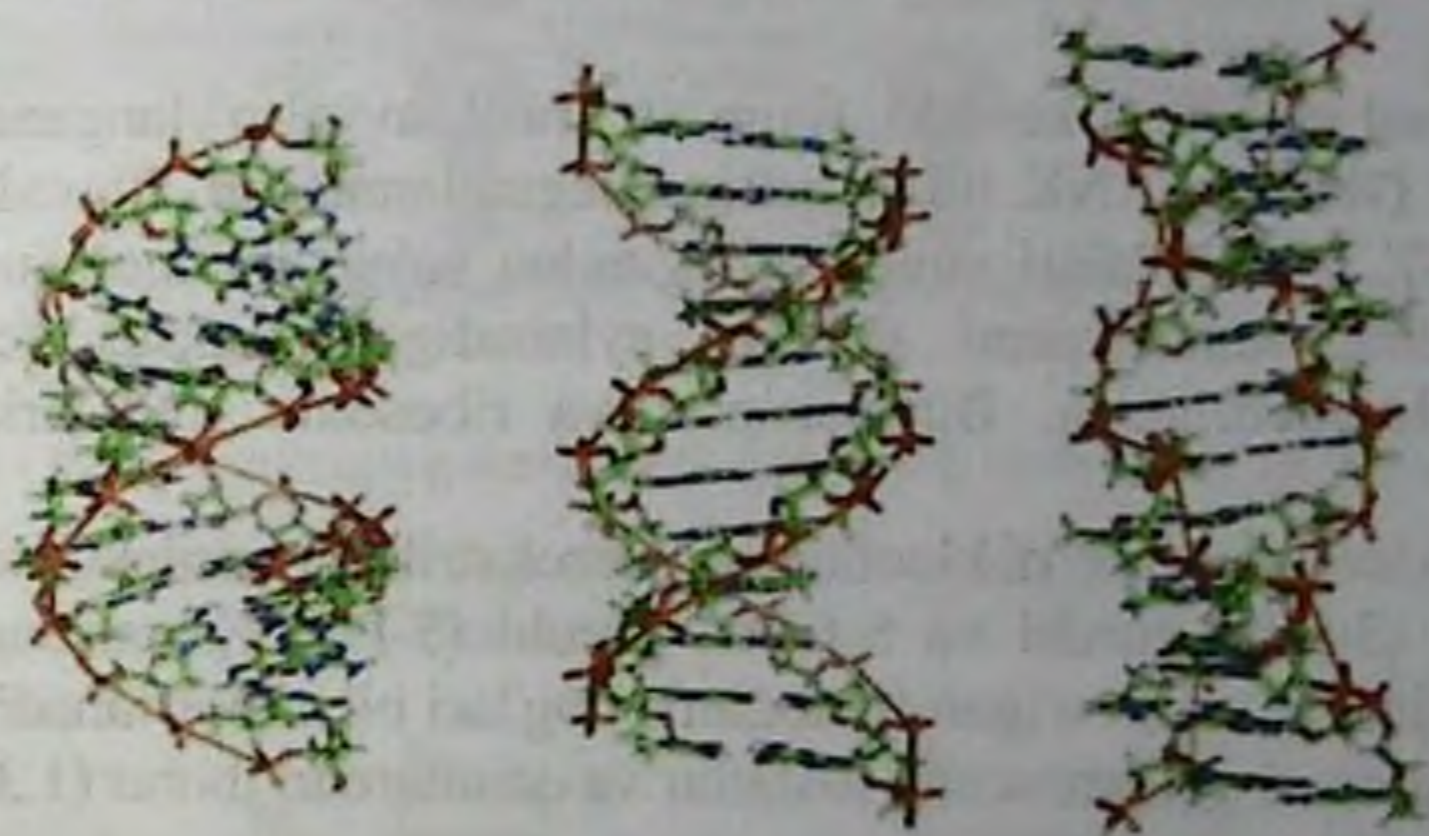
Shu bilan birga, nisbat $(A + T): (G + C)$ har xil turdagi DNK uchun har xil bo'lishi mumkin. Ba'zilarida AT juftlari, boshqalarida GC juftlari ustunlik qiladi.

Chargaff qoidalari, rentgen nurlari diffraksiyasi ma'lumotlari bilan bir qatorda, J. Uotson va Frensis Krik tomonidan DNK tuzilishini ochishda hal qiluvchi rol o'ynadi.

1968 yilda Chargaff har bir DNK zanjirida adenin miqdori taxminan timin miqdoriga, guanin esa sitozinga teng ekanligini aniqladi: $A \sim T, G \sim C$. 1990-yillarda DNK sekvensiyasi texnologiyasining rivojlanishi bilan bu qoida tasdiqlandi.

1.1.2 DNKning tuzilishi va shakllari

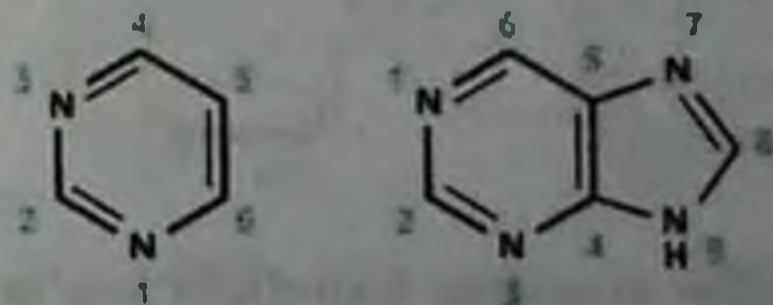
Dezoksiribonuklein kislotasi (DNK) makromolekula (uchta asosiydan biri, qolgan ikkitasi RNK va oqsillar) bo'lib, saqlanishi, avloddan-avlodga o'tishi va tirik organizmlarning rivojlanishi va faoliyatining genetik axborotini amalga oshirishni ta'minlaydi. DNK turli har h RNK va oqsil haqidagi ma'lumotni o'z ichiga oladi



Rasm. 1.1 – DNK qosh zanjirining bar xil shakldagi ko'rinishi.

Prokaryotik organizmlar hujayralarida (bakteriyalar va zamburuglarlar) hujayra membranasiga ichki tomondan nukleoid deb ataladigan aylana yoki chiziqli DNK molekulasi birikkan boladi. Ularda va tuban eukariotlarda (masalan, achirqilarda) plazmidlar deb ataladigan kichik avtonom, asosan aylana shaklidagi DNK molekulalari ham uchraydi. Bundan tashqari, bir yoki ikki zanjirli DNK molekulalari DNK viruslari genomini hosil qilishi mumkin.

Dezoksiribonuklein kislotasi (DNK) biopolimer (polianion) bo'lib, uning monomeri nukleotiddir (1.2-rasm).



Pyrimidine

Purine

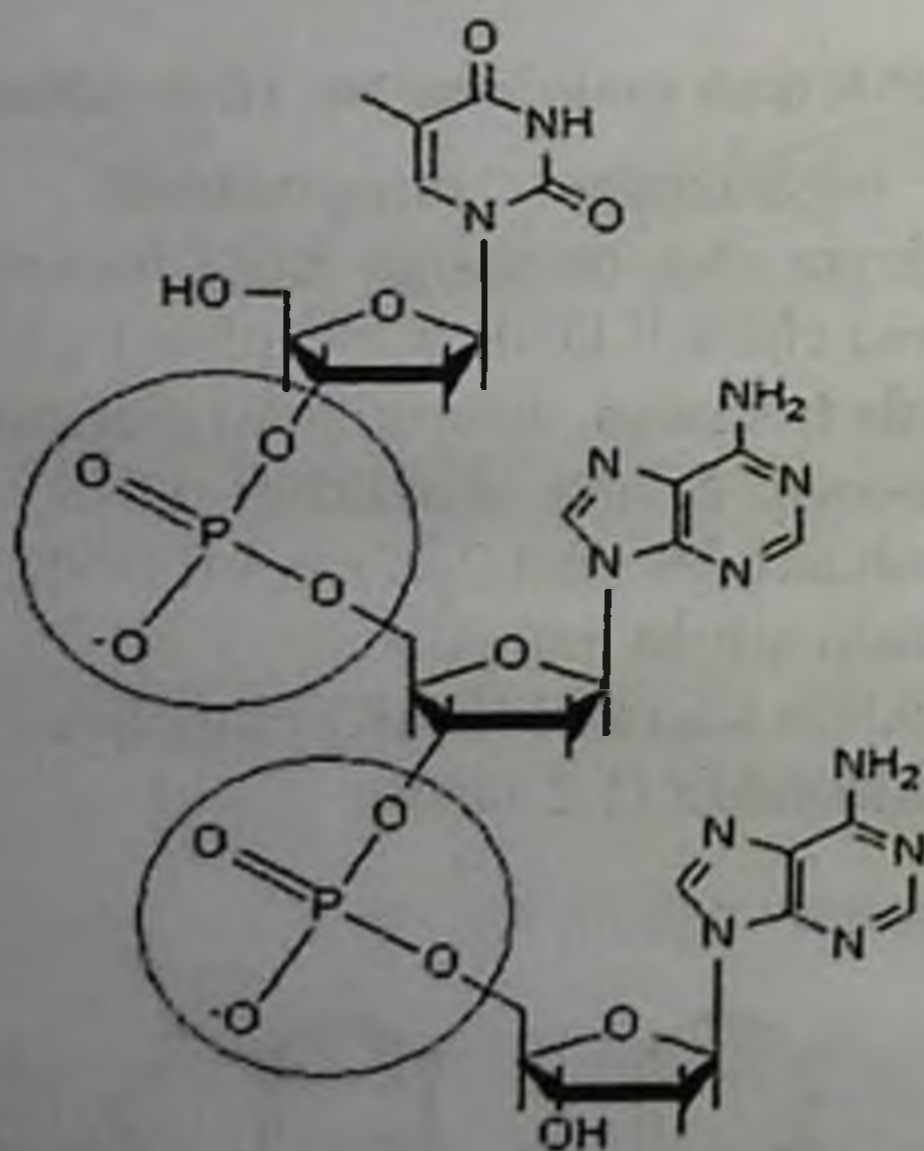
Rasm 1.2 - Nukleotid va azotli asoslarning tuzilishi: purinlar va pirimidinlar

Molekulalarning tuzilishiga ko'ra nukleotidlarni tashkil etuvchi asoslar ikki guruhga bo'linadi: purinlar (adenine A va guanin G) bir-biriga bog'langan besh va olti a'zoli geterosikllardan hosil bo'ladi; pirimidinlar (sitozin S va timin T) - olti a'zoli geterotsikl (1.2-rasm)

Istisno sifatida, masalan, PBS1 bakteriofagida DNKda beshinchi turdagi asos topiladi - urasil (U), halqada metil guruhi yo'qligi bilan timindan farq qiladigan pirimidin asosi, odatda timin o'rmini bosadi RNKda.

Shuni ta'kidlash kerakki, timin va urasil, avval o'ylangandek, mos ravishda DNK va RNK bilan qattiq chegaralanmagan. Shunday qilib, ba'zi RNK molekulalari sintez qilingandan so'ng, bu molekulalardagi urasillarning katta qismi timinga aylanadigan maxsus fermentlar yordamida metillanadi. Bu transport va ribosoma RNKlarida sodir bo'ladi.

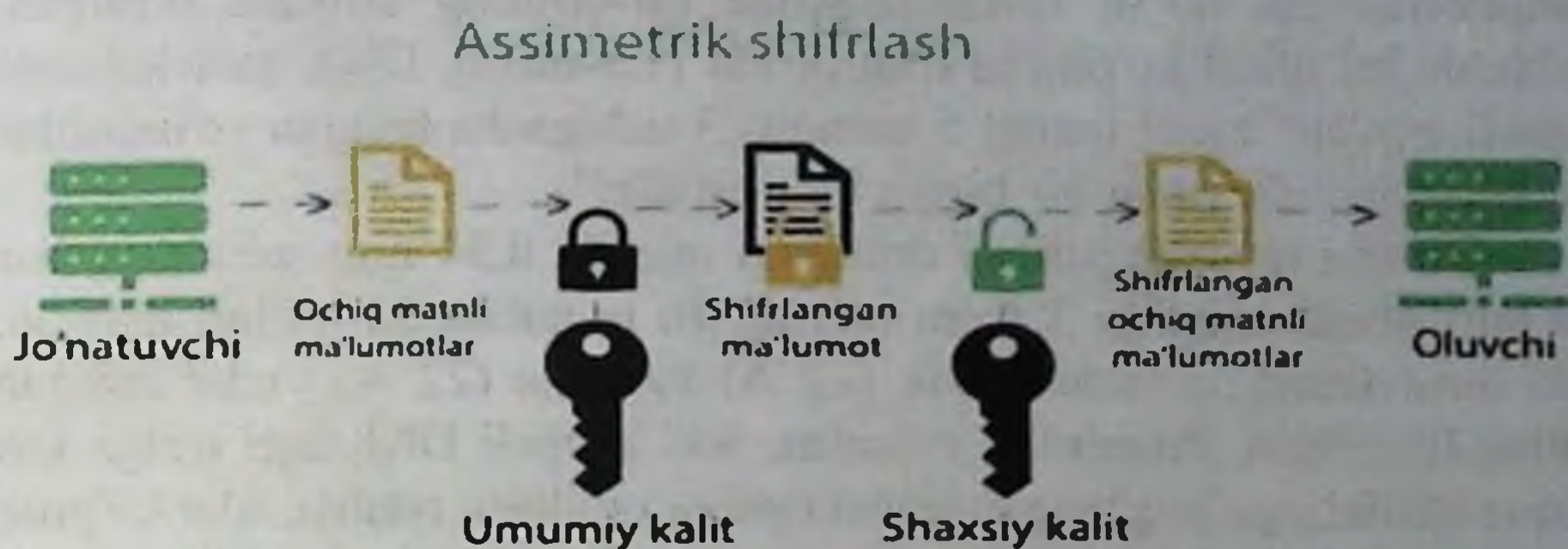
Nukleotidlar bir nukleotidning dezoksiriboza molekulasining 3-gidroksil (3-OH) guruhi va 5-fosfat guruhi (5-PO₃) o'rtasidagi o'zaro ta'sir natijasida hosil bo'lgan fosfodiefir bog'lari bilan bog'lanadi. Har bir zanjirning asosi o'zgaruvchan fosfatlar va qandlardan iborat (1.3-rasm).



Rasm 1.3 Nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'lanish diagrammasi

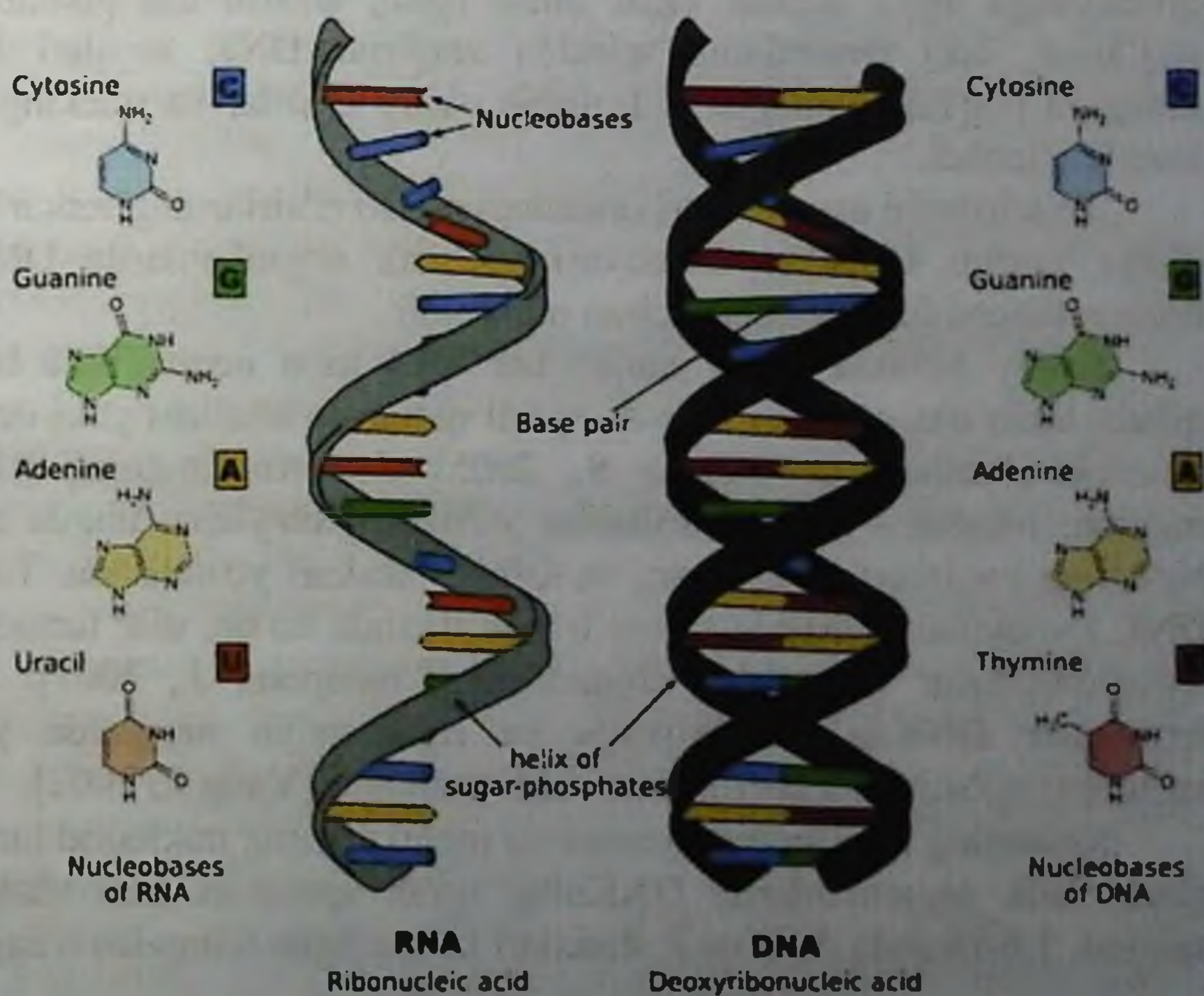
DNK zanjirining assimetrik uchlari 3 (uch prim) va 5 (besh prim) deb ataladi. DNK sintezida zanjir qutbliligi muhim rol o'ynaydi

(zanjiming kengayishi faqat bo'sh 3 uchiga yangi nukleotidlarni qo'shish orqali amalga oshirish mumkin) (1.4-rasm).



Rasm 1.4 - DNK zanjirining assimetrik uchlari: 3 (uch prim) va 5 (besh prim)

Tirik organizmlarning aksariyatida DNK bir emas, ikkita polinukleotid zanjiridan iborat (1.5-rasm).



Rasm 1.5 - B - DNK qo'sh spiralining va RNK zanjirinig shakli.

Bu ikki uzun zanjir bir-biriga qarama-qarshi turgan zanjirlarning azotli asoslari o'rtasida hosil bo'lgan vodorod bog'lari bilan barqarorlashgan qo'sh spiral shaklida bir-birining atrofida o'ralgan. Tabiatda bu spiral ko'pincha o'ng qo'lda (1.5-rasm). DNK molekulasini tashkil etuvchi ikkita ipning 5 uchidan 3 uchigacha bo'lgan yo'nalishlar qarama-qarshidir (iplar bir-biriga "antiparallel").

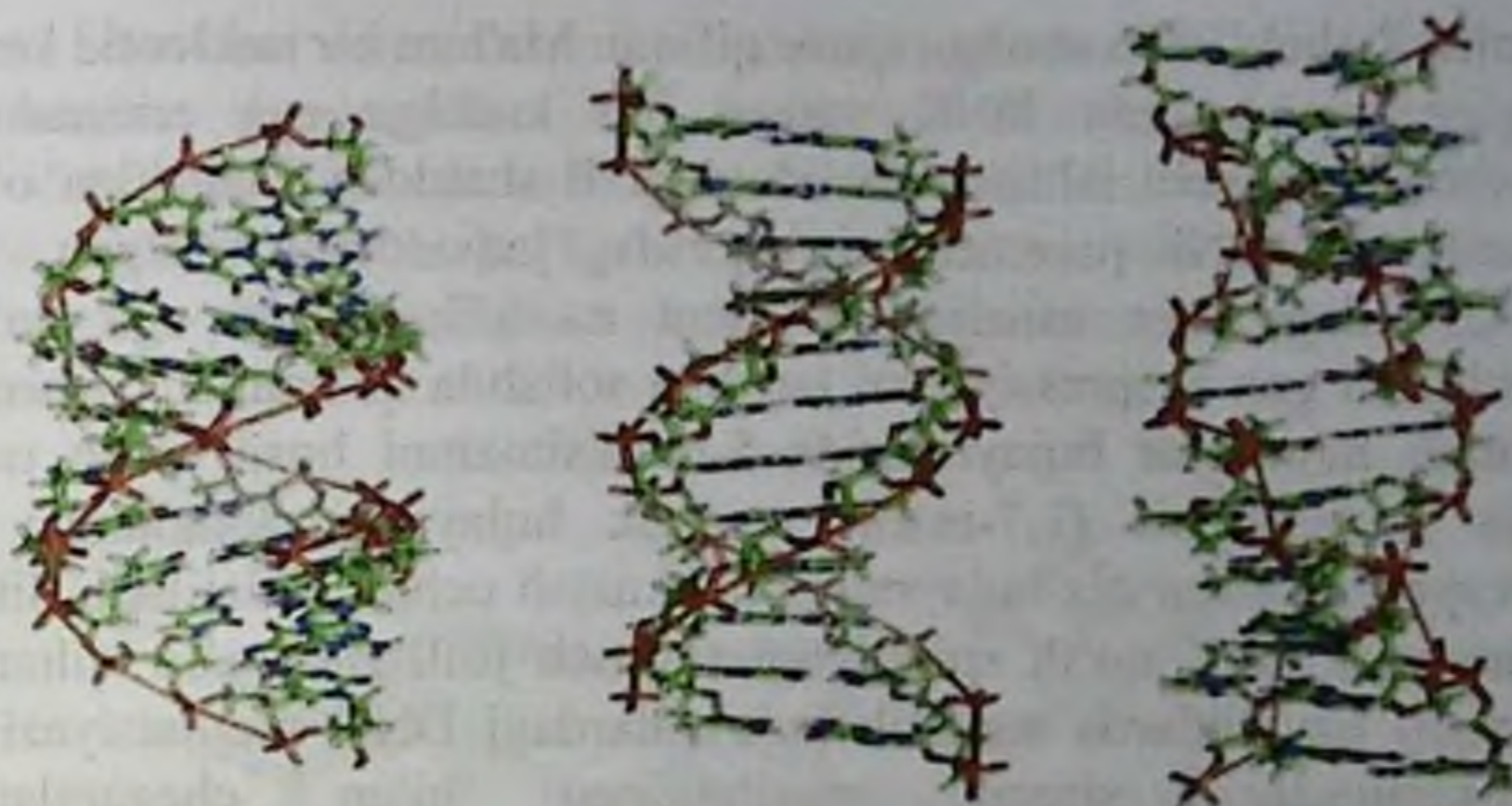
Qo'shni tayanch juftlari orasidagi masofa 0,34 nm; spiralning har bir burilishida uzunligi 3,4 nm bo'lgan 10 ta nukleotid juftlari mavjud. Ikki tomonlama spiraldagi kichik (12 Å) va katta (22 Å) yivlar mavjud [Wing.R., 1980]. Proteinlar, masalan, ikki zanjirli DNKdagi o'ziga xos ketma-ketliklarga bog'langan transkripsiya omillari, odatda, ular ko'proq kirish mumkin bo'lgan asosiy trubadagi asoslarning chetlari bilan o'zaro ta'sir qiladi [Pabo.C., Sauer.R., 1984].

Iplarning biridagi har bir tayanch ikkinchi ipdagi bitta aniq asosga bog'lanadi. Ushbu o'ziga xos bog'lanish to'ldiruvchi deyiladi. Purinlar pirimidinlarni to'ldiruvchi (ya'ni ular bilan vodorod bog'larini hosil qilish qobiliyatiga ega): adenin faqat timin bilan, sitozin esa guanin bilan bog'laydi. Ikki tomonlama spiraldagi zanjirlar DNK asoslari ketma-ketligiga bog'liq bo'lmagan hidrofobik o'zaro ta'sirlar va stacking orqali ham bog'lanadi.

To'ldiruvchi asos juftlari orasidagi o'zaro ta'sirlarning teskariligi va o'ziga xosligi DNK replikatsiyasi va tirik organizmlarda DNKning boshqa barcha funktsiyalari uchun muhimdir.

Oddiy holatda DNK zanjiri har 10,4 asos uchun bitta burilish qiladi, lekin o'ta o'ralgan holatda spiral qattiqroq o'ralishi yoki ochilishi mumkin [Benham C., Mielke S., 2005]. Supertwistingning ikki turi mavjud: musbat - oddiy burilishlar yo'nalishi bo'yicha, ularda asoslar bir-biriga yaqinroq joylashgan; va salbiy - teskari yo'nalishda. Tabiatda DNK molekulalari odatda salbiy o'ta burilishda bo'lib, ular fermentlar - topoizomerazlar tomonidan chiqariladi [Champoux J., 2001]. Ushbu fermentlar DNKda transkripsiya va replikatsiya natijasida yuzaga keladigan qo'shimcha burilishlarni olib tashlaydi [Vang J., 2002].

Ionlarning kontsentratsiyasiga va molekulaning nukleotid tarkibiga qarab, tirik organizmlarda DNKning qo'sh spirallari turli shakllarda mavjud. 1.6-rasmda A, B va Z shakllari ko'rsatilgan (chapdan o'ngga)



Rasm - 1.6. DNK qo'sh spiralining A, B va Z ning turli shakllari.

Ikkilamchi DNK tuzilishining eng keng tarqalgan shakli qo'sh spiraldir. Bu struktura bir-biriga nisbatan buralgan ikkita o'zaro to'ldiruvchi antiparallel polideoksiribonukleotid zanjiridan va umumiy o'qdan o'ng qo'lli spiralga hosil bo'ladi. Bunda azotli asoslar qo'sh spiralning ichkariga, qo'sh-fosfat qismi esa tashqariga qaraydi. Ushbu tuzilma birinchi marta 1953 yilda Jeyms Uotson va Frensis Krik tomonidan tasvirlangan [Watson J, Crick F (1953).]

DNKning ikkilamchi tuzilishini shakllantirishda quyidagi turdagi o'zaro ta'sirlar ishtirok etadi:

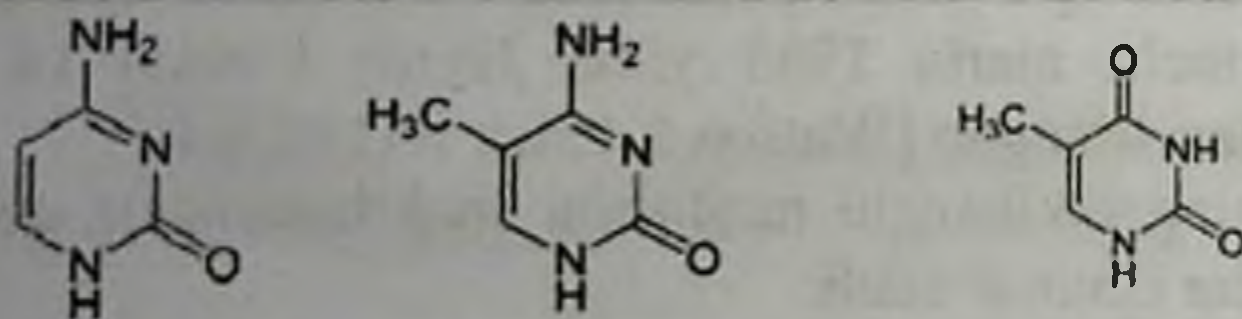
- komplementar asoslar orasidagi vodorod aloqalari (adenin va timin orasida ikkita, guanin va sitozin orasida uchta);
- stacking ozaro ta'sirlar
- elektrostatik o'zaro ta'sirlar,
- Van der Vaalsning o'zaro ta'siri.

Tashqi sharoitga qarab, DNK qo'sh spiralining parametrlari ba'zan sezilarli darajada o'zgarishi mumkin. Tasodifiy nukleotidlar ketma-ketligiga ega o'ng tomonli DNKni taxminan ikkita oilaga bo'lish mumkin. A va B, ularning orasidagi asosiy farq deoksiriboza konformatsiyasi, B-oilasiga DNKning C- va D shakllari ham kiradi. Hujayradagi DNK B shaklida bo'ladi.

DNKning noodatiy shakli 1979 yilda kashf etilgan [Wang.A.H.1979]. (CGCGCG) tipidagi geksanukleotidlar hosil qilgan kristallarning rentgen difraksion tahlili shuni ko'rsatdiki, bunday DNK qo'sh spiral shaklida mavjud. Bunday DNKning shakar-fosfat tuzilishi yo'lini zigzag chizig'i bilan tasvirlash mumkin, shuning uchun DNKning

bu turini Z-shakli deb atashga qaror qilindi. Ma'lum bir nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan DNK yuqori ion kuchiga ega eritmada va gidrofobik erituvchi ishtirokida odatdagi B-shakldan Z-shaklga o'tishi ko'rsatilgan. Z-DNK parametrlari yuqoridagi jadvalda ko'rsatilgan.

DNKdagi azot asoslari kovalent modifikatsiyaga ega bo'lishi mumkin, bu gen ekspressiyasini tartibga solishda qo'llaniladi. Masalan, umurtqali hayvonlar hujayralarida 5-metilsitozinni hosil qilish uchun sitozin metilatsiyasi (1.7-rasm) somatik hujayralar tomonidan gen ekspresyon profilini qiz hujayralarga o'tkazish uchun ishlatiladi. Sitozin metilatsiyasi DNK qo'sh spiralidagi tayanch juftligiga ta'sir qilmaydi. Umurtqali hayvonlarda somatik hujayralardagi DNK metilatsiyasi CG ketma-ketligidagi sitozin metilatsiyasi bilan chegaralanadi. Metillanishning o'rtacha darajasi turli organizmlarda farq qiladi, masalan, *Caenorhabditis elegans* nematodasida sitozin metilatsiyasi kuzatilmaydi, ammo umurtqali hayvonlarda metillanishning yuqori darajasi aniqlanadi. Boshqa asosiy modifikatsiyalar orasida bakteriyalarda adeninning metilatsiyasi va kinetoplastlarda "J-asos" hosil qilish uchun urasilning glikozillanishi kiradi.



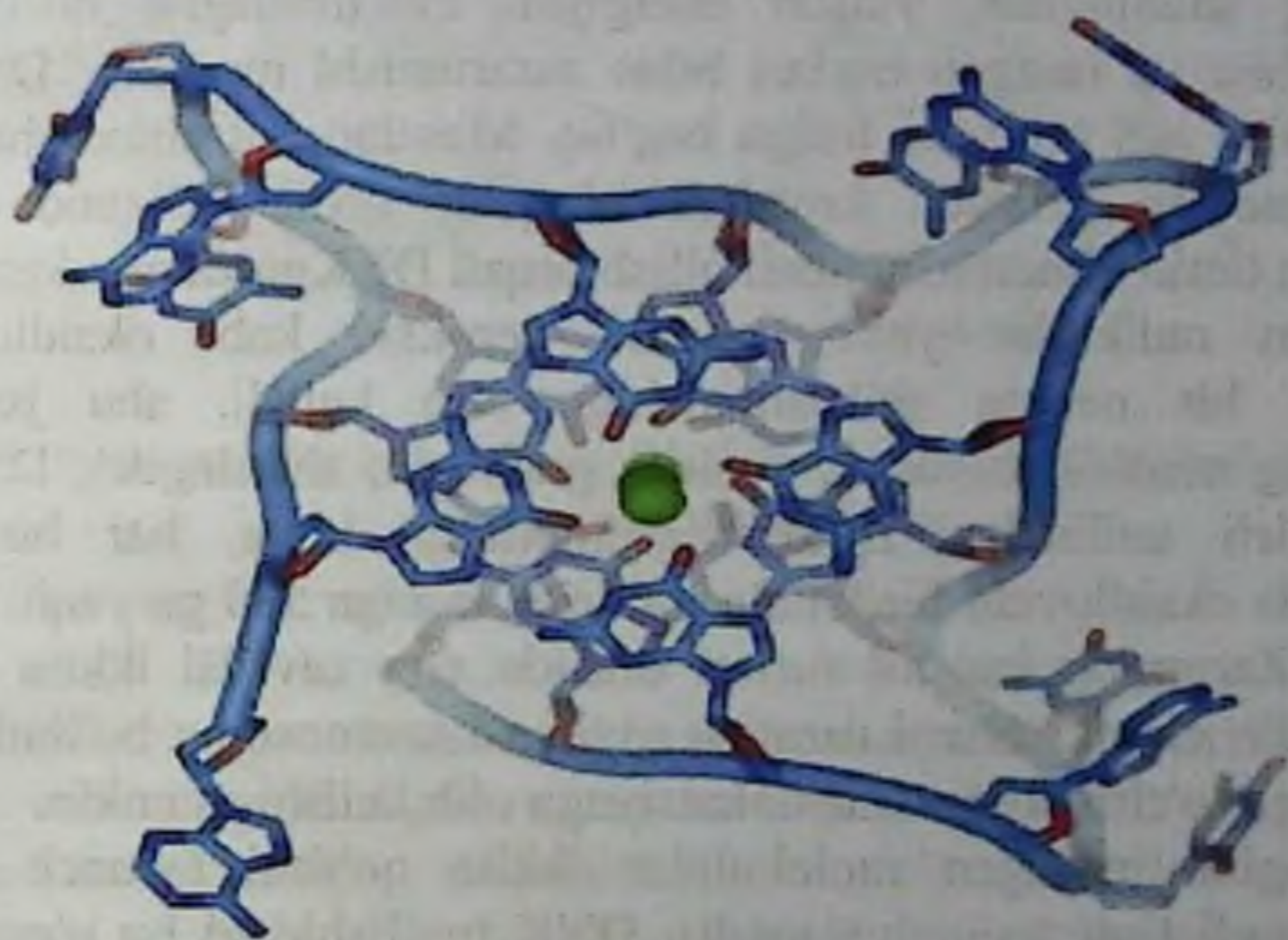
Rasm 1.7 - Sitozin, 5-metilsitozin va timinning tuzilishi. Timin 5-metilsitozinni deaminatsiya qilish orqali paydo bo'lishi mumkin.

Genning promotor qismida 5-metilsitozin hosil qilish uchun sitozinning metillanishi uning faol bo'lmagan holati bilan bog'liq. Sitozin metilatsiyasi sut emizuvchilarda X xromosomasining inaktivatsiyasi uchun ham muhimdir. DNK metilatsiyasi genomik imprintingda qo'llaniladi. DNK metilatsiyasi profilidagi sezilarli o'zgarishlar kanserogenez jarayonida sodir bo'ladi.

Biologik roliga qaramay, 5-metilsitozin o'z-o'zidan amin guruhini yo'qotishi mumkin (deaminat) timinga aylanadi, shuning uchun metillangan sitozinlar mutatsiyalar sonining ko'payishi manbai hisoblanadi.

Chiziqli xromosomalarning uchlarida telomerlar deb ataladigan maxsus DNK tuzilmalari joylashgan (1.8-rasm). Ushbu qismlarning

asosiy vazifasi xromosoma uchlarining yaxlitligini saqlashdir. Telomerlar, shuningdek, DNK uchlarini eksonukleazlar tomonidan degradatsiyadan himoya qiladi va ta'mirlash tizimining faollashishini oldini oladi. An'anaviy DNK polimerazalari xromosomalarning 3 uchlarini replikatsiya qila olmagan uchun buni maxsus ferment telomeraza bajaradi.



1.8-rasm - Telomerlarning tuzilishi.

Inson hujayralarida telomerlar ko'pincha bir ipli DNK bilan ifodalanadi va TTAGGY ketma-ketligining bir necha ming takrorlanuvchi birliklaridan iborat. Guaninga boy bo'lgan bu ketma-ketliklar xromosomalarning uchlarini barqarorlashtiradi va ikkita o'zaro ta'sir qiluvchi bazadan emas, to'rttadan iborat bo'lgan G quadrupleks deb ataladigan juda noodatiy tuzilmalarni hosil qiladi. Barcha atomlari bir tekislikda joylashgan to'rtta guanin asoslari asoslar o'rtasidagi vodorod aloqalari va markazda metall ionining (ko'pincha kaliy) xelatlanishi bilan barqarorlashtirilgan plastinka hosil qiladi. Bu plitalar bir-birining ustiga qo'yilgan (1.8-rasm).

Xromosomalarning uchlarida boshqa tuzilmalar ham paydo bo'lishi mumkin: asoslar bir zanjirda yoki turli parallel zanjirlarda joylashgan bo'lishi mumkin. Ushbu to'plangan tuzilmalarga qo'shimcha ravishda, telomerlar T-looplar yoki telomerik halqalar deb ataladigan katta halqaga o'xshash tuzilmalarni hosil qiladi. Ularda bir zanjirli DNK telomerik oqsillar tomonidan barqarorlashtirilgan keng halqa shaklida

joylashgan [Griffith J., 1999]. T-halqaning oxirida bir zanjirli telomerik DNK ikki zanjirli DNK bilan birlashadi va bu molekuladagi iplarning juftlanishini buzadi va iplardan biri bilan bog'lanish hosil qiladi. Ushbu uch zanjirli shakllanish D-loop deb ataladi (inglizcha Displacementloop dan).

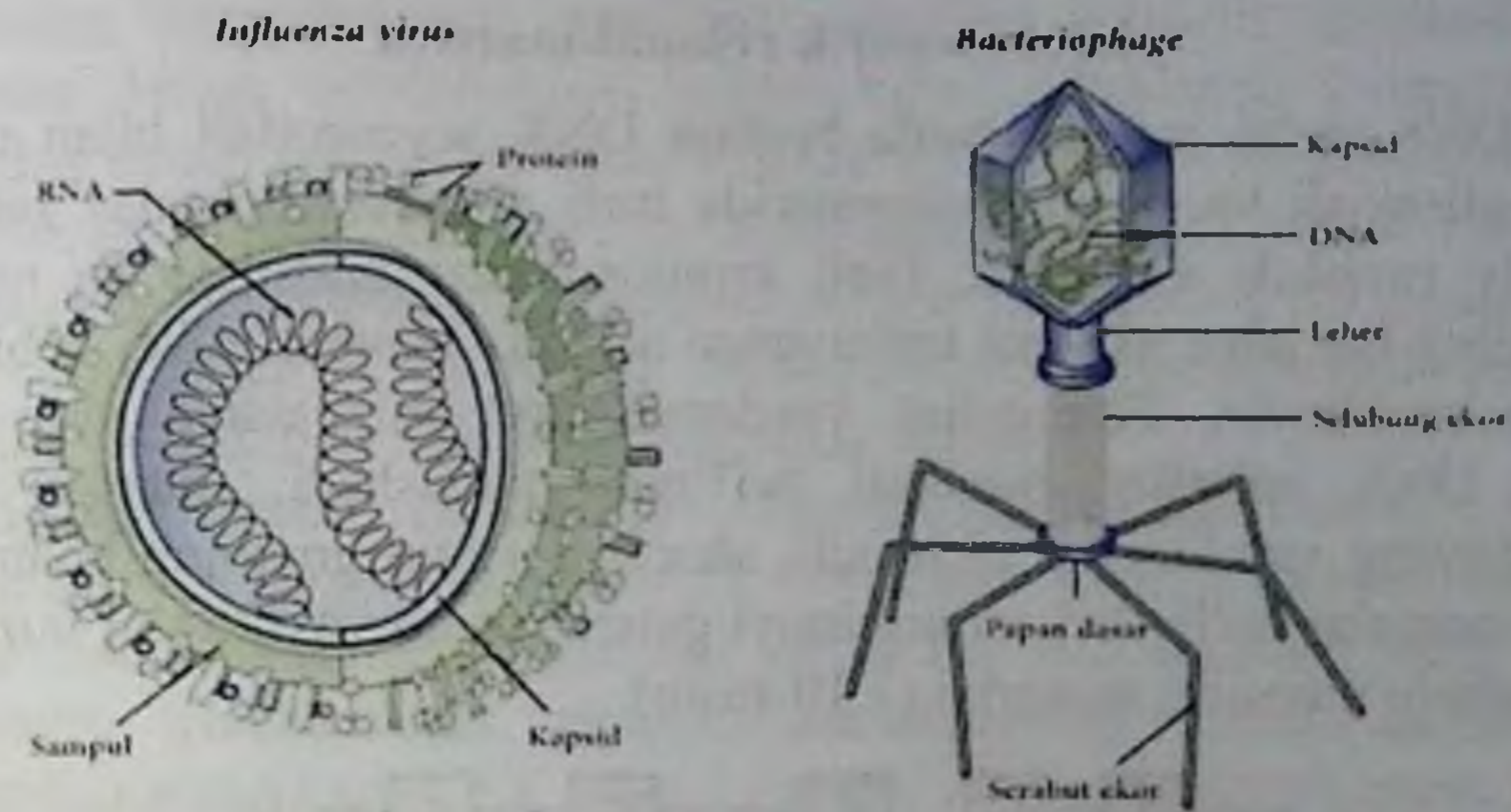
DNK turli xil mutagenlar, jumladan oksidlovchi va alkillovchi moddalar, shuningdek, yuqori energiyali elektromagnit nurlanish - ultrabinafsha va rentgen nurlari bilan zararlanishi mumkin. DNKning shikastlanish turi mutagen turiga bog'liq. Masalan, ultrabinafsha nurlar qo'shni asoslar o'rtasida kovalent aloqalar hosil bo'lganda paydo bo'ladigan timin dimerlarini hosil qilish orqali DNKga zarar etkazadi.

Erkin radikallar yoki vodorod peroksid kabi oksidlovchilar DNKning bir nechta shikastlanishiga olib keladi, shu jumladan asoslarning modifikatsiyalari, ayniqsa guanozin, shuningdek DNKdagi ikki zanjirli uzilishlar. Ba'zi ma'lumotlarga ko'ra, har bir inson hujayrasida oksidlovchi birikmalar ta'sirida kuniga 500 ga yaqin asoslar buziladi. Zararning har xil turlari orasida eng xavflisi ikkita zanjirli uzilishlardir, chunki ularni tuzatish qiyin va xromosoma bo'limlarining yo'qolishiga (o'chirish) va translokatsiyaga olib kelishi mumkin.

Ko'pgina mutagen molekulalar ikkita qo'shni tayanch juftligi orasiga kiradi (interkalatsiyalanadi). DNK tuzilishidagi bu o'zgarishlar transkripsiya va replikatsiyaga xalaqit berib, mutatsiyalarni keltirib chiqaradi. Shuning uchun interkalatsiya qiluvchi birikmalar ko'pincha kanserogenlar bo'lib, ulardan eng mashhurlari benzopiren, akridinlar, aflatoksin va etidiy bromiddir. Ushbu salbiy xususiyatlarga qaramay, DNK transkripsiyasi va replikatsiyasini bostirish qobiliyati tufayli interkalatsiya qiluvchi birikmalar tez o'sib borayotgan saraton hujayralarini bostirish uchun kimyoterapiyada qo'llaniladi.

1.1.3 Biologik funktsiyalar

DNK genetik ma'lumotlarning tashuvchisi bo'lib, genetik kod yordamida nukleotidlar ketma-ketligi sifatida qayd etiladi. DNK molekulalari tirik organizmlarning ikkita asosiy xususiyati - irsiyat va o'zgaruvchanlik bilan bog'liq. DNK replikatsiyasi deb ataladigan jarayon davomida asl zanjirning ikkita nusxasi hosil bo'ladi, ular bo'linish paytida qiz hujayralar tomonidan irsiylanadi.



Rasm 1.9 Bakteriofag genomining DNKsi: transmissiya ostidagi fotosurat elektron mikroskop bilan

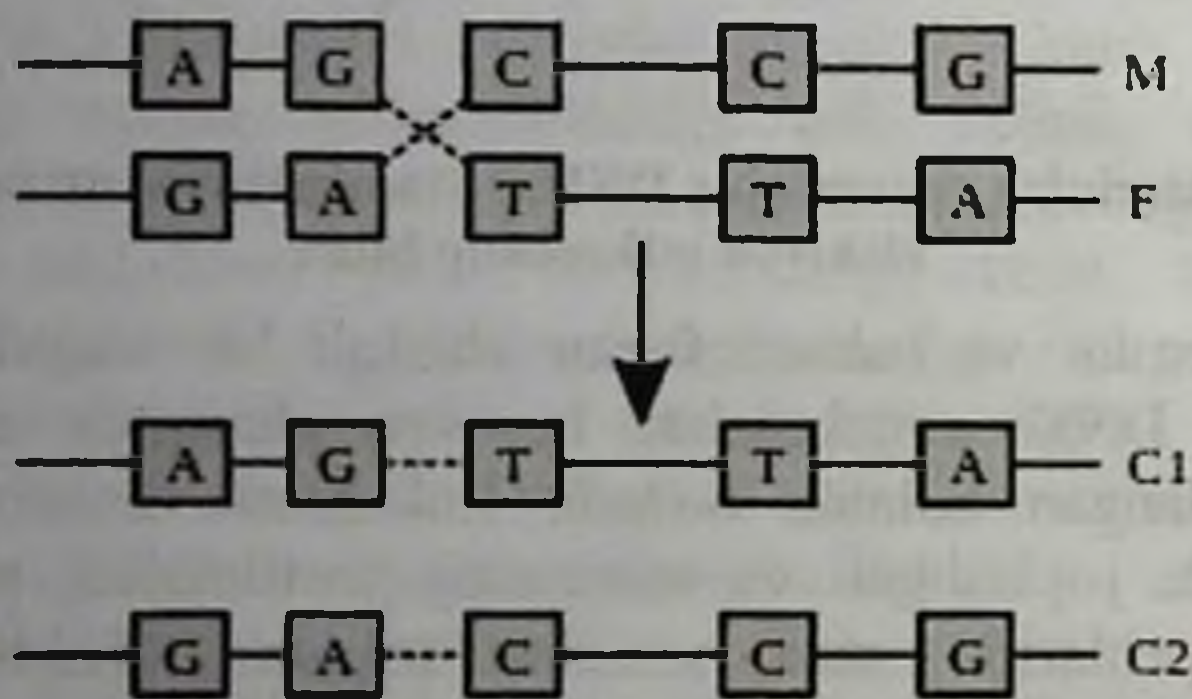
Ba'zi viruslar va bakteriofaglar chiziqli bir zanjirli DNKni o'z ichiga oladi. DNK molekulalari in vivo sharoitda zich o'ralgan, kondensatsiyalangan holatda bo'ladi. Eukaryotik hujayralarda DNK asosan yadroda joylashgan va mitozning profilaktika, metafaza yoki anafaza bosqichlarida xromosomalar to'plami shaklida yorug'lik mikroskopi yordamida kuzatish mumkin. Bakterial (prokaryotlar) DNK odatda sitoplazmada nukleoid deb ataladigan tartibsiz shakldagi shakllanishda joylashgan bitta aylana DNK molekulasi bilan ifodalanadi.

Genomning genetik ma'lumotlari genlardan iborat. Gen bu irsiy ma'lumotni uzatish birligi va organizmning ma'lum bir xususiyatiga ta'sir qiluvchi DNK qismidir. Genda transkripsiya qilingan ochiq o'qish ramkasi, shuningdek, ochiq o'qish ramkalarining ifodasini boshqaruvchi promotor va kuchaytiruvchi kabi tartibga soluvchi ketma-ketliklar mavjud.

Ko'pgina turlarda umumiy genom ketma-ketligining faqat kichik bir qismi oqsillarni kodlaydi. Shunday qilib, inson genomining atigi 1,5% ni oqsil kodlovchi ekzonlar tashkil etadi va inson DNKsining 50% dan ortig'i kodlanmaydigan takrorlanuvchi DNK ketma-ketliklaridan iborat. Eukaryotik genomlarda bunday katta miqdordagi kodlanmagan DNKning mavjudligi va genom o'lchamlaridagi katta farq (C-qiymati) sabablari hal qilinmagan ilmiy sirlardan biridir; Ushbu sohadagi tadqiqotlar, shuningdek, DNKning ushbu qismida ko'p miqdordagi relik virus fragmentlarini ko'rsatadi.

1.1.4 Genetik rekombinatsiya

DNK qo'sh spiral odatda boshqa DNK segmentlari bilan o'zaro ta'sir qilmaydi va inson hujayralarida turli xil xromosomalar yadroda fazoviy ravishda ajratiladi. Turli xromosomalar orasidagi bu masofa DNKning barqaror axborot tashuvchisi sifatida harakat qilish qobiliyati uchun muhimdir. Fermentlar yordamida rekombinatsiya jarayonida ikkita DNK spirallari buziladi, bo'limlar almashadi, shundan so'ng spirallarning uzluksizligi tiklanadi, shuning uchun gomolog bo'lmagan xromosomalar bo'limlari almashinuvi genetikaning yaxlitligini buzishga olib kelishi mumkin. material (1.10-rasm).



Rasm. 1.10-rekombinatsiya (M) va (F) xromosomalardagi jismoniy yorilish va ularning keyingi birikmasi natijasida ikkita yangi xromosoma (C1 va C2) hosil bo'ladi

Rekombinatsiya xromosomalarga genetik ma'lumot almashish imkonini beradi, natijada yangi gen birikmalari hosil bo'ladi, bu tabiiy tanlanish samaradorligini oshiradi va yangi oqsillarning tez evolyutsiyasi uchun muhimdir. Genetik rekombinatsiya, shuningdek, ta'mirlashda, ayniqsa hujayraning har ikkala DNK zanjiridagi uzilishga javobida ham rol o'ynaydi.

Krossingoverning eng keng tarqalgan shakli gomologik rekombinatsiya bo'lib, rekombinatsiyada ishtirok etuvchi xromosomalar juda o'xshash ketma-ketlikka ega bo'lganda. Ba'zida transpozonlar homologiya mintaqalari sifatida ishlaydi. Gomologik bo'lmagan rekombinatsiya hujayra shikastlanishiga olib kelishi mumkin, chunki bunday rekombinatsiya translokatsiyalarga olib keladi. Rekombinatsiya reaksiyasi rekombinazlar deb ataladigan fermentlar tomonidan katalizlanadi, masalan, Cre. Reaksiyaning birinchi bosqichida rekombinaza DNK zanjirlaridan birida uzilish hosil qiladi, bu esa bu

zanjirning komplementar zanjirdan ajralib, ikkinchi xromatidning iplaridan biriga qo'shilishiga imkon beradi. Ikkinchi xromatidning ipidagi ikkinchi uzilish uni ham birinchi xromatiddan ajratilmagan ipni birlashtirib, Holliday strukturasi hosil qilish imkonini beradi. Holliday tuzilishi bir-biriga bog'langan xromosomalar juftligi bo'ylab harakatlana oladi, zanjirlarni almashtiradi. Rekombinatsiya reaksiyasi ferment birikmani kesib, ikkita ipni bog'langanda tugaydi

DNK barcha zamonaviy organizmlar uchun hayot, o'sish, rivojlanish va ko'payish imkonini beradigan genetik ma'lumotni o'z ichiga oladi. Biroq, DNK yerdagi hayotning to'rt milliard yillik tarixi davomida qancha vaqt genetik ma'lumotning asosiy tashuvchisi bo'lganligi noma'lum. RNK metabolizmda markaziy rol o'ynagan degan farazlar mavjud, chunki u irsiy ma'lumotni olib yurishi va ribozimlar yordamida katalizni amalga oshirishi mumkin. Bundan tashqari, RNK "oqsil fabrikalari" - ribosomalarning asosiy tarkibiy qismlaridan biridir. Nuklein kislota ham kataliz, ham axborot uzatish uchun ishlatilgan qadimgi RNK dunyosi zamonaviy to'rtta asosli genetik kodning manbai bo'lib xizmat qilgan bo'lishi mumkin. Bu organizmdagi asoslar soni kam sonli asoslar o'rtasidagi kelishuv bo'lishi natijasida yuzaga kelgan bo'lishi mumkin, bu ko'payishning ishonchliligini oshiradi va ko'p miqdordagi asoslar ribozimlarning katalitik faolligini oshiradi.

Afsuski, qadimgi genetik tizimlar bugungi kungacha saqlanib qolmagan. Atrof-muhitdagi DNK o'rtacha 1 million yil davom etadi va keyin qisqa bo'laklarga parchalanadi. Bundan 250 million yil avval tuz kristallari ichiga o'ralgan bakteriya sporalaridan DNKni ajratib olish va ularning 16S rRNK genlari ketma-ketligini aniqlash ilmiy jamoatchilikda qizg'in muhokama mavzusi boladi.

1.1.5 Molekulyar biologiyaning markaziy dogmasi. Transfer usullari biologik ma'lumotlar

Tabiatda kuzatilgan genetik ma'lumotni amalga oshirishning umumlashtiruvchi qoidasi: ma'lumot nuklein kislotalardan oqsillarga uzatiladi, lekin teskari yo'nalishda emas. Qoida 1958 yilda Frensis Krik tomonidan ishlab chiqilgan, va 1970 yilda o'sha vaqtga to'plangan ma'lumotlarga moslashtirildi. Genetik ma'lumotlarning ketma-ket DNK dan RNK ga, so'ngra RNK dan oqsilga o'tishi istisnosiz barcha hujayrali organizmlar uchun universaldir va makromolekulalar biosintezi asosida yotadi. Genom replikatsiyasi axborot o'tish DNK → DNKga mos keladi. Tabiatda, shuningdek, RNK → RNK va RNK → DNK (masalan, ba'zi

viruslarda) o'tishlari, shuningdek molekuladan molekulaga o'tadigan oqsillarning konformatsiyasining o'zgarishi mavjud.

Tirik organizmlarda turli xil polimer monomerlari - DNK, RNK va oqsildan iborat bo'lgan uch xil heterojen mavjud. Ular o'rtasida ma'lumot uzatish $3 \times 3 = 9$ usulda amalga oshirilishi mumkin.

Markaziy genom 9 turdagi axborot uzatishni uch guruhga ajratadi:

- Umumiy - ko'pchilik tirik organizmlarda uchraydi;
- Maxsus - istisno tariqasida, viruslar va mobil genom elementlarida yoki biologik tajriba sharoitida topilgan;
- Noma'lum - aniqlanmadi.

Umumiy maxsus genom

DNK \rightarrow DNK RNK \rightarrow DNK oqsili \rightarrow DNK

DNK \rightarrow RNK \rightarrow RNK oqsili \rightarrow RNK

RNK \rightarrow oqsil

DNK \rightarrow oqsi RNK \rightarrow oqsil

Axborotni uzatishning umumiy usullari

Prokariotlarda ribosoma orqali oqsil sintezi (translyatsiya) fazoviy ravishda transkripsiyadan ajratilmaydi va RNK polimeraza tomonidan mRNK sintezi tugaguniga qadar ham sodir bo'lishi mumkin. Prokaryotik mRNKlar ko'pincha polikistronikdir, ya'ni ular bir nechta mustaqil genlarni o'z ichiga oladi (2.11-rasm). Eukaryotik mRNK prekursor, pre-mRNK sifatida sintezlanadi, so'ngra murakkab bosqichli etilish - ishlov berish, shu jumladan molekulaning 5 uchiga qopqoq strukturasi biriktirilishi, uning 3 uchiga bir necha o'nlab adenin qoldiqlarining biriktirilishi. (poliadenilatsiya), ahamiyatsiz qismlarni kesish - intronlar va muhim hududlarni bir-biri bilan bog'lash muhim hududlar - ekzonlar (splaysing). Bunday holda, bir xil pre-mRNK ekzonlarining qo'shilishi turli yo'llar bilan sodir bo'lishi mumkin, bu esa turli xil etuk mRNKlar va oxir-oqibat turli xil oqsil variantlari (alternativ splays) hosil bo'lishiga olib keladi. Muvaffaqiyatli qayta ishlangan mRNK yadrodan sitoplazmaga eksport qilinadi va tarjimada ishtirok etadi (1.11-rasm).

DNK replikatsiyasi \rightarrow DNK

Replikatsiya - bu tirik organizmlarning avlodlari o'rtasida ma'lumot uzatishning asosiy usuli, shuning uchun DNKning aniq takrorlanishi (replikatsiyasi) juda muhimdir. Replikatsiya xromatinni, so'ngra qo'sh spiralni ochadigan oqsillar majmuasi tomonidan amalga oshiriladi. Shundan so'ng, DNK polimeraza va u bilan bog'liq oqsillar ikkita zanjimning har birida bir xil nusxa hosil qiladi.

DNK \rightarrow RNK transkripsiyasi

Transkripsiya - bu biologik jarayon bo'lib, uning natijasida DNKning bir qismidagi ma'lumotlar sintez qilingan mRNK molekulasiga ko'chiriladi. Transkripsiya transkripsiya omillari va RNK polimeraza tomonidan amalga oshiriladi. Eukaryotik hujayrada birlamchi transkript (pre-mRNK) tez-tez tahrirlanadi. Bu jarayon RNKni qayta ishlash deb ataladi.

RNK → oqsil

Yetuk mRNK tajriba paytida ribosomalar tomonidan o'qiladi. Prokaryotik hujayralarda transkripsiya va translatsiya jarayonlari fazoviy ravishda ajratilmaydi va bu jarayonlar birlashadi. Eukaryotik hujayralarda transkripsiya joyi — hujayra yadrosi transkripsiya joyidan (sitoplazma) yadro membranasi orqali ajratiladi, shuning uchun mRNK yadrodan sitoplazmaga o'tadi. mRNK ribosoma tomonidan uch nukleotidli "so'zlar" sifatida o'qiladi. Boshlanish omillari va cho'zilish omillari komplekslari mRNK-ribosoma kompleksiga aminoatsillangan transfer RNKlarini etkazib beradi.

Axborotni uzatishning maxsus usullari Teskari transkripsiya: RNK → DNK

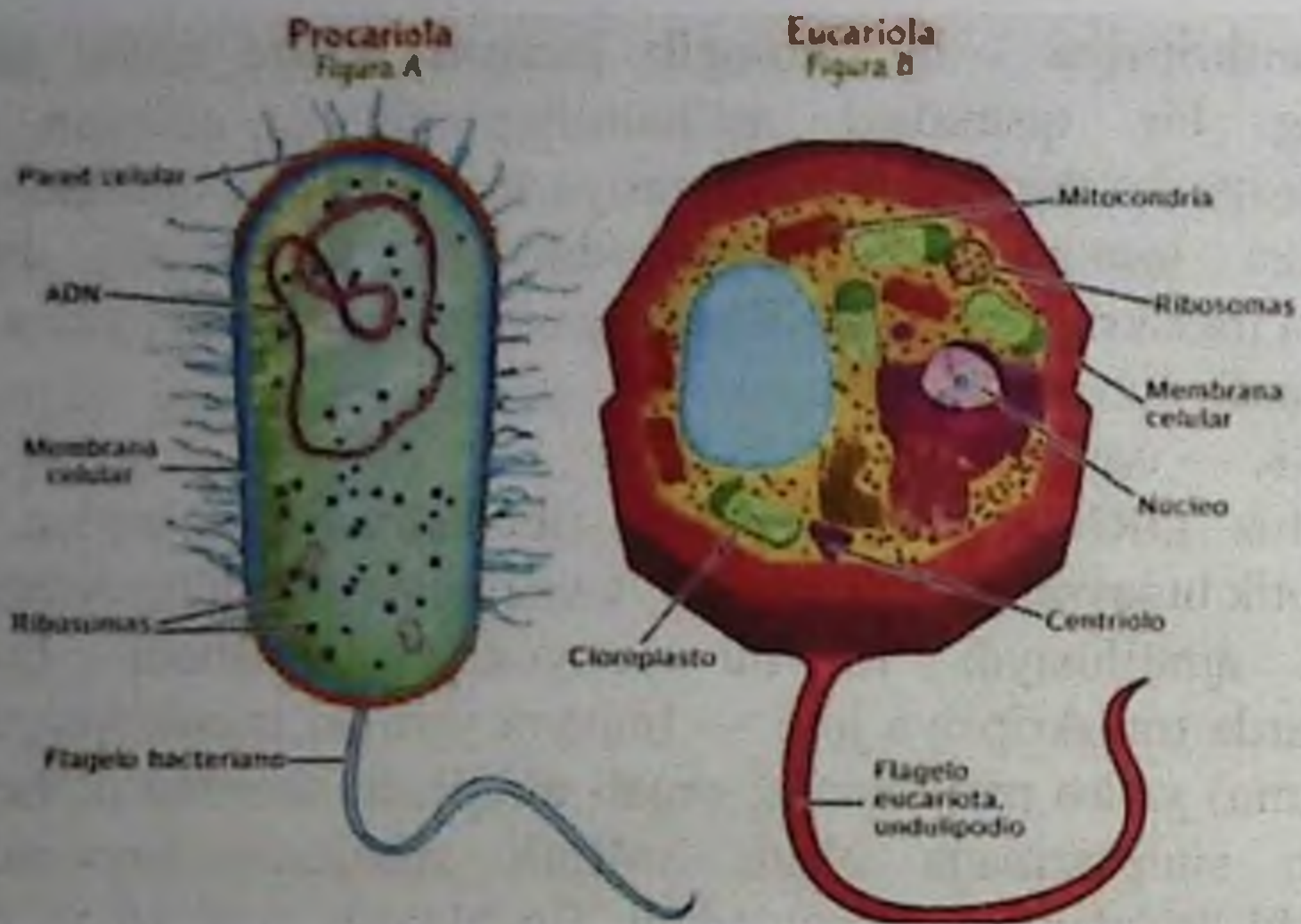
Teskari transkripsiya - bu teskari transkriptaza fermenti tomonidan amalga oshiriladigan normal transkripsiyaga teskari jarayon bo'lgan ma'lumotni RNKdan DNKga o'tkazish. OIV kabi retroviruslarda va retrotranspozonlarda uchraydi.

RNK replikatsiyasi: RNK → RNK

RNK replikatsiyasi - RNKga bog'liq bo'lgan RNK polimeraza fermenti yordamida RNK zanjirining komplementar RNK zanjiriga ko'chirilishi. Tarkibida bir zanjirli viruslar (masalan, pikomaviruslar, shu jumladan oyoq va og'iz kasalligi virusi) yoki ikki zanjirli RNK ham xuddi shunday tarzda ko'payadi.

DNK matritsasidagi oqsilning bevosita tarjimai: DNK → oqsil

To'g'ridan-to'g'ri tarjima mRNK emas, balki ribosomalarni o'z ichiga olgan *Escherichia coli* hujayra ekstraktlarida ko'rsatildi. Bunday ekstraktlar tizimga kiritilgan DNK dan oqsillarni sintez qildi va antibiotik neomitsin bu ta'simi kuchaytirdi.



Rasm 1.11 - Pro-va eukaryotlarda genetik ma'lumotlarni amalga oshirishning sxematik diagrammasi.

Epigenetik o'zgarishlar

Epigenetik o'zgarishlar - bu genetik ma'lumotlarning o'zgarishi (mutatsiyalar) bilan bog'liq bo'lmagan genlarning ifodalanishidagi o'zgarishlar. Epigenetik o'zgarishlar genlarni ifodalash darajasidagi modifikatsiyalar, ya'ni ularning transkripsiyasi va yoki tarjimasida natijasida yuzaga keladi. Epigenetik regulyatsiyaning eng ko'p o'rganilgan turi DNK metiltransferaza oqsillari yordamida DNK metilatsiyasi bo'lib, bu organizmning yashash sharoitiga qarab metillangan genning vaqtincha inaktivatsiyasiga olib keladi. Biroq, DNK molekulasi birlamchi tuzilishi o'zgarmasligi sababli, bu istisno ma'lumotni oqsildan DNK prionlariga o'tkazishning haqiqiy namunasi deb hisoblanmaydi.

Prionlar ikki shaklda mavjud bo'lgan oqsillardir. Proteinning shakllaridan biri (konformatsiyasi) funktsionaldir, odatda suvda eriydi. Ikkinchi Rasm ko'pincha molekulyar polimer naychalari shaklida suvda erimaydigan agregatlarni hosil qiladi. Monomer - oqsil molekulasida boshqa shunga o'xshash oqsil molekulalariga qo'shib, ularni ikkinchi, prionga o'xshash konformatsiyaga o'tkazishga qodir. Qo'ziqorinlarda bunday molekulalar meros bo'lishi mumkin. Ammo, DNK metilatsiyasida bo'lgani kabi, bu holda oqsilning birlamchi tuzilishi bir xil bo'lib qoladi va ma'lumot nuklein kislotalarga o'tkazilmaydi.

1.2 Ribonuklein kislotalari

Ribonuklein kislotalari (RNK) barcha tirik organizmlarning hujayralarida joylashgan uchta asosiy makromolekullardan biri (qolgan ikkita DNK va oqsillar).

Xuddi DNK (deoksiribonuklein kislotalari) singari, RNK ham har bir bo'g'in nukleotid deb ataladigan uzun zanjirdan iborat. Har bir nukleotid azotli asos, ribozaning shakar va fosfat guruhidan iborat. Nukleotidlar ketma-ketligi RNKga genetik ma'lumotni kodlash imkonini beradi. Barcha hujayrali organizmlar oqsil sintezini dasturlash uchun RNK (mRNK) dan foydalanadi.

Hujayra RNKsi transkripsiya deb ataladigan jarayon davomida hosil bo'ladi, ya'ni maxsus fermentlar - RNK polimerazalar tomonidan amalga oshiriladigan DNK shablonidagi RNK sintezi. Messenger RNK (mRNK) keyin tarjima deb ataladigan jarayonda ishtirok etadi. Translatsiya - ribosomalar ishtirokida mRNK matritsasida oqsil sintezi. Boshqa RNKlar transkripsiyadan so'ng kimyoviy modifikatsiyadan o'tadi va ikkilamchi va uchinchi darajali tuzilmalar hosil bo'lgandan so'ng ular RNK turiga qarab funktsiyalarni bajaradilar.

Bir zanjirli RNK turli xil fazoviy tuzilmalar bilan tavsiflanadi, ularda bir xil zanjirning ba'zi nukleotidlari bir-biri bilan juftlashgan. Ba'zi yuqori tuzilgan RNKlar hujayra oqsillari sintezida ishtirok etadilar, masalan, transfer RNKlari kodonlarni tanib olish va oqsil sintezi joyiga tegishli aminokislotalarni etkazib berish uchun xizmat qiladi, ribosoma RNKlari esa ribosomalarning strukturaviy va katalitik asosi bo'lib xizmat qiladi.

Biroq, zamonaviy hujayralardagi RNKning funktsiyalari ularning tarjimadagi roli bilan cheklanmaydi. Shunday qilib, kichik yadroli RNKlar eukaryotik shablonli RNKlarning birlashishi va boshqa jarayonlarda ishtirok etadi.

RNK molekulalari ba'zi fermentlarning (masalan, telomeraza) bir qismi ekanligiga qo'shimcha ravishda, individual RNKlar o'zlarining fermentativ faolligiga ega: boshqa RNK molekulalarida uzilishlar kiritish yoki aksincha, ikkita RNK bo'lagini bir-biriga "yopishtirish" qobiliyati. Bunday RNKlar ribozimlar deb ataladi.

Bir qator viruslarning genomlari RNK dan iborat, ya'ni ularda DNK yuqori organizmlarda bajaradigan rolini bajaradi. Hujayralardagi RNK funktsiyalarining xilma-xilligiga asoslanib, RNK prebiologik

tizimlarda o'z-o'zini ko'paytirishga qodir bo'lgan birinchi molekula ekanligi faraz qilindi.

1.2.1 Monomerlarning kimyoviy tarkibi va modifikatsiyalari

RNK nukleotidlari shakar, ribozadan iborat bo'lib, unga asoslardan biri 1' pozitsiyasida biriktirilgan: adenin, guanin, sitozin yoki urasil (rasm 1.12).



1.12 - rasm-polinukleotidning kimyoviy tuzilishi

Fosfat guruhi ribozani zanjirga bog'lab, bir ribozaning 3' uglerod atomida va ikkinchisining 5' pozitsiyasida bog'lar hosil qiladi. Fosfat guruhlari fiziologik pH da manfiy zaryadlangan, shuning uchun RNK polianion hisoblanadi. RNK to'rtta asos (adenin (A), guanin (G), urasil (U) va sitozin (C) polimeri sifatida transkripsiyalanadi, ammo "etuk" RNK ko'plab o'zgartirilgan asoslar va shakarlarga ega RNKda jami 100 ga yaqin modifikatsiyalangan nukleotidlar mavjud bo'lib, ulardan 2-O-metilriboza shakar modifikatsiyasi, psevdouridin esa eng keng tarqalgan modifikatsiyalangan asosdir.

Psevdouridinda (r) urasil va riboza o'rtasidagi bog'lanish C - N emas, balki C - C bo'lib, bu nukleotid RNK molekulalarida turli pozitsiyalarda bo'ladi. Xususan, psevdouridin tRNK funktsiyasi uchun muhimdir. Yana bir e'tiborga molik modifikatsiyalangan asos - bu gipoksantin, deaminatsiyalangan adenin, uning nukleozidi inozin deb

hududlari boshqa fosfat bog'lariga kimyoviy hujum qilishi va ularni parchalashi mumkin.

Bir zanjirli RNK molekulasi "ishchi" shakli, oqsillar kabi, ko'pincha uchinchi darajali tuzilishga ega. Uchlamchi struktura bitta molekula ichidagi vodorod bog'lari orqali hosil bo'lgan ikkilamchi strukturaning elementlari asosida hosil bo'ladi. Ikkilamchi tuzilish elementlarining bir nechta turlari mavjud: stend- ilmoqlar, halqalar va psevdoknotlar. Mumkin bo'lgan asoslar juftligining ko'pligi tufayli RNKning ikkilamchi tuzilishini bashorat qilish oqsillarning ikkilamchi tuzilishini bashorat qilishdan ko'ra ancha qiyinroq vazifadir.

RNK ning rRNK va snRNK kabi ko'pgina turlari hujayralarda RNK molekulalari sintez qilingandan so'ng yoki (eukariotlarda) yadrodan sitoplazmaga eksport qilingandan so'ng ular bilan bog'langan oqsillar bilan komplekslar shaklida ishlaydi. Bunday RNK-oqsil komplekslari ribonukleoprotein komplekslari yoki ribonukleoproteinlar deb ataladi.

DNK bilan taqqoslash.

DNK va RNK o'rtasida uchta asosiy farq mavjud:

1. DNKda shakar dezoksiriboza, RNK tarkibida dezoksiribozaga nisbatan qo'shimcha gidroksil guruhi bo'lgan riboza mavjud. Bu guruh molekulaning gidrolizlanish ehtimolini oshiradi, ya'ni RNK molekulasi barqarorligini pasaytiradi.

2. RNKdagi adeninni to'ldiruvchi nukleotid DNKdagi kabi timin emas, balki urasil timinning metillanmagan shaklidir.

3. DNK ikkita alohida molekuladan tashkil topgan qo'sh spiral shaklida mavjud. RNK molekulalari, o'rtacha, ancha qisqaroq va asosan bir zanjirli.

Biologik faol RNK molekulalarining, shu jumladan tRNK, rRNK, snRNK va oqsillarni kodlamaydigan boshqa molekulalarning strukturaviy tahlili shuni ko'rsatdiki, ular bitta uzun spiraldan emas, balki bir-biriga yaqin joylashgan va shunga o'xshash narsalarni hosil qiluvchi ko'p sonli qisqa spirallardan iborat.

1.2.3 RNK sintezi

Tirik hujayradagi RNK sintezi RNK polimeraza fermenti tomonidan amalga oshiriladi.

Eukariotlarda har xil turdagi RNKlar har xil maxsus RNK polimerazalar tomonidan sintezlanadi. Umuman olganda, RNK sintezi uchun shablon DNK yoki boshqa RNK molekulasini bo'lishi mumkin.

Masalan, polioviruslar o'zlarining RNK genetik materialini ko'paytirish uchun RNKga bog'liq RNK polimerazadan foydalanadilar.

Ammo ilgari faqat viruslarga xos bo'lgan RNKga bog'liq RNK sintezi ham hujayrali organizmlarda, RNK interferensiyasi deb ataladigan jarayonda sodir bo'ladi

DNKga bog'liq RNK polimeraza va RNKga bog'liq RNK polimerazada ferment promotor ketma-ketligiga biriktirilgan. Shablon molekulasi ikkilamchi strukturasi polimerazaning spiral faolligi bilan ochiladi, u substrat molekulaning 3 uchidan 5 gacha bo'lgan yo'nalishda harakat qilganda, RNKni 5 → 3 yo'nalishda sintez qiladi. Asosiy molekuladagi transkripsiya terminatori sintezning tugashini aniqlaydi. Ko'pgina RNK molekulalari "tahrirlash" dan o'tadigan prekursor molekulalari sifatida sintezlanadi - RNK-oqsil komplekslari yordamida keraksiz qismlarni olib tashlanadi.

Masalan, ichak tayoqchasida rRNK genlari bitta operonning bir qismi sifatida joylashgan (rnmBda joylashish tartibi quyidagicha: 16S - tRNAGlu2 - 23S -5S) bitta uzun molekula sifatida o'qiladi, keyinchalik ular bir nechta bo'linishlarga uchraydi. bo'limlari birinchi bo'lib pre-rRNK, so'ngra etuk rRNK molekulalarini hosil qiladi Sinteزدan keyin RNKning nukleotidlar ketma-ketligini o'zgartirish jarayoni RNKni qayta ishlash yoki tahrirlash deb ataladi.

Transkripsiya tugagandan so'ng, RNK ko'pincha modifikatsiyaga uchraydi (yuqoriga qarang), bu molekula bajaradigan funktsiyaga bog'liq. Eukariotlarda RNKning "etilishi", ya'ni uni oqsil sinteziga tayyorlash jarayoni ko'pincha splisingni o'z ichiga oladi.

1.2.4. RNK turlari

Messenger (informatsion) RNK - bu DNKda kodlangan ma'lumotni tirik organizmdagi oqsillarni sintez qiluvchi molekulyar mashinalar - ribosomalarga uzatishda vositachi bo'lib xizmat qiluvchi RNK. mRNKning kodlash ketma-ketligi oqsilning polipeptid zanjirining aminokislotalar ketma-ketligini aniqlaydi. Biroq, RNKlarning katta qismi oqsilni kodlamaydi. Ushbu kodlanmagan RNKlar individual genlardan (masalan, ribosoma RNKlari) transkripsiyalanishi yoki intronlardan olinishi mumkin. Kodlanmagan RNKlarning klassik, yaxshi o'rganilgan turlari translatsiya jarayonida ishtirok etuvchi transfer RNK (tRNK) va rRNKdir. Shuningdek, genlarni tartibga solish, mRNKni qayta ishlash va boshqa rollar uchun mas'ul bo'lgan RNK sinflari mavjud. Bundan tashqari, RNK molekulalarini kesish va bog'lash kabi

kimyoviy reaksiyalarni katalizlashi mumkin bo'lgan kodlanmaydigan RNK molekulalari mavjud..Kimyoviy reaksiyalarni katalizlashga qodir oqsillar - fermentlar (fermentlar) bilan o'xshash katalitik RNK molekulalari ribozimlar deb ataladi.

Genlarni tartibga solishda ishtirok etadigan RNKlar.

Tirik hujayralarda RNK ning bir necha turlari topilgan, ular mRNK yoki genning o'ziga to'ldiruvchi bo'lganida gen ekspressiya darajasini pasaytiradi. MikroRNKlar (uzunligi 21-22 nukleotidlar) eukariotlarda bo'ladi va o'z ta'sirini RNK interferensiya mexanizmi orqali amalga oshiradi. Kichik interferentsion RNKlar (sRNKlar, 20-25 nukleotidlar) ko'pincha virusli RNKlarning parchalanishi natijasida hosil bo'ladi, ammo endogen hujayrali sRNKlar ham mavjud. Kichik interferentsion RNKlar ham mikroRNKlarga o'xshash mexanizmlar orqali RNK aralashuvi orqali harakat qiladi.Hayvonlarda Piwi (pRNK, 29-30 nukleotidlar) bilan o'zaro ta'sir qiluvchi RNK deb ataladigan, jinsiy hujayralarda transpozitsiyaga qarshi ta'sir ko'rsatadigan va gametalarning shakllanishida rol o'ynaydigan RNKlar topilgan.

RNKni qayta ishlashda ishtirok etadigan RNKlar.

Ko'pgina RNKlar boshqa RNKlarni o'zgartirishda ishtirok etadi. Intronlar mRNKdan oldingi spliceosomal tomonidan chiqariladi, ular oqsillarga qo'shimcha ravishda bir nechta kichik yadro RNKlarini (snRNKlar) o'z ichiga oladi.

Bundan tashqari, intronlar o'zlarining eksizyonini katalizlashi mumkin. Transkripsiya natijasida sintez qilingan RNK kimyoviy jihatdan ham o'zgarishi mumkin. Eukariotlarda RNK nukleotidlarining kimyoviy modifikatsiyalari, masalan, ularning metillanishi kichik yadroli RNKlar (snRNK, 60-300 nukleotid) tomonidan amalga oshiriladi. SnRNKlar fermentlar bilan bog'langandan so'ng, snRNKlar ikkita molekula o'rtasida tayanch juftlarini hosil qilish orqali maqsadli RNK bilan bog'lanadi va fermentlar maqsadli RNK nukleotidlarini o'zgartiradi. Ribosomal va transfer RNKlari ko'plab bunday modifikatsiyalarni o'z ichiga oladi, ularning o'ziga xos pozitsiyasi ko'pincha evolyutsiya jarayonida saqlanib qoladi. SnRNKlarning o'zlari ham o'zgartirilishi mumkin.

RNK dan tuzilgan genomlar

DNK singari, RNK ham biologik jarayonlar haqidagi ma'lumotlarni saqlashi mumkin.

RNK genomik viruslar va virusga o'xshash zarrachalar sifatida ishlatilishi mumkin (2.14-rasm). RNK genomlarini DNK oraliq

bosqichiga ega bo'lmagan va ko'payish uchun DNK nusxasiga va qayta RNKga ko'chiriladiganlarga bo'lish mumkin (retroviruslar).

RNK viruslari

Ko'pgina viruslar, masalan, gripp virusi, barcha bosqichlarda to'liq RNKdan iborat genomni o'z ichiga oladi. RNK odatda oqsil qobig'ida joylashgan va uning ichida kodlangan RNKga bog'liq RNK polimerazalari yordamida ko'paytiriladi (1.14-rasm).

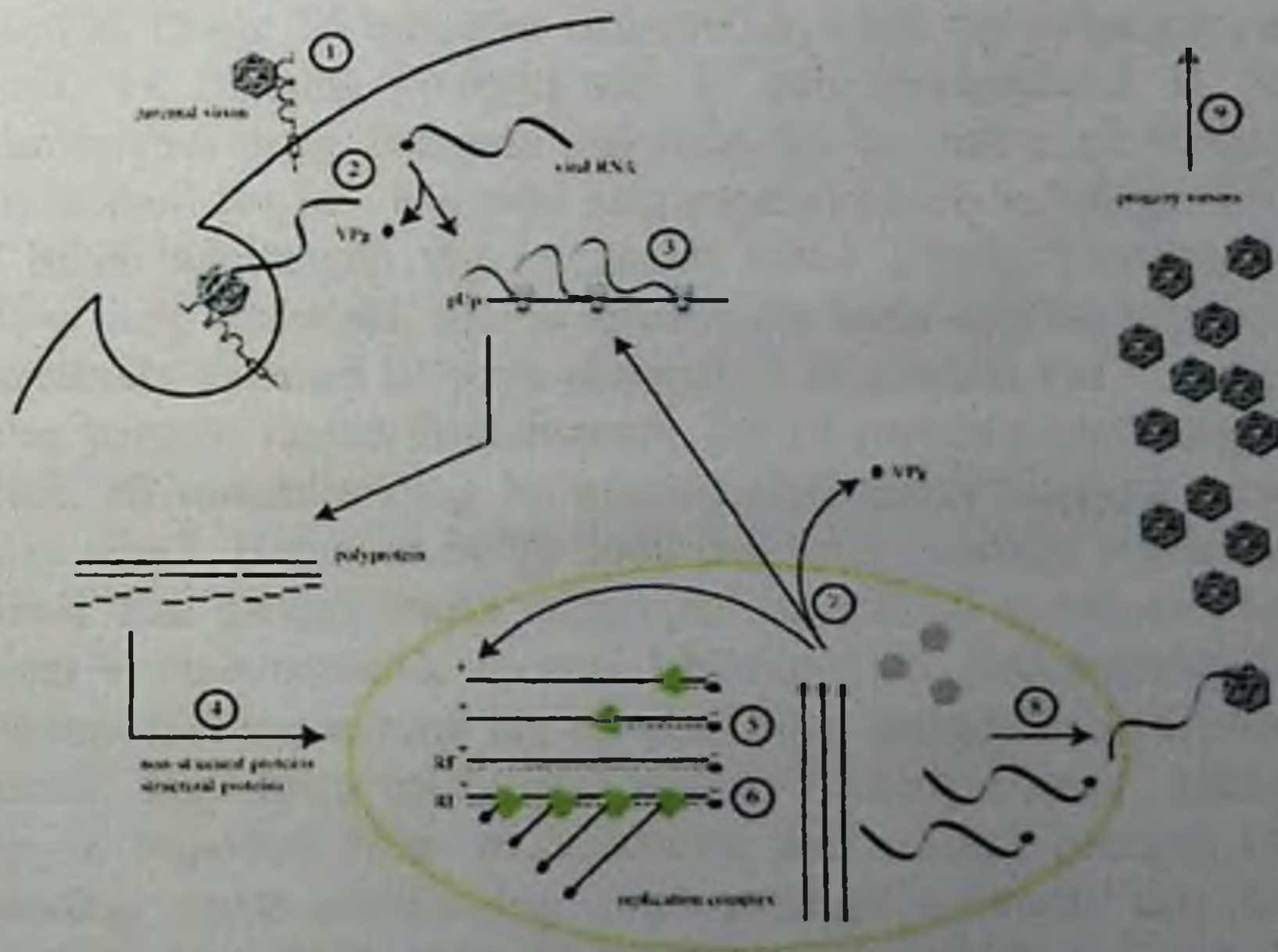
RNK dan tashkil topgan virus genomlari quyidagilarga bo'linadi

- ham mRNK, ham genom sifatida qo'llaniladigan "plyus zanjirli RNK" ni o'z ichiga olgan;

- "minus zanjir RNK", u faqat genom vazifasini bajaradi va mRNK sifatida unga komplementar viruslar

- ikki zanjirli viruslar.

Viroidlar molekula RNK genomini o'z ichiga olgan va oqsilsiz boshqa patogenlar guruhidir. Ular xojayin organizmning RNK polimerazalari tomonidan ko'paytiriladi.



1.14-rasm-poliovirus misolida RNK genomiga ega virusning hayot aylanishi: 1-asl virionni retseptorga biriktirish; 2-virion hujayraga kiradi; 3-polipetid hosil qilish uchun virus oqsillarini RNK bilan tarjima qilish; 4-virusning polimerazalari

Retroviruslar va retrotranspozon

Boshqa viruslar RNK genomiga hayot aylanishining faqat bir bosqichida ega. Retroviruslar deb ataladigan virionlar RNK molekulalarini o'z ichiga oladi, ular xost hujayralariga kirib, sintez uchun matritsa bo'lib xizmat qiladi.

DNK nusxalari. O'z navbatida, DNK shablonini RNK geni o'qiydi. Viruslarga qo'shimcha ravishda, teskari transkripsiya mobil genom elementlari sinfi - retrotranspozonlar tomonidan ham qo'llaniladi.

Nazorat savollari

1 DNK tuzilishi

2 DNKning tuzilishiga ko'ra asosiy vazifalari nimalardan iborat?

3 Irsiy axborotni uzatishning qanday usullari mavjud?

1 RNK tuzilishi

2 RNK monomerlarining kimyoviy tarkibi va modifikatsiyalari

3 RNK sintezi

4 RNK turlari va ularning vazifalari

II BOB. GENLAR VA GENOMLAR

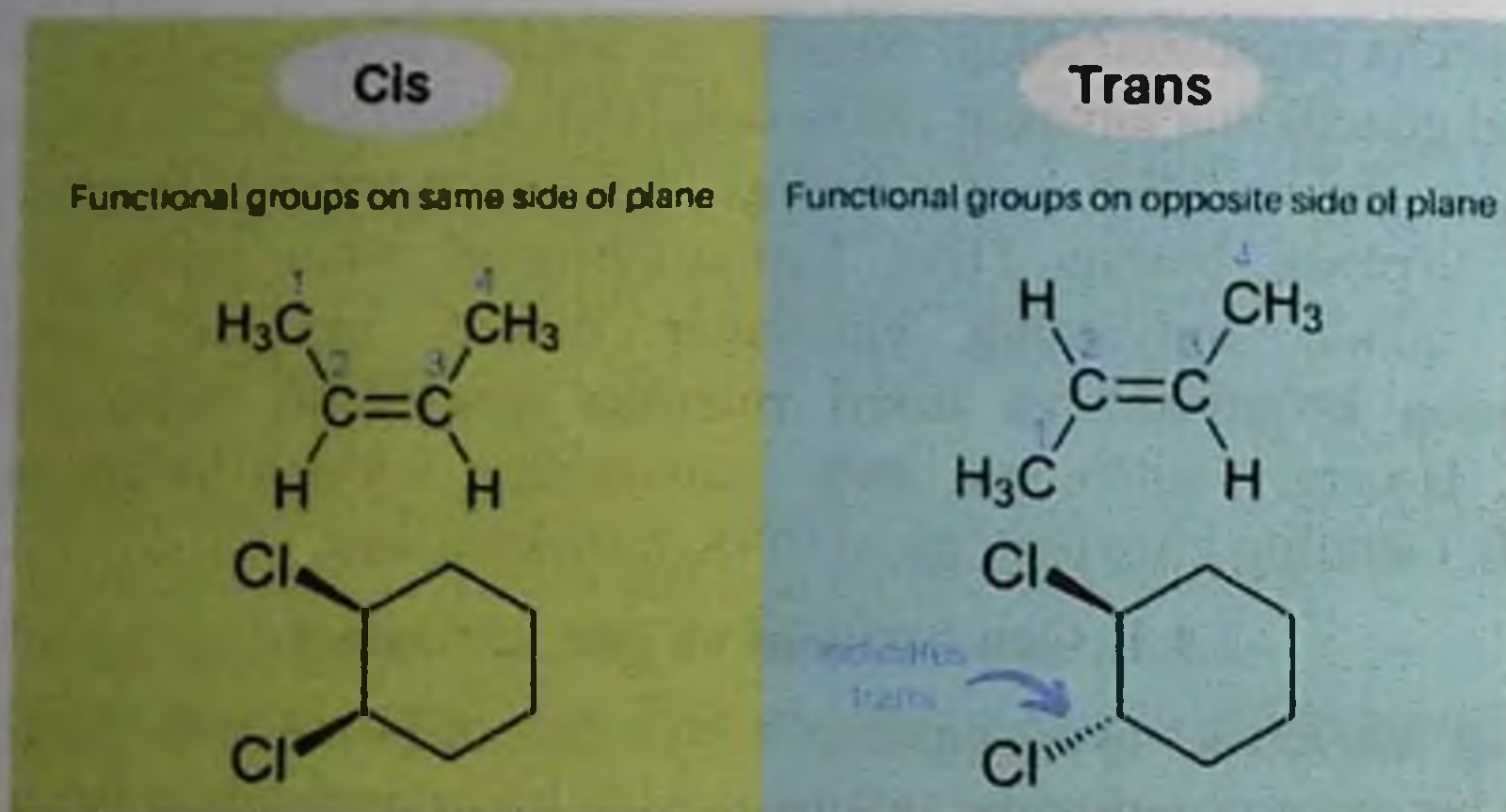
2.1 Genlar: umumiy ma'lumot

Barcha organizmlardagi oqsillar va nuklein kislotalarning tuzilishi haqidagi genetik ma'lumotlar DNK yoki RNK molekulalarida genlar deb ataladigan nukleotidlar ketma-ketligi shaklida mavjud. Organizmning genlari to'plami boshqa DNK ketma-ketliklari bilan birga genomni tashkil qiladi. Irsiyatning elementar diskret birliklari genlardir. Genlarning ko'payishi va ta'siri matritsa jarayonlari bilan bevosita bog'liq. Hozirgi vaqtda gen irsiy materialning ishlash birligi sifatida qaraladi. Genning kimyoviy asosi DNK molekulasidir.

2.1.1. Gen tuzilishi va gen xaritalari

Fag va ichak tayoqchasidan tortib drozofila va ipak qurtigacha bo'lgan bir qator organizmlar uchun alohida lokuslarning batafsil genetik xaritasi o'tkazildi, ya'ni gen xaritalari tuzilgan. Bunday tahlilga misol sifatida S. Benzeming T4 fagda olib borilgan tadqiqotlarini keltirish mumkin. Phage T4 bakterial virus bo'lib, ichak tayoqchasida parazitlik qiladi. T4 faging yovvoyi turi E. coli shtammlarini B, K va S shtammlarini teng darajada parchalaydi, bu bakterial shtammlarida mayda steril dog'lar - bakterial lizis zonalari paydo bo'lishiga olib keladi. rII bilan belgilangan fag mutantlari tahlil qilindi. Ularning yovvoyi turdan farqi shundaki, ular B shtammida katta dog'lar hosil qiladi, K shtammida umuman ko'paya olmaydi, S shtammida esa o'sish shakliga ko'ra yovvoyi turdan farqlanmaydi, bir xil mayda o steril dog'lar hosil qiladi. rII mutantlarining bu xususiyatlari ularni tadqiqot uchun juda qulay qiladi. Hammasi bo'lib 2000 dan ortiq mustaqil mutantlari tahlil qilindi. Har qanday ikkita mutatsiyaning allelligi masalasini hal qilish uchun komplementarlik mezoni ishlatilgan. K shtammining bakterial shtammi ikki mutantning fag zarralari bilan aralash infeksiyalandi. Ikki mutant fag zarrachalarining aralash-infeksiyalangan kulturasidagi xojayin hujayrasi bilan munosabatini turli mutant genlarni tashuvchi gomolog xromosomalarning munosabatiga o'xshash deb hisoblash mumkin. Agar ikkita mutant bilan birgalikda infeksiya K shtammining hujayra lizisiga olib kelmasa, u holda ikkala fagdagi mutatsiyalar bir xil funktsiyaga ta'sir qiladi va bir genda sodir bo'ladi. Agar qo'shma infeksiya paytida yovvoyi tur tiklansa, ya'ni K shtammi hujayralarining lizisi sodir bo'lsa, bu mutatsiyalar bir-birini to'ldiruvchi va turli genlarda sodir bo'lganligini anglatadi. Ushbu test natijasida barcha tahlil qilingan

mutantlari ikkita katta guruhga bo'lingan: A va B. Mutantlar har bir guruhining mutatsiyalari bir-biriga allel bo'lgan, ammo ular boshqa guruh mutatsiyalariga allel emas edi (2.1-rasm).



Rasm 2.1. Mutatsiyalar turini aniqlash uchun cis trans testi

Har qanday ikkita mutantlari o'rtasidagi rekombinatsiya chastotasini aniqlash uchun ikkinchisi suyuq muhitda *E. coli* shtammi B hujayralarining aralash infeksiyasi (har ikkala mutant fag bilan) orqali kesib o'tdi. Yangi ishlab chiqilgan fag zarralari orasida asl rekombinant bo'lmagan mutant shakllari ham, ikkita rekombinant shakllari ham paydo bo'lishi kerak, deb taxmin qilindi: qo'sh mutantlar va teng miqdorda yovvoyi tip. Buni tekshirish uchun lizat standart muhitda rivojlanayotgan B shtammi bakterial shtammi va K shtammi kulturasiga o'tkazildi. B shtammi kulturasida fag zarrachalarining mutant (rekombinant bo'lmagan va rekombinant) va normal, rekombinant shakllari o'sdi. K shtammi kulturasida faqat rekombinant yovvoyi tipdagi zarrachalar rivojlanishi mumkin edi.

Yovvoyi tipdagi va qo'sh mutant zarrachalar teng ehtimollik bilan paydo bo'lganligi sababli (bitta rekombinatsiya hodisasidan), ularning umumiy soni taxminan bir xil bo'lishi kerak. Rekombinatsiya chastotasini hisoblash uchun K shtammidagi dog'lar sonini ikki marta B shtammidagi dog'larning umumiy soniga bo'lish kerak. Bu mos keladigan rII mutatsiyalari orasidagi rekombinatsiya chastotasini aniqlaydi.

Barcha mutantlarning xojayinlarini juftlik bilan tekshirish juda katta mehnat talab qiladi, chunki talab qilinadigan tajribalar soni tekshirilgan mutantlar sonining kvadratiga mutanosib ravishda ortadi.

Shuning uchun ikkita qo'shni A va B genlarini xaritalash ishini engillashtirish uchun turli uzunlikdagi kamchiliklar - o'chirishlar - mutantlar ishlatilgan.

Ma'lumki, o'chirish - bu xromosoma bo'limining yo'qolishi. Shuning uchun bu mintaqada teskari mutatsiyalar mumkin emasligi tabiiydir. K shtammida yetishtirilganda fag T4 individual rII mutantlarining yovvoyi tipga teskari mutatsiyalari chastotasini o'rganish shuni ko'rsatdiki, bir qator mutantlar umuman normal holatga qaytmaydi, ya'ni ular bu shtammaning bakteriyalarini lizislashtirmaydi va shuning uchun K shtammida steril dog'lar hosil qilmaydi. Bundan tashqari, bu mutantlarning har biri o'zaro rekombinatsiyani aniqlagan ba'zi boshqa mutantlar bilan rekombinatsiyani aniqlamadi. Bu takroriy mutatsiyalarga qodir bo'lmagan va rekombinatsiyalarni keltirib chiqarmaydigan mutantlar o'chirish natijasida yuzaga kelganligini ko'rsatdi.

Mutantlarning umumiy soni orasida kamchiliklar tufayli bunday barqaror mutantlarning sezilarli soni topildi. Ushbu barqaror mutantlar yuqorida tavsiflangan usuldan foydalangan holda juft xojayinlar orqali lokalizatsiya qilindi. Shunday qilib, T4 fag xaritasida ikkita A va B genlari lokusunin parchalanishi alohida bo'limlarga ajratildi. Keyinchalik, bir-biriga o'xshash delesiyalar yordamida xaritalash boshlandi.

Ikki xil mutantni kesib o'tishda, ulardan biri katta delesiya natijasida yuzaga kelgan bo'lsa, ikkinchi mutatsiya ushbu bo'linish hududida paydo bo'lgan bo'lsa, ular o'rtasida rekombinatsiya sodir bo'lmaydi.

A va B genlarining deyarli butun hududlarini qamrab oluvchi yettita katta o'zaro delesiya tanlandi. Bu delesiyalarning har biri raqamlangan: r1272, r1241, r13, rPT1, rPB242, rA105 va r638. Yangi paydo bo'lgan mutant ushbu oltita delesiyadan birini olib yurgan tanlangan mutantlarning har biri bilan kesishgan. Rekombinatsiyaning yo'qligidan kelib chiqib, A va B genlari xaritasining tegishli bo'limida yangi paydo bo'lgan mutatsiyaning taxminiy lokalizatsiyasi aniqlandi. Ma'lum bir bo'limda mutatsiyalar yetarli miqdorda paydo bo'lganda, ularning bir-biriga nisbatan chiziqli joylashishi aniqlandi. o'zaro kesishuvlar bilan belgilanadi.

Agar mutatsiyalar T4 fag DNK molekulasining bo'limlaridagi o'zgarishlarning natijasi bo'lsa, mutatsiyalarni tobora aniqroq lokalizatsiya qilish orqali ushbu bo'limni juda nozik xaritalash mumkin.

Shunday qilib, pastki chiziqdagi diagrammada ko'rsatilgan etti mutatsiyali o'zgarishlar DNK molekulasining juda qisqa qismida joylashgan. Misol uchun, rII164 delesiyasi bilan qoplangan A gen uchastkasida diqqat bilan xaritalashdan o'tkazildi.

Ushbu uchastkada 149 ta mutatsiya mavjud edi. Ulardan 123 ta mutatsiya bir nuqtada lokalizatsiya qilingan. Xuddi shunday rasm A va B genlarining boshqa hududlarida ham kuzatilgan.

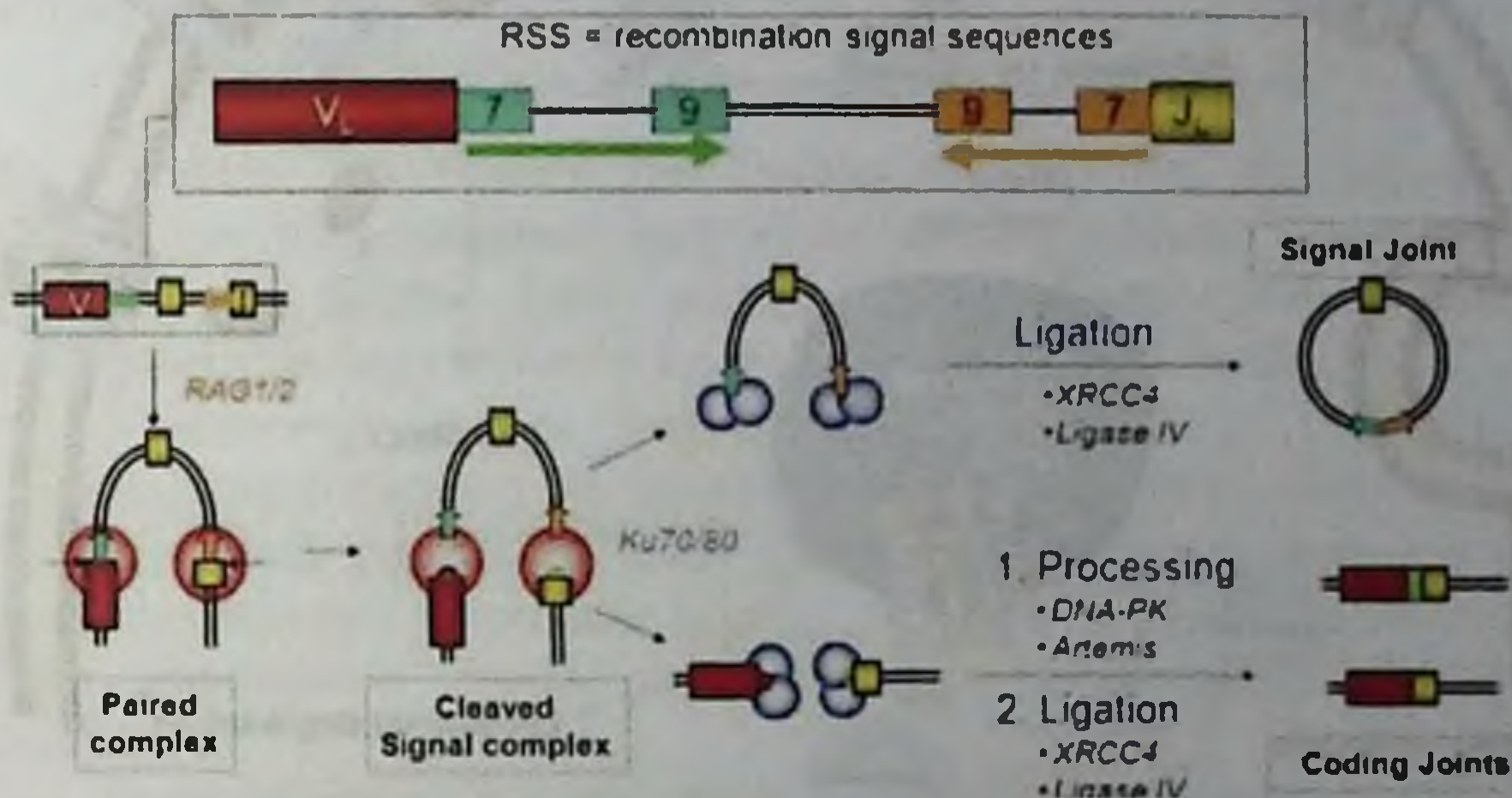
Oxir-oqibat, mustaqil kelib chiqadigan 2000 dan ortiq rII lokusu mutatsiyalari tahlil qilindi va xaritaga tushirildi.

Komplementarlik mezoni va rekombinatsiyalar shuni ko'rsatdiki, o'z tabiatiga ko'ra nuqta o'zgarishlari yoki genetik materialning kattaroq qayta tuzilishi bilan bog'liq o'zgarishlar - delesiyalar ikkita qo'shni funktsional jihatdan turli mintaqalarda - A va B genlarida tarqalgan.

A va B genlari bir yoki bir nechta mutatsion o'zgarishlar sodir bo'lgan 300 dan ortiq nuqtalarni o'z ichiga oladi. Mutatsiyalarning tarqalishi tabiati tasodifiy bo'lmagan. Ikkala gen xaritasida mutatsiyalar ayniqsa tez-tez sodir bo'ladigan nuqtalar mavjud edi. Bunga misol rII164 delesiyalash joyida mutatsiyalarning tarqalishidir. Bunday nuqtalar yoki joylar "qaynoq nuqtalar" deb ataladi. Bu qaynoq nuqtalar gen ichida teng taqsimlanmagan. Ta'kidlanishicha, ular nafaqat spontan mutatsiyaga, balki ma'lum kimyoviy vositalar ta'siriga ham xosdir. Shunday qilib, ishlatiladigan purin yoki pirimidin analoglarining har biri - 5-bromuratsil, 5-bromodeoksiuridin, 2-aminopurin va proflavin - o'ziga xos "qaynoq nuqta" tarqalish spektrini keltirib chiqardi. Agentlar harakatining o'ziga xosligi ularning teskari mutatsiya jarayoniga ta'sirida ham namoyon bo'ldi. 2-aminopurin yoki 5-bromuratsil tomonidan qo'zg'atilgan mutatsiyalar, asosan, xuddi shu agentlar ta'sirida qaytariladi. Shu bilan birga, bu agentlar spontan mutatsiyalarda yoki proflavin tomonidan qo'zg'atilgan mutatsiyalarda normal holatga qaytishga qodir emas edi. Bu faktlar mutatsiyalarning sabablarini va genetik materialning mohiyatini tushunish uchun katta ahamiyatga ega.

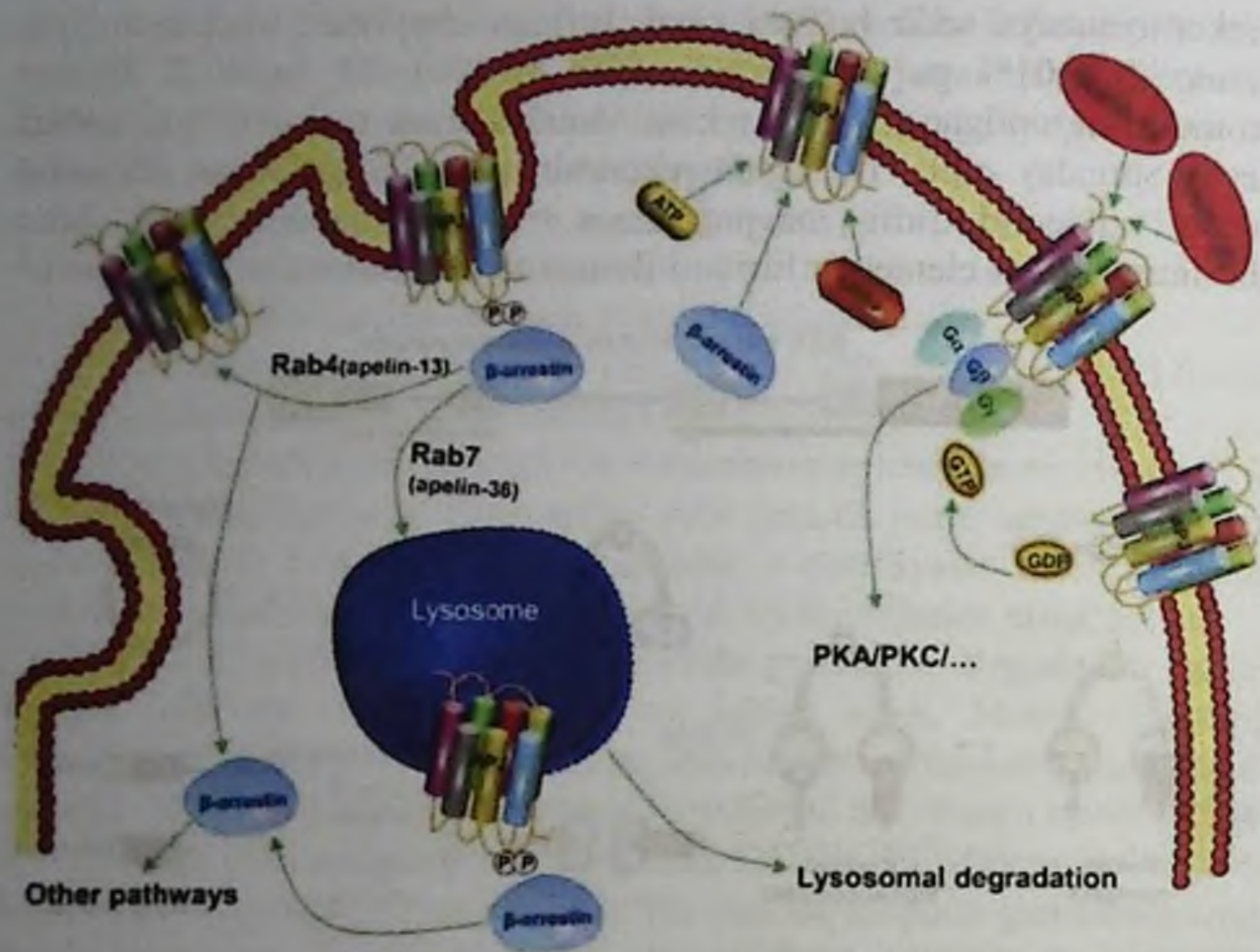
DNKning irsiy axborotning moddiy tashuvchisi sifatida tan olinishiga asoslanib, S. Benzer T4 fagning rII hududi xaritasining genetik va fizik (molekulyar) masshtablarini solishtirishga harakat qildi. Ma'lumki, bakteriya hujayrasiga kirib boradigan fag DNKsi taxminan 8×10^4 juft nukleotidlardan iborat bo'lib, ularning nisbiy joylashuvi genetik ma'lumotni belgilaydi. Rekombinatsiya birliklarida o'lchanadigan fag T4 ning butun genetik xaritasining uzunligi taxminan 800% ni tashkil qiladi. Bu erdan ikkita qo'shni nukleotid juftligi o'rtasida

rekombinatsiya sodir bo'lishi kerak bo'lgan chastotani hisoblash qiyin emas. U 0.01% ga teng bo'ladi (800: 8: 104). T4 fagida S. Benzer tomonidan topilgan eng past rekombinatsiya chastotasi 0,02% ni tashkil etdi. Shunday qilib, T4 fagida rekombinatsiya birligi uchun ikkitadan ortiq nukleotid jufti mavjud emas. Rekombinatsiya yo'li bilan bo'linmaydigan elementar birlikni Benzer tomonidan recon deb atagan.



2.5-rasm. Bitta nukleotid ichida rekombinatsiya

Mutatsiyalar turli uzunlikdagi hududlarga ta'sir qilishi mumkin. Hozirgacha 0.05% dan ko'p bo'lmagan hududlarda mutatsion o'zgarishlar aniqlangan. Hududlarning bunday kichik o'lchamlarini hisobga olgan holda, mutatsiya birligi alohida nukleotidlardagi o'zgarishlarni o'z ichiga olishi kerakligini tan olish kerak. Benzer eng kichik hudud deb atadi, bu o'zgarish mutatsiyaga olib kelishi mumkin bo'lgan mutondir. Muton va rekonning o'lchamlari bir juft DNK nukleotidiga to'g'ri keladi.



2.6-rasm. Bitta nukleotidni almashtirish orqali gen mutatsiyalari

Benzer, funktsiya genining birligini ilgari yangi "cistron" atamasi bilan qabul qilganimizdek, belgilashni taklif qiladi. Benzer sistrononni xromosomaning sis-trans effekti aniqlanadigan hududi deb atagan; Sistron bitta funktsiyani belgilaydi.

Ikki mutant fag zarrachalarining aralash-infektsiyalangan kulturadagi xost hujayrasi bilan munosabatini turli mutant genlarni tashuvchi homolog xromosomalarning munosabatiga o'xshash deb hisoblash mumkin. Agar ikkita mutant bilan birgalikda infeksiya K shtammining hujayra lizisiga olib kelmasa, u holda ikkala fagdagi mutatsiyalar bir xil funktsiyaga ta'sir qiladi va bir genda sodir bo'ladi. Agar qo'shma infeksiya paytida yovvoyi tur tiklansa, ya'ni K shtammi hujayralarining lizisi sodir bo'lsa, bu mutatsiyalar bir-birini to'ldiruvchi va turli genlarda sodir bo'lganligini anglatadi. Ushbu test natijasida barcha tahlil qilingan rII mutantlari ikkita katta guruhga bo'lingan: A va B. Mutantlar har bir guruhining mutatsiyalari bir-biriga allel edi, lekin ular boshqa guruh mutatsiyalariga allel emas edi.

Shunday qilib, genning nozik xaritasi genning mutatsiya, rekombinatsiya va faoliyat birligi sifatidagi oldingi g'oyasi etarli emasligini ko'rsatdi. Gen irsiy materialning yanada murakkab strukturaviy va funktsional birligi bo'lib, uning ichida mutatsiya va rekombinatsiya jarayonlari sodir bo'ladi. Shuni ta'kidlash kerakki, bizning adabiyotimizda "transgen" atamalari va "basigen", muton va sistronga mos keladi.

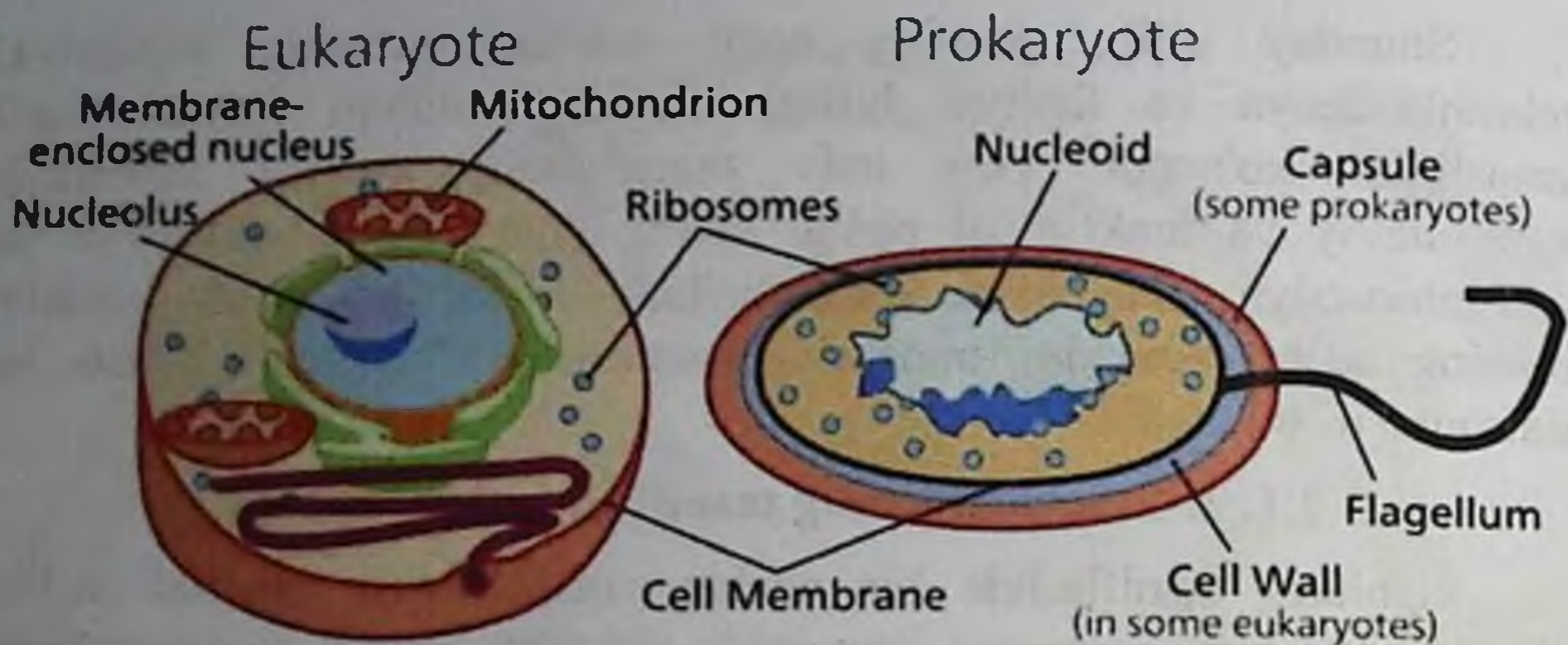
2.1. 2. Gen, genlarning tasnifi va tashkil etilishi

Genlarni tasniflashda bir nechta yondashuvlar mavjud bo'lib, ularning har biri ontogenez jarayonida ularning ishlash xususiyatlarini aks ettiradi. Genlar irsiy materialning funktsiya birligi sifatida strukturaviy, tartibga soluvchi va modulyator genlarga bo'linadi.

Strukturaviy genlar oqsillar (polipeptidlar) va ribonuklein kislotalarning (ribosoma va transport) tuzilishi haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga oladi, genetik ma'lumot esa transkripsiya va translatsiya yoki faqat transkripsiya jarayonida amalga oshiriladi. Odamlarda 30 000 ga yaqin strukturaviy genlar mavjud, lekin faqat ba'zilari, ulardan ifodalangan.

Hujayralarning hayotiy faolligi ishlaydigan genlarning kichik to'plami bilan ta'minlanadi, ular orasida "uy xo'jaligi" genlari - GOP (umumiy hujayra funktsiyalari genlari) va "hashamatli" genlar - GSP (ixtisoslashgan funktsiyalar genlari) mavjud. HOP barcha hujayralar (giston genlari, r-RNK va t-RNK genlari va boshqalar) faoliyati uchun zarur bo'lgan universal hujayra funktsiyalarini amalga oshirishni ta'minlaydi. GSPlar: 1 - ixtisoslashgan hujayralarda tanlab ifodalanadi, ularning fenotipini belgilaydi (globinlar, immunoglobulinlar genlari va boshqalar); 2 - muayyan atrof-muhit sharoitida ishlaydi va "moslashuvchan javob" genlarini ifodalaydi. GOF yoki SHG ga tegishlilik tashabbuskorning tuzilishi bilan belgilanadi.

Tartibga soluvchi genlar (laktoza operon regulyatori geni, TFM geni va boshqalar) hujayra darajasida strukturaviy genlarning faolligini, shuningdek, organizm darajasida genlarning derepressiyasi va repressiyasini muvofiqlashtiradi. Regulyativ genlar bilan bir qatorda tartibga soluvchi ketma-ketliklar (promotor, operator, terminator, kuchaytirgichlar, promoterdan oldingi element) mavjud bo'lib, ularning funktsiyasi o'ziga xos oqsillar bilan o'zaro ta'sirda ochiladi.



2.7-rasm. Prokaryotik genning molekulyar tashkil etilishi (sxematik)

Modulyator genlar strukturaviy genlarning ta'sirini kuchaytiradi yoki zaiflashtiradi, ularning funktsional faolligini o'zgartiradi.

Strukturaviy genlar prokariot va eukariotlarda turlicha tashkil etilgan.

Prokariotlarda strukturaviy genlar mustaqil genlar, transkripsiya birliklari va operonlarga tashkil topgan.

Mustaqil genlar kodonlarning uzluksiz ketma-ketligidan iborat bo'lib, ular doimiy ravishda ifodalanadi va transkripsiya darajasida (laktoza operonining gen regulyatori) tartibga solinmaydi.

Transkripsiya birliklari - bu funktsional jihatdan bog'liq bo'lgan va bir vaqtning o'zida transkripsiyalangan turli xil genlar guruhlari, keyinchalik ular bir xil miqdordagi sintezlangan mahsulotlarni ta'minlaydi. Odatda bular oqsillar yoki nuklein kislotalar uchun genlardir (E. coli da transkriptonlardan birida ikkita t-RNK geni va uchta r-RNK genlari mavjud).

Operon - DNK ning ma'lum bir bo'limi - operator nazorati ostida bir-biridan keyin bo'lgan strukturaviy genlar guruhi. Tuzilish genlari umumiy promotor, operator va terminatorga ega bo'lib, bir xil metabolik tsiklda qatnashadi va muvofiqlashtirilgan tarzda tartibga solinadi.

Eukariotlarda funktsiyasi tartibga soluvchi genlar bilan bog'liq bo'lgan strukturaviy genlar mustaqil genlar, takroriy genlar va gen klasterlari shaklida tashkil etilgan.

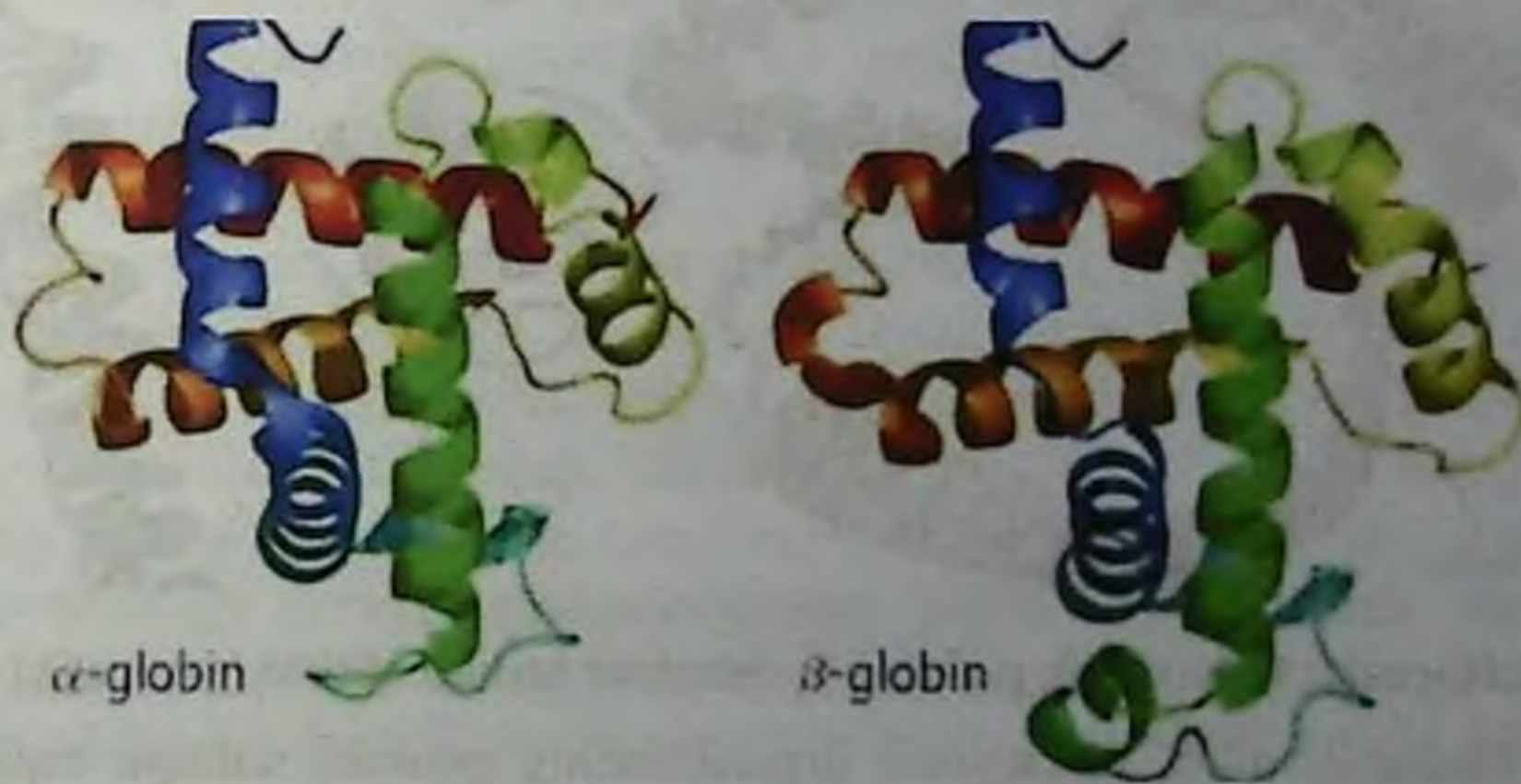
Mustaqil genlar, qoida tariqasida, alohida joylashgan, ularning transkripsiyasi boshqa genlarning transkripsiyasi bilan bog'liq emas. Ulardan ba'zilarining faoliyati gormonlar tomonidan tartibga solinadi.

Takrorlanuvchi genlar xromosomada bitta gen - giston genlari, tRNK, rRNKning takrorlanishi (nusxalari) shaklida mavjud. Giston

genlarining takrorlanishi sababi yadroning asosiy strukturaviy oqsillari bo'lgan ko'p sonli gistonlarni sintez qilish zarurati bilan belgilanadi (gistonlarning umumiy massasi DNK massasiga teng).

Gen klasteri xromosomalarning ma'lum hududlarida lokalizatsiya qilingan, o'zaro bog'liq funktsiyalarga ega bo'lgan turli genlar guruhidir. Klaster faol ishlaydigan genlar va psevdogenlarni o'z ichiga oladi. Psevdogenlarning nukleotidlar ketma-ketligi funksional faol genlar ketma-ketligiga o'xshaydi, ammo psevdogenlar ifodalanmaydi va oqsil hosil qilmaydi.

Klasterlar ko'pincha ajdod genidan kelib chiqqan genlar oilasidir. Klassik misol sifatida A va B klasterlaridagi globin genlarini keltirish mumkin. Gemoglobin gem va tetramer-globin oqsili bilan ifodalanadi. Globin tetrameri A va B klasterlarining ikkita bir xil zanjiridan iborat. Har bir globin zanjirining aminokislotalar ketma-ketligi mos ravishda A yoki B klasterining bir qismi bo'lgan o'z geni tomonidan kodlangan. Odamlarda A klasteri 16-xromosomada, B klasteri 11-xromosomada joylashgan (2.9-rasm).

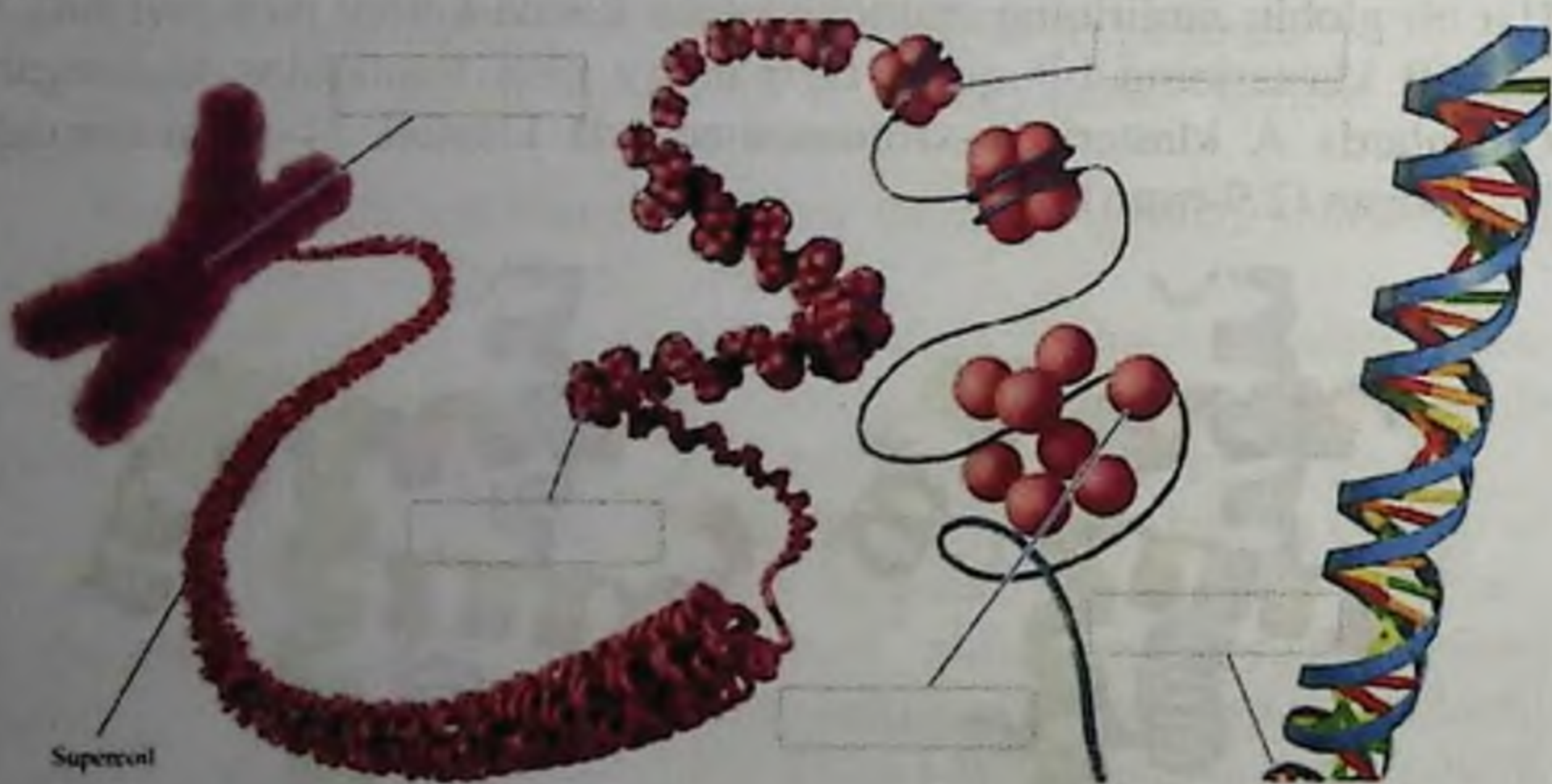


2.9-rasm. Globin gen klasterlari (turli xromosomalarda)

Ko'p sonli genlarning muvofiqlashtirilgan ishi (ifodasi) ma'lum bir gen yoki genlar guruhining joy, vaqt va ifoda darajasini belgilaydigan tartibga solish mexanizmlari mavjudligi tufayli mumkin. Gen ifodasini tartibga solish uchun u individual (tartibga soluvchi) belgini o'z ichiga olishi kerak, unga ko'ra hujayra yoki organizmning genetik tizimining tartibga soluvchi komponentlari unga kerakli ta'sirni aniq ko'rsatishi mumkin. Shunga ko'ra, har qanday gen ikkita asosiy funktsional qismdan (nukleotidlar ketma-ketligidan) iborat - tartibga soluvchi va tizimli.

Tartibga soluvchi qism genning tarkibiy qismida mavjud bo'lgan genetik ma'lumotni amalga oshirishning birinchi bosqichlarini ta'minlaydi. Genning kattaligi uning tarkibiy va tartibga soluvchi qismlarining kattaligidan iborat. Gen darajasini aniqlash unchalik oson emas, ayniqsa eukaryotik genlar holatida. Genni tartibga soluvchi mintaqaning alohida elementlari, masalan, kuchaytirgichlar, genning strukturaviy qismidan uning oldida ham, orqasida ham, hatto uning o'zida ham sezilarli (>60 kb) masofada joylashgan bo'lishi mumkin.

Ko'pgina eukaryotik genlarning tarkibiy qismida kodlovchi nukleotidlar ketma-ketligi (eksonlar) kengaytirilgan kodlanmaydigan ketma-ketliklar (intronlar) bilan kesishadi. Intronlarning umumiy hajmi, qoida tariqasida, o'ziga xos genlarning ekzonlarining umumiy hajmidan bir necha baravar katta.



2.10-rasm. Eukaryotik genning molekulyar tashkil etilishi (sxematik)

Shunday qilib, eukaryotik organizmning genomi nafaqat oqsillar va nuklein kislotalar haqidagi genetik ma'lumotlarga ega bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligini, balki bunday ma'lumotni olib yurmaydigan juda ko'p miqdordagi nukleotidlarni ham o'z ichiga oladi. Intronlar bilan bir qatorda, eukaryotik genomda juda ko'p boshqa kodlanmaydigan nukleotid ketma-ketliklari mavjud, shuning uchun eukaryotik genomdagi kodlanmaydigan nukleotidlar ketma-ketliklarining umumiy uzunligi kodlash ketma-ketliklarining uzunligidan o'nlab marta kattaroqdir. Kodlanmagan nukleotidlar qatorlari orasida genomda joylashgan eukaryotik genlarning noto'g'ri aniqlangan va juda katta

o'lchamlari ularning tuzilishi va in vivo ishlashini o'rganishda katta qiyinchiliklar tug'diradi.

2.2 Genom: umumiy biologik jihat

Genom - organizmning barcha genlarining yig'indisi; uning to'liq xromosoma to'plami.

"Genom" atamasi 1920 yilda G.Vinkler tomonidan bitta biologik tur organizmlari xromosomalarining gaploid to'plamidagi genlar to'plamini tavsiflash uchun taklif qilingan. Ushbu atamaning asl ma'nosi shuni ko'rsatdiki, genom tushunchasi, genotiptan farqli o'laroq, individual emas, balki butun turning genetik xususiyatidir. Molekulyar genetikaning rivojlanishi bilan bu atamaning ma'nosi o'zgardi. Ma'lumki, ko'pchilik organizmlarda genetik ma'lumotlarning tashuvchisi bo'lgan va shuning uchun genomning asosini tashkil etuvchi DNK so'zning zamonaviy ma'nosida nafaqat genlarni o'z ichiga oladi. Eukaryotik hujayralar DNKsining aksariyati oqsillar va nuklein kislotalar haqida ma'lumotga ega bo'lmagan kodlanmagan ("ortiqcha") nukleotidlar ketma-ketligi bilan ifodalanadi. Shunday qilib, har qanday organizm genomining asosiy qismi uning haploid xromosomalari to'plamining butun DNKsidir.

Hujayralardagi genetik ma'lumotlar nafaqat yadro xromosomalarida, balki xromosomadan tashqari DNK molekulalarida ham mavjud. Bakteriyalarda bunday DNK plazmidlar va ba'zi engil viruslarni o'z ichiga oladi, eukaryotik hujayralarda bu xloroplastlar, mitoxondriyalar va boshqa plastidlarning DNKsi. Jinsiy hujayralar (jinsiy hujayralar va gametalarning prekursorlari) va somatik hujayralardagi genetik ma'lumotlarning hajmi ba'zi hollarda sezilarli darajada farq qiladi. Ontogenez jarayonida somatik hujayralar germline hujayralarining genetik ma'lumotlarining bir qismini yo'qotishi, ketma-ketlik guruhlarini kuchaytirishi va (yoki) asl genlarni sezilarli darajada o'zgartirishi mumkin. Binobarin, organizm genomi deganda ko'p hujayrali organizmning jinsiy liniyasining alohida hujayrasida joylashgan xromosomalarning haploid to'plami va har bir ekstraxromosoma genetik elementlarning umumiy DNKsi tushuniladi. Alohida biologik turning genomini aniqlashda quyidagilarni hisobga olish kerak: birinchidan, organizmning jinsi bilan bog'liq bo'lgan genetik farqlar, chunki erkak va ayol jinsiy xromosomalari har xil; ikkinchidan, katta populyatsiyalar genofondida mavjud bo'lgan genlarning allel variantlari va ularga hamroh bo'lgan ketma-ketliklarning juda ko'pligi

tufayli biz faqat o'rtacha genom haqida gapirishimiz mumkin, uning o'zi alohida shaxslar genomlaridan sezilarli farqlarga ega bo'lishi mumkin.

2.1-jadvaldan ko'rinib turibdiki, har xil turdagi organizmlar genomlarining o'lchamlari bir-biridan sezilarli darajada farq qiladi. Biroq, ko'pincha biologik turning evolyutsion murakkabligi darajasi va uning genomining o'lchami o'rtasida hech qanday bog'liqlik yo'q.

Jadval 2.1 - Ba'zi organizmlar guruhlarida o'rtacha gaploid genom hajmi

| Organizmlar guruhlari | O'rtacha genom kattaligi, nuklonlar. |
|-----------------------|--------------------------------------|
| Kichik viruslar | $1,0 \cdot 10^4$ |
| Mikoplazmalar | $1,6 \cdot 10^6$ |
| Bakteriyalar | $2,0 \cdot 10^6$ |
| Qo'ziqorinlar | $4,7 \cdot 10^7$ |
| Hasharotlar | $2,3 \cdot 10^9$ |
| Qisqichbaqasimonlar | $1,6 \cdot 10^9$ |
| Suyakli baliq | $1,4 \cdot 10^9$ |
| Dumsiz amfibiyalar | $2,7 \cdot 10^9$ |
| Dumlilar | $3,6 \cdot 10^{10}$ |
| Sudralib yuruvchilar | $1,5 \cdot 10^9$ |
| Qushlar | $1,2 \cdot 10^9$ |
| Sutemizuvchilar | $2,6 \cdot 10^9$ |
| Odam | $3,0 \cdot 10^9$ |
| Ochiq urug'lilar | $1,6 \cdot 10^{10}$ |
| Yopiq urug'lilar | $2,7 \cdot 10^{10}$ |
| nilufar Liliium | $1,8 \cdot 10^{11}$ |

Gaploid genomidagi DNKning umumiy miqdori odatda lotincha C belgisi bilan belgilanadi, bu erda "C" "doimiy" yoki "xarakterli" degan ma'noni anglatadi, bu gaploid genomning o'lchami har qanday turda juda o'zgarmasligini bildiradi. Ammo turlar o'rtasida "C" qiymati prokaryotlarda ham, eukaryotlarda ham juda katta farq qiladi.

1978 yilda T. Kavaler-Smit eukariotlarda genomning nukleotidlar ketma-ketligining faqat kichik bir qismi (inson genomining 3%) transkripsiya qilinishini payqadi. Eukaryotik genomning kodlanmaydigan nukleotidlar ketma-ketligiga nisbatan sezilarli ortiqcha

bo'lishi fenomeni genetikada "C paradoksi" sifatida tanilgan. Patrushevning so'zlariga ko'ra, asl genomga ortiqcha nukleotidlar ketma-ketligini evolyutsion tarzda kiritish unda mavjud bo'lgan genetik ma'lumotni barqarorlashtirdi, bu esa tabiatda ko'p hujayralilikning paydo bo'lishi uchun zarur shart-sharoitlarni yaratdi. Eukariotlarning yadro genamlari hajmi odatda pikogrammalarda o'lchanadi (pkg) DNK (1 pkg = 10-12 g). Kichikroq prokaryotik genamlar odatda daltonlarda, nisbiy atom yoki molekulyar massa birliklarida o'lchanadi. Organoidlar va viruslar kabi kichikroq genomlarning o'lchamlari, shuningdek, alohida DNK bo'limlarining o'lchamlari ko'pincha tayanch juftliklarida (bp) yoki kilobazalarda (1 kb = 1000 bp) ifodalanadi. Chalkashmaslik uchun biz o'lchamlarni faqat tayanch juftlikda baholaymiz.

Genomning strukturaviy tashkil etilishi hayvon va o'simlik dunyosi taksonomiyasining asosini tashkil etuvchi asosiy taksonomik xususiyatdir. Genomning tarkibiy tuzilishiga ko'ra, barcha tirik organizmlar ikkita guruhga bo'linadi: prokaryotlar va eukariotlar.

Prokariotlarga genomi yadro membranasi bilan chegaralangan yadro ichiga o'ralmagan va uning reduplikatsiyasi mitoz bilan kechmaydigan organizmlar kiradi.

Eukaryotik hujayralar hosil bo'lgan yadroni o'z ichiga oladi va ularning genomining reduplikatsiyasi mitoz bilan birga keladi.

Eukaryotik genom ikkita asosiy xususiyat bilan tavsiflanadi:

- 1) Ketma-ketliklarni takrorlash;
- 2) Tarkib bo'yicha nukleotidlarning o'ziga xos tarkibi bilan tavsiflangan turli bo'laklarga bo'linish.

Takroriy DNK turli uzunlikdagi va tarkibdagi nukleotidlar ketma-ketligidan iborat bo'lib, ular genomda bir necha marta tandem takrorlangan yoki dispers shaklda uchraydi. Qayta takrorlanmaydigan DNK ketma-ketliklari bir nusxali DNK deb ataladi. Taksonlar orasida takrorlanuvchi ketma-ketliklar egallagan genom qismining kattaligi juda katta farq qiladi. Achitqilarda u 20% ga etadi, sutemizuvchilarda barcha DNKning 60% gacha takrorlanadi. O'simliklarda takroriy ketma-ketliklar ulushi 80% dan oshishi mumkin.

DNK tuzilishidagi o'zaro orientatsiyaga ko'ra ular farqlanadi: to'g'ridan-to'g'ri, teskari, simmetrik takroriy, palindrom, komplementar palindrom va boshqalar.

Elementar takrorlanuvchi birlikning uzunligi (asoslar soni bo'yicha), takrorlanish darajasi va genomdagi tarqalish tabiati ham juda keng diapazonda o'zgarib turadi (eng qo'pol tasnif: tandem va dispers

taqsimlangan takrorlar); Nihoyat, DNK takrorlarining davriyligi juda murakkab tuzilishga ega bo'lishi mumkin, qisqa takrorlashlar uzunroqlarga kiritilganda yoki ularni chegaralaydi va hokazo.

Britten va Kohne (1968) ning DNK renaturatsiyasi kinetikasi bo'yicha klassik ishi yuqori eukariotlarning genomlarini taxminan to'rtta fraktsiyaga bo'lish mumkinligini ko'rsatdi:

1. o'z-o'zini to'ldiruvchi DNK (qatlamali DNK);
2. juda takrorlanadigan DNK;
3. o'rtacha takroriy DNK (o'rta takroriy DNK) va
4. noyob ketma-ketliklar (bir nusxali DNK).

O'z-o'zini to'ldiruvchi DNK palindromik ketma-ketliklardan iborat bo'lib, ular o'z-o'zidan "yopiq" bo'lgan ikki ipli soch iplarini hosil qilishi mumkin.

Yuqori takroriy fraktsiya uzunligi bir necha nukleotidlardan bir necha yuz bpgacha bo'lgan qisqa ketma-ketliklardan iborat bo'lib, ular taxminan 500 000 nusxaga ega.

Mo'tadil takrorlashlar har bir genomda 100 nusxagacha bo'lgan yuzlab dan minglab bpgacha bo'lgan uzunroq ketma-ketlikni o'z ichiga oladi.

Takrorlash funksiyasini qidirish, tasniflash va keyingi aniqlash genomlarni tahlil qilishning zaruriy bosqichidir.

Takrorlashlar to'g'ri yoki noto'g'ri bo'lishi mumkin. Bundan tashqari, DNK ketma-ketligi uchun ko'zgu va teskari takrorlanishlar ko'rib chiqilishi mumkin. Biologik nuqtai nazardan, noto'g'ri takrorlashlar ham qiziq. Bunday takrorlashlar ba'zan degenerativ deb ataladi.

2.3 Duplikatsiyalar, takrorlanuvchi ketma-ketliklar.

Genomik ketma-ketlikdagi takrorlanishlar ancha oldin kashf etilgan. Ilk ma'lumotlarning batafsil xulosasini Ghazaryan va Tarantula kitobida topish mumkin. Genomlardagi takrorlanishlarni turli yo'llar bilan tasniflash mumkin:

(1) Ba'zi genomlarning o'zlari dublikatsiyalardir.

(2) Segmental duplikatsiyalar, ayniqsa inson genomida aniqlangandir. Bunday takrorlashlar 1-200 kb gacha bo'lgan uzatishlarni o'z ichiga oladi. genomik ketma-ketlik bloklari asosan perisentromerik va kamroq darajada xromosomalarning subtelomerik hududlarida boladi. Bunday dublikatsiyalarning gomologiyasi darajasi 90% dan yuqori.

Ushbu takrorlanishlarning ba'zilari genomik kasalliklar bilan bog'liq. Segmental duplikatsiyalar inson genomining 3,3% ni tashkil qiladi .

Ketma-ketlik turiga ko'ra, dispers va tandem takrorlari farqlanadi.

Inson genomi 94% egaligi ma'lum. Ushbu materialga asoslanib, quyidagi xulosalar chiqarish mumkin. Takrorlashlar genomning kamida 50% ni egallaydi.

2.4 DNK takrorlanishi va inson genomi loyihasi

Inson genomining to'liq nukleotidlar ketma-ketligini xaritalash va aniqlash zamonaviy genetikaning eng dolzarb vazifalaridan biridir. "Klondan klon" deb nomlangan ushbu muammoni hal qilishning umumiy qabul qilingan yondashuvi inson DNKsining katta o'lchamli klonlangan qismlarini aniqlash, xaritalash va ketma-ketlashtirishdir. Inson genomining euhromatik hududlarini o'rganishda eng ajoyib muvaffaqiyatlarga erishildi. Inson genomining bir qator kengaytirilgan mintaqalarining nukleotidlar ketma-ketligi allaqachon aniqlangan, masalan, 22-xromosomaning uzun elkasi. Biroq, genomning geteroxromatik qismlarining yo'nalishlaridan biri ma'lum sentromerik satellitli takrorlarini o'z ichiga olgan kengaytirilgan klonlangan DNK ketma-ketligini aniqlashdir.

2.5 Ortiqcha DNKning funksional ahamiyati

Satellitli DNK takrorlashdan tashqari, inson genomida LTRlarni o'z ichiga olgan 2-3 kb uzunlikdagi MaLR takrorlarining 100 000 dan ortiq nusxalari va bir necha ming retrovirus genomlari ketma-ketligi mavjud.

Eukaryotik genomda takrorlanuvchi va noyob kodlanmagan ketma-ketliklarning keng tarqalganligi va ularning organizmlarning hayot aylanish jarayonida aniq faolligiga qaramasdan, bu va boshqa kodlanmaydigan genomik elementlarning biologik ahamiyati noaniqligicha qolmoqda. Ortiqcha genomik DNKning "xudbinligi" haqidagi farazning to'g'riligi, unga ko'ra barcha ortiqcha DNK genomik parazit bo'lib, bir nechta asl ketma-ketliklarning aniq nusxalarini transpozitsiya qilish natijasida genomda tarqaladi. Darhaqiqat, genomdagi "parazitar" DNK tarkibi gen nukleotidlari ketma-ketligini o'z ichiga olgan funksional muhim DNK miqdoridan 2-3 baravar yuqori bo'lgan hujayralardagi DNK prekursorlari va DNKning o'zi biosintezi uchun energiya xarajatlari juda katta bo'ladi. Xudbin DNK bilan "infektsiyalangan" genomga ega bo'lgan hujayralar, genomning reduplikatsiyasi uchun energiya xarajatlarining sezilarli darajada oshishi

tufayli "parazit" bo'lmagan hujayralar bilan raqobatga dosh bera olmaydi. Bundan tashqari, "parazit" nukleotidlar ketma-ketligiga evolyutsion tanlov bosimining yo'qligi taxmin qilinadigan xudbin DNK kontseptsiyasi filogenetik jihatdan yaqin organizmlarning gomolog genlarida intronlarning lokalizatsiya joylari va o'lchamlarining yuqori saqlanishini tushuntirmaydi. organizmlarning avlodlari davomida takroriy nusxalar sonini nisbatan doimiy darajada ushlab turish mexanizmini bildirmaydi.

Ortiqcha DNKning funktsional ahamiyati faqat qisman unga genomning fazoviy tashkil etilishidagi tizimli roli va meiozda gomolog xromosomalarning konjugatsiyasida yoki xromosomalarning telomerik qismlarining replikatsiyasida ishtirok etishi bilan bog'liq bo'lgan tushunchalar bilan izohlanadi. Shunday qilib, eukaryotik organizmlar genomida ko'p miqdorda ortiqcha DNK mavjudligini tushuntirib bo'lmaydigan hali ham sirli va paradoksal bo'lib qolmoqda.

2.6 Xromatin

Eukariotlarning yadrosida DNK oqsillar va RNK bilan bog'langan. Xromatin deb ataladigan nukleoprotein kompleksining uchdan bir qismi DNKdir.

Xromatinni optik mikroskopda faqat hujayra bo'linishi paytida, xromosomalarning bir qismi sifatida kondensatsiyalangan holda ko'rish mumkin. Interfazada xromatinning katta qismi kondensatsiyalanmagan. Morfologik jihatdan euxromatin geteroxromatindan ajralib turadi, u euxromatinga qaraganda ko'proq kondensatsiyalanadi. Euxromatin faol transkripsiyaga ega bo'lgan xromosomalarning qismlariga mos keladi.

Xromatin oqsillari gistonli va gistonli bo'lmaganlarga bo'linadi. Gistonlar - DNK bilan bevosita bog'langan kichik asosli oqsillardir. Ular aminokislotalar qoldiqlarining musbat zaryadlari hisobiga DNKning manfiy zaryadlangan fosfat guruhlarini zararsizlantirib, xromatinning strukturaviy tashkil etilishida ishtirok etadilar, bu esa yadroda DNKning zich qadoqlanishiga imkon beradi. Buning yordamida inson diploid genomining umumiy uzunligi taxminan 2 m bo'lgan 46 ta DNK molekulalari jami 6-109 ta asosiy juftlikni o'z ichiga oladi va diametri atigi 10 mikron bo'lgan hujayra yadrosiga sig'ishi mumkin.

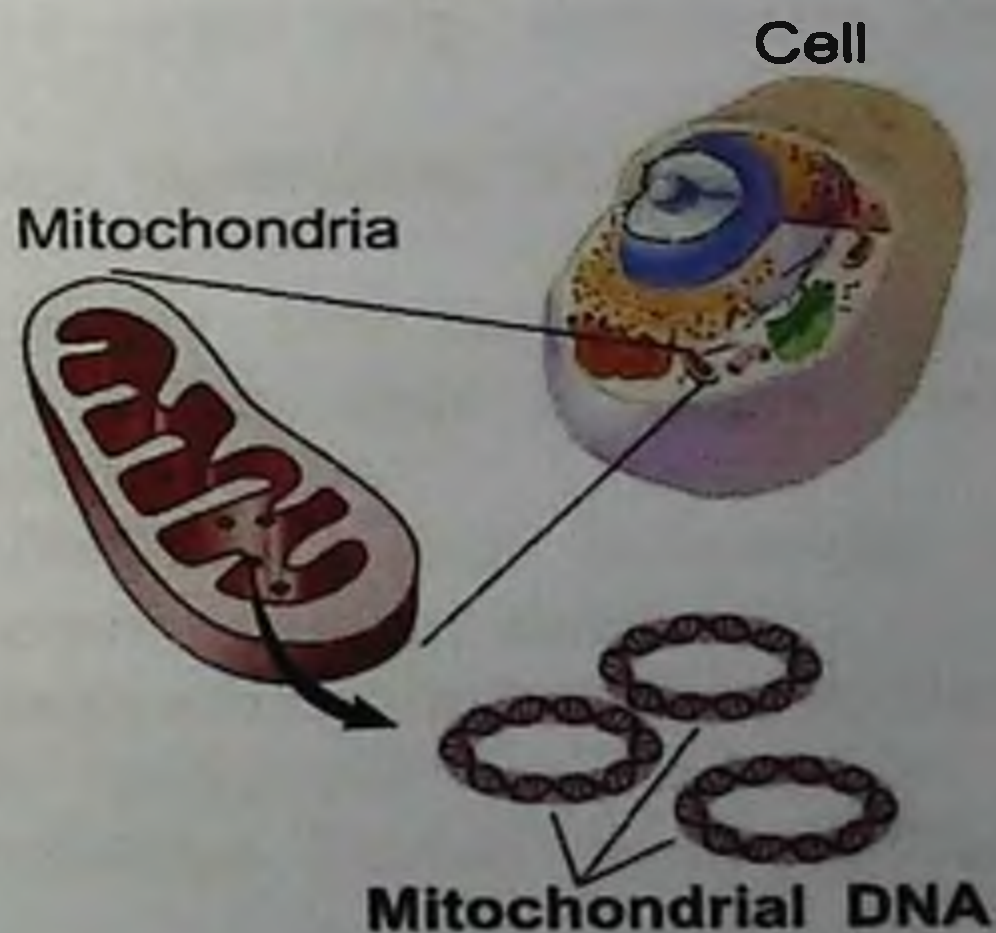
H2A, H2B, H3 va H4 gistonlarining har biri ikkita molekula DNKning 146-bp segmentiga o'ralgan oktamemi hosil qiladi, bu oqsil strukturasi tepasida spiralning 1,8 burilishini hosil qiladi. Bu 7 nm diametrli zarracha nukleosoma deb ataladi. Giston oktameri bilan

bevosita aloqada bo'lmagan DNKning bir qismi (bog'lovchi DNK) giston H1 bilan o'zaro ta'sir qiladi. Bu protein taxminan 20 bp ni qoplaydi. va diametri 30 nm bo'lgan o'ta spiral strukturaning (solenoid) shakllanishini ta'minlaydi. Xromatin kondensatsiyalanib, metafaza xromosomasini hosil qilganda, solenoid tuzilmalar 80 000 bp DNKni o'z ichiga olgan 200 nm diametrli halqalarni hosil qiladi. Halqalar oqsillar asosi bilan bog'langan bo'lib, taxminan 20 ta halqa minidisklarni hosil qiladi. Xromosoma hosil qilish uchun ko'p sonli minidisklar yig'iladi. Natijada, DNK shunchalik qattiq buklanfdiki, hatto eng kichik odam xromosomasida ham taxminan 50 million bp mavjud.

2.7 Mitoxondriyalarning genetik tizimi

Mitoxondriyalar substratlarning oksidlanishi tufayli ATFni sintez qiluvchi eng muhim hujayra organellalaridir. Mitoxondriyalar tuxum hujayra sitoplazmasidan kelib chiqqanligi sababli o'ziga xos genomga ega. Spermatozoid mitoxondriyalarining genomi urug'langan tuxum hujayraga kirmaydi.

Odam mitoxondrial genomi 16569 juft nukleotiddan iborat bitta yumaloq DNK molekulasi bilan ifodalanadi (2.12-rasm). U mitoxondriyaning strukturaviy va funksional komponentlarini yaratish uchun ishlatiladigan 13 ta oqsilni kodlaydi.



2.12-rasm. Mitoxondriyal DNKning yumaloq molekulasi.

Mitoxondriyalarda reparatsiya uchun mas'ul bo'lgan fermentlar yo'q, shuning uchun mitoxondriyal genomda ko'plab xatolar mavjud. Eukaryotik mitoxondriyalarda sedimentatsiya konstantasi 55Sga teng, prokaryotik ribosomalarda esa 70S bo'ladi.

Nazorat savollari

1. Gen qanday ishlaydi?
2. Genning tartibga soluvchi hududi qanday tuzilgan?
3. Genning kodlash hududi qanday tashkil etilgan?
4. Genom qanday tashkil etilgan?
5. Yo'ldosh DNKlari nima?
6. Ortiqcha DNK ning funksional ahamiyati nimada?
7. Inson genomi loyihasi tibbiy genetikani rivojlantirish uchun qanchalik muhim?
8. Xromatin qanday tashkil etilgan?
9. Mitoxondriyalarning genetik tizimi qanday ishlaydi?

III BOB. REPLIKATSIYA KOMPONENTLARINING XUSUSIYATLARI, REPLIKATORLARDAGI TRANSFORMATSIYALAR VA REPLIKATSIYA KOMPLEKSLARINING SHAKLLANISHI

Replikatsiya (lotincha replicatio — yangilanish) — asosiy DNK molekulasi matritsasida dezoksiribonuklein kislotaning qiz molekulasini sintez qilish jarayoni. Ona hujayraning keyingi bo'linishi paytida har bir qiz hujayra dastlabki ona hujayraning DNKsi bilan bir xil bo'lgan DNK molekulasining bitta nusxasini oladi. Bu jarayon genetik ma'lumotlarning nasldan naslga to'g'ri o'tishini ta'minlaydi.

DNK replikatsiyasi hujayra bo'linishidagi asosiy hodisadir. Bo'linish vaqtida DNK to'liq va faqat bir marta takrorlanishi juda muhimdir. Bu DNK replikatsiyasini tartibga soluvchi muayyan mexanizmlar bilan ta'minlanadi.

3.1 Replikatsiya jarayonining xususiyatlari

- matritsali - sintezlangan DNK zanjirining ketma-ketligi komplementarlik tamoyiliga muvofiq ona zanjirining ketma-ketligi bilan yagona aniqlanadi;
- yarim konservativ - replikatsiya natijasida hosil bo'lgan DNK molekulasining bir zanjiri yangi sintezlanadi, ikkinchisi esa ona hujayralikdir;
- sintez yangi molekulaning 5' uchidan 3' uchigacha bo'lgan yo'nalishda boradi;
- yarim konservativ - DNK zanjirlaridan biri uzluksiz sintezlanadi, ikkinchisi esa - alohida qisqa fragmentlar majmuasi (Okazaki fragmentlari) shaklida;
- Sintez DNKning ma'lum bo'limlaridan boshlanadi, ular replikatsiya inisiasiyasi saytlari deb ataladi

DNK replikatsiyasida ishtirok etadigan oqsillar.

3.1-jadvalda prokaryotik va eukaryotik organizmlarning replikatsiya kompleksiga kiruvchi asosiy oqsillar va fermentlar keltirilgan.

Replizoma turli omillar birgalikda ishlaydigan tizimdir. Replikatsiya bilan bog'liq ko'plab muammolar va ularning echimlari turli organizmlar uchun tuzilish va funkcionallik yoki kimyoviy jarayonlar ketma-ketligi nuqtai nazaridan bir xildir (jadval 3.1).

DNK replikasiya tizimining asosiy komponentlari funktsional ravishda filogenezda saqlanadi va prokaryotik tizimning har qanday oqsil komponenti sutemizuvchilar DNK replikasiya tizimida o'z prototipiga ega. Shuning uchun biz prokaryotik va eukaryotik organizmlarning DNK replikasiyasi mexanizmlarida sezilarli o'xshashliklarni kutishimiz mumkin. Biroq, ko'p hollarda bir xil funktsiyalarni bajaradigan turli organizmlarning oqsillari aminokislotalar ketma-ketligida gomologiga ega emas. Xususan, T4 fagning 32-genining oqsil mahsuloti bo'lgan E. coli ning SSB oqsilida (bir zanjirli DNKni bog'lovchi oqsil) va inson replikasiya tizimining RPA oqsilida (replikasiya oqsili A) hech qanday o'xshashlik topilmadi. Xuddi shu narsa E. coli ning DNK polimeraza III (Pol III) ning beta subbirligi (beta oqsili), T4 fagining 45-proteini va insonning PCNA (ko'payuvchi hujayra yadro antigeni) oqsili uchun ham amal qiladi. Bu bir xil funktsiyalarni bajaradigan turli xil aminokislotalar ketma-ketligiga ega bo'lgan polipeptid zanjirlarining ehtimolini, shuningdek, bunday oqsillarning ehtimol konvergent evolyutsion kelib chiqishini va ularning funktsiyalarini turli bog'liq bo'lmagan prekursor oqsillardan ko'rsatadi.

3.1-jadval - Prokaryotik va eukaryotik organizmlarning replikativ komplekslari tarkibiga kiruvchi oqsillar

| E. coli | Fag T4 | SV40 virusi / inson | Komponent funktsiyalari komplekslar |
|------------------------|---------------|----------------------------|--|
| DnaB | Oqsil 41 | Tantigen | DNK helikaz, ustida primer shakllanishini rag'batlantiradi bir zanjirli DNK |
| DnaC | Oqsil 59 | | Helikaz va primazaning DNK bilan o'zaro ta'sirini ta'minlaydi, SSB oqsili bilan kompleksda joylashgan |
| SSB | Oqsil 32 | RPA | Bir zanjirli DNK bilan bog'langan oqsil DNK polimerazalarini rag'batlantiradi va helikazning replikasiya kompleksiga kirishini osonlashtiradi. |
| g-Kompleks (g d d c y) | Oqsil 44/6 2 | RFC | DNKga bog'liq A'IPaz, primerning matritsaga ulanishini ta'minlaydi, DNKni rag'batlantiradi polimeraza |
| t- Oqsil | Oqsil 43 (?) | | uchun zarur bo'lgan DNK polimeraza |

| | | | |
|-----------------------------------|--------------|----------------------|--|
| | | | holoenzimini yig'ish va dimerizatsiya qilishni ta'minlaydi |
| | | | kompleksning shakllanishi инициационного |
| b (b*)- Oqsil | (?) Oqsil 45 | PCNA (?) | DNK polimeraza va DNKga bog'liq ATPazni rag'batlantiradi, jarayonni ta'minlaydigan "surma qisqich" funksiyasini bajaradi. replikatsiya |
| Pol III (aqe), minimal ferment | Oqsil 43 | Pol d | DNK polimeraza, 3'@ 5'-ekzonukleaza; a - Pol III ning bo'linmasi polimerizatsiyani katalizlaydi va e - sub birlik hisoblanadi ekzonukleazni tuzatish |
| - | - | Pol e | |
| - | - | Pol g | DNK polimeraza, mitoxondriyal DNK replikatsiyasini amalga oshiradi; yadro gen tomonidan kodlangan |
| DnaG | Oqsil 61 | Primaz a, (Pol a) | Primaza, RNK primerlarining sintezi |
| Ligaza | T4-ligaza | Ligaza I | DNK bo'laklarini bog'lash |
| Pol I | Oqsil 43 | FEN-1 yoki MF-1 | Eksonukleaza, RNKni olib tashlaydi urug'lar |
| RNKaza N | RNKaza N | RNKaza N I | Nukleaza, RNK primerlarini olib tashlaydi |

DNK replikatsiyasi yarim konservativ mexanizmga muvofiq amalga oshiriladi, ya'ni.

qiz DNK molekulalarining zanjirlaridan biri asosiy DNK molekulasining bir qismidir, ikkinchisi esa yangi sintezlanadi.

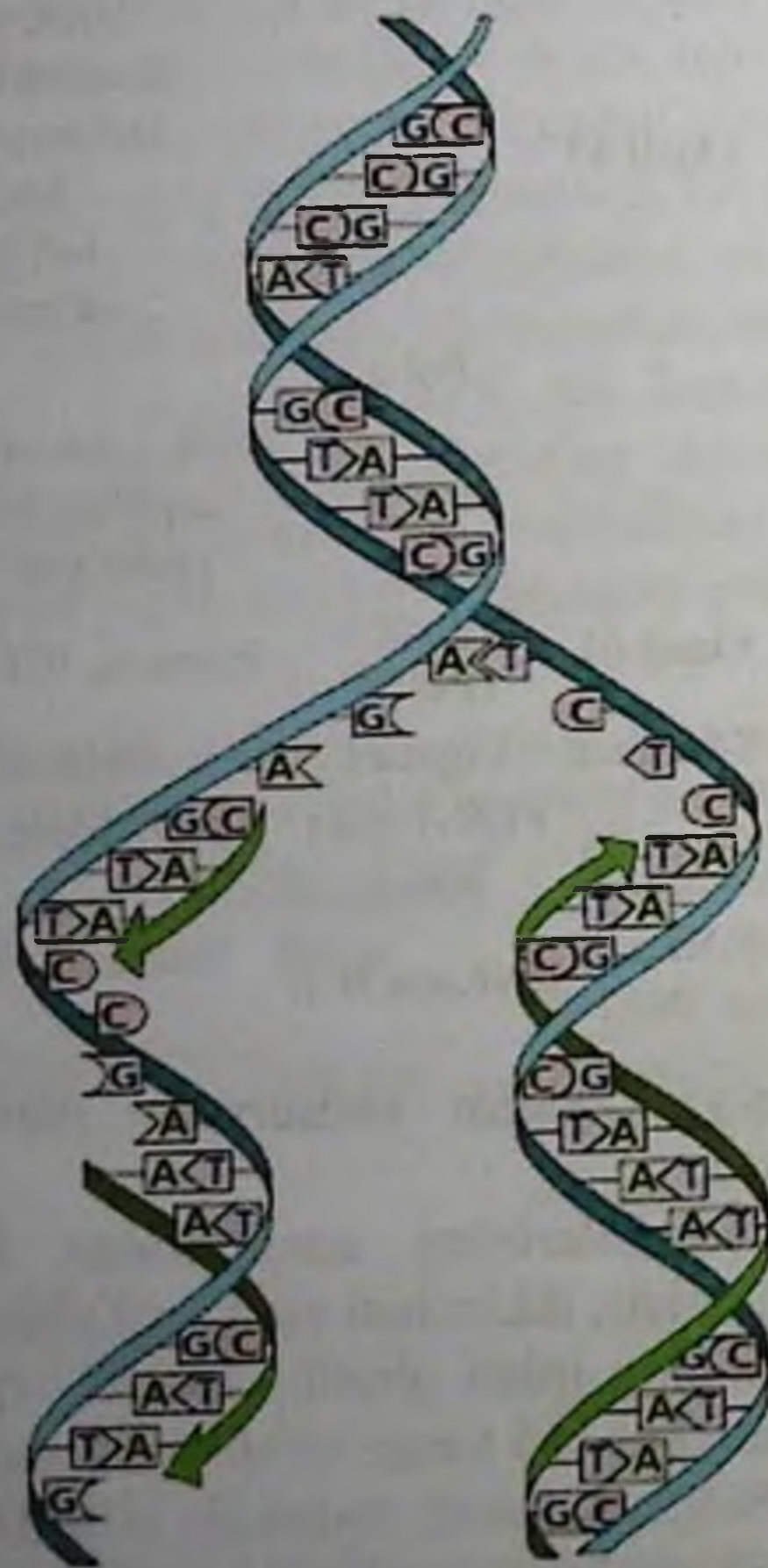
DNK molekulasining iplari ajralib chiqadi, replikatsiya vilkasini hosil qiladi va ularning har biri yangi qo'shimcha zanjir sintezlanadigan matrisaga aylanadi. Natijada, asosiy molekula bilan bir xil bo'lgan ikkita yangi ikki zanjirli DNK molekulalari hosil bo'ladi.

DNK tuzilishi modeli 1953 yilda F. Krik va D. Uotson tomonidan kashf etilgan. DNK molekulalarining iplari antiparalleldir.

Ikki zanjirli DNK replikatsiyasining tavsiya etilgan yarim konservativ usuli ham tasdiqlandi

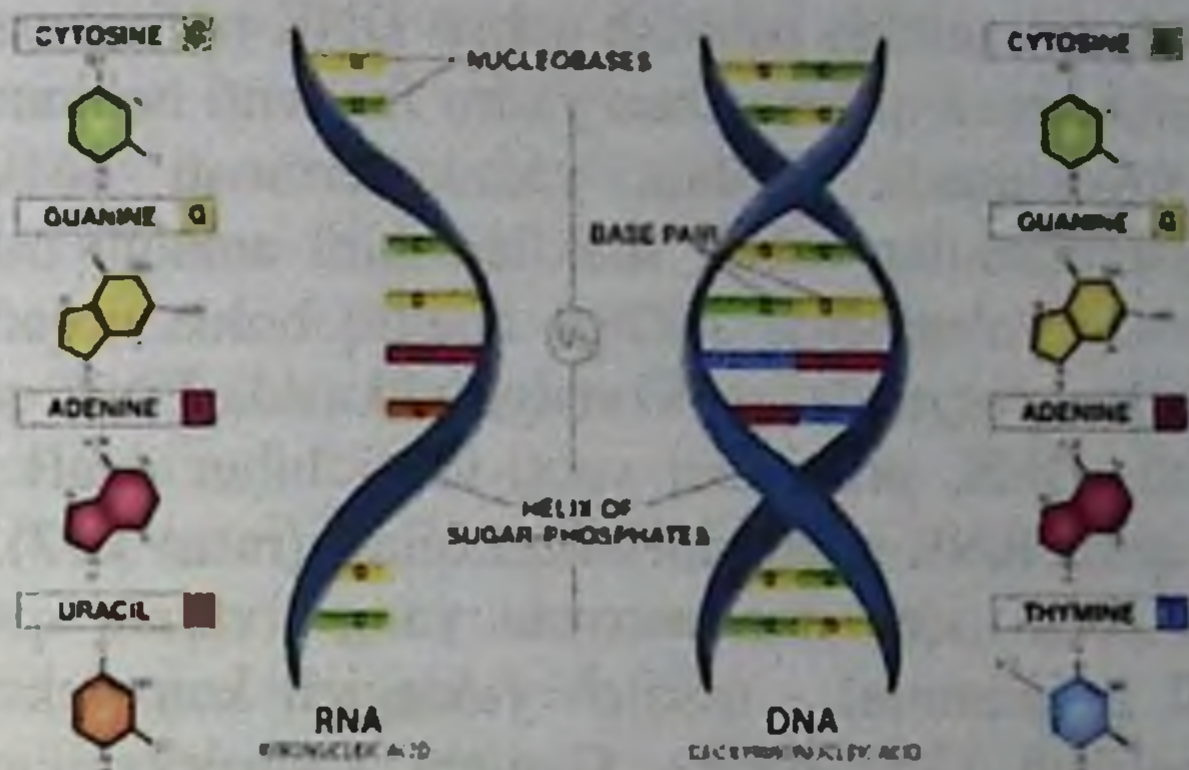
Komplementar DNK zanjirlari antiparallel bo'lgani uchun va ikkalasi ham 5' uchidan 3'gacha bo'lgan yo'nalishda sintez qilinganligi

sababli, DNK polimeraza matrisa duplikatsiyasining bir uchidan ikkinchisiga o'tish orqali DNK molekulasini takrorlay olmaydi. DNK replikatsiyasi ikki qarama-qarshi yo'nalishda sodir bo'ladi va shuning uchun bir DNK zanjirida yangi zanjirning sintezi zanjirlar ajratilganda doimiy ravishda sodir bo'ladi va hosil bo'lgan zanjir etakchi deb ataladi, boshqa zanjirning sintezi esa qarama-qarshi yo'nalishda sodir bo'ladi, vaqti-vaqti bilan duplikatsiya zanjirlar qisqa bo'laklar shaklida ajratiladi, Okazaki fragmentlari deb ataladi (3.1-rasm).



3.1-rasm - Ikki tomonlama replikatsiya.

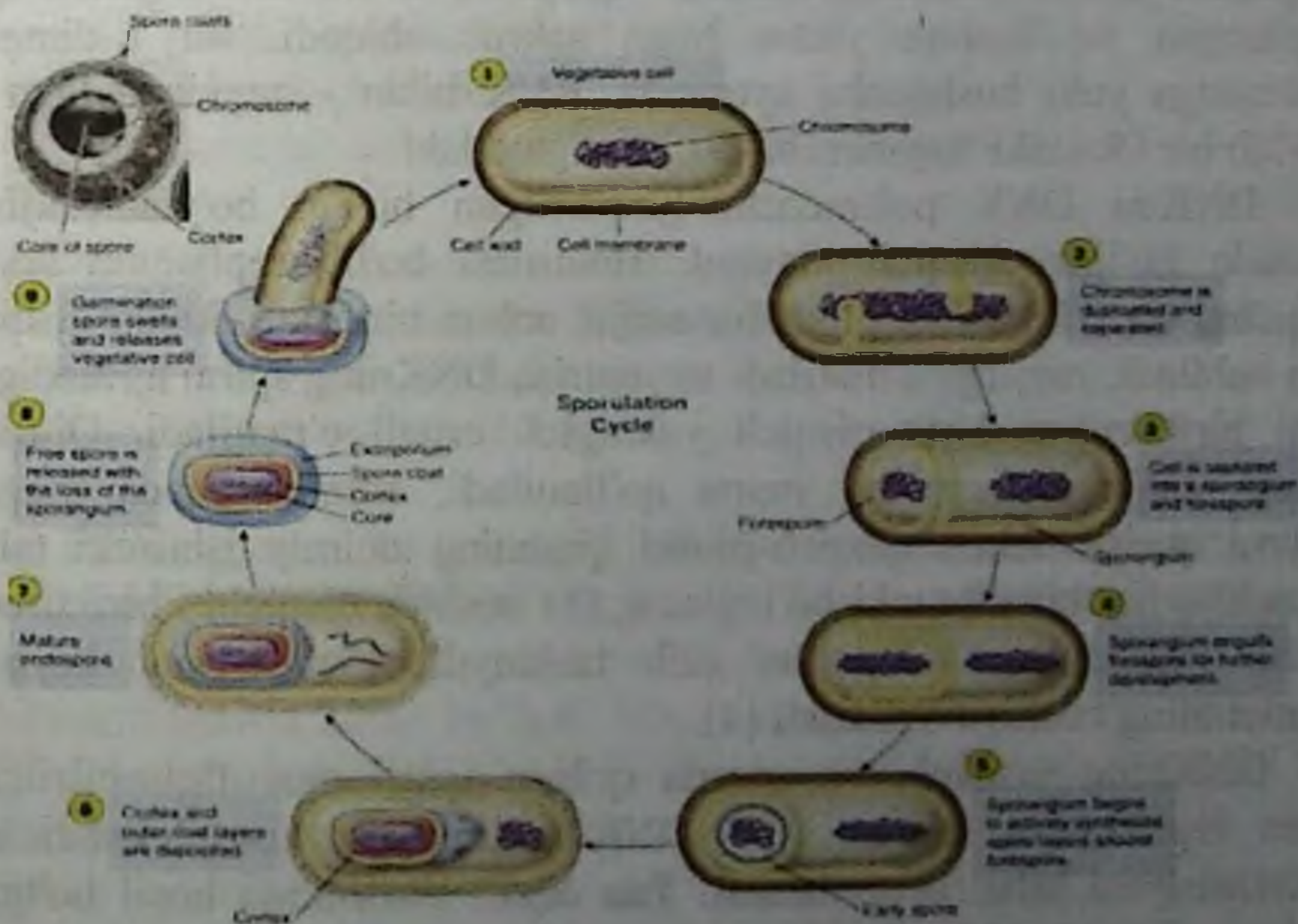
Replikatsiya boshlanganidan bir muncha vaqt o'tgach, elektron mikroskopda replikatsiya jarayonini kuzatish mumkin. DNK allaqachon replikatsiya qilingan xromosoma bo'limi, replikatsiya qilinmagan DNKning kengaytirilgan bo'limlari bilan o'ralgan (3.2-rasm).



3.2-rasm - DNKning bir tomonlama va ikki tomonlama replikatsiyasi.

3.2 E. colida elongatsiya replikatsiyasi

DNK helikazasi (gelikaza) replikatsiya vilkasida DNKni sintezlovchi oqsil kompleksidan oldin harakatlanadi va ota-ona DNKsining iplarini ochadi va SSB oqsili (bitta zanjirli DNKni bog'lovchi oqsil), barqarorlashtiruvchi oqsil hosil bo'lgan bir zanjirli oqsil bilan bog'lanadi va yechish jarayonini osonlashtiradi. SSB oqsillari bir ipli filamentlarga bog'lanadi va filamentlarning qatlanishini oldini oladi (3.12-rasm).



3.12-rasm - E. coli replikatsiya vilkasi va replikatsiya kompleksi.

Replikatsiyani amalga oshirish uchun DNK polimeraza III etakchi zanjimi uzluksiz sintez qilish uchun yadro fermenti bo'linmalarining bir to'plamidan foydalanadi, boshqa yadro fermenti bo'linmalari esa Okazaki fragmentlarining siklik shakllanishini amalga oshiradi. dnaB helikazasi 5'→3' yo'nalishda ATFga bog'liq holda orqada qolgan ip bo'ylab harakatlanayotganda, replikatsiya vilkasida DNK qo'sh spiralini echib tashlaydi. DNK primazasi vaqti-vaqti bilan dnaB helikazasiga bog'lanadi va qisqa RNK primerini sintez qiladi (rasm 3.12).

Keyin β (beta) deb nomlanuvchi yangi "surma qisqich" DNK polimeraza γ (gamma) - qisqich yuklagich kompleksi tomonidan primerga o'rnatiladi (3.12-rasm). Gamma kompleksining roli DNK shablonidagi RNK primerlarini tanib olishdir. Gamma-kompleks DNKning etakchi zanjirining bitta primeriga yoki orqada qolgan ipning Okazaki bo'laklarining har bir primeriga bog'lanadi, bu esa o'z navbatida minimal ferment DNK polimeraza va beta oqsilining shunday belgilanganiga biriktirilishiga imkon beradi. primerlar (3.13-rasm). T4 bakteriofagidagi gamma kompleks oqsillarining funktsional analogi 44/62 genlarning oqsil mahsulotlari majmuasidir.

Taxminlarga ko'ra, 10 turdagi bo'linmalardan tashkil topgan ikki yadroli Pol III golofermenti doimiy ravishda bir yadro bilan etakchi zanjirga β -kichik birlikning dimeri - qisqich yoki mahkamlagich orqali bog'langan va boshqa yadro bilan sakrab chiqadi. bir β -dimerni boshqasiga yoki boshqacha aytganda, RNK bilan - orqada qolgan ip bo'ylab bir Okazaki fragmentini boshqasiga otishi.

DNKda DNK polimeraza biriktirilgan bu ip bo'ylab siljishi mumkin bo'lgan qisqich mavjud. Hammasi bo'lib replisoma ikkita qisqichni o'z ichiga oladi, har bir zanjir uchun bittadan. Ikkala qisqich ham ochiladi, zanjirga o'rnatiladi va matrisa DNKning spiral ajraladigan ipiga biriktirilgan bitta qisqich yuklagich orqali o'rnatiladi. Qisqich etakchi zanjirga faqat bir marta qo'llaniladi, ammo orqada qolgan zanjimi qurish uchun qisqich-pastki qismning doimiy ishtiroki talab qilinadi: u har bir Okazaki bo'lagining (1) boshida qisqichni biriktiradi, parcha tugagandan so'ng uni olib tashlaydi. (3) va uni keyingi fragmentning boshiga o'tkazadi (4).

DNKning yetakchi va orqada qolgan iplari muvofiqlashtirilgan tarzda replikatsiya qilinadi, bu DNK polimeraza komplekslarining dimerizatsiyasi bilan ta'minlanadi. Tau oqsili ishtirokida hosil bo'lgan bunday dimerda bir DNK polimeraza kompleksi etakchi DNK zanjirining uzluksiz sintezini amalga oshiradi, ikkinchisi esa - orqada

qolgan ipning Okazaki bo'laklari. E. coli DNK polimeraza III ning dimerizatsiyasi tau proteinini talab qiladi, bakteriofag T4 geni 43 mahsuloti dastlab dimer sifatida mavjud ko'rinadi. E. coli va fag T4 replikativ komplekslarining yana bir farqi shundaki, E. coli DNK polimeraza holoenzimi DNK bo'lmaganda barqaror kompleks sifatida saqlanib qoladi, T4 DNK polimeraza golofermenti esa faqat matrisa mavjud bo'lganda mavjud.

E. coli hujayralari ultrabinafsha nurlari bilan nurlantirilganda, ular DNK polimeraza III holoenzimining beta subbirligi bilan bir xil genning mahsuloti bo'lgan qisqartirilgan beta

* oqsil (26 kDa) sintezini keltirib chiqaradi. Ko'rinib turibdiki, beta

* oqsilining funktsional roli ultrabinafsha nurlari bilan shikastlangan matritsada DNK replikatsiyasini ta'minlashdir.

Odatda, etakchi va orqada qolgan iplarning sintezi deyiladi

Replikativ polimerazalarning dimerizatsiyasi replikasiya vilkasida yetakchi va orqada qolgan iplar sintezini samarali sinxronlashtirish bilan bog'liq muammolarni hal qiladi, lekin replikativ polimerazalarning fazoviy-strukturaviy bog'lanishi (3.13-rasm) murakkab sinxronizatsiya muammosini hal qilishda boshqasini yaratadi. muammo: replikasiya vilkasida replikativ polimerazalarning dimerizatsiyasi, har ikkala ip uchun nukleotid sintezi bir xil fazoviy holatda sodir bo'lishi kerakligini anglatadi, garchi orqada qolgan ip etakchi ipga teskari yo'nalishda sintezlanishi kerak (3.13-rasm).

Replizoma bir qator oqsillardan iborat, jumladan

helikazlar, RFC, PCNA, giraza/topoizomerazlar, SSB/RPA, primaza, DNK polimeraza III, RNase H va ligazalarni o'z ichiga oladi.

Kechikuvchi ip sintezi helikaz yetarlicha orqada qolgan ipni yechib, bu "etarlicha orqada qolgan ip" Okazaki fragmentlari deb ataladigan diskret nukleotid zanjirlariga polimerlanganidan keyin sodir bo'ladi (3.13-rasm).

DNK ligazasi bir ipning 3 gidroksil uchida va ikkinchisining 5 fosfat uchida fosfodiester bog'lanish hosil bo'lishini katalizlaydi. Bog'lanish reaksiyasi faqat 5-terminal fosfat guruhi adenillanish orqali faollashtirilganda sodir bo'ladi. Shu maqsadda viruslar va eukariotlar ATP dan foydalanadilar. Shu bilan birga, bakterial DNK ligazalari ko'p hollarda 5-terminal fosfat guruhlarini faollashtirish uchun NAD + ning tarkibiy qismi bo'lgan AMP dan foydalanadi. DNK replikasiya jarayonidan tashqari, DNK ligazalari ushbu axborot molekulasiining rekombinatsiyasi va ta'mirlanishida ham ishtirok etadilar, shuningdek,

rekombinant DNK ishlab chiqarishda gen muhandisligi ishlarida keng qo'llaniladi.

3.3 E. coli replikativ kompleksi: ta'sir mexanizmi

Ikki beta oqsil molekulasi replikatsiya kompleksiga gamma kompleks oqsillaridan keyin kirib, gamma kompleks oqsillari orqasida DNK bilan bog'lanadi va primerning 3' uchini DNK polimeraza uchun ochiq qoldiradi. Beta protein dimeri DNK molekulasi atrofida halqa hosil qiladi va gamma kompleks oqsillarining ATPaz faolligini rag'batlantiradi. Beta oqsilining funktsional analogi (bakteriofag T4 ning 45-proteini) bir xil fazoviy tuzilmani hosil qiladi, DNK molekulasini uchta molekula bilan qoplaydi. Protein 45 ning molekulyar og'irligi beta monomerining 2/3 qismini tashkil qiladi va ularning aminokislotalar ketma-ketligi bir-biriga gomolog emas. Biroq, bu polipeptidlarning to'rtlamchi tuzilmalari va ularning ishlash mexanizmlari juda o'xshash.

Beta oqsillari va gamma kompleks oqsillari primer-matrisa dupleksi bilan bog'liq bo'lib, ushbu kompleksga minimal ferment DNK polimeraza biriktirilishini ta'minlaydi. Keyin DNK polimeraza, mavjud to'rtta deoksiribonukleozid trifosfat ishtirokida, DNK sintezini boshlash uchun primerdan foydalanib, DNK matrisasini to'ldiruvchi DNK zanjirini yuqori samaradorlik bilan sintez qiladi. Xuddi shu oqsillar ortda qolgan DNK zanjirining sintezida ham ishtirok etadi. Bunday holda, ko'p sonli primerlarda uzluksiz DNK sintezi qayta-qayta boshlanadi va DNK uzunligi taxminan 1000 nt bo'lgan Okazaki fragmentlari shaklida sintezlanadi. Qisqa RNK ketma-ketliklari bo'lgan primerlarning sintezi dnaG gen mahsuloti (fag T4 oqsili 61) tomonidan ta'minlanadi. DNK polimeraza primer RNKning 3-terminal nukleotidiga birinchi dezoksiribonukleozid monofosfat qo'shish orqali DNK zanjirining uzayishini boshlaydi. Cho'zilish jarayoni DNK molekulasi bo'ylab DNK polimeraza katalitik bo'linmasi bilan birga harakatlanadigan beta oqsil va gamma kompleks oqsillarini o'z ichiga oladi.

Replikatsiya vilkalarida DNK sintezi jarayonida bir xil protein kompleksi etakchi DNK zanjirining yuqori protsessual uzluksiz sintezini va orqada qolgan zanjirining Okazaki fragmentlarining uzluksiz sintezini amalga oshiradi, ikkinchi holatda DNK sintezini boshlash uchun har bir yangi primer matrisadan davriy dissotsiatsiyaga uchraydi. Buni tushuntirish uchun DNK polimeraza golofermenti taklif qilindi replikatsiya paytida orqada qolgan DNK zanjirining shakllanishi paytida keyingi Okazaki fragmentining sintezi tugagandan so'ng duch kelgan har

bir RNK primerining 5-uchini taniydi. Ushbu taxminni sinab ko'rish uchun protein kinaz tomonidan tan olingan va fosforlangan aminokislotalar ketma-ketligi genetik muhandislik usullaridan foydalangan holda DNK polimeraza III minimal fermenti bilan aloqa qiladigan beta protein polipeptid zanjiri hududiga kiritildi. In vitroda DNK sintezi jarayonida ortiqcha protein kinaz sharoitida ushbu saytlarning fosforillanish tezligini o'lchash orqali beta-protein-DNK polimeraza komplekslarining assotsiatsiyasi va dissotsiatsiyasi kinetikasi fosforlanish joylarini ta'sirdan himoya qilish darajasining o'zgarishi bilan aniqlandi. protein kinaz. Ma'lum bo'lishicha, minimal DNK polimeraza fermenti va gamma kompleksi SSB oqsili bilan qoplangan, Okazaki fragmentlari sintezi bilan bog'liq bo'lgan bir zanjirli DNK matritsasi bo'ylab harakatlanayotganda, ikkala oqsil ham beta oqsili va matritsa bilan qattiq bog'langan. Replikativ oqsil kompleksi matritsa DNK va RNK urug'i tomonidan hosil bo'lgan dupleksga duch kelganda, beta oqsili yangi sintez qilingan DNK bilan bog'langan bo'lib qoladi va ajratilgan DNK polimeraza va gamma kompleks oqsillari sintezning yangi sikliga kirish imkoniyatiga ega bo'ladi.. Bunday holda, DNK polimerazasining yangi replikatsiya kompleksiga kirishi keyingi RNK primeri bilan bog'liq bo'lgan beta-oqsil va gamma kompleks oqsillarining mavjudligi bilan osonlashadi.

Shunday qilib, DNK polimeraza III holoenzimi matritsa DNK tomonidan yaratilgan molekulyar muhitni tanib olish, DNK-primer duplexi ko'rinishidagi signal mavjudligida DNK sintezini tugatish va keyingi primerda DNK sintezini qayta boshlash qobiliyatiga ega. Replikatsiya kompleksining bir qismi sifatida DNK polimeraza III ning bir xil molekulasi replikatsiya qilingan DNKning orqada qolgan zanjirining barcha Okazaki fragmentlarini sintez qilishga, ularning har birining sintezini boshlash, tugatish va qayta boshlashni ketma-ket amalga oshirishga qodir.

Kechiktirilgan ipning DNK sintezi keyingi tugashidan so'ng, yangi sintez qilingan DNKning 3 uchi keyingi Okazaki fragmenti primerining 5 uchiga juda yaqin bo'lib chiqadi. DNK ligaza yordamida ikkita fragmentni birlashtirish uchun avval RNK primerini olib tashlash va hosil bo'lgan bo'shliqda DNK zanjirini to'ldirish kerak. RNK primeri DNARNK duragaylarida RNKni maxsus ajratuvchi RNase H yordamida va/yoki 5->3 ekzonukleaza DNK polimeraza I ishtirokida olib tashlanadi. Ikkinchi holda, primerni olib tashlash bilan bir vaqtda, natijada bo'shliq DNK polimeraza deb to'ldiriladi. Natijada, ikkita

qo'shni Okazaki bo'laklari bir-biriga juda yaqin bo'lib, faqat bitta zanjirli uzilish bilan ajralib turadi, bu DNK ligazasi bilan tuzatilishi mumkin. Okazaki fragmentlaridan RNK primerlarini olib tashlashni DNK replikasiya jarayonining o'zi bilan muvofiqlashtirish mexanizmlari hali ma'lum emas.

Primer-DNK duplekslariga qo'shimcha ravishda, bakterial va fag DNK polimerazalarining holoenzimlari, ko'rinishidan, replikasiya qilingan DNK molekulasi bo'ylab yo'lda paydo bo'ladigan boshqa sterik to'siqlarga munosib javob bera oladi. Xususan, replikasiya jarayonida T4 faging DNK polimerazasi replikasiya kompleksidan ajralib chiqmasdan va RNK polimerazasini shablondan siqib chiqarmasdan bir xil DNKni transkripsiya qiluvchi RNK polimeraza molekulalaridan ajralib chiqishi mumkin. Bundan tashqari, replikasiya kompleksi DNKning zararlanishini aniqlay oladi, ehtimol o'ziga xos oqsillar bilan belgilanadi va mos keladigan mintaqaning replikasiyasini to'xtatadi, matritsadan to'xtaydi yoki ajralib chiqadi. Bunday DNK bo'limlarining replikasiyasi ta'mirlash tizimining fermentlari tomonidan zarar bartaraf etilgandan so'ng qayta boshlanadi. Dissotsilangan DNK polimeraza uchun bu replikasiya to'xtatilgan joyda yangi sintezlangan DNK zanjirining 3' uchi beta oqsil bilan bog'langanligi sababli mumkin bo'ladi, bu esa dissotsilangan DNK polimerazasining replikasiya kompleksiga qayta kirishini osonlashtiradi.

3.4 E. colida replikasiyaning tugashi

Bakterial xromosomaning replikasiya siklining oxirida ikkita replikasiya vilkalarining uchrashishi hujayra bo'linishidan oldin hosil bo'lgan ikkita bakterial xromosomani to'liq ajratish uchun zarur bo'lgan bir nechta hodisalar bilan birga keladi. Replikasiya vilkalarining bir-biriga qarab harakatlanishi qiz xromatidlari orasidagi gomologik rekombinatsiya bilan birga keladi. Agar sodir bo'lgan rekombinatsiyalar soni toq bo'lsa, bakterial xromosomaning dimeri hosil bo'ladi, agar rekombinatsiyalar soni juft bo'lsa, ikkita katenlangan (bir-biri bilan bog'langan) xromosomalar hosil bo'ladi. Ikkinchi holda, katenlarning topoizomeraza IV bilan ajralishi qiz xromosomalarining to'liq ajralishiga olib keladi, bakterial xromosoma dimerida esa bu etarli emas. Monomerlarni hosil qilish uchun dimerning ajralishi rezolvaza (joyga xos rekombinaza) XerCD ta'sirida dif lokusuda saytga xos rekombinatsiya natijasida sodir bo'ladi.

Bakteriyalarda replikasiyani tartibga solish

Bakterial xromosomalarning replikatsiyasi hujayra metabolizmi bilan chambarchas bog'liq. Masalan, replikatsiyaning yangi davrlarini boshlash chastotasi bakteriya hujayralarining o'sish tezligiga bog'liq va tez o'sadigan bakteriyalar hujayralarida bir nechta ishlaydigan replikatsiya vilkalari bo'lgan xromosomalar bo'lishi mumkin, ammo bitta bakterial xromosomaning replikatsiyasi uchun ulardan faqat ikkitasi kerak bo'ladi. replikatsiya (ori) va qarama-qarshi yo'nalishda ajralib chiqishning yagona kelib chiqishida. Bu bakteriyalarga qulay sharoitlarda bakterial xromosomani to'liq replikatsiya qilishdan ko'ra hosil qilish uchun kamroq vaqt sarflash imkonini beradi. Ko'rinib turibdiki, replikatsiyaning qat'iy tartibli tabiatini saqlab qolish uchun yangi turlarni boshlash darajasida replikatsiyani tartibga solishning nozik mexanizmlari bo'lishi kerak. Bunday mexanizmlar aslida mavjud.

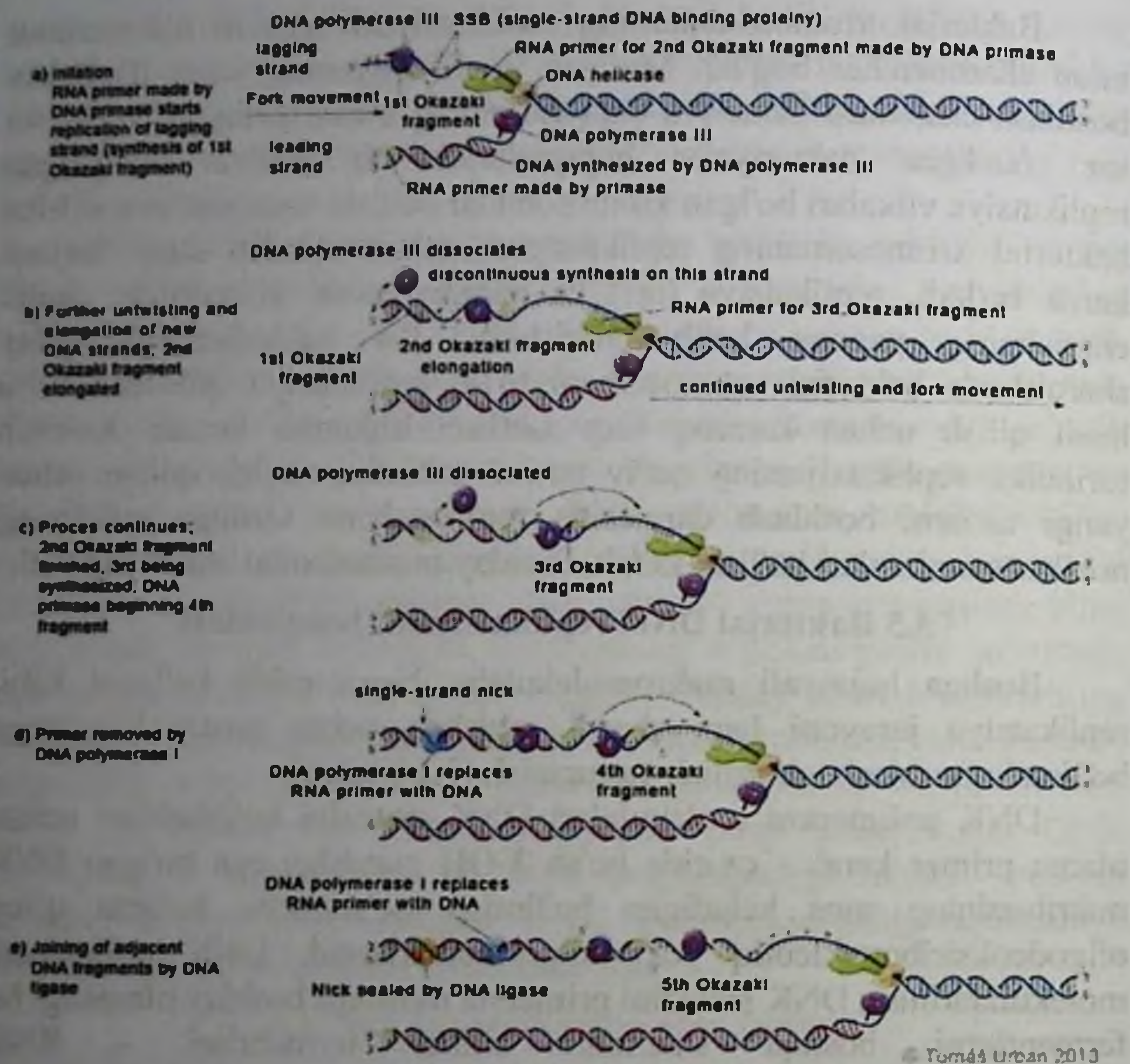
3.5 Bakterial DNK replikatsiyasi: bosqichlari

Boshqa hujayrali makromolekulalar biosintezida bo'lgani kabi, replikatsiya jarayoni ham shartli ravishda uchta asosiy bosqichga bo'linadi: boshlash, cho'zilish va tugatish (3.14-rasm).

DNK polimeraza molekulalari DNK sintezini boshlashlari uchun ularga primer kerak - oxirida bo'sh 3-OH guruhiga ega bo'lgan DNK matritsasining mos keladigan bo'limiga qo'shimcha bo'lgan qisqa oligodeoksiribonukleotid yoki oligoribonukleotid. DNK polimeraza molekulalarining DNK sintezini primersiz mustaqil boshlay olmasligi bu fermentlarni boshqa shablonli sintez fermentlari - RNK polimerazalardan tubdan ajratib turadi. Prokariotlarda replikatsiyaning asosiy bosqichlari 3.14a-f-rasmda keltirilgan.

3.14a-f-rasmda DNK replikatsiya jarayonlarining ketma-ketligi ko'rsatilgan, ular quyidagilarni o'z ichiga oladi: boshlash, cho'zish, primerni kesish, bo'shliqni to'ldirish va Okazaki fragmentining o'zaro bog'lanishi:

Birinchi bosqich (3.14a-rasm) - boshlang'ich RNK primeri DNK sintezi bilan boshlanadi - etakchi zanjirda primaza, cho'zilish, yangi zanjiming sintezi va RNK primerining orqada qolgan DNK zanjirida echilishi va sintezidan so'ng replikatsiya boshlanishi (birinchi Okazaki fragmentining sintezi);



3.14 a-e-rasm. - DNK replikasiyasi bosqichlari: a - boshlash, b va c - cho'zish, d - primerni olib tashlash, bo'shliqni to'ldirish va e - qo'shni bo'laklarni tikish

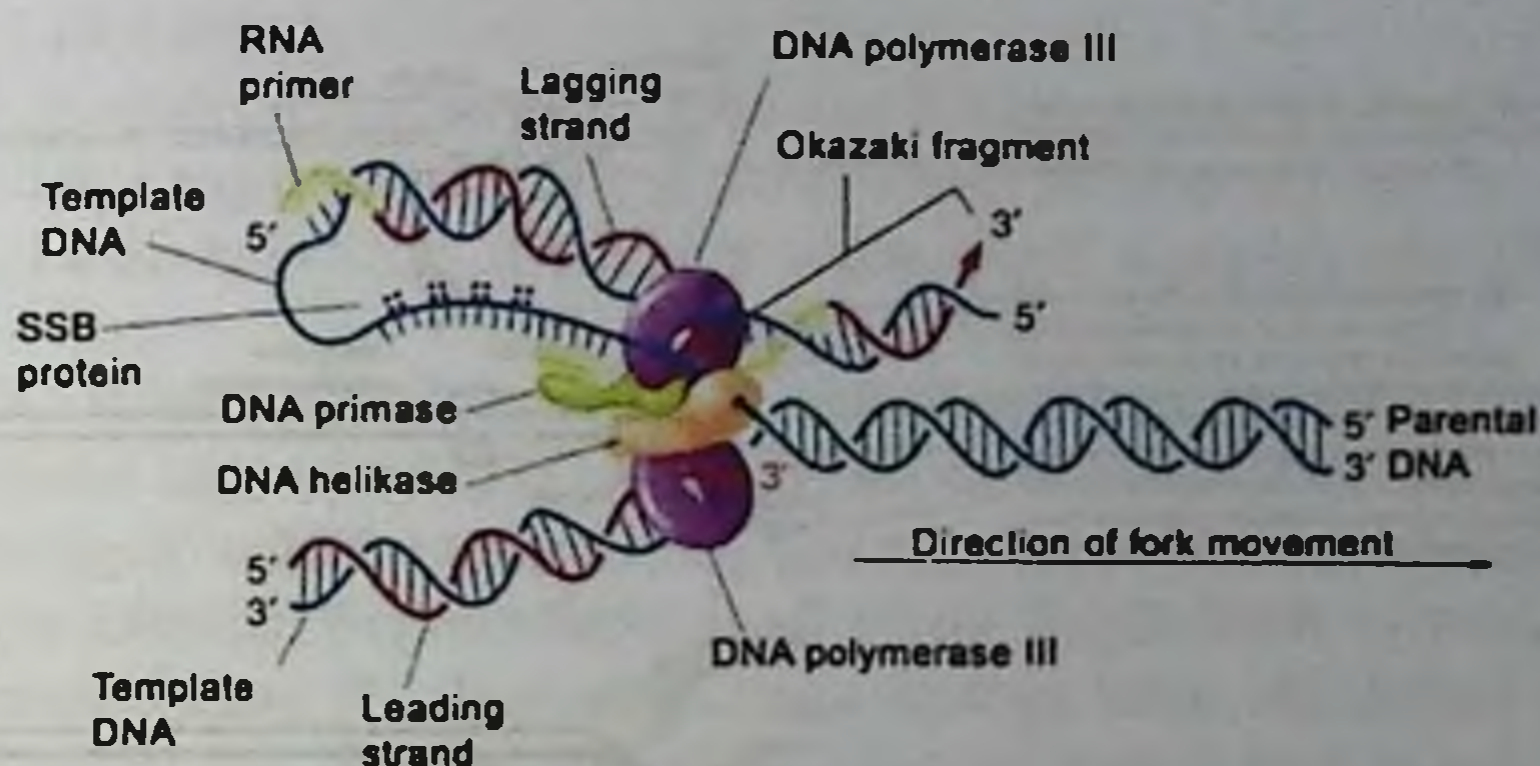
Ikkinchi bosqich (3.14b-rasm) yangi DNK zanjirining replikasiyasining yanada yechilishi va uzayishi; ikkinchi okazaki bo'lagining cho'zilishi;

Uchinchi bosqich (3.14c-rasm) jarayonning davomi bo'lib, 2-Okazaki fragmentining sintezi yakunlanadi, 3-Okazaki fragmenti sintezlanadi, DNK primazasi 4-Okazaki fragmentining sintezini boshlaydi;

To'rtinchi bosqich (3.14d-rasm) - RNK primeri DNK polimeraza I tomonidan chiqariladi;

Beshinchi bosqich (3.14f-rasm) - qo'shni DNK bo'laklarining DNK ligaza bilan birlashishi.

3.15-rasmda DNK replikasiya vilkasidagi replizoma modeli ko'rsatilgan.



3.15-rasm - Takroriy model

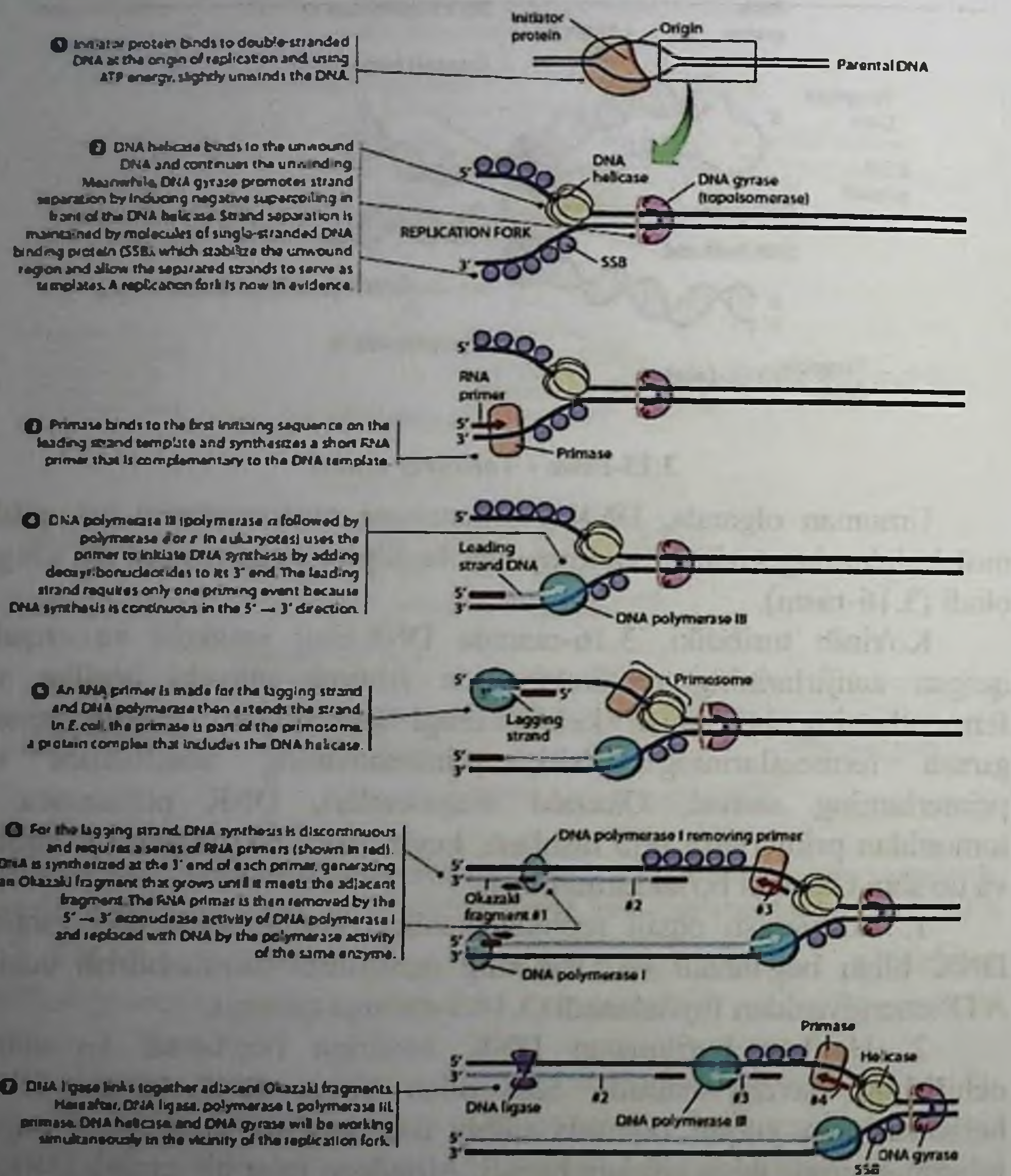
Umuman olganda, DNK replikasiyasi muammolarini hal qilish molekulalarning tuzilishi va kimyoviy faolligini o'zgartirishni o'z ichiga oladi (3.16-rasm).

Ko'rinib turibdiki, 3.16-rasmda DNKning yetakchi va orqada qolgan zanjirlarining replikasiyasida ishtirok etuvchi oqsillar va fermentlarning bog'lanish ketma-ketligi ko'rsatilgan. Topoizomeraz-giraza fermentlarining ta'siri, primosomaning shakllanishi va primerlarning sintezi, Okazaki fragmentlari, DNK polimeraza I tomonidan primerlarni olib tashlash, keyinchalik bo'shliqlarni to'ldirish va qo'shni Okazaki bo'laklarini tikish.

1. Boshlanish oqsili replikasiyaning boshlanishida ikki zanjirli DNK bilan bog'lanadi va DNKning ochilishini osonlashtirish uchun ATP energiyasidan foydalanadi (3.16.1-rasmga qarang).

2. Helikaz burilmagan DNK zanjiriga bog'lanadi va uning ochilishini davom ettiradi. Shu bilan birga, DNK giraza DNK helikazasining yuqori oqimida salbiy o'ta sarg'ish hosil qilish orqali iplarning ajratilishiga yordam beradi. Ajratilgan iplar bir zanjirli DNKni bog'lovchi (SSB) oqsillari molekulalari tomonidan qo'llab-quvvatlanadi, ular ajratilgan hududlarni barqarorlashtiradi va ajratilgan iplar replikasiya uchun shablon bo'lib xizmat qiladi. Replikasiya vilkasi endi ko'rinadi (rasm 3.16.2).

3. Primaza shablon yetakchisi zanjiridagi birinchi boshlash ketma-ketligi bilan bog'lanadi va DNK shablonini to'ldiruvchi qisqa RNK primerini sintez qiladi (3.16.3-rasm).



3.16-rasm - DNK replikasiyasi. DNKning etakchi va orqada qolgan zanjirlarini replikasiya qilish jarayonida DNKning strukturaviy va kimyoviy o'zgarishlari.

1. Prokariotlarda DNK polimeraza III va polimeraza a (alfa) va keyinchalik eukariotlarda d (delta) va e (epsilon) polimerazalari DNK sintezini boshlash uchun primerdan foydalanib, uning 3' uchiga

deoksiribonukleotidlarni qo'shib DNK sintezini boshlaydi. Etakchi zanjir faqat bitta boshlang'ich hodisani talab qiladi, chunki DNK sintezi 5'→3' yo'nalishda davom etadi.

(3.16.4-rasm).

2. Kechikuvchi ipda sintez qilingan RNK primeri DNK polimeraza tomonidan kengaytiriladi. *E. coli* da primaza primosomaning bir qismi bo'lib, DNK helikazini o'z ichiga olgan oqsil kompleksidir (3.16.5-rasm).

3. Ortiqcha qolgan ipda DNK sintezi uzluksiz va bir qator RNK primerlarini talab qiladi (rasmda qizil rangda ko'rsatilgan). DNK har bir primerning 3' uchidan sintezlanib, qo'shni bo'lak bilan uchrashguncha o'sadigan Okazaki fragmentlarini hosil qiladi. Keyin RNK primeri DNK polimeraza I ning 5'→3' ekzonukleaza faolligi bilan chiqariladi va bu fermentning DNK polimeraza faolligi bilan tuziladi (3.16.6-rasm).

4. DNK ligaza qo'shni Okazaki bo'laklarini bir-biriga bog'laydi. Keyinchalik, DNK ligaza, polimeraza I, polimeraza III, primaza, DNK helikaz va DNK giraza bir vaqtning o'zida replikatsiya vilkalari yaqinida ishlaydi (rasm 3.16.7).

Replizoma DNK sintezining yuqori tezligini saqlab turishga qodir, har bir o'sayotgan ipga sekundiga taxminan 1000 nukleotid qo'shadi. Okazaki fragmenti hosil bo'lgandan so'ng, uning sintezi uchun asos bo'lgan RNK primeri RNase H tomonidan chiqariladi va bo'shliq DNK polimeraza I yordamida mos keladigan DNK mintaqasi bilan to'ldiriladi va qolgan bo'shliq DNK ligaza tomonidan "tiklanadi".

Bir zanjirli DNKni bog'lovchi oqsillar

Replikatsiya vilkalaridagi bir ipli DNK juda beqaror va nukleotidlar o'rtasida "soch iplari" deb ataladigan vodorod aloqalarini hosil qilishi mumkin (yoki bir ip boshqa ip bilan noto'g'ri bog'lanishi mumkin). Ushbu beqarorlikka qarshi turish uchun bir zanjirli DNKni bog'lovchi oqsillar (prokaryotlarda SSB va eukariotlarda replikatsiya oqsillari A) noto'g'ri bog'lanishning oldini olish uchun nukleotid asoslari bilan bog'lanadi.

Bir ipli zanjir va uning bog'lovchi oqsillarining birikmasi yalang'och bir zanjirli zanjirlarga qaraganda replikativ polimerazalar uchun yaxshiroq substrat bo'lib xizmat qiladi (bog'lovchi oqsillar polimerizatsiya reaksiyasi uchun qo'shimcha termodinamik harakatlantiruvchi kuchlarni ta'minlaydi). Zanjirni bog'laydigan oqsillar replikativ polimeraza tomonidan chiqariladi. (A*) holatidagi interfeys kimyoviy jihatdan replikativ polimeraza tomonidan katalizlanadigan

reaktsiya uchun mos bo'lgan erkin 3OH ni o'z ichiga oladi va "osilma" konfiguratsiyasi replikativ polimeraza tomonidan zanjirning kengayishi uchun tizimli ravishda mos keladi. Shunday qilib, replikativ polimeraza (A^*) nuqtada zanjir uzayishini boshlashi mumkin. Strukturaviy va kimyoviy nuqtai nazardan, DNKning bir zanjiri o'z-o'zidan (va bir zanjirli bog'lovchi oqsillar bilan bog'liq) polimerizatsiya uchun mos emas. Buning sababi, replikativ polimeraza tomonidan katalizlangan kimyoviy reaktsiyalar nukleotid zanjirining kengayishini boshlash uchun erkin 3-OH ni talab qiladi. Primer fermentlar (ular DNKga bog'liq bo'lgan RNK polimerazalari) bu muammoni etakchi va orqada qolgan iplarda RNK primerini yaratish orqali hal qiladi. Etakchi ip bir marta astarlanadi va orqada qolgan ip taxminan har 1000 (+/- 200) bp (orqada qolgan ipdagi har bir Okazaki fragmenti uchun bitta primer) astarlanadi. Har bir RNK primeri taxminan 10 asos uzunlikda Primaza Prokariotlarda primaza yangi ajratilgan yetakchi va orqada qolgan iplarning vilkalarida RNK primerlarini hosil qiladi.

DNK polimeraza alfa Eukariotlarda DNK polimeraza alfa yangi ajratilgan etakchi va orqada qolgan iplarda RNK primerini hosil qiladi va primazadan farqli o'laroq, DNK polimeraza alfa primerni yaratgandan so'ng deoksinukleotidlarning qisqa zanjirini ham sintez qiladi.

Jarayon va sinxronizatsiyani ta'minlash protsessivlik DNK replikatsiyasining tezligi va uzluksizligini bildiradi, yuqori jarayonlilik o'z vaqtida replikatsiya uchun zaruriy shartdir. Yuqori qayta ishlashga qisman "qisqichlar" deb ataladigan yumaloq oqsillar orqali erishiladi, bu replikativ polimerazalarning etakchi va orqada qolgan iplar bilan bog'lanishiga yordam beradi. Boshqa omillar ham mavjud: bir zanjirli DNKni bog'laydigan oqsillar polimerizatsiyani rag'batlantiradi va reaktsiya uchun qo'shimcha termodinamik energiya beradi. Tizimlar nuqtai nazaridan, ko'plab replikatsion omillarning tuzilishi va kimyoviy xossalari (masalan, qisqich yuklagichning alohida bo'linmalarining AAA + ATPase xususiyatlari), shuningdek, qisqichlarni yuklash omillari va boshqa qo'shimcha omillar o'rtasidagi bog'liqliklar ham jarayonni kuchaytiradi. Tadqiqot shuni ko'rsatdiki, qisqichni yuklash va qisqichning surma omillari replikatsiya uchun mutlaqo zarurdir, bu qisqichni yuklash va qisqichning surma omillari uchun kuzatilgan yuqori darajadagi strukturaviy konservatizmni tushuntiradi. Ushbu me'moriy va strukturaviy konservatizm bakteriyalar, faglar, achitqilarlar va odamlar kabi turli xil organizmlarda namoyon bo'ladi. Tizimli konservatizmning bunday muhim darajasi ketma-ketlik homologiyasisiz kuzatilishi

replikatsiya muammolari uchun ushbu tizimli echimlarning ahamiyatini yanada kuchaytiradi.

Eukariotlarda replikatsiya boshlanishi ma'lum bir nechta nukleotidlar ketma-ketligi - replikatorlarda sodir bo'ladi. Eng ko'p o'rganilgan xamirturush replikatorlari *S. cerevisiae* bo'lib, birinchi navbatda achitqi hujayralarida plazmidlarning xromosomadan tashqari replikatsiyasini qo'llab-quvvatlashga qodir avtonom replikatsiyalanuvchi ketma-ketliklar (ARS) sifatida aniqlangan.

Sutemizuvchilarda replikatsiya kelib chiqishi taxminan 100 kb masofada joylashgan. bir biridan; Ulardan ba'zilari klonlangan va molekulyar darajada o'rganilgan. Alohida replikonlarda DNK sintezi ikki yo'nalishda sodir bo'lishi aniqlangan, replikatsiya vilkalari bir yo'nalishda afzallik bilan harakatlanadi, bu organizmning rivojlanish bosqichiga va replikatorlarni o'z ichiga olgan genlarning ekspressiya darajasiga qarab o'zgarishi mumkin. Individual replikatorlardan foydalanish chastotasi ontogenez jarayonida o'zgaradi, kattalar organizmining hujayralarida kamayadi.

Hayvon replikatorlarida purin traktlari, transkripsiya omillari va replikatsiya kompleksi oqsillari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi kanonik ketma-ketliklar, kuchaytiruvchi oktamer motivi, onkogen mahsulotlar uchun bog'lanish joylari, AT ga boy ketma-ketliklar va DNK egilish joylari borligi xabar qilingan. Ushbu ketma-ketliklarning ko'pchiligi transkripsiyani tartibga solishda (va shuning uchun gen ekspressiyasini tartibga solishda) ishtirok etadi deb taxmin qilinadi.

Replisoma DNK replikatsiyasini amalga oshiradigan murakkab molekulyar mashinadir. Replizoma birinchi navbatda ikki ipli DNKni ikkita alohida zanjirga ajratadi. Olingan alohida iplarning har birida yangi qo'shimcha DNK ketma-ketligi sintezlanadi. Yakuniy natija asl ikki zanjirli DNK ketma-ketligining aniq nusxalari bo'lgan ikkita yangi ikki zanjirli DNK ketma-ketligini hosil qiladi.

Prokaryotlar uchun har bir nukleoid bo'linishi ikki tomonlama replikatsiya uchun ikkita replisomani talab qiladi. Ikki replizoma hujayraning markazidagi ikkala vilkadan replikatsiyani boshlaydi va davom ettiradi. Nihoyat, tugatish joyida ikkita replizoma DNKdan ajralib chiqadi. Replisoma hujayraning markazida (o'rta hujayrasida) mahkamlangan holda qoladi, membranaga biriktiriladi va shablon DNK ipiga bog'langan. DNK hujayra membranasida joylashgan statsionar juft replizomalar orqali oziqlanadi.

Eukariotlar uchun replikatsiya xromosoma bo'ylab boshlanganda ko'p sonli replikatsiya pufakchalari hosil bo'ladi. Prokariotlarda bo'lgani kabi, replikatsiya pufakchasining uchlarida joylashgan har bir replikatsiya vilkasida bittadan ikkita replizoma talab qilinadi. Xromosomalar hajmining sezilarli farqlari, shuningdek, yuqori darajada kondensatsiyalangan xromosomalarning bog'langan komplekslari tufayli eukaryotlarda DNK replikatsiyasi jarayonining turli jihatlari, shu jumladan terminal fazalari prokariotlarga qaraganda kamroq xarakterlanadi.

Umumiy strukturaviy va kimyoviy o'zgarishlarga quyidagilar kiradi:

- Replizomalarning replikatsiya boshlanishida samarali yig'ilishi (ba'zi organizmlarda kelib chiqish komplekslarini yoki replikatsiya kelib chiqishining o'ziga xos ketma-ketligini tan olish)

- Matritsasi dupleks yetakchi va orqada qolgan iplarni (spiral) ajratish

- Prokaryotlarda bir zanjirli DNK zanjirlarini (SSB-bir zanjirli bog'lovchi oqsil) va eukaryotlarda A replikatsiya oqsilini (RPA) taniydigan oqsillarni bog'lash orqali dupleks ajratilgandan so'ng yetakchi, yetakchi yoki yetakchi va orqada qolgan ipni shikastlanishdan himoya qilish.

- DNK replikatsiyasining yuqori aniqligi (DNK polimeraza III, DNK polimeraza deltasi, DNK polimeraza epsilon. Ularning barchasi tuzilishi va kimyoviy faolligining o'ziga xos xususiyatlaridan kelib chiqqan holda past xatolik ko'rsatkichlariga imkon beradi)

- Xatoni tuzatish (replikatsiya qiluvchi polimerazalar xatolarni tan oladi; replikatsiya qiluvchi polimerazalarning 3' - 5' eksonukleaza domenlari noto'g'ri kiritilgan nukleotidlarni olib tashlaydi)

- Tuzilishining antiparallel xususiyatiga qaramay, yetakchi va orqada qolgan iplarning sinxron polimerlanishi (replikatsiya vilkasining tuzilishi, replikativ polimerazalarning dimerizatsiyasi)

- Primerlarni olib tashlash (DNK polimeraza I, RNase H, FEN1 kabi flapli endonukleazlar yoki boshqa DNK tuzatish omillari)

- Okazaki (ligaza) fragmentlari orasidagi bo'shliqlarda fosfodiester bog'lanishlarining hosil bo'lishi.

- Prokariotlarda Okazaki fragmentlarining uzunligi 1000-2000 eukariotlarda esa 100-200 nukleotid.

Artur Kombergning gipotezasiga ko'ra, orqada qolgan zanjir 180° ga aylanadi. Shunday qilib, DNK polimeraza molekulalari boshqa

replizom oqsillari bilan birgalikda ikkala zanjimning bir vaqtda sintezini ta'minlaydi.

Nazorat savollari

1. Replikatsiya jarayonini qanday tavsiflash mumkin?
2. DNK replikatsiyasida qanday oqsillar ishtirok etadi?
3. Bakteriyalarda replikatsiyaning kelib chiqishi qanday aniqlanadi?
4. E.colida replikatsiya vilkasi va priming kompleksining hosil bo'lishida qanday oqsillar ishtirok etadi?
5. Preinitiatsiya va prereplikativ komplekslar qanday hosil bo'ladi?
6. Eukaryotik replikator(ori) nima?
7. Hujayra siklida replikonlarning qanday strukturaviy va kimyoviy o'zgarishlari sodir bo'ladi?
8. Eukariotlarda replikatsiyadan oldingi, initiatsiyadan oldingi va inisiatsion komplekslarning shakllanishi qanday sodir bo'ladi?
9. Prokariot va eukariotlarda replikatsiya komplekslariga qanday oqsillar va omillar kiradi?

IV BOB. DNK replikatsiyasining molekulyar mexanizmi

4.1 Asosiy replikatsiya fermentlari. Replikativ polimerazalar

Replikatsiyada fermentlarning quyidagi asosiy guruhlari ishtirok etadi: DNK polimerazalar, DNK ligazalar, DNK helikazalar, topoizomerazalar, primazalar.

Prokaryotik va eukaryotik organizmlar turli xil replikativ polimerazalardan foydalanadi, ularning ba'zilari yaxshi tavsiflanadi:

- DNK polimeraza III
- DNK polimeraza deltasi
- DNK polimeraza epsilon

DNK polimeraza III

Bu polimeraza prokariotlarda DNKning yetakchi va orqada qolgan zanjirlarini sintez qiladi.

DNK polimeraza deltasi

Ushbu polimeraza eukaryotlarda DNKning orqada qolgan iplarini sintez qiladi (Aftidan, DNK bilan assimetrik dimer hosil qiladi - epsilon polimeraza.) yil dekabr) DNK polimeraza epsilon- Bu polimeraza eukariotlarda DNKning yetakchi zanjirini sintez qiladi. [JohnsonSJ, BeeseLS (2004 yil mart)] (Aftidan, DNK bilan assimetrik dimer hosil qiladi.

- polimeraza deltasi.).

DNK polimerazalari. Ota-zanjirning nukleotidini taniydigan fermentlar komplementar nukleozid trifosfatni bog'laydi va uni 5 uchi bilan o'sayotgan zanjirning 3 uchiga biriktiradi. Natijada 5-3 diester bog' hosil bo'ladi, pirofosfat ajralib chiqadi va o'sish zanjiri bitta nukleotid bilan uzaytiriladi. Shunday qilib, DNK polimeraza asosiy DNK molekulasining 3 dan 5 uchigacha harakatlanib, yangi zanjirini sintez qiladi. DNK polimeraza ishlashi uchun primer (ya'ni, yangi nukleotidni biriktirish uchun 3-OH guruhi) va kerakli nukleotidning biriktirilishini aniqlaydigan matritsa kerak. Polimeraza faolligiga qo'shimcha ravishda, DNK polimerazalari ekzonukleaza faolligiga ega, ular bir DNK zanjirida yoki dupleks DNKning juftlashtirilmagan uchida fosfodiester bog'lanishlarini gidrolizlashga qodir. Bitta aktda zanjirning 3 uchidan (3-5 ekzonukleaza) yoki dupleks DNK zanjirining 5 uchidan (5-3 ekzonukleaza) boshlab bitta nukleotid chiqariladi. Bu turli xil faoliyatlar DNK polimerazalarining polipeptid zanjirining turli joylariga xosdir. 3-5 ekzonukleaza faolligi har bir nukleotidning qo'shilishini nazorat qiladi

va zanjirning o'sib borayotgan uchidan noto'g'ri nukleotidlarni olib tashlaydi. Barcha DNK polimerazalari bu turdagi reaksiyani bajarishga qodir. Ko'pgina (hammasi emas) DNK polimerazalari ham 5-3 ekzonukleaza faolligiga ega. 5-3-eksonukleaza va polimeraza faolliklari birlashganda dupleksdagi bir ipli uzilishning 5 uchidan nukleotidlarning ketma-ket ajralishi va 3 uchidan zanjirning uzayishi sodir bo'ladi. Natijada, uzilish joyi zanjir bo'ylab 5 dan 3 oxirigacha bo'lgan yo'nalishda harakat qiladi (nik tarjimasi deb ataladi).

Bakterial DNK polimerazalar *E. coli* dan DNK polimerazalari.

Uprokaryotlarda DNK polimerazalarining besh turi aniqlangan, ulardan uchta yaxshi o'rganilgan.

E. coli bakteriyalarida uchta DNK polimerazalari tasvirlangan - Pol I, Pol II va Pol III, birinchisi, birinchi navbatda, DNKni tiklash uchun, uchinchi DNK replikatsiyasi uchun va ikkinchisi ekstremal holatlarda Pol III ni almashtirish uchun javobgardir. , masalan, mutagen DNK ta'miri sifatida. DNK polimeraza III asosiy DNK replikatsiya fermenti bo'lib, ortda qolgan zanjirning sintezi jarayonida DNK va Okazaki fragmentlarining etakchi zanjirini sintez qiladi. DNK polimeraza I RNK primerlarini olib tashlash va tozalangan DNK joylarini oldindan replikatsiya qilish uchun orqada qolgan ipga ta'sir qiladi. Olingan ortda qolgan ipning Okazaki bo'laklari DNK ligaza yordamida bir-biri bilan bog'lanadi.

E. coli DNK polimeraza

Barcha *E. coli* DNK polimerazalaridan polA geni tomonidan kodlangan DNK polimeraza I hujayra ichidagi eng yuqori darajaga ega (har bir hujayra uchun ~ 400 molekula). U uchta domenga bo'linishi mumkin bo'lgan uzunligi 928 qoldiq bo'lgan bitta subbirlikdan iborat. Molekulaning N-uchdan bir qismini (5'□3') ekzonukleaza domeni egallaydi, eng qisqa (3'□5') ekzonukleaza domeni markazda va eng katta polimeraza sohasi oxirida joylashgan. DNK polimeraza I tomonidan cheklangan proteolizda, birinchi domenlar orasidagi chegarada bo'linish kichik N-terminal 5' nukleaz fragmentini va Klenow fragmenti deb ataladigan katta C-terminal qismini hosil qiladi. Ikkinchisi 3'-nukleaza va polimeraza faolligini saqlab qoladi va ko'pincha in vitro DNK sintezi uchun ishlatiladi.

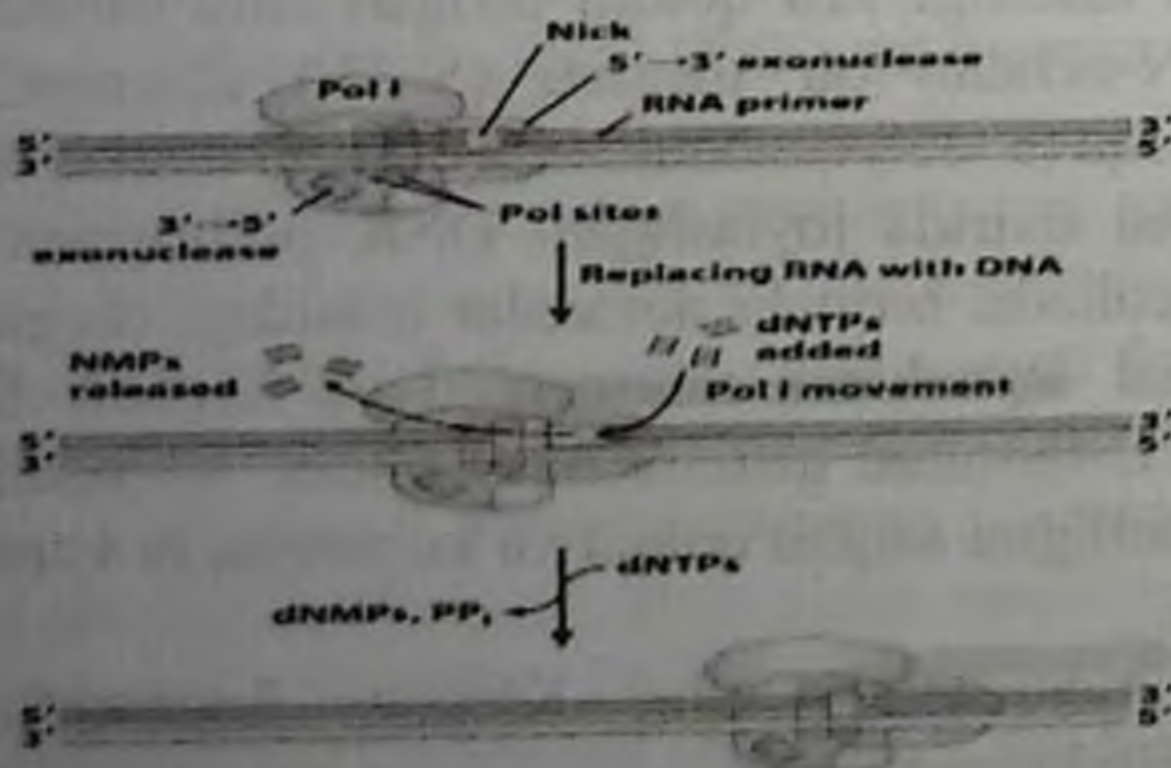
DNK polimeraza IE ning Klenow fragmentining rentgen nurlanishining difraksion tahlili.

Boshqa DNK polimerazalarining barcha eksperimental o'rganilgan polimeraza domenlari va inson immunitet tanqisligi virusi teskari

transkriptazalari o'xshash uch o'lchovli tashkilotga ega. Ko'pgina DNK polimerazalarining polimeraza domenlari xuddi shu tarzda tashkil etilgan deb taxmin qilish mumkin. Kaft sohasining eng konservativ topologiyasi ikki -spiral bilan yonma-yon joylashgan varaqdan iborat. Palma domenida saqlanib qolgan A va C motiflari mavjud. DNK polimeraza I'da bosh barmoq va barmoq sohalari. Coli α -spirallar orqali hosil bo'ladi va barmoq sohasining O spirali B motiviga to'g'ri keladi. Boshqa DNK polimerazalarida bu domenlarning tashkil etilishi ancha kam konservativdir.

Bosh barmoq sohasi asosan 2-spiral bo'lib qolsa-da, uning topologiyasining nozik tafsilotlari turlicha. Barmoq domenlari orasidagi farqlar yanada kattaroq. Umuman olganda, polimeraza domenining arxitekturasi DNK primer matritsasini va kiruvchi dNTPni bog'lash uchun ichki bo'shliq mavjudligi bilan tavsiflanadi, uning asosi palma domenidir.

DNK polimeraza I, Kornberg polimeraza, Kornberg fermenti (DNKpolimeraza I, Poli, Kornbergpolimeraza, Kornbergenzim) DNKda DNKni sintez qiluvchi (DNK replikatsiyasi), 5 \rightarrow 3 polimeraza faolligiga ega (bir ipli shablonda DNK sintezini o'tkazadi) oqsildir.), 3 \rightarrow 5 ekzonukleaza faolligi (erkin 3-OH-uchidan boshlab ikki yoki bir zanjirli DNKni ajratadi) va 5 \rightarrow 3 ekzonukleaza faolligi (5-uchida ta'sir qiladi). polinukleotid zanjiri faqat dupleksning bir qismi sifatida va undan mono- va oligonukleotidlarni ajratadi), 4.2-rasmga qarang. E. coli da DNK polimeraza I 940 ta aminokislota qoldig'idan iborat bitta polipeptid bilan ifodalalanadi. Bu ferment birinchi marta A. Kornberg va boshqalar tomonidan ajratilgan.



4.2-rasm - RNK primerlarini olib tashlash va tozalangan joylarni oldindan ko'paytirish

DNK polimeraza tomonidan qolgan zanjirdagi DNK
DNK polimeraza IIE.coli

DNK polimeraza II (DNK polimeraza II) bakterial ferment bo'lib, DNK replikatsiyasida yordamchi qismni oladi (Qarang: Replikatsiya); ultrabinafsha nurlanishi natijasida shikastlangan DNK bo'limlarini ta'mirlashni o'z ichiga olgan bir qancha funktsiyalarni bajaradi (Qarang: Reparatsiya).

PolB (dinA) geni tomonidan kodlangan DNK polimeraza II (PolII) asosan eukaryotik DNK polimerazalarini o'z ichiga olgan B polimeraza oilasiga mansub yagona E. coli DNK polimerazasidir. DNK polimeraza II N-terminal (3-5) ekzonukleaza domenidan (qoldiqlar 1-278) va uzunroq C-terminal polimeraza domenidan iborat va 5 ekzonukleaza faolligiga ega emas. U eukaryotik DNK polimerazalari bilan 6 homologiya mintaqasiga ega. PolII ning ikkinchi xususiyati shundaki, uning geni LexA repressor oqsili tomonidan boshqariladi va DNK shikastlanishi natijasida kelib chiqqan SOS regulonining bir qismidir. DNK polimerazasining bazal darajasi ancha yuqori (har bir hujayrada 50 molekula) va ultrabinafsha nurlangan E. coli hujayralarida 7 baravar ko'payib, DNK polimeraza I darajasiga teng bo'ladi.

DNK polimeraza II 1970-yillarda kashf etilgan va uzoq vaqt davomida biokimyoviy tavsiflangan bo'lsa-da, uning fiziologik funktsiyalari to'liq tushunilmagan. PolB genini yo'q qilish halokatli emas. PolB mutantlarining fenotiplari shuni ko'rsatdiki, PolII ultrabinafsha nurlari va oksidlovchi stress natijasida kelib chiqqan DNK shikastlanishini tiklashda, shuningdek, DNKning o'zaro bog'liqliklari va apurin joylarida ishtirok etishi mumkin. PolII ning jinsiy F epizoma replikatsiyasida ishtirok etishi va ma'lum sharoitlarda PolII ning E. coli xromosomasining replikatsiyasida DNK polimeraza III bilan raqobatlasha olishi uchun bilvosita dalillar ham olingan.

DNK polimeraza II DNK polimeraza III ning yordamchi subbirlklari ishtirokida DNK ni yuqori protsessuallik bilan in vitro sintezlashi mumkin bo'lsa-da, PolII in vivo bakterial xromosomani to'liq takrorlashi dargumon. Shunday qilib, DNK polimeraza II asosiy replikaza emas, balki asosan ta'mirlash jarayonlarida, masalan, DNK shikastlanishida to'xtagan replikatsiya vilkalarini qayta ishga tushirishda ishtirok etadi.

4.2 Invivo replikatsiyani boshlash: boshqarish mexanizmlari

E. coli da DNK replikatsiyasining boshlanishi uch darajada tartibga solinadi: 1) boshlash hujayra sikli bilan sinxronlanadi; 2) hujayra siklida replikatsiya kelib chiqishining har bir hududida DNK sintezi faqat bir marta boshlanadi; 3) boshlash ma'lum bir bakterial hujayrada mavjud bo'lgan replikatsiya kelib chiqishining barcha hududlarida sinxron ravishda sodir bo'ladi.

DNK sintezi bakteriya hujayrasining replikatsiya kelib chiqish mintaqasidagi massasi boshlang'ich massa deb ataladigan ma'lum bir qiymatga etganidan keyin boshlanadi. Replikatsiyaning boshlanishini nazorat qilishda asosiy rol o'ynaydigan asosiy yurak stimulyatori (kardiostimulyator) DnaA oqsilidir.

In vivo jonli ravishda oqsil sintezini bostirish yangi boshlanish davrlarining to'xtashi fonida allaqachon boshlangan DNK sintezining tugashi bilan birga keladi. Protein sintezining tiklanishi bir hujayra avlodining kechikishidan keyin replikatsiyaning boshlanishiga olib keladi. Barcha kerakli oqsillar mavjud bo'lganda, boshlash bakterial RNK polimerazasining o'ziga xos inhibitori bo'lgan rifampitsinga sezgir bo'lib, bu boshlang'ichning tarjima qilinmagan RNK sinteziga bog'liqligini ko'rsatadi.

E. coli DnaA oqsili: replikatsiyani boshlash chastotasini tartibga solishdagi roli.

Bakteriyalarga xromosomal DNKni replikatsiya qilish, qiz xromosomalarini ajratish va yangi bo'linishga tayyorgarlik ko'rish uchun taxminan 60 daqiqa kerak bo'ladi.

Shuning uchun avlod vaqti bu davrdan qisqaroq bo'lgan hujayralar (masalan, boy ozuqa muhitida yuqori haroratda) oldingi replikatsiya davri tugagunga qadar keyingi bo'linish uchun mo'ljallangan xromosomalarning replikatsiyasini boshlashi kerak. Shunday qilib, bitta hujayra replikatsiyaning bir nechta kelib chiqishi bilan replikatsiya qiluvchi xromosomani o'z ichiga olishi mumkin. Bunday holda, replikatsiyaning bir nechta kelib chiqishida replikatsiyaning boshlanishi bir vaqtning o'zida sodir bo'ladi.

Bakteriyalarda DnaA ning haddan tashqari ko'payishi DNK sintezining umumiy tezligini o'zgartirmasdan replikatsiya boshlanishi chastotasining keskin oshishiga olib keladi, bu DnaA ni ushbu jarayonning ijobiy regulyatori sifatida ko'rsatadi. DnaA oqsilining tartibga solish ta'siri mexanizmini tushuntiruvchi modellar orasida DnaA

titrlash modeli eng ko'p qo'llaniladi. Ushbu modelga ko'ra, barcha yangi sintez qilingan DnaA oqsili oriC xromosomasining DnaA qutilari bilan bog'lanadi (titrlanadi). Boshlovchi molekulalar soni hujayra ichidagi DnaA qutilari sonidan oshib ketishi bilanoq (barcha DnaA qutilari oqsil bilan band), DNK sintezi boshlanadi. Bir oriCda boshlash boshlanganidan so'ng, DnaA molekulalarining ajralishi, uning hujayra ichidagi kontsentratsiyasining keskin oshishi va replikatsiya kelib chiqishining boshqa kirish mumkin bo'lgan hududlarida DNK sintezining sinxron boshlanishi kuzatiladi. Bundan tashqari, birinchi oriC ning membranalari bilan bog'lanish uni qayta tiklashda foydalanishdan himoya qiladi.

Replikatsiyaning boshlanishi: oriC topologiyasining roli

Topoizomeraza I va topoizomeraza II (DNK giraza) bakterial xromosomani salbiy o'ta o'ralgan holatda saqlaydi. Supercoilingning taxminan yarmi gistonga o'xshash oqsillar HU, IHF va FIS tomonidan neytrallanadi, bakterial xromosomaning qolgan supercoilingi esa transkripsiyani, replikatsiyani va saytga xos rekombinatsiyani osonlashtiradi. Bakterial xromosoma 1 kb uchun taxminan 25 ta superoil bo'lgan 40-50 o'ta o'ralgan domenlardan iborat deb taxmin qilinadi. DNK. E. coli da replikatsiyani boshlash uchun zarur bo'lgan oriC ning topologik holati haqida aniq ma'lumotlar yo'q.

Ma'lumki, topA topoizomeraz genidagi mutatsiyalar haroratga sezgir DNA(Ts) mutatsiyalarini bostiradi. Ushbu mutant shtamlarda oriC topologiyasi DnaA oqsilining hujayra ichidagi past konsentratsiyasida replikatsiya boshlanishiga imkon beradigan tarzda o'zgartirilishi taklif etiladi. Bundan tashqari, oriC ning ma'lum bir topologik holatini boshlash uchun muhimligi, DNK girazasining B bo'linmasini kodlaydigan o'zgartirilgan gyrB(Ts) geniga ega bo'lgan mutant bakteriyalarda boshlashning buzilishidan dalolat beradi.

Transkripsiya orqali replikatsiyani faollashtirish

Agar minixromosomalar yoki oriC ni o'z ichiga olgan plazmidlarning supero'ralishi ularning replikatsiyasini boshlash uchun etarli bo'lmasa, boshlash DNKning oriC yaqinida bir vaqtning o'zida transkripsiyasi bilan sodir bo'lishi mumkin. Bu holda oriC topologiyasining o'zgarishi R-halqalarining shakllanishi (ikki zanjirli DNKda DNK-RNK gibridd) yoki transkripsiya tufayli sodir bo'lishi mumkin, bunda DNKning mahalliy ijobiy supero'ralishi oldin sodir bo'ladi. transkripsiya qiluvchi RNK polimeraza, undan keyin esa salbiy.

Bu DNK sintezining boshlanishi paytida ochiq komplekslarning shakllanishiga yordam beradi

DNK biosintezi: Aniqlik: Kirish

DNK polimerazalari tomonidan katalizlangan DNK sintezining aniqligi alohida biologik ahamiyatga ega.

Nukleotid qoldig'ining har qanday noto'g'ri kiritilishi, agar u yangi hosil bo'lgan dupleks darajasida keyingi replikatsiya nazorati paytida tuzatilmasa, qoida tariqasida, keyingi replikatsiya davrlarida mutatsiyalarga olib keladi. Darhaqiqat, hujayralardagi DNK biosintezi normal sharoitida mutatsiyalar 10^{-10} - 10^{-11} chastotasi bilan sodir bo'ladi.

Bu aniqlik boshqa fermentativ jarayonlar orasida tengsizdir. [Kraevskiy ea 1986, Kunkel ea 1992, Beard ea 1998]). Turli DNK polimerazalari tomonidan katalizlangan DNK biosintezi jarayonida noto'g'ri qo'shilishlardan himoya qilish va xatolarni tuzatishning bir necha bosqichlari yaxshi hujjatlashtirilgan.

DNK replikatsiyasi: prokaryotlarda sodiqlikni ta'minlash mexanizmlari

DNK polimeraza III holoenzimi tomonidan DNK replikatsiyasining aniqligi hayratlanarli. Noto'g'ri nukleotid qo'shilishlarining chastotasi replikatsiyaning har bir bosqichida har bir nukleotid uchun 10^{-9} - 10^{-10} dan oshmaydi [Cox E.C., 1976]. Shu bilan birga, tozalangan katalitik subbirliklar DNKni kamaytirilgan sodiqlik bilan replikatsiya qiladi. Xususan, ajratilgan alfa subunit in vitro replikatsiya bosqichida har bir nukleotidga taxminan 6×10^{-1} tezlikda xato qiladi. UV nurlari bilan nurlangan DNKda yuzaga keladigan xatolar chastotasi in vivo yangi sintez qilingan DNKning etakchi va orqada qolgan iplarida bir xil bo'ladi.

Zamonaviy kontseptsiyalarga ko'ra, proukariotlarda yuqori replikatsiya aniqligiga uchta ketma-ket mexanizm orqali erishiladi:

1) PolIII holoenzimining uch bo'linmali (alfa, epsilon va h) yadrosining bir qismi bo'lgan alfa bo'linmasi tomonidan amalga oshiriladigan DNK asoslarini tanlash (shablon zanjirining asoslarini to'ldiruvchi);

2) epsilon Pol subunitining 3-5 ekzonukleazasining tuzatuvchi funksiyasi III;

3) Ixtisoslashgan MutHLSU hujayra tizimidan foydalangan holda CHO (DNKdagi juftlashtirilmagan asoslarni (CBO) tuzatish).

Faqat dastlabki ikkita mexanizm DNK polimerazasining o'zi bilan bog'liq. Birinchi taxminga ko'ra, biz birinchi mexanizmning ma'lumotni qayta ishlab chiqarishning aniqligiga qo'shgan hissasini 106 nukleotidga 1 ta xatoga yo'l qo'ygan holda baholashimiz mumkin, keyingi ikkita mexanizm esa bu aniqlikni har birida yana ikkita kattalik darajasiga oshiradi.

DNKning tuzatuvchi 3-5 ekzonukleaza faolligi polimeraza noto'g'ri bog'langan asosga ega bo'lgan DNK qismini tozalashga olib keladi va juda murakkab hodisalar zanjirining natijasidir. Darhaqiqat, dNTP ning "DNK polimeraza - shablon - sintezlangan zanjirining 3' uchi" kompleksiga bog'lanishi DNK polimerazasining kamida ikkita konformatsion o'zgarishi orqali sodir bo'ladi. Reaksiyaga noto'g'ri dNTP kiritilsa, ikkala o'zgarish ham sekinlashadi, bu noto'g'ri uchining 3-5 ekzonukleaza faol joyiga o'tishiga imkon beradi, bu juftlashtirilmagan asos atrofidagi DNK mintaqasini tozalash va uni qayta sintez qilish imkonini beradi. Tozalash paytida nafaqat noto'g'ri, balki qo'shni to'g'ri nukleotidlar ham yo'q qilinganligi sababli, DNK polimerazasining korrekktiv faolligi optimal chegaradan oshmasligi kerak, chunki aks holda hujayraning katta energiya sarfi bilan polimerizatsiya tezligi juda sekin bo'lishi mumkin. Bu chegara replikatsiya aniqligini oshirishni 102 ga cheklaydi.

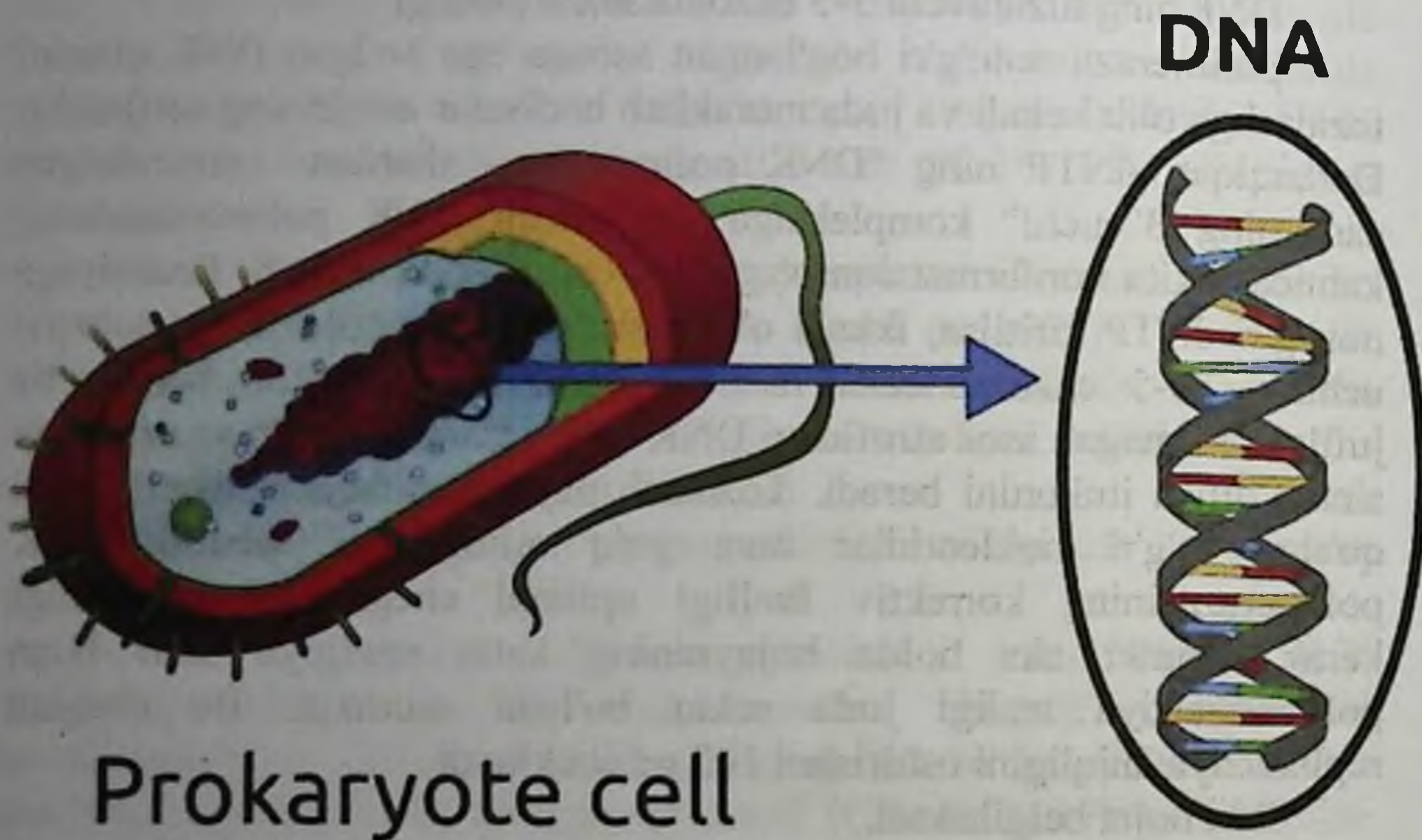
Ikki holat belgilanadi.

1) Turli iplarda polimerazaning tuzatuvchi faolligi turli darajada namoyon bo'ladi. Kechikayotgan ipdagi xatolik darajasi yetakchi ipga nisbatan 10-20 baravar yuqori.

2) Pol III ning tuzatuvchi faoliyati asosan transversiyalarni tuzatadi. CNO mexanizmiga o'tish va ramka siljishlarini qoldiradi.

γ (gamma) kompleksining roli DNK shablonidagi RNK primerlarini tanib olishdan iborat. γ -kompleks DNKning etakchi zanjirining bitta primeriga yoki orqada qolgan ipning Okazaki bo'laklarining har bir primeriga bog'lanadi, bu esa o'z navbatida minimal ferment DNK polimeraza va b-oqsilning biriktirilishiga imkon beradi. shunday etiketlangan primerlarga. Bu mumkin, agar orqada qolgan ip egilib, Pol III holoenzim subbirligi bilan o'zaro ta'sir qilish uchun halqa hosil qilsa, u spiral va primaz bilan kompleksda bo'lsa va replikatsiya vilkalari bilan birga harakat qilsa, helikaz vodorod bog'larini buzsa va DNKning juft iplarini ajratsa. spiral va primaza qo'sh spiralning bir qismini hosil qilish uchun zarur bo'lgan RNK-primerlarning qisqa qismlarini sintez qiladi, erkin 3'-uchidan DNK polimeraza fosfodiester

bog'ini hosil qilish uchun deoksinukleotidlarni biriktiradi va doimiy ravishda shablonni to'ldiruvchi DNK zanjirini hosil qiladi. yetakchi ip va alohida Okazaki fragmentlarida ikki zanjirli DNKning navbatdagi qismi replikatsiya vilkasi hosil bo'lishi va keyingi RNK primeri va Okazaki fragmentining sintezi bilan alohida bir ipli bo'limlarga bo'linadi (4.4-rasm).



4.2-rasm. Prokariotlarda ortda qolgan DNK zanjirida halqa hosil bo'lgan replikon modeli.

Okazaki fragmentining sintezi tugallangandan so'ng replikatsiya to'xtatiladi va DNK polimeraza yadro fermentining bo'linmalari "sirg'aluvchi qisqich" dan (va Okazaki fragmentidan) ajratiladi va yangi "surma qisqich" bilan o'zaro ta'sir qiladi (4.4-rasm). Yuqorida tavsiflangan voqealar keyingi Okazaki fragmentining sintezini boshlaydi. Umuman olganda, replikatsiya vilkalarida ishlaydigan barcha fermentlar to'plami replizoma deb ataladi. Replizoma fermentlarining xarakteristikalarini jadvalda keltirilgan

4.3 Eukaryotik DNK polimerazalari: kirish

Garchi barcha DNK polimerazalarining biologik vazifasi DNK sintezini katalizlashdan iborat bo'lsa va umuman olganda bu fermentlar o'xshash bo'lsa-da, shunga qaramay, har bir DNK polimeraza turi o'ziga xos biologik funktsiyasi bilan bog'liq va uning tuzilishi orqali amalga oshiriladigan o'ziga xos xususiyatlarga ega. Ko'p sonli DNK

polimerazalari ma'lum, masalan, inson hujayralari uchun replikativ DNK polimerazalari aniqlangan (DNK polimeraza alfa va replikatsiya vilkalaridagi orqada qolgan DNK zanjirini sintez qilish uchun DNK polimeraza epsilon, sintez uchun DNK polimeraza deltasi). etakchi zanjir), DNK polimeraza beta - DNK shikastlanishini tiklash uchun, DNK-

polimeraza gamma - mitoxondriyal replikatsiya uchun

DNK va telomeraza (xromosomalarning telomerik uchlari sintezini katalizlovchi o'ziga xos teskari transkriptaza). Ushbu fermentlar bilan bir qatorda hujayrali teskari transkriptazalar ham ixtisoslashgan inson hujayralarida uchraydi, ularning biologik roli aniq emas (ular retrotranspozonlarning shakllanishini katalizlashi ma'lum), shuningdek, matritsaga bog'liq bo'lmagan terminal deoksinukleotidil transferaza (TDT), ularning funktsiyalari antikorlarning sintezi bilan bog'liq bo'lib, eukariotlarda oltita DNK polimeraza topilgan], ulardan uchasi alfa, delta va epsilon xromosoma DNK replikatsiyasida bevosita ishtirok etadi (42-jadval.).

To'rt subbirlikli DNK polimeraza alfa DNK primazasi faolligiga ega bo'lgan yagona DNK polimerazadir. Uchta a, d, e fermentlarining aminokislotalar ketma-ketligi bir-biriga va T4 bakteriofagining 43-geni mahsuloti ketma-ketligiga gomologikdir. Eukaryotik DNK primazasi prokariotlardagi shunga o'xshash oqsildan farqli o'laroq, DNK polimeraza alfa bilan doimiy kompleks hosil qiladi, uning roli ikkala DNK zanjirining replikatsiyasi paytida primerlarning sintezi bilan cheklangan.

DNK polimeraza alfa aniqligi yuqori emas (replikatsiya xatolari 10^{-4} chastotada sodir bo'ladi), chunki tuzatuvchi 3-5 ekzonukleaza faolligi yo'qligi. Ushbu DNK polimerazasining roli "ori" replikatsiya joyining kelib chiqishida DNK sintezini boshlash va 8-10 nt RNK primerlarini ishlab chiqarishdan iborat bo'lib, undan keyin taxminan 50 nt bo'lgan kichik DNK fragmenti sintezlanishi mumkin. uzunligi.

4.2-jadval - Eukariotlarning DNK polimerazalari

| DNK polimeri | Asosiy ma'lumotlar | Qo'shimcha faoliyat tsa (kDa) | Lokalizatsiya, funktsiya | Inhibitor | | | |
|--------------|---------------------------------------|--|---|------------|-----------------|-------|---------|
| | | | | aphidicoli | BuPhe | d2TTP | N-etil- |
| | ь | | | н | dGTP (BuA dATP) | | Malemid |
| a (alfa) | DNK- prima | 165-180* 70 Г48-50* L55-60 | Yadro, replikatsiya (ori va Okazaki fragmentlari hududida boshlash) | + | + | - | + |
| b (beta) | dRp liyaza | 38-40* | Asosiy, tuzatish | - | - | + | - |
| g (gamma) | 3'->5' - ekzonukleaza dRplazasi | 125-140* 35-50 | Mitoxondriya, replikatsiya va ta'mirlash | - | - | + | + |
| d (delta) | 3'->5' - eksonukleus aza | 125-130* 48-55 (xamirturush: 125*, 55, 54.42, 22) | Yadro, replikatsiya (etakchi ipning cho'zilishi), PCNAGA bog'liq ta'mirlash | + | - | - | + |
| e (epsilon) | 3'->5' - eksonukleus aza | 261*55 (xamirturush: 256*, 80, 34,31, 29) | Yadro, replikatsiya (torda bo'lgan ipning cho'zilishi), PCNAGA bog'liq tuzatish | + | - | - | + |
| z (zeta) | 3'->5' - eksonukleus aza | Xamirturush: 173* (Vah 3p) 29 (Vah 7p) | Mutagenез (?) | - | - | - | - |

Ikki subbirlikli DNK polimeraza deltasining PCNA oqsili (proliferatsiya qiluvchi hujayralarning yadro antigeni, E. coli dan PolIII beta subbirligining funktsional gomologi) bilan kompleksda replikatsiya aniqligi Pola dan ikki baravar yuqoridir. 3'-5' ekzonukleaz faolligi mavjudligi.

Epsilon DNK polimeraza xamirturushda batafsilroq o'rganilgan.

Boshqa DNK polimerazalari tavsiflangan, masalan, DNK polimeraza Polb, o'qish faolligi yo'q va bu funktsiyaga ega mitoxondrial DNK polimeraza gamma

DNK polimeraza beta

Bu ferment DNK zanjirini yoki juda oz miqdorda uzaytiradi

nukleotid qoldiqlari yoki hatto bitta havola. DNK polimeraza beta sekin ishlaydigan ferment bo'lib, 3-5 ekzonukleaza faolligi yo'q va shuningdek, juda past pirofosforoliz faolligiga ega. Uning yana bir xususiyati - deoksiribosilfosfat qoldiqlarini olib tashlashda qo'shimcha faollikning mavjudligi.

DNKni tiklash jarayoni

DNK polimeraza zeta oqsili

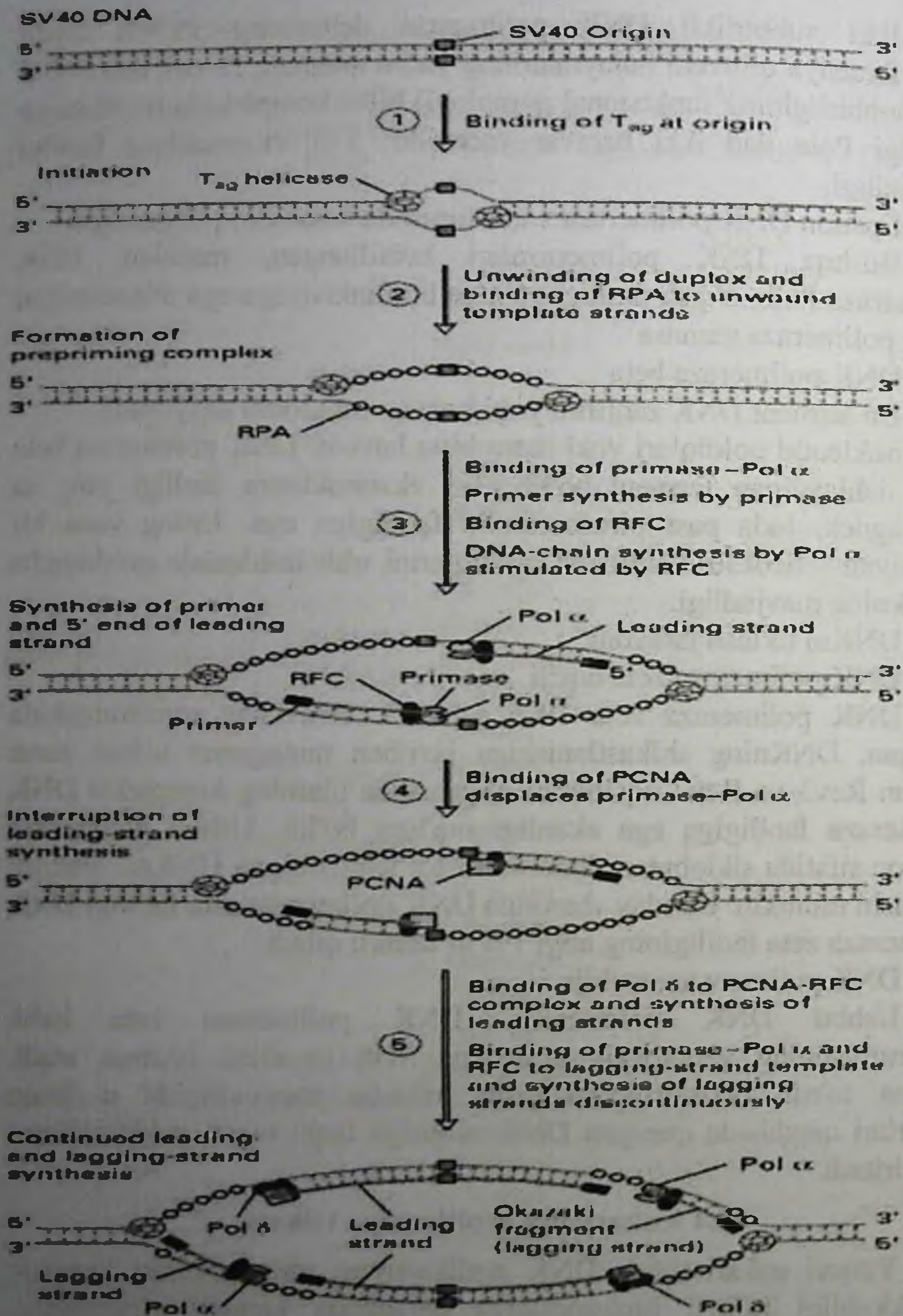
DNK polimeraza zeta 1996 yilda *S. cerevisiae* xamirturushida topilgan. DNKning shikastlanishiga javoban mutagenез uchun zarur bo'lgan Rev3 va Rev7 oqsillarini o'rganishda ularning kompleksi DNK polimeraza faolligiga ega ekanligi ma'lum bo'ldi. Ushbu polimeraza shablon sifatida siklobutan dimerlarini o'z ichiga olgan DNKni samarali ishlatishi mumkin. Bunday sharoitda DNK polimeraza alfa faolligi DNK polimeraza zeta faolligining atigi 1% ni tashkil qiladi.

DNK polimeraza oqsildir

Ushbu DNK polimeraza, DNK polimeraza zeta kabi, xamirturushning genotoksik ta'sirlarga SOS javobida ishtirok etadi. Barcha to'rtta deoksiribonukleozid trifosfat mavjudligida u timin dimerlari qarshisida qurilgan DNK zanjiriga faqat to'g'ri nukleotidlarni (A) kiritadi.

4.4 Eukaryotik replikatsiya vilkasi

Yuqori eukariotlarda DNK replikatsiyasi mexanizmlari kattaroq murakkabligi tufayli prokariotlarga qaraganda kamroq o'rganilgan. Asosiy natijalar SV40 virusi DNKsi bo'lgan model tizimi yordamida olingan bo'lib, unda replikatsiya jarayoni in vitro ekilgan infeksiyalangan inson hujayralarida o'rganilgan (rasm).



4.5-rasm - Eukaryotik fermentlar yordamida in vitro SV40 virusining DNK replikasiyasi modeli.

Ushbu tizimda T antijeni deb ataladigan virusli oqsil virusli DNK replikatsiyasi uchun zarur bo'lgan ko'plab funktsiyalarni bajaradi. Birinchidan, bu replikatsiyaning boshlanishi uchun zarur bo'lgan tashabbuskor oqsildir; ikkinchidan, u DNK helikaz faolligiga ega, ya'ni. Ishchi DNK polimerazadan oldin replikatsiya qilingan DNK zanjirlarini bo'shatadi va uchinchidan, Tantigen primerlarni (primosomalar) sintez qiluvchi ferment kompleksining DNKsi bilan to'g'ri ta'sir o'tkazish uchun zarurdir. Biroq, SV40 virusi replikatsiya qilish uchun o'zining kichik xromosomasining DNKsidan va ko'plab xost hujayra oqsillaridan foydalanadi, bu esa bunday nisbatan sodda tizimda inson hujayralarining replikatsiya kompleksi faoliyatini o'rganish imkonini beradi (4.5-rasm).

Dupleksni yechish, shuningdek, ATP va replikatsiya oqsili A (RPA) mavjudligini talab qiladi, bu mezbon hujayra tomonidan kodlangan va bir zanjirli DNKni bog'lash qobiliyatiga ega (*E. coli* dagi SSB oqsillari kabi). DNK polimeraza a (Pol a) ning bir molekulasini primazaga qattiq bog'lanadi va keyin hosil bo'lgan bir zanjirli DNK bilan bog'lanadi (4.5-rasm). Primaza RNK primerlarini hosil qiladi, keyinchalik ular Pol a tomonidan qisqa masofaga cho'ziladi va ori nuqtadan qarama-qarshi yo'nalishda o'sadigan etakchi iplarning birinchi qismini tashkil qiladi. Pol a faolligi replikatsiya omili C (RFC) tomonidan rag'batlantiriladi, 4.5-rasmga qarang.

Keyinchalik, PCNA (ko'payadigan hujayra yadro antijeni) kengaytirilgan Pola RNK primerlarining 3 uchlari bilan bog'lanadi va ularning sintezini to'xtatib, ikkala o'sayotgan etakchi iplardagi Pola o'rmini bosadi (4.5-rasm). Keyingi bosqichda Pol d o'sayotgan zanjirlarning 3 uchida PCNA bilan bog'lanadi. PCNA Pol d qayta ishlash qobiliyatini oshiradi, shuning uchun polimeraza doimiy ravishda etakchi zanjir sintezini davom ettira oladi. Shunday qilib, PCNA funktsiyasi polimeraza b bo'linmasining funktsiyasiga o'xshaydi

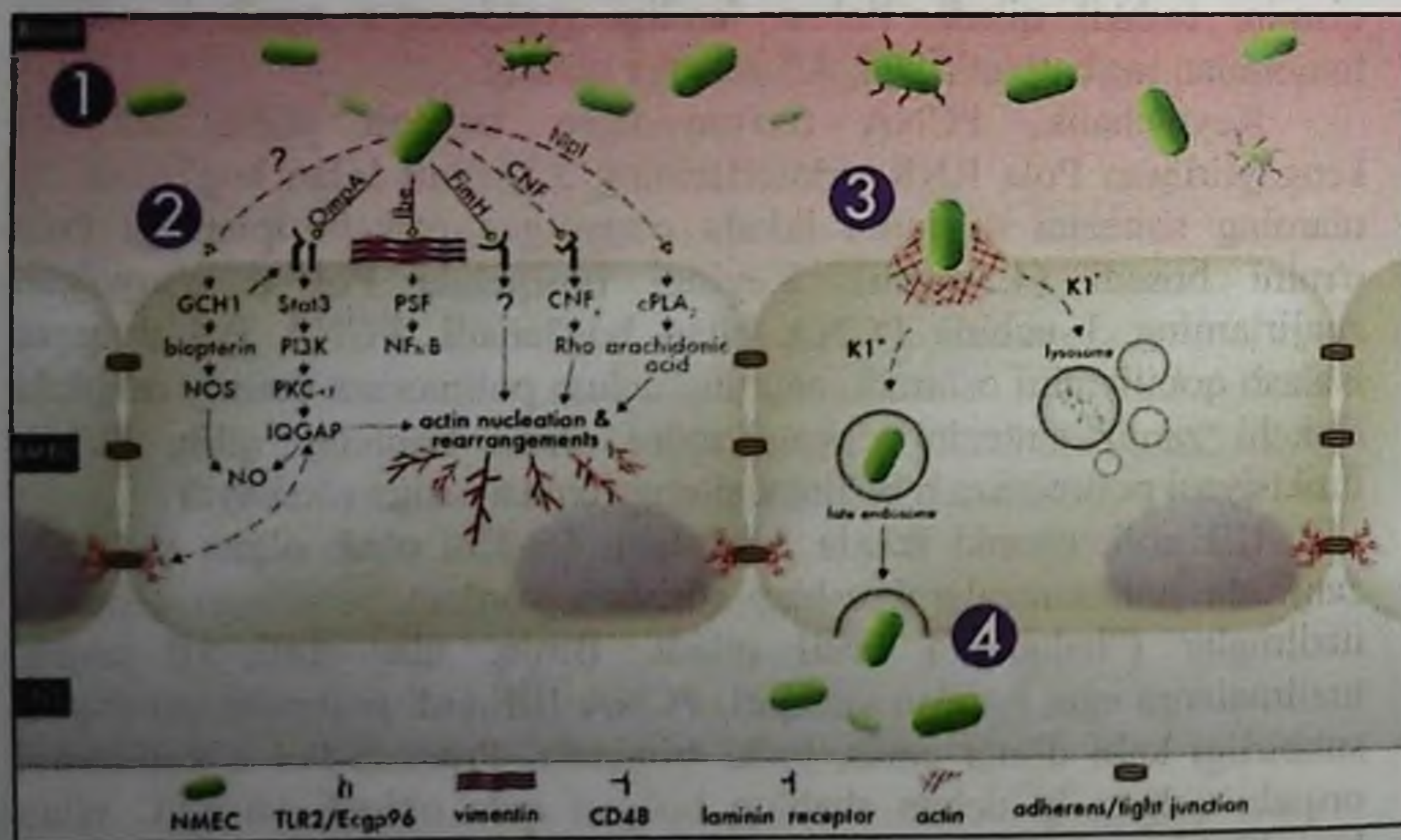
III.E.coli, chunki ikkala oqsil ham DNKni o'rab olgan va DNK zanjirida polimerazalarni ushlab turishga yordam beradigan o'xshash tuzilmalar ("halqalar") hosil qiladi. Biroq, ular turli xil asosiy tuzilmalarga ega; bundan tashqari, PCNA *III.E.coli* polimerazasining b-subbirligi kabi dimer emas, balki trimerdir. Primaza-Pol a kompleksi orqada qolgan ip uchun shablon bo'lgan ipda o'tiradi va RFC bilan birgalikda ular orqada qolgan ipning sintezini amalga oshiradilar (4.6-rasm).

Nihoyat, *E. coli*-da bo'lgani kabi, topoizomerazalar DNK replikatsiya vilkasida bo'shashsa va ikkita qiz xromosomani ajratishda

ishtirok etganda yuzaga keladigan mexanik stressni engillashtiradi. Biroq, eukariot topoizomerazalar prokariotlardan ba'zi farqlarga ega: 1. Eukariot topoizomerazalar I uzilgan zanjirning 3-fosforil uchi bilan o'zaro ta'sir qiladi.

(prokaryotik - 5-fosforil uchi bilan) 2. eukaryotik topoizomerazalar Men salbiy va musbat superkoillarni yo'q qilaman (prokaryotik - faqat manfiy) 3. eukaryotik topoizomerazalar II manfiy superkoillarning hosil bo'lishiga qodir emas (giraza bo'shashgan doiralarda bo'lgani kabi) DNK bakteriyalari).

Shunday qilib, in vitro SV40 virusining DNK replikatsiyasini amalga oshiradigan eukaryotik oqsillar haqida ko'p ma'lumotlar olindi. Yuqorida aytib o'tilganidek, SV40 DNK replikatsiyasini in vitroda boshlash virusli oqsil, T antijeni mavjudligini talab qiladi. Eukariotlarda xromosomal DNK replikatsiyasini boshlash uchun oqsillarning butun majmuasi talab qilinadi. Shunday qilib, xamirturushda 6 xil oqsillar majmuasi (ORC) butun hayot sikli davomida ori joy bilan bog'langan bo'lib, interfazada boshqa bir qator oqsillar biriktiriladi va hosil bo'lgan kompleks replikatsiya jarayonini boshlaydi. Xuddi shu oqsillar barcha eukaryotik hujayralar tomonidan sintezlanadi.



4.6-rasm. *E. coli* va eukariotlarning replikatsiya vilkalarining sxemasi va DNK replikatsiyasining asosiy bosqichlari.; orqada qolgan ipning replikatsiya bosqichlari

4.5 Eukaryotik xromosomalarning replikatsiyasi

Eukaryotik xromosomalarning qanday ko'payishini aniqlash uchun birinchi marta qo'llanilgan usul 1960-yillarning boshlarida ishlab chiqilgan.

Kulturada o'sadigan hujayralar H3-timidin ishtirokida qisqa vaqt davomida inkubatsiya qilinadi, bu davrda sintez qilingan DNK yuqori radioaktiv bo'ladi. Keyin hujayralar ehtiyotkorlik bilan parchalanadi va ularning DNKsi shisha yuzasiga qo'llaniladi, molekulalarni iloji boricha cho'zadi. Shisha fotoemulsiya bilan qoplangan va DNK sintezi avtoradiografiya bilan aniqlanadi. Belgilangan timidin bilan inkubatsiya vaqti replikatsiya vilkasi DNK bo'ylab bir necha mikrometr oldinga siljish uchun vaqtga ega bo'lishi uchun tanlanganligi sababli, DNKning o'zi ko'rinmas bo'lib qolsa-da, DNKning replikatsiya qilingan bo'limlari mikroskop ostida kumush donalarining chiziqlari sifatida ko'rinadi. Bunday tajriba natijasi avtoradiograflar bo'lib, ularda replikatsiya qilingan DNK izlari ko'rinadi, ularning uzunligi H3-timidinni kiritish davrining uzayishi bilan ortadi.

Bunday tajribalar shuni ko'rsatadiki, eukaryotik xromosomalarda replikatsiya vilkalari sekundiga taxminan 50 nukleotid tezlikda harakat qiladi. Bu bakteriyalarga qaraganda 10 baravar kamroq, bu xromatin bilan o'ralgan DNKni ko'paytirishning katta qiyinligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

Har bir inson xromosomasi taxminan 150 million nukleotidni o'z ichiga olgan bitta DNK molekulasidan iborat ko'rinadi, shuning uchun bitta replikatsiya vilkalari yordamida bunday molekulani to'liq takrorlash uchun 3 000 000 soniya kerak bo'ladi, ya'ni. 800 soat! Aslida, S fazasi 8-10 soat davom etadi. Avtoradiografiya har bir eukaryotik xromosomada mustaqil ravishda rivojlanayotgan ko'plab replikatsiya vilkalarining mavjudligini aniqlaganligi ajablanarli emas. Yana bir narsa ajablanarli: ko'pincha bir DNK bo'limida bir nechta vilkalar bir-biriga yaqin joylashgan bo'lib, bir xil xromosomaning boshqa hududlarida ularni umuman o'z ichiga olmaydi. Replikatsiya vilkalarining harakat tezligini va ularning fazoviy joylashuvini o'rganish orqali ularning harakat yo'nalishini aniqlash mumkin. Ushbu turdagi tajribalar quyidagilarni ko'rsatdi:

1. Replikatsiya vilkalari hosil bo'lgan saytlar "replikatsiya birliklari" deb nomlangan guruhlarda joylashgan. Har bir guruh replikatsiyaning 20 dan 80 gacha kelib chiqishini o'z ichiga oladi.

Bunday guruh ichida replikatsiyaning kelib chiqishi bir-biridan 30 000 - 300 000 ta asosiy juftlik bilan ajralib turadi.

2. S faza davomida yangi replikativ birliklar barcha DNK replikatsiya qilinmaguncha faollashadi.

3. Ko'p hollarda replikatsiya vilkalari juft bo'lib joylashadi: bir xil juftlikning ikkita vilkalari replikatsiyaning umumiy kelib chiqishidan qarama-qarshi yo'nalishda harakatlanib, "replikatsiya pufagi" yoki "ko'z" deb ataladigan tuzilmani hosil qiladi.

4. Replikatsiya birliklarida replikatsiya vilkalari qarama-qarshi yo'nalishda harakatlanadigan qo'shni vilkaga duch kelganda harakatni to'xtatadi. Shunday qilib, xromosomaning ushbu mintaqasidagi DNK replikatsiya qilinadi va ikkita to'liq qiz spiralni hosil qiladi.

5. S faza davomida replikatsiya vilkalari taxminan bir xil tezlikda oldinga siljiydi.

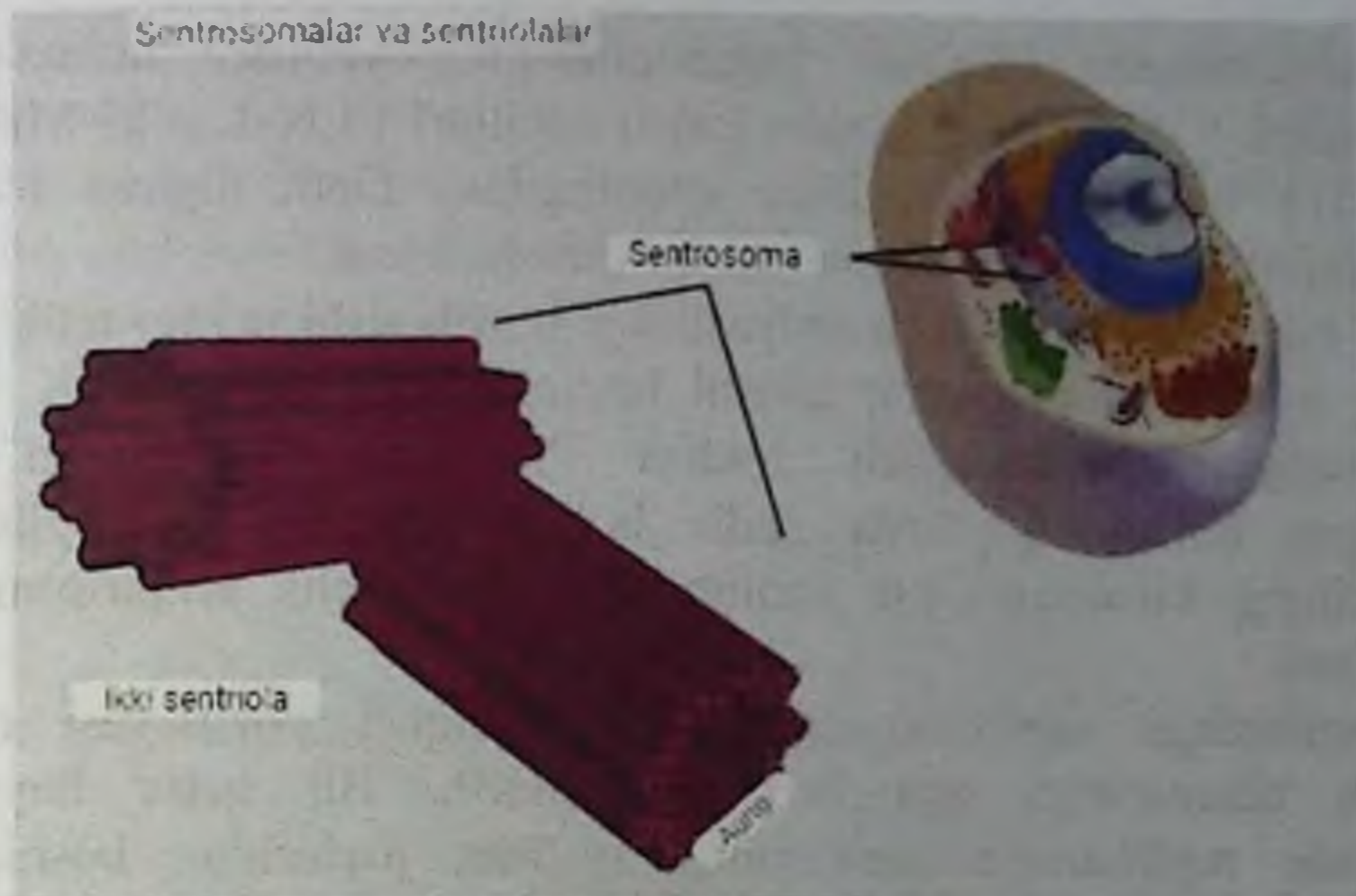
DNK: replikatsiya, nazorati.

DNK replikatsiyasi triggeri aniq yoki hammasi yoki hech narsa tamoyili asosida ishlaydi, chunki S fazasida boshlangan DNK replikatsiyasi jarayon tugaguniga qadar davom etadi. Replikatsiya jarayonini "hamma yoki hech narsa" boshqaruviga kamida ikki xil usulda erishish mumkin:

1) ba'zi bir umumiy tizim har bir xromosoma bandini maxsus tanib, uni dekondensatsiya qilishi va shu bilan replikatsiya pufakchalarining shakllanishi uchun mas'ul bo'lgan oqsillarga bir vaqtning o'zida barcha replikatsiya kelib chiqishiga kirishi mumkin;

2) replikatsiya oqsillari ma'lum bir to'plamdan faqat bir nechta replikatsiya kelib chiqishini taniy oladi, shundan so'ng boshlangan mahalliy replikatsiya replikatsiya birligining qolgan xromatinining tuzilishini shunday o'zgartiradiki, boshqa barcha kelib chiqishlarda replikatsiya mumkin bo'ladi.

Ehtimol, DNK replikatsiyasini boshlaydigan voqealar zanjiridagi muhim nuqta, interfaza yadrosi bilan chambarchas bog'liq bo'lgan muhim mikrotubulalar tashkil etuvchi markazning bir qismi sifatida ishlaydigan sentriolning duplikatsiya jarayonining ma'lum bir bosqichiga erishishdir. mitoz jarayonida milya qutblarining har birining tarkibiy qismi. Sentriol har bir hujayra siklida bir marta shablon jarayoni bilan ko'payadi (4.7-rasm).



4.7-rasm - Ikki marta ko'paytirishm sentriolalar

Xromosoma tasmalarining ko'payishining qat'iy ketma-ketligini aniqlaydigan narsa hali ham ma'lum emas. Ushbu ketma-ketlikni tushuntirish uchun ikkita gipoteza taklif qilindi. Ulardan biriga ko'ra, har biri ma'lum turdagi xromosoma tasmasi uchun xos bo'lgan har xil replikativ oqsillar turli vaqtlarda S fazasida sintezlanadi. Boshqa bir gipotezaga ko'ra, endi ko'proq ishonarli ko'rinadi, replikativ oqsillar DNKning ularga qulayroq bo'lgan qismlariga ta'sir qiladi; masalan, S fazasida xromosomalarning uzluksiz dekondensatsiyasi sodir bo'lishi mumkin va xromosoma bantlari birin-ketin replikatsiya oqsillari uchun ochiq bo'ladi.

Eukaryotik DNK replikatsiyasi: mexanizmlar

Prokaryotlar va eukariotlarda DNK replikatsiyasi mexanizmlari sezilarli darajada farq qiladi, chunki ikkinchi holatda etakchi va orqada qolgan DNK zanjirlarining sintezi turli DNKlar tomonidan amalga oshiriladi.

Polimerazalar (mos ravishda alfa va delta), *E. colida* esa ikkala DNK zanjiri DNK polimeraza III ning dimeri tomonidan sintezlanadi. DNK polimeraza alfa replikatsiyaning kelib chiqishida etakchi zanjirining sintezini boshlaydi va DNK polimeraza deltasi Okazaki fragmentlari sintezining tsiklik qayta boshlanishini amalga oshiradi, aftidan keyingi primerning 5-terminal nukleotidining mavjudligini va keyinchalik disotsiatsiyani tan oladi. shablon DNK va keyingi Okazaki fragmenti sintezini qayta boshlash uchun unga qo'shiladi.

Eukariotlarda Okazaki fragmentlarining yetilishi uchun RNK primerlarini 5'→3' ekzonukleaza (oqsil omillari FEN-1 yoki MF-1) va RNaz. H1 bilan olib tashlash, shuningdek, DNK ligaza I orqali fragmentlarning bir-biriga kovalent qo'shilishi kerak.

S fazasida DNK replikatsiyasining boshlanishi uchun tetik signal sifatida aynan nima xizmat qilishi hozircha noma'lum. DNK sintezi boshlanadigan boshlang'ich hodisa "replikatsiya vilkalari" deb ataladigan ma'lum joylarda sodir bo'ladi. S fazasida replikatsiya vilkalarining klasterlari bir vaqtning o'zida barcha xromosomalarda faollashadi.

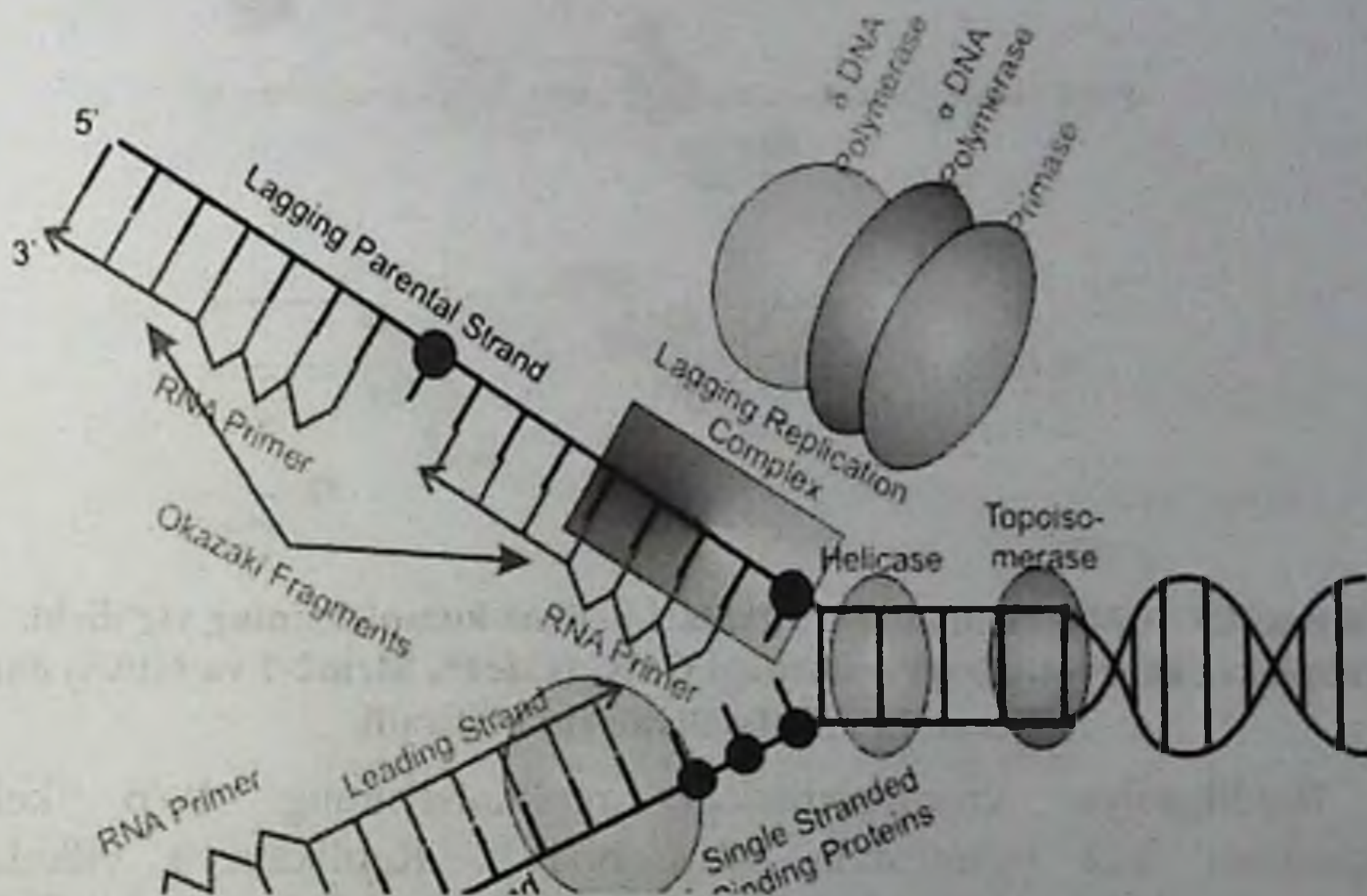
Genlardagi replikatsiyaning kelib chiqish pozitsiyasi muhim biologik ahamiyatga ega bo'lishi mumkin. Bir qator hayvonlar viruslarida replikatsiya genomning ma'lum joylaridan boshlanishi, replikatsiyaning kelib chiqishi xromosoma DNKidagi maxsus ketma-ketliklar ekanligini ko'rsatadi. Replikatsiya manbalari orasidagi o'rtacha masofa qo'shni kromatin halqalari orasidagi o'rtacha masofa bilan solishtirish mumkin. Shunday qilib, har bir tsiklda replikatsiyaning faqat bitta kelib chiqishi bo'lishi mumkin.

Ikki replikatsiya vilkalari replikatsiyaning bir xil kelib chiqishidan ajralib chiqqanda, bu nuqtaning qarama-qarshi tomonlarida, ota-ona nukleosomalari turli xil qiz DNK spirallarida tugaydi. Bunday holda, transkripsiya birligida replikatsiya kelib chiqishining aniq joylashuvi ikkita qiz genlari o'rtasida oldindan mavjud bo'lgan ota-ona gistonlarining taqsimlanishini aniqlaydi. Hamma nukleosomalar ham aynan bir xil emas – genetik materialning turli sohalarida xromatin tuzilishi har xil. Gendagi replikatsiya kelib chiqishining aniq pozitsiyasi shuning uchun muhim biologik ahamiyatga ega bo'lishi mumkin, chunki u hujayralarning keyingi avlodida ushbu genning xromatin tuzilishini aniqlaydi.

4.6 Replisoma modellari

Eukaryotlarda "replizoma" tashkil etishning eng mashhur modellari DNK polimeraza Pola(a) ning rolini etakchi va orqada qolgan DNK zanjirlarida qisqa RNK primerlarini sintez qilish bilan cheklaydi va Polb(d) va Pole(e) ni qoldiradi. asosiy DNK sintezi, lekin turli iplarda (4.8-rasm) Biroq, yana bir nuqtai nazar mavjud, unga ko'ra Pola tuzatuvchi funktsiyalarga ega bo'lgan "tashqi" 3-5 ekzonukleazlarni jalb qilish orqali replikatsiya aniqligining etishmasligini qoplashga qodir va shu tariqa. uning multifermentli kompleksdagi roli faqat replikatsiya

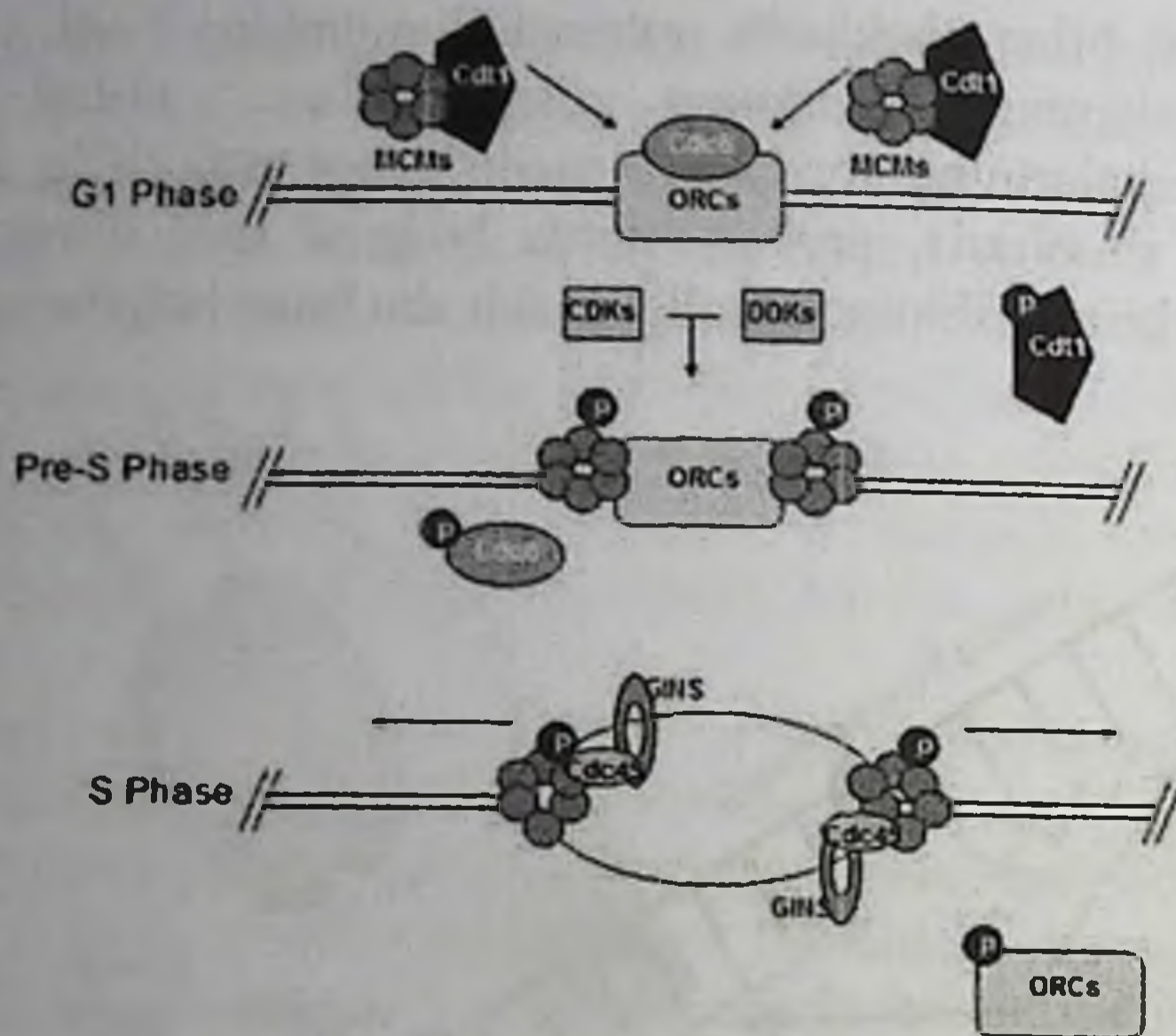
boshlanishi bilan cheklanib qolmasligi mumkin. Turli xil eukaryotik polimerazalarning, ularning ichki va tashqi tuzatuvchi ekzonukleazalarining replizoma tuzilishidagi roli to'liq aniqlanmagan bo'lsa-da, shubhasiz, prokaryotlarda bo'lgani kabi eukaryotlarda ham DNKning ko'payishining aniqligi xuddi shu bilan belgilanadi.



4.8-rasm - Eukariotlarning DNK replikatsiyasi.

DNK replikatsiyasining boshlanishi eukaryotik hujayralardagi yuqori darajada tartibga solinadigan jarayon bo'lib, boshlash jarayonining markaziy qismi replikatsiya vilkalari helikazining yig'ilishi va faollashishi hisoblanadi. Replikatsiya vilkalari helikazasi eukaryotik hujayralardagi CMGs (Cdc 45, Mcm 2-7 va GINS) dan iborat (4.9-rasm). Bruck II, Kaplan DL In 2015, S fazasida CMG yig'ilishining asosiy mexanizmi o'rganildi. 4.9-rasmda aktiv replizomaga aylanadigan prereplikativ kompleks hosil bo'lish diagrammasi ko'rsatilgan. mcm 2-7 kompleksi G1 davrida DNKning kelib chiqishida yuklanadi va replikativ polimerazalardan oldin DNK zanjirlarini ajratadi. Cdc6 va Cdt1 Mcm kompleksini replikativ kelib chiqishiga yetkazadi.

Replikatsiyadan oldingi oqsillarning DNK ga bog'liq fosforlanishiga olib keladi replisomani yig'ish va kelib chiqishini ishga tushirish. Cdc6 va Cdt1 endi yo'q talab qilinadi va yadrodan olib tashlanadi yoki yo'q qilinadi. Mcms va tegishli oqsillar, GINS va Cdc45, ochilmagan DNK shablonini ushlab turadi. Bu vaqtda replizoma to'liq yig'iladi va replikatsiya boshlanadi (4.9-rasm).

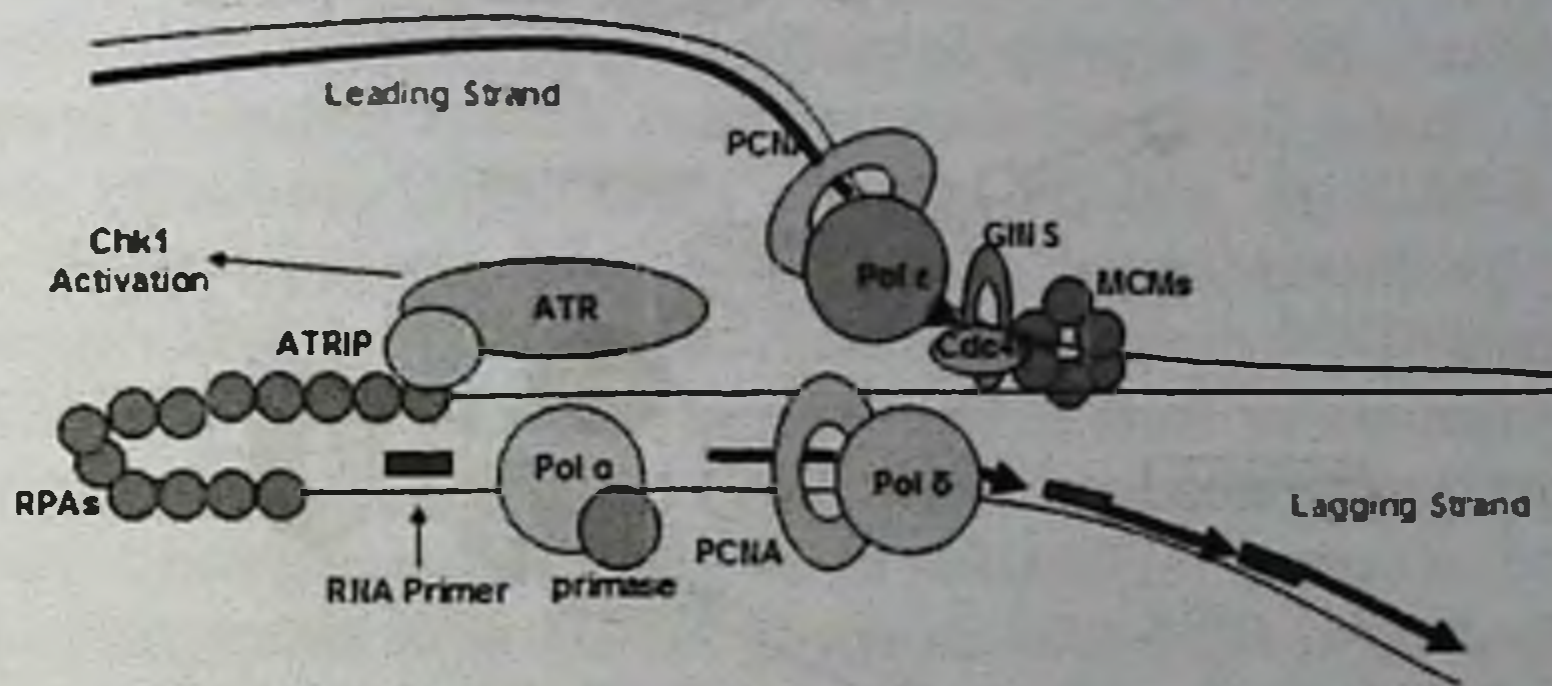


Rasm 4.9 - CMG replikasiya vilkalari helikaz kompleksining yig'ilishi. Kompleks eukaryotik hujayralardagi CMG (Cdc45, Mcm2-7 va GINS) dan iborat. "P" fosforillanishni bildiradi.

Replikatsiya xromosomadagi replikasiyaning ko'p kelib chiqishidan ikki yo'nalishda sodir bo'ladi. Replikatsiya vilkalari replikasiya kelib chiqishiga qarama-qarshi yo'nalishdagi harakatni bildiradi. Birinchidan, har bir ipdagi Okazaki bo'laklari har bir replikasiya vilkasi uchun etakchi ipda 'machinery' yig'ish uchun primer bo'lib xizmat qiladi. Etakchi zanjirda uzluksiz DNK sintezi DNK polimerazasini talab qiladi, bu DNKning uzun bo'laklarini protsessual tarzda (ya'ni uzunligini qisqartirmasdan) sintez qiladi. DNK polimeraza a bu ish uchun mos emas, chunki juda past ishlov berish qobiliyatiga ega (bir boshlanish uchun 30 nukleotid). Bundan tashqari, DNK polimeraza a "tekshirish" ni tuzatish uchun zarur bo'lgan $3' \rightarrow 5'$ ekzonukleaza faolligiga ega emas (ya'ni, noto'g'ri kiritilgan nukleotidlarni olib tashlash) va shuning uchun boshqa polimerazalarga qaraganda ko'proq xatolarga moyil. Bu shuni anglatadiki, etakchi zanjirning sintezi uchun polimeraza kaliti kerak, buning natijasida bu a DNK polimeraza o'rnini yanada protsessual, yuqori aniqlikdagi DNK polimeraza egallaydi (4.10-rasm).

Darhaqiqat, DNK polimeraza a ning past ishlov berish qobiliyati va ishonchliligi tufayli, Okazaki fragmentlaridagi DNKning ko'p qismi DNK polimeraza a dan boshqa polimerazalar tomonidan sintez qilingan bo'lishi mumkin. SV40 DNK replikasiyasida ikkita DNK polimeraza in

vitro va in vivo to'liq, samarali DNK replikatsiyasi uchun etarli. DNK polimeraza a va DNK polimeraza d bor. Uchinchi DNK polimeraza mavjudligi haqida kuchli dalillar mavjud. Xromosoma DNKsining samarali replikatsiyasi uchun zarur bo'lgan DNK polimeraza e, xamirturush va *Xenopus*da aniqlangan. DNK polimeraza e ning o'ziga xos rollari hali to'liq aniqlanmagan.

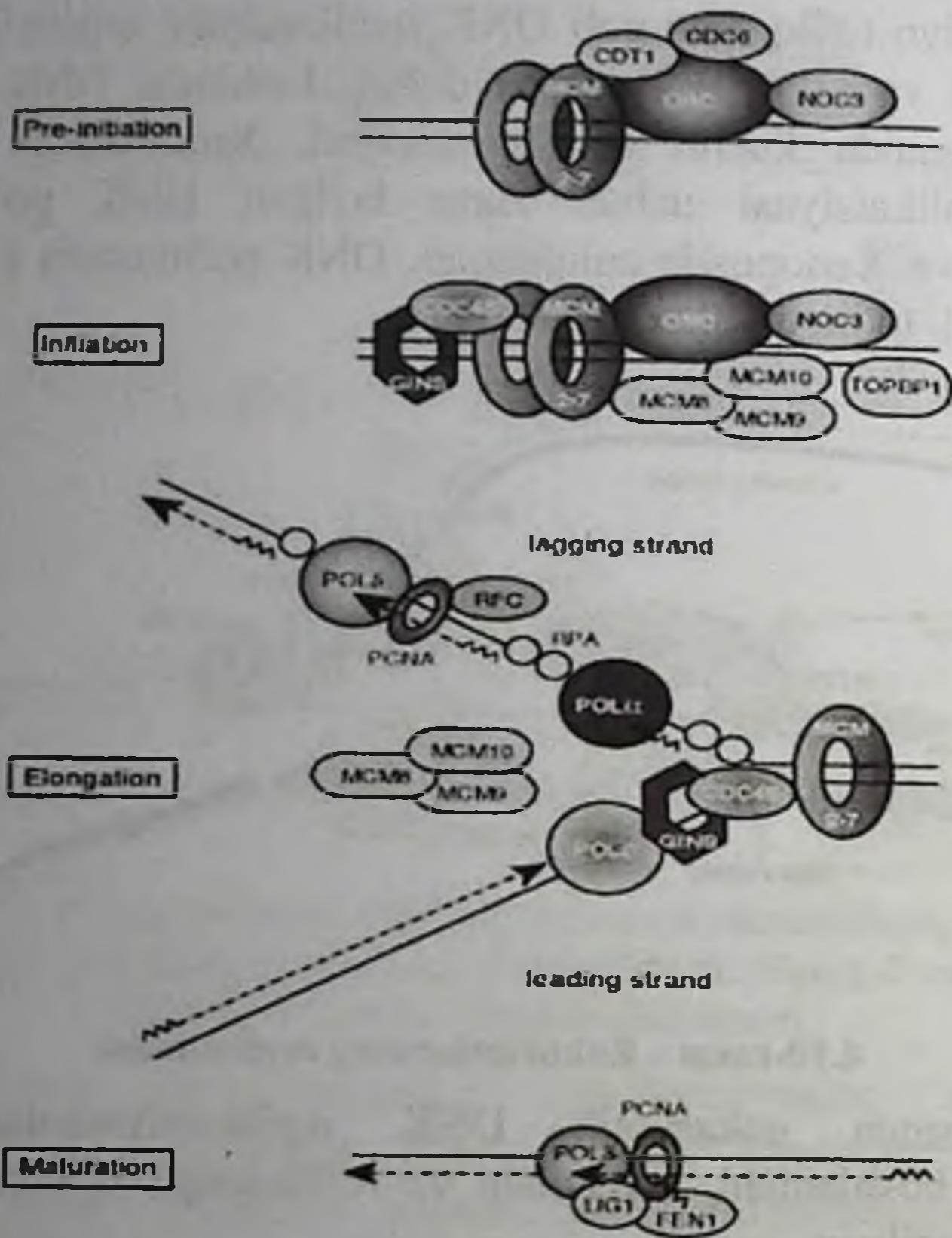


4.10-rasm - Eukariotlarning replizomasi.

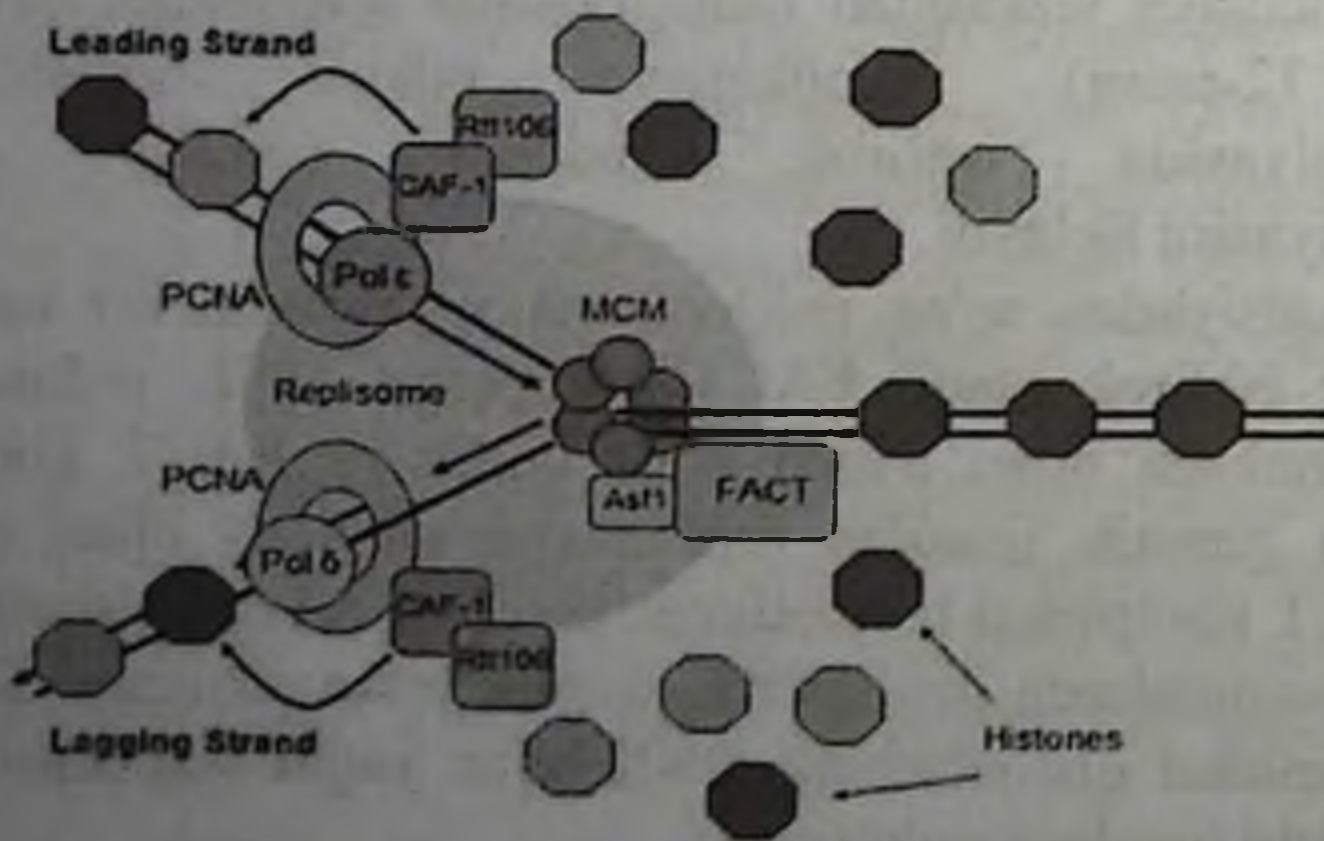
4.11-rasmda eukaryotik DNK replikatsiyasining oldindan boshlanishi, boshlanishi, cho'zilishi va replikatsiya qilingan DNKning etukligi ko'rsatilgan.

Eukaryotik hujayralardagi giston oqsillarining DNK bilan chambarchas bog'lanishi replizomaning silliq rivojlanishini ta'minlash uchun replikatsiya vilkasidan oldin oqsillar tomonidan qayta tuzilishi kerak (5.12-rasm). Replikatsiya vilkasi orqasida giston rekombinatsiyasida ishtirok etadigan oqsillar nukleosoma konformatsiyasini tiklaydi.

Replikatsiyadan so'ng nukleosoma yig'ilishida bir nechta giston chaperonlar ishtirok etadi. FACT kompleksi DNK polimeraza a va primaz kompleksi bilan o'zaro ta'sir qiladi va FACT kompleksining bo'linmalari genetik jihatdan replikatsiya omillari bilan o'zaro ta'sir qiladi. FACT kompleksi heterodimer bo'lib, u ATPni gidroliz qilmaydi, lekin nukleosomalarda gistonlarni osonlik bilan eritishga qodir, ammo FACT kompleksi gistonlarning DNK bilan yaqin bog'lanishini qanday osonlashtirishi javobsiz qolmoqda.



4.11-rasm - Eukaryotik DNK replikasiyasi, yangi sintez qilingan DNKning oldindan boshlanishi.



4.12-rasm - gistonlar orqali replikasiya tasvirlangan. Gistonlar DNKdan FACT kompleksi va Asf1 yordamida chiqariladi. Gistonlar CAF-1 va Rtt106 tomonidan replikasiya vilkasi orqasida yangi replikasiya qilingan DNKda qayta yig'iladi.

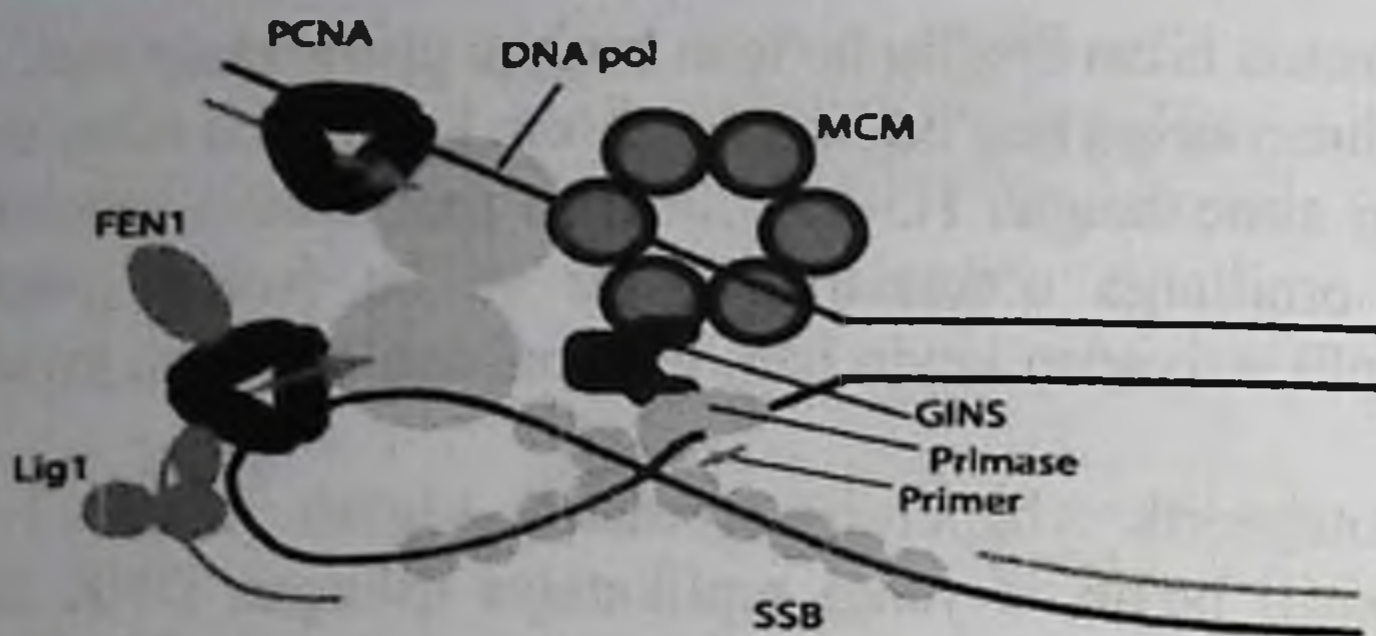
Replizoma bilan bog'liq bo'lgan boshqa giston chaperon, Asf1, H3-H4 giston dimerlariga bog'liq bo'lgan cMcm kompleksi bilan o'zaro ta'sir qiladi yangi sintezlangan H3-H4 dimerini replikatsiya vilkasidan oldin to'plangan omillarga o'tkazishga qodir va bu faollik giston H3-H4 dimerini replikatsiyadan keyin ham gistonni ushlab turish joyida mavjud qiladi.

Heterotrimerik chaperon xromatin yig'ish omili 1 (CAF-1) xromatin oqsili bo'lib, u yangi replikatsiya qilingan DNK zanjirlarida gistonlarni to'plashda ishtirok etadi va xromatinni hosil qiladi. CAF1 tarkibida PCNA-bog'lovchi motiv mavjud. PIP-box, bu CAF-1 ning PCNA orqali replisoma bilan bog'lanishiga imkon beradi va yangi sintezlangan DNKda H3-H4 giston dimerlarini to'plash qobiliyatiga ega. Rtt106 chaperoni ham ushbu jarayonda ishtirok etadi va xromatin hosil bo'lishi paytida CAF-1 va H3-H4 dimer bilan bog'lanadi. Bu jarayonlar yangi sintez qilingan gistonlarni DNK ga yuklaydi (4.12-rasm).

To'plangandan so'ng H3-H4 gistonlari H2A-H2B bilan bog'lanib, nukleosomalarni hosil qiladi. Bu jarayon, ehtimol, replizoma bilan bog'langan va H2A-H2B-ni bog'lash qobiliyatiga ega bo'lgan FACT kompleksi ishtirokida sodir bo'ladi yoki buni boshqa H2A- amalga oshirishi mumkin. H2B chaperone Nap1. Elektron mikroskopiya tadqiqotlari shuni ko'rsatdiki, bu juda tez sodir bo'ladi, chunki nukleizomalarning shakllanishi replikatsiya vilkasidan keyin yangi hosil bo'lgan bir necha yuz tayanch juftlarida kuzatilishi mumkin. Shuning uchun yangi nukleosomalarning to'liq hosil bo'lishi jarayoni replikatsiyadan so'ng giston şaperonlari replizoma bilan juftlashgandan so'ng sodir bo'ladi (4.12-rasm).

Eukariotlarda elongatsiya

DNKning antiparallel tabiati tufayli ikkita parallel iplar replikatsiya vilkalari harakati paytida turli mexanizmlar bilan takrorlanadi. Chunki replikativ helikaza' (aslida MCM2-7) DNK bo'ylab oldinga siljiydi, xuddi shu yo'nalishda ikkita ona zanjiridan biri DNK polimeraza yordamida 3' uchidan boshlab doimiy ravishda replikatsiyalanadi. Bu "etakchi strand" deb nomlanadi. Boshqa zanjirda DNK polimeraza DNKni 3' dan 5' gacha bo'lgan yo'nalishda sintez qila olmaydi. Ushbu muammoni hal qilish uchun ushbu mavzu vaqti-vaqti bilan takrorlanadi; Helikaza DNKni ochishi bilanoq, DNK polimeraza-primaza helikazaga qarama-qarshi yo'nalishda yangi burilmagan DNKda RNK-DNK gibridini sintez qiladi (4.15-rasm).



4.15-rasm DNK replikatsiya vilkasi tuzilishi modeli.

Zamburuglar DNK replikatsiya vilkasi tuzilishi eukaryotik replikatsiya vilkalariga o'xshaydi. Ona DNKsi qora chiziq bilan ko'rsatilgan, yangi sintezlangan DNK kulrang rangda ko'rsatilgan (4.15-rasm). RNK primerlari primaza tomonidan sintezlanadi. MSM geksamerik majmuasi matritsaning etakchi ipini o'rab oladi. MSM gelikazasi replikatsiya vilkasidan oldingi ona dupleksini qamrab olmasdan, faqat shu strandda ko'chiriladi. Bir zanjirli DNK SSB oqsillarini bog'laydi (doira shaklida ko'rsatilgan). MSM archaeal GINS kompleksi bilan o'zaro ta'sir qiladi va GINS primazani bog'lashi mumkin. GINS etakchi matritsa chizig'ida joy o'zgartiruvchi MSM va orqada qolgan matritsa chizig'ida primaz bilan birgalikda harakat qiladi. DNK polimeraza RNK primerini kengaytiradi, ikkita polimeraza juftlashganligi ko'rsatilgan, garchi bu archaeal tizimlar uchun isbotlanmagan. Har bir DNK polimeraza, DNAPol, PCNA trimeri bilan o'zaro ta'sir qiladi. PCNA flappendonukleaza FEN1 → kompleksi va DNK ligaza 1, Lig1 qo'shilishi uchun platforma bo'lib xizmat qilishi mumkin, bu faqat PCNA bilan bog'langan orqada qolgan ipda ko'rsatilgan (4.15-rasm).

Helikaz yanada o'tishi bilan matritsa ipida bo'shliq paydo bo'ladi. Bu qism yana qisqa RNK-DNK gibrid molekulasini shakllantirish uchun shablon bo'lib xizmat qiladi. Shunday qilib, "kechikkan ip" qisqa "Okazaki fragmentlari"ning takroriy sintezi orqali takrorlanadi. DNKning ochilishi bilan orqada qolgan iplar sintezini muvofiqlashtirish juda muhim, chunki DNK polimeraza a 150-200 bp oraliqda Okazaki fragmentlarining shakllanishini boshlashi mumkin, chunki DNK ochilmaydi. Bakterial va virusli tizimlarda bu primaz va helikaz o'rtasidagi muhim o'zaro ta'sirlar bilan birga keladi. Eukariotlarda DNK polimeraza a va MCM2-7 yoki Cdc45 o'rtasidagi o'zaro ta'sir bo'lishi mumkin. muvofiqlashtirish uchun muhim ahamiyatga ega.

Matritsani to'ldiruvchi dNTP ning asosiy tanlovi

Matritsani to'ldiruvchi dNTP ning asosiy tanlovi turli DNK polimerazalari uchun odatda bir xil bo'ladi, ammo bu jarayonga bir qator reaksiya parametrlari ta'sir qiladi. Ushbu parametrlar orasida birinchi navbatda ma'lum bir DNK biosintezi jarayonining funktsional maqsadini eslatib o'tish kerak. Shablonni to'ldiruvchi dNTPlarni tanlash kanonik Watson-Crick juftliklarini shakllantirish bilan boshlanadi. Bunday juftlarning shakllanishi, birinchi navbatda, energiya jihatidan qulayroqdir, chunki boshqa mumkin bo'lgan variantlarga nisbatan maqbul bo'lgan vodorod aloqalari hosil bo'ladi. Ikkinchidan, to'g'ri tuzilgan kompleks DNK polimerazadagi konformatsion o'zgarishlarni keltirib va keyinchalik fermentning translokatsiyasi. Noto'g'ri juftlik hosil bo'lganda, jarayonning energetikasi va ayniqsa kinetikasi keskin yomonlashadi. Shunga qaramay, tajribada ko'rsatilganidek, turli DNK polimerazalari uchun 10^{-4} dan 10^{-6} gacha bo'lgan chastotali noto'g'ri juftliklar hali ham paydo bo'ladi. Ularning paydo bo'lishining sababi bu fermentlar tomonidan katalizlanadigan jarayonning o'ziga xos xususiyatlaridadir. Buning asosiy sababi shundaki, DNK polimerazalari dDNK elongatsiyaning har bir bosqichida to'rtta tuzilish jihatidan farq qiladigan dNTPlardan birini tanlaydi va hatto hosil bo'lgan juftlikdagi matritsa nukleotid qoldig'i ham qo'shni nukleotid qoldiqlari tufayli o'zgaruvchan bo'lgan sharoitlarda bir iplining konformatsiyasiga ta'sir qiladi. faol markazdagi mintaqa matritsalarini. Bundan tashqari, agar DNKga bog'liq bo'lgan barcha DNK polimerazalari matritsa sifatida DNKdan foydalansa, buning natijasida B-shaklidagi ikki zanjirli dupleks darhol hosil bo'ladi u holda RNKga bog'liq teskari transkriptazalarda. teskari transkripsiya paytida birinchi bosqichda A shaklida mavjud bo'lgan aralash DNK-RNK kompleksi ikkinchi bosqichda esa replikatsiya jarayonida B shaklida DNK-DNK kompleksi hosil bo'ladi. Bu xususiyat teskari transkriptazalardan sezilarli darajada yuqori konformatsion harakatchanlikni talab qiladi va natijada past aniqlik bilan qoplanadi. Shuning uchun DNKga bog'liq DNK polimerazalar uchun o'rtacha 10^{-6} chastotada noto'g'ri qo'shilishlar yuzaga keladi va teskari transkriptazalar uchun bu qiymat 10^{-4} ga teng].

Noto'g'ri nukleotidlarni tahrirlash

DNK zanjiri cho'zilishi paytida keyingi tahrirlash xatolari nuqtai nazaridan DNK polimerazalarini ikki turga bo'lish mumkin. A tipidagi DNK polimerazalari 3→5 ekzonukleaza faolligiga ega bo'lgan, nukleotidning 3 uchidan parchalanishini katalizlovchi fermentlarni o'z

ichiga oladi. Ushbu faol markaz polimerizatsiya markazi yaqinida joylashgan bo'lib, u bilan qisman mos keladi. Uning vazifasi qo'shimcha bo'lmagan 3-nukleotid qoldig'ining kiritilishi va noto'g'ri juftlikning hosil bo'lishi natijasida yuzaga keladigan zanjir uzayishining kinetik kechikishi bilan namoyon bo'ladi.

Bunda DNK polimerazalari 3→5 ekzonukleaza faolligini yoqadi va komplementar bo'lmagan 3'-terminal nukleotid qoldig'ini ajratadi.

3→5 ekzonukleaza faol markazini o'z ichiga olgan DNK polimerazalar guruhi, afitidan, barcha yoki deyarli barcha fag va bakterial DNK polimerazalarni, shuningdek, hayvonlar va hayvonlar viruslarining ko'plab DNK polimerazalarini o'z ichiga oladi. Tahrirlash faoliyati xatolik darajasini yana 10-100 marta kamaytiradi.

Bundan tashqari, 3→5 ekzonukleaza faollikiga ega bo'lmagan juda ko'p miqdordagi B tipidagi DNK polimerazalari mavjud.

Masalan, DNK polimeraza epsilon, DNK polimeraza deltasi va inson DNK polimeraza gammasi bunday faollikka ega, ammo DNK polimeraza alfa va DNK polimeraza beta, shuningdek, inson retroviruslarining teskari transkriptazalari bunday faollikka ega emas. Biroq, bu fermentlar inkorporatsiyani ancha yuqori aniqlik bilan katalizlaydi (xatolar soni taxminan 10⁻⁴ tani tashkil etuvchi virusli teskari transkriptazalar bundan mustasno).

B tipidagi DNK polimerazalarida qo'llaniladigan tuzatish mexanizmlari aniq tushuntirilmagan va ular turlicha. Mumkin tuzatuvchi reaksiyalar orasida birinchi navbatda noto'g'ri kiritilgan nukleotid qoldig'ining pirofosforolizi o'rganildi.

Bu reaksiyaning klassik ko'rinishida shunday ko'rinadi dargumon, chunki DNK polimerazalarining faol markaziga PPI ning past yaqinligi tufayli uni amalga oshirish reaksiya muhitida taxminan 1 mM PPI konsentratsiyasini talab qiladi. Ammo bu hujayrada mavjud emas, shu jumladan noorganik pirofosfataza mavjudligi sababli, DNK polimerazalari tomonidan katalizlangan reaksiya muvozanatini dDNK zanjirining cho'zilishi tomon siljitish uchun PPI gidrolizlanadi.

Boshqa variantda, DNK polimeraza faol markazida PPI ning saqlanishi reaksiyaning keyingi bosqichida yangi dNTP ning translokatsiyasi va bog'lanishiga qadar taxmin qilingan. Biroq, hozirgi kunga qadar bunday reaksiya mexanizmining bevosita dalillari tasvirlanmagan.

DNK polimeraza bilan kompleksda alohida o'ziga xos 3→5 ekzonukleaza ishtirok etishi ba'zi dalillarga ega, garchi bu aniq

ko'rinmasa ham. Buning uchun DNK polimeraza, nukleotid qoldig'i noto'g'ri kiritilgandan so'ng, birinchi navbatda DNK sintezlovchi kompleksidan ajralib chiqishi kerak, so'ngra 3-terminal nukleotid qoldig'ining ekzonukleaza parchalanishidan keyin qayta assotsiatsiyalanishi kerak. DNK polimerazalari orasida DNK polimeraza beta uchun bunday mexanizm juda mumkin ko'rinadi, chunki bu ferment har bir keyingi bosqichdan keyin kompleksdan ajralib chiqish orqali ishlaydi

1998 yilda Rossiya Fanlar akademiyasining Kraevskiy nomidagi Biokimyo instituti laboratoriyasida Montpelye universiteti laboratoriyasi bilan birgalikda DNK biosintezini stereokimyoviy nazorat qilishni o'rganishda di-(deoksinukleozid)-tetrafosfat dN- hosil bo'lishi. Bir qator DNK polimerazalari tomonidan katalizlangan 5-pp-5-dN' ko'rsatilgan, dDNK uzayishi to'xtaganda kuzatilgan.

Xuddi shu reaksiya AQSH tadqiqotchilari tomonidan dDNK zanjirlarining sintezi o'zgartiril.

Ushbu reaksiyaga muvofiq, dNTP odatda DNK polimerazalari tomonidan katalizlangan pirofosforoliz reaksiyasida PPI lokalizatsiya qilinadigan joy bilan bog'lanadi, shundan so'ng bu dNTP molekulasi dDNKning 3-terminal nukleotid qoldig'i bilan reaksiyaga kirishadi va natijada dinukleozid tetrafosfat dN- 5-pp-5-dN hosil bo'ladi. An'anaviy dDNK pirofosforolizidan farqli o'laroq, reaksiya uchun zarur bo'lgan dNTP konsentratsiyasi PPI ga qaraganda 1-1,5 daraja pastroqdir. Agar dN-5'pppp-5-dN' fermentativ reaksiya mahsuloti bo'lsa, u ham cho'zilish uchun substrat bo'lishi kerak deb o'ylash mantiqiy edi. Haqiqatan ham, mualliflar dN-5'-pppp5'-dN' DNK polimerazalari bilan reaksiyada substrat xossalarini ko'rsatishini, dDNK zanjirini uzaytirishini ko'rsatdi Bunda dN-5-pppp-5-dN' zanjirini bu molekulalarning matritsa bilan aniqlanadigan ikkita nukleotid qoldig'idan istalgani bilan uzaytiradi. dN-5-pp-5'-dN' ning turli DNK polimerazalariga yaqinligi o'zgarib turadi, 10-50 marta farq qiladi va eng yaxshi hollarda u an'anaviy dNTP substratlarining yaqinligiga teng.

Teskari transkriptaza: transkripsiya yoki replikatsiyaning aniqligi

Teskari transkriptazalar teskari transkripsiya yoki replikatsiyaning g'ayrioddiy past aniqligi bilan tavsiflanadi, bu esa ushbu fermentlarni o'z ichiga olgan viruslarning yuqori genetik o'zgaruvchanligini belgilaydi.

Ushbu guruh viruslari evolyutsion xilma-xillik va o'zgaruvchan atrof-muhit sharoitlariga tez moslashish bilan ajralib turadi. Bu xususiyat inhibitorlar ta'siriga OIV qarshiligining rivojlanishida eng aniq

namoyon bo'ladi. Masalan, OIVning ko'payishini bostiradigan ba'zi dorilarga qarshilik 2-3 hafta ichida 100 martagacha yoki undan ko'proq rivojlanadi.

Mutatsiyalar chastotasini va virus genomining hajmini (taxminan 9200 nt) hisobga olgan holda, replikatsiyaning bir raundida virus genomida o'rtacha bitta mutatsiya hosil bo'lishini hisoblash oson. Virusli teskari transkriptazalarning bunday past ishonchliligining sabablari bu fermentlarning teskari transkripsiya va replikatsiyani katalizlash zarurati bilan bog'liq.

Mualliflar ushbu hodisaning odamlar uchun foydali tomoniga e'tibor qaratmoqchi. Bir qator laboratoriyalarda olib borilgan ko'plab tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, teskari transkriptazalarning substrat o'ziga xosligi pasayganligi nafaqat matritsaga, balki dNTPlarning glikon va trifosfat qoldig'iga nisbatan ham namoyon bo'ladi. Shuni ta'kidlashni istardimki, bunday xulosa birinchi marta.

Shunday qilib, dNTP ning 3-pozitsiyasidagi gidroksilni turli xil, shu jumladan katta hajmli guruhlar bilan almashtirganda, dNTP ning uchta fosfat qoldig'idan birini yoki barcha uchta fosfatni bir vaqtning o'zida modifikatsiyalashda, shuningdek, boshqa ko'plab modifikatsiyalar bilan sezilarli yo'qotish bo'lmaydi. Bunday o'zgartirilgan dNTPlarning teskari transkriptazalarga nisbatan substrat xossalari, lekin ular boshqa DNKga to'liq yaqinlik qilmaydi.

Teskari transkriptazalarning ushbu xususiyatidan foydalanish orttirilgan immunitet tanqisligi sindromi (OITS) bilan og'rigan bemorlarni davolash uchun nukleozid tabiatining barcha dori-darmonlarini yaratish uchun asos bo'ldi.

Ko'p xossalari bilan kanonik DNK polimerazalaridan sezilarli farq qiladigan yana bir ferment terminal deoksinukleotidil transferaza (TDT) hisoblanadi.

Helikaz - bu DNK dupleksining o'rtasida joylashgan tayanch juftlari orasidagi vodorod aloqalarini buzadigan ferment. Uning halqa shaklidagi tuzilishi prokaryotlardagi oltita bo'linma DnaB DNKni o'rab oladi va DNK sintezi joyidan oldingi iplarni ajratib turadi.

Eukariotlarda Mcm2-7 kompleksi spiral rolini bajaradi, garchi spiral faolligi uchun qaysi bo'linma zarurligi to'liq aniq emas. Bu helikaz DNK polimerazalari bilan bir xil yo'nalishda joylashadi (matritsa zanjiriga nisbatan 3' dan 5' gacha).

Eukaryotlarda MCM geteroeksameri Cdc7 va CDK tomonidan fosforlanadi, bu esa Cdc6 ni siqib chiqaradi va MCM10 ni jalb qiladi.

MCM10 Cdc45 ishga olishda MCM2-7 bilan hamkorlik qiladi. Keyin Cdc45 replisomaning asosiy komponentlarini ishga oladi (replizoma); replikativ DNK - polimeraza α va uning primazasi. DNK replikatsiyasi boshlanishi mumkin

Replikatsiyadan oldingi kompleksni qayta yig'ishning oldini olish

Har bir hujayra siklida genomning butunlay bir marta va faqat bir marta takrorlanishi muhim ahamiyatga ega. Oldindan shakllanishi Kech M va erta G1 fazasidagi replikatsiya kompleksi genom replikatsiyasi uchun zarurdir, ammo genom replikatsiya qilingandan so'ng, oldingi RC keyingi hujayra sikligacha qayta shakllanmasligi kerak. *S. cerevisiae* da CDKlar yadrodan MCM2-7 va Cdt1 ni chiqarib tashlash, proteazoma tomonidan parchalanish uchun Cdc6 belgilash va ORC1-6 ni fosforlanish orqali xromatindan ajratish orqali kech G1, S va G2 fazalarida replikatsiya kompleksi shakllanishini oldini oladi.

*S. pombe*da takroriy replikatsiyaning oldini olish biroz boshqacha, Cdt1 yadrodan oddiygina chiqarib yuborilgandan ko'ra proteazomada parchalanad. Cdt1 ning proteolitik regulyatsiyasi yuqori eukariotlar, jumladan *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *X. laevis* va sutemizuvchilar tomonidan taqsimlanadi. Metazoanlar (metazoanlar) replikatsiyani oldini olish uchun to'rtinchi mexanizmga ega; S va G2 paytida geminin Cdt1 bilan bog'lanadi va

Meier-Gorlin sindromi.

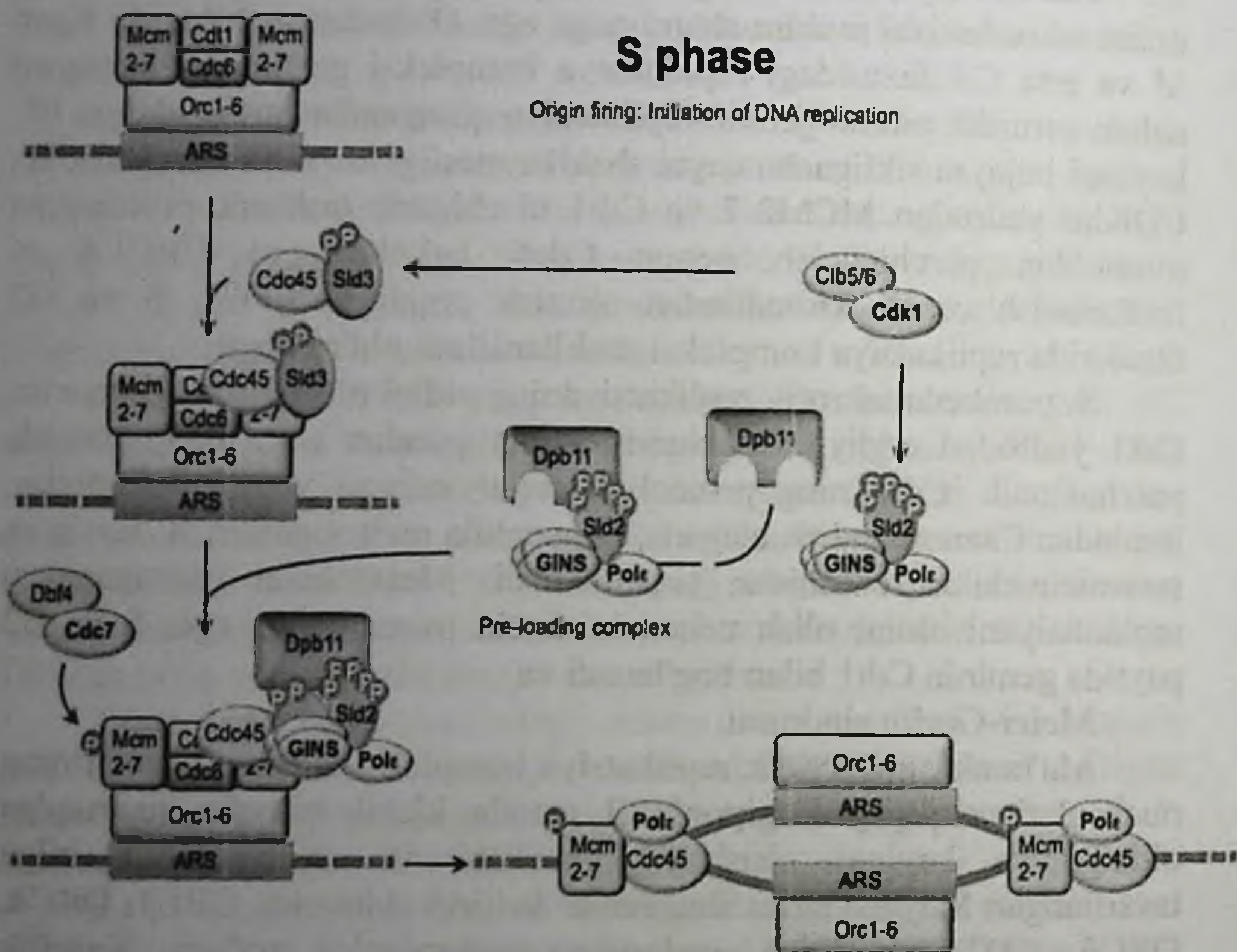
Ma'lumki, eukaryotik replikatsiya kompleksi tarkibiy qismlarining nuqsonlari yo'qligi yoki gipoplastik patella, kichik quloqlar, tug'ruqdan oldingi va keyingi o'sishning buzilishi va mikrocefaliya bilan tavsiflangan Mayer-Gorlin sindromini keltirib chiqaradi. ORC1, ORC4, ORC6, CDT1 va Cdc6 genlaridagi mutatsiyalar ma'lum. Kasallik fenotipi, ehtimol, hujayralarning ko'payish qobiliyatining pasayishi, hujayralar sonining kamayishi va umumiy o'sishning etishmasligidan kelib chiqadi. [Biknel, Luis va boshqalar.

4.7 G1 va S fazalarida eukariotlarda replikatsiyaning boshlanishi va uzayishida protein kinaz va siklinkinaz komplekslarining roli.

Ikkita konservalangan protein kinazlari S fazasida DNK replikatsiyasini boshlashda muhim rol o'ynaydi (4.16-rasm).

Ulardan biri siklinga bog'liq kinaz (CDK). Bir hujayrali zamburug'lar, masalan, tomurcuklanma va bo'linish xamirturushlarida, birinchi navbatda hujayra siklidagi barcha asosiy o'tishlarni boshqarish

uchun bitta CDK (*S. cerevisiae* da Cdc28 va *S. pombe* da cdc2) javobgardir. Ko'p hujayrali eukariotlarda hujayra aylanishi bir nechta CDKlar tomonidan boshqariladi. O'rganilayotgan barcha organizmlarda S fazasi odatda maxsus siklin-CDK komplekslari tomonidan faollashadi (4.16-rasm).



4.16-rasm - siklinga bog'liq kinazlar (CDKs) bilan siklinlar (Cl) komplekslari tomonidan DNK replikatsiyasining boshlanishini tetiklash va oldindan yuklash va yuklash komplekslarining fosforlanishi, replikatsiya ko'zining shakllanishi va replikatsiya ko'ziga polimerazalarni jalb qilish.

GINS eukaryotik hujayralardagi DNK replikatsiyasi jarayoni uchun zarur bo'lgan oqsil kompleksidir. Kompleks replikatsiyaning boshlanishi va cho'zilishida ishtirok etadi.

GINS yaponcha 5-1-2-3 raqamlarining birinchi harflaridan tuzilgan qisqartma bo'lib, kompleksning 4 ta oqsil bo'linmasini nazarda tutadi: Sld5, Psf1, Psf2 va Psf3.

PSF1 (SLD hamkori beshdan biri) evolyutsion ravishda saqlanib qolgan DNK replikatsiyasi omili bo'lib, quyi turlarda va oddiy ildiz va progenitor hujayra populyatsiyalarining keng diapazonida DNK replikatsiyasida ishtirok etadi. Xuddi shunday kompleks Arxeyada ham aniqlangan.

S. cerevisiae da Cdc28 ikkita B tipidagi siklinlar, CLB5 va 6 bilan S fazasini harakatga keltiradi; *S. pombe* da S fazasi cdc2 va cig2 B tipidagi siklinlar tomonidan boshqariladi. Metazoanlarda CDK2 A va E siklinlari bilan bir qatorda S fazaga xos CDK rolini o'ynaydi. Ikki siklin boshlashda har xil rol o'ynaydi. Ko'pgina boshlash omillari CDKlar tomonidan in vivo fosforlangan bo'lsa-da, fiziologik jihatdan tegishli substratlarni oldindan aytish qiyin.

Yana bir muhim S fazasini rag'batlantiruvchi kinaz - Cdc7. CDKlar singari, Cdc7 ham o'z faoliyati uchun katalitik bo'lmagan Dbf4 bo'linmasini talab qiladi (4.16-rasm). Cdc7-Dbf4 va CDK'lar o'rtasida boshqa parallelliklar mavjud: masalan, tomurcuklanma xamirturushida, Dbf4 B siklinlariga o'xshash anafazani rag'batlantiruvchi kompleks tomonidan ubiquitin proteolizi uchun belgilanishi sababli G1 fazasining boshida beqaror. Dbf4 in vivo replikatsiyaning kelib chiqishi bilan o'zaro ta'sir qiladi va ORC ulanish joyi bu o'zaro ta'sir uchun muhimdir. Achitqilarda bu o'zaro ta'sir uchun Cdc6 va shuning uchun MCM2-7 kerak emasligi aniqlandi, ammo *Xenopus*dagi tajribalar shuni ko'rsatadiki, bu o'zaro ta'sir MCM2-7 ni talab qiladi, lekin ORC yoki Cdc6 emas. Genetik va biokimyoviy dalillar MCM2-7 kompleksining kinazlar uchun muhim nishon ekanligini ko'rsatadi (4.16-rasm).

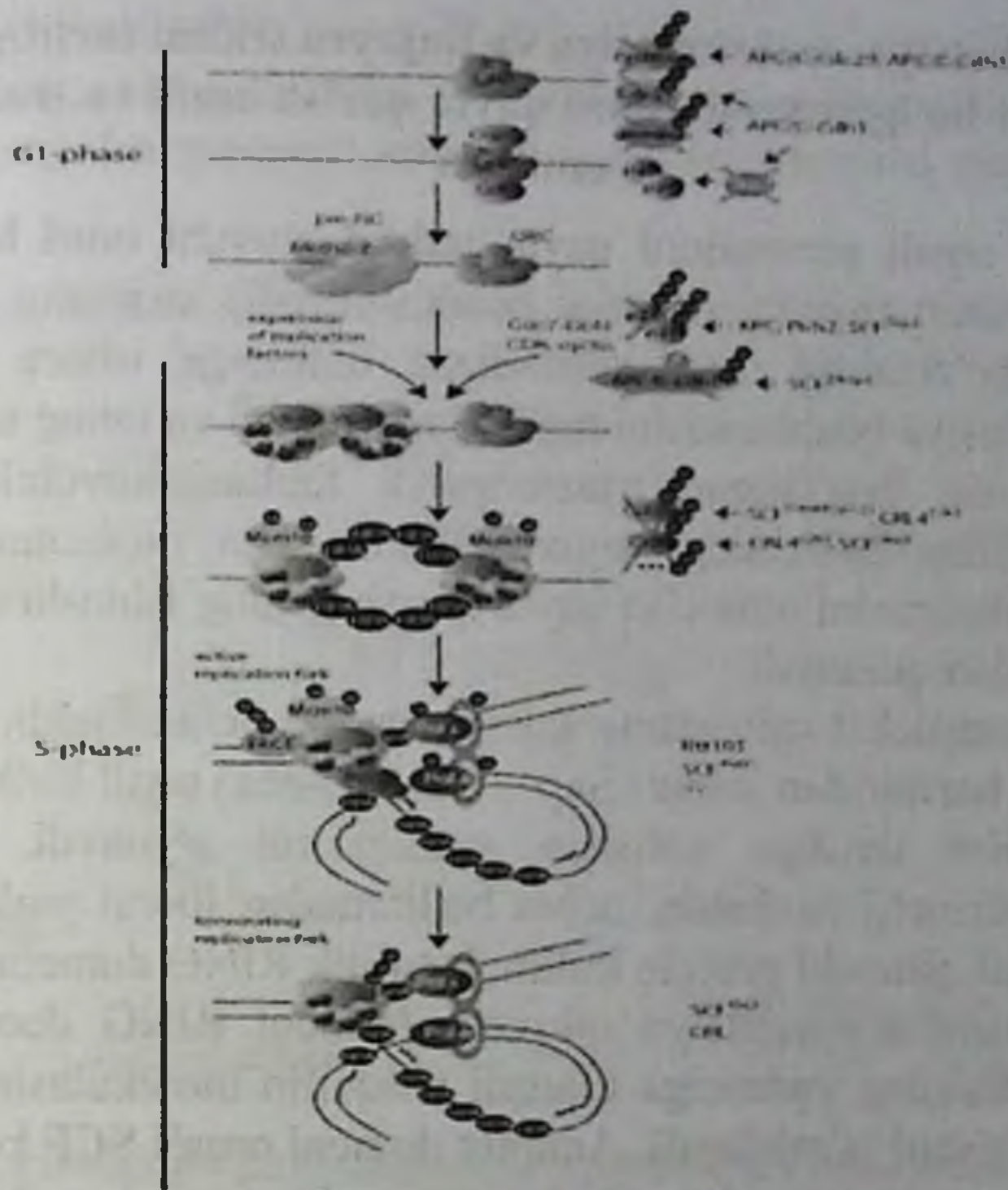
Bundan tashqari, agar juda erta G1 fazasidagi CHO yadrolari tuxum ekstraktida inkubatsiya qilinsa, boshlash DHFR (dihidrofolat reduktaza) lokusudagi tasodifiy joylarda sodir bo'ladi. Biroq, agar CHO yadrolari kech G1 fazasida ishlatilsa, unda boshlash qat'iy belgilangan DHFR lokusuda sodir bo'ladi. Bu RC yig'ilishidan keyin ham, qaror qabul qilish vaqtida ham yuzaga keladigan "qaror qabul qilish nuqtasini" aniqlash uchun ishlatilgan. Shakllanishni tartibga solishda ubiquitin-konjugatsiya qiluvchi fermentlar mitoz oxirida replikatsiya komplekslari va hujayra siklining G1 va S fazalari Ko'pgina eukaryotik hujayralar G1 fazasida sukunat holatiga kiradi. Kurtakli xamirturushlarda mitozning oxirida hosil bo'lgan pre-RC'lar tinchlanishga (statsionar faza) kirishi bilanoq kelib chiqishidan yo'qoladi. Dam oluvchi sutemizuvchilar hujayralari ham pre-RCsni ko'rsatmaydi, ammo bunday hujayralar oldingi RC'larni yo'qotadimi yoki boshidanoq ularni yig'maydimi, aniq

emas. Mitozning oxirida ikkita protein Cdc6 va Cdt1 ORCga alohida etkazib beriladi. Tsiklinlar, geminin va Skp1[en] (inglizcha S-faza kinaz bilan bog'liq protein 1) ning ubiquitinatsiyasi ularning parchalanishiga va siklin-Sdk inhibitörlerinin - p21 va p27 va G1 fazasida faollashishiga olib keladi.

p21 va p27 ingibitorlarining ubiquitinatsiyasi ORC tomonidan prereplikativ kompleks hosil bo'lishiga olib keladi (4.17-rasm). p21 va p27 ning ubiquitinatsiyasi va replikatsiya omillarini ifodalash va Cdc7-Dbf4, CDKs-siklin komplekslari tomonidan faollashishi ikkita MCM10, Cdc45 va GINS (Sld5, Psf1, Psf2 va Psf3) komplekslarini hosil bo'lishiga olib keladi va iplarni ajratish va ajratishga olib keladi. replikatsiya ko'zining hosil bo'lishi va RPA oqsillarining bir ipli DNK bilan bog'lanishi, S-fazada replikativ ko'zning chetlari bo'ylab vilkalarda replikatsiyadan oldingi komplekslarning shakllanishi (rasm 4.17).

Replikatsiya vilkasini keyingi faollashtirish va MCM10 va FACT ning ubiquitinatsiyasi va fermuar qisqichlari va polimerazalarning e va d mos ravishda etakchi va orqada qolgan DNK zanjirlariga bog'lanishi va MCM2-7 ning keyingi ubiquitinatsiyasi replikatsiya vilkalarida replikatsiyani tugatadi (17-rasm).

Cdc45 va yoki RPA o'rtasidagi oqsil-oqsil o'zaro ta'siri DNK polimeraza savdosida rol o'ynashi mumkin. Chunki DNK polimerazalar de novo zanjir sintezini boshlay olmaydi va shuning uchun qisqa ribonukleotid primerlarini sintez qilish uchun mutlaqo primazani talab qiladi. Qisqa (6-10 nukleotid), shablona bog'langan RNK cho'zilishi keyinchalik DNK sintezi uchun "primerlar" bo'lib xizmat qilishi mumkin. Ushbu erta sintez DNK polimeraza-primaza kompleksining to'rtta bo'linmasi tomonidan amalga oshiriladi (4.18-rasm).



Rasm 4.17 - G1 fazasida boshlang'ichlarni ishga tushirish dasturi va replikatsiya omillarini ifodalash va CDKlar yordamida boshlashni boshlash, S fazasida replikatsiya vilkasida replikatsiyani faollashtirish va tugatish.



4.18-rasm - Eukariotlarda replikativ kompleks. Cdc45 va / yoki RPA o'rtasidagi oqsil-oqsil o'zaro ta'siri DNK polimeraza yuklanishida rol o'ynashi mumkin.

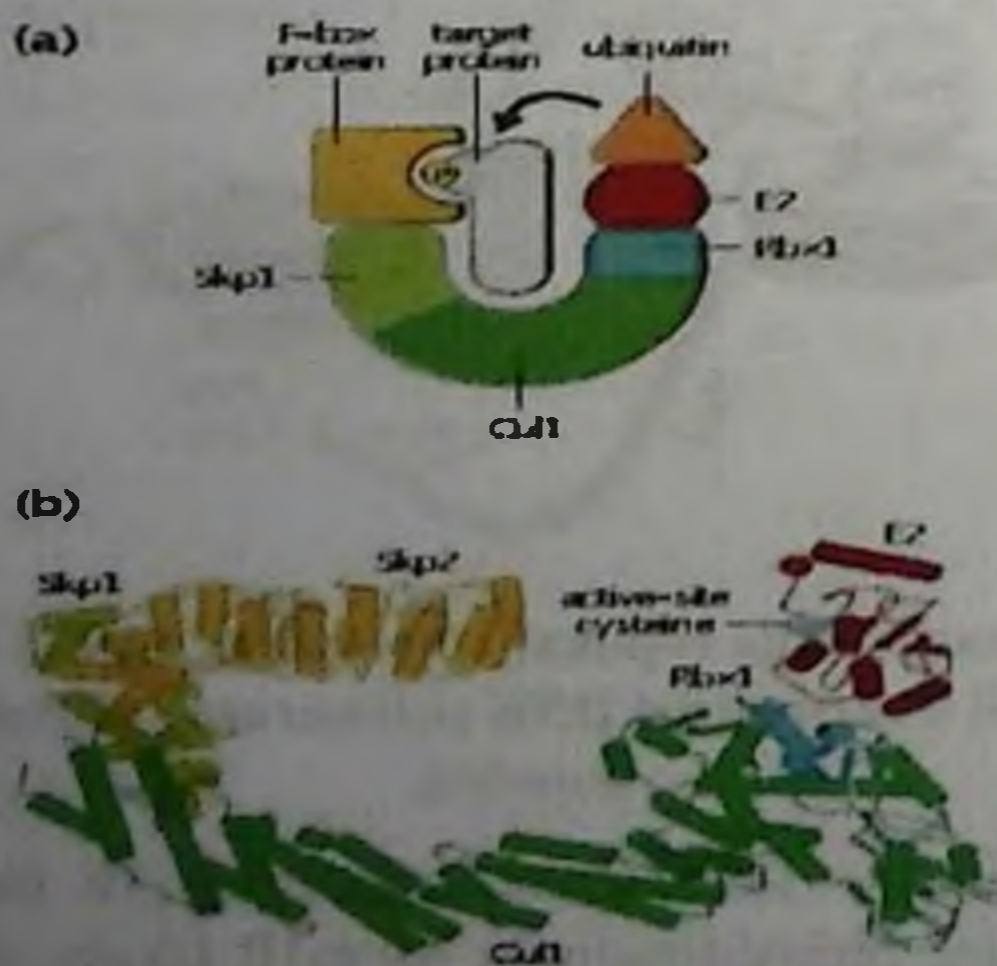
Mcm2-7 replikativ helikazning yadrosini va polimerizatsiya va DNKning ochilishini birlashtiradigan Mcm10 iskala oqsilini o'z ichiga oladi (u Mcm2-7ni Pola bilan bog'laydi).

4.8 Replikatsiya, transkripsiya va hujayra siklini tartibga solish uchun zarur bo'lgan xromatinni qayta qurish omili va transkripsiya omillari

FACT oqsili xromatinni qayta tashkil etuvchi omil hisoblanadi. FACT (xromatin transkripsiyasini osonlashtiradi) xromatin shablonida RNKning cho'zilishini osonlashtiradigan omillarga ishora qiladi. Bu omil transkripsiya boshlanishini rag'batlantirmaydi va uning ta'siri uchun promotor bilan bog'langan transkripsiya faollashtiruvchilarini talab qilmaydi. Uning ta'sirining yagona sharti - bu promotor hududida xromatin strukturasi oldindan qayta qurish. Uning ishlashi uchun ATP gidrolizini talab qilmaydi.

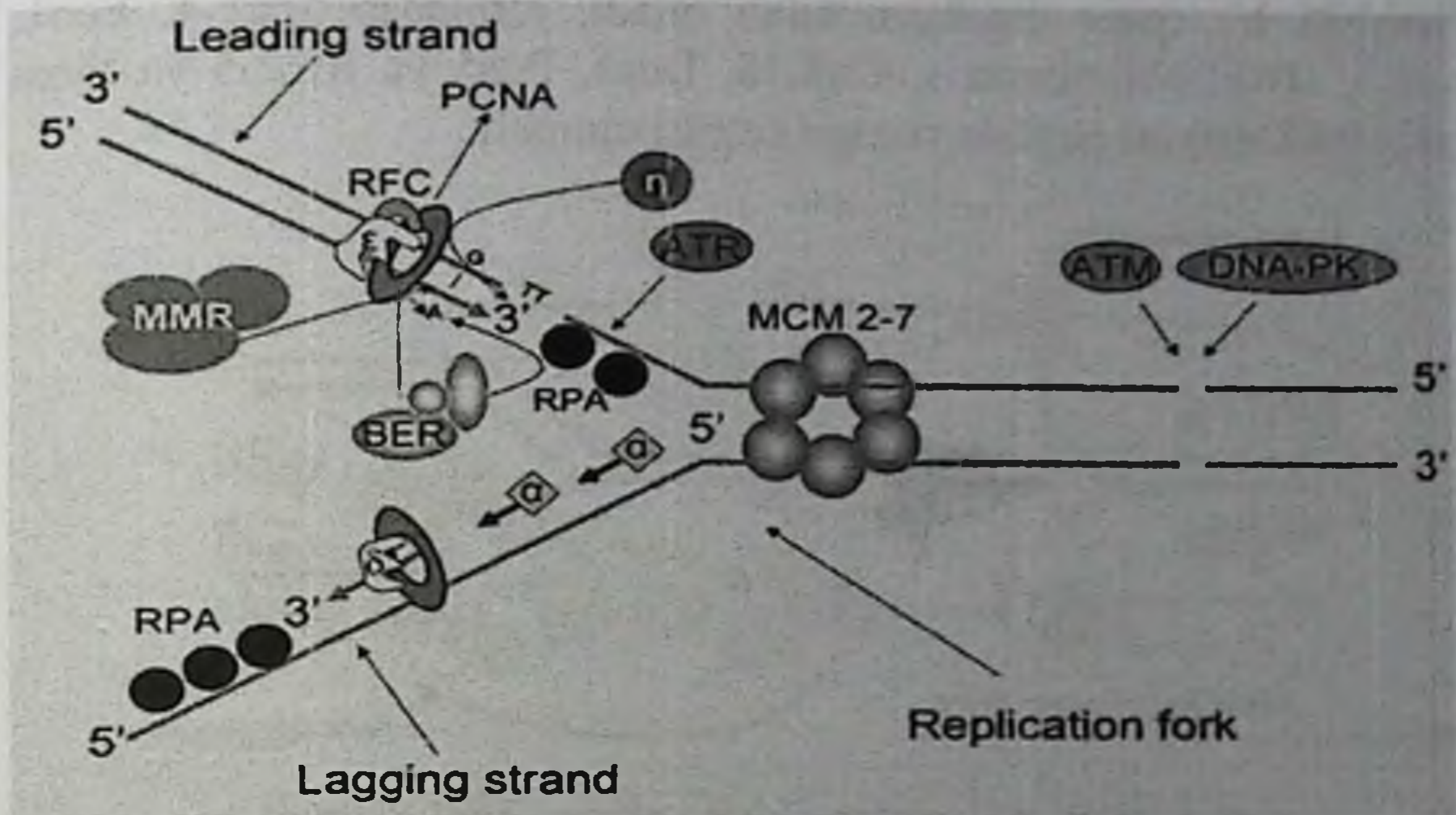
SCF kompleksi (qisqartma kompleksning uchta kichik birligining boshlang'ich harflaridan iborat: Skp1, Cull1, F-box) oqsil birikmasidir bu hujayra siklini tartibga solishda muhim rol o'ynaydi. Kompleks tuzilishida, birinchi navbatda, uchta bo'linmadan iborat yadro mavjud: struktura hosil qiluvchi protein kullin, katalitik RING domeni va adapter oqsili. Ubiquitin-konjugatsiya qiluvchi ferment RING domeni orqali SCF kompleksining yadrosiga ulanadi ubiquitin molekulasini maqsadli oqsilga o'tkazishni ta'minlaydi. Adapter domeni orqali SCF kompleksiga substratga xos domen ulanadi, bu maqsadli oqsilning bog'lanishini ta'minlaydi (4.19-rasm).

SCF qisqartmasi kompleksning uchta bo'linmasining boshlang'ich harflaridan iborat: Skp1 (inglizcha S-faza kinaz bilan bog'liq protein 1 - "S-fazasi bilan bog'langan



4.19-rasm - SCF kompleksining sxemasi.

DNK shikastlanishi va replikatsiya vilkasini hibsga olish
DNKning shikastlanishi va replikatsiya vilkalarining yoqolishi
 (4.20-rasm) global genomik integratsiya uchun nazorat nuqtasini ishga tushiradi.



4.20-rasm - Zararlanganda replikatsiya vilkasi modeli

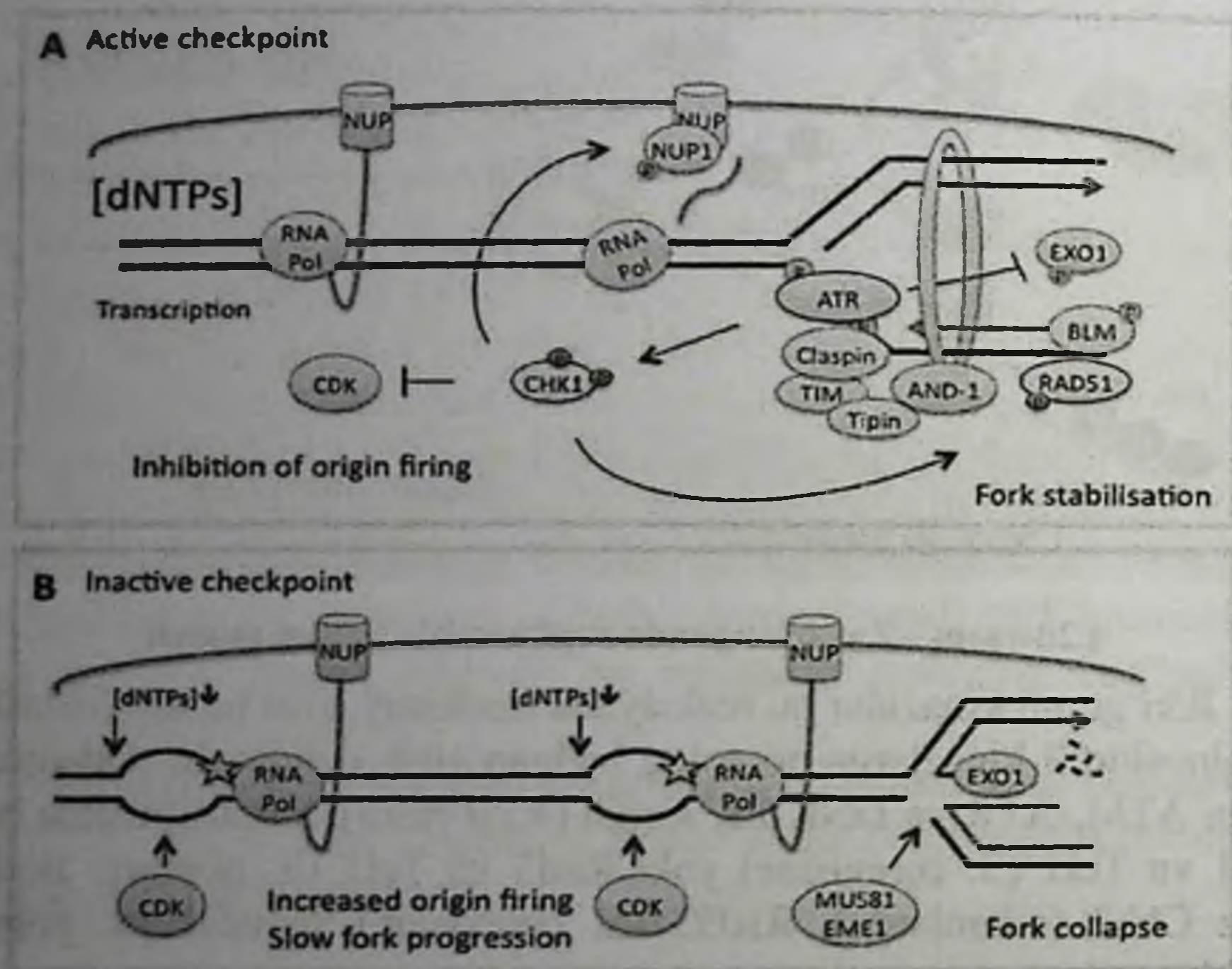
Ikki guruh kinazalar bu reaksiyada markaziy o'rin tutadi. Birinchisi fosfoinositid 3-kinazlarga homolog bo'lgan yirik oqsillardir. Odamlarda bunga ATM, ATR va DNK PK kiradi (4.20-rasm); xamirturushda bular Mec1 va Tel1 (*S. cerevisiae*) yoki Rad3 va Tel1 (*S. pombe*). Boshqa kinaz Chk2 (odamlarda), Rad53 (*S. cerevisiae*) va cds1 (*S. pombe*) sifatida tanilgan.

Ushbu nazorat punktining faollashishi replikatsiyaning kech boshlangan manbalarining boshlanishiga to'sqinlik qiladi va mitozga kirishga yo'l qo'ymaydi. Bundan tashqari, ushbu nazorat punkti replikatsiya vilkalarining buzilishining oldini olishda rol o'ynaydi (4.21-rasm). Yuqorida ko'rsatilganidek, orqada qolgan zanjir RNK-DNK gibrud molekulari qatori sifatida uzluksiz sintezlanadi.

Ushbu Okazaki bo'laklarining etukligi Fen1 flap endonukleaza va Dna2 helikaz endonuklezasini talab qiladigan qo'shma reaksiya orqali RNK primerlarini (va haqiqatan ham ba'zi DNKlarni) olib tashlashni, so'ngra ularning ligaza I bilan birlashishini o'z ichiga oladi.

Genomik DNK replikatsiyasi xromosoma replikatsiyasining faqat bitta komponentidir. Bir qator boshqa muhim jarayonlar DNK replikatsiyasi bilan bog'liq. PCNA to'g'ridan-to'g'ri oqsil-oqsil o'zaro

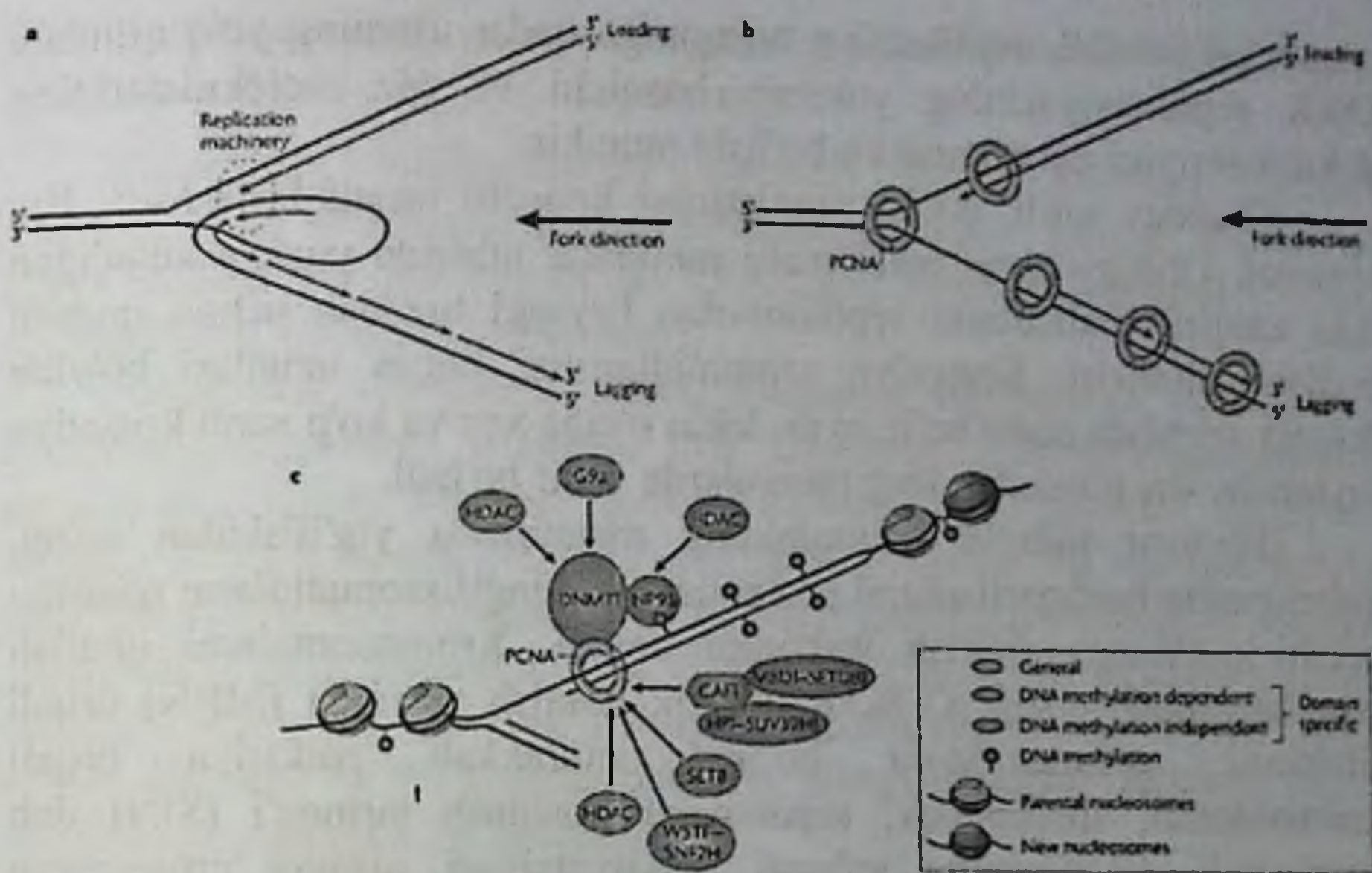
ta'siri orqali replikatsiya vilkasidagi ko'plab jarayonlarni ushlab turishda markaziy rol o'ynaydi. Replikatsiyadan so'ng, ikkita qiz DNK molekulalari qosh xromatid birlashishi deb ataladigan jarayon orqali bir-biri bilan chambarchas bog'liq bo'lib qoladi. Qosh xromatidlarning birlashishi bir qator omillarni talab qiladi, jumladan Scc1-4, Ecol, Smc1,3, DNK polimeraza s, Ctf8,18, Dcc1, Pds5 va Rfc2-5 va faqat DNK replikatsiyasi paytida yuzaga kelishi mumkin.



4.21-rasm - Faol va nafaol boshqaruv nuqtalari.

Xromatin yigish

Xromatin birikmasi DNK replikatsiyasi bilan bog'liq bo'lib, u CAF1 xromatin yig'ish omili tomonidan amalga oshiriladi (4.22-rasm). Achitqilarda CAF1 xromatin yig'ish uchun etarli emas va boshqa omillar, shu jumladan ASF1, xromatin yig'ilishida ishtirok etadi deb hisoblanadi. DNK replikatsiyasining yuqori aniqligiga qisman replikatsiyadan keyingi ta'mirlash orqali erishiladi. Bularga mos kelmaslikni tuzatish, rekombinatsiya va transleziya DNK sintezi kiradi.



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

4.22-rasm DNK replikasiyasi paytida xromatin birikmasi

Elongatsiya va telomerani qolanilishi

Elongatsiya va telomerani qolanilishi ham DNK replikasiyasi bilan bog'liq. Achitqilarda telomer sintezi uchun DNK polimeraza a kabi orqada qolgan zanjirlar sintezida ishtirok etuvchi oqsillar zarurligi ko'rsatilgan. Nihoyat, samarali xromosoma replikasiyasi va segregatsiyasi bilan bog'liq bo'lgan ushbu asosiy jarayonlarga qo'shimcha ravishda, aniq xromosoma replikasiyasi genlarni ifodalash dasturlarining aniq merosini o'z ichiga oladi. Ko'paytirishdan keyin faol genlar faol bo'lib qolishi kerak, jim heteroxromatik hududlar esa faol bo'lmasligi kerak. Bu xromatin holati meros bo'lib qolganligini ko'rsatadi

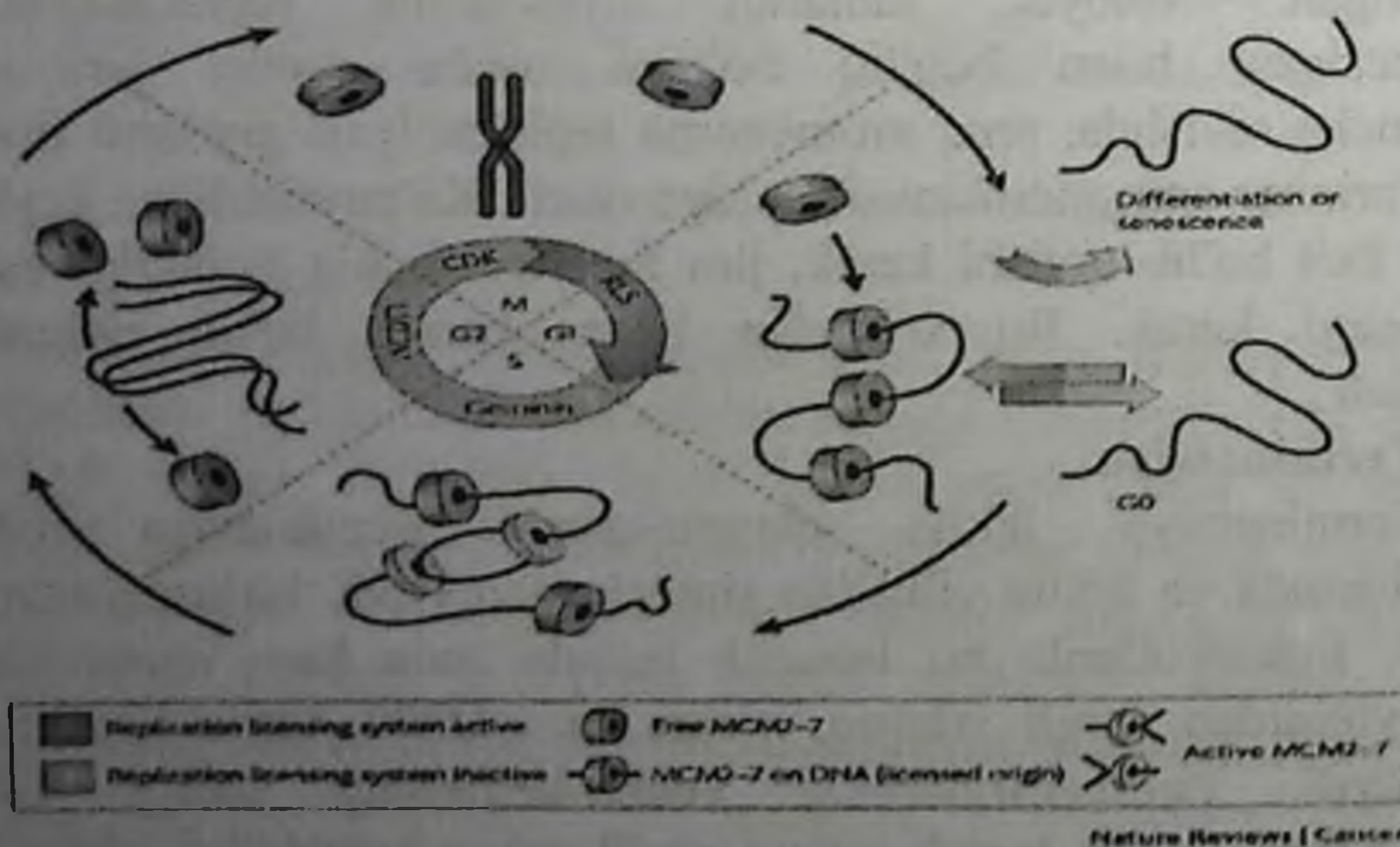
Terminatsiya

Terminatsiya ikkita qarama-qarshi replikasiya vilkalari uchrashganda va ikkita vilkadan sintezlangan DNK birlashganda sodir bo'ladi. Eukaryotlarda bu bosqich haqida juda kam narsa ma'lum. Prokaryotlardan farqli o'laroq, o'ziga xos DNK ketma-ketligi talab qilinmaydi. Polimerazalarning ketma-ketlikning oxirgi bitlarini takrorlashiga imkon berish uchun replikasiya tugashidan oldin DNK polimerazalaridan oldin harakat qiladigan oqsillarni yo'q qilish kerak. Helikaz, shuningdek, topoizomeraz I polimerazalardan oldinda harakat

qilganligi sababli, replikatsiya tugagunga qadar ularning yo'q qilinishi DNK replikatsiyasining yakuniy bosqichi va qiz molekulalarining dektenatsiyasi uchun muhim bo'lishi mumkin.

Shunday qilib, ikkita xromatidlar kogeziya orqali birlashadi. Bu, ehtimol, DNKga zarar etkazuvchi moddalar ta'sirida yuzaga keladigan ikki zanjirli uzilishlarni replikativdan keyingi tuzatish uchun muhim bo'lishi mumkin. Kogeziya xromatidlarning butun uzunligi bo'ylab doimiy ravishda sodir bo'lmaydi, lekin o'ziga xos va ko'p sonli kogeziya joylarida, shu jumladan sentromeralarda sodir bo'ladi.

Bipolyar mitotik shpindelning metafazada yig'ilishidan so'ng, kohezinning boshqariladigan proteolizi opa-singil xromatidlarni qarama-qarshi qutblarga ajratish imkonini beradi. Xromosomalarni ajratish tugallangandan so'ng, CDKlar mitotik chiqish tarmog'i (MEN) orqali sitokinez vositachiligida bo'lgan murakkab reaksiya orqali inaktivlanadi, shuningdek, sepatsiyani boshlash tarmog'i (SIN) deb nomlanadi. CDKlarning so'nggi inaktivatsiyasi qisman proteazoma orqali siklinlarni parchalanishiga qaratilgan anafazani rag'batlantiruvchi kompleks E3 ubiquitin ligazani faollashtirish orqali sodir bo'ladi. Bunga qo'shimcha ravishda, APC proteoliz uchun replikatsiya omillarini ham maqsad qiladi; Bularga metazoanlarda Cdt1 inhibitori geminin va xamirturushdagi Cdc7 tartibga soluvchi subunit Dbf4 kiradi. Hujayralar RCdan oldingi yig'ilishning navbatdagi bosqichi uchun astarlangan G1 ga kiradi (4.23-rasm).

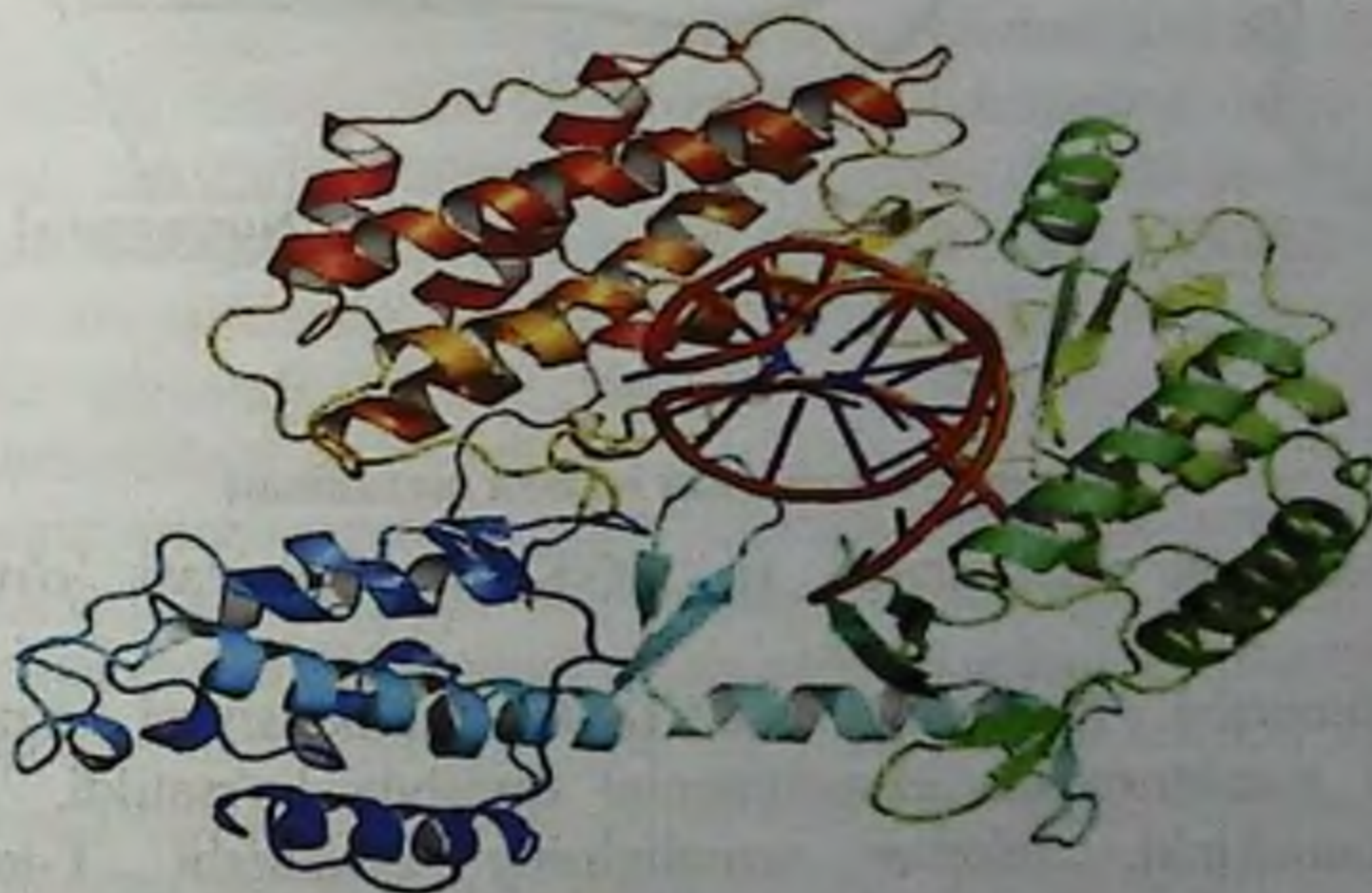


4.23-rasm - Hujayra siklining turli davrlarida faol va nafaol replikatsiya litsenziyalash tizimlari

4.9 Eukaryotik xromosomalarning telomer qismlarining replikatsiyasi

Eukaryotik xromosomalar chiziqli bo'lib, ularning uchlari takrorlanuvchi oligomerik ketma-ketliklardan tashkil topgan telomerlar bilan ifodalanadi; odamlarda bu GGGTTA ketma-ketligining 25-200 nusxasini tashkil qiladi (4.24-rasm).

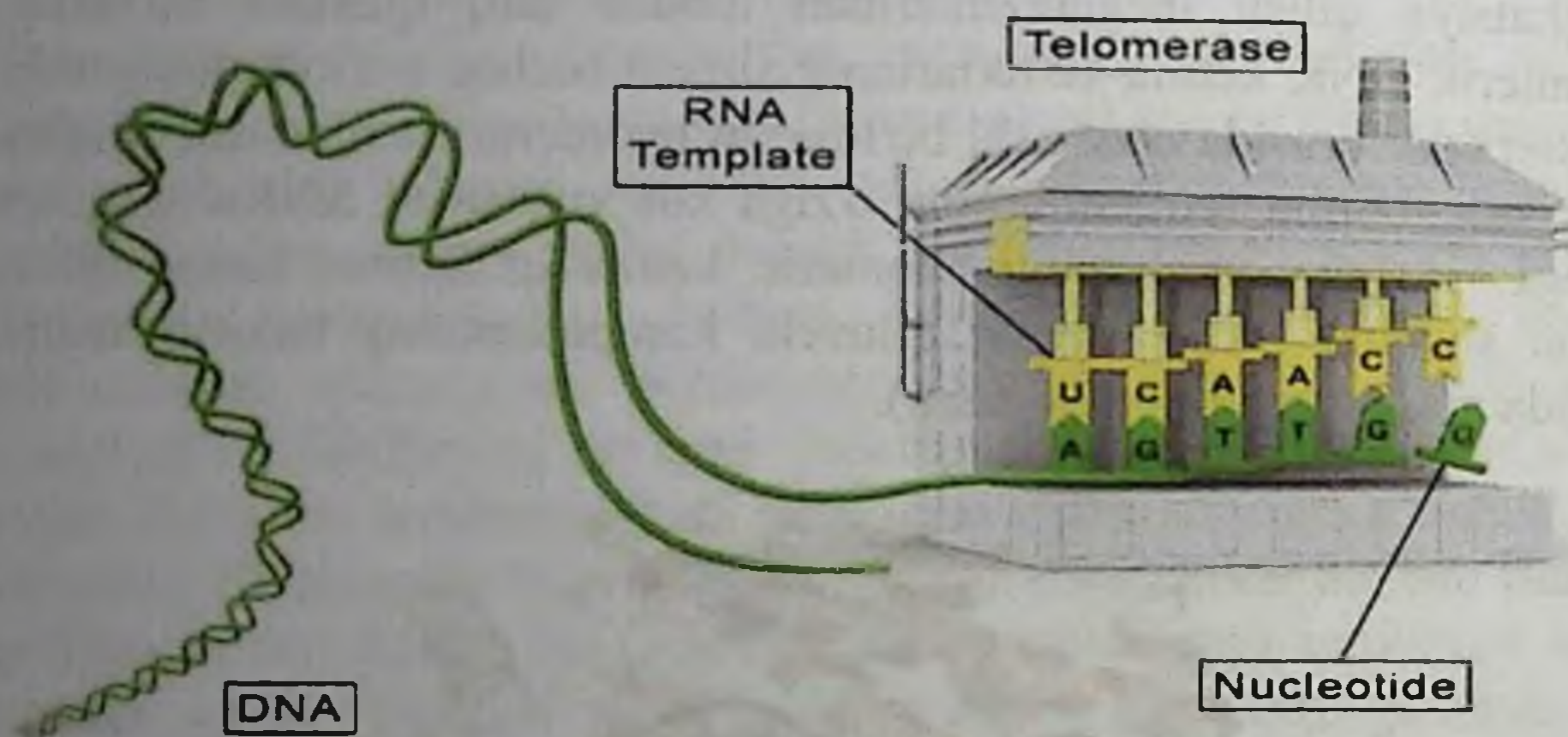
Eukaryotik xromosomalarning telomerik hududlarini replikatsiya qilish mexanizmlarini o'rganish ular DNKning markaziy hududlarini replikatsiya qilish mexanizmlaridan tubdan farq qilishini ko'rsatdi. Telomerik DNK ketma-ketliklarining sintezi boshqa ma'lum nukleotidil transferazlar orasida o'xshashi bo'lmagan telomeraza tomonidan amalga oshiriladi. Ushbu fermentlarning o'ziga xos xususiyati RNKning qisqa bo'lagi - xromosomalarning telomerik ketma-ketliklarini sintez qilish uchun shablon bo'lib xizmat qiluvchi komponentning tarkibiy qismi sifatida mavjudligidir (4.24-rasm).



4.24-rasm - Telomerik DNK ketma-ketliklarining sintezi.

Telomerazaning ichki matritsasi RNK molekulasining xromosomaning telomerik mintaqasi DNKsi bilan to'ldiruvchi o'zaro ta'siri tasvirlangan. Ichki telomeraza RNKning xromosomaning 3'-terminal osilgan bir zanjirli DNK segmenti bilan komplementar o'zaro ta'siri telomerik ketma-ketliklarning sintezini boshlaydi. Bunda DNK ning 3'-terminal fragmenti ushbu DNKning RNK shablonida kengayishi uchun primer bo'lib xizmat qiladi (4.24-rasm).

Osilgan DNK zanjiri shablonning oxirigacha cho'zilganidan so'ng, ferment shablona nisbatan bir telomerik takromni oldinga siljitadi va shablon nukleotidlar ketma-ketligini chiqaradi, shundan so'ng u yangi qo'shilgan 3' cho'zilishining keyingi tsikliga kirishga tayyor bo'ladi. - xromosomaning terminal ketma-ketligi (4.25-rasm). Bir ipli 3'-terminal telomerik ketma-ketlikning uzaytirilishi tugallangandan so'ng, ikkinchi DNK zanjiri odatdagi tarzda tugallanadi.



4.25-rasm - Telomeraza ishlash mexanizmi

Telomeraza faollashuvi va DNK replikatsiyasi o'rtasidagi bog'liqlik

Telomeraza faollashuvi va DNK replikatsiyasi o'rtasidagi bog'liqlik xamirturushda eksperimental ravishda ko'rsatildi. Taxmin qilish mumkinki, telomer uzunligining qisqarishi T-loopning shakllanishini murakkablashtiradi. Bu chiziqli shaklning mavjudligi ehtimolini oshiradi va shunga mos ravishda telomeraza telomer hajmini faolroq oshira boshlaydi. Bu TRF1 ning ortiqcha ishlab chiqarilishi (Gen: [08q13/TERF1] telomerik takroriy bog'lanish omili 1; [TRF1]) telomerning qisqarishiga olib kelishi ma'lum bo'lgan haqiqatga mos keladi].

Bu holda telomerning qisqarishini TRF1 ning ortiqcha miqdori bilan osongina hosil bo'ladigan T-loopi natijasida xromosoma uchining telomerazaga etib bo'lmasligi natijasi sifatida talqin qilish mumkin. Sutmizuvchilar telomeraza faolligini nazorat qilishda hali noma'lum

boshqa ko'plab oqsillar ishtirok etadi. Shunday qilib, tankeraza oqsili telomerlarda joylashganligi va TRF1 oqsilini ADPribosilatlashi mumkinligi ko'rsatildi. Shuni qiziqki, ADPribosilatlash DNKda ikki zanjirli uzilishni tiklash mexanizmlarini induksiyalash uchun zarur.

Shunday qilib, tankeraza oqsili va xamirturush oqsili komplekslari (Mrell/Rad50/Xrs2 kompleksi, Ku-heterodimer) o'rtasida aloqa mavjud bo'lib, ular ham telomer uzunligini barqarorlashtirishda, ham DNKni tiklash tizimida ishtirok etadilar.

Telomerlar: uzunligi saqlanishi ularning rap-1 oqsili bilan kompleksi bilan ta'minlanadi

Telomerni saqlashning hayratlanarli jihati - bu cho'zilgan yoki qisqartirilgan holatdan normal uzunlikni tezda tiklash qobiliyati. Hujayralar telomer uzunligining doimiyligini qat'iy chegaralarda saqlaydigan telomer uzunligi gomeostaz tizimiga ega. Shunday qilib, telomer uzunligi me'yordan pastga tushganda va rekombinatsiya mexanizmlarini faollashtirishni talab qiladigan vaziyat juda kam uchraydi. Telomer gomeostazi nafaqat xromosomalarning uchlarida telomerlarning mavjudligini ta'minlaydigan telomeraza, balki telomer uzunligini tekshirish mexanizmlariga ham asoslangan. Telomer uzunligini tartibga solish kamida ikki darajada sodir bo'ladi. Achitqilar va inson hujayralarida telomer uzunligini salbiy nazorat qilishning aksariyati telomerik takroriy duplekslarga maxsus bog'langan Rap1 oqsili ishtirokida sodir bo'ladi

Uning sutemizuvchilar hujayralaridagi funktsional gomologi TRF1 deb ataladi [Van Berilgan telomeradagi Rap1 oqsil molekulalarining soni telomer uzunligini tartibga solish apparati uchun signallardan biridi.

Biroq, o'zaro ta'sirning yana bir jihati tufayli telomer uzunligini tartibga solishga ko'proq hissa qo'shiladi: Rap1 oqsili telomeraning eng oxirida haddan tashqari takrorlanishni o'zaro ta'sir qilish uchun imkonsiz qiladi. Telomer uzunligining gomeostatik saqlanishining ushbu muhim komponenti *K. lactis* ustida olib borilgan tadqiqotlarda aniqlangan, unda telomerik DNK ketma-ketligi va Rap1 oqsili o'zgartirilgan Telomerik takrorlanishlar ketma-ketligini o'zgartirish ularning uzunligini tartibga solishga ta'sir qiladi. Telomerlarning Rap1 oqsili bilan bog'lanishi zaiflashgandan so'ng, tartibga solish buziladi, hatto telomerlarning ichki hududlari to'liq uzunlikdagi oddiy yovvoyi tipdagi traktlar bo'lsa ham, mutatsiyaga uchragan takrorlanishlar distaldan qo'shiladi.

K. lactis hujayralariga Rap1 oqsili bilan bog'lanmaydigan takrorlanuvchi ketma-ketliklarni sintez qiluvchi mutant telomeraza RNK

geni kiritildi. Boshqa tajribalarda, bunday o'zgartirilgan telomeraza RNK geni (uning nazorati ostida mutant telomerik takrorlarning sintezi davridan keyin) yovvoyi turdagi telomeraza RNK geni bilan almashtirildi. Telomerik uzunlik nazoratini yo'qotish kinetikasining eksperimental kuzatishlaridan ma'lum bo'ladiki, faqat bir yoki bir nechta distal takrorlashlar uzunlikni nazorat qilish uchun juda muhimdir. Shu sababli, distal telomerik takrorlanishlar ketma-ketligining o'zgarishi Rap1 oqsilining bu telomerik takrorlanishlarda in vivo jonli o'rni egallashiga imkon bermaydi va shuning uchun telomeraza ularni uzaytira oladi, deb taxmin qilingan. Oddiy sterik to'siq modelida Rap1 oqsili telomerik terminal takrorlash(lar)i bilan bog'lanadi va telomeraning telomer uchiga kirishini cheklaydi. Boshqa mumkin bo'lgan modellar Rap1 oqsilining telomeraza bilan to'g'ridan-to'g'ri o'zaro ta'sirini va telomeraza funktsiyasini salbiy tartibga solishni o'z ichiga oladi. Masalan, telomerik DNK bilan bog'liq bo'lgan Rap1 oqsili telomerazada konformatsion o'zgarishlarni keltirib chiqarishi va uning polimeraza faolligini keltirib chiqarishi mumkin. Muqobil variant ham mumkin: bunday o'zaro ta'sir telomerazaning parchalanishiga olib keladigan nukleotik faollikni rag'batlantirishi mumkin, bu telomeraza *Tetrahimena* va *S. cerevisiae* uchun ko'rsatilgan. Rap1 uchun qo'sh qismlarda telomer uzunligi regulyatsiyasi nazoratini susaytirish kinetikasi va *K. lactis*dagi telomerik takrorlanishlar Rap1 oqsili bo'lgan telomerik komplekslarning distal uchida metastabil ekanligini va ular uchun ham mavjud, ham mavjud bo'lishi mumkinligini aniq ko'rsatadi. Telomeraza uchun erisha olmaydigan shaklda. Aslida, bu o'rnatish va olib tashlashning ikki bosqichli modeliga o'xshaydi. *S. cerevisiae* ning ichki jim juftlashuvchi tipidagi lokuslarida xromatinning transkripsiyaviy sustlashuvi. *K. lactis*ning qo'sh mutantlari ustida o'tkazilgan tajribalarda bosqichma-bosqich o'tish kuzatiladi telomer populyatsiyalari tartibga solinadigan holatlardan tartibga solinmagan holatlarga. Bu shuni ko'rsatadiki, telomerik uchiga birinchi bir necha mutant telomerik takroriy qo'shilgandan so'ng, telomerik kompleks o'zining telomeraza uchun oldingi mavjud bo'lmaganligini yo'qotishi mumkin. Bir marta mavjud bo'lmagan holatni yo'qotish har qanday telomerada sodir bo'lgan bo'lsa, uni osonlikcha qaytarib bo'lmaydi. Vaqt o'tishi bilan bu telomerlar sonining ko'payishida uzunlik nazoratining yo'qolishiga olib keladi. Shuning uchun biz *K. lactis*da, xuddi *S. cerevisia* kabi, Rap1 telomerik DNK dupleksini bilan bog'lanib, telomerada tuzilgan, yuqori tartibli xromatin hosil bo'lishiga olib keladi deb taxmin

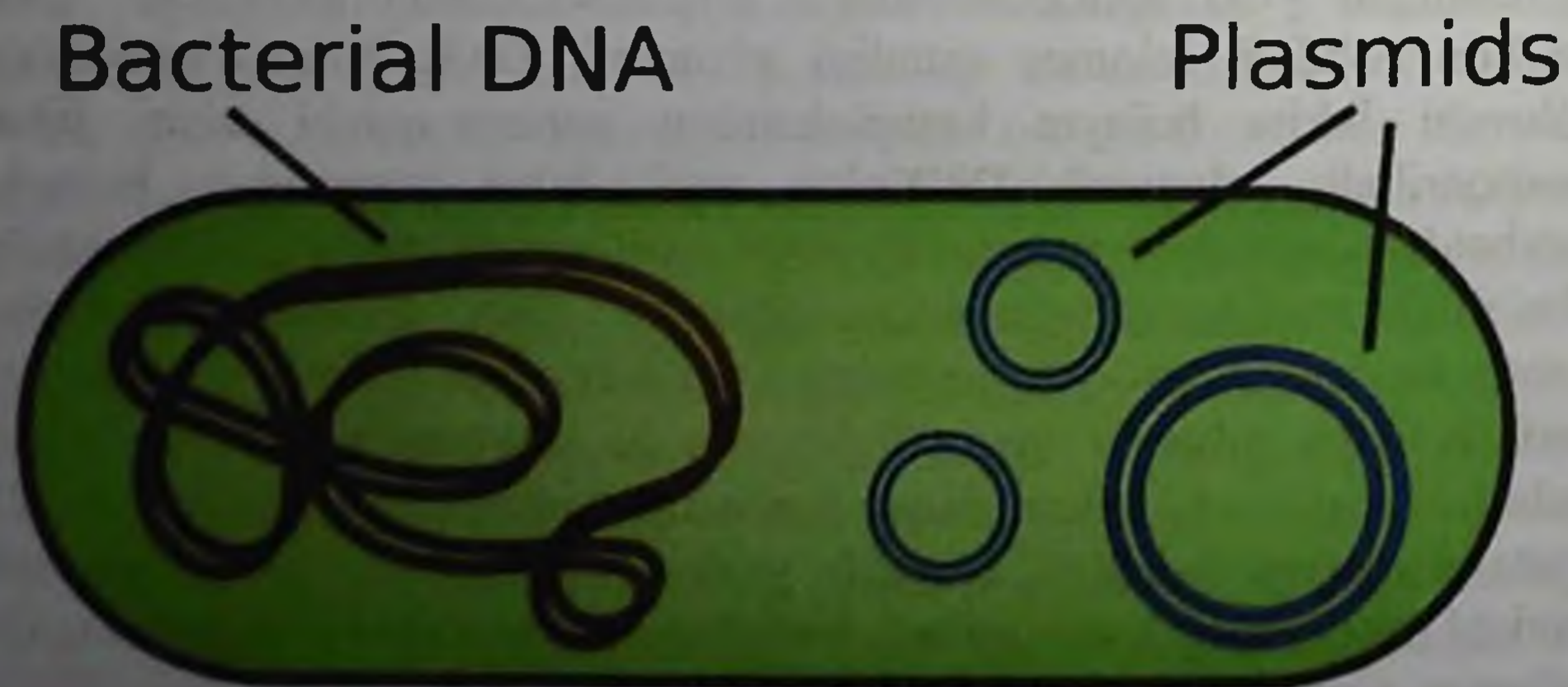
qilamiz. Bundan tashqari, ushbu kompleksning eng muhim biologik funksiyasi xromosoma uchlarini yopish va telomer uzunligini tartibga solishdir. Xulosa qilib aytganda, telomerlar odatda eukaryotik xromosoma DNKsining umumiy uzunligining o'ndan mingdan bir qismidan kamroq qismini tashkil qilishini hisobga olsak, xromosomalarning to'g'ri telomerlar ketma-ketligiga bog'liqligi hayratlanarli. Anafazada xromosomalarni ajratish uchun telomerik DNKning ahamiyati faol bo'linadigan hujayralardagi telomerlarning yana bir hayotiy funksiyasidir. Telomerik takrorlanishlarning faqat kichik bir qismi o'zgargan vaziyatda barcha telomerik funksiyalarni blokirovka qilish bu ketma-ketliklarni yanada muhimroq qiladi. O'zgartirilgan telomerik DNKning ta'siri juda tez namoyon bo'ladi. Ushbu natijalar amaliy ahamiyatga ega, chunki ular o'zgartirilgan telomerik DNKni oddiygina qisqartirish o'rniga, yadro bo'linishi bloklanishiga olib kelishini ko'rsatadi. To'g'ri telomerik ketma-ketlikning sintezi bevosita telomeraza RNK tuzilishiga bog'liq. Shunday qilib, telomeraza RNKdagi o'zgarishlar telomerlarni hujayra uchun zararli bo'lishiga olib keladigan vaziyatni tasavvur qilish mumkin, bu saraton yoki boshqa patogen ko'payish hujayralariga qarshi kurashda ishlatilishi mumkin. Telomeraza RNKdagi o'zgarishlar fermentning o'zining qiziqarli xususiyatlarini ham ochib beradi. Tetrahymena telomerazaning faol joyi (va deyarli barcha telomeraza) shundayki, uning cho'zilish vaqtida to'g'ri ishlashi uchun RNK - uning asoslari va tuzilishi - va oqsil o'rtasida juda aniq o'zaro ta'sir talab etiladi. Ushbu kompleksdagi oqsil va nuklein kislota funksiyalari o'rtasidagi o'zaro bog'liqlik qanday rivojlanganligi boshqa RNP zarralarini, masalan, ribosomalar yoki spliceosomalarni o'rganish uchun muhimdir. Endi ma'lum bo'ldiki, telomer uzunligi telomerik DNK bilan o'zaro ta'sir qiluvchi ikkita hujayra kompleksining qarama-qarshi ta'siri bilan boshqariladi: telomerik DNKning oqsil bilan kompleksi, birinchi navbatda, strukturaviy bog'lovchi Rapl oqsili va telomerning fermentativ cho'zilish mashinasi telomeraza. Shunday qilib, telomeraza ta'sirini asosiy boshqaruvchi - telomeraning o'zi boshqaradi. Telomeraza faolligi proliferatsiya qiluvchi inson hujayralarida telomerlarni ushlab turish uchun zarur va telomeraza kontsentratsiyasining oshishi xavfli transformatsiya holatiga erishish yoki uni saqlab qolishga yordam berishi mumkinligi taklif etiladi. Ehtimol, sutemizuvchilar hujayralarida telomer uzunligi Raplga o'xshash telomerni bog'lovchi omil TRF1 tomonidan salbiy tartibga solinadi. Shunday qilib, telomerazadan

tashqari, inson hujayralarida telomera uzunligining doimiyligini ta'minlashda boshqa omillarni ham hisobga olish kerak.

4.10 Halqa DNK replikatsiyasi va RNK viruslarining replikatsiyasi

Shuni ta'kidlash kerakki, bir qator ob'ektlar mavjud bo'lib, ularning takrorlanishi yuqorida tavsiflanganidan biroz boshqacha mexanizm bo'yicha amalga oshiriladi. Masalan, mitoxondriya va xloroplastlarning yumaloq DNKsi D-ilmoqlarning hosil bo'lishi bilan replikatsiyalanadi (birinchidan, bitta zanjir ko'paya boshlaydi, natijada D shaklidagi struktura hosil bo'ladi va birinchi zanjirning yarmidan ko'pi replikatsiya qilingandan so'ng ikkinchisi ko'paya boshlaydi. sintez qilinadi); ba'zi viruslarning bir qator plazmidlari va DNKlari aylana turiga ko'ra ko'payadi va hokazo. Biroq, barcha biologik ob'ektlar uchun asosiy replikatsiya sxemasi bir xil bo'lib qoladi.

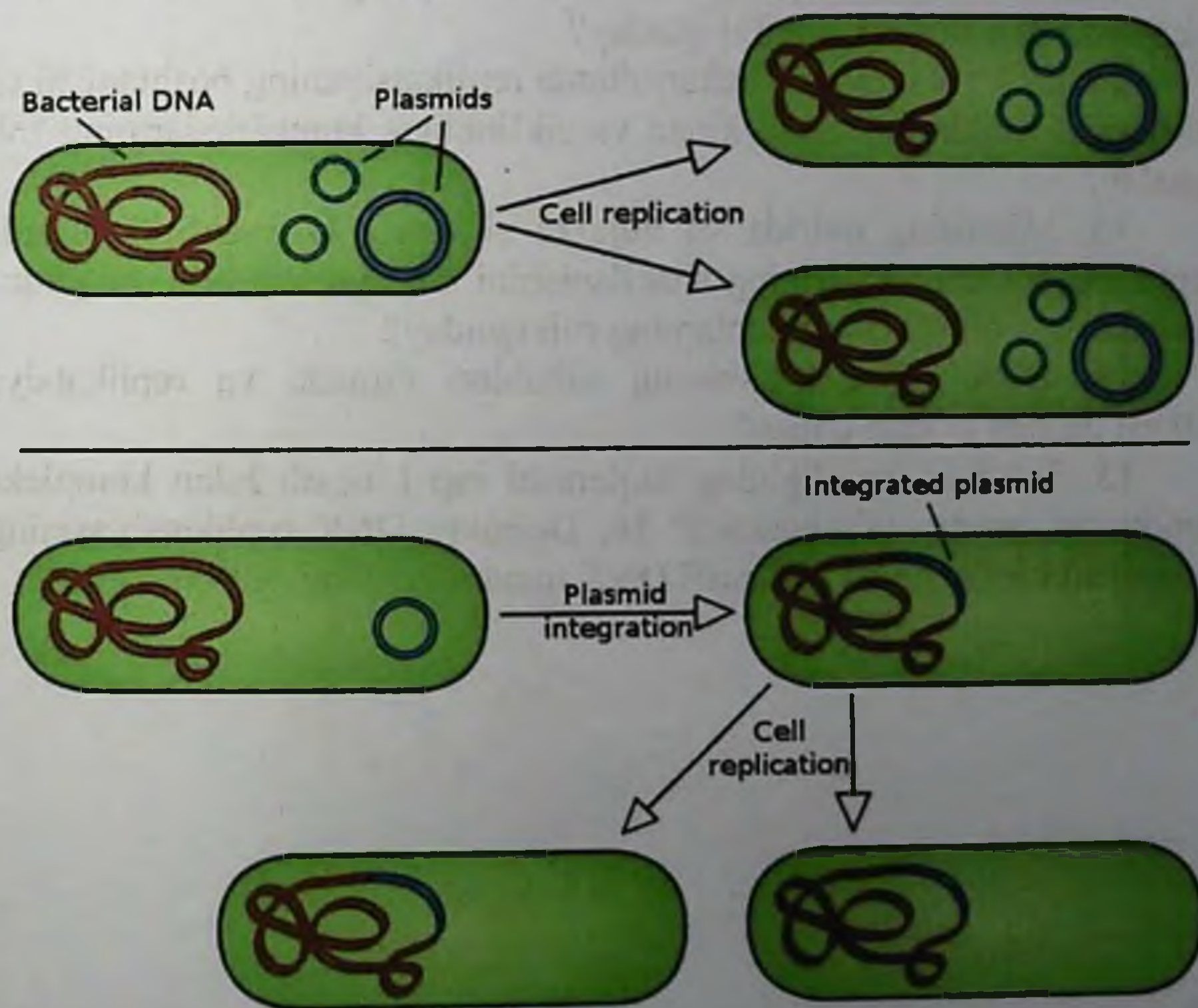
Yumaloq replikon (masalan, plazmid) bo'lsa, tasvirlangan jarayon qu replikatsiya deyiladi. Chunki yumaloq DNK molekulalari o'z-o'zidan o'ralgan (super o'ralgan); replikatsiya paytida qo'sh spiral bo'shatilganda, ular doimiy ravishda o'z o'qi atrofida aylanishi kerak. Bunday holda, kontaktlarning zanglashiga olib keladigan burilish kuchlanishi paydo bo'ladi, bu esa kontaktlarning zanglashiga olib keladi. Keyin ikkala uchi darhol bir-biriga ulanadi. Bu vazifani DNK topoizomeraz fermenti bajaradi. Bu holatda replikatsiya odatda ikki yo'nalishda sodir bo'ladi, ya'ni ikki replikatsiya vilkalari mavjud (4.26-rasm). Replikatsiya tugallangandan so'ng, dastlab bir zanjirning bo'g'inlari sifatida bir-biriga bog'langan ikkita qo'sh zanjirli molekulalar paydo bo'ladi. Ular ajratilganda, ikkita halqadan biri vaqtincha buziladi.



4.26-rasm - Plazmid replikatsiyasining mexanizmlaridan biri.

Yumaloq replikon replikatsiyasining muqobil versiyasi ikki zanjirli DNK molekulasining iplaridan birining uzilishini o'z ichiga oladi. Olingan bo'sh 3'-uchi kovalent tarzda cho'ziladi, matritsa bilan bog'lanib qoladi (ikkinchi, uzilmagan zanjir) va 5'-uchi asta-sekin yangi polinukleotid zanjiri bilan almashtiriladi (4.27-rasm). Shu tarzda, bir ip ochiladi va doimiy ravishda cho'ziladi va replikatsiya vilkalari aylana shablon ipi ("aylanma halqa" mexanizmi) atrofida siljiydi. Yangi ip o'sishi bilan, bo'shatilgan 5' uchi bilan siljigan ip yangi to'ldiruvchi ipni sintez qilish uchun chiziqli shablona aylanadi. Chiziqli shablondagi bu sintez qiz zanjir hosil bo'lguncha davom etadi

Yumaloq matritsaning bir burilishini, ya'ni butun replikonni to'ldiruvchi DNK shu tarzda, ko'p sonli qo'shimcha nusxalar halqa matritsasini tark etishi mumkin. Bu mexanizmba'zi viruslarda, shuningdek, bir qator eukaryotik hujayralarda mavjud.



4.27-rasm – aylanma halqa mexanizmi bo'yicha replikatsiya sxemasi (yangi DNK molekulasi nuqta chiziq bilan ko'rsatilgan)

Prokariotlarda faqat bitta RNK polimeraza mavjud bo'lib, u RNKning barcha turlarini: mRNK, tRNK va rRNKni sintez qilishda ishtirok etadi. Bakterial hujayralardagi RNK polimeraza miqdori har bir hujayrada 500 dan 7000 gacha o'zgarib turadi.

RNK polimerazalarning tuzilishi va vazifalari

Eng ko'p o'rganilgan ferment - bu Escherichia colidan ajratilgan RNK polimeraza. Bu umumiy molekulyar og'irligi 480 000 ga yaqin bo'lgan murakkab protein kompleksi bo'lib, beshta oqsil subbirligidan iborat: ikkita α , β , β' , ω , σ omillar.

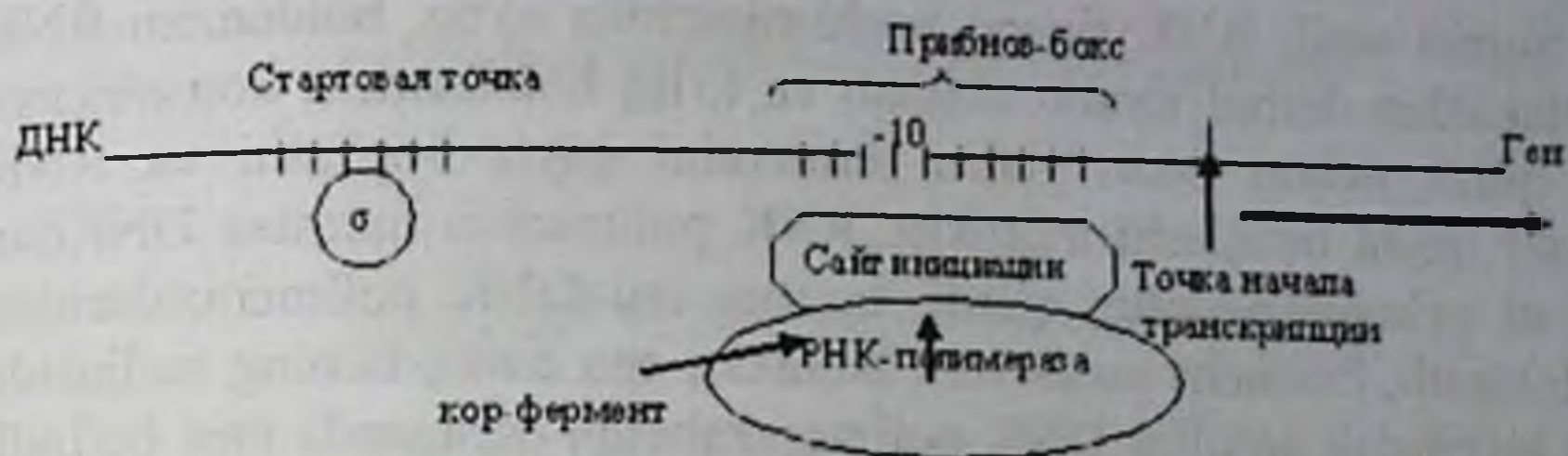


5.2-rasm. RNK polimerazasining fazoviy tashkil etilishi.

Sigma subbirligi ma'lum bir saytning RNK polimeraza tomonidan tan olinishi uchun zarur - DNKdagi promotor, undan transkripsiya boshlanadi.



5.4-rasm. RNK polimerazaning sigma omilini bog'lash joyidagi promotor ketma-ketligi.



5.5-рasm. RNK polimeraza fermentining boshlang'ich joyi va bog'lanish joyi.

Yadro fermenti yoki minimal enzym deb ataladigan α_2 , β , β' , ω subbirlklari majmuasi elongatsiya jarayoni uchun mo'ljallangan. Yadro fermentining subbirlik bilan o'zaro ta'siri . holoenzim RNK polimerazani hosil bolishiga olib keladi.

5.1-jadval. E. coli RNK polimerazasining turli subbirlklarining (polipeptidlarning) ba'zi asosiy xarakteristikalari.

| | Subbirlik | gen | molekulyar og'irligi (dalton) | Lokalizatsiya | funktsiyasi |
|----|------------|-------|-------------------------------|---------------|------------------------------|
| 1. | α_2 | rpo A | 41 000 каждая | Korferment | Bilan aloqa targ'ibotchi |
| 2. | β | rpo B | 150000 | Korferment | Nukleotidlarning qo'shilishi |
| 3. | β' | rpo C | 165000 | Korferment | DNK shabloniga biriktirma |
| 4. | ω | - | 12000 | Korferment | - |
| 5. | σ | rpo D | 95000 | Sigmafaktor | mRNK sintezining boshlanishi |

Sigma omil, RNK sintezi boshlanganidan so'ng, holoenzim-RNK kompleksidan darhol ajralib chiqadi va to'liq holoferment kompleksini hosil qilish uchun erkin yadro fermentini qayta bog'lashi va RNK sintezini qayta boshlashi mumkin. RNK polimeraza matritsa DNKdan RNK ni primersiz sintez qiladi, bu esa uni DNK polimerazalaridan ajratib turadi. Ferment tuzatuvchi faollikka ega emas, buning natijasida nusxa ko'chirish aniqligi DNK polimerazalariga qaraganda past bo'ladi, lekin sodir bo'lgan xatolar avlodga o'tmaydi, chunki hujayra RNK o'z-o'zidan replikatsiyalanmaydi. Bundan tashqari, transkripsiya jarayoni 13 dan ortiq polipeptidlar tomonidan boshqariladi.

Eukaryotik hujayralarda uch xil RNK polimeraza (I, II, III) ishlaydi, ularning har biri mustaqil polipeptidlar bilan ifodalanadi. Eukaryotik RNK polimerazalari ancha murakkab tuzilishga ega, ulardagi subbirliklar soni 10-15 ga yetishi mumkin.

Eukariotlardagi RNK polimerazalari:

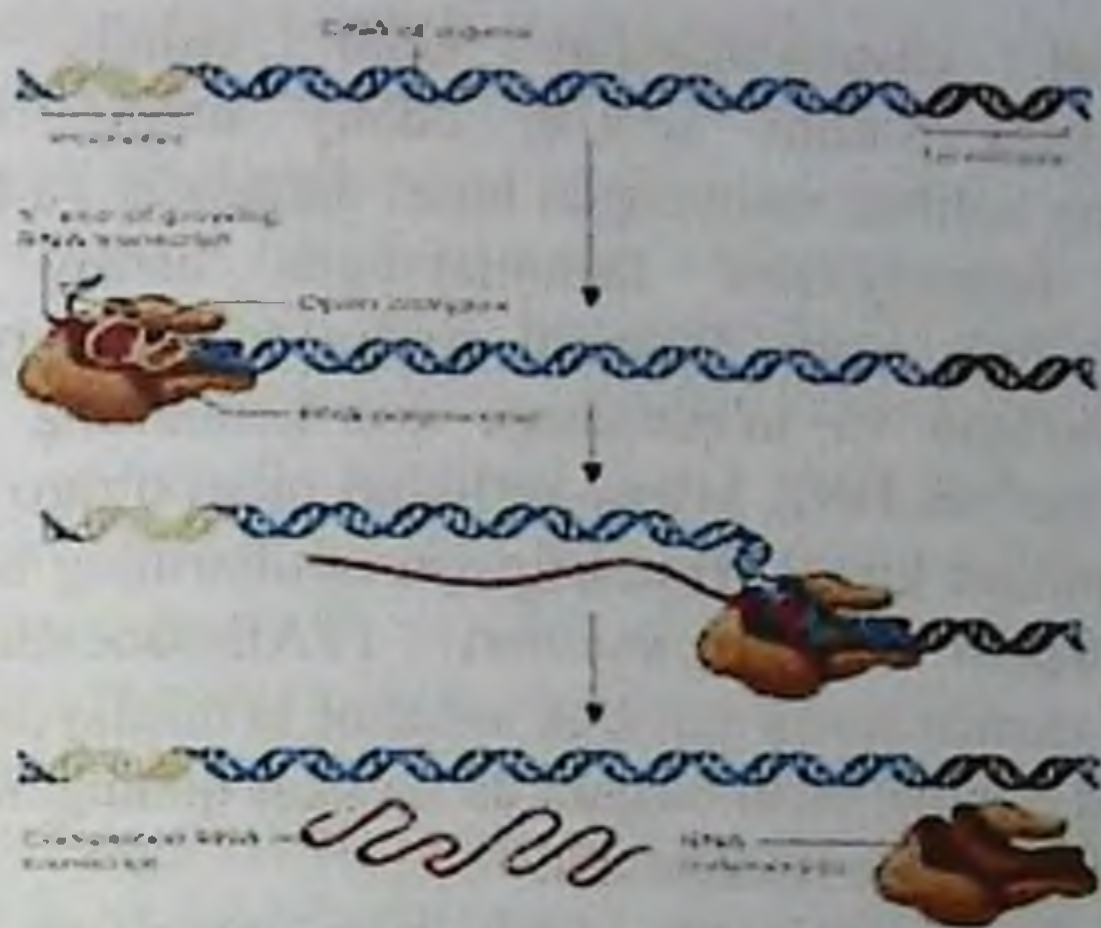
RNK polimeraza I asosan yadroda to'plangan va oldingi pRNK genlarini 18 S, 28 S, 5,8 S RNK.transkripsiya qiladi va ribosomalarning tarkibiy qismlari hisoblanadi

RNK polimeraza II nukleoplazmada joylashib, yetilmagan informasion yoki matrisa RNK (pre-mRNK) va ayrim kichik yadro RNK ni sintez qiladi.

RNK polimeraza III nukleoplazmada bo'lib, asosan tRNKdan oldingi genlarni transkripsiya qiladi, ya'ni. etilgandan so'ng aminokislotalarni ribosomalardagi oqsil sintezlash apparatiga, shuningdek, 5S rRNK genlari va boshqa RNKlarga transport qiladigan etuk bo'lmagan transfer RNKlaridir.

Transkripsiya inisiasiya, elongatsiya va terminatsiya bosqichlaridan iborat. Transkripsiya birligi transkripton, DNK molekulasiining promotor, transkripsiyalangan qismi va terminatoridan tashkil topgan qismidir.

Har bir transkriptonda ikkita DNK zanjiridan faqat bittasi transkripsiyanadi, u matrisa zanjiri, ikkinchisi, uni to'ldiruvchisi kodlash zanjiri deb ataladi. (5.6-rasm). Transkripsiya transkripsiya birligining boshidan oxirigacha sodir bo'ladi.



5.6-rasm - Prokaryotlarda transkripsiya birligi, promotor, transkripsiya qilingan hudud va tugatish signallari .

Transkripsiya RNK polimeraza fermentlari tomonidan amalga oshiriladi, ular RNK matritsasida ribonukleozid trifosfatlardan DNK matritsasida ko'plab transkripsiya omillari - tartibga soluvchi oqsillarni tashuvchisi ishtirokida sintezlanadi. Transkripsiya omillari - bu RNK hosil bo'lishining katalitik aktida bevosita ishtirok etmaydigan, lekin transkripsiyaning asosiy bosqichlarini o'tish va uni tartibga solish uchun zarur bo'lgan oqsillar yoki oqsil komplekslaridir. Transkripsiya oqsil-oqsil o'zaro ta'siri va oqsillarning o'ziga xos DNK ketma-ketligi bilan o'zaro ta'siri nuqtai nazaridan ko'rib chiqilsa, ikkita jarayon ajralib turadi:

1. minimal tartibga solinmagan transkripsiya jarayoni
2. tartibga solinadigan transkripsiya, modulyatsiya qiluvchi - transkripsiyaning minimal jarayonini kuchaytiradi yoki aksincha, bostiradi.

Regulyatsiya qiluvchi molekulalarning mavjudligiga bog'liq bo'lmagan RNK sintezi bazal transkripsiya deb ataladi. Bazal transkripsiya faqat in vitro, hujayrasiz RNK sintezi tizimlarida sodir bo'lishi mumkin.

Aktivator yoki repressor oqsillari ishtirokidagi transkripsiya induktsiyalangan yoki faollashtirilgan deb ataladi. Aktivator oqsili (to'qimalarga xos transkripsiya omili) DNKni tartibga soluvchi ketma-ketliklar bilan o'zaro ta'sir qiladi va RNK sintezini faollashtiradi.

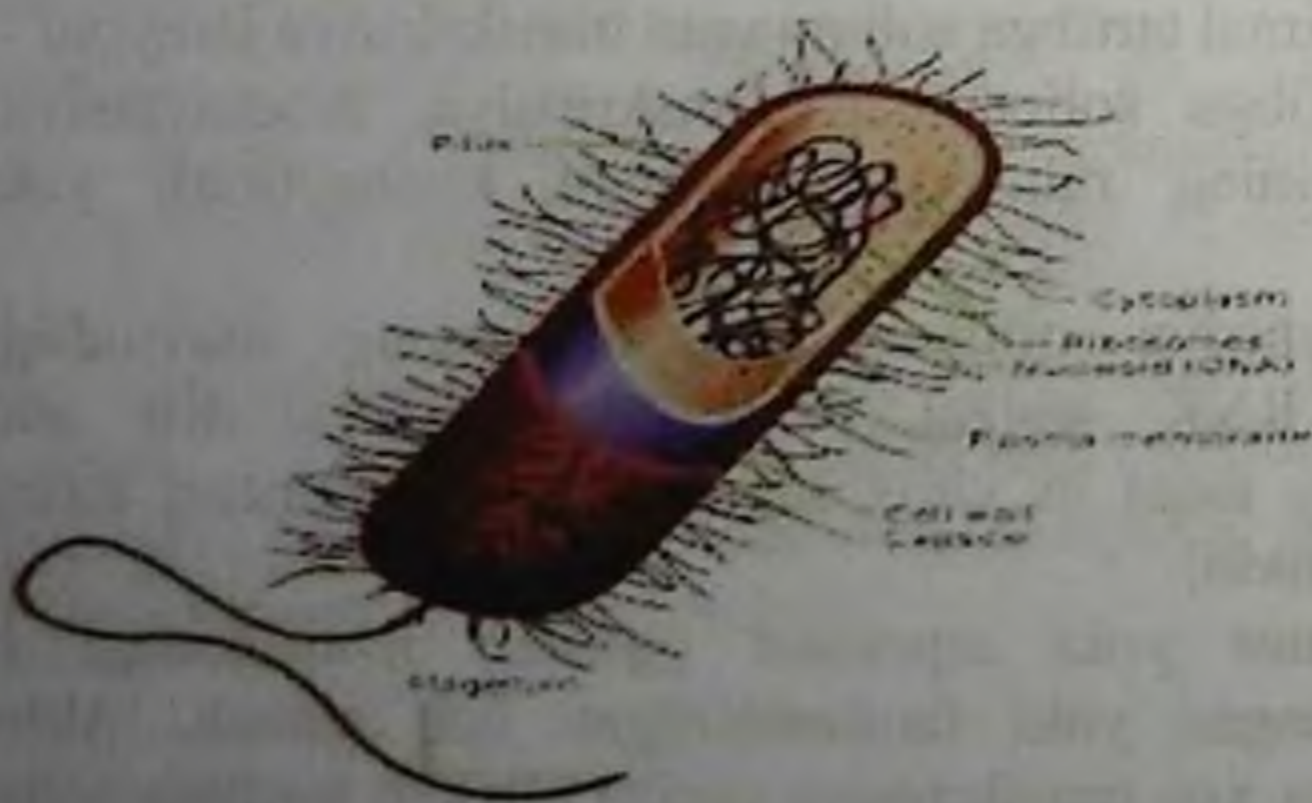
Funksional xususiyatlaridan kelib chiqib, transkripsiya omillarining uchta sinfini ajratish odatiy holdir. Birinchi sinf transkripsiyaning tartibga solinmagan bazal darajasini va barcha turdagi hujayralardagi funktsiyalarni ta'minlaydigan asosiy transkripsiya omillarini o'z ichiga oladi. Ikkinchi sinfga transkripsiyaning asosiy regulyatorlari bo'lgan va to'qimalarga xos genlarning ifodalanishini ta'minlaydigan ma'lum DNK ketma-ketliklari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi transkripsiya omillari kiradi. Transkripsiya omillarining uchinchi klassi (jumladan, ko'plab TAF oqsillari (TAF associated omillar)) transkripsiyani yanada nozik tartibga solishni ta'minlaydigan asosiy va to'qimalarga xos omillar bilan birgalikda harakat qiladigan transkripsiya koaktivator oqsillari bilan ifodalanadi.

Eukariotlarda transkripton odatda bitta genni o'z ichiga oladi, prokaryotlarda esa bir nechta. Har bir transkripton informatsion bo'lmagan zonani o'z ichiga oladi; u tartibga soluvchi transkripsiya omillari o'zaro ta'sir qiladigan maxsus nukleotid ketma-ketligini o'z ichiga oladi.

5.2. Prokariotlarda transkripsiya bosqichlari

Initiatsiya transkripsiyaning birinchi bosqichi bo'lib, prokariotlarda RNK polimeraza DNK zanjiridagi s omil ishtirokida promotorni taniydi va unga qo'shiladi.

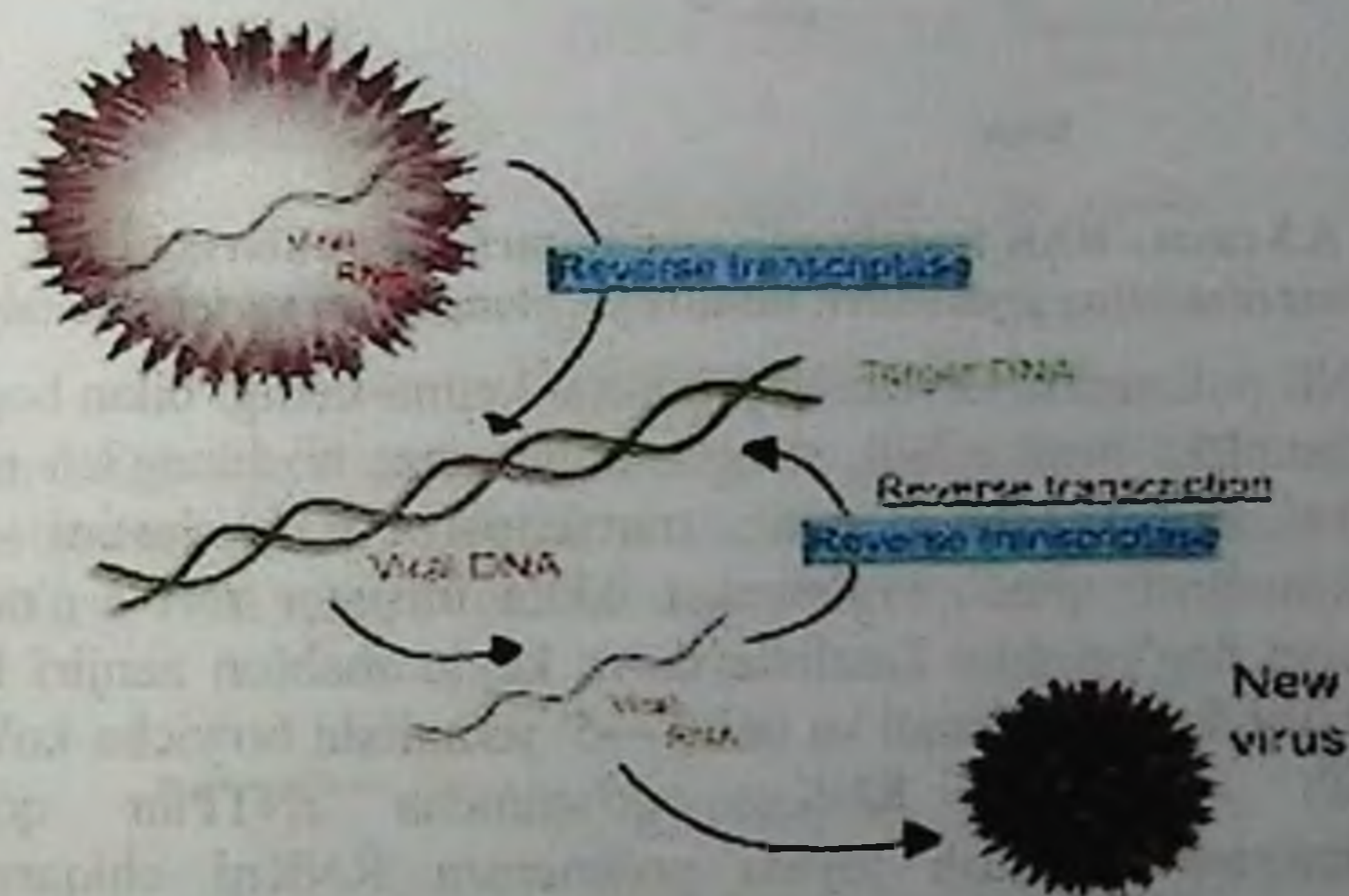
Taxminan 80 ta tayanch juft uzunlikdagi prokariotlardagi promotor RNK polimerazasini bog'lash uchun zarur bo'lgan ikkita xarakterli olti nukleotidli ketma-ketlikni o'z ichiga oladi (5.1-rasm).



5.1-rasm - Prokariotlarning promotori (a). RNK transkripsiya: initsiatsiya va elongatsiya

Purin boshlang'ich nuqtada joylashgandir (promouterlarning 90%). Ko'pincha bu CAT ketma-ketligidagi markaziy nukleotiddir, ammo bu tripletning saqlanish darajasi uni majburiy signal deb hisoblash uchun past bo'ladi. "10" qismi TATAAT ketma-ketligiga ega va "Pribnow boksi yoki domeni" deb ataladi "35" pozitsiyasida TTGACA ketma-ketligi topildi. Ikki DNK zanjiridan birida ushbu ketma-ketliklarning lokalizatsiyasi nusxa ko'chirilishi kerak bo'lgan matritsa zanjirini ko'rsatadi. Promouterlarning 90% da ushbu saqlangan ketma-ketliklarni ajratib turadigan masofa 16 va 18 bp.dir. Bu masofa muhim, chunki u RNK polimeraza molekulasining shakliga mos keladi.

Transkripsiyani boshlash kompleksi s faktorini o'z ichiga oladi va 75-80 bp uzunlikdagi DNK mintaqasi bilan bog'lanadi, "-10" mintaqada esa 10 bp kichik o'lchamdagi ketma-ketlik hosil bo'ladi va transkripsiya pufakchasi deb ataladigan uzilgan DNK zanjirlarining bir qismi hisoblanadi (5.2-rasm).

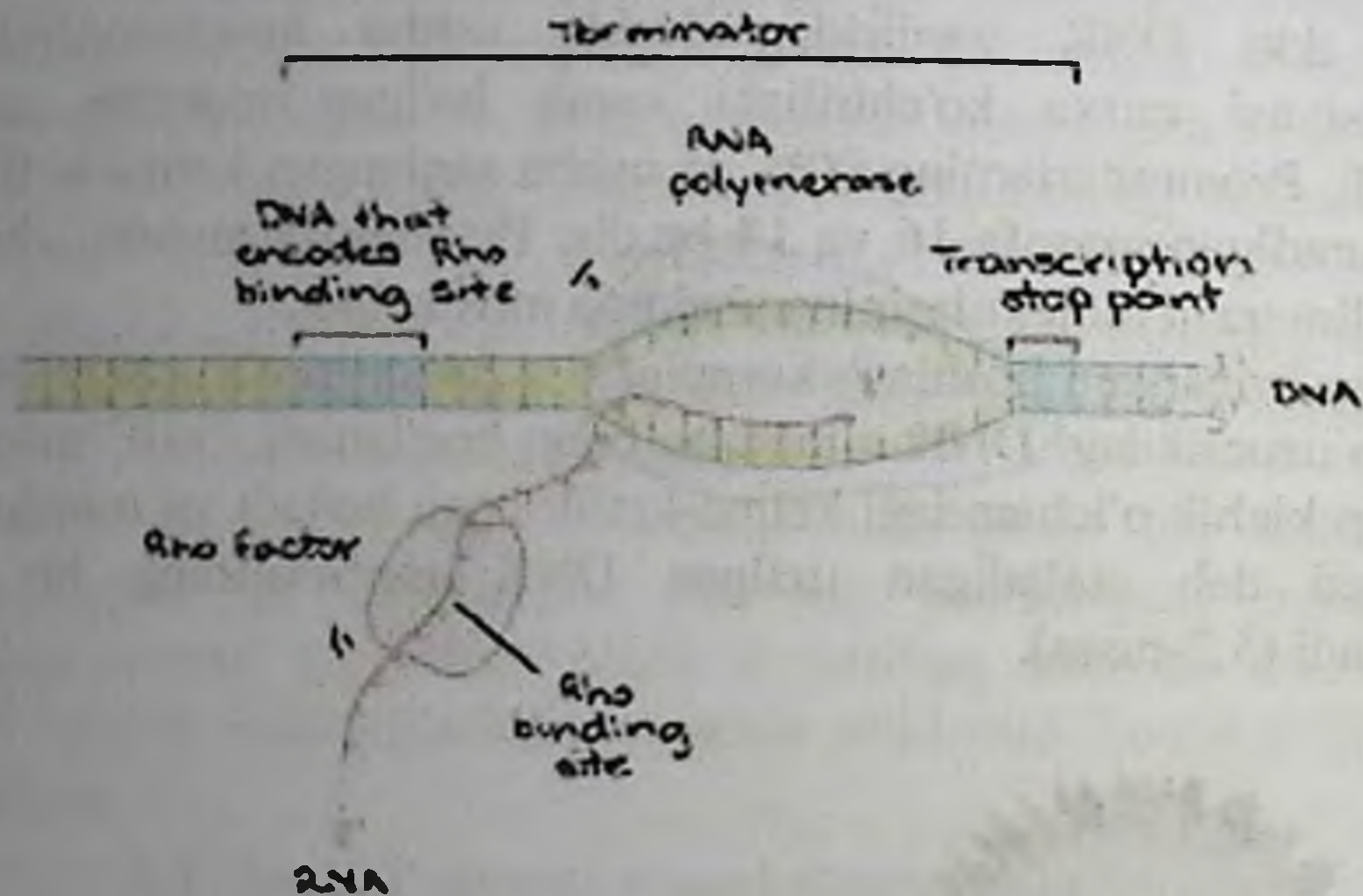


5.2-rasm Prokariotlardagi transkripsiya komplekslari

Purin nukleotidi A yoki G har doim qurilayotgan RNK zanjiriga birinchi bo'lib kiradi, ikkinchi nukleotid bilan birinchi 5',3' fosfodiester bog'lanish hosil bo'ladi, shundan so'ng s omil RNK polimerazadan ajraladi. Boshlanish jarayonida uzunligi taxminan 10 ta asosiy juftlik bo'lgan gibril DNK-RNK oligonukleotid sintezlanadi. Bu transkripsiyaning boshlanishini yakunlaydi. RNK polimerazasining bog'lanish samaradorligi promotordagi nukleotidlar ketma-ketligiga

bog'liq va shuning uchun transkripsiya tezligi gendan genga juda katta farq qiladi.

5.3-rasmda RNK transkripsiyasining bosqichlari (inisiatsiya, elongatsiya va terminatsiya) ko'rsatilgan.



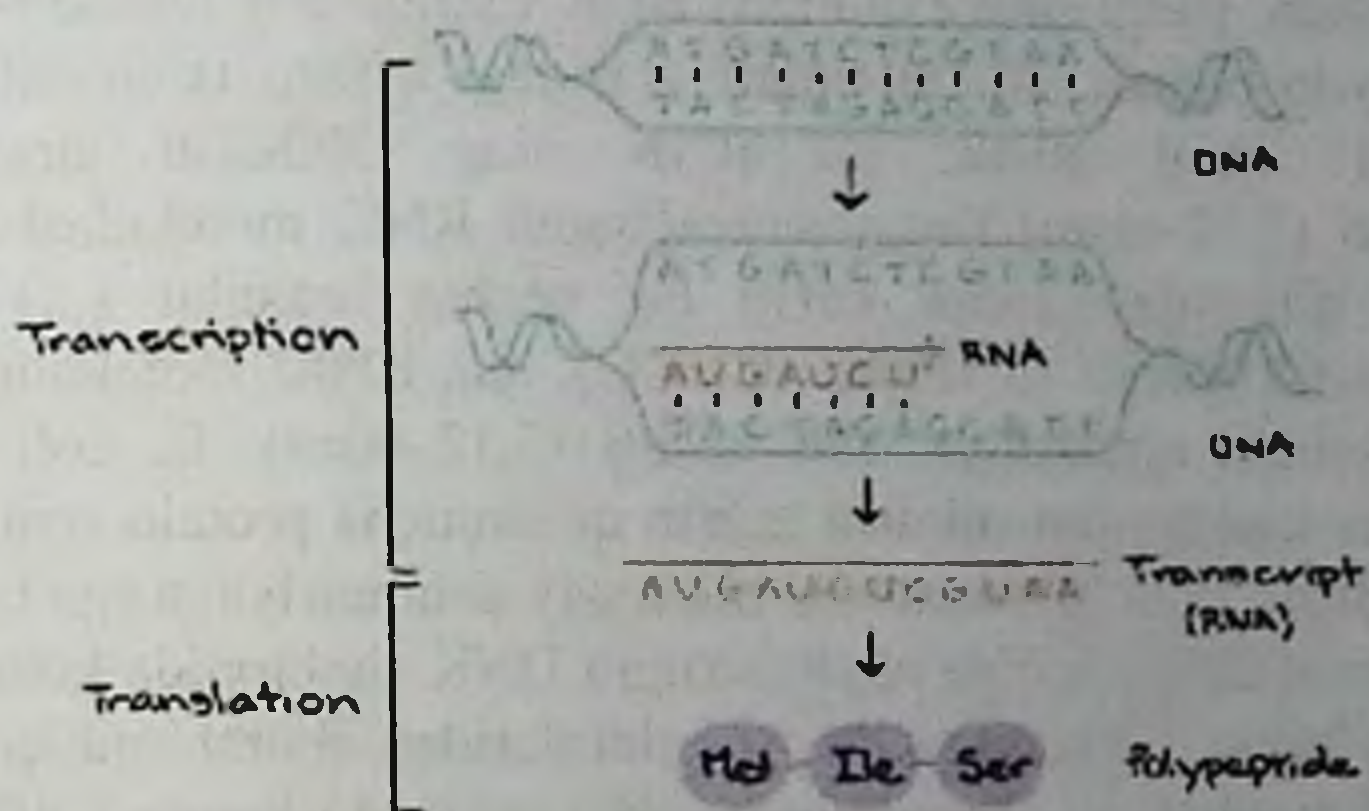
5.3-rasm - RNK transkripsiyasining turli bosqichlarida RNK polimerazasining joylashuvi: inisiatsiya, elongatsiya va terminatsiya.

RNK polimeraza DNKning promotor ketma-ketligi bilan bog'lanib, yopiq kompleks hosil qiladi, so'ngra polimeraza boshlang'ich nuqtaga yaqin ikki zanjirli DNKni eritib, transkripsiya pufakchasini - ochiq kompleksni hosil qiladi. Polimeraza ikkita inisiator rNTP o'rtasidagi fosfodiester bog'lanishini katalizlaydi va keyin shablon zanjiri bo'ylab pastga siljishda davom etadi va uni 3'→5' yo'nalishi bo'yicha ko'chiradi va o'sib borayotgan RNKga qo'shimcha rNTPlar qo'shadi. Transkripsiyani to'xtatish joyida polimeraza RNKni chiqaradi va DNKdan ajralib chiqadi.

Transkripsiya jarayonining tayyorgarlik operatsiyalari (boshlanish bosqichi) amalga oshirilayotganda, polimeraza promotorga biriktirilgan holda qoladi. Polimeraza boshlang'ich joyidan yuqori spiralning nusxasini yaratishni boshlaydi (rasmda nuqta bilan ko'rsatilgan nusxa ko'chirilgan zanjiming boshlanishi). Keyin daqiqada taxminan 1000 ta baza tezlikda (37C haroratda) harakatlanib, DNKning bir qismini to'xtash joyiga (rasmda nuqta bilan ko'rsatilgan nusxa ko'chirilgan zanjiming oxiri) ko'chiradi. Polimeraza o'zining ko'p vaqtini promotor holatida va ko'chirilgan DNKning har bir joyida kamroq vaqt o'tkazadi.

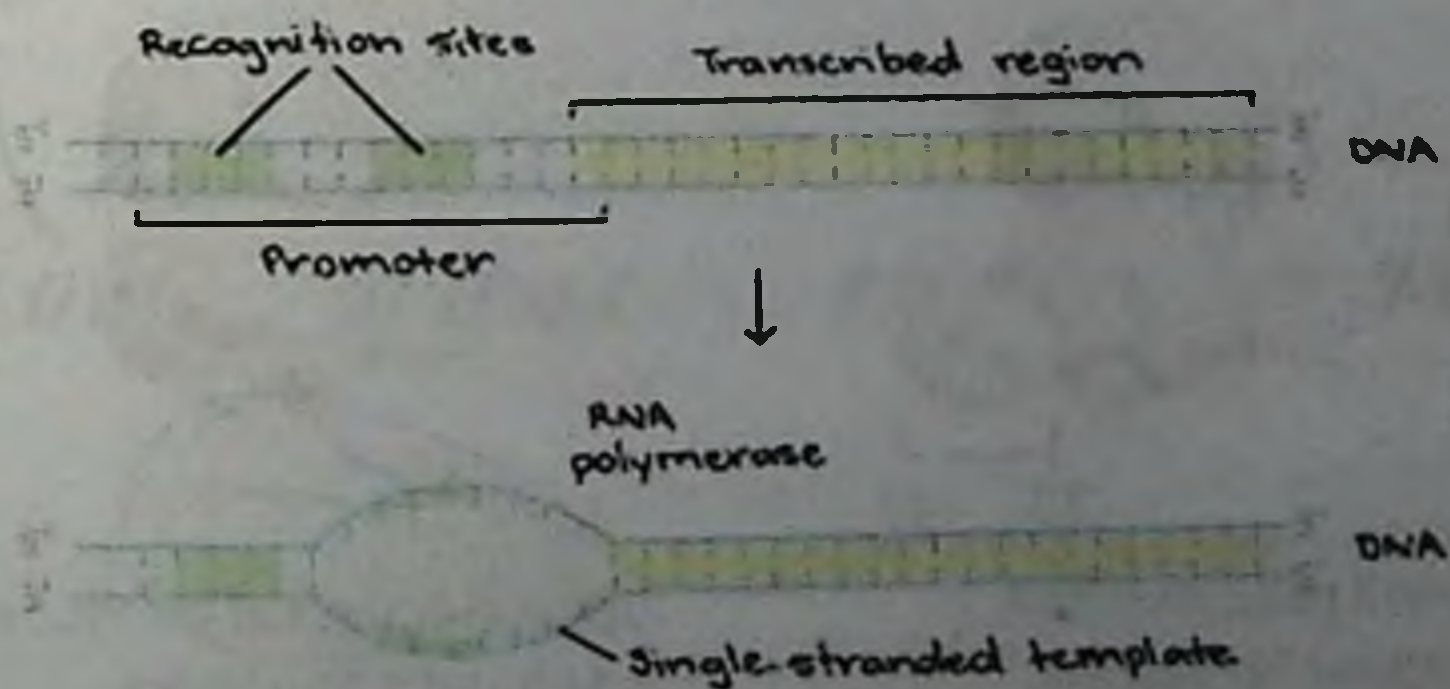
Olimlarni transkripsiyani boshlash uchun zarur shart bo'lgan promoter va boshlang'ich sayt qiziqtiradi. Promouterda nusxalar soni haqidagi ma'lumotlar ham mavjud bo'lib, u ham muhim o'rganish ob'ekti hisoblanadi.

Elongatsiya RNK polimeraza operonning strukturaviy genlari bo'ylab harakatlanadi va "transkripsiya ko'zi" shunga mos ravishda harakat qiladi va matritsali DNK zanjirini to'ldiruvchi RNK molekulasi sintezlanadi (rasm 5.4).



5.4-rasm. Transkripsion "pufakcha"

Transkripsiya kompleksi oldidagi DNK zanjirlari (DNK - RNK polimeraza-RNK) ajralib chiqadi va uning orqasida ular sintezlangan RNKning 5' uchini siqib chiqarib, qayta bog'lanadi (5.11-rasm).



5.5-rasm. DNKni ochish va burish joylari va bo'shatilgan zanjir qismi bilan transkripsiya elongatsiyasi.

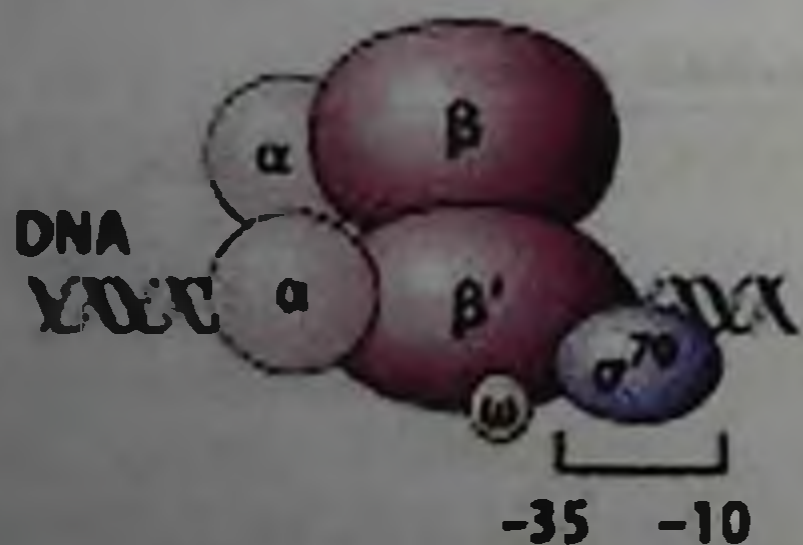
Bakteriya hujayralarida o'rtacha transkripsiya tezligi RNK polimeraza molekulasida sekundiga 30-50 nukleotidni tashkil qiladi.

Terminatsiya transkripsiyaning yakuniy bosqichidir

Tugatish signali genlar oxiridagi maxsus GCga boy hududlar tomonidan ta'minlanadi. GK juftlari o'rtasidagi o'zaro ta'sir kuchi ancha kuchli va DNKdagi bunday hududlarning mahalliy denaturatsiyasi qiyinroq. Bu RNK polimeraza rivojlanishini sekinlashtiradi va transkripsiyani to'xtatish uchun signal bo'lib xizmat qiladi. Jarayon tugashidan oldin, yangi sintez qilingan RNK oxirida boy hudud bo'lgan GK ham paydo bo'ladi. Nukleotidlari orasidagi o'zaro ta'sir tufayli u "soch tolasi" hosil qiladi. Bu RNK ning DNKdan ajralishini osonlashtiradi (5.12-rasm). Yangi sintezlangan RNK molekulasini poyahalqa hosil qilganda, undan keyin bir nechta urasillar (...) hosil bo'lganda transkripsiya to'xtaydi. UUUU), bu RNK molekulasining DNK shablonidan ajralishiga olib keladi (5.12-rasm). E. coli RNK polimeraza tomonidan tan olinishi uchun qo'shimcha protein omillarini talab qilmaydigan tipik terminatorlar markaziy simmetriyaga ega bo'lgan GC ga boy hududni o'z ichiga oladi, so'ngra DNK shablonida ketma-ket joylashgan to'rtta sakkiztagacha A qoldiqlaridan iborat nukleotidlar ketma-ketligi mavjud. ip. Transkripsiya shu oligo(A) ketma-ketlikning oxirida yoki undan keyingi nukleotidda tugaydi (5.12-rasm).

Transcription Initiation in Prokaryotes

(a) RNA polymerase binding to promoter



o subunit positions RNA polymerase for correct initiation.

(b) Initiation

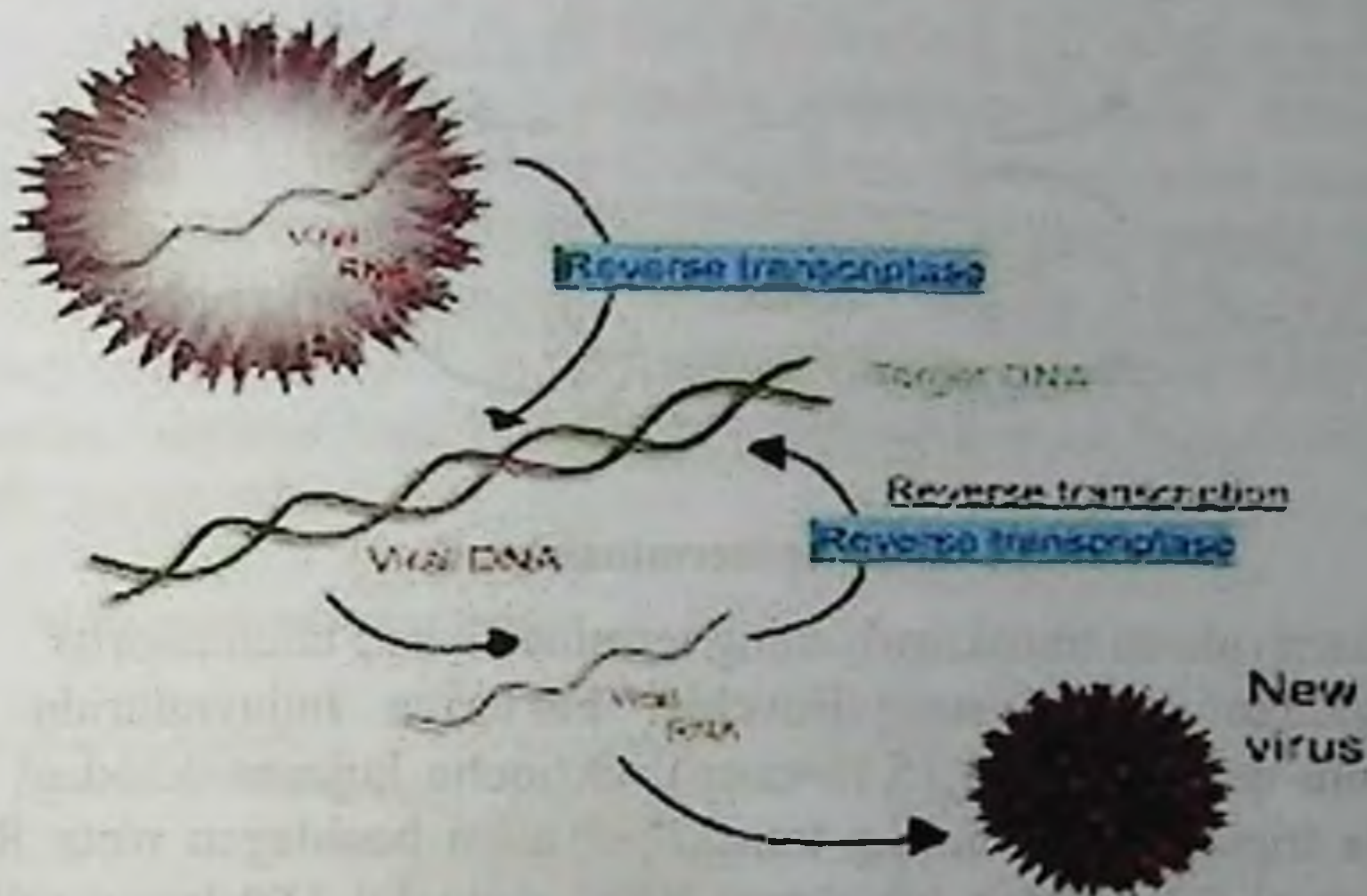


Upon initiation of transcription, o subunit dissociates.

Rasm 5.12 - E. coli RNK polimeraza tomonidan tan olinishi uchun qo'shimcha protein omillarini talab qilmaydigan GCga boy hududga ega tipik terminator.

E. coli bakteriyasida transkripsiyaning tugashi

E. coli da transkripsiya terminatorlari topiladi, ular RNK polimeraza tomonidan faqat ta'sir mexanizmi yaxshi o'rganilgan rho oqsilni tugatish omili ishtirokida tan olinadi (5.13-rasm).

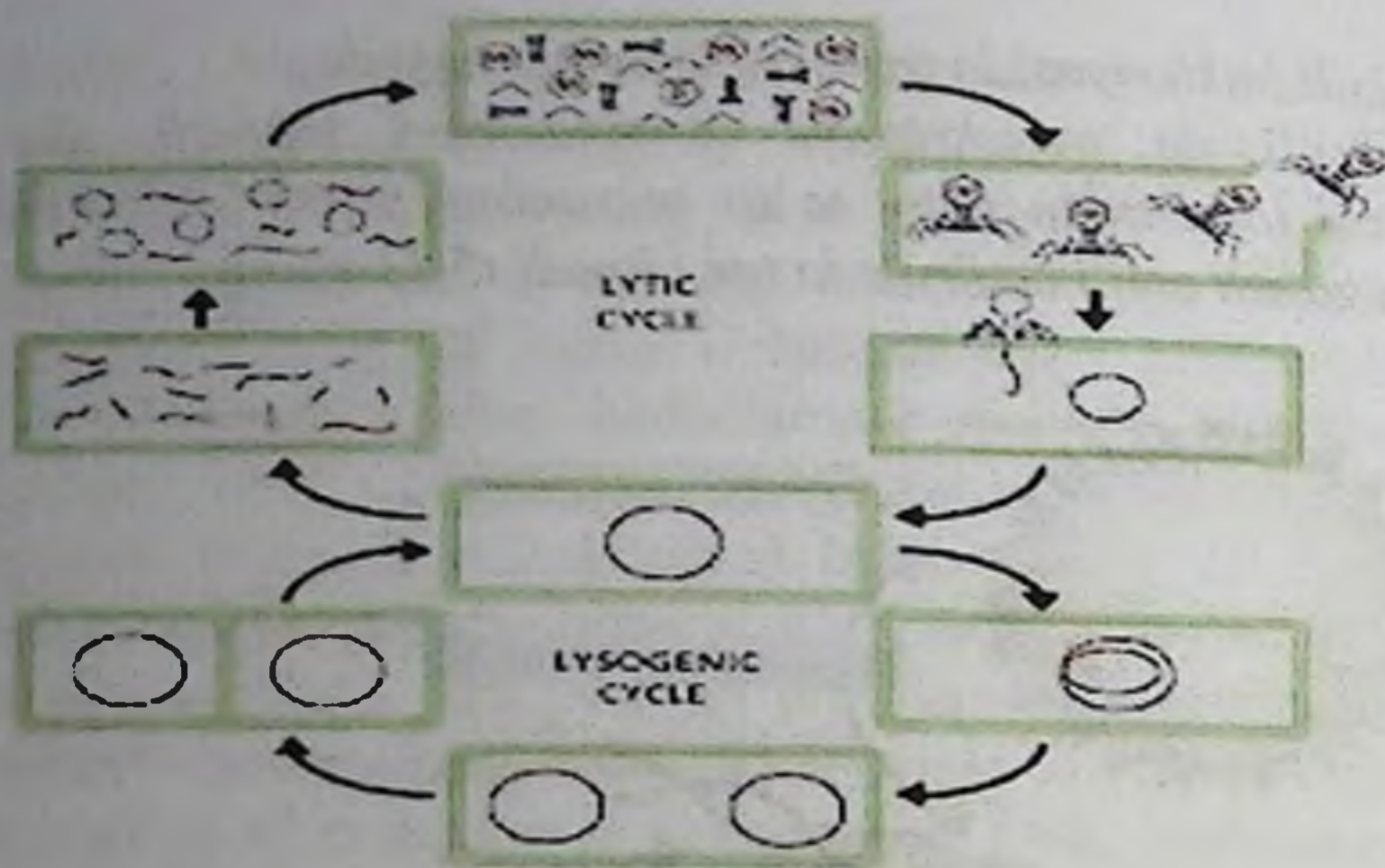


5.13-rasm. rhoga bog'liq transkripsiya terminatsiyasi.

Ushbu 46 kDa oqsil RNKga bog'liq bo'lgan nukleozid trifosfataza faolligiga ega, bu uning tugashi paytida ishlashi uchun zarurdir. Bundan tashqari, u RNK: DNK helikaz faolligi bilan tavsiflanadi. Aniqlanishicha, RNK polimeraza terminatoriga yetib borgunga qadar rho faktor o'sib borayotgan RNK zanjiri bilan rut joylari deb ataladigan maxsus tuzilmagan sohalarda bog'lanadi. Rhoga bog'liq transkripsiya tugash joylarida RNK polimeraza cho'zilishni to'xtatadi. Rho faktorning roli bunday pauzalar vaqtida RNKni transkripsiya kompleksidan siqib chiqarishdan iborat deb hisoblanadi. *E. coli* va boshqa bakteriyalar attenuatorlarda bakteriyalarda boshqa turdagi tartibga solinadigan transkripsiyaning tugatishiga ega.

Antiterminatsiya

Fag I ning Q oqsili yordamida antiterminatsiya mexanizmi turlicha joylashgan. Bu DNKni bog'lovchi oqsil bo'lib, bog'lanish joyi shu oqsil bilan boshqariladigan operon promotorining 5' tomonida joylashgan. Transkripsiya boshlang'ich nuqtasidan darhol quyi oqimda kuchli r-mustaqil terminator mavjud bo'lib, uning faolligi Q oqsili tomonidan bostiriladi (5.14-rasm).



5.14-rasm. Antiterminatsiya Q.

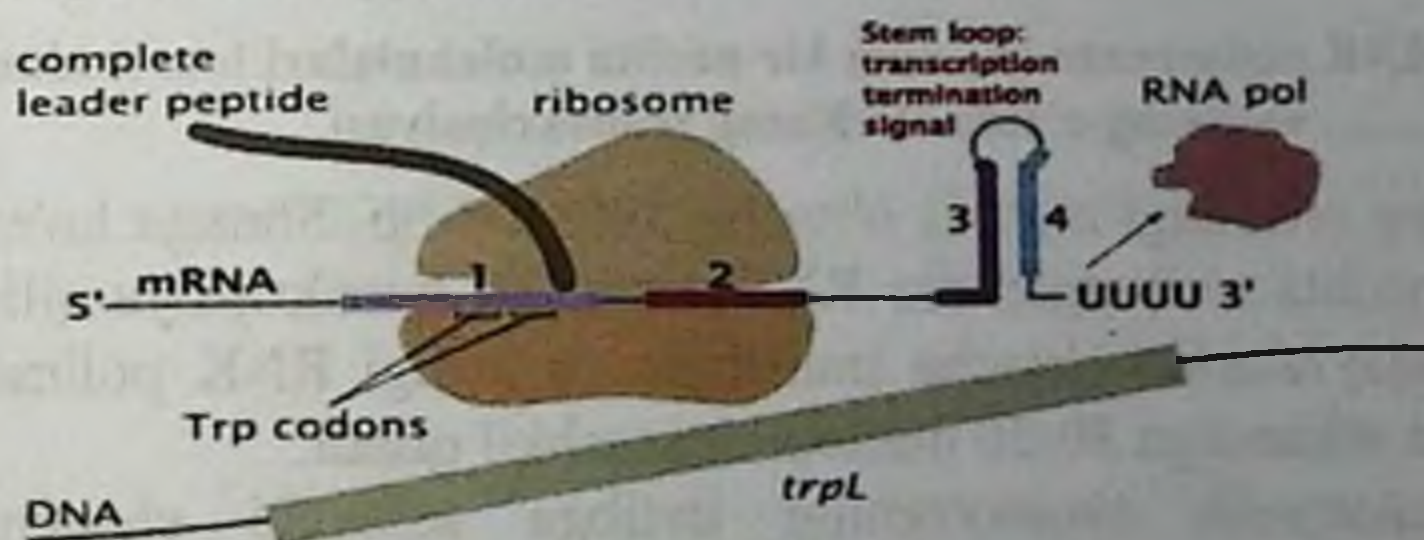
Bakteriyalarda transkripsiyaning terminatsiyasi: attenuatorlar

Triptofan operon susaytiruvchisi bakteriya hujayralarida Trp biosintezini nazorat qiladi (5.15-rasm). Ortiqcha hujayra ichidagi Trp sharoitida triptofan operonning transkripsiyasini boshlagan o'nta RNK polimeraza molekulasidan to'qqiztasi RNK sintezini 180 bp uzoqlikda joylashgan attenuatorida to'xtatadi. transkripsiyani boshlash nuqtasidan. Natijada, asosan, etakchilar deb ataladigan bir xil uzunlikdagi qisqa RNKlarning sintezi. Hujayralardagi Trp tarkibining kamayishi bilan attenuatorni yenguvchi RNK polimeraza molekulalarining ulushi ortadi, bu oxir-oqibat Trp biosintezini fermentlarining hujayra ichidagi tarkibining oshishi bilan birga keladi.

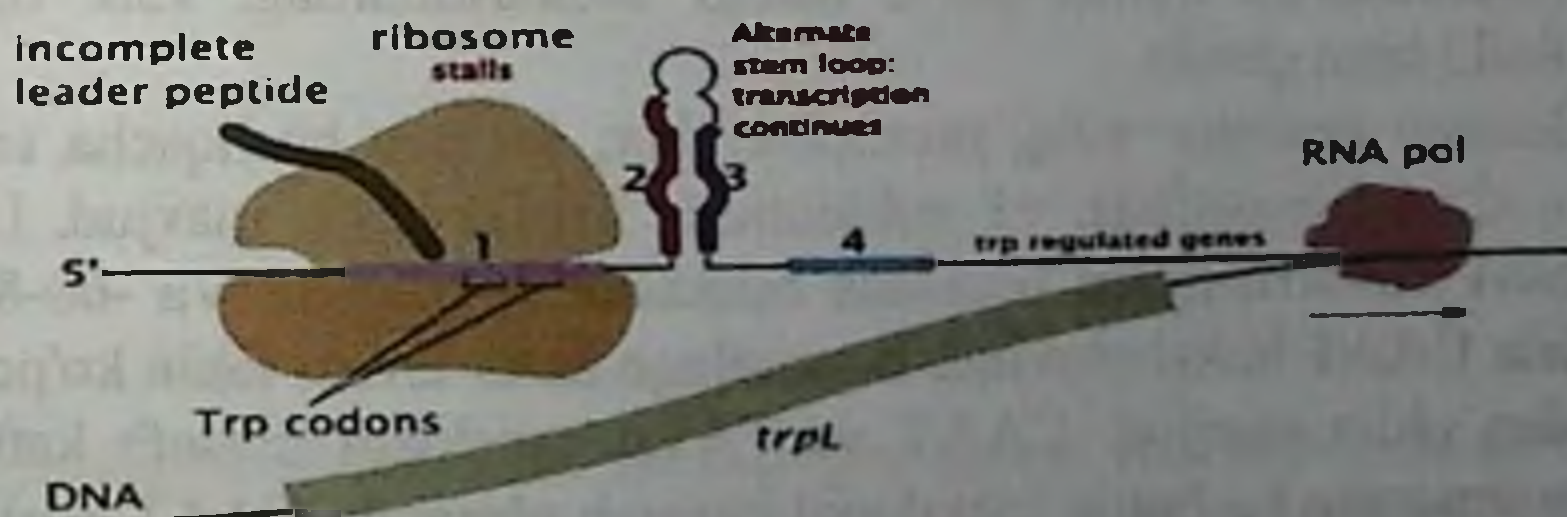
Attenuator oldida bir nechta DNK bo'limlari mavjud bo'lib, ularning ketma-ketligi markaziy simmetriyaga ega. Bu shunday hududlarni to'ldiruvchi ketma-ketliklarni o'z ichiga olgan etakchi RNK bir-birini istisno qiladigan turli xil kombinatsiyalarda ayri – shpilka tipidagi tuzilmalarni shakllantirishga qodir ekanligiga olib keladi. Misol uchun, agar 2/3 shpilka bo'lsa, unda 1/2 va 3/4 shpilka endi shakllanmaydi. Hodisalarning teskari rivojlanishi ham xuddi shunday natijalarga olib keladi. Hairpin 3/4 terminator bo'lib, po-mustaqil terminatorlarda mavjud. Uning orqasida yetakchi RNKda oligo(U) ketma-ketligi joylashgan. Shuning uchun 3/4 shpilkasining shakllanishi attenuatorida transkripsiyaning tugashi va transkripsiya kompleksidan etakchi RNKning chiqishi bilan birga keladi.

Muqobil shpilkaning shakllanishi etakchi RNKni ketma-ket ikkita Trp qoldig'ini o'z ichiga olgan etakchi peptid hosil qilish uchun tarjima qiluvchi ribosomalarning holatiga bog'liq. Trp etishmovchiligi sharoitida ribosoma etakchi peptid sintezi jarayonida etakchi RNKning mos keladigan kodonlarida to'xtab, 1-ketlikni qoplaydi, shpilkaning 1/2 hosil bo'lishiga to'sqinlik qiladi, chunki shpilkaning 2/3 qismi hosil bo'ladi. Shunga ko'ra, terminator shpilka hosil bo'lmaydi, transkripsiya attenuatorida to'xtatilmaydi va RNK polimeraza operonning strukturaviy genlari hududiga o'tadi. Agar triptofan etishmovchiligi etakchi RNKning translatsiyasini to'xtatmasa, ribosoma etakchi RNKning kritik mintaqasidan o'tib, 2/3 shpilka shakllanishiga to'sqinlik qiladi va 3/4 terminator shpilka hosil bo'ladi, bu transkripsiyaning tugashi bilan birga keladi ttenuatorida.

High level of tryptophan



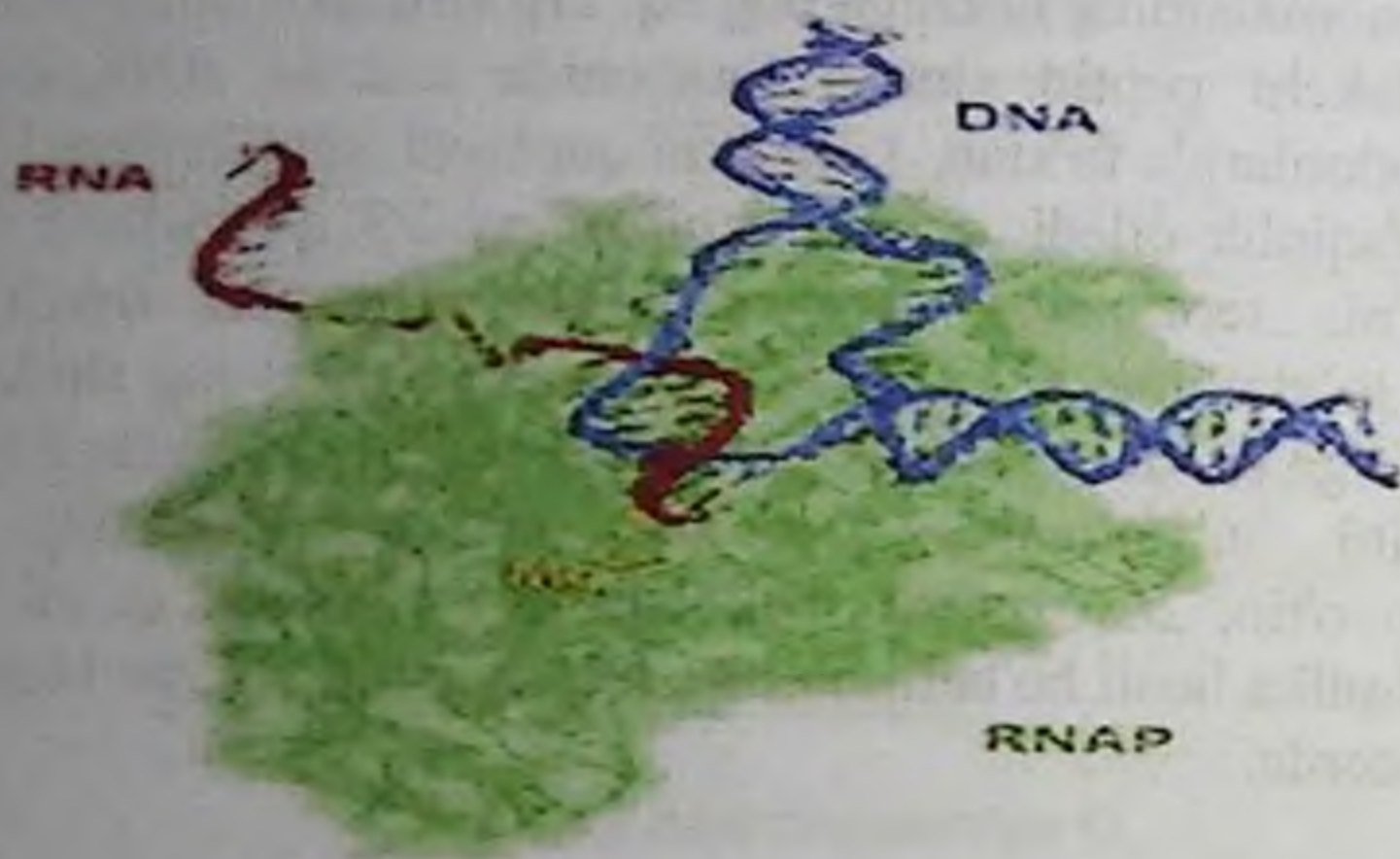
Low level of tryptophan



5.15-rasm - E. coli triptofan operon attenuatori va uning ishlashi. Attenuator hududida mRNKning muqobil ikkilamchi tuzilmalari tasvirlangan, ularning shakllanishi transkripsiyaning to'xtashi yoki operonning strukturaviy genlari hududiga tarqalishi bilan birga keladi.

Har bir tugallangan RNK zanjiri DNK matritsasidan erkin bir zanjirli molekula shaklida ajratiladi, ulardagi nukleotidlar soni 70 dan 10 000 gacha. Odatda, har bir transkripsiya birin-ketin harakatlanadigan

bir nechta RNK molekulalari - polimerazalar ishlaydi. konveyer usulida gen (5.16-rasm).



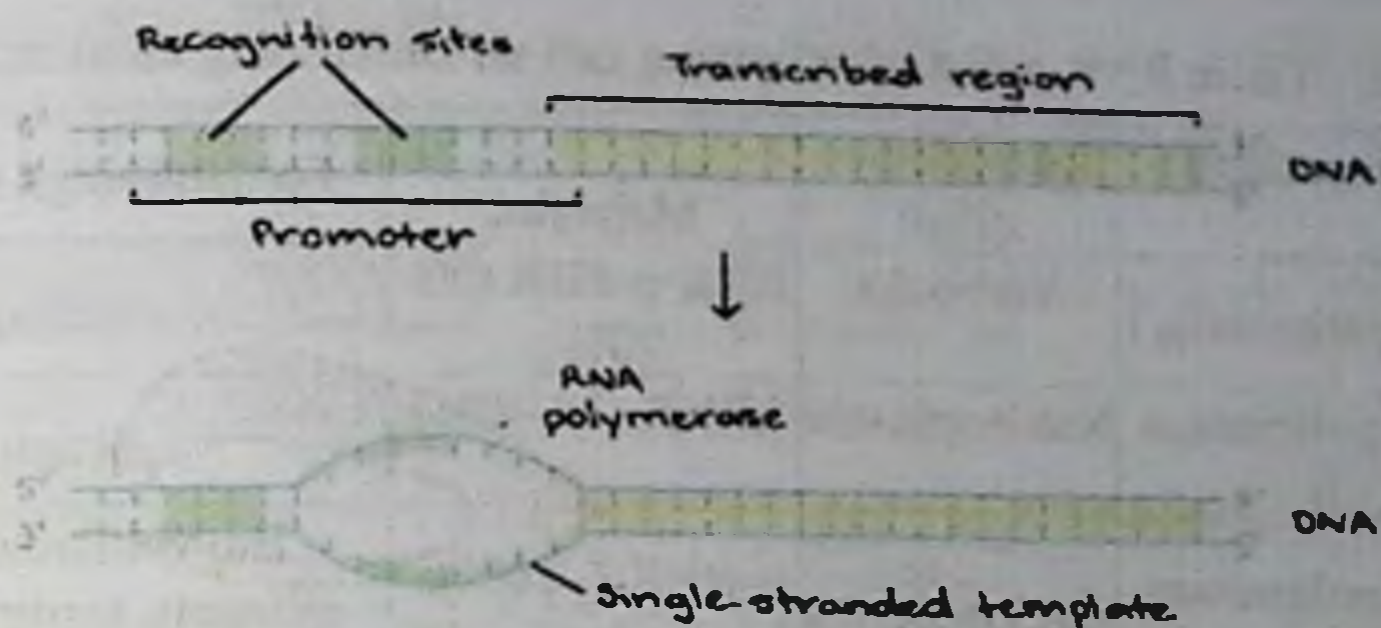
5.16-rasm. RNK polimeraza (E) ning bir nechta molekulalari tomonidan bir vaqtning o'zida DNKning transkripsiyasi.

Ularning orasidagi masofa o'rtacha 300-500 bp. Shunga ko'ra, bir gendan bir nechta o'sayotgan pre-RNK zanjirlari transkripsiya qilinadi. Bakteriya hujayralarida o'rtacha transkripsiya tezligi RNK polimeraza molekulasida sekundiga 30-50 nukleotidni tashkil qiladi.

5.3 Eukaryotik promotorning tartibga soluvchi elementlari.
Eukaryotik transkripsiyaning xususiyatlari

Eukariotlarda transkripsiya birligi prokariotlardagi kabi operon emas, balki bitta gendir.

Bunday operator yo'q, promoter bor, lekin u boshqacha tashkil etilgan. -25 bp masofada. +1 nukleotidda TATA boksi mavjud. Uning joylashuvi transkripsiyani boshlash nuqtasini belgilaydi. Va -60-80 bp masofada CAAT boksi mavjud, bu mutlaqo zarur emas, lekin ko'pchilik genlardan oldin mavjud. CAAT va TATA orasidagi masofa katta va RNK polimeraza bu butun maydonni qamrab olmaydi. CAAT oqsildan, TATA esa oz oqsilidan tan olinadi (5.17-rasm). Bundan tashqari, -100-120 bp masofada hujayra hayotini ta'minlovchi ko'plab genlarda uchraydigan GC genlar takrorlari mavjud.



5.17-rasm - Eukariotlarda promotor tuzilishi

Gen transkripsiyasini boshqaradigan promotor tartibga soluvchi elementlar uchta asosiy komponentni o'z ichiga oladi: asosiy promotor, asosiy promotor yonida joylashgan proksimal elementlar, ta'siri masofaga kamroq bog'liq bo'lgan kuchaytirgichlar (5.18-rasm).



5.18-rasm - Transkripsiyani tartibga soluvchi hududlar

Oqsilni kodlovchi har qanday gen uchun kuchaytirgichlar mavjud (5.18-rasm). Ko'p hollarda tartibga soluvchi oqsillar birinchi navbatda transkripsiya kompleksining yig'ilish jarayoniga ta'sir ko'rsatadi.

5.3 Eukariotlarda transkripsiya inisiatsiyasi

Eukariotlarda uch xil RNK polimerazalari mavjud bo'lib, ularning har biri genlarning turli guruhlarini transkripsiya qilish uchun javobgardir (5.2-jadval).

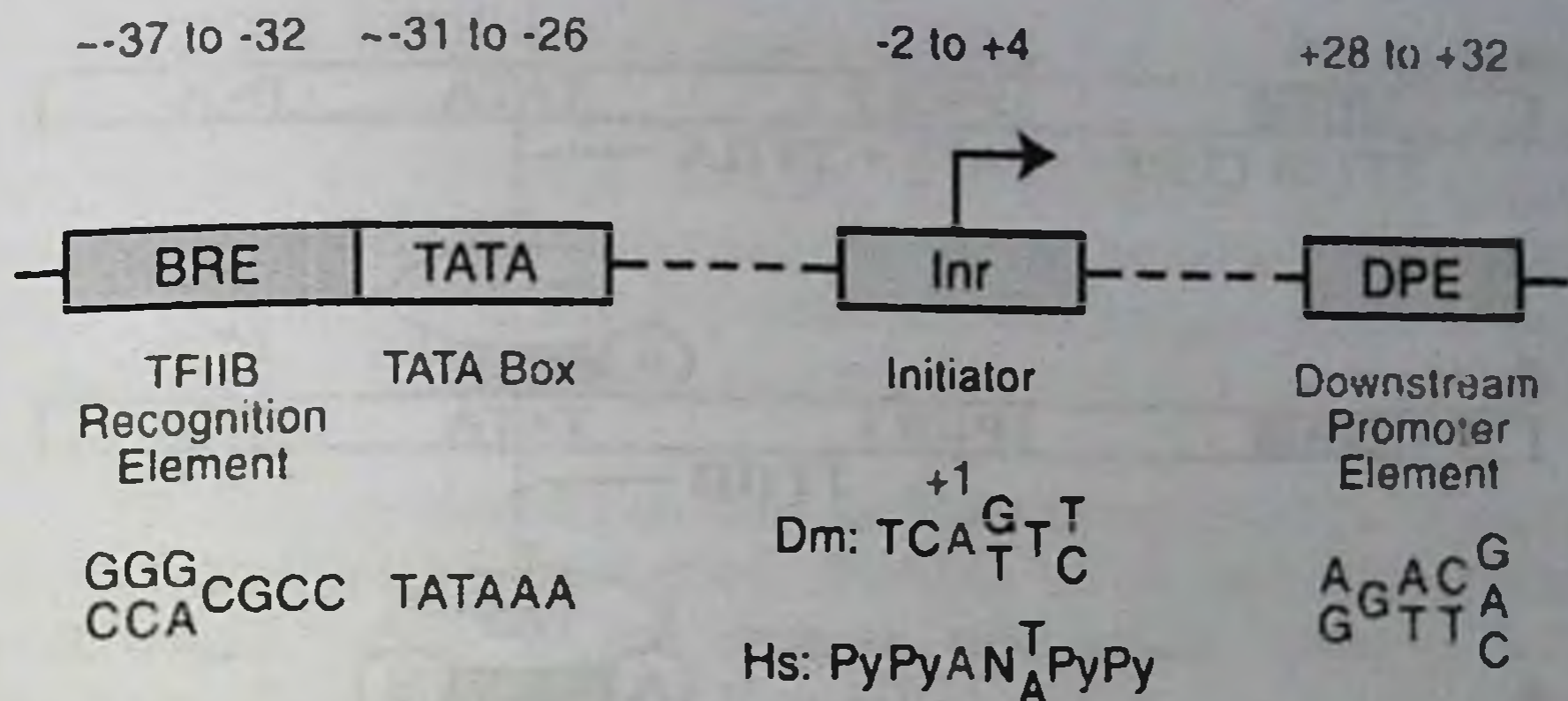
5.2-jadval - Yadro RNK polimerazalarining uch xil sinflarining xarakteristikalari

| Fermentlarni | lokalizatsiya qilish | Mahsulot | f-amantininga sezgirligi |
|--------------------|----------------------|-------------------------------|--|
| RNK polimeraza I | Yadrocha | RNK p-PHK (50-70%), | befarq |
| RNK polimeraza II | Nukleoplazma | hRNK (20-40%) | sezgir |
| RNK polimeraza III | Nukleoplazma | t-RNK (~10%), hayvonlarda +5S | Hayvonlarda inhibe qilingan, xamirturush va hasharotlarda faol |

RNK polimerazasining har bir shakli molekulyar og'irligi 120 dan 220 kD gacha bo'lgan ikkita yirik bo'linma va har birining molekulyar og'irligi 10 dan 100 kD gacha bo'lgan 5 dan 13 gacha kichik bo'linmalardan iborat. RNK polimerazalarining turli shakllari uchun bir nechta kichik bo'linmalar umumiydir. Katta bo'linmalar RNK polimeraza-promotor kompleksidagi DNK bilan aloqa qiladi va katalitik joylarni saqlaydi. Kichik bo'linmalarning funktsiyalari haqida hali hech narsa ma'lum emas.

Eukaryotik RNK polimerazalarining eng yirik subbirliliklarida aminokislotalar ketma-ketligi bo'yicha har uch shaklda ham bir-biriga va E. Coli RNK polimerazasining beta bo'linmasiga o'xshash bir nechta mintaqalar topildi. Eukaryotik RNK polimerazalarning kattaligi bo'yicha keyingi bo'linmalarida E. Coli RNK polimerazasining beta subbirligi bilan aminokislotalar ketma-ketligida o'xshashlik aniqlandi. Ushbu ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, eukariotlar evolyutsiyasining boshida ular RNK polimerazasining bir shakliga ega bo'lgan va ajdodlar genlarining ko'payishi (pro- va eukariotlarga xos) va natijada ularning nukleotidlar ketma-ketligining bir-biridan ajralishi tufayli turli xil shakllar paydo bo'lgan.

Initsiatorning INR ketma-ketligi pirimidinlar (kanonik ketma-ketlik - PyPyA+1NT/APyPy), Py - initsiatorning pirimidin nukleotidlari, N - har qanday nukleotidlar bilan boyitiladi. U birinchi marta TATA qutisi bo'lmagan promouterlarda aniqlangan. INR zaif saqlanib qolgan element bo'lib, RNK sintezi boshlanishi kerak bo'lgan nuqtani belgilaydi (5.19-rasm). Bu TFIID transkripsiya faktori tomonidan ham tan olinishi mumkin, ammo bu tan olish TBP (TATA-bog'lovchi oqsil) bo'linmasini emas, balki TAF (TBP bilan bog'liq omillar) bo'linmalaridan birini o'z ichiga oladi.



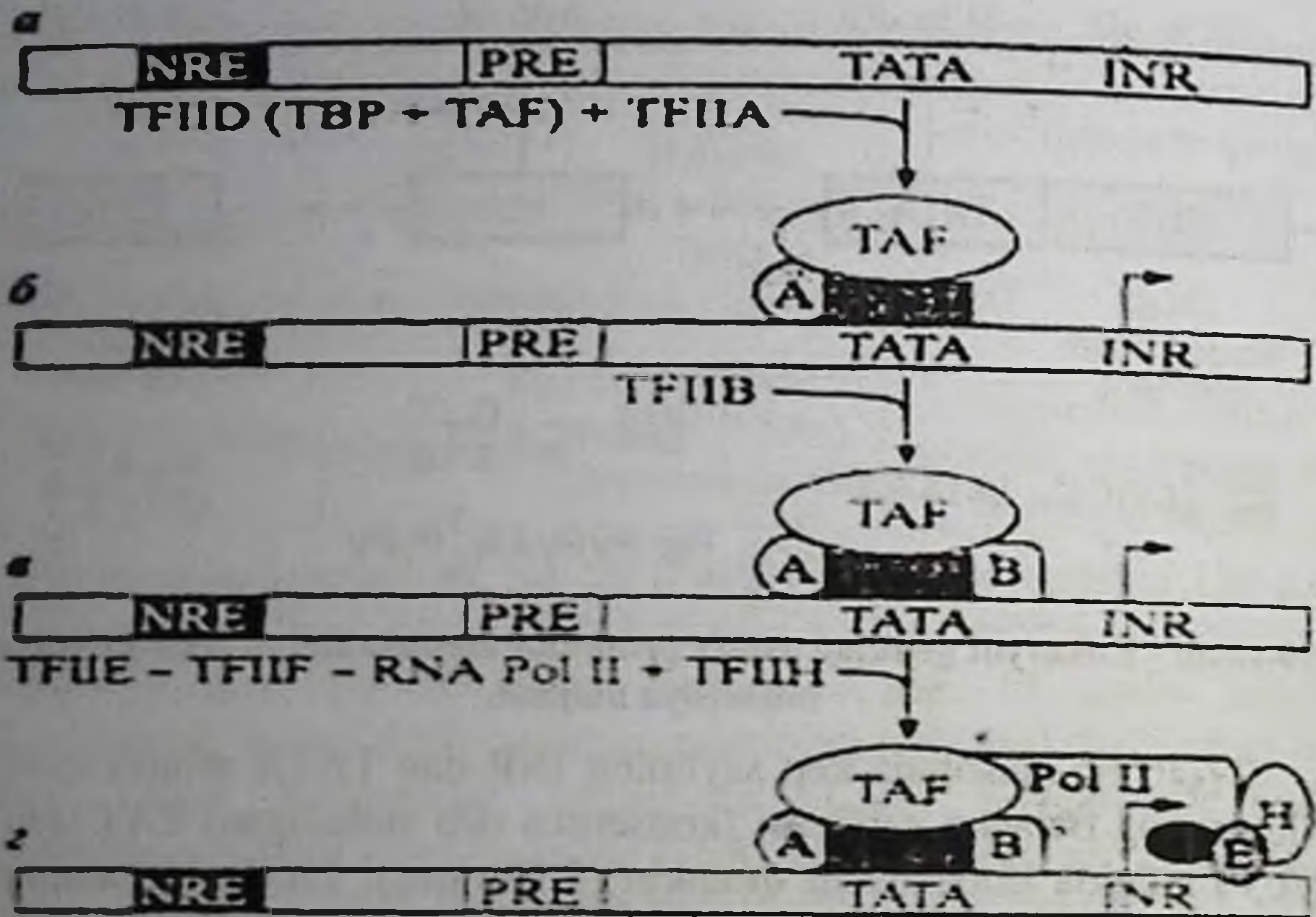
5.19-rasm - Eukaryot genning asosiy promotor elementlari va transkripsiyani inisiatsiya nuqtasi.

27-30 bp masofada kep saytining INR-dan TATA motivi mavjud bo'lib, uning o'rtacha versiyasi (konsensus deb ataladigan) TATA(A/T) A(A/T) sifatida ifodalanishi mumkin (5.19-rasm). TATA elementining pozitsiyasi transkripsiyani boshlash joyini qat'iy belgilaydi, ya'ni. Transkriptning 5' oxiri TATA elementi shikastlanganda yoki olib tashlanganda, turli 5' uchli RNK molekulalari to'plami hosil bo'ladi. TATA elementidagi individual nukleotidlar almashinuvi transkripsiya samaradorligining keskin pasayishiga olib kelishi mumkin.

Ta'rif: Bazal transkripsiya omillari transkripsiyani boshlash uchun zarur bo'lgan oqsillardir.

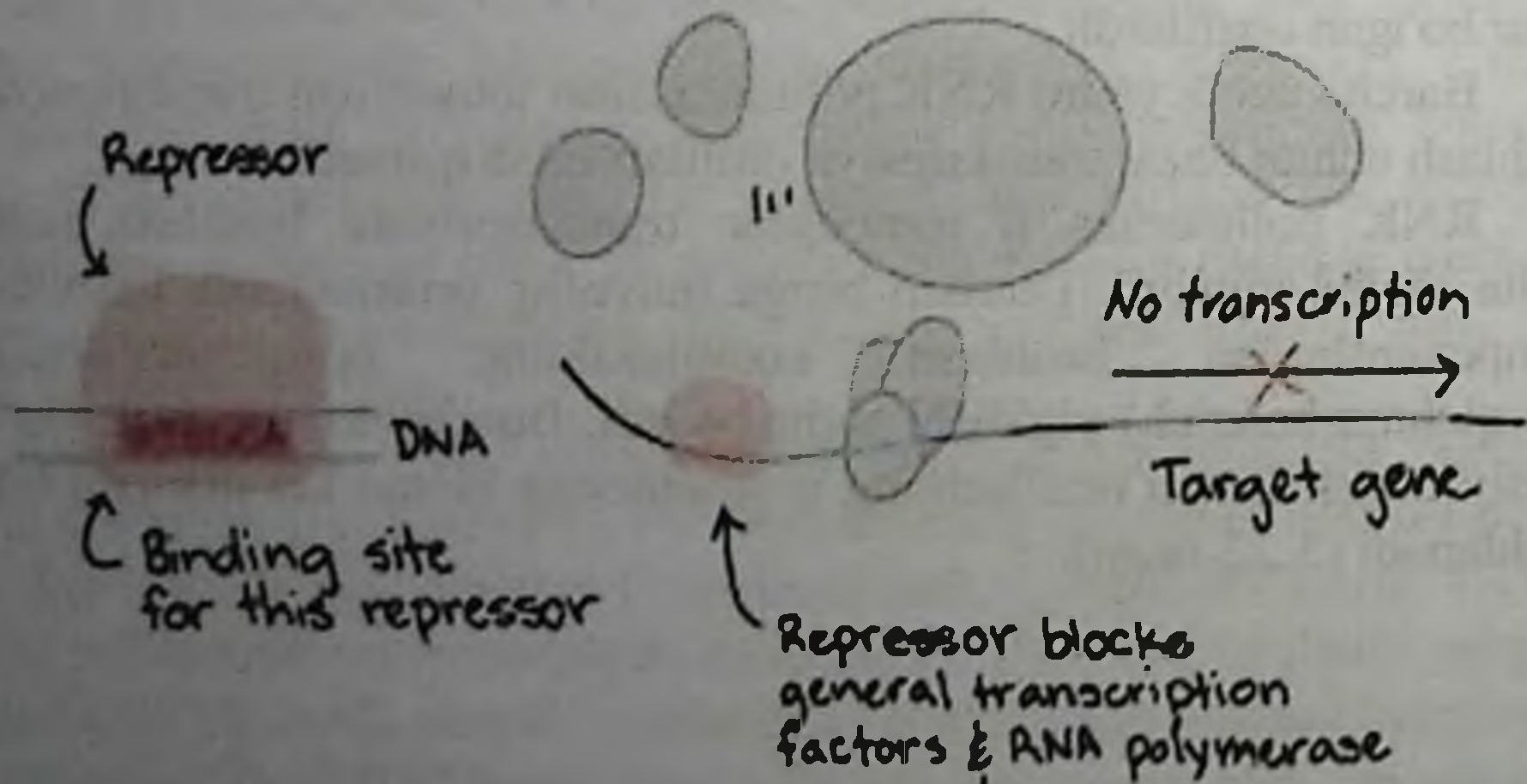
Barcha uchta yadro RNK polimerazalari tomonidan transkripsiyani boshlash uchun bazal transkripsiya omillari talab qilinadi.

RNK polimeraza II tomonidan transkripsiyani boshlash uchun ikkita model mavjud. Ulardan biriga muvofiq, promouterda individual komponentlardan boshlash kompleksining bosqichma-bosqich (bosqichma-bosqich) yig'ilishi sodir bo'ladi. Bunday kompleksni yig'ish asosiy transkripsiya omillarining promouteriga ketma-ket ulanishi bilan boshlanadi (5.22-rasm).



5.22-rasm. Umumiy transkripsiya kompleksining yig'ilishi.

5.23-rasmda (A) elementlarning ketma-ketligi va ular bilan dimer yoki monomerik shaklda bog'langan omillar ko'rsatilgan.



5.23-rasm - (4-rasm svtr) A - proksimal promotor elementlarning joylashuvi va ular bilan omillarning o'zaro ta'siri sxemasi. (B) Asosiy transkripsiya kompleksi bo'lgan PIC bilan omillarning mumkin bo'lgan o'zaro ta'siri ko'rsatilgan.

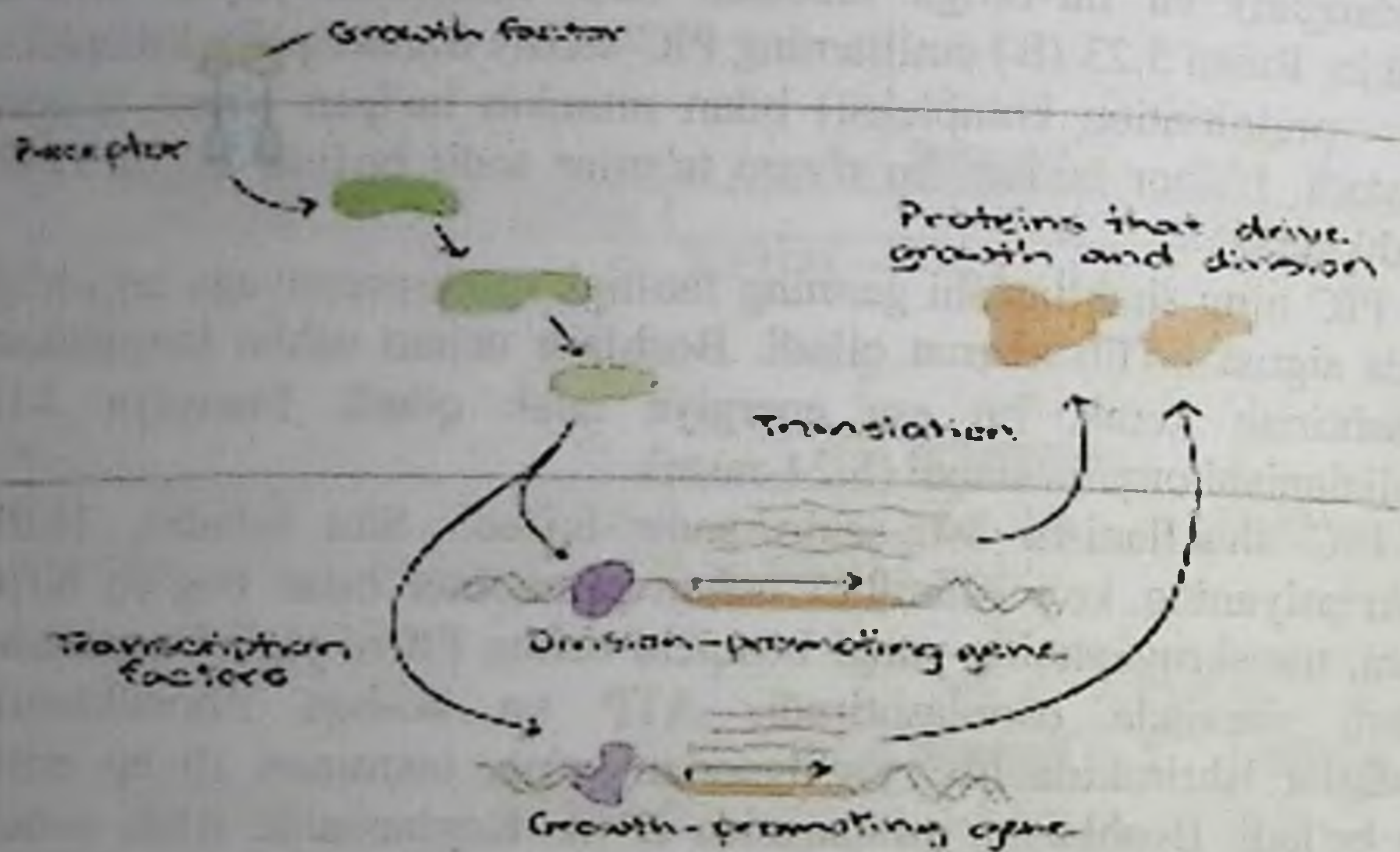
Turli xil elementlar turli promoterlarda, turli kombinatsiyalarda, transkripsiyaning boshlang'ich nuqtasidan turli masofalarda (o'q bilan tasvirlangan) va bir-biriga nisbatan turli tartiblarda paydo bo'lishi mumkin. Rasm 5.23 (B) omillarning PIC-asosiy transkripsiya kompleksi (PIC - preinitiation kompleksi) bilan mumkin bo'lgan o'zaro ta'sirini ko'rsatadi. E'tibor bering, bu o'zaro ta'sirlar sodir bo'lishi uchun DNK egilishi kerak.

PIC ning shakllanishi genning faolligi va ekspressiyaga tayyorligi haqida signal bo'lib xizmat qiladi. Boshlash uchun ushbu kompleksni faollashtirish kerak, bu esa energiya talab qiladi. Energiya ATP gidrolizlanishi orqali olinadi (5.24-rasm).

PIC shakllanishi asta-sekin sodir bo'ladi. Shu sababli, TFIIID transkripsiyaning ko'p raundlari uchun promoter bilan bog'liq bo'lib qolishi, transkripsiyaning yangi bosqichi uchun PICni yig'ish vazifasini sezilarli darajada osonlashtiradi. ATP va boshqa ribonukleozid trifosfatlar ishtirokida PIC yig'ilgandan so'ng, taxminan 10 bp erishi sodir bo'ladi. Boshlanish mintaqasida DNK. Keyinchalik, RNK sintezi boshlanadi. Oraliq dastlabki kompleksning ochiq kompleksga konformatsion o'tishi -10 va +3 pozitsiyalarida nukleotidlar orasidagi DNK qo'sh spiralining mahalliy erishi bilan qisqa bir zanjirli DNK bo'limlari hosil bo'lishi bilan birga keladi. To'rtta ribonukleozid trifosfat ishtirokida ochiq boshlang'ich kompleks mavjud bo'lganda, transkripsiya boshlanishi mumkin, agar RNK sintezi bo'lmasa, transkripsiya kompleksidan doimiy ravishda ajralib chiqadigan qisqa (7-8 nukleotidgacha) oligoribonukleotidlar sintezi bilan birga keladi. davom etdi (masalan, keyingi nukleotidning etishmasligi tufayli). RNK sintezining bu bosqichi abortiv transkripsiya deb ataladi.

Abortiv transkripsiya fazasi prokaryotik va eukaryotik RNK polimerazalarga xosdir. Eukariotlarda abortiv transkripsiya bosqichidan produktiv cho'zilishga o'tish bir qator xususiyatlar bilan tavsiflanadi. E. coli RNK polimerazasidan (shuningdek, I va III eukaryotik RNK polimerazalaridan) farqli o'laroq, RNK polimeraza II katta bo'linmaning C-terminal domenida geksapeptid takrorini (52 tagacha takrorlanuvchi ketma-ketlik) CTD (karboksi terminal domeni) o'z ichiga oladi. protein kinaz substratidir. Dastlabki kompleksda aminokislotalar qoldiqlarining bu ketma-ketligi qisman fosforlangan bo'lsa, faol cho'zilgan RNK polimerazasida CTD Ser va Thr qoldiqlarida to'liq fosforlanadi. Ko'pgina protein kinazlar CTD ni in vitro fosforillash qobiliyatiga ega bo'lsa-da, bu jarayondagi biologik funktsiyalar hujayra siklini tartibga

solishda ishtirok etadigan cdk7 kinaz bilan bir xil bo'lgan TFIIH protein kinaz omiliga bog'liq.



Rasm. 5.24 Eukaryotik hujayralardagi minimal transkripsiya sxemasi.

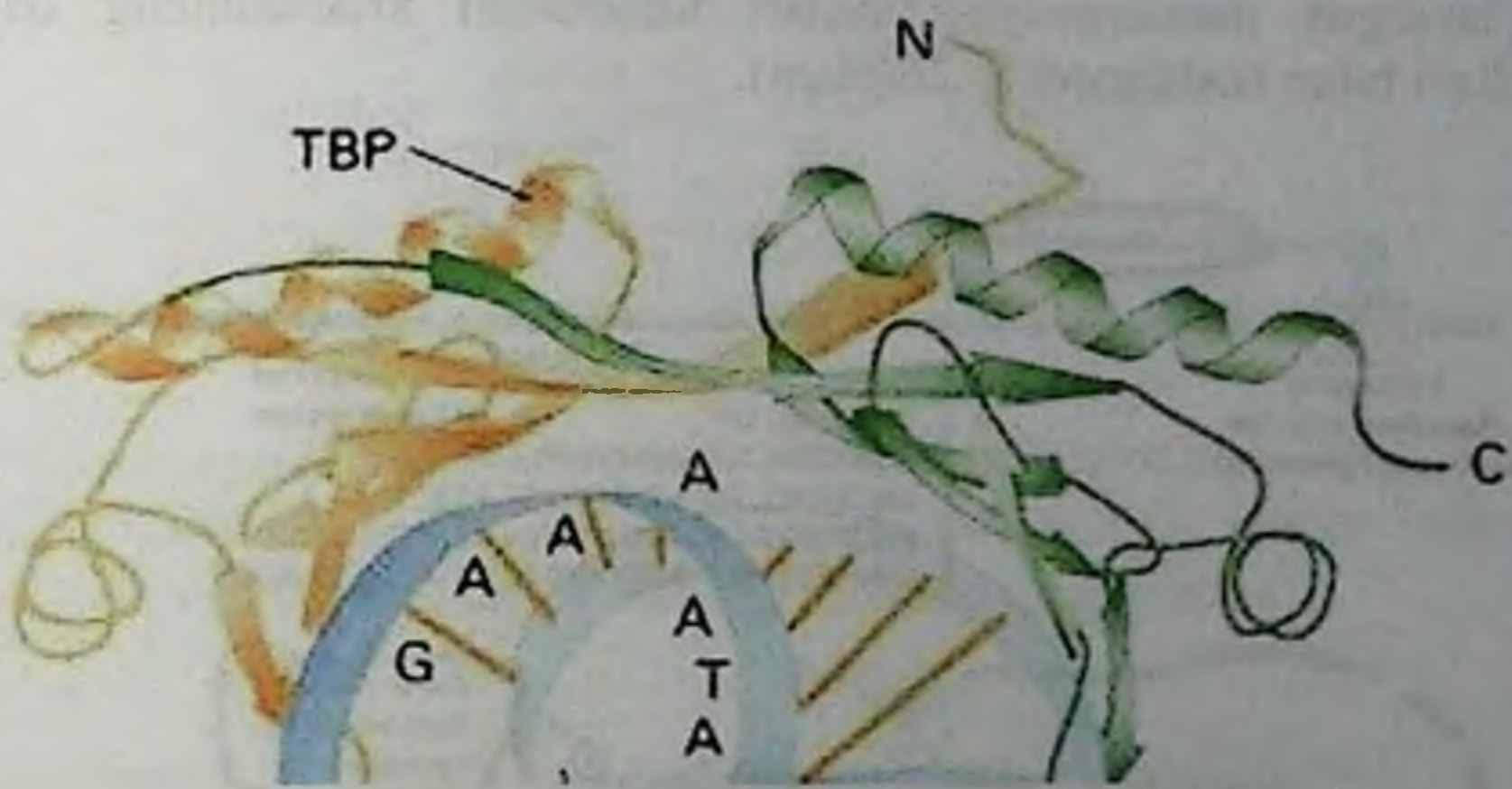
Taxminlarga ko'ra, in vivo jonli ravishda CTD domenining qisman fosforillanishi promotorda RNK polimeraza II molekulasini saqlab qoladi va uning to'liq fosforlanishi fermentning promotorni tark etishi va yangi sintezlangan RNK zanjirlarining uzayishi uchun zarurdir. Bu jarayon "promotor klirensi (qochish)" deb ataladi (5.24-rasm - 2-rasm svtr). Bundan tashqari, RNK polimeraza II tomonidan hosil bo'lgan yopiq preinitiatsiya kompleksining ochiq boshlash kompleksiga o'tishi ATPga bog'liq jarayondir.

Ko'pgina hujayra oqsillari bir nechta funktsiyani bajarishi mumkin, bu genetik ma'lumotni amalga oshirish jarayonlarida ishtirok etadigan biokimyoviy reaksiyalarning yaqin bog'lanishi uchun asosdir. Xususan, to'qqizta TFIIH bo'linmasidan beshtasi DNK eksizyonini tiklash tizimining asosiy komponentlari bo'lib xizmat qiladi (5.3-jadval). Bu juftlik faol transkripsiyalangan genlarda DNK shikastlanishining jim DNK ketma-ketliklariga nisbatan samaraliroq tiklanishiga olib keladi.

Aksariyat eukaryotik tartibga soluvchi oqsillar transkripsiya tezligiga ta'sir ko'rsatishi mumkin, hatto bu oqsillar DNKning promotordan minglab nukleotid juftlari joylashgan hududlariga bog'langan bo'lsa ham (5.20-rasm). Kuchaytiruvchi ta'sirga misollardan biri xamirturushda topilgan GAL4-UAS tizimidir. GAL4 oqsili ikkita

bog'lanish joyiga ega. Bir domen transkripsiya boshlang'ich nuqtasining yuqori oqimida (chapda) joylashgan UAS (yuqoridagi faollashtiruvchilar ketma-ketligi) deb ataladigan DNKning kuchaytiruvchi mintaqasi bilan bog'lanadi va ikkinchi domen TFIID va TFIIB transkripsiya omillari bilan bog'lanadi va transkripsiya jarayonini faollashtiradi va kuchaytiradi (5.25-rasm).

GAL4 oqsilining UAS mintaqasi va TFIID transkripsiya kompleksi bilan o'zaro ta'siri TFIIB transkripsiya omilining kompleksga biriktirilishini osonlashtiradi. Bu transkripsiya tezligini taxminan 1000 marta oshiradi [Albertsetal., 1994. P. 425].



5.25-rasm. GAL4 oqsilining UAS mintaqasi va TFIID transkripsiya kompleksi bilan o'zaro ta'siri TFIIB transkripsiya omilining kompleksga biriktirilishini osonlashtiradi. Bu transkripsiya tezligini taxminan 1000 marta oshiradi.

Boshlanish bosqichida RNK mahsuloti shablon va RNK polimeraza bilan erkin bog'lanadi va yuqori ehtimollik bilan kompleksdan ajralib chiqishi mumkin. Bunda RNK polimeraza promotordan chiqmasdan yana RNKni boshlaydi. Di-, tri- va uzunroq oligonukleotidlarning bunday sintezi produktiv (ya'ni, to'liq RNK mahsuloti hosil bo'lishi bilan tugaydigan) inisiatsiyadan farqli o'laroq, abortiv boshlash deyiladi. RNK mahsuloti kritik uzunlikka (turli promotorlarda 3 dan 9 nukleotidgacha) yetganda, abortiv inisiatsiya butunlay to'xtaydi, transkripsiya kompleksi barqarorlashadi va RNK molekulasi sintezi tugaguniga qadar parchalanmaydi. Boshlanishning oxiri va cho'zilish boshlanishi deb hisoblangan taxminan bir vaqtning o'zida sigma bo'linmasi bakterial RNK polimerazadan ajralib chiqadi.

Yana bir modelda Pol II ko'p subbirlıklardan tashkil topgan goloferment ko'rinishidagi inisiatsion kompleksning bir qismi bo'lishi mumkinligini ta'kidlaydi. Trankripsiyani boshlash RNK polimeraza va shablon DNK molekulalarini o'z ichiga oluvchi promotorda oldindan boshlash kompleksining yig'ilishidan boshlanadi. RNK polimeraza genni o'ziga xos tarzda transkripsiyalashi uchun taxminan 40-50 oqsil molekulalarining o'zaro ta'siri talab qilinadi.

Xromatinda promotor ketma-ketliklari nukleosomalar tufayli tartibga soluvchi omillarga kirishib bo'lmasligi mumkin, transkripsiya gistonlarni olib tashlaydigan oqsillar va promotorlar ketma-ketligini bog'laydigan transkripsiya omillari tomonidan xromatinning qayta tuzilishi bilan boshlanadi (5.26-rasm).

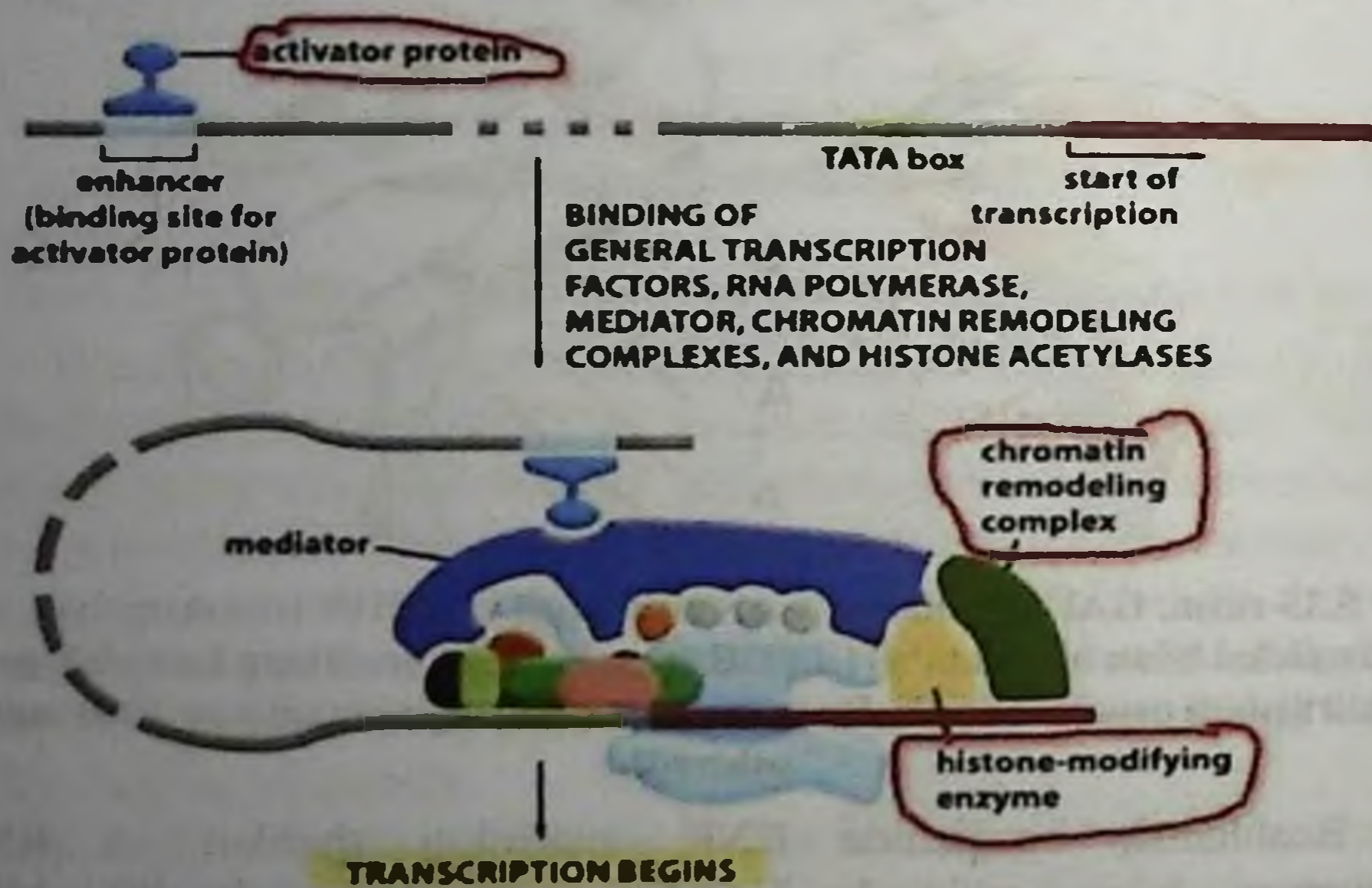
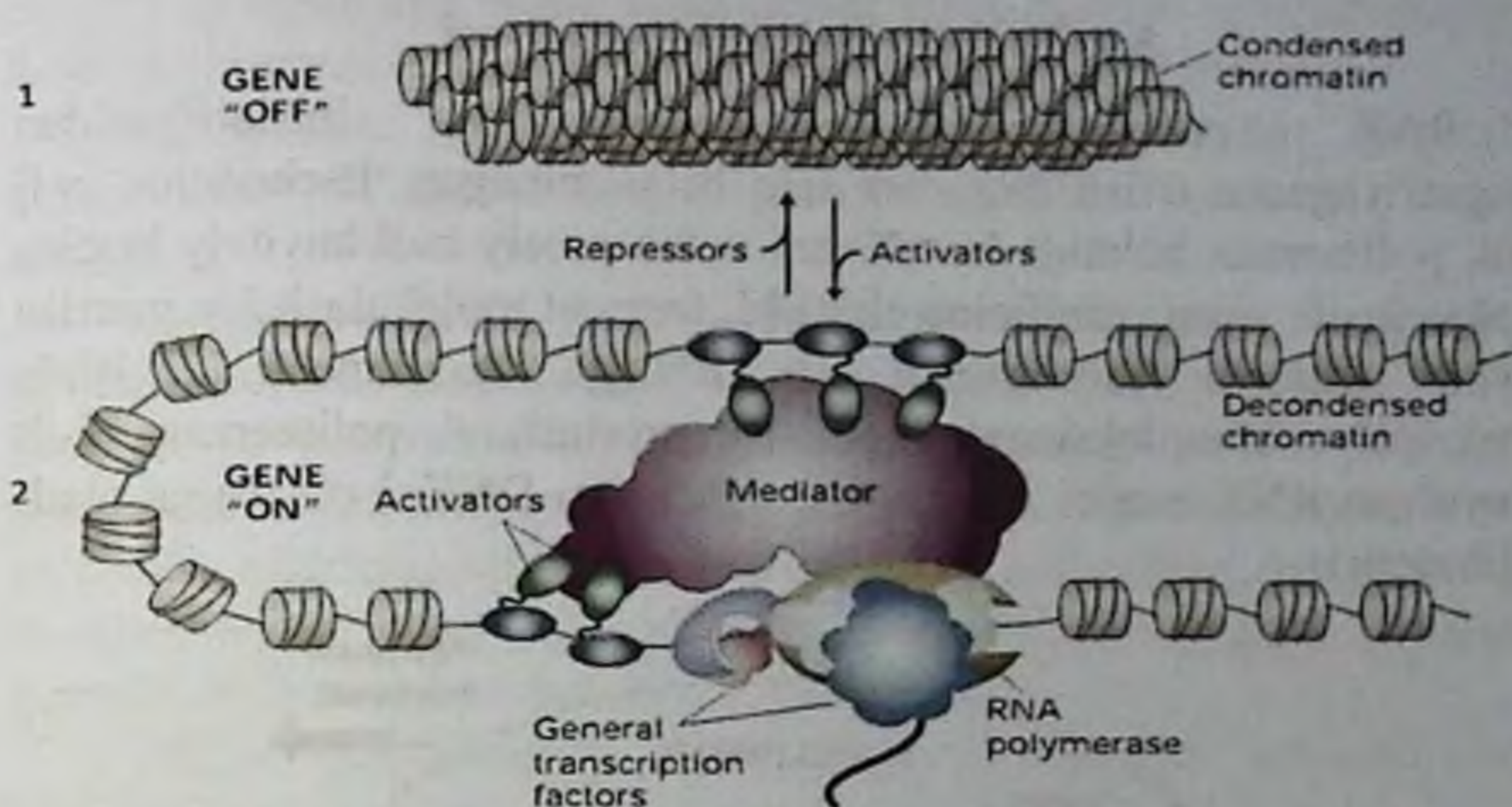


Figure 6-19 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

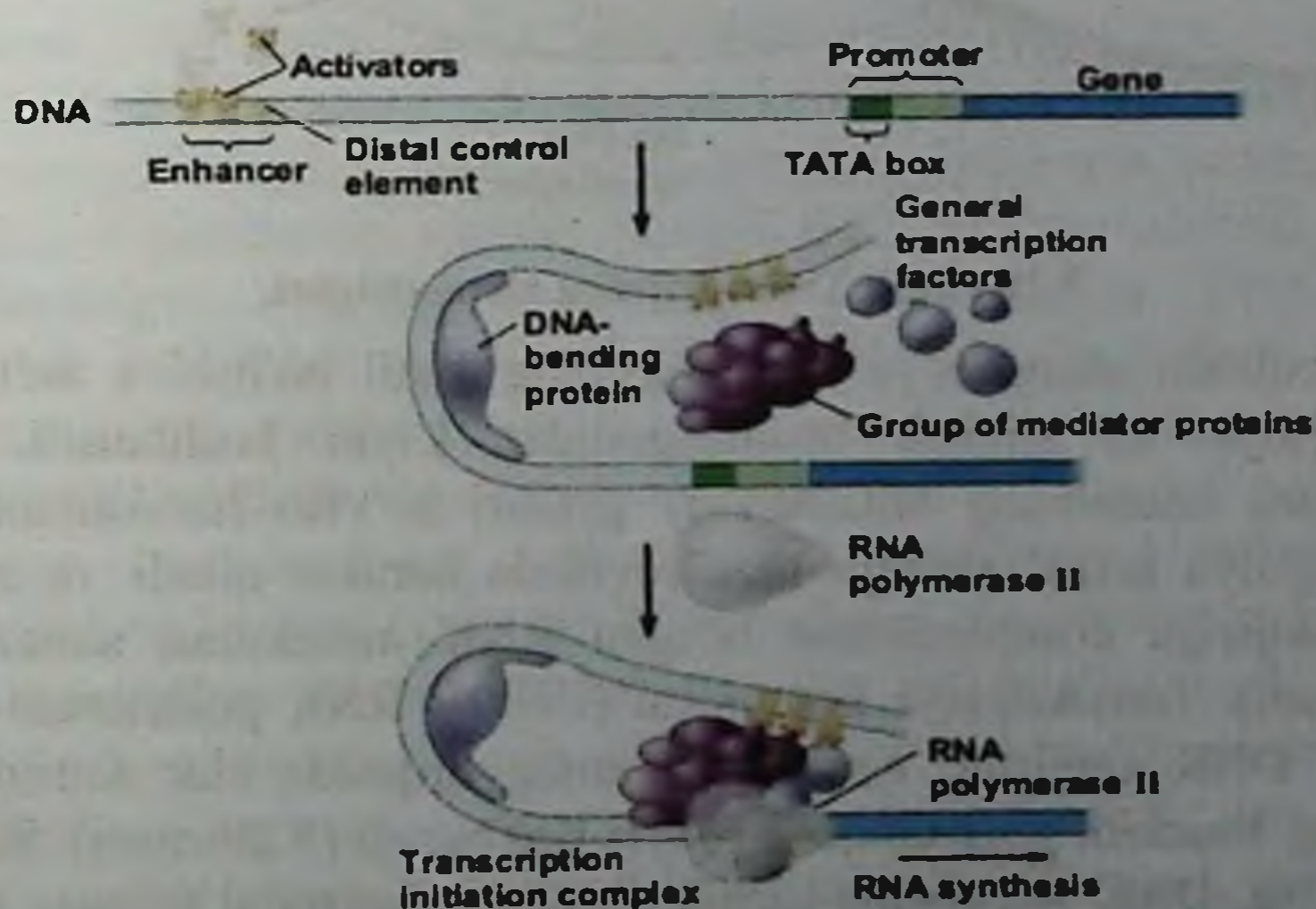
5.26-rasm. Eukariotlarda transkripsiyadan oldingi kompleks.

Asosiy transkripsiya omillari majmuasiga RNK polimeraza, asosiy transkripsiya omillari, vositachi va boshqa koaktivatorlar kiradi (5.27-rasm). Sutemizuvchilardagi golofermentning tarkibi hozircha aniq emas. Achitqilar holofermentining tarkibi yanada aniqlangan Transkripsiya kompleksining faolligi transkripsiya faollashtiruvchilari va repressorlar tomonidan tartibga solinadi (5.28-rasm).



5.27-rasm. Asosiy transkripsiya omillari majmuasi, aktivatorlar va repressorlar

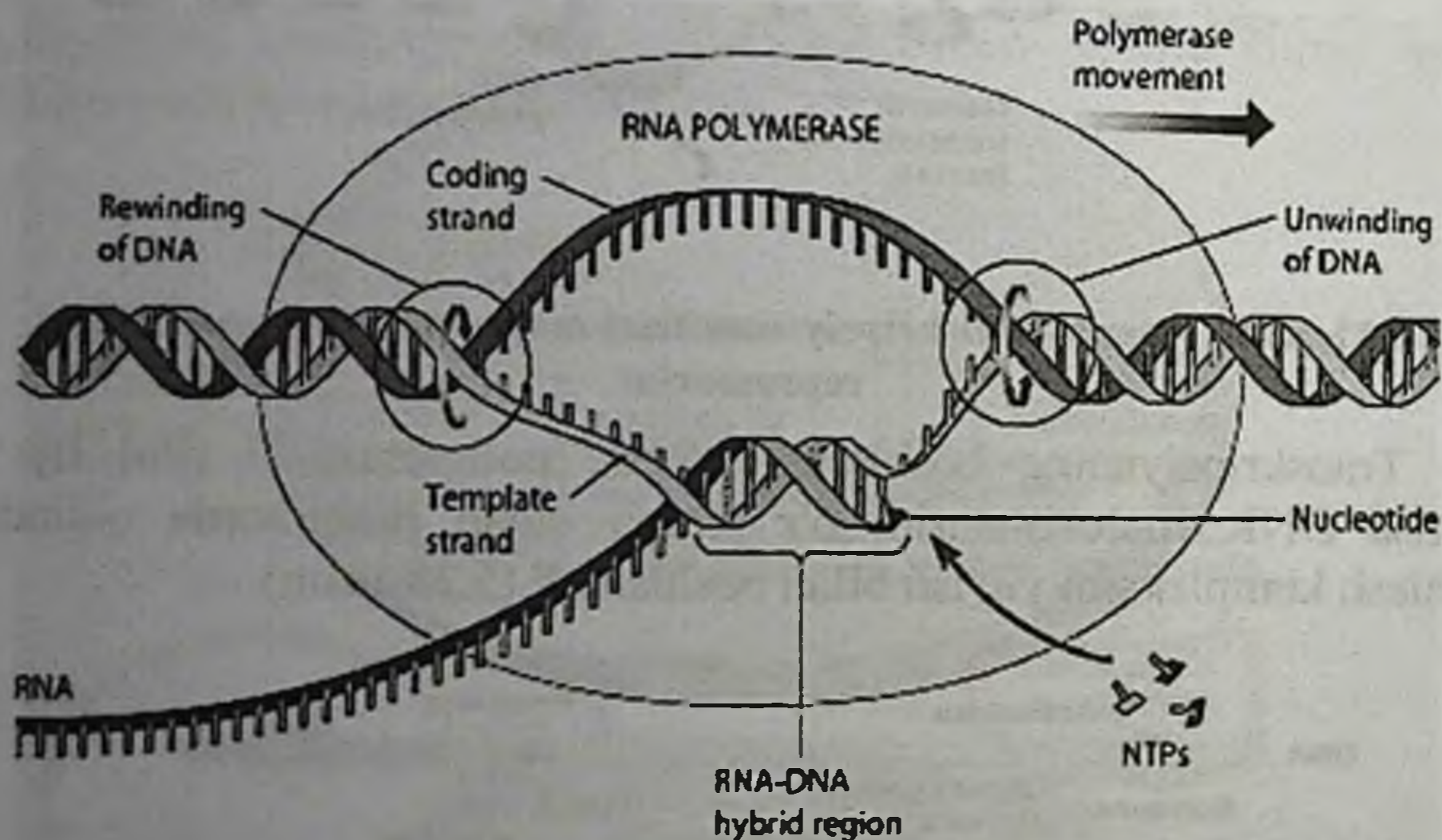
Transkripsiyaning boshlanishi RNK polimeraza II (Pol II) va matrisa DNK molekulalarini o'z ichiga olgan promotorda oldindan boshlash kompleksini yig'ish bilan boshlanadi (5.28-rasm).



5.28-rasm. Eukaryotik gen promotorining TATA qutisining boshqaruv elementlari: DNK-eguvchi oqsil, umumiy transkripsiya omillari, vositachi oqsillar guruhi, kuchaytirgich, aktivatorlar va RNK polimeraza.

5.4. Transkripsiya elongatsiyasi

RNK polimerazasining transkripsiya inisiatsiyasidan elongatsiyagacha o'tish momenti aniq belgilanmagan. *Escherichia coli* RNK polimeraza holatida bu o'tishni uchta asosiy biokimyoviy hodisa xarakterlaydi: sigma omilining chiqishi, ferment molekulasining matrisa bo'ylab birinchi ko'chirilishi va RNKga qo'shimcha ravishda transkripsiya kompleksining kuchli barqarorlashuvi. polimeraza, o'sib borayotgan RNK zanjiri va transkripsiyalangan DNKni o'z ichiga oladi (5.29-rasm).



5.29-rasm. Transkripsiya elongatsiyasi.

Dastlabki elongatsiya kompleksining hosil bo'lishi s bo'linmasi transkripsiya va ajralish boshlanganidan keyin boshlanadi. RNK polimeraza operonning strukturaviy genlari bo'ylab harakatlanadi va "transkripsiya ko'zi" shunga mos ravishda harakat qiladi va matrisa DNK zanjiriga komplementar bo'lgan RNK molekulasi sintezlanadi (5.29-rasm). Transkripsiya kompleksi (DNK - RNK polimeraza-RNK) oldidagi DNK zanjirlari ajraladi va uning orqasida ular sintezlangan RNKning 5' uchini siqib chiqarib, qayta bog'lanadi (5.29-rasm). Shuning uchun RNK-DNK spiralining kichik bir qismi (bakterial ferment uchun, taxminan 17 juft nukleotid) faqat qisqa vaqt ichida mavjud.

Bu harakatlar RNK polimeraza va DNKning nisbiy aylanishi bilan birga bo'lishi kerak. Bu hujayrada, ayniqsa, xromatin transkripsiyasi paytida qanday sodir bo'lishini tasavvur qilish qiyin. Shuning uchun

bunday aylanishning oldini olish uchun DNK bo'ylab harakatlanadigan RNK polimeraza topoizomerazalar bilan birga bo'lishi mumkin.

Elongatsiya jarayonning muddatidan oldin to'xtab qolmasligi uchun zarur bo'lgan asosiy elongatsiya omillari yordamida amalga oshiriladi.

So'nggi paytlarda tartibga soluvchi omillar ham elongatsiyani tartibga solishi mumkinligini ko'rsatadigan dalillar paydo bo'ldi. Elongatsiya jarayonida RNK polimeraza genning ma'lum qismlarida pauza qiladi. Bu, ayniqsa, substratlarning past konsentratsiyasida aniq ko'rinadi. Matritsaning ba'zi joylarida RNK polimeraza deb ataladigan rivojlanishda uzoq kechikishlar mavjud. optimal substrat konsentratsiyasida ham pauzalar kuzatiladi.

Ushbu pauzalarning davomiyligi elongatsiya omillari bilan boshqarilishi mumkin.

Bakteriyalarda RNK elongatsiyasini tartibga soluvchi oqsil omillari

Protein omillari va elongatsiyalangan RNK polimerazalarning xususiyatlarini o'zgartiruvchi kichik molekulalar juda xilma-xildir. Ba'zi omillar transkripsiyalangan matrisalarda RNK polimerazalarining vaqt kechikishini bostirish yoki transkripsiyani butunlay to'xtatuvchi komplekslarni faollashtirish orqali elongatsiyani rag'batlantiradi, boshqalari transkripsiyaning tugashini yoki antiterminatsiyasini ta'minlaydi. Eukariotlarda elongatsiya komplekslarining oqsil tarkibiy qismlarining faolligini, shuningdek, transkripsiyalangan xromatinning tuzilishini o'zgartiruvchi oqsillar mavjud. Ba'zi tartibga soluvchi oqsillar to'g'ridan-to'g'ri o'sayotgan transkript yoki matrisa DNK bilan bog'lanadi, boshqalari oqsil-oqsil o'zaro ta'siri orqalidir. Ko'p hollarda tartibga soluvchi oqsillarning ta'sir mexanizmi noaniq bo'lib qolmoqda.

E. coli tarkibida GreA va GreB oqsil omillari mavjud bo'lib, ular cho'zilgan transkriptning 3'-terminal qismining endonukleaza bo'linishini rag'batlantirish orqali RNK polimer elongatsiya kompleksini RNK sintezining to'xtash holatidan olib tashlaydi. GreA oqsilini kodlovchi gen birinchi marta E. coli RNK polimerazasining beta-subbirligidagi haroratga sezgir mutatsiyani bostiruvchi gen sifatida genetik usullar bilan topilgan. Mutatsiyalar orqali greA yoki greB genlarining individual ravishda inaktivatsiyasi mutant bakteriyalar fenotipining sezilarli o'zgarishi bilan birga kelmaydi, ammo qo'shaloq mutatsiya bakteriya hujayralarini haroratga sezgir qiladi. Bunday mutant hujayralar odatdagi haroratga sezgir bo'lmagan fenotipga tez qaytishi

bilan tavsiflanadi, shuning uchun hatto ruxsat etilgan haroratlarda ham funktsionaldir. GreA va GreB oqsillariga ega bo'lgan bakterial hujayralar o'sishida muhim afzallik bor degan xulosaga kelindi. Xuddi shu irsiy xususiyatlar *S. cerevisiae* ning transkripsiya elongatsiya omili TFIIS(SII)ga ham xos, yuqorida qayd etilgan bakterial omillarning funktsional gomologidir.

RNK sintezini tugatish-antiterminatsiya vazifasini bajaradigan transkripsiya elongatsiya regulyatorlari orasida transkripsiyaning tugatish omili p, shuningdek bakteriofag lambda ning N va Q transkripsiya qarshi antiterminator oqsillarini qayd etishimiz kerak.

RNK polimeraza II transkripsiyasini elongatsiya omillari

Eukariotlarda RNK uchun o elongatsiya qsil omillari ikki sinfga bo'linadi: umumiy va tartibga soluvchi. Asosiy RNK omillari elongatsiya barcha protein kodlovchi genlarning samarali transkripsiyasini ta'minlaydi, tartibga soluvchi omillar esa alohida genlar yoki gen oilalarining ifodasini nazorat qiladi. RNK polimeraza II ning asosiy cho'zilish omillari va ularning xossalari 5.4-jadvalda keltirilgan.

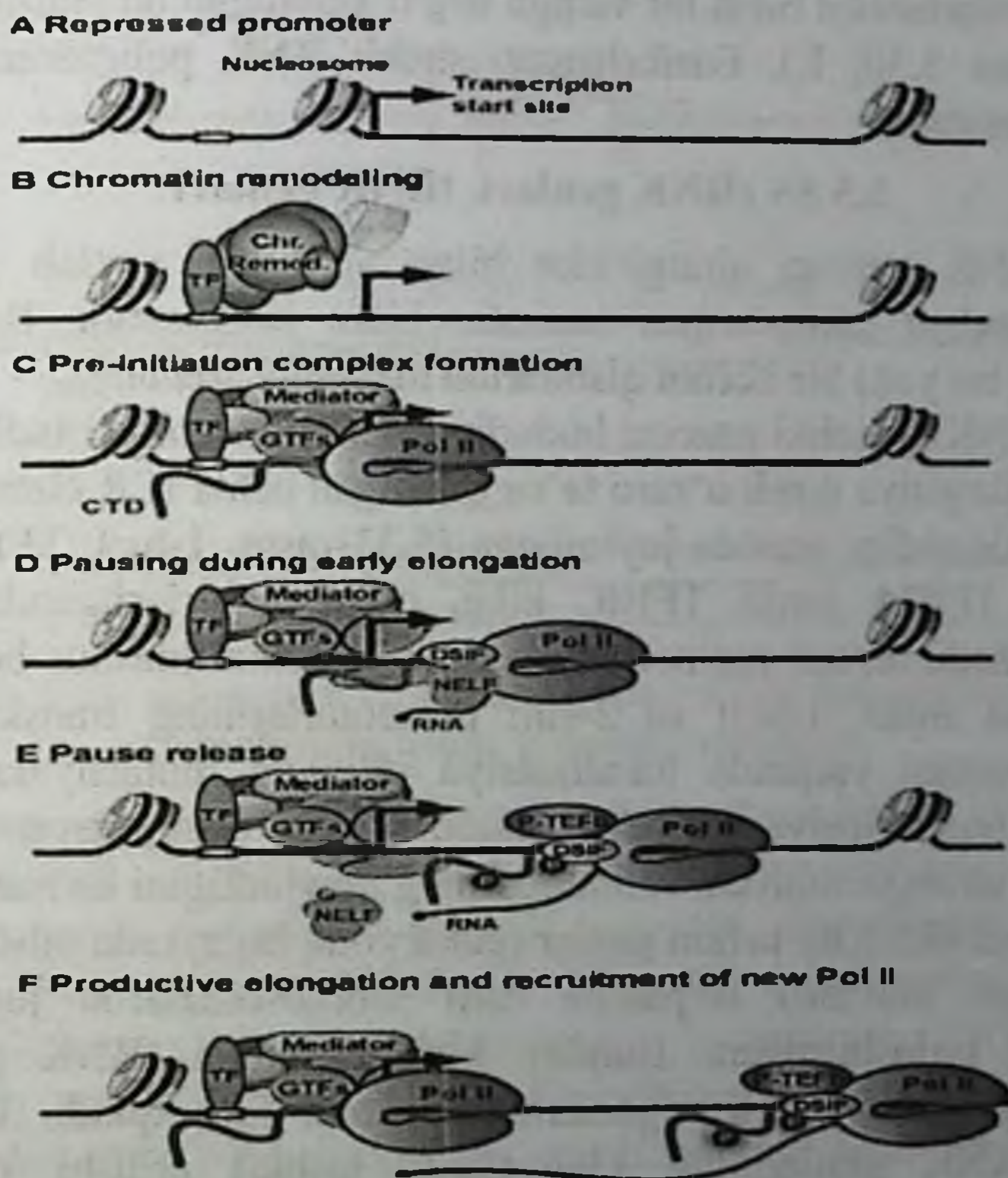
5.4-jadval. RNK polimeraza II ning asosiy cho'zilish omillari

| Faktor | Struktura | Polipeptidlarning molekulyar massasi, kDa | Vazifasi |
|----------------|--|---|---|
| P-TEFb | Heterodimer | 124, 43 | DRB tomonidan inhibe qilingan cho'zilishning tugashini oldini oladi |
| SII (TFIIS) | Monomer | 38 | Cho'zilishning tugashini oldini oladi, transkriptning bo'linishini rag'batlantiradi |
| TFIIF | Geterodimer | 30, 70 | RNK cho'zilishining kechikishini yo'q qiladi |
| Elongin (SIII) | Geterotrimer, shu jumladan A, B va C elonginlari | | Xuddi shunday |
| Elongin A | | 110 | Faol subbirlik |
| Elongin B | | 18 | Tartibga soluvchi sub birlik |
| Elongin C | | 15 | Xuddi shunday |
| ELL | | 80 | RNKning cho'zilishining kechikishini yo'q qiladi |

Eslatma. DRB - 5,6-dikloro-1-b-D-ribofuranosilbenzimidazol

P-TEFb va SII oqsillari RNK polimeraza II ning kechiktirilgan komplekslarini elongatsiya transkripsiyaning to'liq to'xtagan holatiga o'tishini oldini oladi. Asosiy omillarin elongatsiyaning yana bir guruhi

RNK zanjirlarining cho'zilishining kechikishini bostiradi, cho'zilish komplekslarining cho'zilishning to'liq to'xtashiga o'tish ehtimolini kamaytiradi. Bu guruh uchta tarkibiy jihatdan bog'liq bo'lmagan oqsillardan iborat: omillar TFIIIF, elongin (SIIID) va ELL, ular to'g'ridan-to'g'ri uchlik cho'zilish kompleksining tarkibiy qismlari bilan o'zaro ta'sir qiladi.(5.30-rasm).



5.30-rasm, (A-F) - Eukariotlarda transkripsiyaning alohida bosqichlari komplekslarining shakllanishi va tuzilishi sxemasi.

Ushbu oqsillarning hech biri transkripsiyani to'liq to'xtatgan komplekslarni qayta faollashtirishga yoki ushbu komplekslarda RNK bo'linishini rag'batlantirishga qodir emas. Ushbu omillarning cho'zilish kechikishiga bostiruvchi ta'sirining aniq mexanizmi noma'lum. Aniqlanishicha, elongin ham, TFIIIF ham RNK polimeraza II ning DNK fragmentlarining 3'-OH uchlariga ribonukleozid trifosfatlarning shablonga bog'liq qo'shilishini amalga oshirish qobiliyatini oshiradi, bu holda ular primer vazifasini bajaradi. Elongin va TFIIIF omilining roli

cho'zuvchi fermentning faol markazida o'sib borayotgan transkriptlarning 3'-OH uchlarini to'g'ri joylashishini ta'minlashdan iborat bo'lishi mumkin.

Qisqa transkriptni sintez qilgandan so'ng, RNK polimeraza (Pol II) DSIF va NELF omillarini bog'laydi va transkripsiyani to'xtatish uchun pauza qiladi (5.30D-rasm). RNK polimerazasining CTD (C-terminal domeni) fosforlanishi bilan bir vaqtga to'g'ri keladigan bu pauza bartaraf etiladi (rasm 5.30, E). Fosforlangan shakli RNK polimerazaning O shakli deb ataladi.

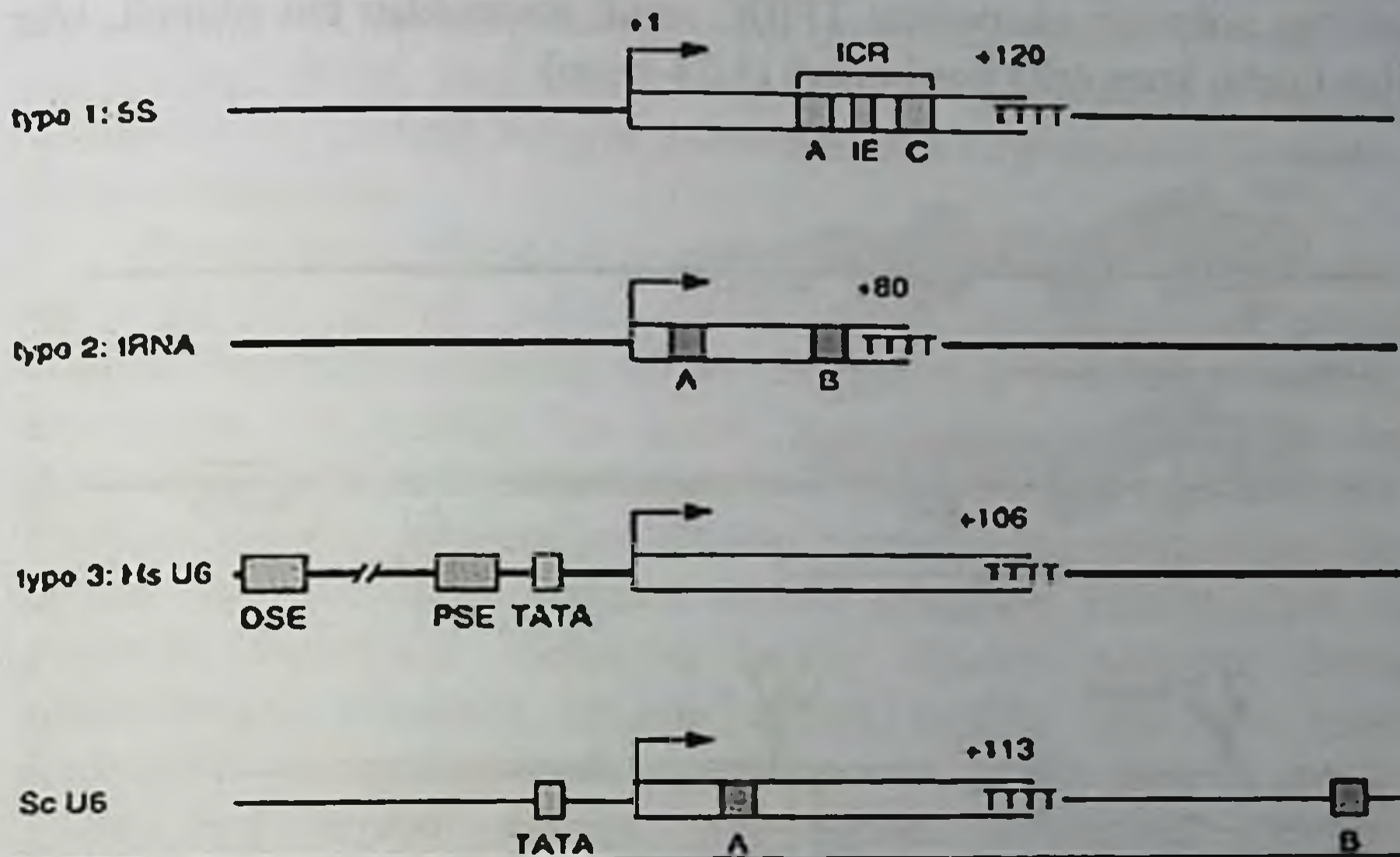
5.5 5S rRNK genlari. tRNK genlari

5S RNK genlari ajratgichlar bilan ajratilgan yuzlab va hatto minglab tandem takrorlangan nusxalar bilan ifodalanadi. Bu genlar genomning bir yoki bir nechta qismlarida to'plangan .genlar

5S rRNKlari ichki nazorat hududini (ICR) o'z ichiga oladi. TFIIIA asosiy transkripsiya omili o'zaro ta'sir qiladigan uchta ICR elementi +50 va +64 nukleotidlar orasida joylashgan (5.33-rasm, 1-tur). TFIIIA-ICR kompleksi TFIIIA omili TFIIIC bilan o'zaro ta'sirlashgandan so'ng barqarorlashadi, ammo promotorda ikkinchisi uchun maxsus bog'lanish joyi mavjud emas. 1-sinf va 2-sinf promotorlarining transkripsiyani boshlash nuqtasi yaqinida lokalizatsiya qilingan mutatsiyalar ushbu genlarning transkripsiyasiga ta'sir qiladi, bu esa ushbu promotorlarda qo'shimcha tartibga soluvchi elementlarning mavjudligini ko'rsatadi.

Turli xil tRNKlar uchun genlar (eukaryotik hujayrada 40-60 asosiy tRNK turlari mavjud) ko'pincha turli xromosomalarda joylashgan klasterlarga birlashtirilgan. Bunday bloklar ichida tRNK genlarini tashkil qilish tabiati turli organizmlarda katta farq qiladi. Umuman olganda, tRNK genlarining klasterlarda tashkil etilishi ribosoma RNKlaridagi kabi muntazam emas: yaqin genlarning transkripsiya yo'nalishi qarama-qarshi bo'lishi mumkin va genlar tartibsiz intervallarni, shu jumladan 100-150 va ba'zan bir nechta bo'lishi mumkin. ming juft nukleotid. tRNK genlarini ajratuvchi DNK bo'limlarining tabiati va vazifalari aniqlanmagan. tRNK genlarida to'g'ri va samarali transkripsiya sodir bo'lishi uchun zarur bo'lgan ikkita hudud topiladi. Masalan, o'rganilgan tRNK genlaridan biri uchun bu tRNK molekulasining 8-25 va 50-58 nukleotidlarini kodlovchi hududlardir. Bunday "ajraladigan promotor" ning ikkita bo'limi dihidroridil (D) va psevduridil (T) halqalarida tRNK molekulalarining eng ko'p saqlanib qolgan hududlariga mos keladigan genning hududlariga to'g'ri keladi,

ular da eng ko'p o'zgar mas nukleotidlar mavjud. Faol transkripsiya promotoring D va T hududlari orasidagi masofani saqlashni talab qiladi, bu taxminan 50 bp (5.33-rasm, 2-tur).



5.33-rasm. RNK polimeraza III transkripsiya omillari tomonidan tan olingan genlarning asosiy promotor motivlari.

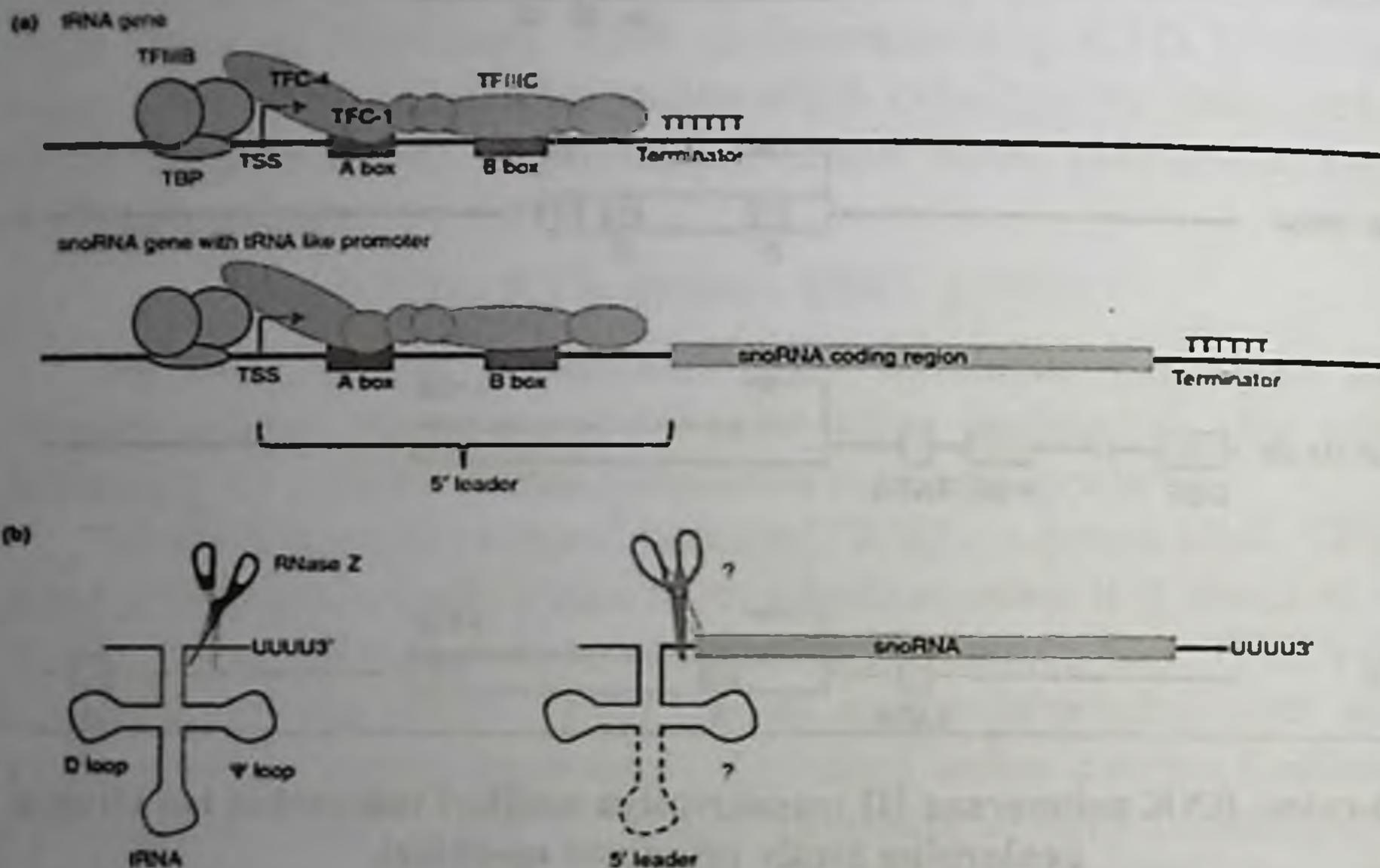
Kichik yadroli RNKlarning uchinchi sinfi genlari, masalan, yuqori eukariotlardagi U6-RNKlar faqat transkripsiyani boshlash nuqtasining yuqori oqimida joylashgan tartibga soluvchi elementlarni o'z ichiga oladi (5.33-rasm, 3-tur). Ushbu sinfning aksariyat genlarida tartibga soluvchi elementlar -30 pozitsiyasida joylashgan TATA ketma-ketligidan va -60 pozitsiyasida joylashgan proksimal ketma-ketlik elementidan (PSE) iborat. Odatda transkripsiyani boshlash nuqtasining holatini aniqlaydigan TATA elementi mavjudligiga qaramay, bu nuqtaning o'rnini PSE belgilaydi (5.33-rasm, 3-tur). RNK polimeraza II promotorlarida xuddi shunday vazifani TATA- bajaradi.

keyingi ketma-ketlik. PSE bilan kompleks hosil qiluvchi oqsil komponentlarining tarkibi to'liq organilmagan.

RNK polimeraza III tomonidan o'qiladigan tRNK genlarining promotori bu genlar ichida yotadi va taxminan 20 bp uzunlikdagi DNK segmenti bilan ajratilgan ikkita blokdan iborat (5.34a-rasm).

Shu bilan birga, genning bu hududi begona bilan zararsiz almashtirilishi mumkin. Qayta ishlash natijasida olib tashlangan intronni kodlovchi

tRNK genlari hududi transkripsiyaning boshlanishida rol o'ynamaydi. To'g'ri va faol transkripsiyani aniqlaydigan 5S RNK va tRNK genlari hududlarida nukleotidlar ketma-ketligi homologiyalarini topish mumkin. Tartibga soluvchi elementlar TFIIC omili tomonidan tan olinadi, ular bilan kuchli kompleks hosil qiladi (5.34-rasm).



5.34-rasm. RNK polimeraza III tomonidan transkripsiyalangan genlar tuzilishi sxemasi.

TFIIC promotor kompleksini tashkil etuvchi to'rtta polipeptid zanjiri bir-biri bilan aloqa qiladi va -25 va +75 pozitsiyalar orasidagi DNK mintaqasini qoplaydi (5.34 a rasm). Transkripsiyani boshlash nuqtasi yaqinidagi kanonik tartibga soluvchi element tegishli tRNK genlaridagi nukleotidlar ketma-ketligini tahlil qilish orqali lokalizatsiya qilindi.

promotor elementlari bilan o'zaro ta'sirini, turli transkripsiya omillari orasidagi oqsil-oqsil kontaktlarini va RNK polimeraza III va transkripsiya omillari o'rtasidagi oqsil-oqsil kontaktlarini anglatadi.

5.6 Ribosoma genlarining transkripsiya darajasini tartibga solish

Genning bitta nusxasiga ega bo'lgan va eng yuqori sintez tezligiga ega bo'lgan oqsillar uchun (masalan, miyogloblin) hujayra tsiklining har bir aylanishi uchun har bir mRNK molekulasini uchun 10 000 dan ortiq oqsil molekullari mavjud. Shu bilan birga, o'sib borayotgan hujayralar har bir hujayradagi 10 million ribosomalar yig'ilishi uchun hujayra

tsiklining har bir turida har bir turdagi ribosoma RNKsining 10 million molekulasini sintez qilishi kerak. Shuni ta'kidlash kerakki, ishlab chiqarish rentabelligi keskin o'sishi mumkin bo'lgan tarjima bosqichi yo'q, chunki rRNK bu genlarning yakuniy mahsulotidir. Bunda kerakli miqdordagi rRNK molekulalarining sintezi shu RNKlarni kodlovchi genlar (rRNK genlari) hujayra genomida juda ko'p nusxada ifodalanishi bilan ta'minlanadi.

Hayvonlarda ribosoma genlari faol genlarning umumiy sonining taxminan bir foizini tashkil qiladi, rDNK transkripsiyasi umumiy hujayra transkripsiyasining 30-40 foiziga to'g'ri keladi. Achitqilar, *Drosophila* va boshqa bir qator organizmlar misolida, ribosoma genlarining etarli nusxasi soni va transkripsiya darajasi normal o'sish va rivojlanish uchun juda muhim ekanligi bir necha bor isbotlangan. Misol uchun, ba'zi ribosoma genlarini inaktiv qiladigan mutatsiyalarni olib yuruvchi drozofillar kichikroq bo'lib, bunday pasayish darajasi inaktivlangan ribosoma genlari soniga bog'liq. Har bir gaploid *Drosophila* genomidagi buzilmagan ribosoma genlari soni 20 dan kam bo'lsa, mutatsiyalar o'linga olib keladi. Ribosomal genlarning transkripsiya darajasini tartibga solish hujayralarni stimulyatsiya qilish, o'sishni ingibirlash yoki differentsiatsiyalash kabi jarayonlar bilan bog'liq. Hujayra o'sishi ingibitorlari va differentsiatsiya induktorlari rDNK transkripsiyasini tezda bostirishga olib keladi, o'sish stimulyatorlari esa, aksincha, transkripsiya darajasini oshiradi. rDNKning transkripsiyasi ham hujayra siklining fazasiga qarab tartibga solinadi, mitoz paytida to'xtaydi.

Shuni ta'kidlash kerakki, rDNK transkripsiyasi darajasining o'zgarishi nur mikroskopida ko'rinadigan yadrolarda o'zgarishlar paydo bo'lishiga olib keladi. Bu o'zgarishlar hujayraning o'sish potentsialini yaxshi aks ettiradi va saratonning turli turlarini tashxislash va tahlil qilish uchun ishlatiladi. Shunday qilib, rDNK transkripsiyasini tartibga solish nafaqat o'sish tezligini tartibga solishda asosiy rol o'ynaydi. oddiy, balki o'simta hujayralari.

Bir qator tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, rDNK transkripsiyasi asosan boshlang'ich darajasida tartibga solinadi.

UBF omili bunday tartibga solishda asosiy rollardan birini o'ynashi yaxshi ma'lum. Bu omil SL1 transkripsiya faollashtiruvchisi va RNK polimeraza I ning tegishli promouterga samarali ulanishi uchun zarur. Bundan tashqari, UBF in vitro giston H1 tomonidan RNK polimeraza I promotorining repressiyasini engillashtirishi ko'rsatilgan. UBF,

shuningdek, DNK bilan faollashtirilgan ikki bo'linmali kinaz bo'lgan Ku antijeni tomonidan repressiyani engillashtiradi, bu o'ziga xos bo'lmagan DNKni bog'lash faolligiga ega va qo'shimcha ravishda RNK polimeraza I promotoriga yaqinlikni oshiradi.

RNK polimeraza I faolligini tartibga solishda odatda polimeraza bilan chambarchas bog'liq bo'lgan va ba'zan uning bo'linmalaridan biri hisoblangan omil C (TIF-1A deb ham ataladi) ishtirok etishi haqida dalillar mavjud. RNK polimeraza I ni tartibga solishda S omilining o'ziga xos roli hali etarlicha aniq emas.

Terminatorlar ketma-ketligi ichida ham, intergenik mintaqalarda joylashgan bir nechta kuchaytirgichlar ribosoma genlarining yuqori darajadagi transkripsiyasini saqlashda ishtirok etadilar. Kuchaytirgichning ishtiroki tartibga solinadimi yoki yo'qmi, agar shunday bo'lsa, bunday tartibga solish protein omillari bilan bog'liqmi yoki yo'qmi noma'lumligicha qolmoqda.

5.7 Eukariotlarda transkripsiya terminatsiyasi.

Eukariotlarda transkripsiyani terminatsiyasining uchta omili topildi, ular RNK polimerazalarini transkripsiya komplekslaridan terminatorlarda chiqarish uchun zarur - I, II va III RNK polimerazalari uchun bittadan.

Drosophila N-TEF oqsili RNK polimeraza II tomonidan sintez qilingan transkriptlarning chiqarilishini keltirib chiqaradi va uning ishlashi davomida ATP parchalanishi sodir bo'ladi.

Achitqilarda Reb-1 oqsil omili DNKdagi tabiiy transkripsiya terminatorlari bilan bog'lanib, bu terminatorlarda elongatsiyalangan RNK polimeraza I ning tutilishini va keyinchalik transkripsiya komplekslaridan RNKning chiqishini ta'minlaydi. Ribosomal transkripsiya birligidan Reb-1 bilan bog'lanish joyini o'chirish natijasida olib tashlash rRNK 3' uchlarini *in vivo* to'g'ri shakllanishini buzadi.

Bu hayvonlarning hujayralarida RNK polimeraza I tomonidan transkripsiyani to'g'ri tugatish uchun DNKni bog'lovchi oqsil ham bo'lgan sichqon TTF-1 omili talab qilinadi. Shuningdek, ular RNK bilan maxsus o'zaro ta'sir qiluvchi LA oqsilini topdilar, uning ishlashi RNK polimeraza III ta'siri ostida to'liq uzunlikdagi transkriptlarni hosil qilish uchun zarur bo'lib, bu RNKning transkripsiya komplekslaridan chiqishi va qayta tiklanishi natijasida yuzaga keladi.

Eukaryotlarda transkripsiyani terminatsiyasi hali ham yaxshi organilmagan jarayondir. Biroq, bu gendan tashqarida spacer

mintaqasida sodir bo'lishi aniq. Turli genlarga tutashgan tugatish zonalarining nukleotidlar ketma-ketligi bir qator gomologik hududlarni o'z ichiga oladi, ammo hozirgi vaqtda tugatish signallarining tabiati masalasi ochiqlicha qolmoqda. Bu tugatish zonalarida mutageniz tajribalarini talab qiladi.

RNK polimeraza ta'sirida RNK sintezining to'xtashi va transkripsiya kompleksidan RNKning chiqishi DNK ning maxsus bo'limlarida - transkripsiya terminatorlarida transkripsiya birliklarining oxirida sodir bo'ladi.

Turli xil samaradorlik bilan ishlaydigan transkripsiya terminatorlari ham transkriptonlar ichida joylashgan bo'lishi mumkin. Bunday terminatorlar tegishli genlarning transkripsiya darajasini tartibga soluvchi omillardir. Ba'zi terminatorlarda transkripsiyani tugatish uchun RNK polimerazalari qo'shimcha protein omillarini talab qilmaydi, boshqa terminatorlar esa ularsiz ishlamaydi.

Odam mitoxondriyal DNK transkripsiyasi terminatsiyasi.

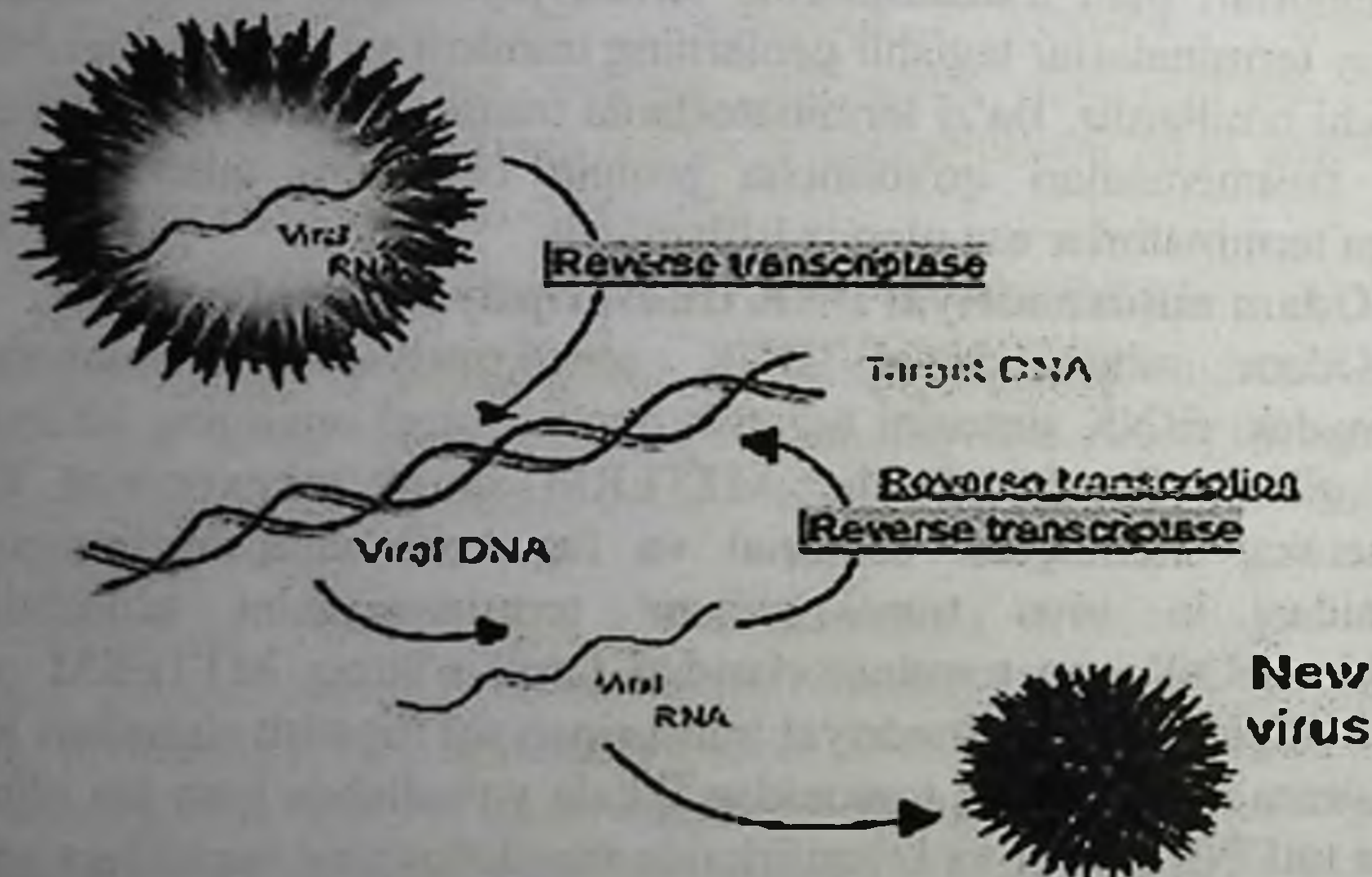
Odam mitoxondriyal DNK transkripsiyasini terminatsiyasi, shuningdek, rRNK sintezini tugatish maxsus oqsil omilining ishtirokini talab qiladi. Bunday holda, MTTERM omili mitoxondriyal RNK polimeraza, shuningdek bakterial va fag kelib chiqishi fermentlari tomonidan in vivo transkripsiyani terminatsiyasini tezlashtirishi mumkin. rRNK gen terminatorlaridan farqli o'laroq, MTTERM omili bilan kompleksda mitoxondriyal transkripsiyaning tugatish signallari RNK polimeraza molekulalari tomonidan ikkala yo'nalishda ham tan olinadi, bu esa mtDNKning H va L zanjirlarida transkripsiyaning tugatishga imkon beradi. Natijada, bitta umumiy terminator ikkala qarama-qarshi yo'naltirilgan mitoxondriyal promouterlardan transkripsiya mahsulotlarining muvozanatli shakllanishini ta'minlashi mumkin.

Eukariotlarda transkripsiyaning tugashi kamroq o'rganilgan. U RNKni kesish bilan tugaydi, shundan so'ng ferment uning 3' uchiga bir nechta adeninlarni (...AAAA) qo'shadi, ularning soni berilgan transkriptning barqarorligini belgilaydi.

Teskari transkripsiya

Ba'zi viruslar (masalan, OITS infeksiyasini keltirib chiqaradigan odamning immunitet tanqisligi virusi) RNKni DNKga ko'chirish qobiliyatiga ega (5.38-rasm). OITS DNKga integratsiyalashgan RNK genomiga ega. Natijada, virusning DNKsi hojayin hujayraning genomi bilan birlashtirilishi mumkin.

DNKning RNK ga sintezi uchun mas'ul bo'lgan asosiy ferment revertaza deb ataladi (5.38-rasm). Revertaza funksiyalaridan biri virus genomidan komplementar DNK (cDNK) yaratishdir. Bog'langan ribonukleaza H fermenti RNKni parchalaydi va teskari DNKning ikkinchi zanjirini sintez qiladi. cDNK hojayin hujayra genomiga integraza orqali integratsiyalanadi. Natijada yangi viruslarni hosil qiluvchi hojayin hujayra tomonidan virusli oqsillarni sintez qilish sodir bo'ladi. OITS holatida T-limfotsitlarning apoptozi (hujayra o'limi) ham dasturlashtirilgan. Boshqa hollarda hujayra viruslarning tarqatuvchisi bo'lib qolishi mumkin.



5.38-rasm. Teskari transkripsiya sxemasi.

Ba'zi eukaryotik hujayralar telomeraza fermentini o'z ichiga oladi, bu ham teskari transkripsiya faolligini oshiradi. Uning yordami bilan DNKdagi takrorlanuvchi ketma-ketliklar sintezlanadi. Telomeraza ko'pincha saraton hujayralarida faollashadi va protein kodlovchi DNK ketma-ketligini yo'qotmasdan genomni cheksiz ko'paytiradi. RNKga bog'liq bo'lgan DNK polimerazadan foydalangan holda RNK o'z ichiga olgan ba'zi hayvonlar viruslari virusli RNKni to'ldiruvchi DNKni sintez qilishga qodir. U eukaryotik hujayraning genomiga integratsiyalangan bo'lib, u erda ko'p avlodlar uchun yashirin bo'lib qolishi mumkin. Muayyan sharoitlarda (masalan, kanserogenlar ta'sirida) virusli genlar faollashishi mumkin va sog'lom hujayralar saratonga aylanadi.

Nazorat savollari

1. Prokariotlarda transkripsiyaning boshlanishi, cho'zilishi va tugashi qanday sodir bo'ladi?
2. Antiterminatsiya va rho-bog'liq transkripsiyani tugatish qanday amalga oshiriladi?
3. Eukariotlarda transkripsiya boshlanishi qanday sodir bo'ladi?
4. Oqsillar tipik eukaryotik promotorda qanday joylashgan?
5. Proksimal promotor elementlarning transkripsiya omillari bilan o'zaro ta'siri qanday sodir bo'ladi?
6. Eukariotlarda alohida transkripsiya bosqichlari komplekslarining tuzilishi qanday shakllanadi?
7. Bakteriyalarda transkripsiya uzayishida qanday oqsil omillari ishtirok etadi?
8. Qanday transkripsiya boshlanishi va cho'zilish omillari RNK polimeraza II bilan komplekslarni hosil qiladi?
9. Ribosomal genlarning transkripsiya darajasi qanday tartibga solinadi?
10. Eukariotlarda transkripsiyaning tugashini omillar qanday boshlaydi?
11. Qanday komplekslar transkripsiya zavodlari deb ataladi va ular qanday vazifalarni bajaradi?
12. Viruslarda teskari transkripsiya qayerda va qanday amalga oshiriladi va RNK telomerazaning teskari transkripsiyasi yordamida telomerlar qanday uzaytiriladi?

6.8 mya RNP va odam kasalliklari

Kichik yadroli (snRNP) va kichik yadroviy (sno) RNPlar bo'yicha tadqiqotlar ko'plab jiddiy kasalliklarni yaxshiroq tushunishga yordam berdi.

Orqa miya mushaklarining atrofiyasi

Omon qolish motorli neyron 1 (SMN1) genidagi mutatsiyalar orqa miya harakatlanish neyronlarining degeneratsiyasiga va mushaklarning kuchli atrofiyasiga olib keladi. Orqa miya mushaklarining atrofiyasi 6000 kishidan 1 tasiga to'g'ri keladi va nerv muskul kasalliklari bo'yicha Duchenne mushak distrofiyasidan keyin ikkinchi asosiy sabablardan hisoblanadi.

Tugma diskeratoz

Mya RNPlardagi mutatsiyalar tugma diskeratoz sababi bo'lib, teri, tirmoq va shilliq pardalardagi patologik o'zgarishlar sifatida namoyon

bo'ladigan noyob sindromdir. Ushbu kasallikning ba'zi ogir ko'rinishlariga suyak iligi etishmovchiligi, shuningdek saraton kiradi. Ushbu sindrom diskerin, telomeraza RNK va telomeraza teskari transkriptaza kabi bir nechta genlardagi mutatsiyalar natijasida paydo bo'ladi.

Prader-Villi sindromi

Ushbu sindrom 12 000 dan 1 da uchraydi.

Odamda haddan tashqari ochlik hissi, kognitiv va xulq-atvor muammolari bilan namoyon bo'ladi; shuningdek, zaif mushak tonusi va past bo'ylik kuzatiladi. Sindrom ona xromosomasida ekspresiyalanmaydigan 15-ota xromosomasi delesiyasi bilan bog'liq. Bu hudud miyaga xos snRNKlarni o'z ichiga oladi, ularning ta'siri serotonin-2C retseptorlari mRNKga qaratilgan.

Nazorat savollari

1. SnRNKning qanday sinflari mavjud va ular qanday vazifalarni bajaradi?
2. U 1 mRNA qo'shilishining boshlanishida qanday qismni oladi?
3. SnRNK birikmasi qanday sodir bo'ladi?
4. Yadro eksporti tizimlari qanday shakllanadi va ularning snRNKni qayta ishlashdagi roli qanday?
5. snRNKning yadroga teskari ko'chishi va spliseosomalarning hosil bo'lishi qanday sodir bo'ladi?
6. Pre - RNK ning transkripsiyasida qaysi RNK polimerazalar ishtirok etadi?
7. Nukleolyar snRNK (snoRNK) ni qayta ishlash va kesish qayerda sodir bo'ladi?
8. SnRNK mutatsiyalari insonning qanday kasalliklari bilan bog'liq?

7. BOB. RNKNING YETILISHI

Agar prokariot organizmlarda yangi transkripsiyalangan mRNK funksional faol bo'lsa va uning 3' uchi sintez qilinmasdanoq darhol translatsiya qilina boshlasa, eukariotlarda transkripsiyadan so'ng pre-mRNK hosil boladi. Yadrodan faqat to'g'ri pishgan mRNK tashiladi va faqat sitoplazmada translatsiya qilinadi. Transport va ribosomal RNK pro- va eukariotlarda etiladi. Yetilish nima? Yetilish, birinchi navbatda, RNKning kichikroq bo'laklarga bo'linishi, shu jumladan splaysingni oz ichiga olgan holda - RNK molekulasining o'rtasidan fragmentni kesishi. Ba'zida ikkita RNK fragmentlari qismlarini almashishi mumkin, bunga trans-splaysing deyiladi. Poliadenil kislotasi poliadenillanish jarayonida eukaryotik organizmlarning mRNKsiga qo'shiladi. Yetilish RNKning kovalent modifikatsiyalarini ham o'z ichiga oladi. Yetilishning bu turi ribosoma RNK kabi funksional RNKlarga xosdir. Yetilishning eng ekzotik turi mRNKning ma'lum joylariga qo'shimcha nukleotidlar qo'shilganda tahrirlashdir.

7.1 RNKning prosesingi. mRNKning etilishi.

RNKni qayta ishlash (RNKning transkripsiyadan keyingi modifikatsiyalari) - bu birlamchi transkriptning etuk RNKga aylanishiga olib keladigan eukaryotik hujayralardagi jarayonlar to'plami.

RNK turiga (matritsali, ribosomal, transport, kichik yadroli) qarab, ularning prekursorlari turli xil ketma-ket modifikatsiyalarga uchraydi. Misol uchun, boshlangich RNK prekursorlari kepirlash, prosesing, poliadenillanish, metillanish va ba'zan tahrirlashdan o'tadi.

mRNKning etilishi.

mRNKning yetilishi eukaryotik hujayralar yadrosida sodir bo'ladi. Bu, qoida tariqasida, transkripsiya paytida boshlanadi. Hujayra mRNKlarining katta qismi yopilgan, ya'ni. m⁷Gppp mRNKning 5 uchiga qo'shiladi. Trifosfat guruhi mRNKning 5 uchini va metillangan guanozinning 5-OH qismini bog'laydi. mRNKning 3' uchiga poliadenil kislotasi qo'shiladi. Ko'pchilik eukaryotik genlar uzluksiz tuzilishga ega, ya'ni. mRNK kodlash hududlari (eksonlar) intronlar bilan kesishadi - qo'shilish paytida pre-mRNKdan kesilgan hududlar. Qopqoqlik, qo'shilish va poliadenillanish uchun mas'ul bo'lgan oqsil komplekslari bir-biri bilan, shuningdek, RNK polimeraza II bilan o'zaro ta'sir qiladi. RNK polimeraza II ning CTD ning fosforlangan shakli, ya'ni. cho'zilgan

RNK polimerazasining shakli xarakteristikasi pishib etish apparatini biriktirish uchun platforma bo'lib xizmat qiladi.

8-BOB. GEN FAOLLIGINING REGULATSIYASI

8.1 Genlar faolligining regulatsiyasining^{9*} umumiy tamoyillari va mexanizmlari.

Bakteriyalar atrof-muhitdagi o'zgarishlarga tezda javob berishlari kerak. Ularning omon qolishi metabolizmni bir substratdan ikkinchisiga o'tkazish qobiliyatiga bog'liq, chunki ozuqa moddalarining ta'minoti doimiy ravishda o'zgarishi mumkin. Bakteriya tegishli substrat bo'lmaganda u yoki bu metabolik yo'lning fermentlarini sintez qilmaydi, lekin ular paydo bo'lgan har qanday vaqtda sintezini boshlashga qodir. Bunday javobni amalga oshirish uchun bakterial genlar shunday birlashtirilganki, ma'lum bir biosintetik yo'l uchun zarur bo'lgan fermentlar umumiy nazorat ostidagi genlar tomonidan kodlanadi. Betagalaktozid bo'lmaganida *E. coli* hujayralari uni parchalaydigan juda oz miqdordagi ferment molekulalarini o'z ichiga oladi - tom ma'noda bir necha bo'lak boladi. Fermentning vazifasi beta-galaktozid molekulasini shakar tarkibiy qismlariga ajratishdir. Masalan, laktoza glyukoza va galaktozaga bo'linadi, ular o'z navbatida keyingi metabolizmda ishlatiladi. Galaktozid qo'shilsa, 2-3 daqiqada paydo bo'ladigan yangi molekulalarning sintezi natijasida bakteriya hujayralarida ferment faolligi juda tez ortadi. Tez orada ularning hujayradagi soni 5000 dan oshadi. Substrat muhitdan chiqarilganda ferment sintezi boshlanganidek tez to'xtaydi.

Substrat ta'sirida sintezlanishi tufayli ferment faolligining tez ortishi induksiya deb ataladi va substrat ta'sirida ham faollikning pasayishi gen repressiyasi deb ataladi. Genlarni o'z mahsulotlarining ta'sir qilish printsipiga ko'ra ikki guruhga bo'lish mumkin. Enzimatik yoki strukturaviy funktsiyalar uchun zarur bo'lgan oqsillarni kodlaydigan genlar strukturaviy genlar deb ataladi. Aksariyat bakterial genlar ushbu toifaga kiradi, shuning uchun ular juda ko'p turli xil protein funktsiyalari va tuzilmalarini ifodalaydi. Boshqa genlarning ifodalanishini tartibga soluvchi oqsillarni kodlaydigan genlar tartibga soluvchi genlar deb ataladi. Tartibga soluvchi gen mahsulotlari erkin tarqalib, faollashuv uchun mos maqsadlarni topgani uchun, genlarning bunday o'zaro ta'siri trans-regulyatsiya deb ataladi. Trans-ta'sir qiluvchi oqsil maqsadli genni ijobiy tartibga solishi mumkin, agar o'zaro ta'sir

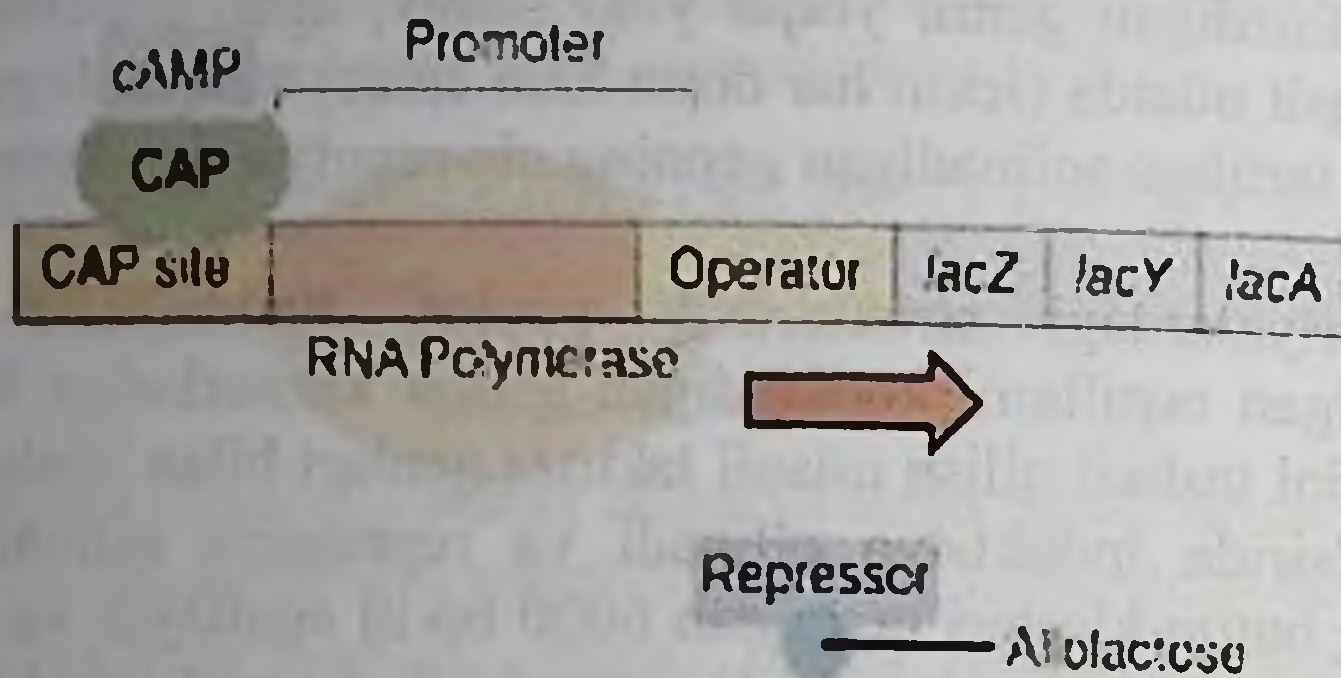
tartibga solinadigan genni yoqsa yoki salbiy, agar u o'chsa. Tartibga soluvchi oqsil odatda (lekin har doim ham emas) maqsadli gen yaqinida joylashgan tartibga solinadigan genning cis-regulyatsiya ketma-ketligiga bog'lanadi.

Bakteriyalardagi strukturaviy genlar, funktsiyalari bir-biriga bog'liq bo'lgan oqsillarni kodlaydigan genlar klasterlariga bo'linadi. E. coli klasterini tashkil qilish misoli laktoza genlari bilan ifodalanadi, ular substrat ta'sirida induksiya qilinadi va repressiya qilinadi. Laktoza genlarining butun klasteri taxminan 6000 bp ni egallaydi va uchta lacZ, lacY va lacA genlaridan iborat. Operon faolligi regulyatori bo'lgan lacI geni 1111 bp dan iborat bo'lib, Lac operon genlaridan alohida transkripsiya qilinadi va o'z promouteri va terminatoriga ega. LacI genining oxiri darhol laktoza operonining promouteriga (P) ulashgan, birinchi 26 bp. lacZ geni operator (O) tomonidan ishg'ol qilinadi. 3510 bp uzunlikdagi lacZ genidan keyin 500 bp lacY va 800 bp lacA genlari, shuningdek, umumiy transkripsiya terminatori mavjud. Genlar quyidagi funktsiyalarni bajaradi: lacZ mahsuloti (beta-galaktozidaza) beta-galaktozidni uning tarkibidagi qandlarga parchalaydi, lacY mahsuloti beta-galaktozid o'tkazuvchanligi hisoblanadi, u hujayra ichiga beta-galaktozidni tashiydi. LacA geni atsetil guruhini asetil-KoA dan beta-galaktozidga o'tkazuvchi ferment bo'lgan transatsetilaz oqsilini kodlaydi. LacZ va lacY genlaridagi mutatsiyalar hujayralar laktoza ishlata olmaydigan Lac⁻ fenotipini keltirib chiqaradi. lacZ mutantlarida beta-galaktozidaza fermentativ faolligi yo'q. LacY genidagi mutantlar atrof-muhitdan laktoza ozlashtira olmaydi. LacA genidagi mutantlar fenotipik ko'rinishlarga ega emas, bu juda kutilmagan holatdir.

Ushbu butun tizim, jumladan, strukturaviy genlar va ularning ekspressiyasini boshqaruvchi elementlar, operon deb ataladigan umumiy birlikni tashkil qiladi. Operon modeli 1961 yilda F. Yakob va J. Monod tomonidan taklif qilingan. Bu gen faolligini tartibga solishning haqiqiy mexanizmini ko'rish imkonini berdi.

8.2 Prokariotlarda transkripsiyani tartibga solish.

Yakob va Monodning negativ induksiya sxemasi. Hujayrada laktoza bo'lmasa, lak operon o'chiriladi (8.1-rasm). Operatorga ega bo'lmagan alohida monotsistronik operonda (LacI) kodlangan faol repressor oqsili lak operon operatori bilan bog'langan. Operator promotor bilan ustma-ust tushganligi sababli RNK polimeraza promotorga tusha olmaydi (8.1-rasm).



8.1-rasm - Laktoza operoni repressorning operatorga birikishi yo'qolganda ishlaydi.

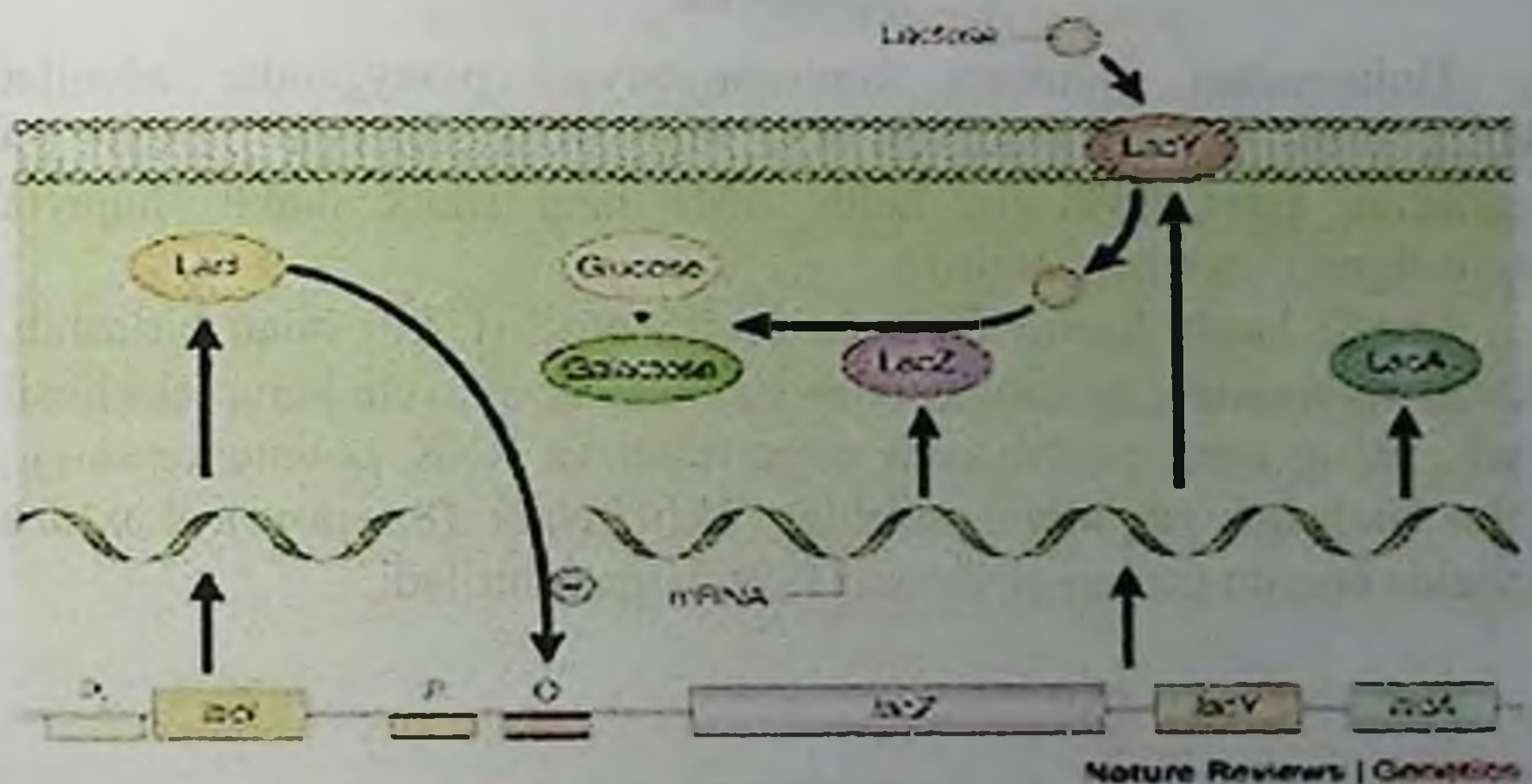
Hujayraga ma'lum miqdorda laktoza kirishi bilan substratning ikkita molekulasini (laktoza) repressor oqsil bilan o'zaro ta'sir qiladi, uning konformatsiyasini o'zgartiradi - va u operatorga yaqinligini yo'qotadi (8.1-rasm). Lak operonning transkripsiyasi va hosil bo'lgan mRNKning translatsiyasi darhol boshlanadi; uchta sintezlangan oqsil laktozadan foydalanishda ishtirok etadi. Barcha laktoza qayta ishlanganda, laktoza bo'lmagan repressorning yana bir qismi lak operonni o'chiradi. Repressor oqsili ikkita bog'lanish joyiga ega: biri induktor uchun, ikkinchisi operator uchun. Induktor (laktoza) hujayralarga kirib, uning joyiga bog'langanda, u oqsil molekulasining konformatsiyasini boshqa joyning bog'lanish qobiliyatini buzadigan tarzda o'zgartiradi. Natijada, repressor transkripsiyani cheklash qobiliyatini yo'qotadi va u boshlanadi. Induktor olib tashlanganida, repressor transkripsiyani to'xtatib, operatoridagi o'z pozitsiyasini tiklaydi. Mikroorganizmlarda genlarning operon tashkil etilishining asosiy afzalligi faoliyatni tartibga solishni muvofiqlashtirishdir: barcha genlar birlikda ifodalangan (8.1-rasm). 1997 yilda yakunlangan E. coli genomik loyihasini amalga oshirish jarayonida olingan ma'lumotlarga ko'ra, to'liq DNK sekvenirligi bilan Escherichia coli genomi aniqlandi va 2584 operon bashorat qilindi. Ularning 73%ida bitta sistron (tistron gen, funktsiya birligi), 16%ida 2 sistron, 4,6%ida 3 tsistron, 6%ida 4 va undan ortiq tsistron (jumladan trp-, his-operonlar) mavjud. Ularning barchasi kamida bitta promouterga ega va ular maxsus funktsional nazorat joylari orqali tartibga soluvchi oqsillar tomonidan nazorat qilinadi.

Yakob va Mononing negativ induksiya sxemasi shunday deb ataladi, chunki transkripsiyani boshqaruvchi omil salbiy omil, "kalit" -

repressor oqsildir. Induksiya (yoqish) repressor oqsili operatorga yaqinligini yo'qotganda sodir bo'ladi.

Salbiy induksiya (yoqish) repressor oqsili operatorga yaqinligini yo'qotganda sodir bo'ladi.

Agar hujayradagi glyukoza konsentratsiyasi metabolizmni saqlab qolish uchun etarli bo'lsa, laktoza operonining faollashuvi sodir bo'lmaydi. Laktoza operonining faoliyatini tartibga solishning bunday mexanizmi salbiy induksiya deb ataladi. "Salbiy induktor" glyukoza bo'lib, u laktoza operonining faolligini bostiradi (8.2-rasm). Agar glyukoza bo'lmasa, u holda cAMF katabolik repressiya oqsili (CAP) bilan birlashadi va CAP · cAMF kompleksi hosil bo'ladi, bu esa uni faollashtiradi. RNK polimerazasini promotor bilan bog'lash. Laktoza borligida lak operon yoqiladi va ishlaydi (8.2-rasm).



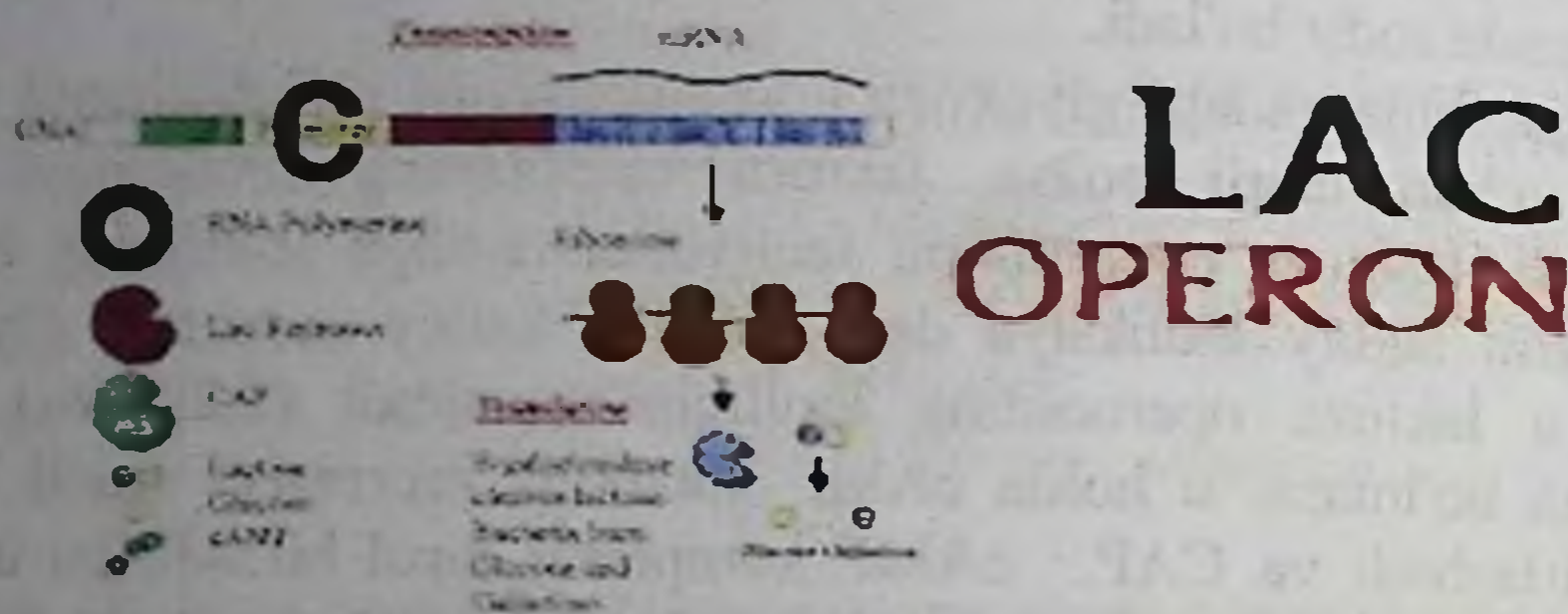
Rasm 8.2 - E. Coli-da laktoza operonining ishlashi.

Glyukoza bo'lmaganda cAMF hujayrada to'planadi, u adenilatsiklaza fermenti ta'sirida ATF dan hosil bo'ladi. Fosfodiesteraza fermenti cAMF ni AMF ga aylantiradi. Glyukoza fosfodiesterazani faollashtiradi va adenilatsiklazani inaktiv qiladi. Hujayrada glyukoza qancha ko'p bo'lsa, cAMF shuncha kam bo'ladi

Katabolik repressiya

Laktoza operonining promotorlar ketma-ketligi "zaif", shuning uchun operator joyida repressor oqsili bo'lmasa ham, transkripsiya deyarli boshlanmaydi. Glyukoza ishtirokida katabolik repressiya cAMF sintezini ingibirlashi bilan bog'liq (8.4-rasm). Glyukoza mavjud bo'lganda, E. coli uchun boshqa shakarlardan - laktoza, galaktoza,

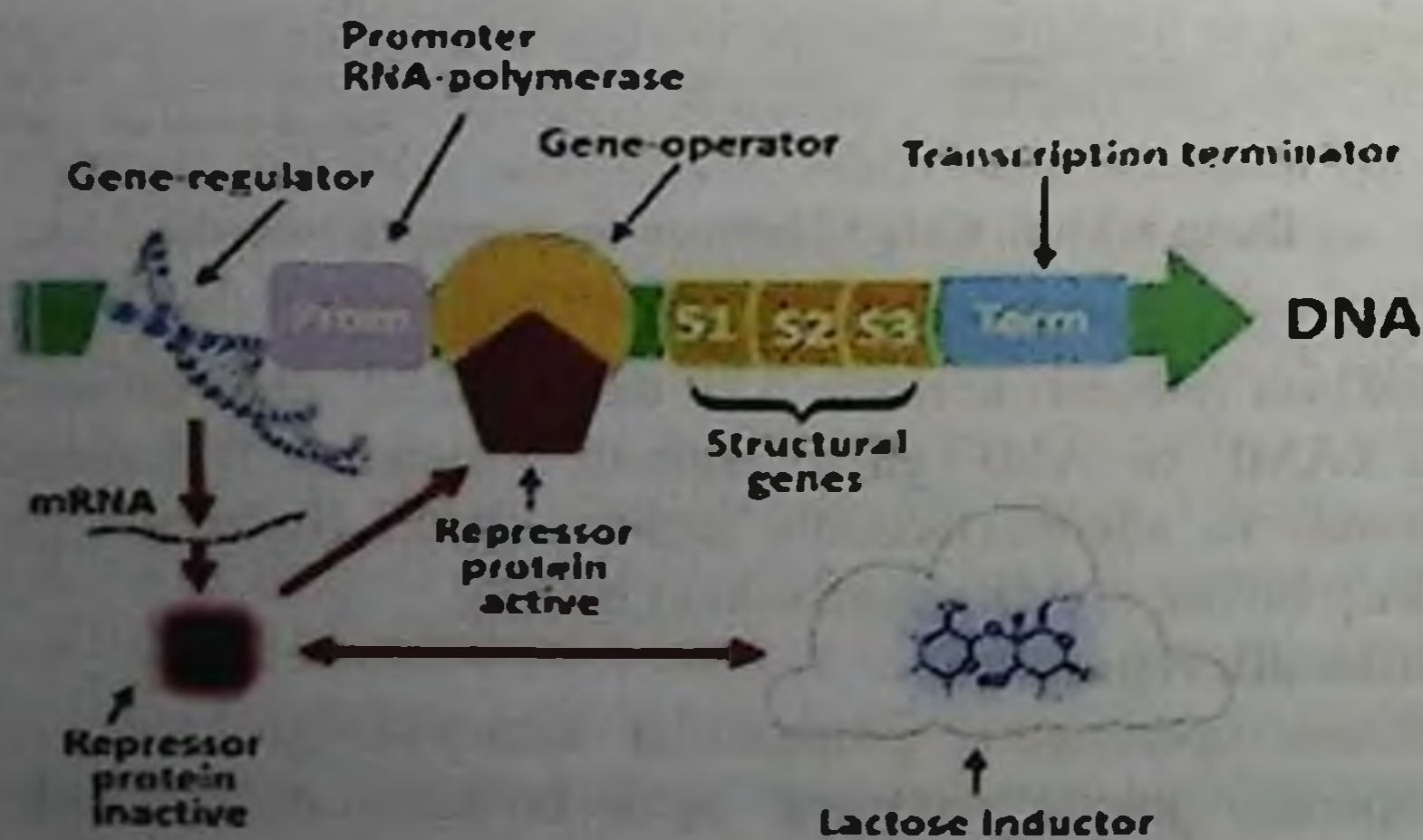
maltozadan foydalanish foydali emas. Glyukoza o'sish davri 50 minut, laktozada - 80 minut.



8.4-rasm - Glyukoza ishtirokida E. coli Lac operonining katabolik repressiyasi.

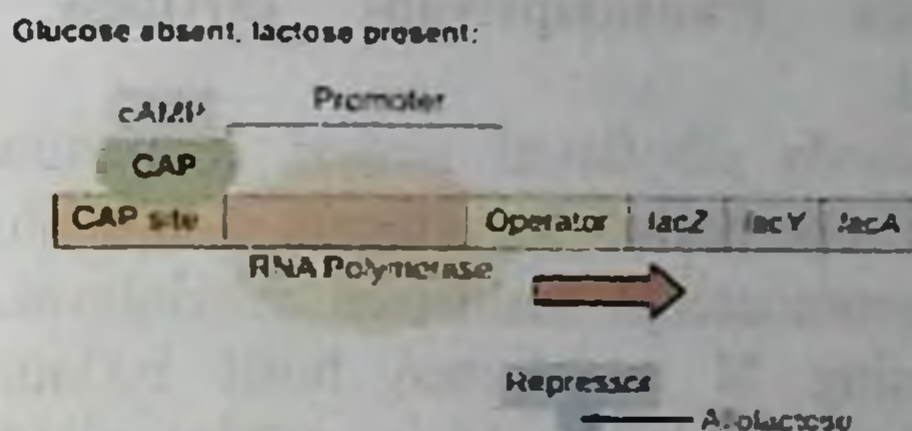
Hujayradagi glyukoza konsentratsiyasi pasayganda, adenilat siklaza fermenti faollashadi, bu ATF ning siklik shakliga - cAMF ga aylanishini katalizlaydi (bu holda AMF ning siklik shakli "hujayra ochlik signali" deb ham ataladi).

cAMF katabolizmni faollashtiruvchi oqsil (CAP) bilan birlashib, laktoza operonining promotori bilan o'zaro ta'sir qiluvchi kompleks hosil qiladi, uning konformatsiyasini o'zgartiradi va RNK polimerazasining ushbu hududga yaqinligi oshishiga olib keladi (8.5-rasm). Laktoza borligida operon genlari ekspressiyasi amaiga oshiriladi.



Rasm 8.5 - Lak operonning ijobiy nazorati.

Laktoza operonining bir qismi bo'lgan genlarning transkripsiyasini tartibga solishning tavsiflangan mexanizmi tufayli bakteriyalar laktoza metabolik fermentlarini doimiy ravishda emas, balki hujayraga kerak bo'lganda sintez qilish orqali energiya xarajatlarini optimallashtiradi (8.6-rasm). Xuddi shunday tartibga solish mexanizmi ko'pchilik prokaryotlarda mavjud; eukariotlarda u ancha murakkab.

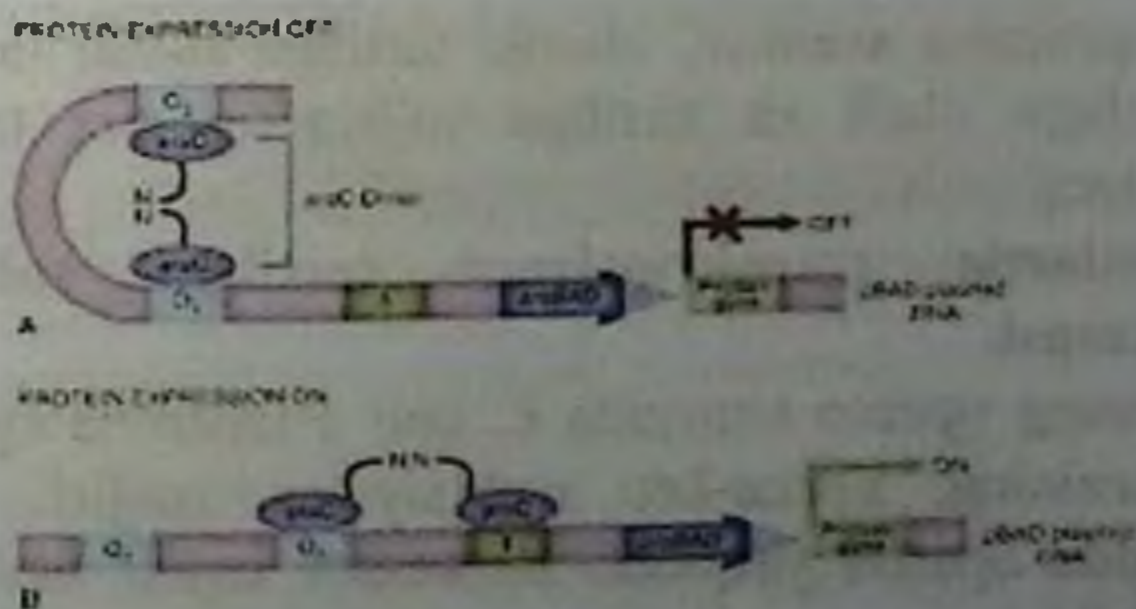


Rasm 8.6 - Gen faolligini tartibga solish.

Demak, laktoza hazm qiluvchi fermentlar *E. coli* hujayrasida ikki sharoitda sintezlanadi: 1) laktoza mavjudligi; 2) glyukoza etishmasligi. Laktoza konsentratsiyasiga qarab laktoza operonini tartibga solish salbiy teskari aloqa printsipligiga muvofiq amalga oshiriladi: laktoza qancha ko'p bo'lsa, uning katabolizmi uchun ko'proq fermentlar boladi (ijobiy to'g'ridan-to'g'ri aloqa); fermentlar qancha ko'p bo'lsa, laktoza shunchalik kam bo'ladi, laktoza qanchalik kam bo'lsa, fermentlar kamroq ishlab chiqariladi (ikki marta salbiy fikr).

Prokariotlarda transkripsiyani tartibga solish. Ijobiy induksiya sxemasi.

E. coli ning Ara operoni 3 ta tsistronadan iborat bo'lib, ular glukozaning arabinozasini parchalovchi fermentlarni kodlaydi. Odatda operon yopiq. Repressor oqsili operator bilan bog'langan (8.7-rasm).



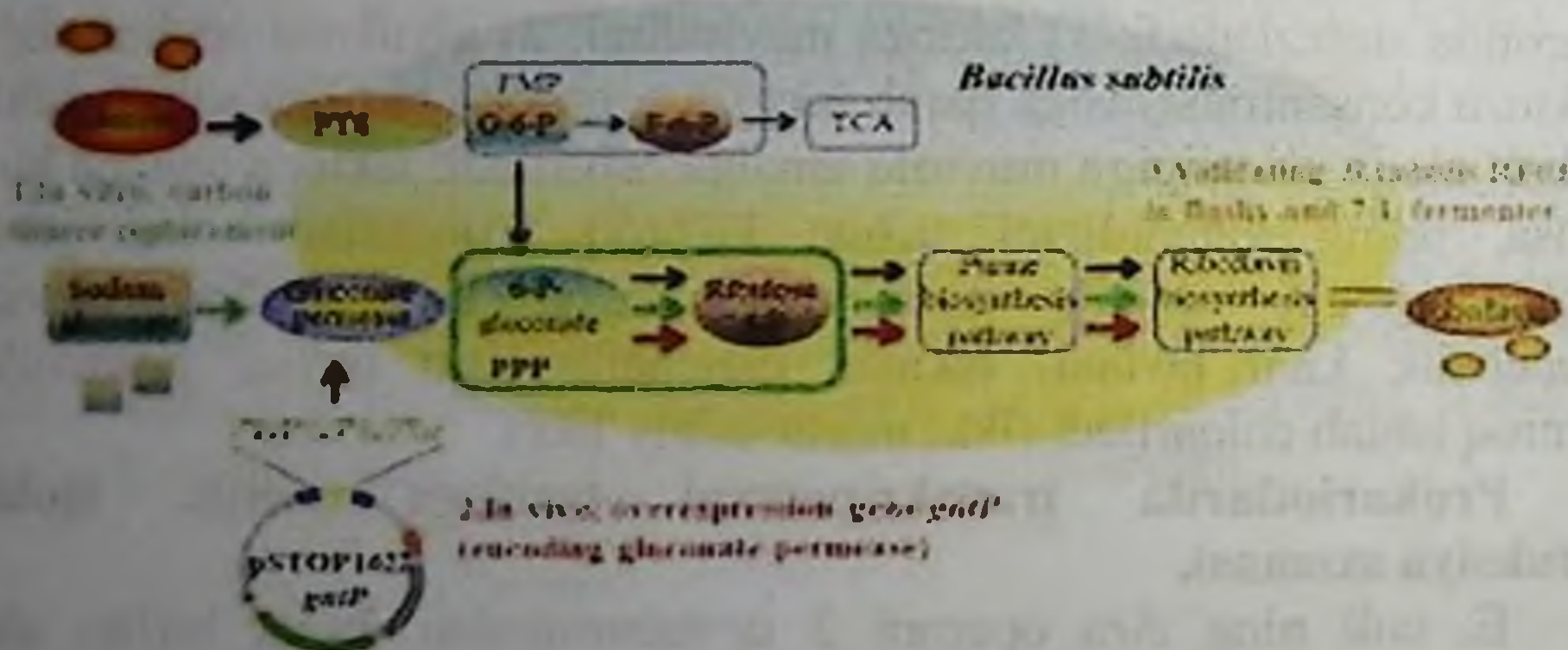
8.7-rasm - *E. coli* Ara operonida musbat induksiya sxemasi. Odatda operon yopiq bo'ladi. Repressor oqsili operator bilan bog'langan

Arabinoza hujayra ichiga kirganda, u repressor oqsil bilan o'zaro ta'sir qiladi. Repressor oqsili konformatsiyani o'zgartiradi va repressordan aktivatorga aylanadi, promotor bilan o'zaro ta'sir qiladi va RNK polimerzasini promotorga bog'lanishini osonlashtiradi.

Ushbu tartibga solish sxemasi musbat induksiya deb ataladi, chunki boshqaruvchi element - aktivator oqsili - operon ishini "yoqadi".

Prokariotlarda transkripsiyani tartibga solish. Ijobiy repressiya sxemasi.

*Bacillus subtilis*da riboflavin sintezi fermentlari uchun genlar (tsistronlar) bitta operonda joylashgan. Aktivator oqsili RNK polimerzasining promouterga tushishini ta'minlaydi. Odatda operon ochiq. Riboflavinning N molekulasini hosil bo'ladi. N+1-molekula (qo'shimcha) aktivator bilan o'zaro ta'sir qiladi va u RNK polimerzasining promotorga tushishini faollashtirish qobiliyatini yo'qotadi (8.8-rasm).



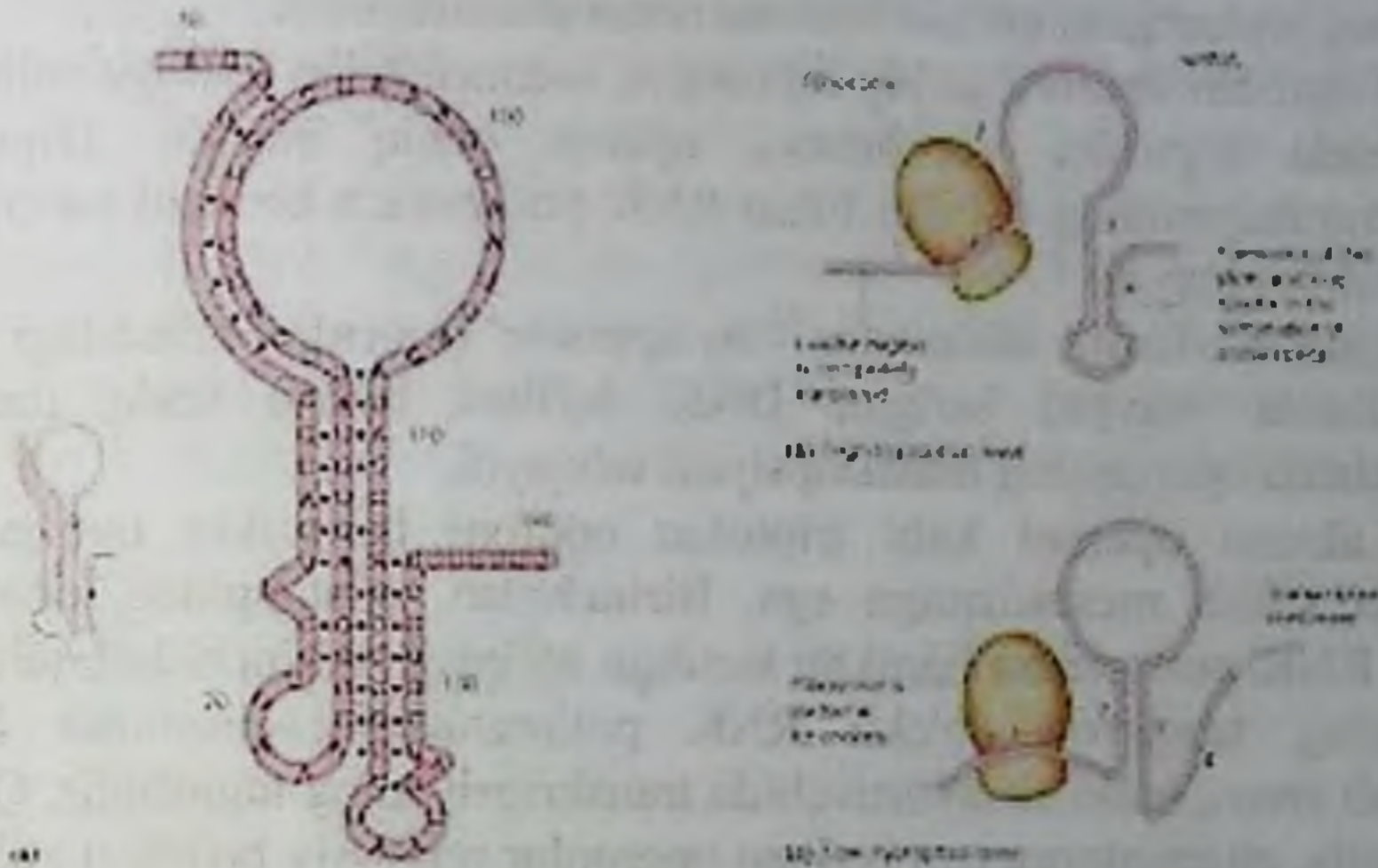
8.8-rasm - Ijobiy repressiya sxemasi (*Bacillus subtilis*da riboflavin sintezi operoni).

Ijobiy repressiya sxemasi, chunki tartibga solish faollashtiruvchi oqsilni o'z ichiga oladi va tartibga solishning o'zi transkripsiyani o'chirishdan iborat.

Prokariotlarda transkripsiyani tartibga solish. Salbiy repressiya sxemasi.

Triptofanning operon sintezida *E. coli* 5 tsistrona ega bo'lib, ular triptofan sintezining ketma-ket reaksiyalar zanjiri fermentlarini kodlaydi. Odatda operon yoqiladi. Repressor oqsili faol emas (apo-repressor shaklida), u operator bilan bog'lana olmaydi. Hujayra triptofanning N molekulasiga muhtoj. N+1 molekulasini apo-repressor

bilan o'zaro ta'sir qiladi. U konformatsiyani o'zgartiradi, operatorga o'tiradi va RNK sintezi to'xtaydi (8.9-rasm).



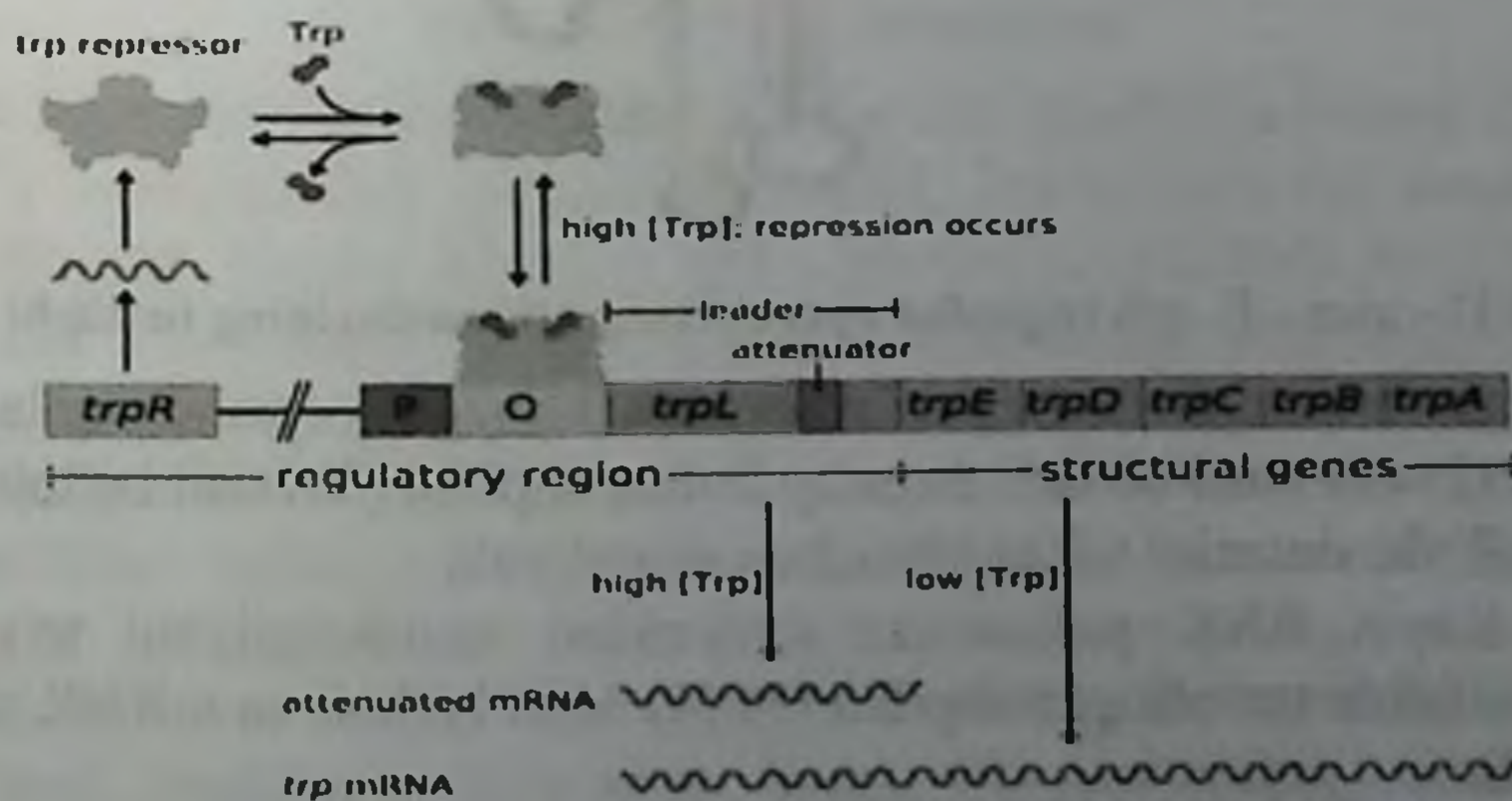
Rasm8.9 - Salbiy repressiya sxemasi (E. coli da triptofan sintezi operoni.)

Tartibga solish sxemasi salbiy repressiyadir, chunki repressor oqsili operonni "o'chiradi".

Yoqish va o'chirishning "qo'pol sxemasi" dan tashqari, triptofan sintezining nozik tartibga solinishi ham mavjud - attenuasiya.

Triptofan operoni repressiv operonlarga misoldir

Triptofan operoni misolida susaytirish tizimini ko'rib chiqamiz E.coli (8.10-rasm).



Rasm8.10 - Triptofan operoni: ortiqcha triptofan bilan transkripsiyani bostirish.

Operator va birinchi tistron o'rtasida uzun bo'lak mavjud (162 bp), bu Shine-Dalgarno ketma-ketligini o'z ichiga oladi. U tsistronga yaqinroq joylashgan, qolgan hamma narsa attenuatoridir.

Triptofan operoni salbiy repressiya sxemasi bilan tartibga solinadi. Hujayrada triptofan yetishmasa, operon ochiq bo'ladi. Triptofan konsentratsiyasining oshishi bilan RNK polimeraza birinchi tsistronga ham etib bormaydi

Eslatib o'tamiz: attenuator - bu operator va genlar o'rtasidagi ba'zi operonlarda mavjud bo'lgan DNK bo'limi bo'lib, unda ma'lum sharoitlarda operonning transkripsiyasi to'xtaydi.

Laktoza operoni kabi triptofan operoni ham ikki tomonlama tartibga solish mexanizmiga ega. Birinchidan, odatdagidek, operator orqali RNK polimeraza harakati tartibga solinadi. Ikkinchidan, tartibga solishning sezgirroq ob'ekti RNK polimerazasini promotor bilan bog'lash emas, balki susaytiruvchida transkripsiyaning tugashidir. Qoida tariqasida, attenuatorga ega bo'lgan operonlar repressiv bo'lib, u yoki bu zarur komponentning sintezini (anabolizmini) boshqaradi - masalan, kam uchraydigan aminokislotalar: triptofan, histidin, fenilalanin. 1-ketma 14 a'zoli peptidni kodlaydi (Met- Lys-Ala-Ile -PheVal-Leu-Lys-Gly-Trp-Trp-Arg-Thr-Ser). Triptofan 10 va 11-o'rinlarda.

Attenuatsiya (zaiflash). Attenuatorida bir-birini qisman to'ldiruvchi 4 ta ketma-ketlik ajralib turadi (8.12-rasm).



8.12-rasm - E. coli triptofan operonining attenuatorining tuzilishi

Agar triptofan bo'lmasa, ribosoma 1-joyga yopishib qoladi va shpilka (2)-(3) hosil bo'ladi. Bunday holda, shpilka (3) hosil bo'lolmaydi - (4). mRNK sintezini to'xtatish uchun signal yo'q

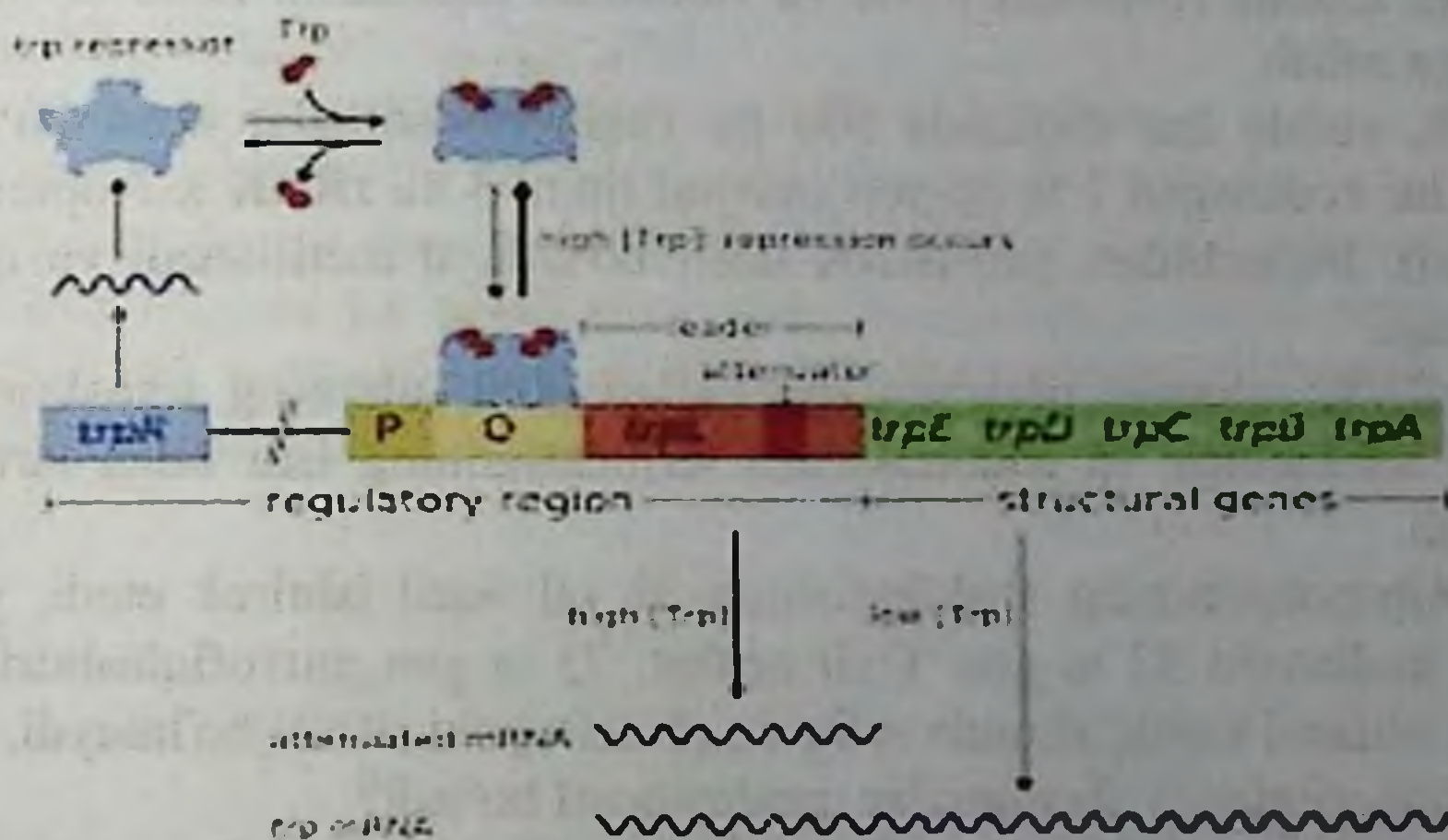
. Keyin RNK polimeraza tomonidan transkripsiyani to'xtatish signali sifatida tan olingan shpilka (3)-(4) hosil bo'ladi va mRNK sintezi to'xtaydi.

Ushbu qismda transkripsiya to'xtaydi va RNK polimeraza DNKdan ajralib chiqadi. Agar bu vaqtda hujayradagi triptofan konsentratsiyasi

oshgan bo'lsa, bu allaqachon yo'lda bo'lgan RNK polimerazasini to'xtatadi.

Gistidin operon misolida oqsil sintezini bostirish

Salmonella typhimurium hujayralarida gistidin biosintez uchun fermentlar jami o'n xil gen tomonidan aniqlanadi. Ular bitta klasterni - bitta informasion RNK molekulasida transkripsiyalangan ketma-ket genlar guruhi bo'lgan gistidin operonini hosil qiladi. Gistidin sintezi uchun metabolik yo'lning yakuniy mahsuloti bo'lgan korepressor faol bo'lmagan aporepressor oqsiliga qo'shilib, u bilan faol repressor oqsilini hosil qilish orqali operonni repressiya qilishi mumkin (8.15-rasm).



Rasm 8.15 - Gistidin operoni misolida metabolik yo'lning yakuniy mahsuloti bilan operonning repressiyasi.

Ushbu tartibga soluvchi genlarning har qandayida (uning R, S, T, U, W) mutatsiyalari gistidin biosintez uchun fermentlarining konstruktiv sinteziga olib keladi. Shunday qilib, gis-operon holatida hech qanday mahsulot - repressor mavjud emas, u operatorga biriktirilgan holda strukturaviy genlarning transkripsiyasini to'g'ridan-to'g'ri o'chiradi. Bitta gen-regulyator o'rniga beshta gen mavjud bo'lib, mutatsiyalar operatorga biriktirilishi mumkin bo'lgan corepressorning kontsentratsiyasi va faolligini pasaytiradi va shu bilan uning-operonning strukturaviy genlarining transkripsiyasini bloklaydi. Uning operonining haqiqiy repressori topilmadi. Shu bilan birga, his-operonning, shuningdek, boshqa repressiya qilingan operonlarning, masalan, triptofan biosintez uchun operonining faolligini tartibga solish maxsus nazorat elementi-attenuator (inglizchadan attenuate - zaiflash) faoliyati bilan bog'liq, bu DNKning

operator va birinchi struktura genomi o'rtasidagi his-operon holatida lokalizatsiya qilingan bo'limi bo'lib, uning G. Attenuator operonning boshida mRNKning tugashini ta'minlaydi. Faollashgan histidin tRNK mavjud bo'lganda (ya'ni hujayrada korepressor mavjud bo'lganda) mRNK sintezi susaytiruvchi lokusda tugaydi va shuning uchun strukturaviy genlarning transkripsiyasi sodir bo'lmaydi.

Salbiy transkripsiya regulyatori vazifasini bajaradigan attenuator bilan bir qatorda his-operonning musbat regulyatori ham mavjud. Ular guanozin tetrafosfat bo'lib, ularning mavjudligi RNK polimerazasini promotorga biriktirishni osonlashtiradi.

E. Colida ribosoma RNK va ribosoma oqsillarini hosil bo'lishini tartibga solish

E. colida har daqiqada 500 ga yaqin ribosomalar hosil bo'ladi. rRNKlar kodlangan 7 ta operon mavjud (jami 3 xil rRNK x 7 operon = 21 gen). Birinchidan, pro-rRNK hosil bo'ladi, u metillanadi va qayta ishlanadi.

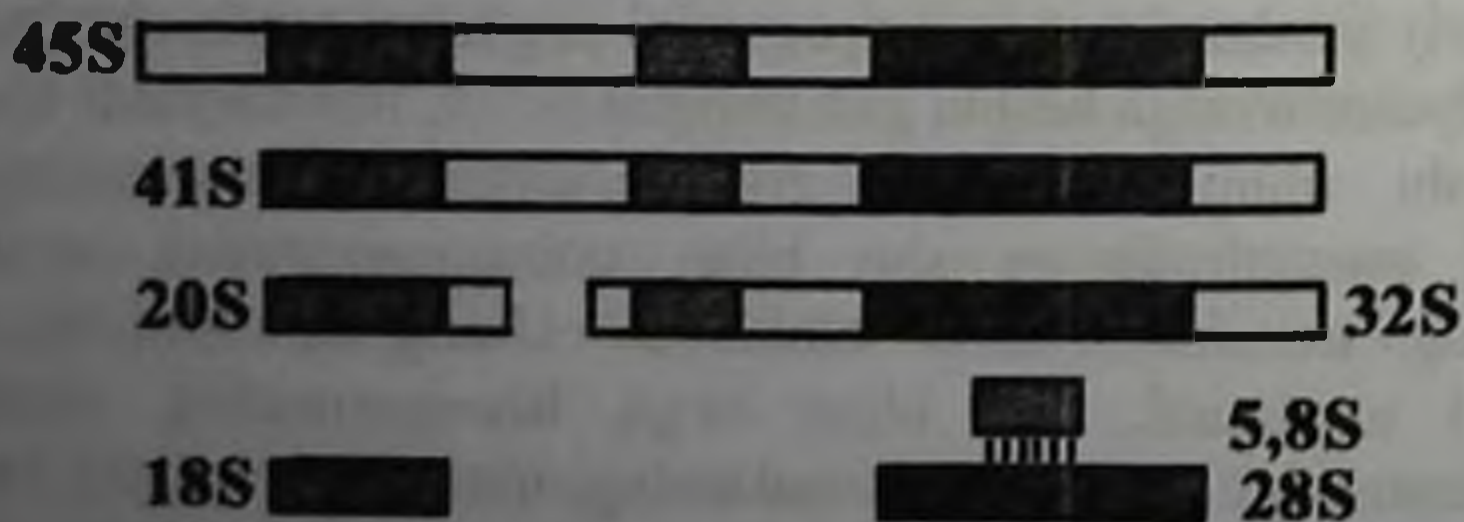
rRNK miqdori ribosoma operonlari soni, ularning transkripsiya tezligi va metilaz va endonukleaza fermentlarining ishi bilan tartibga solinadi.

Ribosomalarning shakllanishida 52 xil oqsil ishtirok etadi, ya'ni ularni kodlovchi 52 ta gen. Oxir oqibat, 73 ta gen muvofiqlashtirilgan tarzda ishlashi kerak, shunda ortiqcha protein yoki rRNK bo'lmaydi.

Eukariotlarda ribosomalar qanday hosil bo'ladi?

rRNK genlari har xil turlarda 10 dan 105 nusxagacha (amfibiyalarda 105) miqdorda mavjud. Odamlarda rRNKni kodlaydigan 300 ta gen mavjud.

Barcha ribosoma genlari, 5S ribosoma RNK genlaridan tashqari, bir-biriga yaqin joylashgan (ya'ni birin-ketin joylashgan) va bir nechta klasterlarni hosil qiladi. Birinchidan, pro-rRNK sintezlanadi, ularning yetilganidan keyin 28S, 18S va 5,8S rRNKlar hosil bo'ladi (8.17-rasm).



8.17-rasm - Pro-rRNK va 28S, 18S va 5,8S rRNKning yetilishi.

Interfaza xromosomalari yorug'lik mikroskopi ostida ko'rinmaydi. Har bir proriobosomal RNK geni bir vaqtning o'zida bir nechta RNK polimerazalari tomonidan transkripsiyalanadi va qayta ishlash darhol boshlanadi.

Elektron mikroskopik fotosuratlar "Rojdestvo daraxti" naqshini ko'rsatadi. Yadroda sintez qilingan mRNK tayyor ribosomalarga sitoplazmaga kiradi, u yerda ribosoma oqsillari sintezlanadi, ular yadroga kirib, "daraxt shoxlari"ga o'ralashib qoladi.

Ribosomal bo'linmalar hosil bo'ladi. Shu bilan birga, eukaryotik yadroda yuz minglab ribosoma bo'linmalari mavjud.

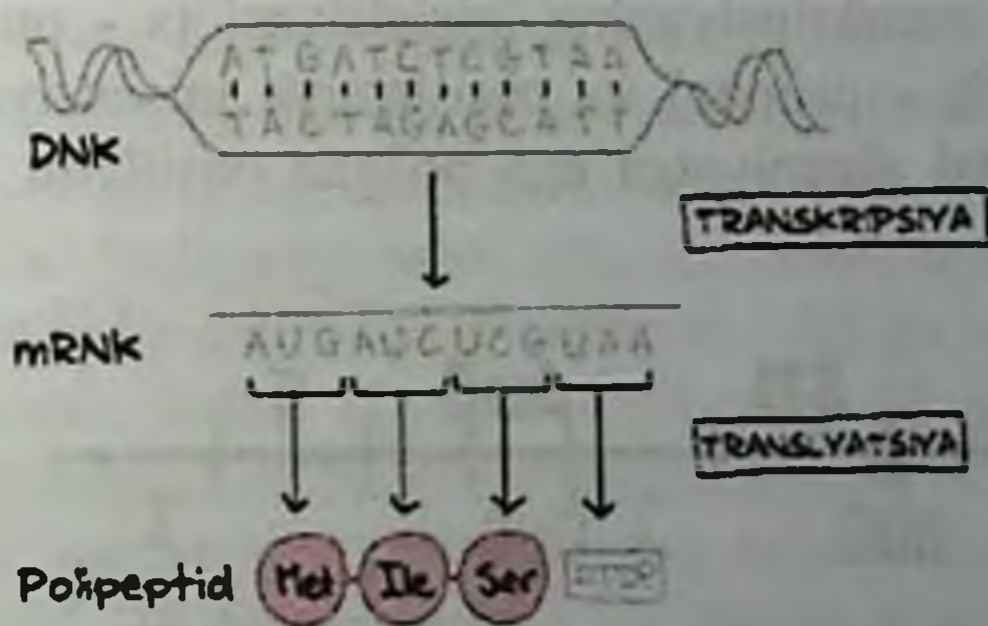
Yadrocha - yorug'lik mikroskopida kuzatiladigan ribosoma subbirliklarining hosil bo'lgan joyi.

Yadroda bir nechta yadrochalar bo'lishi mumkin.

rRNK gen klasteri yadroviy hosil qiluvchi deb ataladi.

Transkripsiya darajasida rRNK gen ekspressiyasini tartibga solish.

S10 operoni L4 oqsili tomonidan boshqariladi. RNK polimeraza uzunligi 140 nukleotid bo'lgan birinchi yetakchi ketma-ketlikni sintez qiladi (8.18-1-rasm).



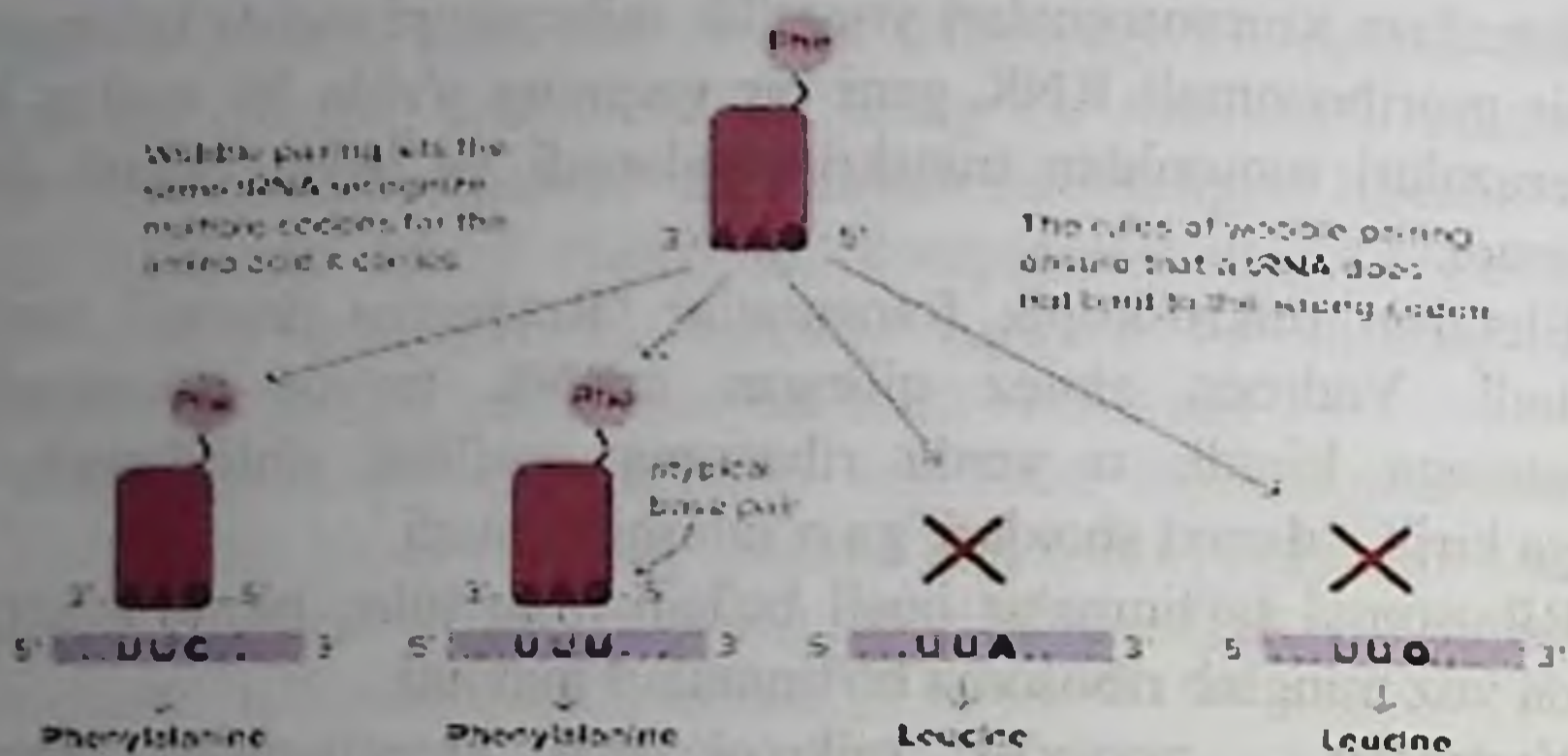
8.18-rasm –Transkripsiya darajasidagi regulatsiya.

Agar 23S rRNK yetarli bo'lmasa u holda L4 oqsilining bog'lanadigan hech narsasi yo'q va u yetakchi ketma-ketlik bilan o'zaro ta'sirlashib, RNK polimerazasining transkripsiyani davom ettirishiga imkon bermaydigan konformatsiyani beradi. Natijada, mRNK sintezi birinchi etakchida to'xtaydi.

Translatsiya darajasidagi regulatsiya.

Ribosomal oqsillar kodlangan 7 xil operon mavjud. Ularning har biri alohida tartibga solinadi.

Agar hujayrada erkin 16S rRNK bo'lsa, u holda S4 unga bog'lanadi (8.19-1-rasm)

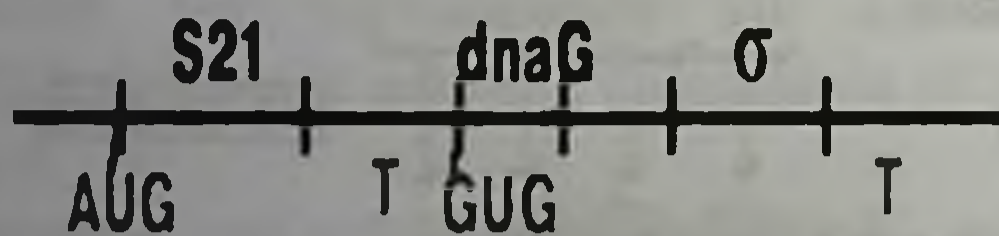


8.19-rasm. Translatsiya darajasidagi regulatsiya.

Agar 16S rRNK yetarli bo'lmasa, u bu operondan o'qilgan mRNK bilan bog'lanadi. Bundan tashqari, u etakchining hududida bog'lanadi va shu bilan uzatishga xalaqit beradi (8.19-2-rasm). Shunday qilib, tartibga solish tarjima darajasida amalga oshiriladi.

Replikatsiya, inisiatsiya, transkripsiya va translatsiya omillari uchun operon

Bu operon transkripsiyaning inisiatsiyasi (s - omil), replikatsiya inisiatsiyasi (DNK - primaz) va translatsiya inisiatsiyasi (S21 oqsili) uchun fundamental ahamiyatga ega bo'lgan oqsillarni kodlaydi (8.20-rasm).



Rasm. 8.20. Replikatsiya, transkripsiya va translatsiyani inisiatsiyasi omillari uchun operon.

Har bir oqsil turli miqdorda kerak bo'ladi. S21 ~ 50 000 nusxa, dnaG ~ 50, s omil ~ 5000. S21 geni va dnaG geni o'rtasida kuchsiz transkripsiya terminatori mavjud. DnaG geni ribosoma tomonidan kamroq taniydigan va AUGga qaraganda kamroq tez-tez translyatsiyani boshlaydigan GUG (AUG o'rniga) boshlash kodoniga ega. Ishlash uchun o'ziga xos transkripsiya omillari ham talab qilinadi. Bu promotorda oqsil kompleksini shakllantirish jarayonini nazorat qilish uchun zarur bo'lgan tartibga soluvchi oqsillardir. Ular DNK va transkripsiya kompleksining boshqa komponentlari bilan bog'lanish uchun maxsus domenlarga ega.

Achitqilardagi GAL4 transkripsiya faollashtiruvchisining tuzilishi alohida batafsil tavsiflangan. U UASdagi DNK mintaqasi bilan bog'lanadi, transkripsiyani faollashtiradi va boshqa tartibga soluvchi protein GAL80 bilan bog'lanadi. O'ziga xos DNK bog'lovchi motivlarga ega bo'lgan turli xil oqsillar mavjud: qorgoshinli barmoqlar, steroid gormoni retseptorlari domenlari, spiral-burilish-spiral, spiral-ilmoq-spiral, leysinli ilmoq.

8.3 Prokariotlar promotori

1964 yilda F. Yakob, A. Ullman va J. Mono *E. coli* lak operonida maxsus tartibga soluvchi element sifatida promouter tushunchasini tarifladilar. Keyinchalik, promotor mutatsiyalari tasvirlandi va operonning promotor saytlari RNK polimeraza molekulalari tomonidan tan olinishi va transkripsiya inisiatsiyasi joyini o'z ichiga olishi kerakligi taklif qilindi.

Bunday promotorlar ikkita kanonik ketma-ketlikni o'z ichiga oladi: odatda -30 va -35 pozitsiyalarida nukleotidlar orasida joylashgan -35 mintaqasi va -7 va -10 nukleotidlar orasida joylashgan -10 mintaqasi. Bu ikkala ketma-ketlik sigma^{4.2} va sigma^{2.4} deb ataladigan sigma⁷⁰ polipeptid zanjirining ikkita mintaqasi bilan o'zaro ta'sir qiladi. Ushbu ketma-ketliklar orasidagi masofa promouterning faolligiga ta'sir qiladi. Segmentning uzunligi 17 bp. optimal hisoblanadi.

Promouterlar faoliyatiga ta'sir qiluvchi, lekin universal bo'lmagan boshqa ketma-ketliklar qatorida UP elementi - AT ga boy ketma-ketlikni eslatib o'tish kerak, uning markazi r_mB ning P1 promouterida -52 pozitsiyasida joylashgan. rRNKni kodlovchi gen. RNK polimerazasining alfa sub birligi ushbu sayt bilan o'zaro ta'sir qiladi. TG elementi (markazi -15 yoki -14 pozitsiyasida) bir nechta boshqa promotorlarda topilgan, mutatsiyalar bu promouterlarning faolligini kamaytiradi.

-10 va -35 mintaqalaridagi mutatsiyalarning promotor faolligiga ta'siri yangi mutant ketma-ketligi kanonikga qanchalik mos kelishi bilan bog'liq. Biroq, bir qator hollarda, ushbu qoidadan chetga chiqishlar kuzatilmoqda, bu esa ushbu promouterlarning in vivo jonli ishlashi uchun muhim bo'lgan ketma-ketliklarni aniqlashga imkon berdi, markazlar -43 (USR mintaqasi - yuqori oqim mintaqasi), shuningdek, o'rtasida. nukleotidlar pozitsiyalarida - 1 va +20 (DSR hududi - quyi oqim mintaqasi). Bu ketma-ketliklar RNK polimeraza tomonidan promotomi tanib olish uchun talab qilinmaydi, lekin transkripsiya boshlanganidan keyin promotomi chiqarish jarayonini osonlashtiradi.

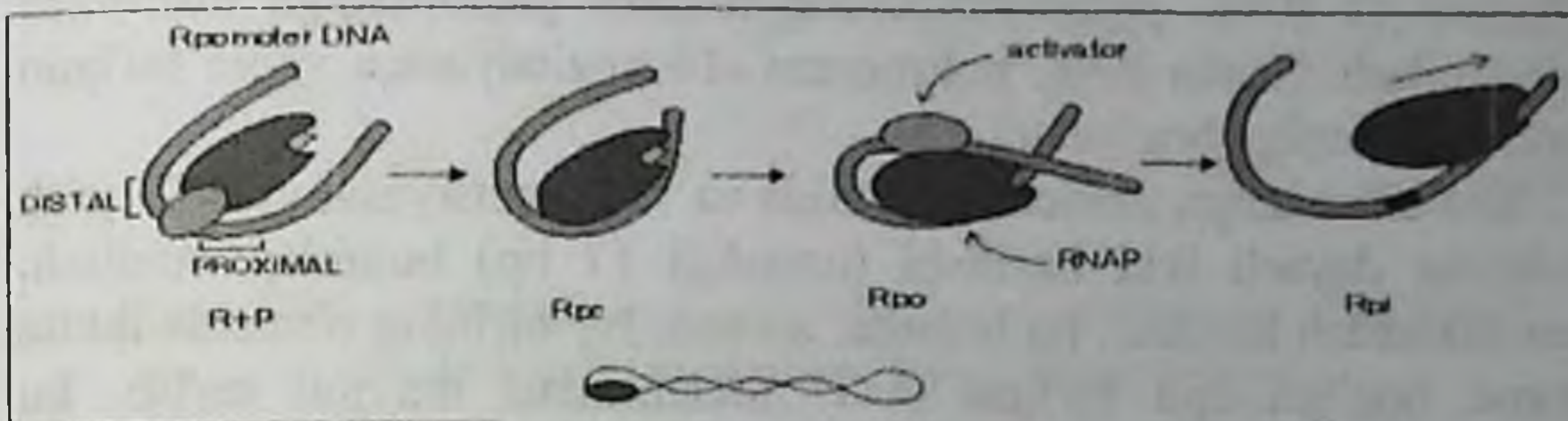
Alohida nuqta mutatsiyalari, masalan, ajratgichlardagi almashtirishlar, ba'zan eubakteriyalarda topilgan "-16 bp" qutisidagi mutatsiyalar bundan mustasno, transkripsiya faolligiga kam ta'sir qiladi. "-16 bp" qutisidagi nuqta almashtirishlar in vitro transkripsiyaning sezilarli darajada zaiflashtirishi mumkin, buni in vivo tizimi haqida aytib bo'lmaydi. Gram-manfiy bakteriyalarda gram-musbat bakteriyalarga qaraganda kamroq tarqalgan. Ba'zida uning mavjudligi "-35 bp" qutisining yo'qligini qoplash uchun xizmat qiladi va bu gram-manfiy bakteriyalar uchun ko'proq xosdir, gram-musbat bakteriyalarda esa ko'p hollarda "-35" va "-10" bilan birga mavjud. " qutilari. Gram-musbat bakteriyalar gram-manfiy bakteriyalarga qaraganda sekinroq rivojlanganligi to'g'risida dalillar mavjud bo'lganligi sababli, mualliflar "-16" va "-10" qutilari birgalikda qadimiy promouterini tashkil qilganligini va "-" 35 dyuymli quti keyinchalik evolyutsion kelib chiqishi promouterining bir qismiga aylandi. Gram-manfiy bakteriyalarda "16" qutisi xavf ostida bo'lgan variant hisoblanadi.

T(5-6) N5T(5-6) yoki poli(dG) yoki poli(dC) kabi maxsus bloklarni tanlash orqali transkripsiya samaradorligiga spacer ketma-ketligining ta'sirini o'rganishda RNK polimerazasining bog'lanishi aniqlandi. in vitro promotor ketma-ketligini sezilarli darajada oshirish mumkin, ammo ochiq kompleksga o'tishni sekinlashtiradi.

"-35" va "-10" qutilari orasidagi masofani uzaytirish yoki qisqartirish orqali (*E. coli* promotorlari uchun optimal uzunlik 17 bp va *E. coli* rRNK promotorlari uchun 16 bp), transkripsiya samaradorligiga aniq ta'sir ko'rsatishi mumkin.

Buning oddiy tushuntirishi RNK polimerazasining bir nechta sirt mintaqalarining mavjudligi bo'lishi mumkin, ular promouterdan sezilarli darajada uzoqda joylashgan DNK ketma-ketligi bilan faol o'zaro ta'sir qiladi. Proksimal joylar DNKning ferment atrofida dastlabki egilishini osonlashtirish orqali RNK polimerazasini promotorga dastlabki bog'lanishiga yordam berishi mumkin. Yana uzoqroq DNK ketma-ketliklari ham bo'lishi mumkin turli xil oqsil sirtlari bilan o'zaro ta'sir qiladi, bu statik yoki oqsil bilan qo'zg'atilgan burmalar bilan osonlashtirilishi mumkin, natijada kompleksning ochiq shaklga o'tishi va keyinchalik transkripsiyaning boshlanishi bilan osonlashtiriladigan umumiy stress konformatsiyasiga olib keladi. 8.21-rasmda promotor hududida statik va yoki aktivator ta'sirida DNK egilishlarining potentsial taqsimoti ramziy ko'rsatilgan malumotdan foydalanilgan .

Promotor mintaqasidagi statik yoki oqsil bilan bog'liq DNK egilishlari ko'pincha RNK polimeraza bilan bog'lanish joyiga nisbatan yaqin (-40 dan -80 bp) yoki ancha uzoqroqda (-80 dan -240 bp) lokalize qilinadi. Ko'pgina hollarda, proksimal burmalar yopiq kompleksni shakllantirishga yordam beradi, uzoq egrilik esa ko'pincha ochiq kompleksga o'tishni osonlashtiradi (8.21-rasm).



8.21-rasm - DNK egilishiga sezgir bakterial promotorlarning umumiy modeli.

Shunday qilib, prokariotlarda transkripsiya jarayoni RNK polimerazasining o'zi va unga biriktirilgan s omilidan iborat holoenzim (yoki to'liq ferment) RNK polimeraza yordamida amalga oshiriladi. RNK polimeraza 4 ta polipeptiddan iborat: ikkita α , shuningdek β va β' subbirliklaridir. Promotorlar RNK polimeraza tomonidan tan olingan o'ziga xos nukleotid ketma-ketligiga ega. *E. coli*-da 100 dan ortiq promotorlar ketma-ketligi aniqlangan va eng ajablanarlisi ularning 60-nukleotidli RNK polimeraza bilan bog'lanish hududiga deyarli to'liq gomologi yo'q.

Shunga qaramay, bakterial promotorlarda to'rtta doimiy xususiyat topilgan: 1) transkripsiyaning boshlang'ich nuqtasi mavjudligi; 2) nukleotidlarning -10 pozitsiyasidan boshlanadigan maxsus ketma-ketligi; 3) -35 mintaqadagi maxsus nukleotidlar ketma-ketligi; 4) hududlarda ketma-ketlikni ajratish -10 va -35. Keling, ularni batafsil ko'rib chiqaylik.

1. Purin boshlang'ich nuqtada joylashgan (promotorlarning 90%). Ko'pincha bu CAT ketma-ketligidagi markaziy nukleotiddir, ammo bu tripletning saqlanish darajasi uni majburiy signal deb hisoblash uchun past bo'ladi.

2. Mintaqada -10 dan oltita nukleotid deyarli barcha promouterlarda uchraydi. Ular birinchi marta 1975 yilda D. Pribnov tomonidan T7 bakteriofagining ikkita genining promotorlarida topilgan.

3. -35 mintaqada oltita fiksatsiyalangan nukleotid topildi.

4. Ko'rsatilgan saqlangan ketma-ketliklarni ajratib turadigan masofa 16 va 18 bp. promouterlarning 90% da. Bu masofa muhim, chunki u RNK polimeraza molekulasi shakliga mos keladi.

RNK polimeraza birinchi navbatda -55 dan +20 bp gacha bo'lgan mintaqqa bilan aloqa qiladi. Boshlanish kompleksi RNK polimeraza va s omilni o'z ichiga oladi, u -35 bp pozitsiyasida promotor mintaqasiga zaif bog'lanadi va RNK polimerazasining maxsus promouterga tushishini nazorat qiladi. Keyin RNK polimeraza -10 pozitsiyasiga yaqin bo'lgan Pribnow domeniga bog'lanadi.

Shu bilan birga, nukleotid atrofida va -10 pozitsiyasida DNK qo'sh spiralinig deyarli ikki burilishi (uzunligi 17 bp) butunlay ochiladi. Shuni ta'kidlash kerakki, bu holatda, asosan, bir-birining o'rtasida ikkita vodorod bog'iga ega bo'lgan A-T nukleotidlari mavjud bo'lib, bu ularning ajralish imkoniyatini sezilarli darajada osonlashtiradi. RNK polimerazaning bog'lanish samaradorligi bp ga bog'liq. promotorda va shuning uchun transkripsiya tezligi gendan genga juda katta farq qiladi.

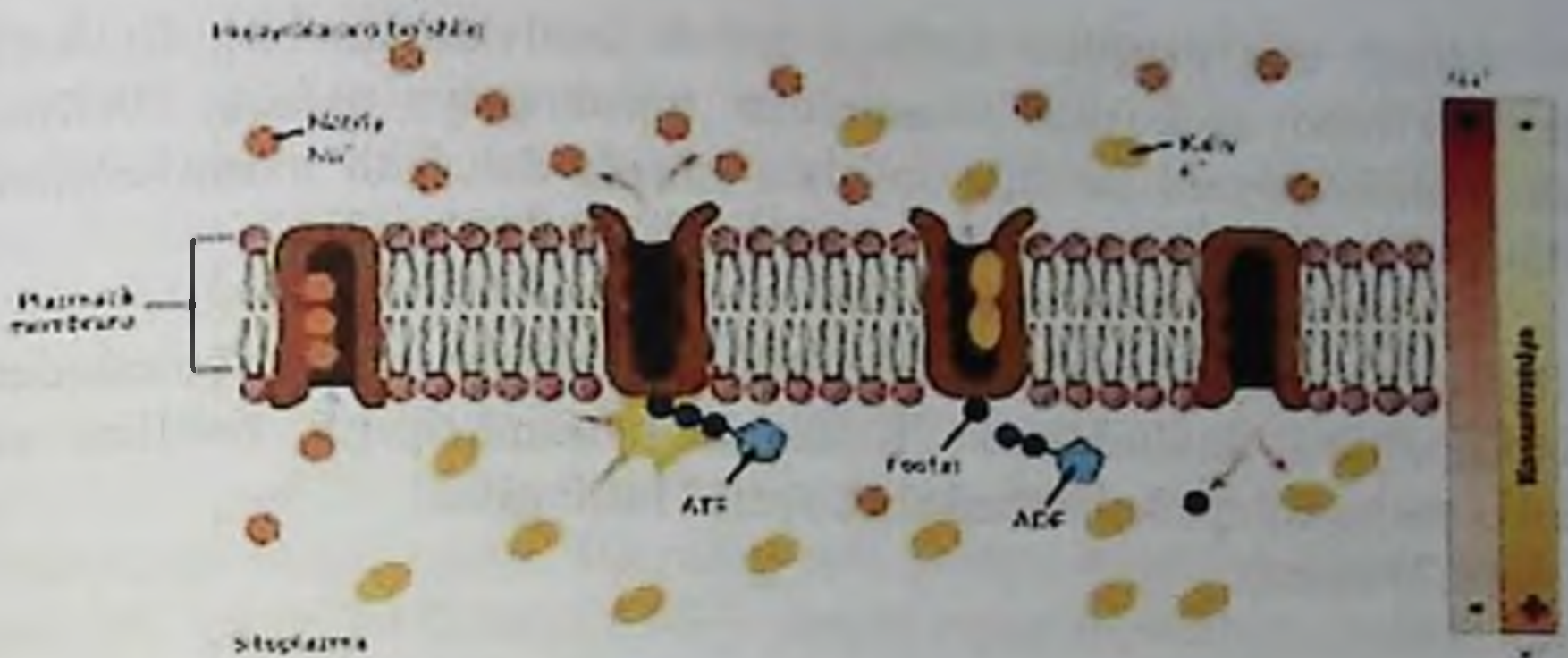
s omil dissotsilanganda, RNK polimerazasining o'zi -30 dan yuqori holatda, fermentni bir necha marta harakatga keltirgandan so'ng kesiladi. u yanada ixcham bo'lib, elongatsiya majmuasiga aylanadi.

8.4 Sutmizuvchilarda transkripsiya: tartibga solish, umumiy ma'lumot

Bizning tanamiz murakkab va nozik tartibga solinadigan tizimdir. Taxminan 200 xil turdagi hujayralarni aniqlash mumkin va bu faqat asosiylari va undan ham ko'proq turli xil kichik tiplar mavjud. Bu turlar ularda ifodalangan genlarda farqlanadi. Ammo tanamizning barcha hujayralaridagi genlar to'plami bir xil. Bu shuni anglatadiki, har bir turdagi hujayrada ushbu hujayra turiga xos bo'lgan o'z genlari ishlaydi, boshqalari esa jim turadi. Bunga transkripsiyaning tartibga solishning juda murakkab mexanizmlari orqali erishiladi.

Transkripsiyaning tartibga solish va uni to'qimalarga xos yoki turli signallar bilan induksiya qilish uchun hujayra ko'plab aktivatorlar va ko-aktivatorlar, repressorlar va korepressorlardan foydalanadi. Ular PIC yig'ilishini nazorat qilish yoki transkripsiyaning boshlash, cho'zish va tugatish bosqichlarida polimeraza kompleksining katalitik xususiyatlariga ta'sir qilish orqali harakat qilishi mumkin.

Aktivatorlar va ko-aktivatorlarning mediator orqali transkripsiya kompleksiga ta'sirining sxematik misoli (8.22-rasm)) da ko'rsatilgan.



Rasm 8.22 - Aktivatorlar, koaktivatorlar va mediatorlar o'rtasidagi faollashtiruvchi o'zaro ta'sirlar diagrammasi.

Ular tartibga soluvchi transkripsiya omillari deb ataladi. Regulyatorlar asosan transkripsiya boshlanishi bosqichida harakat qiladi. Transkripsiya darajasida gen ekspressiyasining to'qimalarga xosligi ham promotorlar, ham kuchaytiruvchilar tomonidan aniqlanishi mumkin.

8.5 Transkripsiya: tartibga soluvchi hududlarni tashkil etishning murakkabligi

Eukaryotik hujayrada genlarni tartibga solish hududi prokariotlarga qaraganda ancha murakkab bo'lib, u nafaqat promouteri, balki quyida muhokama qilinadigan boshqa elementlarni ham o'z ichiga oladi. Ammo endi, ko'rib chiqilayotgan murakkablikni ko'rsatish uchun biz faqat promouterdan foydalanamiz.

Har bir gen uchun tartibga soluvchi elementlarning noyob mozaikasi hosil bo'ladi, ularning harakati qo'shimcha emas. Xuddi shu ketma-ketlik, uning atrofida qanday ketma-ketliklar mavjudligiga qarab, turli xil oqsillar tomonidan tan olinishi mumkin.

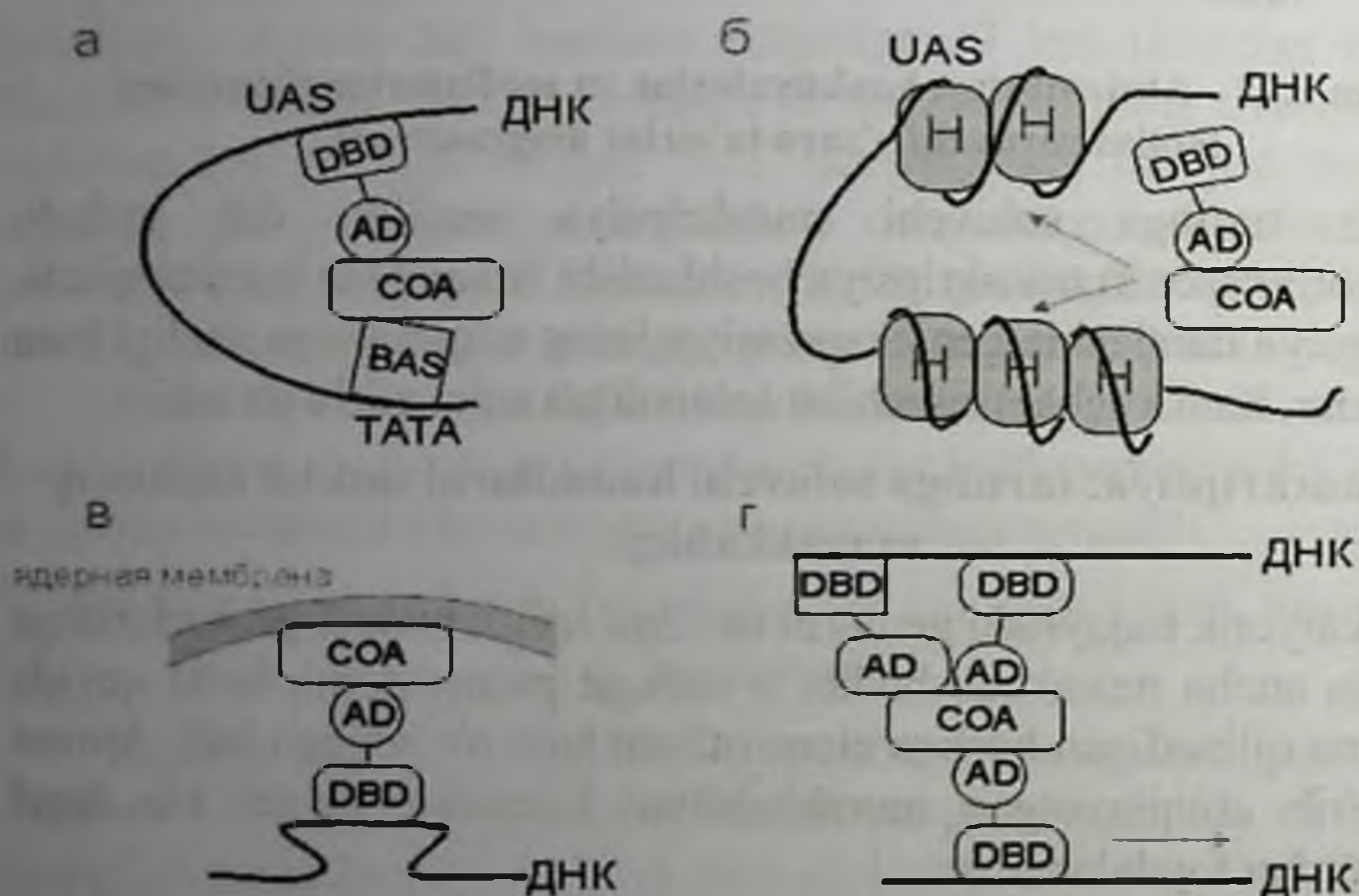
Boshqa tomondan, bir xil protein turli xil ketma-ketliklarni tanib oladi. Hayvonlarning targ'ibotchilarining ishlashini intensiv uzoq muddatli o'rganishga qaramay, faqat eng asosiy umumiy g'oyalarni ishlab chiqish mumkin edi, bu esa o'ziga xos promouterlarning xatti-harakatlarini bashorat qilish uchun juda kam ta'minlanadi. Xuddi shu tartibga soluvchi element transkripsiyaning faollashtirishi mumkin, ammo kontekstga qarab uni bostirishi ham mumkin. Masalan, nega promouterlar transkripsiyaning o'ziga xos yo'nalishini aniqlaydilar, garchi ularning ko'plab tarkibiy elementlari turli promouterlarda boshqacha yo'naltirilishi mumkinligi sirligicha qolmoqda.

Misol: eng mashhur tartibga solish motivlaridan biri, CCAAT boksi va nihoyat, ko'plab muammolar transkripsiya nafaqat DNKda, balki transkripsiyani tartibga solishda yanada dahshatli murakkablikni keltirib chiqaradigan xromatinda sodir bo'lishi bilan bog'liq.

Transkripsiya koaktivatori

Transkripsiya koaktivatori, DNK bilan bevosita bog'lanmasdan transkripsiyani faollashtiradi. Koaktivator transkripsiya omillari va transkripsiya kompleksi o'rtasida "ko'priq" hosil qiladi

(8.23-rasm).



8.23-rasm - Transkripsiya koaktivatorlarining ta'sir qilish mexanizmining modellari.

Transkripsiya koaktivatorlari achitqilarda RNK polimeraza II tomonidan transkripsiyani to'liq boshlash uchun zarur bo'lgan TFIID transkripsiya faktorini o'rganish orqali topilgan. TFIID ning asosiy tarkibiy qismlaridan biri TATA-bog'lovchi protein TBP in vitroda bazal, ammo induksiya qilinmagan transkripsiyani ta'minlashga qodir ekanligi aniqlandi. Bunga asoslanib, u qo'shimcha ravishda asosiy transkripsiya omillari va faollashtiruvchilardan ajralib turadigan TBP bilan bog'liq omillarni (TAF) o'z ichiga olishi kerakligi taxmin qilindi. TAF omillari uchun genlarni klonlash va bu genlar tomonidan kodlangan oqsillarni tozalashdan so'ng, TAF oqsillari transkripsiya faollashtiruvchilari va asosiy omillar o'rtasidagi jismoniy o'zaro ta'simi ta'minlaydi, chunki ular

ikkala guruh oqsillarini bog'lash qobiliyatiga ega. Xuddi shu funktsiyalar xamirturush SRB oqsillariga xosdir. Shunday qilib, transkripsiya koaktivatorlari to'qimalarga xos transkripsiya faollashtiruvchi oqsillardan RNK polimeraza II ga tartibga soluvchi signalning o'tkazilishini ta'minlaydigan adapter oqsillaridir.

8.23-rasmda transkripsiya koaktivatorlarining ta'sir qilish mexanizmlari modellari ko'rsatilgan. Ushbu oqsillarning boshqa tartibga soluvchi oqsillar o'rtasida vositachi bo'lgan adapter (vositachi) funktsiyasi ta'kidlangan. Ularning roli promotorlarning distal tartibga soluvchi ketma-ketliklari (UAS - yuqori oqim faollashuv joylari) bilan asosiy transkripsiya omillari va RNK polimeraza II ga reaksiyaga kirishadigan transkripsiya faollashtiruvchi oqsillardan signal uzatishda ta'kidlangan. Bunday holda, transkripsiya koaktivatorlari asosiy transkripsiya omillarining promotorni boshlash ketma-ketliklari bilan o'zaro ta'sirini kuchaytirishi mumkin.

Transkripsiya koaktivatorlarining yana bir funktsional roli, asosiy transkripsiya omillari uchun kirish nukleosomalarning bir qismi bo'lgan gistonlar tomonidan bloklangan promotorlarning derepressiyasidir. Bunday holda, transkripsiya koaktivatorlari promotorlar yaqinida xromatin tuzilishini yo'q qilishda ishtirok etishi mumkin. Gistonlarni olib tashlash yoki nukleosoma tuzilishidagi o'zgarishlardan so'ng, tartibga soluvchi ketma-ketliklar asosiy transkripsiya omillari va RNK polimeraza II uchun ochiq bo'ladi.

Transkripsiya koaktivatorlari faol transkripsiyalangan xromatin maydonlarini interfaza yadrolarining mikrokompartamentlarida saqlaydi, bu esa samarali gen ekspressiyasini ta'minlaydi. Koaktivatorlarning bu roli izolyatorlar va susturucularning ishlashida namoyon bo'ladi.

Oxirgi model Drosophilada birinchi marta tasvirlangan transveksiya jarayoniga o'xshash hodisalar mexanizmini tushuntiradi, bunda bir xil genning ikki xil mutant allellarining o'zaro ta'siri turli xil gomolog xromosomalarda mavjud bo'lib, mutatsiyalarning funktsional kompensatsiyasiga olib keladi. va mos keladigan genning ifodasini oshirdi, ya'ni. transveksiya genetik komplementatsiya turlaridan biridir. Transveksiya, masalan, tarkibiy qismi mutatsiya bilan faollashtirilmagan genning kuchaytirgichi gomolog xromosomada joylashgan mutatsiya natijasida shikastlangan kuchaytirgich bilan ushbu genning boshqa allelining transkripsiyasini faollashtirganda sodir bo'ladi. Transxromosoma transkripsiyasining faollashuvi transkripsiya

koaktivatori oqsillarining ta'siri bilan ta'minlanadi, ularning ishtirokida tartibga soluvchi signal bitta xromosoma kuchaytirgichi bilan bog'liq bo'lgan transkripsiya faollashtiruvchisidan boshqa xromosomadagi ushbu genning homolog allelining asosiy transkripsiya omillariga uzatiladi. Koaktivator oqsillari, shuningdek, kengaytirilgan hududda homolog xromosomalarning sinapsisini (konjugatsiyasini, assotsiatsiyasini) ta'minlaydi.

Eukaryotlarda transkripsiyaning koaktivatorlari - tartibga soluvchi oqsillarning mavjudligi transkripsiyaning boshlang'ich nuqtasidan distalda joylashgan kuchaytirgichlarning ta'sir qilish mexanizmini tushuntiradi: promotoring distal va proksimal tartibga soluvchi elementlari, ularning DNKsini ajratib turuvchi halqa hosil bo'lishi natijasida birlashtirilgan; transkripsiya koaktivatorlari tomonidan birlashtiriladi.

Transkripsiya: transkripsiya tuzilishining besh darajasi.

Biz transkripsiya tuzilishining besh darajasi bilan tanishamiz:

oqsillar va DNK o'rtasidagi o'zaro ta'sir darajasi;

DNK bilan bog'langan oqsillarning boshqa oqsillar bilan o'zaro ta'siri darajasi;

xromatinni tashkil qilish darajasi,

yadroviy tashkilot darajasi va materialning yadroga kirishi va chiqishi.

Bundan tashqari, ushbu darajalarning barchasida transkripsiya hujayra tsikli va shuning uchun replikatsiya va ta'mirlash bilan muvofiqlashtirilgan bo'lishi kerak. 8.23-rasm - Transkripsiya koaktivatorlarining ta'sir qilish mexanizmining modellari, a - promotorlarning distal tartibga soluvchi nukleotid ketma-ketliklari (UAS) bilan o'zaro ta'sir qiluvchi transkripsiya faollashtiruvchilaridan signal uzatish; b - promotorlarning tartibga soluvchi ketma-ketliklarida nukleosoma tuzilishini yo'q qilish; c - transkripsiyalangan xromatin mintaqalarining ma'lum fazoviy tuzilishini saqlash; d - AD va DBD transveksiyasini ta'minlash - mos ravishda transkripsiya aktivatorining faollashtiruvchi va DNK-bog'lovchi domenlari; COA - transkripsiya koaktivatori; BAS - asosiy transkripsiya omillari; H - gistonlar.

Transkripsiya koaktivatorlari achitqilarda RNK polimeraza II tomonidan transkripsiyani to'liq boshlash uchun zarur bo'lgan TFIID transkripsiya faktorini o'rganish orqali topilgan. TFIID ning asosiy tarkibiy qismlaridan biri TATA-bog'lovchi protein TBP in vitroda bazal, ammo induksiya qilinmagan transkripsiyani ta'minlashga qodir ekanligi

aniqlandi. Bunga asoslanib, u qo'shimcha ravishda asosiy transkripsiya omillari va faollashtiruvchilardan ajralib turadigan TBP bilan bog'liq omillarni (TAF) o'z ichiga olishi kerakligi taxmin qilindi. TAF omillari uchun genlarni klonlash va bu genlar tomonidan kodlangan oqsillarni tozalashdan so'ng, TAF oqsillari transkripsiya faollashtiruvchilari va asosiy omillar o'rtasidagi jismoniy o'zaro ta'simi ta'minlaydi, chunki ular ikkala guruh oqsillarini bog'lash qobiliyatiga ega. Xuddi shu funktsiyalar achitqi SRB oqsillariga xosdir. Shunday qilib, transkripsiya koaktivatorlari to'qimalarga xos transkripsiya faollashtiruvchi oqsillardan RNK polimeraza II ga tartibga soluvchi signalning o'tkazilishini ta'minlaydigan adapter oqsillaridir.

Transkripsiya koaktivatorlari faol transkripsiyalangan xromatin maydonlarini interfaza yadrolarining mikrokompartamentlarida saqlaydi, bu esa samarali gen ekspressiyasini ta'minlaydi. Koaktivatorlarning bu roli izolyatorlar va susturucularning ishlashi

8.6 Gomeodomenli oqsillari: DNKdagi halqalar

Gomeodomenli oqsillari DNK bilan yaqin va yoki fazoviy ravishda ajratilgan joylarga bog'lanib, bog'lanish kooperativligini namoyish etadi, bu esa halqa hosil qilish orqali mumkin bo'lgan ta'sir mexanizmini ko'rsatadi.

Xususan, ultrabitoraks oqsili gomeodomen oqsillari oilasining a'zosi bo'lib, drozofila DNKsi bilan bog'lanish joylariga ega bo'lib, dimer shaklida bo'lib, ikkita bog'lanish joyini o'z ichiga olgan DNKda halqa shaklidagi segmentlarni hosil qiladi.

Protein bilan bog'langan kuchaytirgichning ta'siri uning RNK polimeraza va boshqa transkripsiya omillari bilan bevosita o'zaro ta'siri bilan belgilanadi. Bunday o'zaro ta'sir DNK molekulasining egilishi tufayli yuzaga kelishi mumkin, bu esa o'ziga xos oqsillar bilan bog'liq bo'lgan promotor va undan uzoqda joylashgan kuchaytirgichning hududlari o'rtasida to'g'ridan-to'g'ri aloqa qilish imkoniyatini yaratadi.

Kuchaytirgichlar oqsillarning kovalent modifikatsiyasiga ta'sir qilishi mumkin. Masalan, RNK polimeraza II ning C-terminal domeni transkripsiyaning boshida yuqori darajada fosforlangan. Giston atsetilatsiyasi transkripsiyada xromatinning repressiv rolini pasaytiradi. Ko'pgina transkripsiya faollashtiruvchilari va ko-aktivatorlari giston atsetiltransferaza faolligiga ega, ba'zi bir korepressorlar esa giston deasetilaz faolligini namoyish etadilar. Gistonlar atsetillangan va deasetillangan yagona element emas. Masalan, p53 antionkogen

asetillangan, shuningdek, TFIIE va TFIIF bazal transkripsiya omillari. Kuchaytirgichlar bilan bog'langan protein omillari bu jarayonlarga potentsial ta'sir ko'rsatishi mumkin.

Kuchaytiruvchilar xromatin tuzilishiga ta'sir qilishi mumkin, bu DNKning siqilishi tufayli uzoq masofalardagi omillarning o'zaro ta'sirida vositachilik qilishi mumkin.

Nukleosomalarni qayta qurish ham kuchaytiruvchi faollikning namoyon bo'lish mexanizmlaridan biri bo'lishi mumkin. Xromatinni qayta qurish omillari ma'lum: SWI-SNF, NURF, RSC, ACF va CHRAC.

Ushbu omillarning ba'zilari genom bo'ylab global miqyosda ta'sir qilishi mumkin, boshqalari esa faqat ma'lum bir gen muhitida faoldir.

Yana bir mexanizm bo'lishi mumkinki, kuchaytirgichlar o'zlarining nazorati ostidagi promotorlarni transkripsiya omillarining yuqori mahalliy konsentratsiyasini o'z ichiga olgan asosiy domenlarga ta'sir qilishi mumkin.

Kuchaytirgich o'zi boshqaradigan genga befarq.

O'zingizning geningiz o'rniga, masalan, bakteriyalardan xloramfenikol atsetiltransferaza genini almashtirishingiz mumkin va uning transkripsiyasi kuchaytirgich tomonidan uning mahalliy genining transkripsiyasi bilan bir xil darajada faollashadi.

Kuchaytiruvchilar zaif turlarga xos xususiyatga ega. Ular uzoq turlarning hujayralarida o'z faolligini ko'rsatishga qodir.

Bir qator kuchaytirgichlarning differentsiatsiyalangan hujayraning o'ziga xos oqsillari bilan o'zaro ta'sir qilish qobiliyati, ehtimol, ularning muhim xususiyati - to'qimalarning o'ziga xosligini ta'minlaydi. To'qimalarga xos kuchaytirgich birinchi marta immunoglobulinlarning og'ir polipeptid zanjirini kodlovchi genlarda aniqlangan Faol immunoglobulin geni hosil bo'lganda, genetik materialning rivojlanish dasturlashtirilgan rekombinatsiyasi sodir bo'ladi. Kuchaytirgich aniq to'qimalarning o'ziga xosligini namoyish etadi: uning faolligi limfoid hujayralarda namoyon bo'ladi, lekin fibroblastlar yoki o'pka to'qimalari hujayralarida emas. To'qimalarga xos ta'sirga ega bo'lgan kuchaytirgichlar boshqa genlar uchun ham tasvirlangan, masalan, insulin va ximotripsin genlari uchun, hujayralar differentsiatsiyasi paytida qayta tartibga solinmaydi.

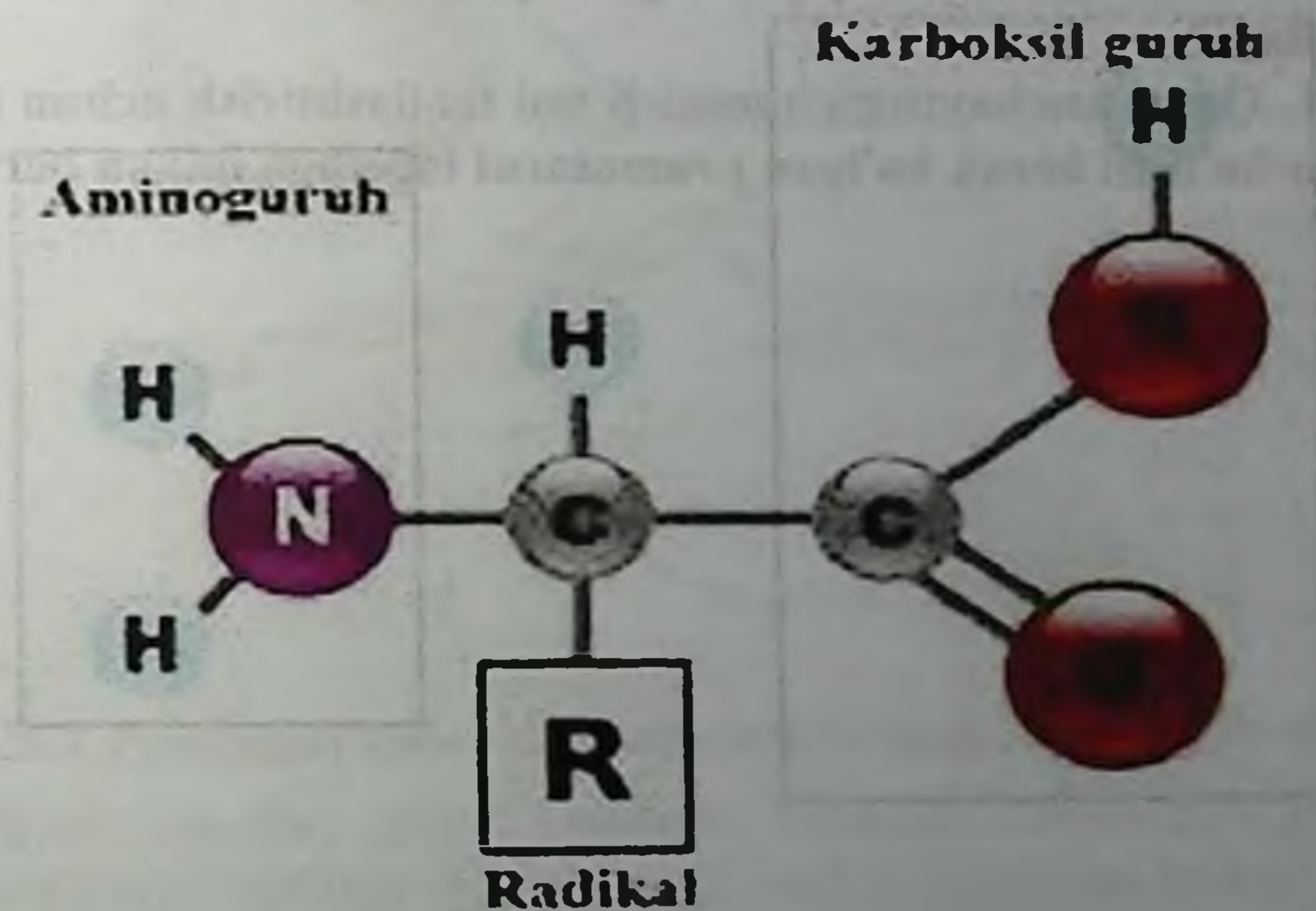
Transkripsiyani tartibga solish uchun kuchaytirgich kerakli promouterni hatto uzoq masofada ham faollashtirishi va ko'plab promouterlar orasidan faollashtirilishi kerak bo'lganini tanlashi juda muhimdir.

Enhancer-promoter selektivligini amalga oshirishning ikkita mumkin bo'lgan mexanizmi muhokama qilinadi:

1. Enhancer-bog'lovchi oqsillar va promotor-o'zaro ta'sir qiluvchi omillarning o'ziga xos o'zaro ta'siri.

Misol uchun, ikkita promotor turli omillarni bog'laydigan kuchaytirgich yaqinida joylashgan bo'lishi mumkin va kuchaytirgich bir promotor bilan bog'langan oqsillar bilan o'zaro ta'sir qilishni afzal ko'radi, lekin boshqasi bilan emas. Kuchaytirgich bilan bog'langan oqsillar o'zaro ta'sir qilishi kerak bo'lgan promouterni qanday topishi noma'lum. Ammo bu borada ko'proq yoki kamroq ishonchli farazlar mavjud. Entenosomalarning PIC bilan o'zaro ta'siri uchun DNKning egilishi mantiqiy ko'rinadi, shuning uchun entenosoma transkripsiya kompleksi bilan aloqa qiladi.

2. Mana, uzoqdagi kuchaytirgich o'z promouterini qanday tezda topishini tushuntirish uchun taklif qilingan bir model.



Rasm 8.26 - Entenosoma uni faollashtirish uchun o'zaro ta'sir qilishi kerak bo'lgan promotorni qanday topishini tushuntiruvchi mumkin bo'lgan modellardan biri.

Bu 90-yillarning oxirida taklif qilingan gipoteza, ammo kuchaytirgichlarning funksiyalari bilan bog'liq hodisalarni tushunish uchun hali ko'p ish qilish kerak.

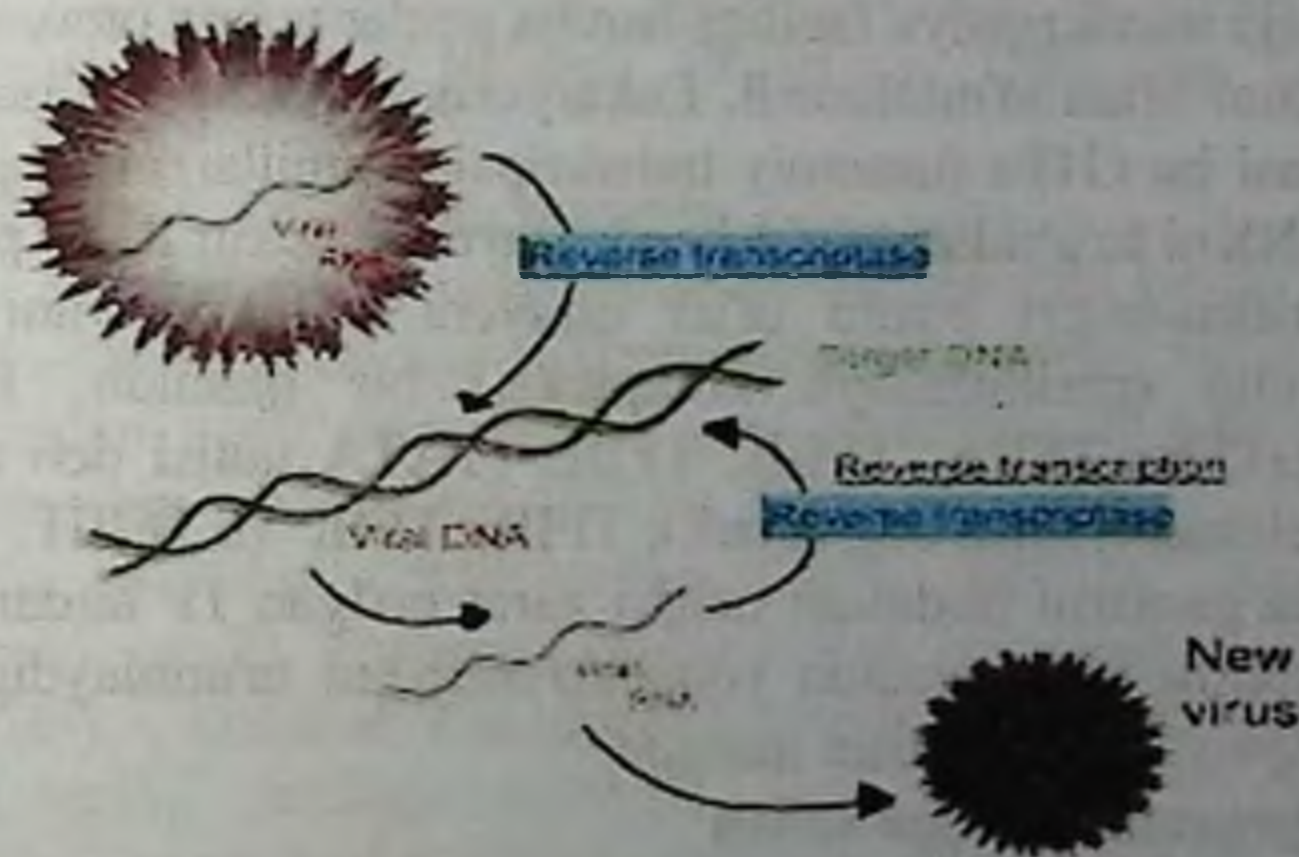
Nazorat savollari

1. Genlar faoliyatini tartibga solish tamoyillari va mexanizmlarini aytib bering
2. Prokariotlarda transkripsiya qanday amalga oshiriladi?
3. Prokariotlarda transkripsiya regulyatsiyasi qanday sodir bo'ladi?
4. Operonlarning ijobiy va salbiy repressiyasi qanday amalga oshiriladi?
5. Transkripsiya va translatsiya darajalarida rRNK gen ifodasi qanday tartibga solinadi?
6. Eukariotlarda transkripsiya qanday tartibga solinadi?
7. Kuchaytirgichlar qanday ishlaydi?
8. Qaysi transkripsiya koaktivator oqsillari transkripsiyani tartibga soladi?
9. Enhanser faolligi orqali nukleosomalarning qayta tuzilishi qanday sodir bo'ladi?
10. Gomeodomain oqsillari qanday ishlaydi va DNKda halqa hosil qiladi?
11. Qaysi kuchaytirgich modeli uni faollashtirish uchun o'zaro aloqada bo'lishi kerak bo'lgan promotorni topishga imkon beradi?

IX BOB. TRANSKRIPSIYA OMILLARI

Transkripsiya omillari (transkripsiya omillari, TO) DNKning ma'lum bo'limlari bilan bog'lanish orqali DNK matrisasida (transkripsiya) mRNK sintezi jarayonini boshqaradigan oqsillardir. Transkripsiya omillari o'z vazifasini mustaqil ravishda yoki boshqa oqsillar bilan birgalikda bajaradi. Ular RNK polimerazasining tartibga solinadigan genning tartibga soluvchi ketma-ketliklari bilan bog'lanish konstantasining kamayishi (repressorlar) yoki ortishi (aktivatorlar) ni ta'minlaydi.

Transkripsiya omillarining belgilovchi xususiyati ularning tarkibida genlarning tartibga soluvchi hududlarida joylashgan xarakterli DNK hududlari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi bir yoki bir nechta DNK-bog'lovchi domenlarning mavjudligidir (9.1-rasm).



Rasm. 9.1. *Pyrococcus woesei* zamburugidan olingan TATA-bog'lovchi oqsili.

Koaktivatorlar, giston asetilaza, kinazlar, metilazalar kabi gen ekspressiyasini tartibga solishda asosiy rol o'ynaydigan boshqa oqsillar DNKni bog'laydigan domenlarga ega emas va shuning uchun ularni transkripsiya omillari deb hisoblash mumkin emas.

9.1 Turli organizmlarda TF ning konservatizmi

Transkripsiya omillari gen ekspressiyasini tartibga solish uchun zarur bo'lib, barcha tirik organizmlarda mavjud. Ularning soni, ham mutlaq, ham o'ziga xos, genom hajmi bilan ortadi.

Odam genomida DNK-bog'lovchi domenga ega 2600 dan ortiq oqsillar topilgan va ularning aksariyati transkripsiya omillari. Shunday

qilib, genomdagi barcha genlarning taxminan 10% transkripsiya omillarini kodlaydi. Shunday qilib, ular inson oqsillarining eng katta oilasidir. Bundan tashqari, ko'plab genlarning faoliyati juda ko'p turli xil transkripsiya omillarining korporativ o'zaro ta'siri bilan tartibga solinadi, bu organizmning rivojlanishi davomida har bir genni o'ziga xos tartibga solish rejimi bilan ta'minlashga imkon beradi.

TF funktsiyalari

Transkripsiya omillari genetik ma'lumotni o'qish va talqin qilishni ta'minlaydigan oqsillar guruhlaridan biridir. Ular DNKni bog'laydi va gen transkripsiyasini oshirish yoki kamaytirish dasturini boshlashga yordam beradi. Shunday qilib, ular barcha darajadagi tananing normal ishlashi uchun juda muhimdir. Transkripsiya omillari ishtirok etadigan eng muhim jarayonlar quyida keltirilgan.

Bazal gen ekspressiyasini tartibga solish

Fondagi transkripsiya faolligi barcha genlar uchun umumiy bo'lgan TFlar to'plami bilan ta'minlanadi. Eukaryotik transkripsiya omillarining muhim klassi bu GTFs (umumiy transkripsiya omillari). Uning ko'pgina vakillari DNKni to'g'ridan-to'g'ri bog'lamaydilar, lekin RNK polimeraza bilan to'g'ridan-to'g'ri o'zaro ta'sir qiluvchi transkripsiyani boshlash kompleksining (preinitiatsiya kompleksi) bir qismidir. Eng keng tarqalgan GTFlar TFIIA, TFIIB, TFIID (TATA qutisi deb ataladigan (promoter element) bilan bog'lanadi), TFIIE, TFIIIF va TFIIH .

Barcha genlarni ifodalash uchun zarur bo'lgan TF lardan tashqari, ma'lum genlarni to'g'ri vaqtda yoqish/o'chirishni ta'minlaydigan o'ziga xos transkripsiya omillari ham mavjud.

Ontogenezni tartibga solish

Ko'p hujayrali organizmlarning ko'plab TFlari ularning rivojlanishini ta'minlashda ishtirok etadi. Genetik dasturga muvofiq va/yoki tashqi ta'sirlarga javoban harakat qilib, ular hujayra morfologiyasi, hujayra differentsiatsiyasi, morfogenez, organogenez va boshqalarda o'zgarishlarga olib keladigan ma'lum genlarning transkripsiyasini boshlaydi yoki bostiradi. Masalan, gomeobox TF oilasi. Drosophiladan odamlargacha bo'lgan organizmlarda to'g'ri tana morfologiyasini shakllantirish uchun juda muhim MoensCB, SelleriL (mart 2006)]. Drosophilada ushbu oqsillar genlaridagi mutatsiyalar (gomeotik mutatsiyalar) bu hasharotlarning tana segmentlarini differentsiallashtirishda jiddiy buzilishlarga olib keladi (masalan, antennalar o'rniga oyoqlarning rivojlanishi).

Ushbu TF guruhining yana bir misoli, jinsni aniqlovchi mintaqqa Y geni (SRY, Jinsni aniqlash mintaqasi Y) mahsuloti bo'lib, u inson jinsini aniqlashda muhim rol o'ynaydi.

Hujayradan tashqari signallarga javob

Ko'p hujayrali organizm hujayralarining o'zaro ta'sirini muvofiqlashtirilgan tartibga solish maqsadli hujayralarda signal kaskadini keltirib chiqaradigan maxsus molekulalarni (gormonlar, sitokinlar va boshqalar) chiqarish orqali amalga oshiriladi. Agar signal ma'lum genlarning ifoda darajasining o'zgarishiga olib keladigan bo'lsa, TF ko'pincha kaskadning yakuniy bo'g'inidir. Estrogen signalizatsiya yo'li estrogen retseptorlari transkripsiya faktorini o'z ichiga olgan qisqa kaskadga misol bo'ladi: estrogen platsenta va tuxumdon to'qimalari tomonidan chiqariladi, qabul qiluvchi hujayralarning plazma membranasini kesib o'tadi va sitoplazmadagi retseptorlari bilan bog'lanadi. Estrogen retseptorlari yadroga kiradi va tegishli genning transkripsiyasini tartibga solishni o'zgartirib, DNKning ma'lum bir hududini bog'laydi.

Atrof-muhit o'zgarishiga javob

TFlar turli xil tashqi ogohlantirishlarga javoban paydo bo'ladigan signal kaskadlarining yagona yakuniy bo'g'inlari emas, balki ular atrof-muhit ta'siridan kelib chiqadigan signal kaskadlarida ham effektorlar bo'lishi mumkin. Masalan, issiqlik zarbasi omili (HSF) yuqori haroratlarda (masalan, chaperonlar) omon qolishni ta'minlaydigan issiqlik tasiri oqsili genlarini faollashtiradi gipoksiya qo'zg'atuvchi faktyor (HIF) - kislorod konsentratsiyasining pasayishi bilan protein SREBP (sterolni tartibga soluvchi elementni bog'lovchi protein) hujayralardagi zarur lipid tarkibini saqlashga yordam beradi.

Hujayra aylanishini nazorat qilish

Ko'pgina TFlar, ayniqsa onkogenlar va o'smalarni bostiruvchilar hujayra siklini tartibga solishda ishtirok etadilar. Ular hujayra tsiklining bir fazasidan ikkinchisiga o'tishni, bo'linish chastotasini va o'sish intensivligini aniqlaydi. Bunday TFlarning eng mashhurlaridan biri Myc onkogeni bo'lib, hujayra o'sishi va ularni apoptozga yo'naltirishda muhim rol o'ynaydi.

9.2 TF faoliyatini tartibga solish

Barcha umumiy biologik jarayonlar ko'p darajali tartibga solish va nazoratga ega. Bu TFlarga ham tegishli - TFlar hujayradagi oqsillar va RNKning to'planish darajasini tartibga solibgina qolmay, balki o'z

genlarining faoliyatini ham tartibga soladi (ko'pincha boshqa TFlar yordamida). TF faoliyatini tartibga solishning asosiy usullari quyida qisqacha tavsiflanadi.

Barcha oqsillar uchun umumiy

Hujayrada TF to'planish darajasi transkripsiya, mRNK degradatsiyasi, translatsiya, oqsildan keyingi qayta ishlash, uning hujayra ichidagi lokalizatsiyasi va degradatsiyasini nazorat qilish tufayli boshqa oqsillar bilan bir xil sxema bo'yicha tartibga solinadi. Salbiy teskari aloqa printsipi asosida o'z-o'zini boshqarish mumkin - TF uni kodlaydigan genning faolligini bostiradi.

Yadro ichidagi lokalizatsiya

Eukaryotik organizmlarda transkripsiya va translatsiya jarayonlari fazoviy ravishda ajratiladi - ular mos ravishda yadro va sitoplazmada sodir bo'ladi. Sintezdan keyin TF qo'sh membranani yorib, yadroga kirib borishi kerak. Yadroda ishlaydigan ko'plab oqsillar yadroviy lokalizatsiya signaliga ega - oqsilni yadroga qaratadigan polipeptid zanjirining o'ziga xos mintaqasi. Ko'pgina TF uchun translokatsiya ularning faoliyatini tartibga solishning asosiy omili hisoblanadi.

TF ning muhim sinflari, masalan, ba'zi yadro retseptorlari, birinchi navbatda sitoplazmadagi ligandni bog'lashi va shundan keyingina yadroga o'tkazilishi kerak.

Faollashtirish

TF-larni turli yo'llar bilan signalni sezish domeniga ta'sir qilish orqali faollashtirish-o'chirish mumkin:

- ligandlarning bog'lanishi - polipeptid tarkibiga kirmaydigan faoliyat uchun zarur bo'lgan modda (masalan, Zn^{2+} ionlari)
- fosforillanish - DNKni bog'lash uchun ko'plab TFlar fosforlangan bo'lishi kerak.
- boshqa TF va yoki asosiy tartibga soluvchi oqsillar bilan o'zaro ta'siri.

DNKni bog'laydigan saytga kirish imkoniyati

Eukariotlarda doimiy ravishda transkripsiya qilinmaydigan genlar ko'pincha geteroxromatinda (DNKning histon bog'lanishi bilan mahkam o'ralgan va ixcham xromatin fibrillalarida tashkil etilgan hududlari) topiladi. Heterokromatin tarkibidagi DNK ko'plab transkripsiya omillari uchun mavjud emas. TFlar DNKni bog'lashi uchun geteroxromatin odatda giston modifikatsiyalari orqali evromatinga aylanishi kerak. Shuningdek, TF ning DNK bilan bog'lanishida xromatinning nukleosomalardan erkin bo'lishi muhim rol o'ynaydi. Nukleosomalardan xoli xromatin ochiq xromatin deb ataladi va

nukleosoma bilan bog'langan xromatinga qaraganda transkripsiya omillarini ko'proq bog'laydi. Nukleosomalarni qayta taqsimlash xromatinni qayta qurish omillari yordamida amalga oshiriladi. Agar boshqa transkripsiya omili bilan bog'langan bo'lsa, DNKdagi TF bilan bog'lanish joyiga ham kirish imkoni bo'lmasligi mumkin. Bir gen faolligini tartibga solishda transkripsiya omillarining juftlari antagonistik rol o'ynashi mumkin (aktivator - repressor). TF bilan bog'lanish joyi bilan bog'liq bo'lgan boshqa kofaktorlar -transkripsiya omillarining mavjudligi.

Ko'pgina TFlar yolg'iz ishlamaydi. Ko'pincha, genning transkripsiyasini faollashtirish uchun ko'p miqdordagi TFlar uning tartibga soluvchi elementlari bilan bog'lanishi kerak. TF ning bog'lanishi kofaktorlar kabi oraliq oqsillarning to'planishiga olib keladi, bu esa dastlabki kompleksning yig'ilishiga va RNK polimeraza promotoriga tushishiga olib keladi.

9.3 TF tuzilishi

TFlar modulli tuzilishga ega va quyidagi domenlarni o'z ichiga oladi.

- DNKni bog'lovchi domen (DNK) - promotorlar va kuchaytirgichlarga xos bo'lgan maxsus DNK ketma-ketliklari bilan o'zaro ta'sir qiladi. Muayyan ketma-ketliklarni tan olishning o'ziga xosligi ushbu TFlar tomonidan tartibga solinadigan genlar to'plamini belgilaydi;

- transaktivlashtiruvchi domen (TAD) - boshqa oqsillar uchun bog'lanish joylarini o'z ichiga oladi, masalan, transkripsiya koregulatorlar.

- signalni aniqlash sohasi (SSD) (masalan, ligand bog'lovchi domen), u tashqi signallarga sezgir va signalni transkripsiya kompleksining boshqa komponentlariga uzatish uchun javob beradi, bu esa ifoda darajalarining oshishi yoki pasayishiga olib keladi.

DNKni bog'lovchi domen

DNKni bog'lovchi transkripsiya omillarining strukturaviy va funksional birligi (domeni) DNKni bog'lovchi domen deb ataladi.

Transkripsiya omillari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi DNK hududlari TF bilan bog'lanish joylari deb ataladi. O'zaro ta'sir elektrostatik kuchlar, vodorod aloqalari va Van der Vaals kuchlari tufayli amalga oshiriladi. Protein molekulasining fazoviy tuzilishi bilan belgilanadigan bu kuchlarning korporativ, sterik jihatdan aniqlangan ta'siri tufayli TF faqat

DNKning ma'lum bo'limlari bilan bog'lanadi. TF bilan bog'lanish joyiga kiritilgan DNKdagi barcha nukleotid asoslari oqsil bilan o'zaro ta'sirlashganda bir xil ahamiyatga ega emas. Natijada, TFlar odatda qat'iy belgilangan birlamchi tuzilishga ega bo'lgan mintaqa bilan emas, balki yaqin o'xshashliklarga ega bo'lgan, har biri turli darajadagi yaqinlikka ega bo'lgan tuzilmalar guruhi bilan bog'lanadi. Misol uchun, TATA-bog'lovchi oqsillar uchun konsensus bog'lovchi sayt ketma-ketligi TATAAAA bo'lsa-da, ular TATATAT va TATATAA bilan ham o'zaro ta'sir qilishi mumkin.

F larning geterogen strukturaning qisqa DNK hududlari bilan o'zaro ta'siri tufayli potentsial TF bog'lanish joylari juda uzun DNK molekulasida tasodifiy ravishda paydo bo'lishi mumkin. Biroq, TFlar genomdagi barcha mos elementlar bilan o'zaro ta'sir qilishi mumkin emas.

Saytga kirish imkoniyati va kofaktorlarning mavjudligi kabi turli cheklovlar TFlarni kerakli DNK hududlariga yo'naltirishni osonlashtirishi mumkin. Shunday qilib, genom ketma-ketligiga asoslanib, in vivo jonli ravishda TF ning DNK bilan bog'lanish joyini ishonchli bashorat qilish qiyin. Qo'shimcha TF o'ziga xosligi bir vaqtning o'zida ikkita yoki undan ko'p qo'shni ketma-ketliklar bilan o'zaro ta'sir qiluvchi bir protein ichida bir nechta DNK bog'lash domenlarining mavjudligi bilan vositachilik qilishi mumkin.

Sink barmoq domenlari bilan transkripsiya omillari

Sink barmoq oqsillari KROX-24 oqsili (yoki Zif/268 oqsili), KROX-20 oqsili, EGR-3 oqsili, NGFI-B oqsili, NGFI-C oqsili va boshqalarni o'z ichiga olgan transkripsiya omillari guruhidir. NURR oqsili.

Tozalangan rekombinant oqsil sifatida olingan birinchi transkripsiya omillaridan biri RNK polimeraza III tomonidan 5S rRNK genlarini transkripsiyasida asosiy rol o'ynaydigan TFIIIA bo'ldi. Ushbu omilning polipeptid zanjirining DNK bilan bog'langan hududi to'qqizta 30-mer takrorini o'z ichiga oladi: Tyr/Phe-Xaa-Cys-Xaa-Cys-Xaa_{2,4}-Cys-Xaa₃-Phe-Xaa₅-Leu-Xaa₂-His-Xaa_{3,4}-His - Xaa₅, bu erda Xaa har qanday aminokislota qoldig'idir. Har bir takrorlash bitta sink ioni bilan o'zaro ta'sir qiluvchi ikkita qat'iy saqlangan Cys va Uning qoldiqlarini o'z ichiga oladi. Bu Phe, Leu konservativ qoldiqlari va asosiy aminokislotalarning bir nechta qoldiqlaridan hosil bo'lgan katlanmish polipeptid zanjirida fazoviy strukturaning shakllanishiga olib keladi. Tuzilishi oqsil globulasi yuzasidan "barmoq" shaklida chiqib turadi (9.2-

rasm, a). Barmoqlarning uchlari DNKning asosiy yivi bilan bevosita aloqada bo'lib, qo'shni barmoq shaklidagi tuzilmalar DNK spiralining qarama-qarshi tomonlari bilan bog'langan (9.2-rasm, b). Sink barmoq domenlari RNK polimeraza II (Sp1, Drosophila Kruppel oqsili, xamirturush ADRI va GAL4 oqsillari va adenovirus E1A oqsili) faoliyatini ta'minlaydigan ko'plab transkripsiya omillarida mavjud. Kruppel oqsili genidagi nuqta mutatsiyasi, Cys qoldiqlaridan faqat bittasini Ser bilan almashtirishga olib keladi, bu Zn^{2+} ionining bog'lanishiga to'sqinlik qiladi, fenotipik ravishda ushbu omil uchun butun genning yo'q qilinishi sifatida namoyon bo'ladi, shuning uchun shunday xulosaga keldik. Zn^{2+} ionlarini bog'lash qobiliyati ushbu turdagi omillarning DNK bilan bog'lanish faolligini namoyon qilish uchun juda muhimdir.



9.2-rasm. Sink barmoq domenlari va ularning DNK bilan o'zaro ta'siri. Turdagi polipeptid domenlari tuzilishining xususiyatlari

"Sink barmoqlari" va ularning DNK bilan o'zaro ta'siri a - Zn-bog'laydigan Cys (C) va Hys (H) qoldiqlarini o'z ichiga olgan domen strukturasi diagrammasi; b - silindr shaklida tasvirlangan barmoqlarning DNK bilan o'zaro ta'sirining taklif qilingan mexanizmi. Oklar kontaktlarning zanglashiga olib kelishini ko'rsatadi

DNK 5'3'; c - faqat Zn-bog'lovchi Cys qoldiqlarini o'z ichiga olgan sink barmoq domenlari strukturasi diagrammasi. Kvadrat qavslar palindromikni tan olishda ishtirok etadigan polipeptid zanjirlarining hududlarini ko'rsatadi

DNK ketma-ketligi (A va B).

Shunga o'xshash domenlar qalqonsimon bez yoki steroid gormonlar retseptorlari oilasining polipeptid zanjirlarida mavjud bo'lib, ular gormonlar bilan birgalikda yadroga o'tgandan so'ng, ma'lum DNK ketma-ketliklari bilan o'zaro ta'sir qiladi, mos keladigan maqsadli genlarning transkripsiya darajasini o'zgartiradi. Biroq, bu holda, DNK bilan bog'lanish joylari ikkita Cys va ikkita His o'miga Zn^{2+} ionini bilan o'zaro ta'sir qiluvchi to'rtta Cys qoldig'ini o'z ichiga olgan ikkita barmoqdan iborat (9.2-rasm); ularda konservalangan Phe va Leu

qoldiqlari ham yo'q. Ikki sink barmoq elementi bunday retseptorlarning polipeptid zanjirlarida faqat bir marta uchraydi, Cys-His bilan sink barmoqlarini kodlaydigan genlarda shunga o'xshash element 2 dan 37 martagacha takrorlanishi mumkin.

Joyga yo'naltirilgan mutagenez usullaridan foydalangan holda, bu retseptorlarning ularning ketma-ketligi bilan o'zaro ta'sirining o'ziga xosligi oz miqdordagi aminokislotalar qoldiqlari bilan aniqlanishi aniqlandi. Shunday qilib, glyukokortikoid retseptorining sink barmog'ining N-terminal qismidagi atigi ikkita aminokislota qoldig'ini estrogen retseptorining xuddi shu hududida joylashgan aminokislotalar qoldiqlari bilan almashtirish mutant retseptorlari tan olingan tartibga soluvchi ketma-ketliklar bilan o'zaro ta'sir qila boshlashiga olib keladi. estrogen retseptorlari va genlarni faollashtiradi, bu ketma-ketliklar tomonidan boshqariladi. Estrogen retseptorlarining ikkinchi barmog'idagi beshta aminokislota qoldig'ining shunga o'xshash almashtirilishi ham uning o'ziga xosligining o'zgarishiga olib keladi: u qalqonsimon gormonlarning tartibga soluvchi ketma-ketligi bilan o'zaro ta'sir qilish qobiliyatiga ega bo'ladi. Ikkala retseptor ham bir xil nukleotidlar ketma-ketligini taniydi, faqat ular orasidagi masofada farqlanadi. Bunday holda, birinchi sink barmoq ketma-ketlikni tan olishda asosiy rol o'ynaydi, ikkinchisi esa bu ketma-ketlikning ikki yarmi o'rtasidagi o'zaro ta'sir qilish uchun optimal masofani belgilaydi.

1983 yildan beri ma'lum bo'ldiki, TFIIIA RNK polimeraza III transkripsiya omilining DNK bilan bog'lanishi kofaktor sifatida rux atomlarini talab qiladi [Hanas J.S. va boshq., 1983]. TFIIIA omilini klonlashdan so'ng, uning birlamchi tuzilishida sistein va gistidin qoldiqlaridan iborat takrorlanuvchi ketma-ketliklar topildi va Cys²His² sink barmog'ining DNK bilan bog'lanish domenining modeli taklif qilindi. Ko'p o'tmay, estrogen retseptorlarini kodlash ketma-ketligi klonlandi va faqat tipdagi sistein qoldiqlarining (Cys⁴) o'xshash taqsimoti topildi.

Ushbu omillar uchun sistein qoldiqlarining joylashuvida minimal o'zgarishlarga ega bo'lgan Cys⁴ sink barmoq tipidagi DNKni bog'lash domenining modeli ham taklif qilingan, bu keyinchalik isbotlangan.

Ushbu turdagi DNK-bog'lovchi domenni o'z ichiga olgan oqsillarning ikkita katta sinfiga qo'shimcha ravishda, Cys⁴ sink barmoqlarini o'z ichiga olgan ko'plab boshqa omillar, shu jumladan GATA omillari, shuningdek, bir qator qo'ziqorin va adenovirus E1A tartibga soluvchi oqsillari mavjud. Va nihoyat, GAL4 tipidagi

xamirturushni tartibga soluvchi oqsillar Cys6 tipidagi sink klasterlari sifatida birlashtirilgan.

P53 oqsili ushbu sinflarning hech biriga kiritilmagan, chunki uning sink bilan muvofiqlashtirilgan domeni oqsilning DNK bilan aloqa qiladigan yuzasining bir qismi emas.

Cys4 tipidagi sink barmoqlarini o'z ichiga olgan yadro retseptorlari sinfi

DNK bilan kompleksda bu omillar ikkinchi sink barmoqning birinchi juft sisteinlari atrofida joylashgan hudud orqali dimerlanadi. Ular past molekulyar og'irlikdagi ligand bilan bog'langanda faollashadi. Biroq, ko'pgina omillar uchun bu ligand hali aniqlanmagan va shuning uchun bu pozitsiyaning umumiy asosliligi isbot talab qiladi. Ushbu sinf ichidagi oilalarni ajratish uchun ishlatiladigan asosiy farq ligandlarning tabiati va geterodimerizatsiya qobiliyati bilan bog'liq.

Barcha omillar yadro retseptorlariga xos bo'lgan sink barmoq domenini o'z ichiga oladi. Ushbu sinfning oqsillari ikkita Cys4 tipidagi sink barmoqli motiflarni o'z ichiga oladi. Ulardan birinchisi DNK bilan bog'lanishning o'ziga xosligi uchun javobgardir, ikkinchisi dimerni barqarorlashtirish uchun. Har bir retseptor molekulasida turli o'lchamdagi ikkita domen, aminokislotalar tarkibi va ta'sir qilish mexanizmi mavjud. Har bir barmoqda Zn^{2+} ionini muvofiqlashtiruvchi to'rtta Cys qoldig'i mavjud. Qavat Domenning yadrosi, jumladan Cys qoldiqlarining ikkinchi juftligi alfa spiralni hosil qiladi. Birinchi barmoq spiral DNKning asosiy yivi bilan o'zaro ta'sir qiladi. Birinchi ikkita Cys qoldig'i orasidagi ketma-ketlik DNKni bog'lovchi omillarning dimerizatsiyasini ta'minlaydi.

Sinfda ikkita oila mavjud: 1) steroid gormonlar retseptorlari (quyi oilalar: kortikoid retseptorlari (GR), progesteron retseptorlari (PR), androgen retseptorlari (AR), estrogen retseptorlari (ER); jami o'nta omil); 2) qalqonsimon gormon retseptorlarga o'xshash omillar (kichik oilalar: retinoik kislota retseptorlari (RAR), retinoid X retseptorlari (RXR), qalqonsimon gormonlar retseptorlari (T3R), vitamin D retseptorlari (VDR), NGFI-B, FTZ-F1, PPAR, EcR, ROR, TII /COUP, HNF-4, CFI, Knirps; jami 69 ta omil).

9.4 Klinik jihatlar

Irsiy axborotni amalga oshirish jarayonida TF ning asosiy roli tufayli odamning ayrim kasalliklari TF genlaridagi mutatsiyalar

natijasida yuzaga kelishi mumkin. Quyida ushbu turdagi eng ko'p o'rganilgan kasalliklar mavjud:

- Rett sindromi. MeCP2 TF genidagi mutatsiyalar sindrom bilan bog'liq

Rett, neyrodegenerativ) kasallik

- Qandli diabet. MODY (Yoshlarning etuk diabeti) deb ataladigan kam uchraydigan diabet turiga ma'lum TF genlaridagi mutatsiyalar sabab bo'lishi mumkin

- Rivojlanishdagi og'zaki dispraksiya. (nutq funktsiyalarining buzilishi).

FOXP2 TF genidagi mutatsiyalar ushbu kasallikning rivojlanishi bilan bog'liq bo'lib, unda odam nutq funktsiyasi uchun zarur bo'lgan muvofiqlashtirilgan harakatlarni amalga oshira olmaydi.

- Autoimmün kasalliklar. FOXP3 TF genidagi mutatsiyalar otoimmün kasalligi IPEX (immunitetni tartibga soluvchi poliendokrinopatiya enteropati X-bog'langan sindrom) bilan bog'liq.

- Saraton. Ko'pgina transkripsiya omillari onkogenlar yoki o'smalarni bostiruvchi moddalar bo'lib, ularning mutatsiyalari yoki noto'g'ri tartibga solinishi saraton rivojlanishiga olib kelishi mumkin. Masalan, Li-Fraumeni sindromi p53 o'simtani bostiruvchi gen.

9.5 TF ning tasnifi

TFlarni (1) ta'sir mexanizmiga, (2) tartibga solish funktsiyasiga, (3) DNK bilan bog'lanish sohasining tuzilishiga, shuningdek, tabiiy va (5) sun'iy larga ko'ra tasniflash mumkin.

Harakat mexanizmi

Ushbu xususiyatga asoslanib, TFlarning uchta klassi ajratiladi:

- Boshlanish kompleksini shakllantirishda ishtirok etuvchi asosiy transkripsiya omillari (GTF). Ulardan eng muhimlari TFIIA, TFIIB, TFID, TFIE, TFIIF va TFIIH. Ular barcha hujayralarda mavjud va 2-sinf RNK polimeraza tomonidan transkripsiyalangan genlarning asosiy promouteri bilan o'zaro ta'sir qiladi.

- DNKning yuqori oqimidagi hududlari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi TFlar (promotoring yuqori oqimida joylashgan, genning kodlash mintaqasining boshqa tomonida unga nisbatan yotgan hududlar).

- Induktiv TFlar oldingi sinfga o'xshaydi, lekin faollashtirish yoki ingibirlashni talab qiladi.

Funktsiya

1. Konstitutiv - barcha hujayralarda doimo mavjud - asosiy transkripsiya omillari, Sp1, NF1, CCAAT.

2. Faollashgan (ma'lum sharoitlarda faol)

Organizm rivojlanishida ishtirok etish (hujayraga xos) - ekspressiya qat'iy nazorat qilinadi.

qo'shimcha faollashtirishni talab qiladi - GATA, HNF, PIT-1, MyoD, Myf5, Hox, Winged Helix.

Signalga bog'liq - faollashtirish uchun tashqi signal talab qilinadi

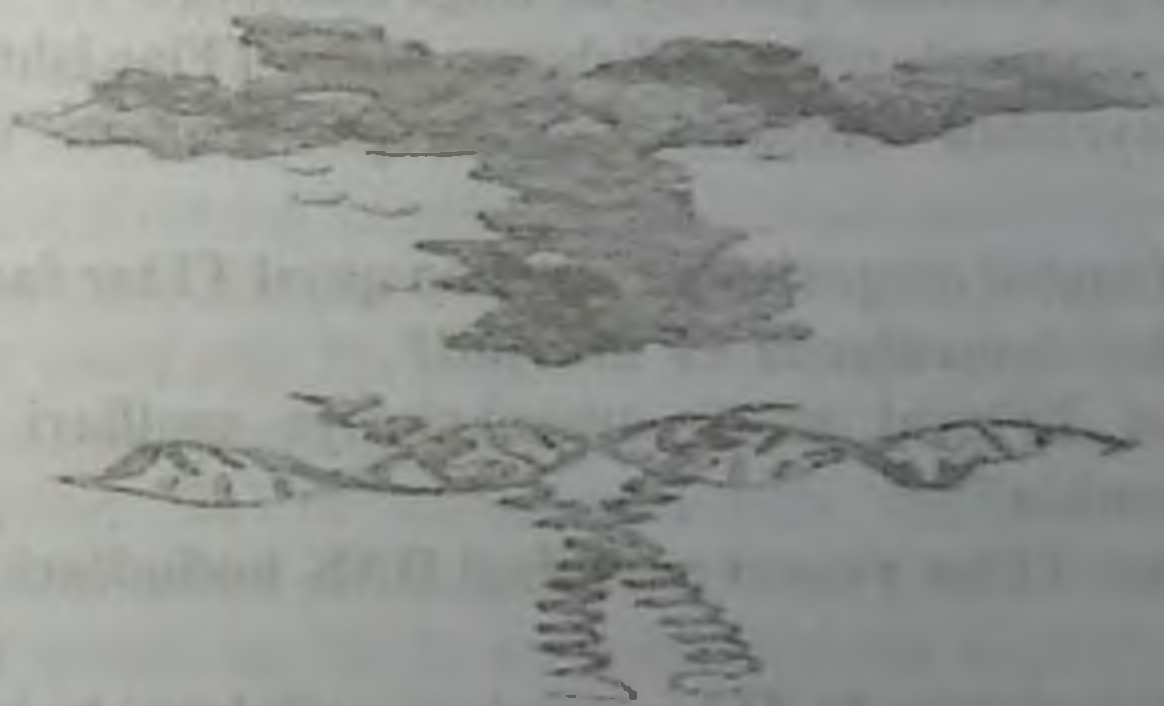
hujayradan tashqari signalga bog'liq - yadro retseptorlari

hujayra ichidagi signalga bog'liq - past molekulyar og'irlikdagi hujayra ichidagi birikmalar tomonidan faollashtirilgan - SREBP, p53, yagona yadro retseptorlari

membrana bilan bog'langan retseptorlarga bog'liq.

8. Rezident yadro omillari - faollashuvidan qat'iy nazar yadroda joylashgan - CREB, AP-1, Mef2

9. Yashirin sitoplazmatik omillar - faol bo'lmagan holatda sitoplazmada lokalizatsiya qilinadi, faollashgandan so'ng ular yadroga ko'chiriladi - STAT, R-SMAD, NF-kB, Notch, TUBBY, NFAT.



Rasm. 9.3. DNK bilan komplekslangan leytsinli molniya DNK bog'lovchi domeni.

Transkripsiya omillari DNKni bog'lovchi domenlarning birlamchi strukturasi o'xshashligi (uchlamchi tuzilmaning o'xshashligini nazarda tutadi) asosida tasniflanadi.

Sp1 (inglizcha: Specificity protein 1) - 12-xromosomadagi SP1 geni tomonidan kodlangan odam transkripsiya omili. Sp1 transkripsiya omillarining Sp/KLF (Specificity protein/krüppel-o'xshash

omil) oilasiga kiradi. Protein tarkibida 785 ta aminokislotalar mavjud va og'irligi 81 kDa, "qorgoshin barmog'i" strukturaviy motivga ega, bu DNK bilan bevosita bog'lanish va gen transkripsiyasi darajasini oshirish imkonini beradi. Sp1 organizmda juda keng tarqalgan va ko'plab genlarni tartibga soladi. Sp1 ning haddan tashqari ko'payishi ular o'rgangan barcha sichqon va yumronqoziq hujayralarida apoptozni keltirib chiqaradi. Keratokonusli shox pardada Sp1 darajasining ortishi kuzatiladi. Tadqiqotga ko'ra, odam shox pardasi stromal hujayralarida Sp1 ekspressiyasini sun'iy ravishda oshirish, katepsin B ning ko'payishiga va keratokonusda kuzatilgan anormalliklarni takrorlaydigan proteaz ingibitori 1 ning pasayishiga olib keladi. Ko'zning degenerativ, yallig'lanishsiz kasalligi, shox parda yupqalashib, konus shaklini oladi.

Neyrofibromin 1, neyrofibromatoz bilan bog'liq protein (NF-1) odam NF1 geni tomonidan kodlangan oqsildir.

NF1 genidagi mutatsiyalar 1-toifa neyrofibromatoz bilan bog'liq. NF1 geni Ras oqsili orqali signal uzatish yo'lining salbiy regulyatori bo'lib ko'rinadigan neyrofibromin oqsilini kodlaydi.

Nazorat savollari

1. Qanday oqsillarni transkripsiya omillari sifatida tasniflash mumkin?

2. Bazal gen ifodasi qanday tartibga solinadi?

3. Iontogenezni tartibga solishda qanday TFlar ishtirok etadi?

4. Hujayradan tashqari signallarga javoban qaysi TFlar faollashadi?

5. Atrof muhit o'zgarishiga javoban qaysi TFlar faollashadi?

6. Qanday domenlarda TF mavjud?

7. Qaysi TFlarni asosiy transkripsiya omillari (GTF) deb tasniflash mumkin?

8. Qanday TFlar yuqori oqimdagi DNK hududlari bilan o'zaro ta'sir qiladi?

9. Induksiyalanuvchi TFlar qanday vazifalarni bajaradi?

10. Transkripsiya omillari genlarida qanday mutatsiyalar ularning funksiyasining buzilishiga olib keladi?

X BOB. TRANSLYATSIYA

Translatsiya (lotincha *translatio* - tarjima) - bu ribosoma tomonidan amalga oshiriladigan informatsion RNK (iRNK, mRNK) matritsasidagi aminokislotalardan oqsil sintezi jarayoni.

10.1 Genetik kod va uning xossalari

mRNK va DNK nukleotidlarining ketma-ketligida oqsillar tuzilishini kodlash zarurati translatsiya paytida quyidagilar bilan bog'liq:

- mRNK matritsasidagi monomerlar soni va mahsulot - sintezlangan oqsil o'rtasida moslik yo'q;
- RNK va oqsil monomerleri o'rtasida strukturaviy o'xshashlik yo'q.

Bu matritsa va mahsulot o'rtasidagi to'ldiruvchi o'zaro ta'sirni yo'q qiladi - yangi DNK va RNK molekulalarini qurish replikatsiya va transkripsiya paytida amalga oshiriladigan printsiptir.

Bundan ma'lum bo'ladiki, mRNK nukleotidlarining qaysi ketma-ketligi aminokislotalarning ma'lum ketma-ketlikda oqsil tarkibiga kirishini ta'minlaydigan "lug'at" bo'lishi kerak. Ushbu "lug'at" genetik, biologik, nukleotid yoki aminokislotalar kodi deb ataladi (10.1-jadval). Bu sizga DNK va mRNKdagi nukleotidlarning ma'lum bir ketma-ketligi yordamida oqsillarni tashkil etuvchi aminokislotalarni shifrlash imkonini beradi. U ma'lum xususiyatlar bilan ajralib turadi.

Tripletlilik. Kodning xossalarini aniqlashda asosiy savollardan biri oqsil tarkibiga bitta aminokislota kiritilishini aniqlaydigan nukleotidlar soni haqidagi savol edi. Bu raqam 1 yoki 2 ga teng bo'lishi mumkin emasligi darhol aniq bo'ldi, chunki bu holda kodlash elementlarining soni oqsillardagi 20 ta aminokislotalarni shifrlash uchun etarli bo'lmaydi. Uchta to'rtta nukleotidning kodlash ketma-ketligi soni $4^3 = 64$ ni tashkil qiladi, bu 20 ta aminokislotalarni kodlash uchun zarur bo'lgan minimal sondan 3 baravar ko'pdir. Keyinchalik ma'lum bo'lishicha, aminokislotalar ketma-ketligini shifrlashda kodlash elementlari haqiqatan ham nukleotidlarning tripletlari yoki "kodonlar" deb ataladigan tripletlardir.

Kodonlarning ma'nosi

Kodonlarning ma'nosi 20-asming 60-yillarida hujayrasiz oqsil sintezi tizimi va ma'lum nukleotidlar ketma-ketligiga ega sintetik poliribonukleotidlardan matritsa sifatida foydalanib, M. Nirenberg va G. Mattei ma'lum bir tuzilishga ega polipeptidlarni sintez qilganda aniq

bo'ldi. Shunday qilib, faqat os dan iborat poli-U matritsada tatkov UMF, polifenilalanin, poli-C matritsasida esa poliprolin olindi. Bundan kelib chiqadiki, -UUU uchligi Fen, -SSS - Pro tripletini kodlaydi.

Keyingi tajribalarda ma'lum tarkibga ega aralash sintetik poliribonukleotidlar qo'llanildi. Ushbu ish natijasida 64 ta kodondan aminokislotalarning sintezlangan polipeptid zanjiriga qo'shilishi 61 tripletni kodlashini, qolgan 3 tasi - UAA, UAG, UGA - aminokislotalarning kiritilishini kodlamasligini aniqlash mumkin edi. oqsil tarkibidagi kislotalar va dastlab ma'nosiz yoki bema'no kodonlar deb atalgan. Biroq, keyinchalik bu uchlik translatsiyaning tugallanganidan dalolat berishi ko'rsatilgan va shuning uchun ular terminatsiya yoki stop kodonlari deb atala boshlagan.

mRNK kodonlari va DNK ning kodlash zanjiridagi 5' dan 3' oxirigacha bo'lgan nukleotidlarning tripletlari bir xil azotli asoslar ketma-ketligiga ega, faqat DNKda mRNKga xos bo'lgan urasil (U) o'rniga timin joylashadi (T).

Har bir kodon faqat bitta o'ziga xos aminokislotaga mos keladi. Shu ma'noda, genetik kod qat'iy bir spesifiklikka ega.

Tugma irsiylik

mRNK va DNKda 61 ta triplet mavjud bo'lib, ularning har biri oqsil tarkibiga 20 ta aminokislotalardan birining kiritilishini kodlaydi. Bundan kelib chiqadiki, informatsion molekulalarida bir xil aminokislotalarning oqsil tarkibiga kirishi bir nechta kodonlar bilan aniqlanadi. Biologik kodning bu xususiyati tugma irsiylik deb ataladi.

Odamda faqat 2 ta aminokislotalar bitta kodon bilan kodlangan - Met va Tri (Trp), Leu, Ser va Apr esa - oltita kodon bilan, Ala, Val, Gly, Pro, Tre - to'rtta kodon bilan (10.1-jadval).

Kodlash ketma-ketliklarining ortiqchaligi kodning eng qimmatli xususiyatidir, chunki u tashqi va ichki muhitning salbiy ta'siriga nisbatan axborot oqimining barqarorligini oshiradi. Oqsil tarkibiga kiradigan aminokislotalarning tabiatini aniqlashda kodondagi uchinchi nukleotid birinchi ikkitasi kabi muhim ahamiyatga ega emas. 10.1-jadvaldan ko'rinib turibdiki, ko'pgina aminokislotalar uchun nukleotidni kodonning uchinchi holatiga almashtirish uning ma'nosiga ta'sir qilmaydi.

Axborotni qayd etishning chiziqli ketma-ketligi

Translatsiya paytida mRNK kodonlari belgilangan boshlang'ich nuqtadan ketma-ket "o'qiladi" va bir-biriga yopishmaydi. Axborot yozuvida bitta kodonning oxiri va keyingisining boshlanishini ko'rsatadigan signallar mavjud emas.

AUG kodoni inisiatsiya kodonidir va mRNKning boshida ham, boshqa qismlarida Met sifatida o'qiladi. Undan keyingi tripletlar polipeptid zanjirining sintezi tugaydigan stop-kodonga qadar hech qanday bo'shliqlarsiz ketma-ket o'qiladi.

Universallilik

Yaqin vaqtgacha kodning mutlaqo universal ekanligiga ishonishgan, ya'ni. kodli so'zlarning ma'nosi barcha o'rganilayotgan organizmlar uchun bir xil: viruslar, bakteriyalar, o'simliklar, amfibiyalar, sutemizuvchilar, shu jumladan odamlar. Biroq, keyinroq bitta istisno ma'lum bo'ldi; ma'lum bo'ldiki, mitoxondrial mRNK yadroviy mRNKga qaraganda boshqacha ma'noga ega bo'lgan 4 ta tripletni o'z ichiga oladi. Shunday qilib, mitoxondrial mRNKda triplet UGA Tri kodlaydi, AUA Metni kodlaydi va ACA va AGG qo'shimcha stop kodonlari sifatida o'qiladi.

Gen va mahsulotning kolinearligi

Prokaryotlarda genning kodon ketma-ketligi va oqsil mahsulotidagi aminokislotalar ketma-ketligi o'rtasida chiziqli muvofiqlik topilgan yoki gen va mahsulot o'rtasida kolinearlik mavjud.

Eukariotlarda oqsildagi aminokislotalar ketma-ketligi bilan kolinear bo'lgan gendagi asoslar ketma-ketligi intronlar tomonidan uziladi. Shuning uchun, eukaryot hujayralarda oqsilning aminokislotalar ketma-ketligi intronlarning transkripsiyadan keyingi olib tashlanishidan keyin gen yoki etuk mRNKdagi ekzonlar ketma-ketligiga mos keladi.

Start kodon

Boshlang'ich kodon yoki start kodoni ribosomada oqsil translatsiyasi boshlanadigan matritsa RNKning birinchi kodonidir. Eukariotlar va zamburuglarda boshlang'ich kodon har doim metioninni, prokaryotlarda esa o'zgartirilgan metioninni (N-formilmetionin) kodlaydi. Ko'pgina hollarda, start kodonining rolini AUG tripleti bajaradi. Start kodoni oldidan 5' translatsiya qilinmagan mintaqaga (5'-UTR) joylashgan. Shine-Dalgarno ketma-ketligi (AGGAGG) bakteriyalarning 5'-UTR qismida lokalizatsiya qilingan bo'lib, u ribosomani bog'lash uchun xizmat qiladi va boshlang'ich kodondan ajratuvchi bilan ajratiladi.

Muqobil (alternative) start kodonlari standart AUG kodonidan farq qiladi. Bunday kodonlar prokaryotlarda ham, eukariotlarda ham uchraydi. Alternative start kodonlar odatda oqsilning boshida bo'lganida metioninni kodlaydi (hatto kodon boshqa aminokislotalarni kodlasa ham). Masalan, GUG kodoni kodlash ketma-ketligi ichida joylashgan

bo'lsa, valinni va ketma-ketlikning boshida joylashgan bo'lsa, boshlang'ich metioninni kodlaydi. Buning sababi, translatsiyani boshlash uchun maxsus transport RNKdan foydalaniladi. Boshlovchi aminoatsil-tRNKning antikodoni har doim CAU; u AUG asosiy boshlang'ich kodonini to'liq to'ldiradi va kam uchraydigan kodonlarni qisman to'ldiradi. Qisman to'ldiruvchi GUG va UUG dan tashqari, istisno hollarda, ayniqsa bakterial hujayralarda, inisiatsiya AUU, AUA, ACG va CUG tripletlari bilan boshlanishi mumkin. Bu "zaif" deb ataladigan kodonlar o'z vazifalarini bajarishi mumkin

Pro- va eukariotlarga xos bo'lgan genetik kod.

Jadvalda barcha 64 ta kodon va tegishli aminokislotalar ko'rsatilgan. Asosiy tartib mRNKning 5' dan 3' oxirigacha.

10.2 Oqsil sintez tizimining asosiy komponentlari

10.2-jadvaldan ko'rinib turibdiki, polipeptid zanjirining sintezi uchun ko'p sonli komponentlar kerak bo'lib, ularning qo'shma va muvofiqlashtirilgan o'zaro ta'siri oqsil hosil bo'lishiga olib keladi.

| | | 5' → 3' | | | | | | | | |
|---|-----|-----------|-----|-------------|-----|------------|-----|---------|---|---|
| | | U | C | A | G | | | | | |
| U | UUU | Prolin | UUU | Fenilalanin | UAA | stop-kodon | UGU | Sistein | U | |
| | UUC | | UCC | | UAC | | UGC | | | C |
| | UUA | | UCA | | UAA | | UGA | | | A |
| | UUG | | UCG | | UAG | | UGG | | | G |
| C | CUU | Prolin | CUU | Prolin | CAU | Gistidin | CCU | Prolin | U | |
| | CUC | | CCU | | CAU | | CCU | | | C |
| | CUA | | CCA | | CAA | | CCA | | | A |
| | CUG | | CCG | | CAG | | CCG | | | G |
| A | AUU | Metatsion | AUU | Treonin | AUU | Ileonin | AUU | Ileonin | U | |
| | AUC | | AUC | | AUC | | AUC | | | C |
| | AUA | | AUA | | AUA | | AUA | | | A |
| | AUG | | AUG | | AUG | | AUG | | | G |
| G | GUU | Valin | GUU | Alanin | GAU | Asparagin | GUU | Valin | U | |
| | GUC | | GUC | | GAC | | GUC | | | C |
| | GUA | | GUA | | GAA | | GUA | | | A |
| | GUG | | GUG | | GAG | | GUG | | | G |

10.2-jadval - Oqsil sintez tizimining asosiy komponentlari

| Kerakli komponentlar | Funksiyalar |
|---|---|
| 1. Aminokislotalar | Protein sintezi uchun substratlar |
| 2. tRNK | tRNKlar adapter vazifasini bajaradi. Ularning akseptor uchi aminokislotalar bilan, antikodoni esa mRNK kodoni bilan o'zaro ta'sir qiladi. |
| 3. Aminoatsil-tRNK sintetaza | Har bir aa-tRNK sintetaza 20 ta aminokislotalardan birining tegishli tRNK bilan o'ziga xos bog'lanishini katalizlaydi. |
| 4. mRNK | Matritsa oqsillarning birlamchi tuzilishini aniqlaydigan kodonlarning chiziqli ketma-ketligini o'z ichiga oladi |
| 5. Ribosomalar | Protein sintezi joyi bo'lgan ribonukleoprotein subhujayra tuzilmalari |
| 6. ATP, GTP | Energiya manbalari |
| 7. Inisiasiya, elongatsiya oqsil omillari, terminatsiya | Tarjima jarayoni uchun zarur bo'lgan maxsus ekstraribosomali oqsillar (12 boshlang'ich omil: eIF; 2 cho'zilish omili: eEF1, eEF2 va tugatish omillari: eRF) |
| 8. Magniy ionlari | Ribosoma tuzilishini barqarorlashtiruvchi kofaktor |

Eslatmalar: eIF - inisiasiya omillari; eEF - elongatsiya omillari; eRF - terminatsiya omillari.

Aminokislotalar

Odam tanasidagi oqsillarning tuzilishini tashkil etuvchi barcha 20 ta aminokislotalar etarli miqdorda bo'lishi kerak. Bu talab birinchi navbatda muhim (ya'ni organizmda sintezlanmaydigan) aminokislotalarga taalluqlidir, chunki hujayraning kamida bitta muhim aminokislotalar bilan etarli darajada ta'minlanmaganligi kodonda oqsil sintezining pasayishiga va ba'zan to'liq to'xtashiga olib keladi.

mRNK. Sintezlangan oqsilning tuzilishi haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga oladi va matritsa vazifasini bajaradi.

tRNK. Odamlarda 50 ga yaqin turli tRNKlar bolib aminokislotalarni oqsil tarkibiga kirishini ta'minlaydi

tRNKlar "adapter molekulari" deb ataladi, chunki bu molekularning akseptor uchiga o'ziga xos aminokislotalar biriktirilishi mumkin va antikodon yordamida ular mRNKdagi o'ziga xos kodonni

taniydilar. Ribosomada oqsil sintezi jarayonida tRNK antikodonlarining mRNK kodonlari bilan bog'lanishi komplementarlik va antiparallelizm tamoyiliga muvofiq sodir bo'ladi.

| | |
|-------------------|-----------------|
| Antikodon tRNAArg | (3')-G-C-C-(5') |
| Apg kodonlari: | (5')-C-G-G-(3') |

Biroq, ma'lum bo'lishicha, har bir aminokislota uchun tRNKlar soni uni mRNKda kodlaydigan kodonlar soniga to'g'ri kelmaydi va shuning uchun ba'zi tRNKlar bir nechta kodon bilan bog'lana oladi.

Ushbu masalani o'rganish bizga quyidagilarni aniqlashga imkon berdi:

- kodonning dastlabki ikki asosi va antikodonning oxirgi ikki asosi oddiy kuchli juftliklarni (guanin-sitozin va adenin-urasil) hosil qiladi va o'ziga xoslikni dekodlashda eng katta hissa qo'shadi;

- kodonning uchinchi asosini antikodonning birinchi asosigaiga bog'lanishi birinchi ikkitasiga qaraganda kuchsizroq va bu ba'zi tRNKlarga bir nechta kodonni o'qish imkonini beradi.

Kodon va antikodon o'zaro ta'sirining tabiatini tushuntiruvchi gipoteza "tebranish gipotezasi" deb ataladi (ya'ni ko'pchilik kodonlarning uchinchi bazasi mos keladigan antikodon bilan juftlik hosil qilishda ma'lum bir erkinlik darajasiga ega va go'yo "tebranadi").

Masalan, arginin tRNKlaridan biri 5'-I-C-G-3' antikodoniga ega bo'lib, u 3 xil arginin kodonini taniy oladi:

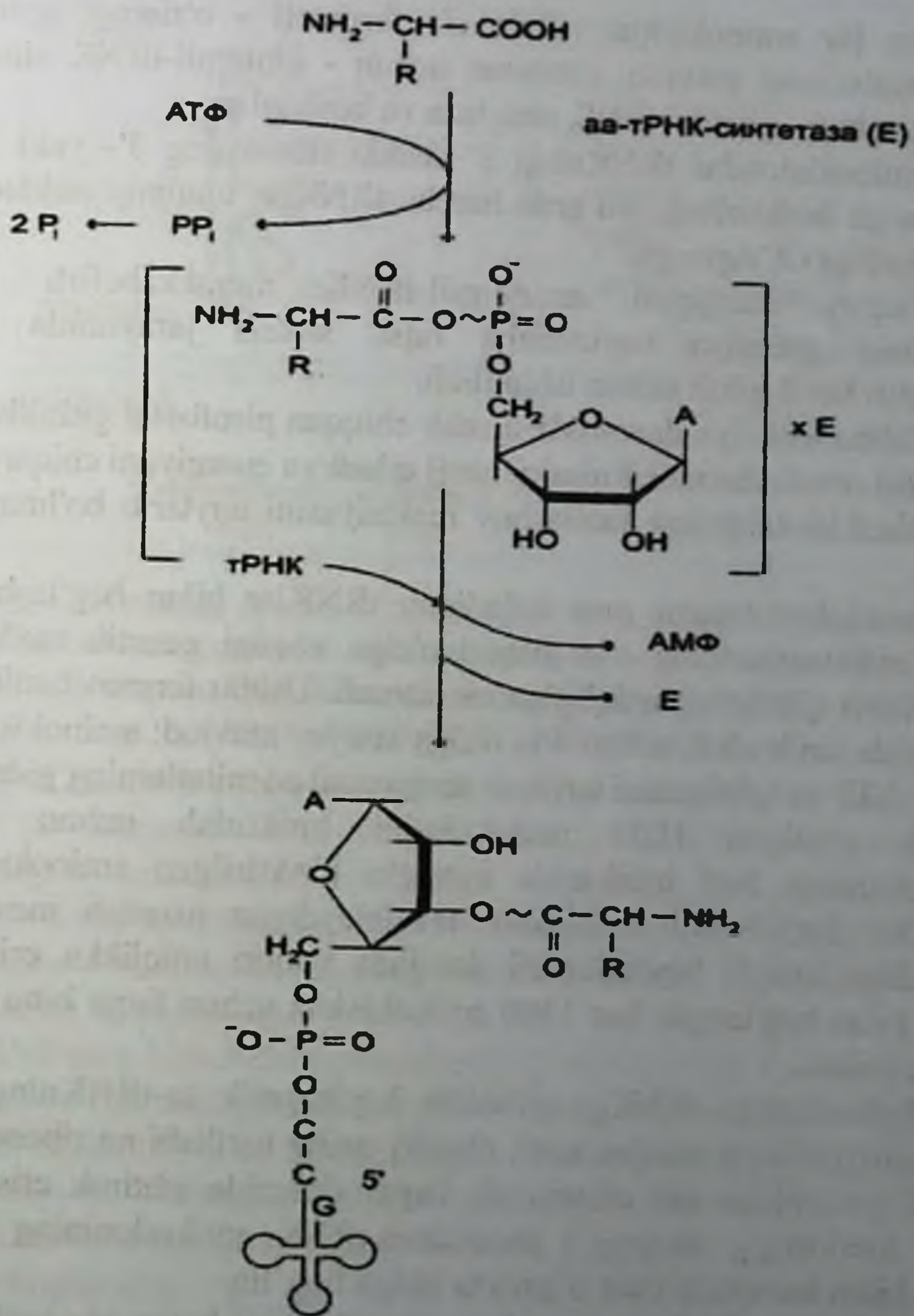
| | | | |
|-----------|-----------------|-------------|-------------|
| Antikodon | (3')-G-C-I-(5') | (3')-G-C-I- | (3')-G-C-I- |
| Kodonlar | (5')-C-G-A-(3') | (5')-C-G-U- | (5')-C-G-C- |

Aminoatsil-tRNK sintetazalari (aminoatsil-tRNK ligazalari)

Hujayralar sitozolida 20 xil aminokislotalar a-karboksil guruhi tomonidan mos keladigan tRNKlarning 3'-gidroksil qabul qiluvchi uchiga efir bog'ini hosil qilish uchun qo'shiladi. (10.1-rasm).

Bu reaksiyalar aminoatsil-tRNK sintetazalari (aa-tRNK sintetazalari) deb ataladigan fermentlar oilasi tomonidan katalizlanadi. Ushbu oilaning har bir a'zosi faqat bitta o'ziga xos aminokislota va ushbu aminokislota bilan bog'lanishga qodir bo'lgan tRNKlarni taniydi. Bundan kelib chiqadiki, tRNK sintetazalar guruhiga 20 xil ferment kiradi. Ular aminokislotalarni 2 bosqichda faollashtiradi: birinchi bosqichda aminokislota fermentga qo'shiladi va ATF bilan reaksiyaga

kirishib, energiyaga boy oraliq mahsulot – aminoatsil-AMF hosil qiladi. Ikkinchi bosqichda ferment bilan bog'langan aminoatsil adenilatning aminoatsil qoldig'i tRNK ga mos molekula bilan o'zaro ta'sirlanib, aminoatsil-tRNK hosil qiladi.



10.1-rasm - Aminoatsil-tRNKning hosil bo'lishi. Aminokislota ATP bilan o'zaro ta'sir qiladi va aminoatsil-tRNK sintetaza (E) bilan faollashadi, aminoatsil adenilat sintetaza kompleksini hosil qiladi, ferment (E) faollashtirilgan aminokislotani tRNK ga o'tkazib, aminoatsil-tRNK (aatRNK) hosil qiladi.

Mg²⁺ ionlari ishtirokida aminoatsil-tRNK sintetazalari tomonidan katalizlanadigan umumiy reaksiya quyidagicha ifodalanishi mumkin:

Aminokislotalar + tRNK + ATPF = aminoatsil - tRNK + AMP + PP.

Har bir aminokislota uchun o'z fermenti - o'zining aminoatsil tRNK sintetazasi mavjud: glutamat uchun - glutamil-tRNK sintetaza, gistidin uchun - gistidil-tRNK sintetaza va boshqalar.

Aminokislotalar tRNKning 3' uchida ribozaning 3'- yoki 2'-OH guruhlariga biriktiriladi, bu erda barcha tRNKlar umumiy nukleotidlar ketma-ketligi CCAga ega.

Yuqori energiyali aminoatsil-tRNK murakkabefirli boglar tarkibidagi energiya keyinchalik oqsil sintezi jarayonida peptid bog'lanish hosil qilish uchun ishlatiladi.

Ushbu reaksiya davomida ajralib chiqqan pirofosfat gidrolitik yo'l bilan ikki ortofosfat molekulasini hosil qiladi va energiyani chiqaradi, bu esa aminokislotalarning faollashuv reaksiyasini qaytarib bo'lmaydigan qiladi.

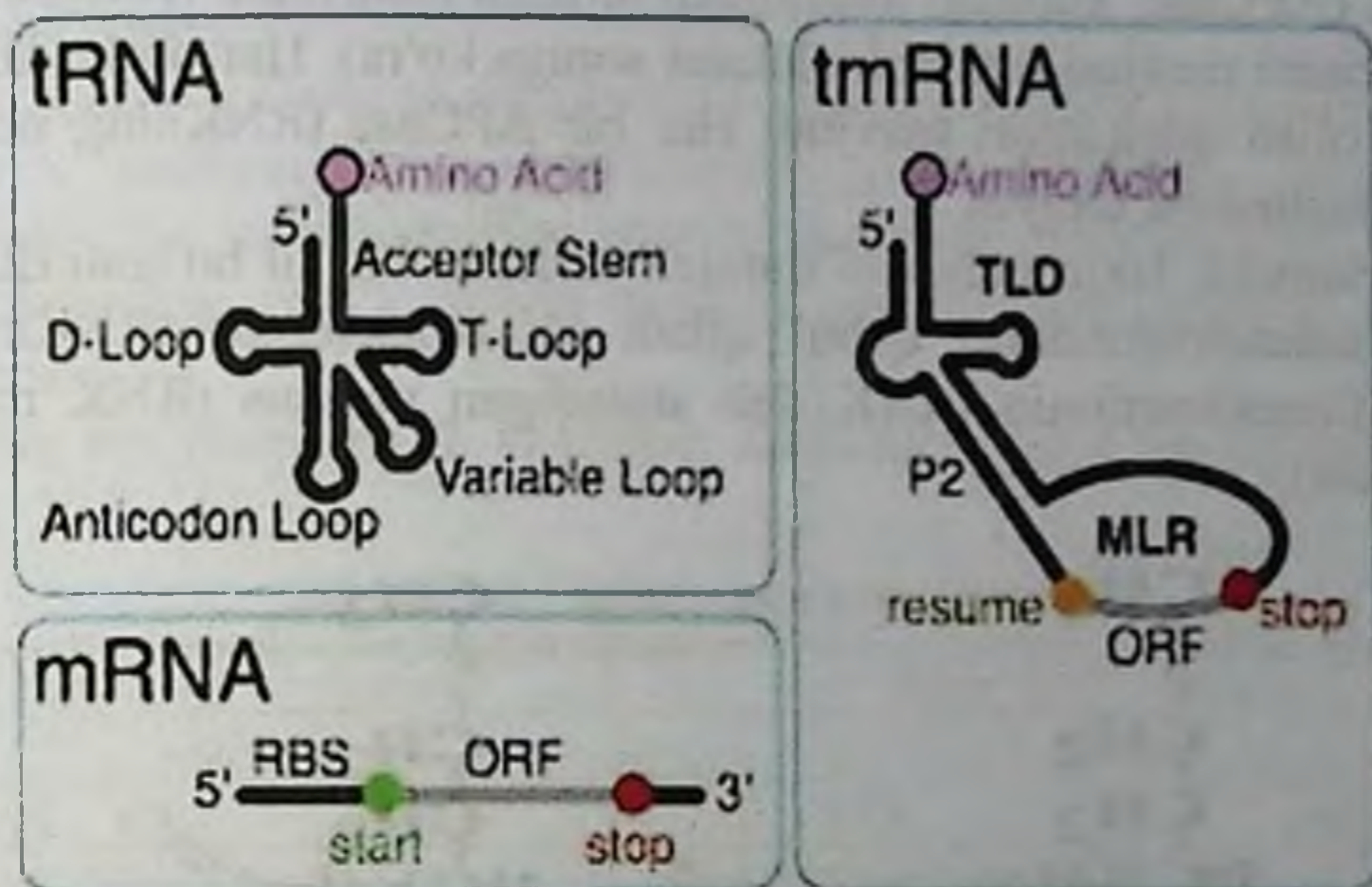
Aminokislotalarni mos keladigan tRNKlar bilan bog'lashda aa-tRNK sintetazalarining o'ta yuqori o'ziga xosligi genetik ma'lumotni translatsiya qilishning aniqligiga asoslanadi. Ushbu fermentlarning faol markazida tanib olish uchun 4 ta o'ziga xos joy mavjud: aminokislotalar, tRNK, ATF va to'rtinchisi tartibsiz aminoatsil adenilatlarining gidrolizida ishtirok etadigan H₂O molekulasini biriktirish uchun. Ushbu fermentlarning faol markazida noto'g'ri biriktirilgan aminokislotalar qoldig'ini darhol olib tashlashni ta'minlaydigan tuzatish mexanizmi mavjudligi tufayli hayratlanarli darajada yuqori aniqlikka erishiladi: tRNK bilan bog'langan har 1300 aminokislota uchun faqat bitta xatolik yuzaga keladi.

Aminokislota tRNKga qo'shib, keyinchalik aa-tRNKning o'ziga xos xususiyatlarini aniqlamaydi, chunki uning tuzilishi na ribosoma, na mRNK tomonidan tan olinmaydi. Oqsil sintezida ishtirok etish faqat tRNK tuzilishiga, aniqrog'i aminoatsil-tRNK antikodonining mRNK kodon bilan komplementar o'zaro ta'siriga bog'liq.

Antikodon tRNKning markaziy (antikodon) halqasida joylashgan. tRNKning aa-tRNK sintetazalari tomonidan tan olinishi har doim ham antikodon halqasi orqali sodir bo'lmaydi. Ba'zi fermentlarning faol markazi tRNKning fazoviy tuzilishining boshqa hududlari bilan to'ldiruvchi muvofiqlikni namoyish etadi.

10.2 Transport RNKning tuzilishi

Transport RNK (tRNK) kichik molekulalardir (70-90 nukleotidlar) ikkilamchi va uchinchi darajali tuzilishga ega (10.2-rasm).



10.2-rasm - Ikkilamchi tuzilish - "beda bargi". 3' uchidagi CCA ketma-ketligi barcha tRNKlar uchun bir xil. Aminokislota terminal adenozinga (A) qo'shiladi (chapda) Tekislikka proyeksiyada uchinchi darajali struktura bumerang shakliga ega (o'ngda).

tRNKda timin (T), pseudouridin () (TC halqasida) va digidroridin (DGU) (D halqasida) mavjudligi kichik, ya'ni RNKda kamdan-kam uchraydigan nukleotidlar fermentlar tomonidan aniq tan olinishi, ribonukleazalar ta'siridan himoyalaniş uchun zarur bo'lgan strukturaviy xususiyatlarni ko'rsatadi (shuning uchun tRNKlar mRNKlardan farqli o'laroq uzoq umr ko'radi).

tRNKning birlamchi tuzilmalarining xilma-xilligi 61+1 - kodonlar soniga ko'ra (tRNKdagi antikodonlar soniga to'g'ri keladi) + antikodoni metionin tRNKniki bilan bir xil bo'lgan formilmetionin tRNK.

Uchinchi darajali tuzilmalarning xilma-xilligi 20 ta (aminokislotalar soniga ko'ra).

Rekognitsiya

Rekognitsiya: tanib olish - bu translatsiyaning tayyorgarlik bosqichi bo'lib, uning mohiyati tRNK va tegishli aminokislotalar o'rtasida kovalent bog'lanish hosil bo'lishidir.

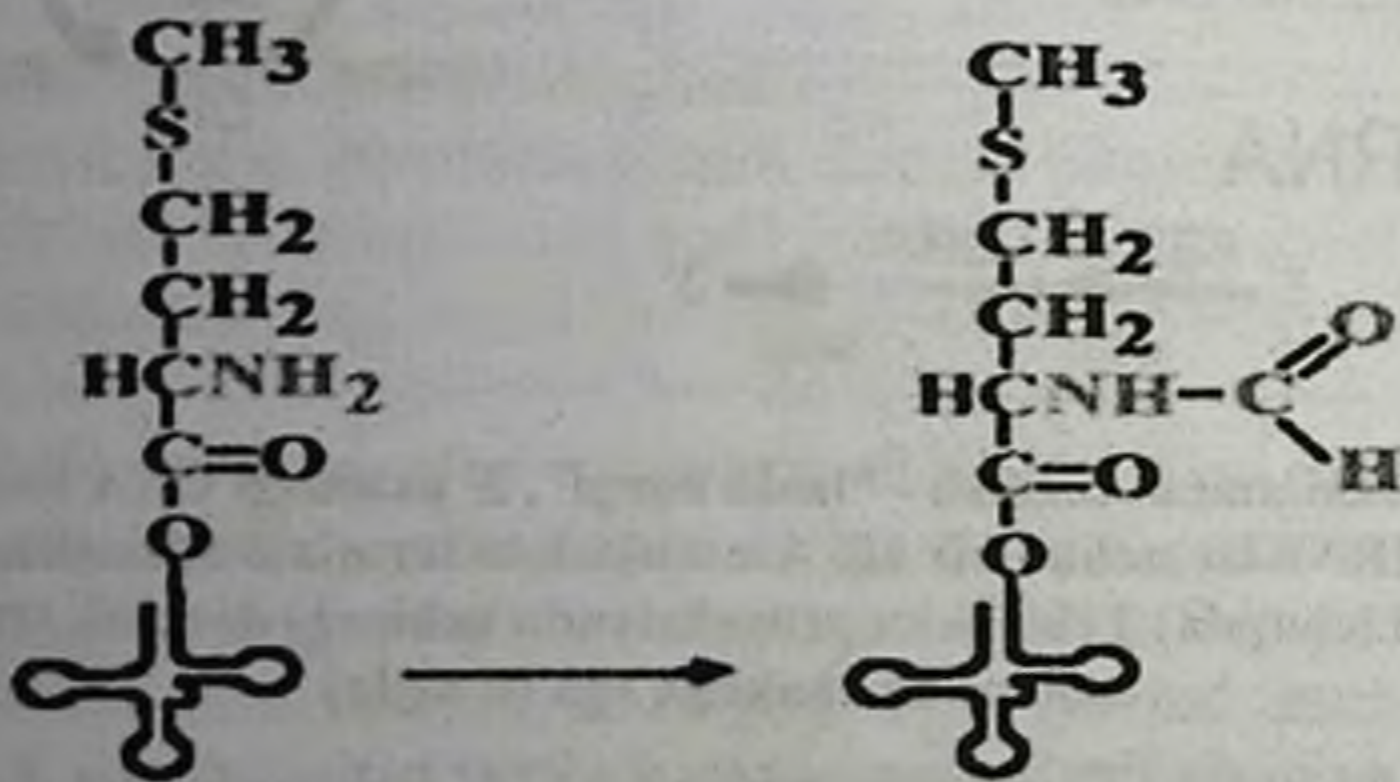
Ikki bosqichdan iborat:

1. Aminokislotalarning faollashishi.

2. tRNK ga aminokislota qo'shilishi – aminotsillanish.

Tanib olishning ikkala bosqichi ham aminoatsil-tRNK sintetaza fermenti (APCase, kodaza) tomonidan amalga oshiriladi. Kodazalarning 20 ta varianti mavjud (aminokislotalar soniga ko'ra). Har bir kodazada 3 ta tanib olish markazlari mavjud. Har bir APCase tRNKning uchinchi darajali tuzilishini taniydi

Birlamchi, lekin uchinchi darajali tuzilishi bir xil bo'lgan tRNKlar bir xil aminokislotalarni qabul qiladi va izoakseptor tRNKlar deb ataladi. Formilmetionin tRNK deb ataladigan maxsus tRNK mavjud. (10.4-rasm).



10.4-rasm - Metionin va formilmetionin tRNK.

U metionin kodazani taniydi, metionin bilan birlashadi va aminoatsillanish reaksiyasidan so'ng tRNK ning bu maxsus shaklini taniydigan maxsus ferment yordamida metionin hosil bo'ladi. Prokariotlarda har qanday polipeptidning sintezi formilmetionin bilan boshlanadi.

Aminoatsillanish - bu aminokislota va tRNK o'rtasidagi bog'lanishning shakllanishi.

Translyatsiyaning keyingi bosqichi, polipeptidlarning haqiqiy sintezi ribosomalarda sodir bo'ladi.

Ribosoma tuzilishi

Ribosomalar eng kichik membranasi bo'lmagan hujayra organellalari bo'lib, ular, ehtimol, eng murakkab organellalardir. E.coli hujayrasida taxminan 10^3 -

5×10^3 ribosoma boladi. Prokaryotlar ribosomasining chiziqli o'lchamlari $210 \times 290 \text{ \AA}$. Eukariotlarda - $220 \times 320 \text{ \AA}$.

Ribosomalarning to'rtta sinfi mavjud:

1. Prokaryotik 70S.
2. Eukaryotik 80S.
3. Mitoxondriyal ribosomalar (55S - hayvonlarda, 75S - zamburug'larda).
4. Xloroplastlarning ribosomalari (yuqori o'simliklarda 70S).

S - sedimentatsiya koeffitsienti yoki Svedberg konstantasi. Konformatsiya va molekulyar og'irligiga qarab, sentrifugalash paytida molekulalarning yoki ularning tarkibiy qismlarining cho'kish tezligini aks ettiradi.

Har bir ribosoma 2 ta kichik birlikdan (katta va kichik) iborat (jadval. 10.3).

10.3-jadval - Ribosomalarning tuzilishi

| <i>Prokaryotik ribosoma</i> | | <i>Eukaryotik ribosoma</i> | |
|--|----------|----------------------------------|---------------------|
| 70S | | 80S | |
| 50S | 30S | 60S | 40S |
| 5S rRNK 23S rRNK | 16S rRNK | 5S rRNK 5.8S rRNK 28S rRNK | 18S rRNK |
| 34 ta oqsil molekulasi, ulardan 31 tasi boshqacha | 21 oqsil | kamida 50 xil oqsil | kamida 33 xil oqsil |

Murakkablik barcha ribosoma elementlarining bir nusxada mavjudligidan kelib chiqadi, bitta oqsildan tashqari, 50S subirligida 4 nusxada mavjud bo'lib, uni almashtirib bo'lmaydi.

rRNKlar nafaqat ribosoma bsubbirliklari nafaqat karkas funksiyasini, balki

polipeptidlar sintezida bevosita ishtirok etadi.

23S rRNK katalitik peptidiltransferaza markaziga kiradi, 16S rRNK mRNK boshlang'ich kodonining 30S sub birligiga o'rnatish uchun zarur, 5S rRNK aminoatsil-tRNKning ribosomaga to'g'ri yo'naltirilishi uchun zarur.

Barcha rRNKlar rivojlangan ikkilamchi tuzilishga ega: nukleotidlarning taxminan 70% soch iplariga yig'ilgan.

rRNKlar asosan metillangan (ikkinchida CH₃ guruhi riboza holati, shuningdek, azotli asoslarda).

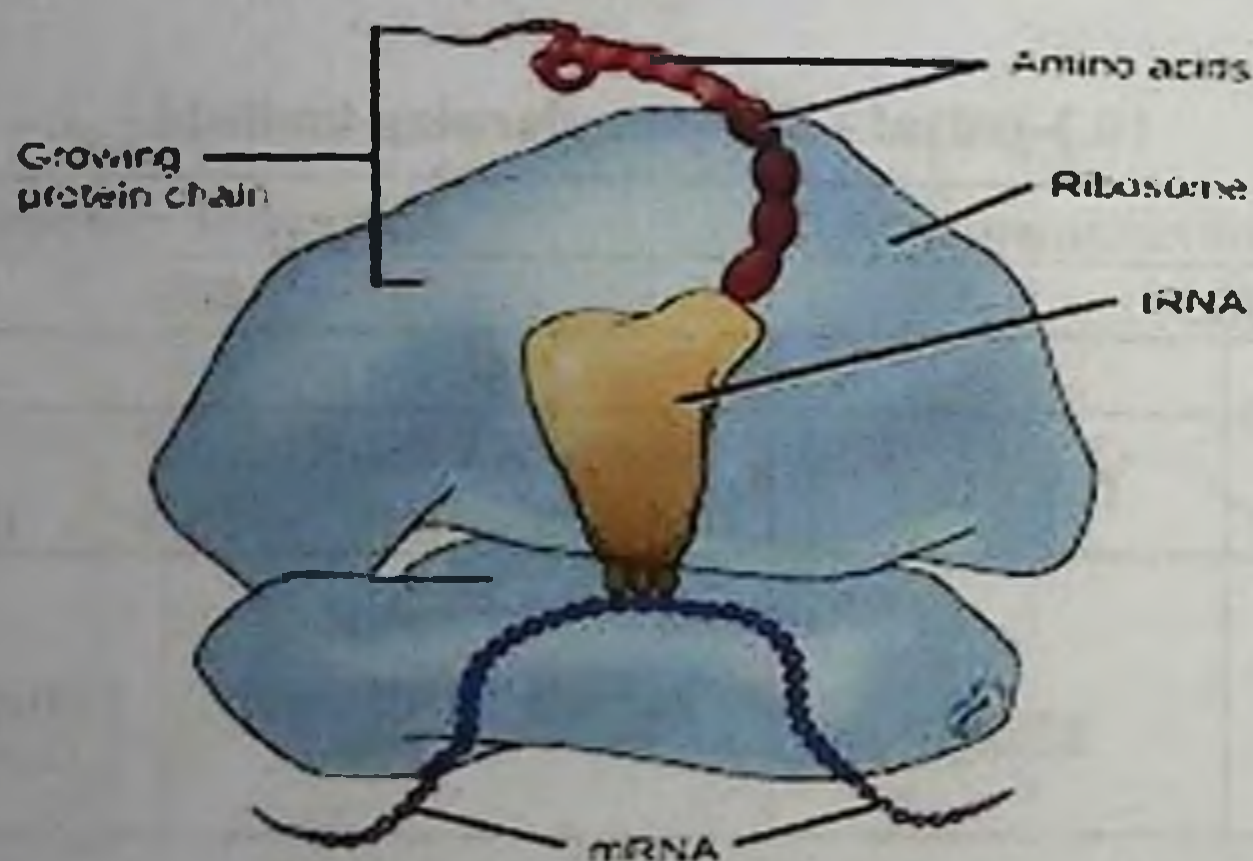
rRNK va oqsillardan bo'linmalarni yig'ish tartibi qat'iy belgilangan. Bir-biri bilan bog'lanmagan subbirliklar dissotsilangan ribosomalardir. Birlashgan bog'langan ribosomalar. Assotsiatsiya nafaqat konformatsion

o'zgarishlarni, balki magniy ionlarini Mg^{2+} (har bir ribosoma uchun 2×10^3 iongacha) ham talab qiladi. Magniy rRNKning manfiy zaryadini qoplash uchun kerak. Barcha matritsa sintez reaksiyalari (replikatsiya, transkripsiya va tarjima) magniy ionlari Mg^{2+} (kamroq darajada - marganets Mn^{2+}) bilan bog'liq.

tRNK molekulalarini biriktirish markazlari

Ribosomada tRNK molekulalarini biriktirish uchun ikkita markaz mavjud:

aminoatsil (A) va peptidil (P) markazlari, ularning hosil bo'lishida ikkala subbirlik ishtirok etadi (10.5-rasm).



10.5-rasm - Ribosomaning RNK bilan bog'lanish hududlari diagrammasi.

A va P markazlari birgalikda 2 ta kodonga teng mRNK hududini o'z ichiga oladi. Translatsiya paytida A markazi aa-tRNKni bog'laydi, uning tuzilishi ushbu markaz hududida joylashgan kodon tomonidan belgilanadi. Ushbu kodonning tuzilishi o'sib borayotgan polipeptid zanjiriga qo'shiladigan aminokislotalarning tabiatini kodlaydi. P markazini peptidil-tRNK egallaydi, ya'ni. tRNK allaqachon sintez qilingan peptid zanjiri bilan bog'langan. Ribosomada tRNKni ribosomadan ajratish uchun E joyi mavjud. (10.5-rasm).

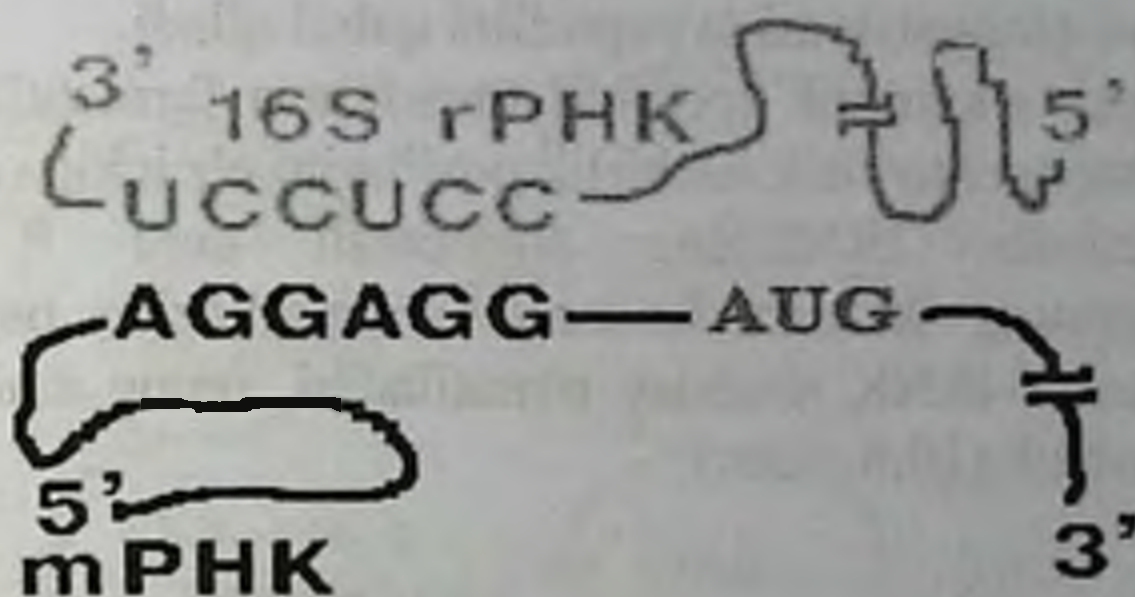
10.3 Prokariotlarda ribosomada polipeptidlarning sintezi

Prokariotlarda har bir gendan oldin va shunga mos ravishda mRNKda har bir gen nusxasidan oldin yetakchi ketma-ketlik mavjud (10.6-rasm).

U turli o'lchamlarda (160 nukleotidgacha) va turli xil birlamchi tuzilmalarda bo'lishi mumkin, lekin u har doim 16S rRNKning 3'-uchini

to'ldiruvchi Shine-Dalgarno polipurin ketma-ketligini o'z ichiga oladi. 3-9 nukleotidlar bir-birini to'ldiruvchi bo'lishi mumkin.

16S rRNKning 3'-terminal mintaqasi va Shine-Dalgarno ketma-ketligining komplementar o'zaro ta'siridan maqsad AUG boshlash kodonini kichik ribosoma bo'linmasiga to'g'ri o'rnatishdir.

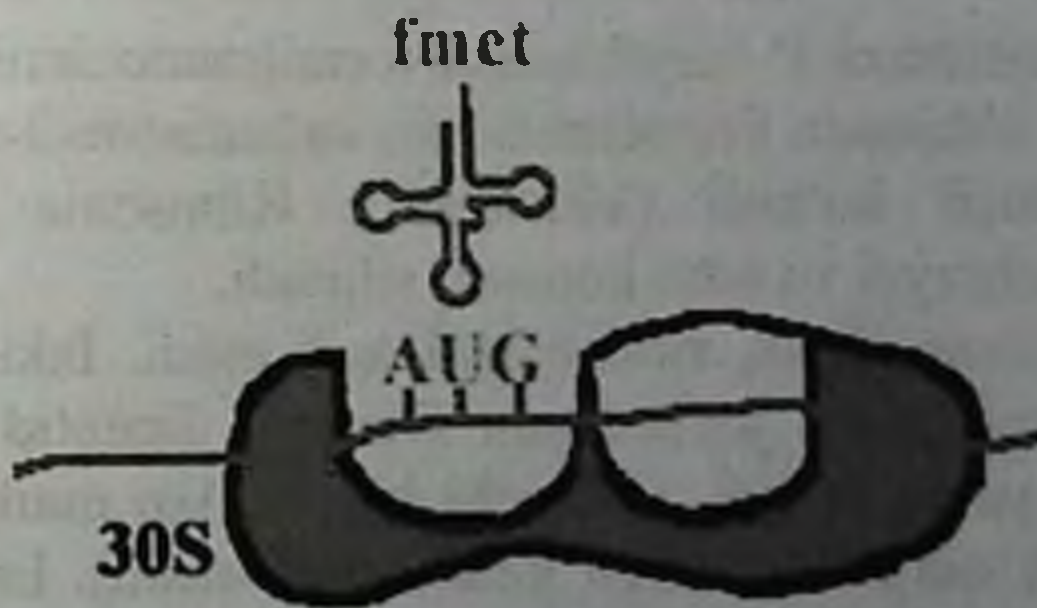


10.6-rasm - Shine-Dalgarno polipurin ketma-ketligi, u 16S rRNKning 3'-terminal mintaqasini to'ldiradi.

Inisiatsiya kodoni 3-10 nukl. masofada Schein-Dalgarno ketma-ketligida joylashgan.

RNKni o'z ichiga olgan kichik bo'linmaga formilmetionin bilan bog'langan formilmetionin tRNK yaqinlashadi. Natijada, inisiatsiya kompleksi hosil bo'ladi:

30S ribosoma subbirligi + mRNK + formilmetionin tRNK formilmetionin (10.7-rasm).



10.7-rasm - Initiator kompleksi

Keyin ribosoma birikadi (10.8-rasmga qarang). Bunda 16S rRNKning konformatsiyasi o'zgaradi va u bilan Shine-Dalgarno ketma-ketligi o'rtasidagi bog'lanish buziladi.

Ribosomalarning katalitik markazlari

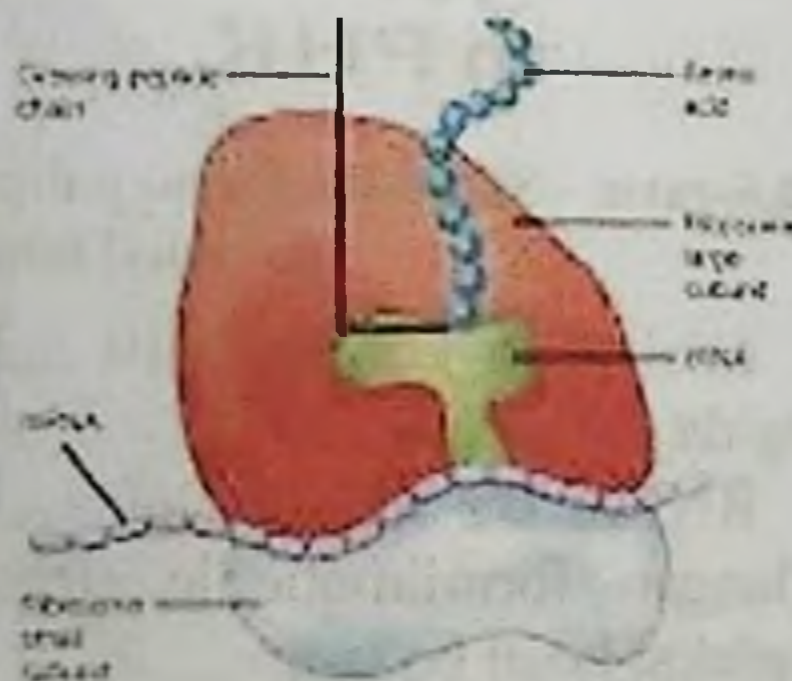
- Asp - o'ziga xos tan olish markazi. Bu erda kodon-antikodon o'zaro ta'siri sodir bo'ladi.

- P-markaz - peptidil, donor markazi. U initsiatsiya paytida formilmetionin yoki translatsiya elongatsiyasi paytida peptidil donoridir.

- A-markaz - aminoatsil, akseptor. Eng boshida formilmetioninni yoki translatsiya elongatsiyasida peptidilni qabul qiladi.

- K-markaz - katalitik (peptidil transferaza fermenti). K markaz 23S rRNK va bir nechta yirik subbirlak oqsillarini o'z ichiga oladi.

Formilmetionin tRNKning aminoatsil uchi P markazida joylashgan. Genning ikkinchi kodoni Asp markazida paydo bo'ladi. Tegishli aminoatsil-tRNK shunday o'rnatiladiki, uning aminoatsil uchi A-markazga tushadi (10.8-rasm).



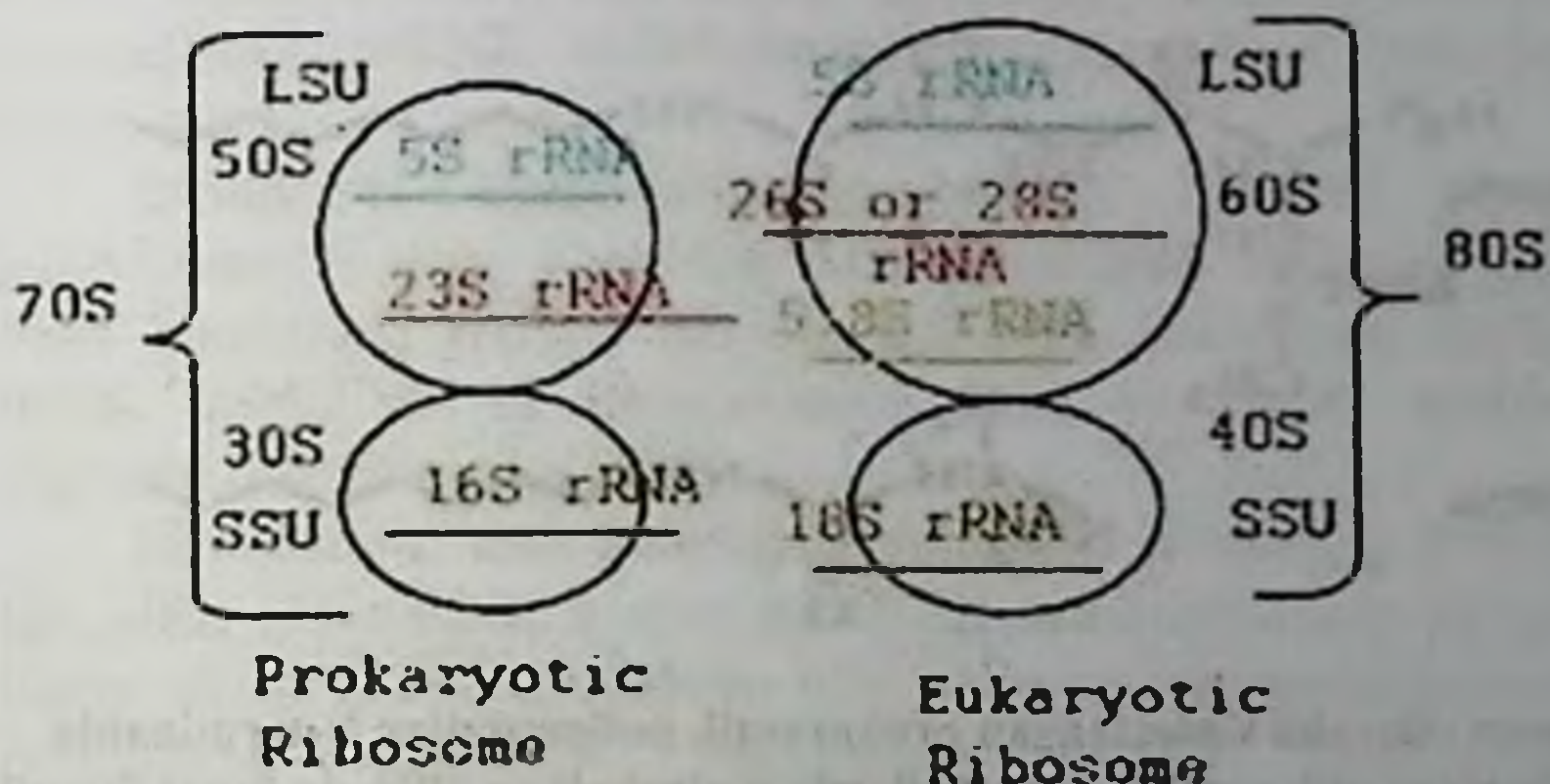
10.8-rasm - Ribosoma assotsiatsiyasi (chapda). Formilmetionin va aminoatsil-tRNK o'rtasida peptid bog'ining shakllanishi (o'ngda).

Peptidiltransferaza P maydonidan formilmetioninni olib tashlaydi va uni A joyiga o'tkazadi. Formilmetionin va aminoatsil-tRNK o'rtasida peptid bog' hosil bo'ladi (10.8-rasm). Ribosoma konformatsion o'zgarishlarga uchraydi va bitta kodonni siljitadi.

Formilmetionin tRNK ribosomani tark etadi. Ikkinchi kodon P-markaziga qarama-qarshi joylashgan. Dumida dipeptid olib yuruvchi tRNK ham shu yerga boradi. Uchinchi kodon Asp markaziga, keyingi aminoatsil-tRNK esa A-markazga kiradi (10.9-rasm). Endi dipeptid P-markazda uzilib, A markazga o'tadi va uchinchi aminoatsil-tRNK bilan birlashadi. (10.9-rasm, o'ngda).

Bu to'xtash-kodon Asp markaziga kelguncha davom etadi. Polipeptid P-markazda parchalanadi, A-markazga o'tadi va, chunki uning qo'shiladigan hech narsasi yo'q, u ribosomadan ajraladi. Ribosoma ajraladi va kichik bo'linma mRNKni skanerlaydi.

In vivo sharoitda har bir bosqichda (inisiator kompleksining shakllanishi, inisiatsiya, elongatsiya va terminatsiya) turli xil oqsil omillari ishtirok etadi, ular deatsillangan tRNKlarning ribosomaga tushishiga to'sqinlik qiladi yoki formilmetionin-tRNKning A-joyiga tushishini taqiqlaydi.

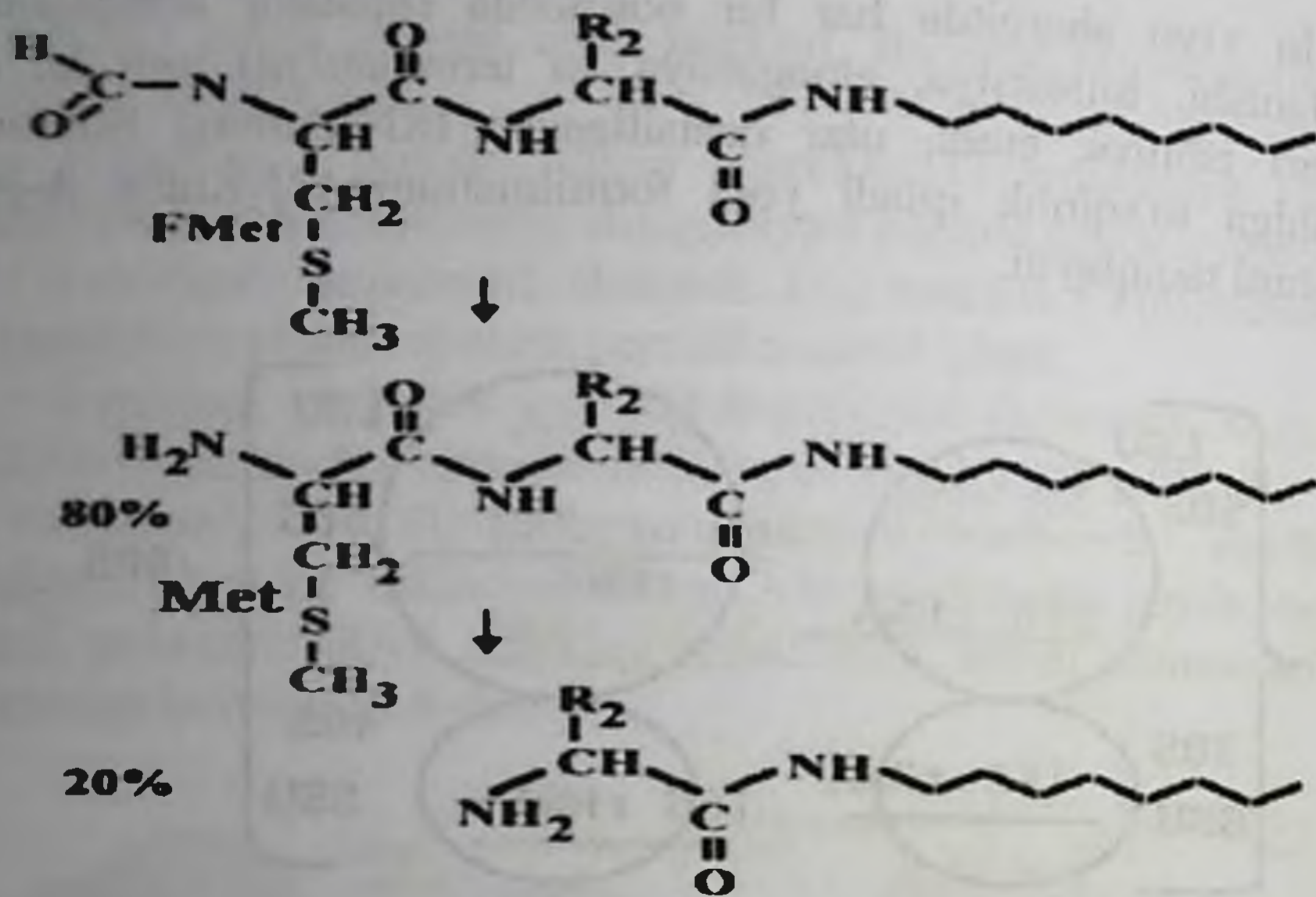


10.9-rasm - P-markazda dipeptid parchalanib, A-markazga o'tadi va uchinchi aminoatsil-tRNK bilan birlashadi.

Barcha bosqichlar fosforsizlangan GTP molekulalarini o'z ichiga oladi.

GTP gidrolizining ma'nosi energiyani chiqarish emas, balki tarjimaning ushbu bosqichi tugaganligining dalilidir.

Barcha sintezlangan prokaryotik polipeptidlar N-uchida formilmetioninni olib yuradi. 20% hollarda u ajraladi, 80% da faqat formil guruhi ajraladi va N uchida metionin qoladi (10.10-rasm).



10.10-rasm -Barcha sintezlangan prokaryotik polipeptidlar N-terminalda formilmethioninni olib yuradi. 20% hollarda u ajraladi va 80% da faqat formil gurubi ajratiladi

10.4 Eukaryotik ribosomalarning tuzilishi

Ribosomalar - bu ribonukleoprotein hosilalari - aminokislotalar oqsillarga birikadigan "fabrika"lardir. Eukaryotlar ribosomalari sedimentatsiya konstantasi 80S bo'lib, 40S (kichik) va 60S (katta) bo'linmalardan iborat. Har bir subbirlik rRNK va oqsillarni o'z ichiga oladi. 40S bo'linmasi sedimentatsiya konstantasi 18S bo'lgan rRNK va taxminan 30-40 oqsilni o'z ichiga oladi. 60S subbirligida 3 turdagi rRNK mavjud: 5S, 5.8S va 28S va 50 ga yaqin turli oqsillar (10.11-rasm).

Oqsillar bir nusxada ribosoma subbirliklarining bir qismi bo'lib, aminokislota yoki peptid bilan bog'langan mRNK va tRNK o'rtasidagi o'zaro ta'sirni ta'minlovchi tizimli funktsiyani bajaradi.

mRNK ishtirokida 40S va 60S subbirliklari birlashib, to'liq ribosomani hosil qiladi, uning og'irligi gemoglobin molekulasining massasidan taxminan 650 baravar katta.

Eukariotlarda ikki xil ribosomalar mavjud: hujayralar sitoplazmasida joylashgan "erkin" va endoplazmatik retikulum (ER) bilan bog'langan. ER bilan bog'liq ribosomalar "eksport" oqsillarini sintez qilish uchun javobgardir, ular qon plazmasiga kiradi va ER oqsillari, Golji apparati membranasi, mitoxondriyalar yoki lizosomalarning yangilanishida ishtirok etadi.

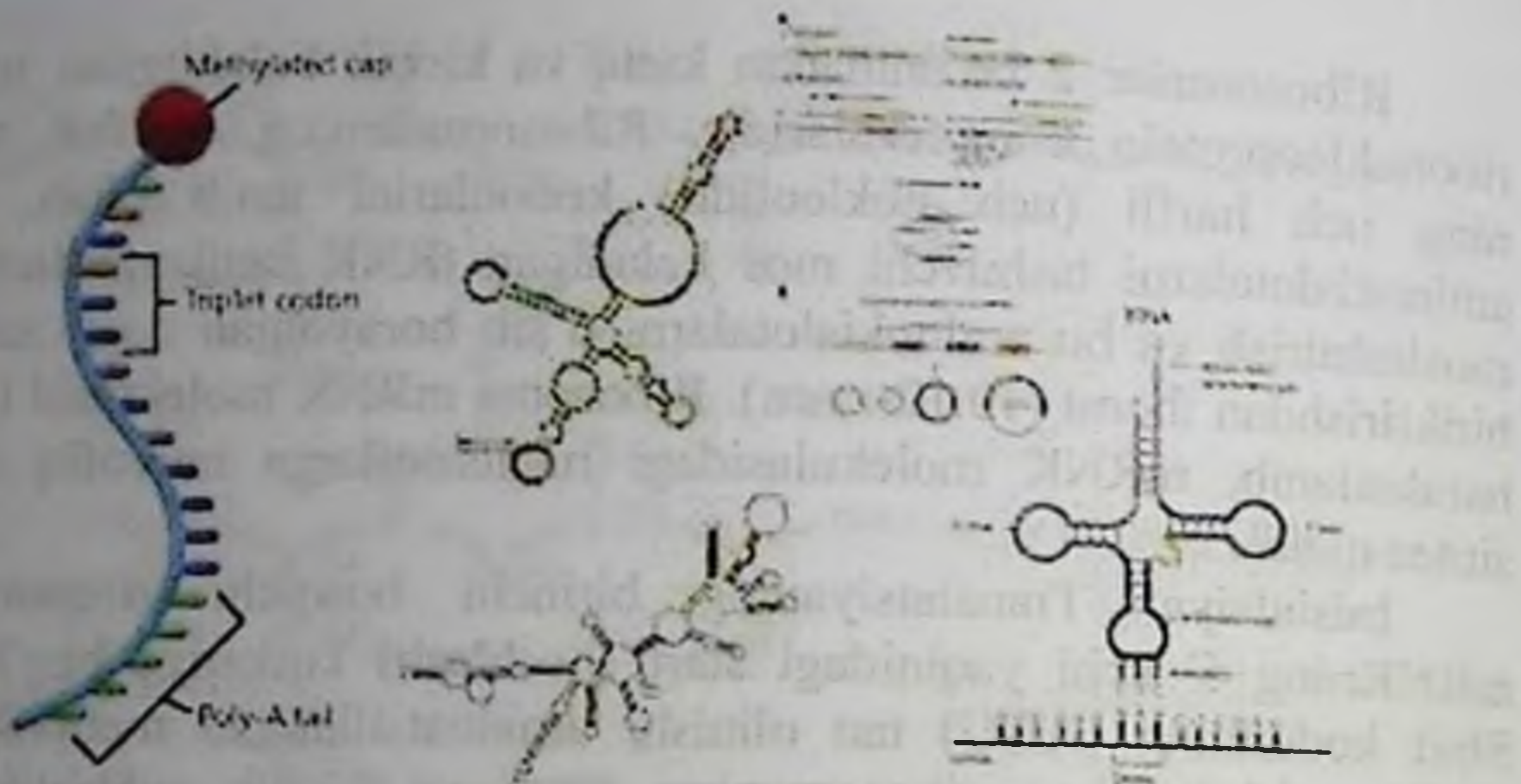
Ribosomalar 2 bo'linmadan katta va kichik bolaklardan tuzilgan ribonukleoprotein komplekslaridir. Ribosomalarning vazifasi mRNK ning uch harfli (uch nukleotidli) kodonlarini tanib olish, ularni aminokislotalarni tashuvchi mos keladigan tRNK antikodonlari bilan moslashtirish va bu aminokislotalarni o'sib borayotgan oqsil zanjiriga biriktirishdan iborat (10.12-rasm). Ribosoma mRNA molekulasi bo'ylab harakatlanib, mRNA molekulasidagi ma'lumotlarga muvofiq oqsilni sintez qiladi.

Inisiatsiya: Translatsiyaning birinchi bosqichi ribosomaning mRNAning 5' uchi yaqinidagi start (boshlash) kodoniga bog'lanishi. Start kodonning (AUG) tan olinishi aminoatsillangan metionin (M) tRNK qo'shilishi va ribosomaning katta va kichik subbirliklardan yig'ilishi bilan birga keladi (1).

Elongatsiya: mos keladigan aminoatsil tRNKning joriy kodonini tan olish (2) mRNA kodon va tRNK antikodonining komplementar o'zaro ta'siri tRNK tomonidan olib kelingan aminokislotalarning o'sib borayotgan polipeptid zanjirining oxiriga biriktirilishi (3). Ribosomaning matritsa bo'ylab harakatlanishi, tRNK molekulasining ajralishi bilan birga (4) olingan tRNK molekulasining tegishli aminoatsil-tRNK sintetaza ta'sirida aminoatsillanishi (5) va keyingi aminoatsil-tRNK molekulasining biriktirilishi (6) ribosomaning mRNA molekulasi (7) bo'ylab to'xtash kodoniga (bu holda UAG) harakati kuzatiladi.

Terminatsiya: ribosoma tomonidan stop kodonining tan olinishi (8) yangi sintezlangan oqsilning ajralishi va ba'zi hollarda (9) ribosomaning dissotsiatsiyasi bilan birga keladi.

Aminokislotalarni tanib olish uchun hujayrada maxsus "adapterlar", RNK (tRNK) molekulalarini uzatish mavjud. Bu beda bargi shaklidagi molekulalar mRNA kodonini to'ldiruvchi hududga (antikodon) va shu kodonga mos keladigan aminokislota biriktirilgan boshqa hududga ega.



10.11-rasm - Eukaryotik ribosomalarning tuzilishi va E. coli-da tarjimaning boshlanishi.

Aminokislotalarning tRNKga qo'shilishi energiyaga bog'liq reaksiyada aminoatsil-tRNK sintetaza fermentlari tomonidan amalga oshiriladi va hosil bo'lgan molekula aminoatsil-tRNK deb ataladi. Shunday qilib, translatsiyaning o'ziga xosligi mRNK kodoni va tRNK antikodonining o'zaro ta'siri, shuningdek, aminokislotalarni tegishli tRNKga qat'iy bog'laydigan aminoatsil-tRNK sintetazalarining o'ziga xosligi bilan belgilanadi (masalan, GGU kodoni o'z ichiga olgan tRNKga mos keladi). CCA antikodon va faqat aminokislota glitsin).

Prokaryotlar va eukariotlarning tarjima mexanizmlari sezilarli darajada farq qiladi, shuning uchun prokaryotik translatsiyani bostiradigan ko'plab moddalar yuqori organizmlarning tarjimasiga kamroq ta'sir qiladi, bu ularni tibbiy amaliyotda sutemizuvchilar tanasi uchun xavfsiz bo'lgan antibakterial vositalar sifatida ishlatishga imkon beradi.

Translatsiya jarayoni quyidagilarga bo'linadi

- initsiatsiya - boshlang'ich kodonni ribosoma tomonidan tan olinishi va sintezning boshlanishi.
- elongatsiya - oqsil sintezining o'zi.
- terminatsiya - tugatish kodonini (stop kodoni) tan olish va mahsulotni ajratish.

Har bir kodon uchta nukleotidni o'z ichiga olganligi sababli, bir xil genetik matn uch xil usulda (birinchi, ikkinchi va uchinchi nukleotidlardan boshlab), ya'ni uch xil o'qish ramkalarida o'qilishi mumkin.

10.5 Translatsiya inisiatsiyasi

Protein sintezi ko'p hollarda metioninni kodlovchi AUG kodonidan boshlanadi. Ushbu kodon odatda boshlang'ich yoki boshlash kodon deb ataladi. Translatsiyaning boshlanishi ribosoma tomonidan ushbu kodonni tanib olish va aminoatsil-tRNK tashabbuskorini jalb qilishni o'z ichiga oladi. Translatsiyani boshlash uchun, shuningdek, start kodon maydonida ma'lum nukleotidlar ketma-ketligiga ega bo'lish kerak (prokaryotlarda Shine-Dalgarno ketma-ketligi va eukariotlarda Kozak ketma-ketligi). 5' kep mRNKning 5' uchini himoya qilishda muhim rol o'ynaydi. AUG boshlanishini ichkidan ajratib turuvchi ketma-ketlikning mavjudligi mutlaqo zarur, chunki aks holda oqsil sintezining boshlanishi barcha AUG kodonlarida xaotik tarzda sodir bo'ladi.

Inisiatsiya jarayoni maxsus oqsillar - boshlash omillari bilan ta'minlanadi.

Pro- va eukariotlarda translatsiyani boshlash mexanizmlari sezilarli darajada farq qiladi: prokaryotik ribosomalar potentsial ravishda boshlang'ich AUG ni topishga va mRNKning istalgan qismida sintezni boshlashga qodir, eukaryotik ribosomalar esa odatda kep hududida mRNKga biriktiriladi va uni skanerlaydi.

Prokaryotlarda translatsiyaning boshlanishi

Dastlabki bosqich kichik ribosoma bo'linmasining (30S) mRNK bilan bog'lanishini o'z ichiga oladi (10.13-rasm). Bu ikki yo'l bilan: birinchi navbatda, mRNKga ribosoma bo'linmasi bo'lgan kompleks biriktiriladi (1), so'ngra tRNK IF2 va GTP (2) bilan kompleksda unga tortiladi yoki 30S subbirligi dastlab tRNK bilan bog'lanadi., va shundan keyingina mRNKda o'tiradi (3). Katta (50S) ribosoma bo'linmasi (4) hosil bo'lgan kompleksga yetib keladi, inisiator omillar 30S bo'linmasidan ajralib chiqadi, bu GTP ning IF2 oqsili (5) tomonidan gidrolizlanishi bilan kechadi va yig'ilgan ribosoma zanjirini uzaytira boshlaydi. (6). Pastki o'ng burchakda prokaryotik mRNKning boshlang'ich mintaqasining diagrammasi (10.13-rasm). Molekulaning 5' va 3' uchlari belgilangan. RBS - ribosoma bog'lanish joyi, SD - Shine-Dalgarno ketma-ketligi, AUG - boshlash kodoni

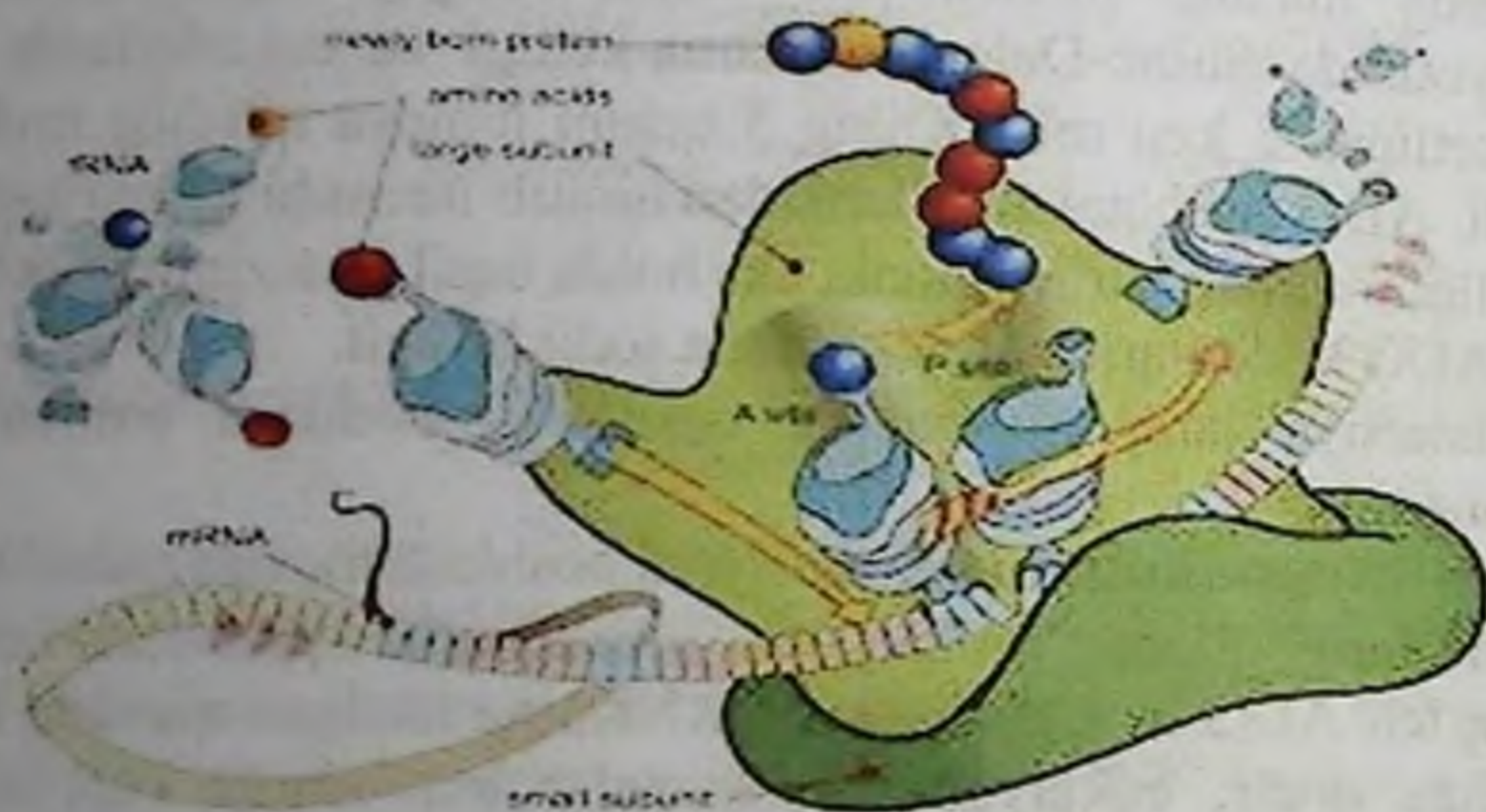
Prokariotlarning kichik ribosoma bo'linmasi (30S), agar hozirda translatsiyada ishtirok etmasa, IF1, IF3 va ba'zi hollarda IF2 boshlash omillari bilan kompleksda mavjud. Keling, ushbu oqsillarning asosiy funktsiyalarini ko'rib chiqaylik:

- 30S bo'linmasi bilan bog'langan IF3 katta (50S) ribosoma bo'linmasi bilan bog'lanishni oldini oladi va shu bilan dastlabki RNK

bilan bog'lanmaguncha o'zining erkin holatini saqlab qoladi. Bu oqsil, shuningdek, mRNK va tRNK, shuningdek, IF2 bog'lanishida ishtirok etadi.

- IF2 tRNK bilan o'zaro ta'sir qiladi va shuningdek, GTPni parchalash qobiliyatiga ega.

- IF1, ko'rinishidan, ixtiyoriy omil (ba'zi turlarda yo'q) kichik zarrachaning IF2 va IF3 ga yaqinligini oshiradi.



10.13-rasm - Translatsiyani boshlash sxemasi

Boshlanish omillari bilan 30S bo'linmasining kompleksi mRNKning maxsus ketma-ketliklarini, ribosomalarni bog'lash joylari (RBS, ribosomalarni bog'lash joyi) deb ataladigan joyni tanib olishga qodir. Bu hududlarda, birinchidan, inisiator AUG, ikkinchidan, ribosoma 16S RNK komplementar bog'langan maxsus Shine-Dalgarno ketma-ketligi mavjud. Shine-Dalgarno ketma-ketligi inisiator AUGni ichki metioninni kodlovchi kodonlardan ajratish uchun xizmat qiladi. 30S bo'linmasi mRNK bilan bog'langandan so'ng, inisiator aminoatsil-tRNK va IF2, agar ular allaqachon kompleksga kiritilmagan bo'lsa, unga jalb qilinadi. Keyin 50S subunit biriktiriladi, GTP gidrolizi va tashabbuskor omillarning dissotsiatsiyasi sodir bo'ladi. Yig'ilgan ribosoma polipeptid zanjirini sintez qila boshlaydi.

Eukaryotik tarjimani boshlash omillari, ATP va GTP ishtiroki.

Eukariotlarda tarjimani boshlash uchun zarur bo'lgan bir qator omillar mavjud (eIF - eukaryotik boshlash omili):

- eIF1, 1A;
- eIF2, 2B;
- eIF3;

- eIF4A, 4B, 4E, 4G, 4F;
- eIF5;
- eIF6

Barcha boshlang'ich omillar RNKni bog'laydigan oqsillar kabi ko'rinadi; ular har qanday yuqori molekulyar RNKga o'ziga xos bo'lmagan yaqinlikka ega va u bilan ko'proq yoki kamroq barqaror komplekslar hosil qilish qobiliyatiga ega.

eIF1A eng saqlanib qolgan eukaryotik boshlash omillaridan biridir. Met-tRNK kompleksini va 40S ribosoma subunitini barqarorlashtiradi; ushbu kompleksning mRNK bilan bog'lanishiga yordam beradi; 80S ribosomasining dissotsiatsiyasida ishtirok etadi, shuningdek, 40S dimerlarining shakllanishiga to'sqinlik qiladi.

eIF6 60S ribosoma bo'linmasi bilan bog'lanib, uning 40S bo'linmasi bilan bog'lanishiga yo'l qo'ymaydi va shu tariqa dinamik muvozanat $40S + 60S \leftrightarrow 80S$ ni fiziologik sharoitda 80S ribosomalarining dissotsiatsiyasi tomon siljiydi ($\sim [Mg^{2+}]^2$ konsentratsiyasida mM).

eIF2 tarjimani boshlashning eng muhim omillaridan biridir. U uchta kichik birlikdan iborat: a, b, g. eIF2 Met-tRNK va GTP ni (g subunitiga lokalizatsiya qilingan GTP bilan) taniydi va bog'laydi, keyinchalik 40S subunitiga yetkaziladigan uchlik kompleks hosil qiladi. eIF5 b-kichik birlik bilan o'zaro ta'sir qiladi, bu omil uchlamchi kompleksning bir qismi bo'lgan GTP gidrolizida ishtirok etadi. AUG kodonining boshlang'ich qismida joylashgan 40S subunitiga ega bo'lgan boshlash omillari majmuasiga ega eIF5, eIF2 ning b-kichik birligiga qo'shib, uning konformatsion o'zgarishlarini keltirib chiqaradi. GTP gidrolizi natijasida YaIMga bog'langan eIF2 (eIF2 * GDP) 40S ribosoma bo'linmasini tark etadi, natijada 60S bo'linmasini biriktirish imkoniyati paydo bo'ladi.

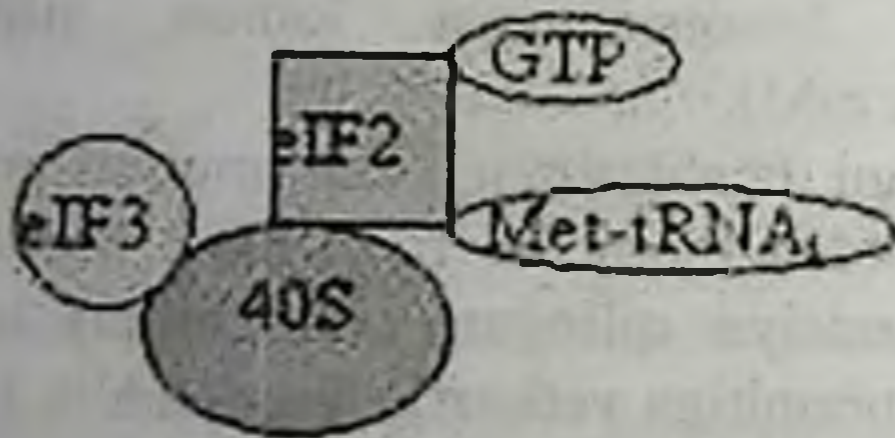
40S subunit bilan boshlash faktor kompleksi bilan eIF5,

AUG kodonining boshlanishida joylashgan bo'lib, eIF2 b-bo'linmasiga biriktirilishi uning konformatsion o'zgarishlarini keltirib chiqaradi. GTP gidrolizi natijasida YaIMga bog'langan eIF2 (eIF2 * GDP) 40S ribosoma bo'linmasini tark etadi, natijada 60S bo'linmasini biriktirish imkoniyati paydo bo'ladi [Merrik va Hershey, 1996; Spirin, 1999].

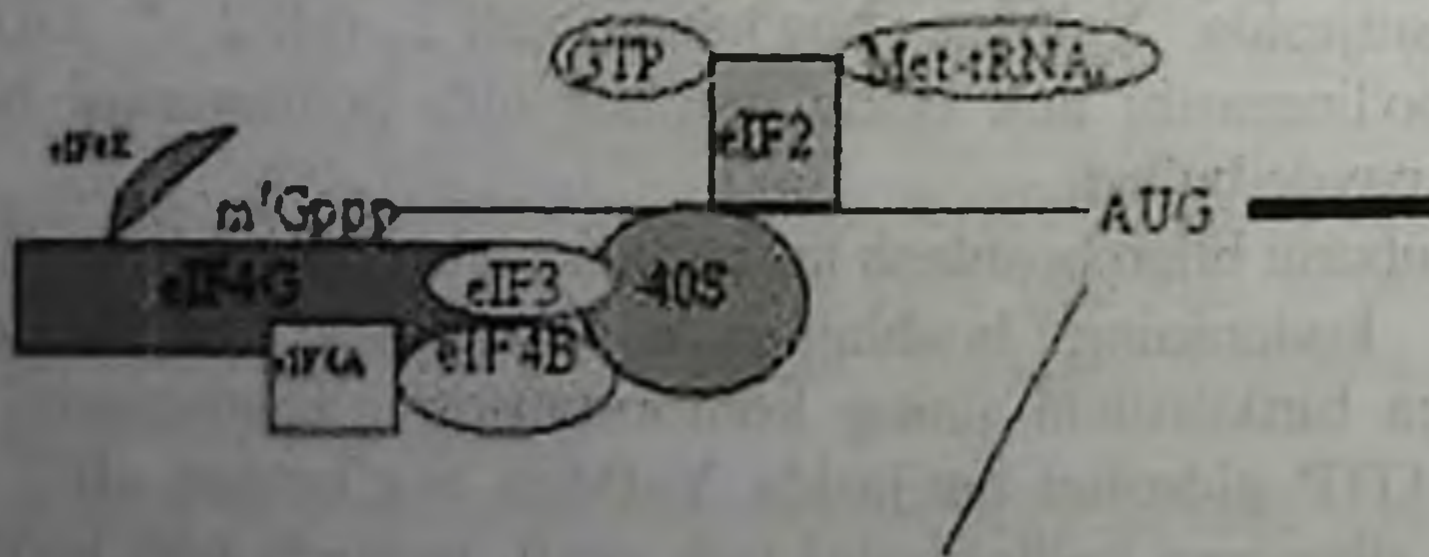
Eukariotlarda ribosomaning AUG boshlanishini topishi uchun ikkita asosiy mexanizm mavjud: Qopqoqqa bog'liq (skanerlash) Skanerlash mexanizmi bilan ribosomaning kichik bo'linmasi qopqoq

mintaqasida mRNKning 5' uchida o'tiradi va bo'ylab harakatlanadi. mRNK molekulasi, AUG boshlanishini izlashda kodonlarni "skanerlash". Qopqoqdan mustaqil (ichki boshlash) • Ichki boshlash mexanizmi IRES (ichki ribosomaga kirish joyi) elementlari - mRNKning aniq ikkilamchi tuzilishga ega bo'lgan bo'limi hisobiga amalga oshiriladi, bu ribosomalarni boshlang'ich AUGga yo'naltirish imkonini beradi. • 10-

Barcha mRNKlarning 15% CEP-mustaqil tarjima qilish qobiliyatiga ega eIF3 40S ribosoma subunitiga yuqori yaqinlik bilan tavsiflanadi. eIF3 40S bo'linmasi bilan bog'lanib, uning kompleksini Met-tRNK bilan barqarorlashtiradi va 60S subunit bilan bog'lanishini oldini oladi. eIF3 Met-tRNA bilan bog'lanishidan oldin 40S subunitida mavjud. EIF4F bilan ham, eIF5 bilan ham barqaror kompleks hosil qilishi mumkin. A. 43S boshlang'ich kompleksi



B. Kompleks inisiatsiya AUG kodoniga yetganda 60S subunitining biriktirilishi



60S

10.14-rasm 43S preinitiatsiya kompleksining shakllanishi.

eIF4E qopqoqni bog'laydigan oqsildir. U mRNKning yopilgan 5' uchi bilan o'zaro ta'sir qiladi va shu bilan 43S oldindan boshlash

kompleksining shablon va tarjima boshlanishi bilan bog'lanishini rag'batlantiradi.

eIF4G ishga tushirish uchun talab qilinadi, chunki uning markaziy domenida RNK-bog'lovchi motiv, shuningdek, eIF4A bog'lash joylaridan biri mavjud deb hisoblanadi. eIF4G ning C-terminal hududi eIF3 bilan o'zaro ta'sir qiladi va xuddi shu mintaqada eIF4A uchun ikkinchi bog'lanish joyi mavjud va N-terminal hududi orqali eIF4E bilan aloqa sodir bo'ladi.

eIF4A ATPga bog'liq spiral faollikka ega va mumkin

ikki yo'nalishda harakat qiladi: 5'a3' va 3'a5' (Rozen va boshqalar, 1990). Ushbu boshlash omili ribosomaning mRNK bilan bog'lanishi uchun talab qilinadi. eIF4A eIF4G ga ulanishi mumkin. Ko'rinishidan, eIF4A ning ATPga faolligi tufayli mRNK "ochiladi": mRNKning ikkilamchi tuzilishi, u erigan holatda bo'lgan paytda, eIF4A mRNK bilan bog'lanadi va bu erigan holatni barqarorlashtiradi. eIF4A ning ATPga bog'liq RNK helikaz faolligi eIF4B ishtirokida rag'batlantiriladi, garchi ikkala oqsil to'g'ridan-to'g'ri o'zaro ta'sir qilmasa ham.

Ammo, agar mRNK ikkilamchi tuzilishga ega bo'lmasa, boshlash uchun eIF4A hali ham talab qilinadi. Buning mumkin bo'lgan izohi shundaki, 40S subbirligi bog'liq bo'lgan tashabbuskor omillar (shu jumladan eIF4A) mRNK atrofida "mandala" hosil qiladi, bu ATP yordamida ochiladi va yopiladi va shu bilan butun kompleksni mRNK bo'ylab harakatlantiradi.

mRNK bo'ylab 40S bo'linmasini siljitish uchun ATP gidroliziga bo'lgan ehtiyojni tushuntirish uchun yana bir qancha faraziy mexanizmlar mavjud:

- ATP gidrolizi 40S ning 5' - 3' yo'nalishi bo'yicha faol harakati uchun bevosita kerak. 40S ribosoma bo'linmasi, eIF2, eIF3 va Met-tRNK dan tashkil topgan 43S kompleksi ikkita konformatsiyani "almashtirish" orqali targ'ib qilingan bo'lishi mumkin;

- ATP gidrolizi faqat mRNKning ikkilamchi tuzilishini "ochish" uchun kerak bo'ladi va mos keladigan helikaz eruvchan oqsil yoki 40S ribosoma bo'linmasi bilan bog'langan oqsil bo'lishi mumkin;

- ATP gidrolizi, ehtimol, inisiator kompleksini o'zgartirib, qo'shilishi, dissotsiatsiyasi yoki boshlang'ich omillarining qayta joylashishiga yordam beradi.

eIF4B ribosomalarning mRNK bilan bog'lanishida ishtirok etadi. bilan birgalikda ishlaydi

eIF4F, eIF4A ning spiral faolligini rag'batlantiradi. Ehtimol, eIF4B bir zanjirli RNK tuzilgan ikki zanjirli RNKga o'tadigan hududni taniydi. Shuningdek, o'simlik hujayralarida eIF4B qopqoqning 3' tarjima qilinmagan hududiga (3'-UTR) kiritilgan poli(A) ketma-ketligi bilan o'zaro ta'sirida ishtirok etadi.

eIF4F tarkibiga eIF4E, eIF4G va eIF4A kiradi. Ushbu kompleks qopqoq bilan eIF4E orqali bog'lanadi va eIF4F holoenzimining qopqog'iga yaqinligi eIF4Ening o'zidan bir necha baravar yuqori. eIF4F 40S subunit bilan eIF3 yordamida o'zaro ta'sir qiladi va unga eIF4G orqali bog'lanadi (1-rasm). eIF4F shuningdek, mRNKning 3' oxiridagi poli(A) ketma-ketligi bilan o'zaro ta'sir qilishda ishtirok etadi.

Boshlovchi tRNK. Translyatsiya paytida tRNKning ishlashi ikkita jarayonga to'g'ri keladi. Ulardan birinchisi aminoatsil-tRNK sintetaza yordamida tRNKning 3'-uchiga "bog'liq" aminokislota biriktirishdan iborat bo'lsa, ikkinchisi ribosoma bilan kompleksda joylashgan mRNKning mos keladigan kodoniga aminoatsil-tRNKning o'ziga xos bog'lanishi. Eukaryotik hujayralarda metioninni bog'laydigan ikki turdagi tRNK mavjud: inisiator va ichki metionin kodonlari yordamida cho'zilish. Inisiator tRNAMet cho'zilishda ishtirok etuvchi tRNAMet bilan solishtirganda nukleotidlar ketma-ketligi va/yoki uch o'lchovli tuzilish xususiyatlariga ega.

Eukariotlarning tashabbuskori tRNAMet quyidagi xarakterli xususiyatlarga ega:

-IV halqadagi 54-57 pozitsiyalarda rTYCG/A o'miga AUCG yoki AYCG;

-Va odatdagi pirimidin o'miga 60-pozitsiyada;

-C U o'miga 33-pozitsiyada (faqat yuqori eukariotlar uchun)

Eukariotlarda translatsiyaning boshlanishi

Eukariotlarda ribosoma tomonidan boshlang'ich AUGni topishning ikkita asosiy mexanizmi mavjud: kep bog'liq (skanerlash) va kep mustaqil (ichki boshlash).

• Skanerlash mexanizmi bilan ribosoma (aniqrog'i, uning kichik bo'linmasi) qopqoq mintaqasida mRNKning 5' uchiga tushadi va mRNK molekulasi bo'ylab harakatlanadi, birin-ketin kodonni AUG tashabbuskoriga duch kelguncha "skanerlaydi". Ribosomani mRNKning 5'-uchiga jalb qilish uchun mRNKning 5'-uchunli nukleotidiga biriktirilgan qopqoq - 7-metilguanin bo'lgan maxsus tuzilma kerak.

• Eukariotlarda IRESga bog'liq mexanizm deb ham ataladigan ichki boshlash mexanizmi bilan ribosoma IRES (Internal Ribosomal

Entry Site) deb ataladigan mRNKning ichki hududiga qo'nadi - bu mRNKning aniq ikkilamchi tuzilishga ega bo'lgan hududiga qo'nadi. ribosomalarni boshlang'ich AUG ga yo'naltiradi. IRESga bog'liq mexanizmga ko'ra, sintez faqat hujayrali mRNKlarning kichik qismida, shuningdek, ba'zi viruslarning RNKlarida boshlanadi.

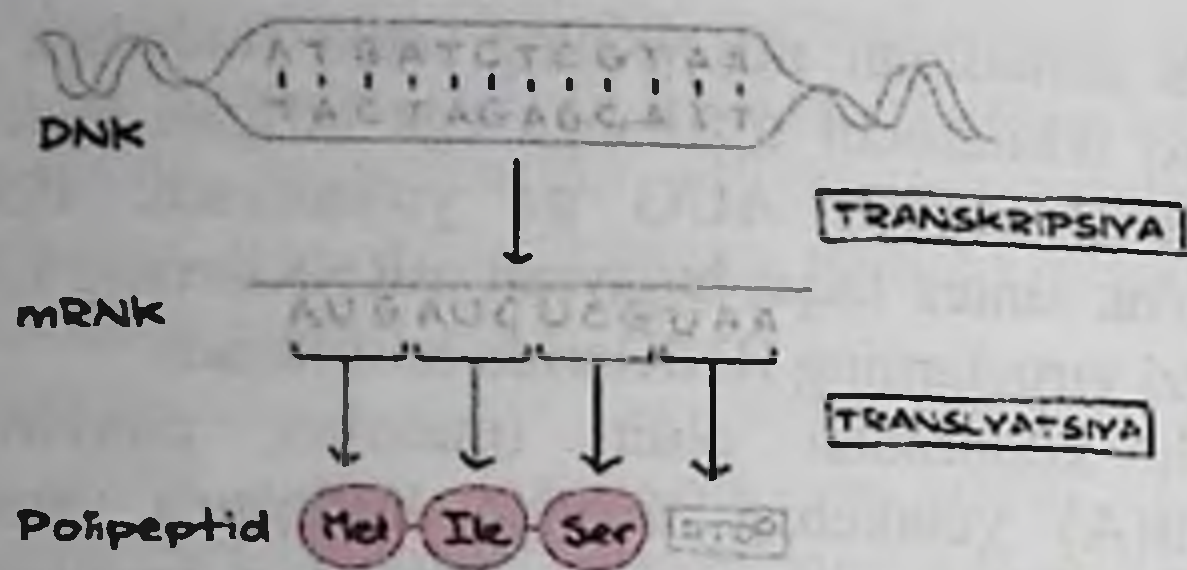
Boshlanish kodonidan oldin (masalan, poxvirus oilasining mRNKida) poli(A) yetakchisi mavjud bo'lganda, asosiy boshlash mexanizmlariga qo'shimcha ravishda nostandart boshlash mexanizmi amalga oshiriladi. Bunday holda, boshlash kompleksi IF3 va eIF4F omillarini o'z ichiga olmaydi va 5'-tarjima qilinmagan mintaqada yig'ilgandan so'ng, u mRNKni ketma-ket skanerdan o'tkazmaydi, lekin shunday deyiladi. ATPga bog'liq bo'lmagan "fazasiz yurish". Bunday holda, boshlash klassik skanerlash mexanizmi bilan ishlashga qaraganda ancha tezroq davom etadi.

Translyatsiyani qayta boshlash eukariotlarda ham mumkin, bunda translatsiya tugagandan so'ng oqsil omillari bo'lgan ribosoma mRNK dan ajralib chiqmay, mRNKning 3' uchidan 5' uchiga sakrab o'tib, yana inisiatsiyani boshlaydi.

10.6 Translatsiya terminatsiyasi

Terminatsiya - oqsil sintezining tugashi, stop kodonlaridan biri - UAG, UAA, UGA - ribosomaning A joyida paydo bo'lganda sodir bo'ladi (rasm 10.17).

Stop kodonlari uchun mos keladigan tRNKlar mavjud emas. Buning o'miga ikkita protein ajratuvchi omil (RF) ribosoma bilan bog'lanadi. Ushbu kodonlarga mos keladigan tRNK yo'qligi sababli peptidil tRNK ribosomaning P joyi bilan bog'langan bo'lib qoladi. Bu erda o'ziga xos RF1 yoki RF2 oqsillari o'ynaydi, ular polipeptid zanjirining mRNKdan ajralishini katalizlaydi, shuningdek, RF3, mRNKning ribosomadan ajralishiga olib keladi. RF1 A-saytda UAA yoki UAG ni taniydi; RF-2 - UAA yoki UGA. UAA bilan tugatish boshqa to'xtash kodonlariga qaraganda samaraliroq bo'ladi. Ulardan biri RF-1 peptidning tRNK va C-terminali o'rtasidagi efir bog'ining gidrolitik ajralishini katalizlaydi va shu bilan oqsilni chiqaradi. Kompleksni uning tarkibiy qismlariga ajratish uchun energiya GTP o'z ichiga olgan RF-3 omili bilan ta'minlanadi.



10.17-rasm - Eukariotlarda oqsil sintezini tugatish sxemasi

Eukariotlarda kompartmentalizatsiyalanish

Prokariotlardan farqli o'laroq, oqsil biosintezini to'g'ridan-to'g'ri mos keladigan mRNKlarning transkripsiyasi paytida sodir bo'ladi, eukaryotlar oqsil biosintezini jarayonida sodir bo'ladigan barcha jarayonlarni, shu jumladan translatsiyani qismlarga ajratish bilan ajralib turadi.

Sekretor va membrana oqsillari uchun mRNKning tarjimasi (odatda ular hujayra tomonidan sintez qilingan barcha oqsillarning 3-15% ni tashkil qiladi) granular endoplazmatik retikulum bilan bog'langan ribosomalarda sodir bo'ladi. Klassik tushunchalarga ko'ra, ribosomalarning yana 35-45% sitoskelet bilan bog'langan, qolgan 20-40% ribosomalar esa sitozolda bog'lanmagan holatda bo'ladi. Shu bilan birga, erkin ribosomalar artefakt bo'lib, hujayrada ular maxsus turdagi filamentlardan hosil bo'lgan mikrotrabekulyar panjara bilan bog'langanligi taxmin qilingan. Biroq, boshqa ma'lumotlarga ko'ra, mikrotrabekulyar panjaraning mavjudligi taxmin, shuning uchun faol bog'lanmagan ribosomalarning mavjudligi masalasi ochiq qolmoqda.

Hozirgi vaqtda eukariotlarda translatsiya hujayraning butun sitoplazmasida emas, balki sitoplazmaning shartli ravishda "tarjima bo'limlari" deb ataladigan alohida sohalarida sodir bo'lishi taxmin qilinmoqda. Ehtimol, translatsiya bo'limi quyidagi tuzilmalarni o'z ichiga oladi:

- oqsil omillari, matritsa va ularga biriktirilgan transport RNK bilan ribosomalar;

- kodosomalar - 7-9 aminoatsil-tRNK sintetazalari, pirofosfataza, siklik nukleotidlar, magniy ionlari va lipidlarni o'z ichiga olgan murakkab oqsil komplekslari • eEF1H — elongatsiya omilining og'ir yoki to'liq shakli 1.

U 4 ta elongatsiya omilini o'z ichiga oladi (eEF1A, eEF1Ba, eEF1Bb, eEF1Bg).

Translatsiyani qismlarga ajratish oqsil biosintezining yuqori tezligini va ushbu jarayonni tartibga solish uchun keng imkoniyatlarni ta'minlaydi.

10.7 Translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar

Translatsiyadan keying modifikatsiyalari [lat. post - keyin va lat. translatsiya - uzatish; lat. modus - o'lchov, tip va facio - qilmoq] - oqsil molekulalarining ribosomalarda sintezi tugagandan so'ng asosan endoplazmatik retikulum va Golji apparatida sodir boladigan kimyoviy fermentativ o'zgarishlar hisoblanadi. Sintezdan so'ng oqsillar turli xil moddalar bilan birlashib, glikoproteinlar, lipoproteinlar, metalloproteinlar, xromoproteinlar va boshqa murakkab oqsillarni hosil qiladi. Bundan tashqari, polipeptidda allaqachon mavjud bo'lgan aminokislotalar kimyoviy o'zgarishlarga duch kelishi mumkin. Masalan, prokollagen oqsilining bir qismi bo'lgan prolin aminokislotasi gidroksiprolingacha oksidlanadi. Natijada, prokollagendan kollagen hosil bo'ladi - biriktiruvchi to'qimalarning asosiy oqsil komponenti.

Biokimyoviy reaksiyalar

Oqsillarning translatsiyadan keyingi modifikatsiyalari matrisa tipidagi reaksiyalar emas, ular bosqichli reaksiyalar deyiladi. Oqsillarning translatsiyadan keyingi modifikatsiyalari ko'p (500 dan ortiq) xilma-xil jarayonlarni o'z ichiga oladi: fosforillanish, glikozillanish, metillanish, atsetillanish, ribozillanish, sitrulinlanish, miristillanish, sumoillanish, lipidlanish, prenillanish, palmitatsiya, signallar ketma-ketligini ajratish va boshqalar. Posttranslatsion oqsillarning modifikatsiyalari ularning biologik faolligiga asosiy ta'sir ko'rsatadi.

Translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar hujayradagi oqsillarning umrini, ularning fermentativ faolligini va boshqa oqsillar bilan o'zaro ta'sirini tartibga solishi mumkin. Ba'zi hollarda translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar oqsilning hosil bolishidagi majburiy qadamdir, aks holda u funktsional jihatdan faol emas. Masalan, insulin va boshqa ba'zi gormonlarning etilish davrida polipeptid zanjirining cheklangan proteolizi talab qilinadi va plazma membranasi oqsillarining etilishi davrida glikozillanish talab etiladi.

Xuddi shu protein ko'p o'zgarishlarga duch kelishi mumkin. Shunday qilib, gistonlar (eukariotlarda xromatinni tashkil etuvchi

oqsillar) turli sharoitlarda 150 dan ortiq turli xil modifikatsiyaga kirishi mumkin.

Posttranslatsion modifikatsiyalar quyidagilarga bo'linadi: Asosiy zanjir modifikatsiyalari

Peptid bog'lanishining ajralishini o'z ichiga oladi

- N-terminal metionin qoldig'ini olib tashlash
- cheklangan proteoliz

Kichik kimyoviy guruhlarga qo'shilish

- N-atsillanish
- N-arginillanish
- C-amidatsiya

Membranani lokalizatsiya qilish uchun gidrofobik guruhlarni biriktirish

- N-miristillanish
- glikosilfosfatidilinositol (GPI) qo'shilishi

Aminokislotalar en zanjirlari modifikatsiyalari

Kichik kimyoviy guruhlarni qo'shish yoki yo'q qilish

- glikozillanish
- N-glikozillanish
- O-glikozillanish
- gidroksillanish
- atsetillanish
- metillanish
- g-karboksillanish
- O-sulfonatsiya
- fosforlanish
- yodlash
- oksidlanish
- glikatsiya
- disulfid bog'larning hosil bo'lishi
- deiminatsiya
- karbamoilatsiya
- deamidatsiya

Membranada lokalizatsiya uchun gidrofobik guruhlar biriktirilishi

• prenillanish - izoprenoid qoldiqlarining biriktirilishi (farnesil va geranilgeranil)

- S-palmitatsiya.

Boshqa oqsillar va peptidlarning biriktirilishi

- ubiquitinatsiya

- yig'ish

10.8 Protsessing yoki oqsillarning translatsiyadan keyingi modifikatsiyalar

Peptid zanjiri ribosomani tark etgandan so'ng, u o'zining biologik faol shaklini olishi kerak, ya'ni. ma'lum bir tarzda tuzilishi, har qanday guruhlarni ulashi va hokazo. Polipeptidni faol oqsilga aylantiradigan reaksiyalar oqsilni qayta ishlash yoki translatsiyadan keyingi modifikatsiya deb ataladi.

Asosiy qayta ishlash reaksiyalariga quyidagilar kiradi:

1. N-terminusdan metionin yoki hatto bir nechta aminokislotalarni maxsus aminopeptidazalar bilan olib tashlash.

2. Sistein qoldiqlari o'rtasida disulfid ko'priklarining shakllanishi.

3. Qisman proteoliz - oshqozon-ichak traktining insulin yoki proteolitik fermentlari bilan bo'lgani kabi, peptid zanjirining bir qismini olib tashlash.

4. Oqsil zanjirining aminokislotalar qoldiqlariga kimyoviy guruh biriktirish:

- fosfor kislotalari – masalan, serin, treonin, tirozin aminokislotalarining fosforlanishi ferment faolligini tartibga solishda yoki kaltsiy ionlarini bog'lashda ishlatiladi;

- karboksil guruhi - masalan, K vitamini ishtirokida glutamatning g-karboksillanishi protrombin, prokonvertin, Styuart omili, bu qon ivishining boshlanishida kaltsiy ionlarining bog'lanishiga imkon beradigan inisiatsiya.

- metil guruhi – masalan, gistonlardagi arginin va lizinning metillanishi genom faolligini tartibga solish uchun ishlatiladi;

- gidroksil guruhi – masalan, S vitamini ishtirokida kollagen molekulalarining yetilishi uchun gidroksiprolin va gidroksilizin hosil qilish uchun lizin va prolinga OH guruhi qo'shilishi zarur;

- yod – masalan, tiroglobulinda yod qo'shilishi qalqonsimon bez gormonlarining prekursorlari bo'lmish yodotironinlar hosil bo'lishi uchun zarur;

5. Prostetik guruhini kiritish:

- uglevod qoldiqlari – masalan, glikoproteinlar sintezida glikiratsiya zarur.

- gem – masalan, gemoglobin, miyoglobin, sitoxromlar, katalaza,

- vitamin -kofermentlari – biotin, FAD, piridoksal fosfat va boshqalar sintezida.

6. Protomerlarning yagona oligomerik oqsilga birikmasi, masalan, gemoglobin, kollagen, laktat dehidrogenaza, kreatin kinaz.

Oqsillar foldingi.

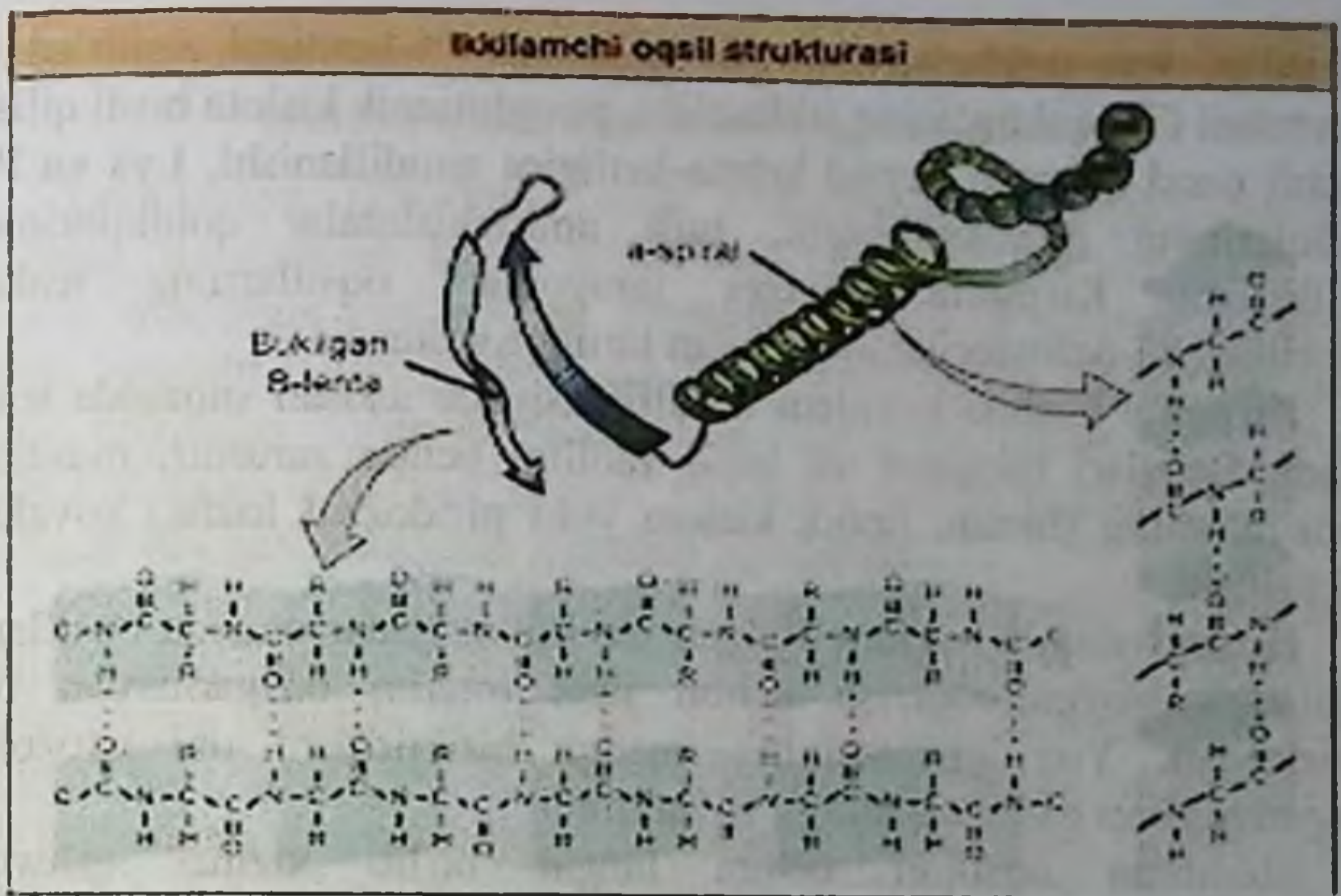
Folding- cho'zilgan polipeptid zanjirini muntazam uch o'lchovli fazoviy tuzilishga joylashtirish jarayoni. Foldingni ta'minlash uchun chaperonlar (chaperon, frantsuzcha - yo'ldosh) deb nomlangan yordamchi oqsillar guruhi qo'llaniladi. Ular yangi sintez qilingan oqsillarning bir-biri bilan o'zaro ta'sirini oldini oladi, oqsillarning gidrofobik hududlarini sitoplazmadan ajratib turadi va ularni molekula ichida "olib tashlaydi" va oqsil domenlarini to'g'ri joylashtiradi.

Umuman olganda, chaperonlar oqsil tuzilishining birlamchi darajadan uchinchi va to'rtlamchi darajaga o'tishiga yordam beradi.

Chaperonlarning funktsiyasi buzilganda va folding bo'lmasa, hujayrada oqsil toplami hosil bo'ladi - amiloidoz rivojlanadi. Amiloidozning 15 ga yaqin varianti mavjud.

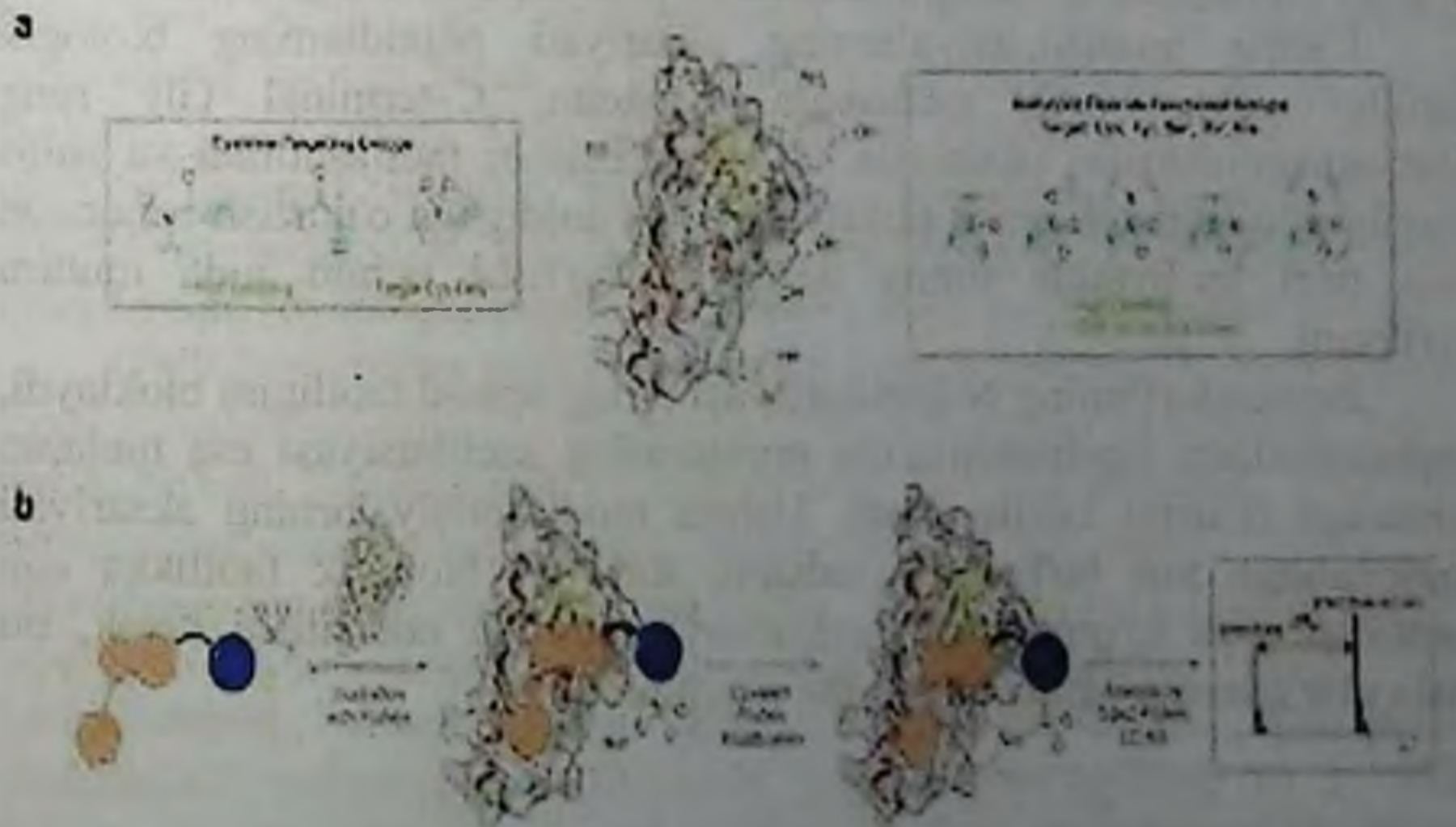
Oqsilarning translatsiyadan keyingi modifikatsiyalari: umumiy ma'lumot.

Ko'pgina oqsillar va ajratilgan peptidlar birgalikda translatsiya va post-translatsion modifikatsiyalar natijasida yoki ribosomalar tomonidan sintezi tugagandan keyin turli xil strukturaviy o'zgarishlarga uchraydi. Oqsillarning 100 dan ortiq turli post-translatsion modifikatsiyalari tavsiflangan. Ushbu modifikatsiyalarning aksariyatining roli noaniq; ularning ba'zilari tasodifiy va aftidan hech qanday funktsional ahamiyatga ega emas, lekin hujayra hayoti uchun muhim bo'lgan boshqalar ham bor, chunki ular o'ziga xos fermentlar tomonidan ehtiyotkorlik bilan nazorat qilinadi. O'zgarishlar ET va Golji apparatida sodir bo'ladi. Bu organellalarda, masalan, glikozillanish fermentlari oqsillarga glukoza qoldiqlarining murakkab zanjirlarini qo'shib, glikoproteinlarni hosil qiladi. Sutmizuvchilar hujayralari sitozolida glikozillanishning yagona ma'lum bo'lgan holati bu oqsillarga N-atsetilglyukozamin qo'shilishidir (rasm 10.18).



10.18-rasm -Oqsilning modifikatsiyasi (glikozillanishi) sitozol.

Sitozolda sodir bo'ladigan ma'lum kovalent modifikatsiyalar teskari bo'lib, ko'plab oqsillarning faolligini tartibga solishga xizmat qiladi (10.19-rasm).



10.19-rasm - Proteinlar: kovalent qaytariladigan modifikatsiyalar.

Translatsiyadan keyingi modifikatsiyalarga oqsil kinazalari bilan transkripsiya omillarining fosforillanishi, Asn-X-[SerThr] ketma-

ketligidagi Asn qoldiqlarining glikosillanishi, N-terminal atsilirlanish, N-terminal Glu qoldig'ining sikllanishi, piroglutamik kislota hosil qilish, C-uchli ozod qilingan peptid ketma-ketligini amidillanishi, Lys va Pro qoldiqlarining gidroksillanishi, turli aminokislotalar qoldiqlarining metillanishi. Ko'pgina hujayra jarayonlari oqsillarning teskari fosforillanishi-defosforilatsiyasi bilan tartibga solinadi.

Ko'pgina boshqa kovalent modifikatsiyalar asosan sitozolda sodir bo'ladi. Ba'zilari barqaror va oqsil faolligi uchun zarurdir, masalan, koenzimlarning (biotin, lipoik kislota yoki piridoksal fosfat) kovalent biriktirilishi.

Hozirgi vaqtda ma'lum bo'lgan modifikatsiyalar orasida oqsillarni belgilangan joyga etkazish uchun juda muhim bo'lganlardan biri tasvirlangan. Yog 'kislotasining oqsilga biriktirilishi uni sitozolga qaragan ma'lum membranalarga yo'naltiradi.

Membran oqsillari uchun langar bo'lib xizmat qiluvchi fosfoinositidlar miristin kislotalarining yuqori miqdori bilan ajralib turadi. Langarlangan fosfoinositidlarda lipidning inositol qismi glikozillanadi. Oqsillarning fosfoinositid glikanlari bilan bog'lanishi terminal etanolamin orqali sodir bo'ladi.

Fosfoinositidlarning muhim funksiyasi langar funksiyasi deb ataladi - hujayraning tashqi yuzasida ko'plab oqsillar ularga birikadi.

Ushbu modifikatsiyalarning aksariyati peptidlarning biologik faolligi uchun juda muhimdir. Xususan, C-terminal Gly ning karboksiamidlanishi oksitotsin va vazopressinni faollashtiradi va sulfo guruhini xoletsistokinin-8 tarkibidagi Tyr qoldig'iga o'tkazish oshqozon osti bezi faoliyatida uning namoyon bo'lishi uchun juda muhim ko'rinadi.

Betaendorfinning N-asetilatsiyasi uning opioid faolligini bloklaydi, melanotsitlarni ogohlantiruvchi gormonning asetilatsiyasi esa melanin sinteziga ta'sirini kuchaytiradi. Ushbu modifikatsiyalarning aksariyati to'qimalarga xos bo'lganligi sababli, turli xil biologik faollikka ega peptidlar turli to'qimalarga prekursorlar sifatida etkazilishi kerak, bu erda ular maxsus ishlov berishdan o'tadilar.

10.9 Yangi sintezlangan polipeptid zanjirlarini degradatsiyadan himoya qilish uchun folding va tizimlar

Translatsiya jarayonida o'sib borayotgan polipeptid zanjirlari biosintez tugagandan so'ng to'liq shakllanadigan yuqori o'ziga xos fazoviy tuzilishga ega bo'ladi. Polipeptid zanjirini fazoviy tuzilishga yig'ish jarayoni folding deb ataladi. Suvli eritmalarda folding natijasida suvda eriydigan polipeptidning erkin energiyasi kamayadi, gidrofob aminokislotalar qoldiqlari asosan molekula ichida to'planadi, gidrofil qoldiqlar esa oqsil globulasi yuzasida joylashgan.

Eukaryotik hujayralardagi ba'zi oqsillarning polipeptid zanjirlarining to'g'ri foldingi, boshqa oqsillarning polipeptid zanjirlarining uchinchi darajali tuzilishini samarali shakllantirish uchun zarur bo'lgan, ammo yakuniy oqsil tuzilishiga kirmaydigan chaperonlar deb ataladigan maxsus oqsillar tomonidan ta'minlanadi. Ribosomadan chiqarilgandan so'ng yangi sintezlangan oqsillar to'g'ri ishlashi uchun barqaror uch o'lchovli tuzilmalarga mos kelishi va hujayraning butun funktsional hayoti davomida shunday bo'lishi kerak. Oqsil tuzilishi sifatini nazorat qilish polipeptidlarning burmalanishini katalizlovchi maxsus oqsillar bo'lgan chaperonlar tomonidan amalga oshiriladi.

Protein molekulalarining tashqi yuzasida gidrofobik maydonlar ham hosil bo'lib, faol markazlarning bo'shliqlarini va multimerik oqsillarning bir-biri bilan va biologik membranalar bilan aloqa qilish joylarini hosil qiladi. Oqsillar yuzasining gidrofobikligining oshishi ularning hujayra ichidagi barqarorligini pasaytiradi, chunki ko'plab proteolitik fermentlar gidrofobik aminokislotalar hosil qilgan yoki ularga yaqin joylashgan peptid bog'larini yuqori tezlikda gidrolizlaydi.

O'sib borayotgan polipeptid zanjiri uchun proteolitik degradatsiya xavfi translatsiya qiluvchi ribosoma yuzasida paydo bo'lganidan keyin paydo bo'ladi. Sintezlangan polipeptid zanjirlarining taxminan 1/3 qismi ribosomalar tomonidan sintezi tugagandan so'ng darhol proteolitik degradatsiyaga uchraganligi aniqlandi. Ko'pgina yangi sintezlangan oqsillar o'sib borayotgan polipeptid zanjirlari bilan bog'liq bo'lgan NAC kompleksining (nasl bo'lgan polipeptid bilan bog'liq kompleks) shakllanishi tufayli parchalanmaydi. Molekulyar og'irligi 21-33 kDa bo'lgan oqsillar guruhi mavjud bo'lib, ular ham shunday zanjir bilan, ham ribosomaning o'zi bilan o'zaro ta'sir qiladi, NAC hosil qilish orqali o'sib borayotgan polipeptidni parchalanishdan himoya qiladi. Sintezlangan oqsilning gidrofobik signal ketma-ketligi taxminan 70

aminokislota qoldig'i uzunligiga yetganda va NACni tark etganda, SRP (signalni aniqlash zarrasi) oqsil kompleksi u bilan o'zaro ta'sir qiladi, bu nafaqat o'sayotgan polipeptidning gidrofobik qismini erta degradatsiyadan himoya qiladi, proteinazlar tomonidan, balki uni o'z manziliga - endoplazmatik retikulumning membranalariga ham yo'naltiradi.

Signal ketma-ketligiga ega bo'lmagan o'sayotgan polipeptid zanjirlari NACni tark etib, Hsp70 va Hsp40 chaperonlarini o'z ichiga olgan katlama tizimi bilan o'zaro ta'sir qiladi. Issiqlik zarbasi oqsillari (Hsp - issiqlik zarbasi oqsillari), o'sib borayotgan polipeptid zanjiri bilan kompleks hosil qilib, ularning hujayra ichidagi proteinazalar ta'sirida o'ziga xos bo'lmagan agregatsiyasi va degradatsiyasini oldini oladi, ularning to'g'ri buklanishiga yordam beradi, bu esa boshqa chaperonlar ishtirokida sodir bo'ladi. Hsp70 polipeptid zanjirlarining ATFGa bog'liq ochilishida ishtirok etadi, bu esa polipeptid zanjirlarining qutb bo'lmagan hududlarini proteolitik fermentlar ta'siriga kirish imkonini beradi.

Aminokislotalar qoldiqlarining signal ketma-ketligi yangi sintez qilingan oqsillarni hujayra ichidagi organellalar va mikrokompartiyalarga maqsadli etkazib berishni ta'minlaydi. Ular katlama naqshlariga, translatsiyadan keyingi o'zgarishlarga va metabolik barqarorlikka ta'sir qiladi. Aminokislota qoldiqlarining signal ketma-ketligi bilan boshqariladigan yangi sintezlangan oqsillarni o'z ichiga olgan beshta biokimyoviy jarayon mavjud: membrananing tekisligi bo'ylab oqsil translokatsiyasi; membrana tekisligini kesib o'tmasdan hujayra ichidagi oqsillarni uzatish; peptid bog'larini gidrolizsiz oqsilning kimyoviy modifikatsiyalari; oqsildagi ba'zi peptid bog'larining parchalanishi; oqsillardagi konformatsion va boshqa fazoviy o'zgarishlar, shu jumladan polipeptid zanjirlarining katlanmasi va oligomerizatsiyasi.

Hujayra ichidagi oqsillarning umri bir necha darajaga qarab farq qilishi mumkin. Strukturaviy va konstitutsiyaviy ifodalangan oqsillar odatda uzoq umr ko'rishadi; tartibga soluvchi oqsillar tezda parchalanadi. Aniq tartibga solinishi mumkin bo'lgan tartibga soluvchi oqsillarning proteolitik gidrolizi eukaryotik hujayraning bir funktsional dasturdan ikkinchisiga tezda o'tishini ta'minlaydi.

Hujayra ichidagi oqsillarning aksariyati proteolitik gidroliz natijasida tugaydi va yangi oqsillarni sintez qilishda ishlatiladigan kichik peptidlar va erkin aminokislotalarga aylanadi.

Ko'pgina proteolitik fermentlar substratlar sifatida ishlatiladi. Ular lizosomalar va vakuolalarda lokalizatsiya qilinadi, ular bu organellalarga kirgandan so'ng har qanday oqsillarni gidrolizlaydi. Proteolitik fermentlarning bunday bo'linishi hujayra mavjudligining muhim shartidir. Proteazomalar va ubiquitin ishtirokida hujayra ichidagi oqsillarning proteolitik degradatsiyasi tizimi yuqorida tavsiflangan tizimlardan farq qiladi, chunki u keng substrat o'ziga xosligiga ega, atrofdagi oqsillar uchun xavfsizdir va tartibga soluvchi ta'sirlarga javob beradi.

Chaperonlar: Kirish

Eukaryotik hujayralardagi ba'zi oqsillarning polipeptid zanjirlarining to'g'ri katlanmasi (folding), boshqa oqsillarning polipeptid zanjirlarining uchinchi darajali tuzilishini samarali shakllantirish uchun zarur bo'lgan, ammo yakuniy oqsil tuzilishiga kirmaydigan chaperonlar deb ataladigan maxsus oqsillar tomonidan ta'minlanadi. Ribosomadan chiqarilgandan so'ng yangi sintezlangan oqsillar to'g'ri ishlashi uchun barqaror uch o'lchovli tuzilmalarga mos kelishi va hujayraning butun funktsional hayoti davomida shunday bo'lishi kerak. Protein tuzilishi sifatini nazorat qilish polipeptidlarning burmalanishini katalizlovchi maxsus oqsillar bo'lgan chaperonlar tomonidan amalga oshiriladi. Poliproteinlarni yig'ish va ko'p oqsilli komplekslarni katlama ham chaperonlar tomonidan amalga oshiriladi. Chaperonlar noto'g'ri qatlamlangan oqsillarning gidrofobik hududlari bilan bog'lanadi va ularni katlama va barqaror mahalliy tuzilishga erishishga yordam beradi va shu bilan ularning erimaydigan va ishlamaydigan agregatlarga qo'shilishini oldini oladi. Funktsional hayoti davomida oqsil turli stresslar va denaturatsiyalarga duchor bo'lishi mumkin. Bunday qisman denaturatsiyalangan oqsillar proteazalarning nishoniga aylanib, birlashishi yoki chaperonlar yordamida mahalliy tuzilishga kirishi mumkin. Ushbu uchta jarayon sodir bo'ladigan muvozanat va samaradorlik ushbu reaksiyalarda ishtirok etadigan komponentlarning nisbati bilan belgilanadi. Ushbu polipeptidlar sinfiga sitozolik issiqlik zarbasi oqsillari Hsp70 va Hsp60, shuningdek, immunoglobulin og'ir zanjir bog'lovchi oqsil (BiP) kabi ularga gomologik oqsillar kiradi. Yadro nukleoplazmin ham nukleosomalarning yig'ilishini ta'minlovchi shaperondir. *E. colida* tegishli funktsiyalarni tetik omil SecB oqsillari, shuningdek, sitoplazmadan polipeptidlar eksportini ta'minlovchi va bakteriofaglar morfogenezida ishtirok etadigan GroEL va GroES oqsillari bajaradi. Oxirgi ikkita oqsil, GroEL va GroES, shuningdek,

Cpn60 va Cpn10 deb nomlanuvchi, issiqlik zarbasi bilan boshqariladigan groE operonining genlari tomonidan kodlangan.

Evolyutsion ravishda GroEL oqsili bilan bog'liq bo'lgan oqsillarga chaperoninlar deyiladi. Yuqori o'simliklarning xloroplastlarida topilgan shunday oqsillardan biri D-ribuloza-1,5-difosfat karboksilaza oksigenaza yig'ilishida ishtirok etadi, bu ko'pincha polipeptidlarning katlanma mexanizmlarini o'rganishda namunaviy oqsil sifatida ishlatiladi..

O'zlarining asosiy funksiyasidan tashqari, oqsillarni katlama, chaperonlar, shuningdek, oqsil konformatsiyasining o'zgarishi bilan bog'liq boshqa ko'plab muhim funksiyalarni bajaradilar, xususan:

1. Ko'pgina oqsillarni bir bo'limdan ikkinchisiga o'tkazish, masalan, Rubisko fermenti subbirligining sitoplazmadan xloroplastga o'tishi u bilan kompleksda joylashgan Hsp70 chaperon ishtirokida sodir bo'ladi.

2. Signal yo'llarida ishtirok etish, masalan, Hsp70 ning mavjudligi fosfataza faollashishi uchun zarur bo'lib, u defosforilatsiya orqali stressdan kelib chiqqan apoptoz signalining tarkibiy qismi bo'lgan JNK protein kinazini inhibe qiladi, ya'ni. Hsp70 anti-apoptotik signalizatsiya yo'lining bir qismidir.

3. Turli molekulalarning funksiyasini tartibga solish, masalan, sitoplazmada joylashgan steroid retseptorlari Hsp90 bilan bog'liq bo'lib, sitoplazmaga kiradigan ligand retseptorga birikadi va chaperonni kompleksdan siqib chiqaradi. Shundan so'ng, retseptor-ligand kompleksi DNKni bog'lash qobiliyatiga ega bo'ladi, yadroga o'tadi va transkripsiya omili sifatida ishlaydi.

Shunday qilib, chaperonlar

- 1) boshqa yangi sintez qilingan oqsillarni to'g'ri yig'ish va katlama uchun mas'ul bo'lgan pro- va eukaryotik organizmlarning oqsil molekulalari (qarang. Qatlamlash), ulardagi turli omillar (harorat, viruslar, kimyoviy moddalar) ta'sirida yuzaga keladigan xatolarni tuzatish. va boshqalar), polimer tuzilmalarining oligomerizatsiyasi va oqsillarni hujayrada tashish (masalan, Ch. ishtirokida ribuloza-1,5bisfosfatkarboksilaza-oksigenaza fermentining subbirligi sitoplazmadan xloroplastga o'tadi). Ko'p Ch.ning muhim xossasi ularning stress ostida faollashishi; Ch. yetishmasligi bilan oqsillar noto'g'ri buklanadi va ular proteazlar yordamida yig'iladi yoki parchalanadi. Ch., masalan, issiqlik zarbasi oqsillari (q. Issiqlik zarbasi oqsillari) hsp40, hsp60 va hsp70, GroEL, GroES va boshqalar. Murakkab oqsillar ba'zan chaperoninlar deb ataladi;

- 2) RNK molekulalarining to'g'ri katlanmasi uchun mas'ul bo'lgan o'ziga xos oqsillar (RNK bo'limi)

| Organizm | | | |
|--------------------|-----------------|-------------------------------|--------------|
| Chaperone oilalari | Sutemizuvchilar | Achitqilar | Bakteriyalar |
| . | Hsp26 | . | . |
| Hsp60 | Hsp60 | . | GroEL |
| Kochaperon | . | . | GroES |
| Hsp70 | Hsp70 | Ssa1, 2, 3 va 4; Ssb1 va 2 | . |
| Kochaperon | Hsp40 | Ydj | . |
| Hsp90 | Hsp90 | . | . |
| Hsp100 | . | Hsp104 | . |

Chaperonlar va stress

Eukaryotik hujayralardagi issiqlik zarbasiga javob stress bilan qo'zg'atilgan barcha genlarning transkripsiyasini faollashtirishni o'z ichiga oladi va maxsus transkripsiya omili (issiqlik zarbasi omili HSF) tomonidan amalga oshiriladi. Stressga uchramagan hujayralarda HSF ham sitoplazmada, ham yadroda Hsp70 bilan bog'langan monomerik shalda mavjud va DNKni bog'lash faolligiga ega emas. Issiqlik zarbasi yoki boshqa stressga javoban, Hsp70 HSF dan ajralib chiqadi va denaturatsiyalangan oqsillarni katlay boshlaydi. HSF trimerlarga yig'iladi, DNKni bog'lash faolligini rivojlantiradi, yadroda to'planadi va promotor bilan bog'lanadi. Bunday holda, hujayradagi chaperonlarning transkripsiyasi ko'p marta ortadi. Stress o'tgandan so'ng, chiqarilgan Hsp70 yana HSFga qo'shiladi, u DNK bilan bog'lanish faolligini yo'qotadi va hamma narsa normal holatga qaytadi. Xuddi shunday, hamma narsa boshqa stresslar ostida sodir bo'ladi. Shunday qilib, stress ostida faollashuv ko'plab chaperonlarning muhim xususiyatidir. Agar barcha shikastlangan oqsillarni yig'ish uchun etarli chaperonlar bo'lmasa, unda katlama noto'g'ri amalga oshiriladi va oqsillar proteazlar va yoki agregatlar bilan parchalanadi.

Buklanmalar va izomerazalar

Foldaza va izomeraza oqsillari polipeptid zanjirlarining buklanishida ishtirok etadi.

Ushbu guruhning eng yaxshi o'rganilgan fermentlari tioredoksin va glutaredoksin bo'lib, ular ribonukleotidlarning glutationga bog'liq bo'lgan deoksiribonukleotidlarga aylanishi bilan bir qatorda, oqsillardagi disulfid bog'larini kamaytirishga qodir bo'lib, ularning to'g'ri uchinchi darajali tuzilishini shakllantirishga yordam beradi. Protein disulfidi

izomeraza bir xil funktsiyalarni bajaradi, eukaryotik hujayralar membranalari orqali o'tgandan so'ng, ajratilgan oqsillarda disulfid bog'larini hosil qiladi. Polipeptid zanjirlarining to'g'ri uchinchi darajali tuzilishini shakllantirishning cheklovchi bosqichi polipeptid zanjirlarida prolin qoldiqlarining *sis-trans* izomerizatsiyasi hisoblanadi. Eukaryotik hujayralardagi bu jarayon prolin-*sis-trans* izomeraza ishtirokida amalga oshiriladi.

10.10 UPR (ozgarmagan oqsil reaksiyasi): umumiy ma'lumot

Hujayra yuzasi va ajralib chiqadigan oqsillar endoplazmatik retikulumda sintezlanadi, bu erda ular tashishdan oldin katlanib, yig'ilishi kerak. Proteinning to'g'ri etilishiga to'sqinlik qiladigan ETdagi o'zgarishlar ochilgan oqsil reaksiyasi mexanizmini keltirib chiqaradi. Yangi tadqiqotlar achitqi va sutemizuvchilarda bu hodisaning mexanizmlari orasidagi bo'shliqni to'ldirdi.

70-yillarning o'rtalarida RNK o'simtasi virusi tomonidan o'zgartirilgan hujayralarda qo'zg'atilgan p78 va p94 ikkita oqsilni aniqlash bilan boshlandi. Ko'p o'tmay, Pastan guruhi bu oqsillarning induksiyasi hujayra transformatsiyasining bevosita natijasi emasligini, aksincha, tez o'sib borayotgan o'simta hujayralari muhitida glyukoza kamayishi tufayli paydo bo'lganligini ko'rsatdi, shuning uchun ularni glyukozaga bog'liq oqsillar (GRP) 78 va 94 deb atashadi. Ularning ifodalanishiga ET muhitini o'zgartiruvchi bir qator boshqa shartlar va agentlar ta'sir ko'rsatishi ko'rsatilgan. GRP78 mustaqil ravishda 1983 yilda Haas va uning hamkasblari tomonidan BiP deb nomlangan sekretsiyalanmagan immunoglobulin og'ir zanjirlarini bog'laydigan ET-lokalizatsiyalangan oqsil sifatida kashf etilgan. Ushbu kashfiyot, Bole va boshqalar tomonidan olib borilgan shunga o'xshash tadqiqotlar bilan birga, BiP to'liq yig'ilmagan immunoglobulin oraliq mahsulotlarning tuzilishini saqlab qolish uchun xizmat qilishini ko'rsatib, BiP/GRP78 ning birinchi ER chaperoni sifatida aniqlanishiga olib keldi. Keyinchalik BiP ETdagi turli xil ochilgan oqsillar bilan bog'lanishi va ularning tashishini oldini olishi ko'rsatildi. Gething va Sambrook guruhi ushbu topilmalarni birlashtirib, ER muhitini GRP-induktsiya qiluvchi vositalar bilan o'zgartirish oqsillarning katlanishiga ta'sir qilishi mumkinligini va ehtimol GRP induksiyasi uchun *signal ERda ochilgan oqsillarning to'planishi ekanligini ko'rsatdi. Bu, o'z navbatida, ochilgan oqsillarni yig'ishning oldini olish uchun chaperonlar konsentratsiyasining oshishiga olib keladi. Ular gripp virusi ochilgan gemagglutininning*

(HA) haddan tashqari ko'payishi BiP va GRP94 ifodasini qo'zg'atish uchun etarli ekanligini ko'rsatdilar, bu signalizatsiya yo'lini ochilgan oqsil reaksiyasi (UPR) sifatida aniqlashga olib keldi. Shu bilan birga, Li va hamkasblari ikkala genning promoterlarini klonlashdi va chaperon transkripsiyasini tartibga solishga hissa qo'shadigan bir qator hududlarni, shuningdek, ular bilan bog'langan ba'zi transkripsiya omillarini aniqladilar. Ularning tadqiqotlari natijasida barcha UPR induktorlari bir xil tartibga soluvchi hududlar va, ehtimol, bir xil mexanizm orqali harakat qilishlari aniq bo'ldi. Biroq, promoterlar funktsional jihatdan ortiqcha va murakkab bo'lib chiqdi va ER stressini keltirib chiqaradigan aniq elementlar aniqlanmadi. Shunday qilib, sutemizuvchilarning UPR komponentlarini tavsiflash (shu jumladan yuqori oqim signali - ochilgan oqsillar va quyi oqim reaksiyasi - chaperonlarning induksiyasi) ularning ulanish yo'llari haqida hech qanday taxminlarsiz to'xtadi.

Nazorat savollari

- 1. Genetik kodning qanday xossalari oqsillarda axborotning aniq takrorlanishini belgilaydi?**
- 2. Oqsil sintez sistemasining asosiy komponentlarini va ularning vazifalarini sanab bering.**
- 3. Aminokislotalar qanday faollashadi?**
- 4. Qaysi va qancha transfer RNKlar aminokislotalarning ribosomalarga yetkazilishini ta'minlaydi?**
- 5. Prokariot va eukariotlarda ribosoma bo'linmalariga qanday rRNKlar kiradi?**
- 6. Qaysi markazlar ribosoma bo'linmalarini hosil qiladi?**
- 7. Prokariot va eukariotlarda translatsiyaning boshlanishiga qanday omillar kiradi?**
- 8. Prokariot va eukariotlarda translatsiyaning boshlanishi, cho'zilishi va tugashi qanday sodir bo'ladi?**
- 9. Peptid bog` hosil bo`lishini qanday mexanizm ta`minlaydi va peptidiltransferaza qanday xususiyatlarga ega?**
- 10. Protein strukturasiining translatsiyadan keyingi modifikatsiyalari qayerda va qanday sodir bo'ladi?**
- 11. Yangi sintez qilingan polipeptid zanjirlarini parchalanishdan buklanish va himoya qilish tizimlari qanday sodir bo'ladi?**
- 12. ER şaperonlari (BiP/GRP78) ta'sirida ochilmagan oqsillarni (UPR) tashish qanday oldini oladi?**

XI BOB. GEN MUHANDISLIGI

Gen muhandisligi [yunon. genetikos - tug'ilish, kelib chiqish bilan bog'liq; frantsuz ingenieur - muhandis, latdan. ingenium - qobiliyat, zukkolik] - rekombinant DNK texnologiyasidan foydalangan holda biologik faol DNK molekulalarining yangi shakllarini va hujayralar va butun organizmlarning genetik jihatdan yangi shakllarini yaratishga qaratilgan sun'iy genetik loyihalash amaliyoti va usullari, genetik transformatsiya, hujayra gibrizatsiyasi va genlarni ko'chirish. Gen Injenerligi in vitro genlarning tuzilishini o'zgartirish, yangi genlar yaratish yoki kimerik genlarni yaratish imkonini beradi. U 70-yillarning boshlarida paydo bo'lgan. XX asr Rasmiy ravishda Gen Injenerligining tug'ilgan kuni. P. Berg, S. Koen, X. Boyer va boshqalar SV40 virusi, bakteriofag va E. coli ning DNK qismlarini o'z ichiga olgan birinchi rekombinant DNKni yaratgan 1972 yil deb hisoblash mumkin. Rekombinant DNKni qurish bo'yicha ishi uchun P. Berg 1980 yilda Nobel mukofotiga sazovor bo'ldi. " Gen Injenerligi " atamasi. birinchi marta 1941 yilda A. Jost tomonidan ishlatilgan

11.1 Gen Injenerligi- umumiy ma'lumot

Gen muhandisligi natijasida sun'iy genetik konstruktsiyalar yaratiladi, unda genlarning alohida qismlari yoki butun genlar kerakli ketma-ketlikda birlashtiriladi, bu ularning o'zaro ta'siri va funktsional ahamiyatini aniqlashga va yangi genetikada gen ekspressiyasini amalga oshirishga imkon beradi. muhit.

Organizmlar, shuningdek, ularni tashkil etuvchi somatik va reproduktiv hujayralar o'rtasida genetik ma'lumotlar almashinuvi barcha tirik mavjudotlar mavjudligining asosiy tamoyilidir.

Jinsiy jarayon organizmlarni somatik mutatsiyalar va makromolekulalarning boshqa modifikatsiyalari ko'rinishidagi qaytarilmas o'zgarishlardan ozod qiladi, bu keksa yoshdagi normal faoliyatini buzadi. Yangi organizmning genomi allellarning yangi birikmasida qayta yaratiladi, bu uning moslashish qobiliyatining kengayishi bilan birga bo'lishi mumkin.

Genetik hodisalarning katta guruhi ma'lumki, bu organizmlarning bir avlodi ichida, shuningdek, bir xil ko'p hujayrali organizmning hujayralari o'rtasida genlarning o'tkazilishi bilan bog'liq.

Bunga bakteriofaglar tomonidan amalga oshiriladigan, mikroorganizmlar genomining kichik qismlarini ko'chirishga olib

keladigan o'ziga xos va nospetsifik transduksiyalarni misol qilib keltirish mumkin. Konjugativ plazmidlar va transpozonlar yordamida gen almashinuvi bakteriyalar evolyutsiyasida, xususan, turdosh bakteriyalar populyatsiyalarida ham, bir-biridan taksonomik jihatdan uzoq bo'lgan guruhlar vakillari o'rtasida ham turli xil kimyoviy moddalarga chidamlilik genlarining tarqalishida katta ahamiyatga ega. Aftidan, retroviruslar tabiiy sharoitda sut emizuvchilarda gorizontaal genlarni uzatishga qodir va Ti plazmidlari yordamida o'simliklarda gorizontaal gen almashinuvi sodir bo'ladi. Genetik ma'lumotlarning harakati va uni ifodalash tabiatining o'zgarishi bir hujayrali va ko'p hujayrali organizmlarning o'zida turli xil harakatchan genetik elementlarning ta'siri ostida, shuningdek, mutagen muhit omillari ta'siri ostida mumkin.

Yuqoridagi misollar shuni ko'rsatadiki, tabiatda gen bloklari, alohida genlar va ularning bo'laklari genomlar ichida ham, turli genomlar va organizmlar o'rtasida ham almashinish odatiy hodisadir. Ushbu hodisalar natijasida uzatilgan genlar nafaqat yangi genetik muhitda ifodalash qobiliyatini saqlab qoladi, balki uning darajasini sezilarli darajada o'zgartirishi mumkin, bu ko'pincha organizmlar fenotipining xarakterli o'zgarishi bilan birga keladi.

Laboratoriya sharoitida genlarning tabiiy harakati asosidagi genetik printsiplardan foydalanish organizmlar o'rtasida genetik ma'lumotlarni uzatish tizimlarini ishlab chiqish va genetik hodisalarni molekulyar darajada o'rganishni boshlash imkonini berdi.

Genlarni manipulyatsiya qilish zarurati fundamental va amaliy tadqiqotlar vazifalari bilan belgilanadi. Izolyatsiya qilingan genlar bilan ishlash genlarning chegaralarini aniqlash, ularni sof shaklda ajratish va ishlash uchun zarur bo'lgan tarkibiy elementlarni aniqlash imkonini beradi. Tanlangan genom mintaqasining funktsional ahamiyatini isbotlash faqat model genetik tizimda uning normal ifodalanishi bo'lishi mumkin. Shuning uchun, ajratilgan genni o'rganishning keyingi bosqichi uni gen ifodasi osongina aniqlanadigan genetik tizimga o'tkazishdir. Ekspressiya natijalari yoki o'rganilayotgan gen tomonidan kodlangan protein mahsulotining paydo bo'lishi yoki unda yangi fermentativ yoki boshqa faollikning paydo bo'lishi tufayli biologik tizim funktsiyalarining o'zgarishi, masalan, kompensatsiya bilan baholanadi. bu tizimda mavjud bo'lgan mutatsiya. Muayyan genning tuzilishini o'rganish va uning sun'iy genetik tizimda ifodalanishini modellashtirish natijasida uning tirik organizmda ishlash xususiyatlarini tushunish mumkin. Shunga o'xshash yondashuv maxsus ajratilgan ma'lum genlarga ham, funktsional

ahamiyati ilgari noma'lum bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligiga ham qo'llanilishi mumkin. ular faqat sof shaklda ajratib olingandan keyin aniqlanadi. Oxirgi yondashuv teskari genetika deb ataladigan sohada qo'llaniladi.

11.2 Genetika muhandisligi: usullari: umumiy ma'lumot

Turli organizmlardagi genlarning tuzilishi va faoliyati to'g'risidagi ma'lumotlarni olish uchun genetik muhandislik usullari qo'llanildi, bu esa genetik tadqiqotlarning sifat jihatidan yangi bosqichiga o'tish imkonini berdi. Bu, birinchidan, genni keyingi ifodasi bilan yangi genetik muhitga o'tkazish imkoniyati, bu genomiga gen kiritilgan organizmning xususiyatlarining o'zgarishiga olib keladi (masalan, biologik faol ishlab chiqaruvchilarni yaratish). moddalar yoki transgen organizmlar), shuningdek mutant allellarni sun'iy ravishda almashtirish orqali irsiy va orttirilgan kasalliklarning gen terapiyasini amalga oshirish. Ikkinchidan, in vitroda ma'lum va yangi, sun'iy ravishda sintez qilingan nukleotidlar ketma-ketligini birlashtirib, yangi genlarni yaratish mumkin bo'ldi. Ushbu yondashuv oqsil muhandisligida fermentlarning polipeptid zanjirlaridagi alohida aminokislotalar va domenlarning funktsional ahamiyatini o'rganish, shuningdek, yangi oqsillarni yaratish uchun qo'llaniladi. Uchinchidan, biotexnologiyada oziq-ovqat mahsulotlari va oqsil tabiatining biologik faol moddalarini olish uchun genetik muhandislik tuzilmalarining bir qismi sifatida ajratilgan genlardan foydalanish mumkin bo'ldi.

Kerakli miqdordagi gen nusxalarini olish uchun molekulyar klonlash usuli qo'llaniladi. Usulning mohiyati shundan iboratki, ajratilishi yoki ko'paytirilishi kerak bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligi vektorlar deb ataladigan o'z-o'zidan ko'payadigan nuklein kislota molekulalariga kovalent tarzda kiritiladi. Keyinchalik, vektorning bir qismi sifatida nukleotidlarning ushbu ketma-ketligi pro- yoki eukaryotik organizmning hujayralariga kiritiladi va bu gibrid hujayralar hujayralar ichidagi vektorning saqlanishini ta'minlaydigan selektiv sharoitda ozuqaviy muhitda o'stiriladi. Natijada, nazariy jihatdan begona nukleotidlar ketma-ketligini bir xil kiritish bilan bir xil vektor molekulalarini o'z ichiga olgan hujayralar kloni hosil bo'ladi. Klonlangan nukleotidlar ketma-ketligi va vektor molekulalarining kombinatsiyasi in vitro rekombinatsiyadir, shuning uchun bunday gibrid molekulalar rekombinant molekulalar deb ataladi. Xromosoma DNK fragmentlarining murakkab aralashmasidan ma'lum nukleotidlar ketma-

ketligini ajratib olish, shuningdek, qat'iy belgilangan gen bo'laklari va boshqa nuklein kislotalar ketma-ketliklari o'rtasida almashinuvni amalga oshirish imkonini beradigan usullar ishlab chiqilgan.

Nuklein kislotalarni molekulyar klonlash uchun ishlatiladigan fermentlarning aksariyati nuklein kislotalarning in vivo jonli metabolizmida ishtirok etadi. Klonlangan nukleotidlar ketma-ketligini klonlash va o'rganish jarayoni tozalangan fermentlar va ularning substratlari - nuklein kislotalar yordamida in vitro fermentativ reaksiyalarni o'tkazishga to'g'ri keladi.

DNK va RNKni tozalash usullaridagi farqlar ribonukleotidlarda erkin 2'-OH guruhlari mavjudligi, past molekulyar og'irlik va ixcham fazoviy tuzilish tufayli RNK molekulalarining gidrolitik parchalanishga nisbatan yuqori sezuvchanligi bilan belgilanadi. Nuklein kislotalarni tabiiy holatda ajratib olish uchun biologik ob'ektning to'qimalarini yo'q qilish uchun engil sharoitlardan foydalanish va nuklein kislota molekulalarini gidroliz qilish uchun vaqt topmasdan oldin gidrolitik fermentlarni faolsizlantirish kerak. Nukleaza ingibitorlari hujayralar yoki to'qimalar yo'q qilinmaguncha bufer eritmalariga kiritiladi. Nukleaza ingibitorlari sifatida o'ziga xos bo'lmagan denaturatsiya qiluvchi vositalar (ionli yuvish vositalari, simob gidroksid, guanidin xlorid, guanidin izotiosiyanat, fenol, xloroform va boshqalar) va o'ziga xos ingibitorlar, masalan, inson platsentasidan RNKasa ingibitori yoki vanadiy komplekslari ishlatiladi.

Ikki zanjirli genomik DNKning ishi sezilarli molekulyar og'irlik va chiqarilgan molekulalarning yuqori qattiqligi bilan murakkablashadi. Buning oqibati yuqori molekulyar og'irlikdagi DNK eritmalarining yuqori yopishqoqligi va eritmalarda parchalanish qulayligidir. DNKni ajratib olishda, deproteinizatsiya jarayonida uning eritmasini faqat yumshoq aralashtirishga ruxsat beriladi. Tozalashning birinchi bosqichlarida proteolitik fermentlar, fenol va xloroform ishlatiladi. Proteinlarni olib tashlashda DNK va RNK bir vaqtning o'zida tozalanganligi sababli, RNK aralashmalarini olib tashlash uchun DNKaza aralashmalarisiz yuqori darajada tozalangan RNKasa preparatlari ishlatiladi va RNK izolyatsiyasi holatida RNKazalar bilan ifloslanmagan DNKazalar qo'llaniladi.

11.3 Gen injeneriyasida qo'llaniladigan fermentlar

Restriktazalar DNKni qat'iy belgilangan joylarda kesuvchi bakterial fermentlardir. Gen injeneriyasida klonlash uchun foydalaniladigan fermentlar orasida restriksion endonukleazlar – restriksion fermentlar katta ahamiyatga ega. Birinchi marta bakteriyalarda DNKni restriktor modifikatsiyasi tizimining bir qismi sifatida kashf etilgan bu fermentlar, xususan, ikki zanjirli DNK molekulalarini restriksiya saytlari deb ataladigan muayyan nukleotidlar ketma-ketligi ishtirokida gidrolizlaydi.

| DNK nukleotidlari | RNK nukleotidlari |
|-------------------|-------------------|
| | |
| | |
| | |
| | |

11.1-rasm - DNK ketma-ketligini aniqlashning o'ziga xosligi va uchta cheklovchi fermentning endonukleaza faolligining tabiati.

Restriktaza fermentlarning o'ziga xosligi katta genomlarni kesish uchun kuchli vositadir. Cheklov fermentini qayta ishlash natijasida inson genomik DNKsi uzunligi bir necha nukleotiddan bir necha ming nukleotidgacha bo'lgan yuz minglab bo'laklarga bo'linadi. Parchalarning tarkibi va hajmi ishlatiladigan restriktaza

fermentning turiga bog'liq. Bir nechta restriktaza

fermentlardan foydalanib, uzunligi bir necha yuzdan o'n minglab nukleotidlargacha bo'lgan har qanday DNK fragmenti uchun restriksion saytlarining batafsil xaritasini yaratish mumkin.

DNKni keng ajratilgan nuqtalarda ajratuvchi restriktaza fermentlari millionlab nukleotidlar uzunlikdagi DNKni xaritalash uchun ishlatiladi.

Restriktazalar: nomlari

Restriktazalar nomlari ular joylashgan bakteriyalarning tur nomlarining bosh harflaridan iborat, masalan, Eko - E. coli. Agar bir xil bakterial turning turli shtammlari hujayralarida ta'sir qilishning o'ziga xosligi har xil bo'lgan cheklovchi fermentlar mavjud bo'lsa, cheklash fermenti nomiga qo'shimcha harf kiritiladi, masalan, bakteriyadan ajratilgan Hinc va Hind restriktaza fermentlari. Haemophilus influenzae hujayralari, c va d shtammlari. Harf belgilaridan keyingi raqamlar bir xil turdagi bakteriyalar hujayralarida mos keladigan restriktaza fermentlarni, masalan, H. aegypticus dan HaeI, HaeII va HaeIII kashf qilish ketma-ketligini aks ettiradi.

Restriktazalar klassifikatsiyasi

Ta'sir mexanizmi va molekulyar tuzilishiga ko'ra, restriktazalarning uch turi mavjud.

I tur restriktaza fermentlari molekulyar og'irligi 300 kDa gacha bo'lgan uchta subbirlikdan tuzilgan murakkab multimerik komplekslar bo'lib, ular restriktaza fermenti, DNK metilazasi va ATPaz faolligiga ega. I-toifa restriktazalar o'z faolligini ko'rsatish uchun ATF, S-adenosilmetionin va Mg²⁺ ionlarining mavjudligini talab qiladi; ular o'ziga xos nukleotidlar ketma-ketligini tanimaydilar va shuning uchun gen muhandisligida keng qo'llanilmaydi.

II turdagi restriktazalar DNKning parchalanish nuqtasida yoki unga bevosita yaqin joylashgan o'ziga xos nukleotidlar ketma-ketligini taniydi, faollik ko'rsatish uchun reaksiya aralashmasida ATP va Mg²⁺ ionlarining mavjudligini talab qiladi va ko'pincha molekulyar klonlashda qo'llaniladi.

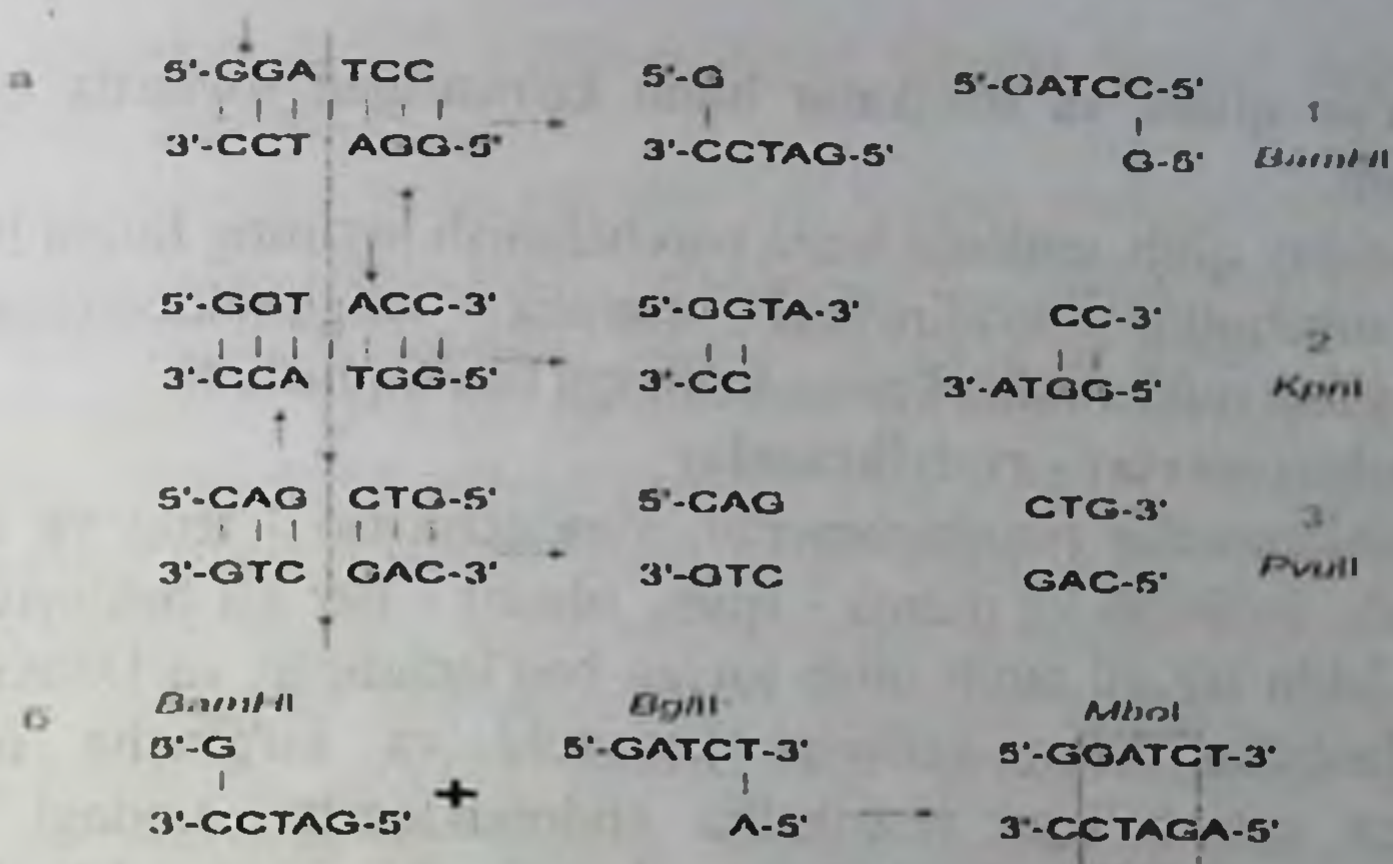
III tipdagi restriktazalar ham faqat ATF va Mg²⁺ ionlari ishtirokida faol bo'lib, S-adenosilmetioninga mutlaq bog'liqlik ko'rsatmaydi.

II turdagi restriktazalar gen injeneriyasining asosiy quroli hisoblanadi. II turdagi restriktazalarning aksariyati DNKdagi tetra- va geksanukleotidlar ketma-ketligini aniq taniydi va ulardan kamida uchta oktanukleotidlarni taniydi. Restriktaza fermenti tomonidan tan olingan restriksiya saytlari oligonukleotidlar ketma-ketligi qanchalik qisqa bo'lsa, u to'rt nukleotidning har biri teng chastotada (50% A-T juftlari va 50% G-C juftlari) ifodalangan tasodifiy nukleotidlar ketma-ketligida sodir bo'ladi. Shunday qilib, tasodifiy tetranukleotidlar ketma-ketligi o'rtacha har 256 zarbada va geksanukleotidlar ketma-ketligi har 4096 zarbada sodir bo'ladi. Biroq, tabiiy DNKda nukleotidlarning tarqalishi

tasodifiydan sezilarli darajada farq qilishi mumkin. Masalan, eukaryotik DNK CpG dinukleotidining past chastotasi va shunga mos ravishda ushbu dinukleotidlarni o'z ichiga olgan restriksiya saytlari (restriktaza fermentlari HhaI, HpaII, TaqI, ThaI, Aval, HaeII, HindII, Sall, SmaI, XhoI, XmaI) bilan tavsiflanadi.). Aksincha, termofil bakteriyalarning xromosomalari (hamma hollarda bo'lmasa ham) GC juftlarida boyitish bilan tavsiflanadi. II turdagi restriktaza fermentlari tomonidan tan olingan ko'pchilik saytlar ikkinchi darajali simmetriya mavjudligi bilan tavsiflanadi, ya'ni. ular tan oladigan ketma-ketliklar palindromlardir, masalan, EcoRI cheklash fermenti uchun - 5'-GAATTC-3'. Demak, har bir zanjirda simmetriya o'qidan teng masofada joylashgan nukleotidlar bir-birini to'ldiruvchidir (11.2.a-rasm).

Agar qarama-qarshi bo'lgan DNK zanjirlarining bo'linish nuqtalari restriksiya saytlari bir-biriga nisbatan siljigan bo'lsa, u holda cheklash natijasida hosil bo'lgan DNK uchlari bir qatorli chiqib ketadigan hududlarni o'z ichiga oladi. Bunday hududlar o'zlarini va bir-birini to'ldiruvchi va bir-biri bilan o'zaro ta'sir qilishi mumkinligi sababli, ular ko'pincha "yopishqoq" uchlari deb ataladi. Yopishqoq uchlari chiqib turuvchi bir ipli hudud 5' yoki 3' uchi bo'lishi mumkin (11.2.a-rasm). Cheklash joylarida 5' yoki 3'-chiqib chiqadigan "yopishqoq" uchlari paydo bo'lishining rasmiy belgisi DNK zanjirining ajralish nuqtasining restriksiya saytlarini belgilash uchun ishlatiladigan ketma-ketlikda, chapda yoki o'ngda joylashganligidir. Ba'zi restriktaza fermentlarda har ikkala DNK zanjirining bo'linish nuqtalarida restriksiya saytlari to'g'ridan-to'g'ri bir-birining ostida joylashgan. Bunday holda, DNK parchalanishidan keyin "yopishqoq" uchlari hosil bo'lmaydi, va "to'mtoq" deb ataluvchi uchlari olinadi, ularda chiquvchi bir ipli DNK bo'limlari yo'q. 5'- va 3'-chiqadigan "yopishqoq" uchlari o'rtasida funktsional farq bor - ikkinchisini DNK polimeraza bilan to'ldirish orqali belgilash mumkin emas, bu DNKning cheklash bo'laklarini olish uchun restriktaza fermentlarini tanlashda hisobga olinishi kerak.

BamHI, BclI, BglII va XhoII restriktaza fermentlari turli restriksiya saytlarini tanisa ham, ular bir xil yopishqoq uchlarni, GATC ni hosil qiladi. Xuddi shu narsa SalGI, XhoI va Aval (NCGA) restriktaza fermentlari guruhiga xosdir. Bu guruhlardan birining restriksion fermentlari tomonidan hosil qilingan DNK bo'laklari bog'langanda ular birlashtiriladi, lekin dastlabki cheklash joylari yo'qoladi, chunki natijada nukleotidlarning yangi uzluksiz ketma-ketligi hosil bo'ladi (11.2. b-rasm).



11.2-rasm - (2.1-rasm, pat) - Restriktor fermentlari ta'sirida ikki zanjirli DNK uzilish shakllari.

Ba'zi II turdagi cheklash fermentlari uchun restriksiya saytlari simmetrik emas. Masalan, HhaI restriksion fermenti 5'-GACGC-3' assimetrik ketma-ketligini taniydi va bir zanjirli uzilishlarni qarama-qarshi DNK zanjirlariga kiritib, mos ravishda 5 va 10 nukleotidga o'ngga siljiydi. Olingan yopishqoq uchlarning nukleotidlar ketma-ketligi har bir bunday restriksiya saytlari uchun noyobdir. Natijada, ushbu restriksiyon fermenti ta'sirida hosil bo'lgan DNKni cheklash bo'laklari DNK cheklash bo'laklarining "yopishqoq" uchlardagi noyob nukleotidlar ketma-ketligi bilan belgilanadigan qat'iy belgilangan boshlang'ich ketma-ketlikda bir-biri bilan aralashmada birlashtiriladi. Masalan, ushbu restriktaza ferment fag phX174 DNK ning replikativ shaklini parchalaganda, 14 ta fragment hosil bo'ladi, ular in vitroda to'g'ri ketma-ketlikda birlashtirilib, yuqumli phX174-DNK hosil qiladi.

Bir zanjirli DNK uchun universal restriktazalar.

Asimmetrik nukleotidlar ketma-ketligini taniydigan restriktaza fermentlarga asoslanib, istalgan nuqtada bir zanjirli DNK molekulalarining parchalanishiga imkon beruvchi tizim ishlab chiqilgan. Shu maqsadda oligonukleotid sintezlanadi, uning 5'-terminal qismida shunday restriktaza tomonidan tan olingan sayt mavjud va 3'-terminal qismining nukleotidlar ketma-ketligi endonukleaza parchalanishi kerak bo'lgan DNK mintaqasini to'ldiruvchidir. Oligonukleotidning bir zanjirli DNK bilan duragaylanishi natijasida 11.3-rasmda ko'rsatilgan struktura hosil bo'ladi. Bunday holda, ferment tanib olish joyi (I bo'lim) bilan

o'zaro ta'sir qiladi va strekalar bilan ko'rsatilgan joylarda uzilishlar belgilanadi.

Shunday qilib, endonukleaza parchalanish joyining holati butunlay DNK substratini to'ldiruvchi sintetik oligonukleotidning II mintaqasining nukleotidlar ketma-ketligiga bog'liq bo'ladi.

Izoshizomerlar - restriktazalar

Izoshizomerlar (izoshizomerlar, yunoncha iso - teng va schizo - maydalash, bo'linish va meros - qism, ulush) - har xil bakteriyalardan olingan, lekin bir xil tanib olish joyiga bog'lanadigan va DNKning bir xil nukleotidlar ketma-ketligini kesuvchi va ko'pincha turli xil reaksiyaga ega bo'lgan restriksion endonukleazlar. undagi alohida asoslarning metillanish darajasi. Masalan, izoshizomerlar MboI, DpnI, PfaI va boshqalar fermentlari bo'lib, ular bir xil tetranukleotid GATCni taniydilar.

Shunday qilib, har xil turdagi bakteriyalar hujayralari bir xil restrision saytlar- izoshizomerlarni taniydigan restriktazalarni o'z ichiga olishi mumkin. Ayrim restriktazalarining izoshizomerlari genomdagi metillangan DNK hududlarini aniqlash uchun ishlatiladi.

HpaI va HpaII cheklash fermentlari mos ravishda GCGC va CCGG metillanmagan ketma-ketliklarini parchalaydi va agar bu joylarda sitozi qoldiqlaridan kamida bittasi metillangan bo'lsa, o'z ajralish qobiliyatini yo'qotadi. MspI fermenti (HpaII ning izoshizomeri) bunday joydagi sitozi qoldiqlari metillangan yoki metillanmagan bo'lishidan qat'i nazar, CCGG ketma-ketligini buzadi.

DNKdagi adenozin qoldiqlarining N-metilatsiyasini Sau3A (ham metillangan, ham metillanmagan GATC ketma-ketliklarini ajratadi), DpnI (faqat metillangan GMeATC sekanslarini ajratadi) va MboI (faqat metillanmagan ketma-ketliklarni ajratadi) izoshizomerlari yordamida aniqlash mumkin.

Restriktazalar: tasirning spesifikligini o'zgartirish

Restriktaza fermentlari yuqori o'ziga xos fermentlardir. Biroq, bu o'ziga xoslikni in vitroda saqlab qolish uchun reaktsiya aralashmasida ferment ta'siri uchun optimal sharoitlarni saqlash kerak. Bunday shartlar buzilganda, ba'zi bir restriktaza fermentlari ikkilamchi faollikni namoyon qila boshlaydi. Shunday qilib, EcoRI cheklash fermenti pH 7,3, 100 mM NaCl da GAATTC ketma-ketligini 5 mM MgCl₂ mavjudligida ajratadi, ammo pH qiymatlarini o'zgartirganda, NaCl konsentratsiyasini pasaytiradi yoki Mg²⁺ ionlarini Mn²⁺ bilan almashtirganda, shuningdek, mavjud bo'lganda. Organik erituvchilarda

ferment qisqaroq AATT ketma-ketligini (EcoRI faolligi deb ataladi) parchalashga intiladi.

Xuddi shunday xususiyatlarga ega bo'lgan cheklash fermentlariga BamHI, BstI, BsuI, DdeI, HhaI, PstI, Sall, SstI, Xballar ham kiradi.

Restriktazalar: noodatiy substratlarga ta'sir qilish

Ikki zanjirli DNKga qo'shimcha ravishda, ko'plab restriktaza fermentlari DNK-RNK gibridlarini substrat sifatida ishlatishga qodir. Bu, xususan, EcoRI, HindII, Sall, MspI, HhaI, AluI, TaqI va HaeIII restriktazalariga tegishli. Ba'zi restriktazalar, masalan, HaeIII, HhaI va SfaI, mos keladigan ikki zanjirli RF shaklidan sezilarli darajada past tezlikda bo'lsa-da, phX174 faginging bir zanjirli DNKsini ajratishga qodir. Bu qobiliyat bir qancha boshqa restriktazalar hamda DNK substratlari uchun taaluqlidir. Ushbu restriktazalar haqiqiy bir zanjirli saytlarni yoki ikkilamchi tuzilish elementlariga kiritilgan nukleotidlar ketma-ketligini tan oladimi yoki yo'qmi, noaniq qolmoqda.

PCR usulining rivojlanishi bilan kuchaytirilgan oligonukleotidlarni restriktaza fermentlari bilan ularning uchlari yaqinida kesish kerak bo'ladi. Restriktaza saytlari uning uchlardan birida bir yoki bir nechta nukleotidlar bilan yonma-yon joylashgan sharoitda kesadi. Bunday holda, ma'lum bir restriktazalarning cheklash joylarini kesish qobiliyatiga aniq bog'liqlik o'rnatildi, bu sayt yonma-yon joylashgan nukleotidlar soniga bog'liq. Restriktazalarining bu xususiyati, xususan, ikki zanjirli DNK molekulasining eng uchlarda DNK qo'sh spiraling tanib olish joyini ushlab turadigan qisqa bir zanjirli bo'limlarning shakllanishi bilan sodir bo'lishi bilan izohlanadi. Bunday oligonukleotidlarni kesish vaqtida reaksiya aralashmasining haroratini pasaytirish orqali mahalliy erishni qisman oldini olish mumkin. Ushbu ma'lumotlar amaliy genetik muhandislik uchun katta ahamiyatga ega bo'lganligi sababli ular 11.1-jadvalda jamlangan.

11.1-jadval - Qisqa DNK ketma-ketliklarini ba'zi bir umumiy restriktaza fermentlar tomonidan parchalanish samaradorligi

| Restriktaza | Yaqin atrofdagi oligonukleotidlar ketma-ketligi cheklash sayti | Zanjir uzunligi | Oligonukleotidning unkuvasiyadan keyingi parchalanishi foizi.*9- | |
|--------------------------|--|-----------------|--|------|
| | | | 2 s | 20 s |
| BamHI I | CGGATCCG | 8 | 10 | 25 |
| | CGGGATCCCG | 10 | >90 | >90 |

| | | | | |
|-----------------|--------------|----|-----|-----|
| | CGCGGATCCCGC | 12 | >90 | >90 |
| <i>Bgl</i> II | CAGATCTG | 8 | 0 | 0 |
| | GAAGATCTTC | 10 | 75 | >90 |
| | GGAAGATCTTCC | 12 | 25 | >90 |
| <i>Cla</i> I | CATCGATT | 8 | 0 | 0 |
| | GATCGATC | 8 | 0 | 0 |
| | CCATCGATGG | 10 | >90 | >90 |
| | CCCATCGATGGG | 12 | 50 | 50 |
| <i>EcoR</i> I | GGAATTCC | 8 | >90 | >90 |
| | CGGAATCCCG | 10 | >90 | >90 |
| | CCGGAATCCGG | 12 | >90 | >90 |
| <i>Hind</i> III | CAAGCTTG | 8 | 0 | 0 |
| | CCAAGCTTGG | 10 | 0 | 0 |
| | CCCAAGCTTGGG | 12 | 10 | 75 |

| | | | | |
|---------------|----------------|----|------|-------|
| <i>Nhe</i> I | GGCTAGCC | 8 | 0 | 0 |
| | CGGCTAGCCG | 10 | 10 | 25 |
| | CTAGCTAGCTAG | 12 | 10 | 50 |
| <i>Pst</i> I | GCTGCAGC | 8 | | |
| | TGCACTGCAGTGCA | 14 | 0 10 | 0 10 |
| <i>Pvu</i> I | CCGATCGG | 8 | 0 | 0 |
| | ATCGATCGAT | 10 | 10 | 25 |
| | TCGCGATCGCGA | 12 | 0 | 10 |
| <i>Sac</i> I | CGAGCTCG | 8 | 10 | 10 |
| <i>Sac</i> II | GCCGCGGC | 8 | | |
| | TCCCCGCGGGGA | 12 | 0 50 | 0 >90 |
| <i>Sma</i> I | CCCGGG | 6 | 10 | 10 |
| | CCCCGGGG | 8 | 10 | 10 |
| | CCCCCGGGGG | 10 | 0 | 50 |
| | TCCCCCGGGGGA | 12 | 0 | >90 |
| <i>Spe</i> I | GACTAGTC | 8 | 10 | >90 |
| | ACTAGTCC | 10 | 10 | >90 |
| | CGGACTAGTCCG | 12 | 0 | 50 |
| | CTAGACTAGTCTAG | 14 | 0 | 50 |
| <i>Sph</i> I | GGCATGCC | 8 | 0 | 0 |
| | CATGCATGCATG | 12 | 0 | 25 |
| | ACATGCATGCATGT | 14 | 10 | 50 |
| <i>Xba</i> I | CTCTAGAG | 8 | 0 | 0 |
| | GCTCTAGAGC | 10 | >90 | >90 |
| | TGCTCTAGAGCA | 12 | 75 | >90 |
| | CTAGTCTAGACTAG | 14 | 75 | >90 |
| <i>Xho</i> I | CCTCGAGG | 8 | 0 | 0 |
| | CCCTCGAGGG | 10 | 10 | 25 |
| | CCGCTCGAGCGG | 12 | 10 | 75 |

Eslatma. Cheklash joylarining ketma-ketligi kursiv bilan ko'rsatilgan.

E. coli DNK metilazalari

Ko'pchilik *E. coli* shtammlarida ikki xil DNK metillovchi fermentlar mavjud: dam va dcm metilazalar. Birinchisi metil guruhlarini GATC ketma-ketligidagi adeninning N-holatiga o'tkazadi. Bunday holda, restriksion saytlar ushbu metillangan ketma-ketlikni o'z ichiga olgan ko'plab restriktazalar (masalan, BclI, MboI yoki ClaI) ushbu joylarda DNKni parchalashni to'xtatadi.

Ba'zi restriktazalarga, masalan, EcoRIga o'xshash ta'sir CMeCAGG va CMeCTGG ketma-ketligidagi C5 pozitsiyasida sitozin qoldiqlarini metillashtiradigan dcm metilazasi tomonidan amalga oshiriladi. Ushbu metilazalarning klonlangan DNKga nomaqbul ta'sirini oldini olish uchun xost sifatida mutant *E. coli* shtammlari: dam- va dcm- ishlatiladi. Bakteriyalarni cheklash va modifikatsiyalash tizimlarining DNK metilazalari gomologik Restriktazalar ta'sirida katta bo'laklarni olish uchun o'rganilayotgan DNK bo'laklarida mos keladigan restriksion saytlarini in vitro blokirovka qilish uchun ishlatiladi.

Gen muhandisligida DNKga bog'liq DNK polimerazalar

DNKga bog'liq DNK polimerazalar orasida *E. coli* DNK polimeraza I va uning katta fragmenti (Klenow fragmenti), T4 DNK polimeraza va termostabil DNK polimerazalari, ayniqsa *Thermus aquaticus* DNK polimeraza (Taq polimeraza) gen muhandisligida eng ko'p qo'llaniladi.) . Bu barcha fermentlar to'rtta deoksiribonukleozid trifosfat (dATP, dCTP, dGTP va TTP) dan Mg²⁺ ionlari ishtirokida DNK matritsasini to'ldiruvchi DNK sintezini amalga oshiradilar va ularning ishlashi uchun bitta-da primer mavjudligi talab qilinadi. zanjirli matritsa DNK, ya'ni. DNK matritsasini to'ldiruvchi erkin 3'-OH-uchli oligo- yoki polideoksiribonukleotiddir.

E. coli DNK polimeraza I: DNK va RNK sintezidagi roli

E. coli ning DNK polimeraza I molekulyar og'irligi taxminan 109 kDa bo'lgan bitta polipeptid zanjiridan iborat va uchta faollikka ega: 5'->3' yo'nalishda polimerizatsiya, 5'->3' ekzonukleaza va 3'->5' ekzonukleaza. *E. coli* DNK polimeraza I ning yirik fragmenti (Klenow fragmenti) DNK polimeraza I ning polipeptid zanjirining bir qismi bo'lib, molekulyar og'irligi taxminan 76 kDa bo'lib, unda 5'->3' eksonukleaza mos keladigan domen yo'q. DNK polimeraza I ham, uning fragmenti ham radioyorliqli dezoksiribonukleotidlarni sintezlangan DNK zanjirlariga nik translatsiyasi orqali kiritish uchun ishlatiladi, ya'ni. bir zanjirli uzilishning ikki zanjirli DNK molekulasini bo'ylab harakati, bunda 3'-OH uchi fermentlar uchun primer sifatida ishlatiladi. Bunda

DNK polimeraza I 5'→3' ekzonukleaza yordamida o'z yo'liga kiradi va Klenow fragmenti DNK zanjirini 5' uchidan siqib chiqaradi. Bundan tashqari, Klenow fragmenti cDNK ning ikkinchi zanjirini sintez qilish, Sanger usuli yordamida DNK sekvensiyasi, DNKning 5'-o'zgaruvchan uchlarini to'ldirish uchlarini hosil qilish bilan to'ldirish, terminal radioaktiv yorlig'ini kiritish uchun ishlatiladi. Ushbu fermentning 3'→5' eksonukleazasi tomonidan cheklovchi DNK fragmentlarining 3'-o'sib chiquvchi uchlarini olib tashlanadi.

Teskari transkriptaza, revertaza

Teskari transkriptaza yoki revertaza [lat. transcriptio - qayta yozish) - RNKga bog'liq DNK polimeraza fermenti, uning yordamida teskari transkripsiya amalga oshiriladi - RNK matritsasida DNK sintezi; ba'zi RNK viruslari genomlari va yuqori organizmlar genomining mobil genetik elementlari tomonidan kodlangan, genetik muhandislik uchun muhim "vositasi" hisoblanadi. Teskari transkriptaza kamida uchta fermentativ faollikka ega:

1) DNK polimeraza, ham RNK, ham DNK uchun matritsa sifatida foydalanish

2) RNK-DNK gibridding bir qismi sifatida RNKni gidrolizlovchi RNKaz H faolligi

lekin bir yoki ikki zanjirli RNK emas

3) DNK endonukleaza faolligi.

1970 yilda D. Baltimor va X. Temin tomonidan bir biridan mustasno ravishda RNK o'z ichiga olgan o'simta viruslarida ochilgan.

(1975 yil Nobel mukofoti R. Dulbekko bilan birgalikda).

Shunday qilib, teskari transkriptazalar to'rtta deoksiribonukleozid trifosfatni polimerlash orqali RNK matritsasida DNKni sintez qilishga qodir va xuddi DNK polimerazalari kabi, ular faqat primer ishtirokida ishlaydi.

Teskari transkriptazalar RNK ni to'ldiruvchi (ayniqsa mRNK) ikki zanjirli DNK sintezida, kDNK kutubxonalarini (klonotek) olishda uni plazmid vektorlarida keyingi klonlash uchun ishlatiladi. DNK polimerazalari kabi teskari transkriptazalar mos ravishda etiketlangan deoksiribonukleozid trifosfatlarda DNK zondlariga radioaktiv yoki lyuminestsent yorliqni kiritish uchun ishlatilishi mumkin.

Muayyan sharoitlarda RNK matritsasida DNKni sintez qilish qobiliyati *Thermus thermophilus*ning termostabil DNK polimerazasi uchun tekshirildi. Bu uni PCR orqali biologik namunalardagi o'ziga xos RNKlarni to'g'ridan-to'g'ri aniqlash uchun foydalanish imkonini beradi.

Ushbu yondashuvning zamonaviy modifikatsiyalari bitta reaksiya aralashmasida (va probirkada) teskari transkripsiya reaksiyasida RNK matritsasidagi kuchaytirilgan DNK fragmentining oz sonli nusxalarini sintez qilish imkonini beradi, ular darhol xuddi shu ferment tomonidan ishlatiladi. an'anaviy PCRda matritsa hisoblanadi.

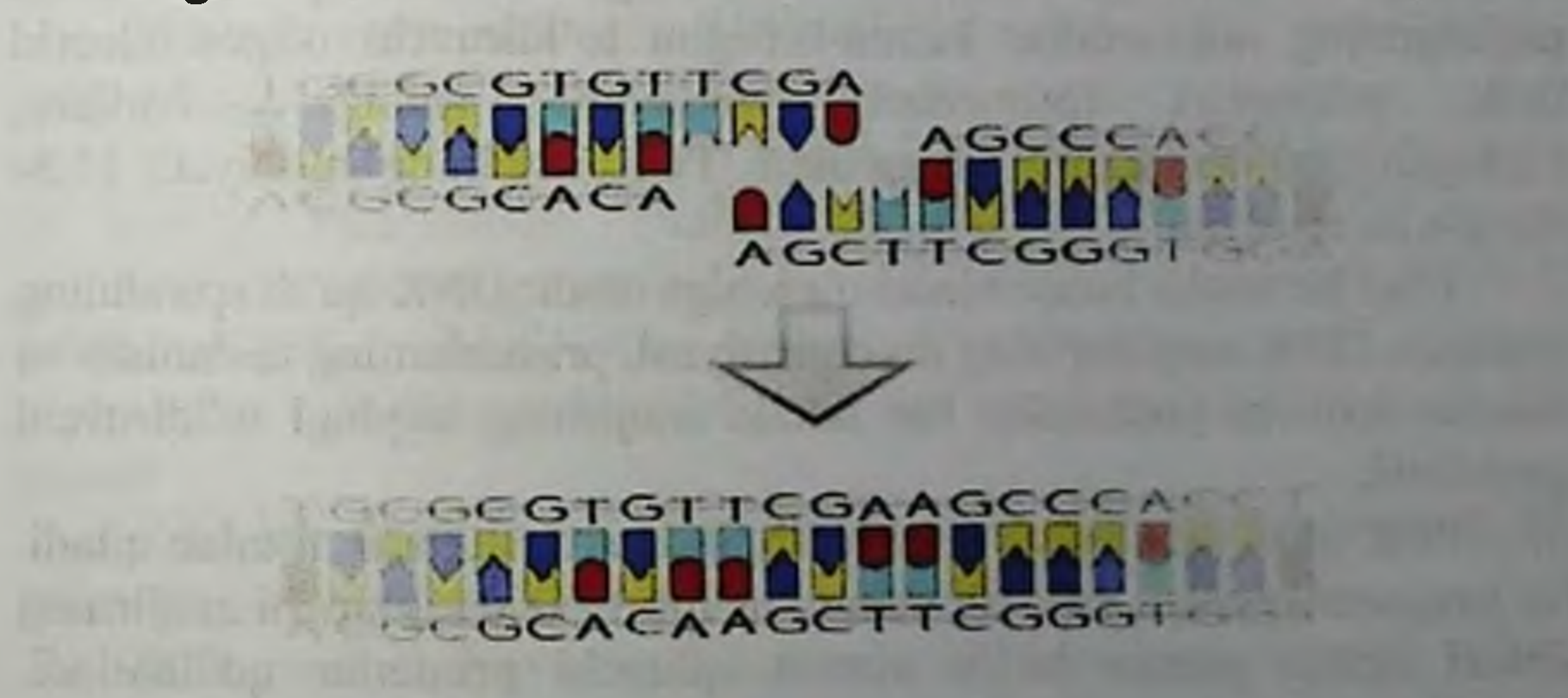
Qushlarning mieloblastozi virusi teskari transkriptazasi polimerizatsiya faolligidan tashqari 5'->3'- va 3'->5'- ekzoribonukleaza faolligiga ega va protsessiv mexanizm yordamida DNK-RNK duragaylarida RNKni parchalaydi.

DNK va RNK ligazalari

DNK ligazalari yordamida bir zanjirli ikki zanjirli DNK uzilishlarida fosfodiester bog'lanishlarining yaratilishi cheklash bilan bir qatorda in vitroda rekombinant DNK ishlab chiqarishning eng muhim bosqichlaridan biridir.

Genetik muhandislik tadqiqotlarida T4 bakteriofagining DNK ligazasi keng qo'llaniladi.

Bog'lanish reaksiyasi ikki bosqichda sodir bo'ladi (11.4-rasm).



11.4-rasm - T4-DNK ligaza bilan DNKni bog'lash mexanizmi. 1 - E-AMP oraliq ferment kompleksini hosil qilish; 2 - fosfodiester bog'lanish hosil bo'lishi.

Birinchidan, oraliq ferment-AMF kompleksi hosil bo'ladi (1-bosqich), shundan so'ng AMF qoldig'i DNKning uzilish nuqtasida terminal nukleotidning 5'-fosfat guruhiga o'tkaziladi (2-bosqich). Hosil bo'lgan fosfodiefir bog'i qo'shni nukleotidning 3'-OH guruhiga nukleofil hujum paytida gidrolizlanadi, bu esa DNKning shakar-fosfat magistralining yaxlitligini tiklaydigan yangi fosfodiefir bog'lanishiga olib keladi. T4 DNK ligaza qo'shimcha "yopishqoq" yoki "to'mtoq" uchlari bilan ikki zanjirli DNK bo'laklarini birlashtiradi. Bog'lanish sodir

bo'lishining zaruriy sharti DNK zanjirlarining uzilishi nuqtalarida 5'-terminal fosfat va 3'-terminal gidroksilning mavjudligidir. Shu bilan birga, DNK bo'laklarini T4DNK ligaza bilan to'rtinchi uchlarida birlashtirish samaradorligi T4 RNK ligaza ishtirokida oshadi, bu esa bir zanjirli DNK yoki RNKning 5'-fosforlangan uchlarini 3'-OH guruhlarini bilan kovalent ravishda birlashtiradi.

Polinukleotid kinazalar

Polinukleotid kinazalar ATFning gamma-fosfat guruhlarini DNK yoki RNKning 5'-OH guruhlariga o'tkazadi.

Bakteriofag T4 polinukleotid kinazasi radioyorliqli zondlar yoki nuklein kislotalarni sekvenirlash uchun DNK yoki RNKga radioyorliq kiritish uchun ishlatiladi.

11.4 Polimeraza zanjiri reaksiyasi

Polimeraza zanjiri reaksiyasi PCR- bu DNK matritsasidagi termostabil DNK polimeraza yordamida in vitroda amalga oshiriladigan fermentativ reaksiya bo'lib, DNKdagi qarama-qarshi DNK zanjirlarining nukleotidlar ketma-ketligini to'ldiruvchi oligonukleotid DNK primerlari (primerlari) yordamida amalga oshiriladi. kuchaytirilgan hududning chegaralari. PCR usulining mohiyati 11.5-rasmda ko'rsatilgan.

Usul bir necha bosqichlarni o'z ichiga oladi: DNK qo'sh spiralining ochilishi, DNK zanjirlarining divergensiyasi, primerlarning tavlanishi va maxsus ferment yordamida har ikkala zanjirning keyingi to'ldiruvchi qo'shilishi.

PCR usuli juda sezgir usul bolib, juda ehtiyotkorlikni talab qiladi. Bu jarayonni amalga oshirish uchun bir ipli DNKda ikkinchi zanjirning sintezi uchun primer bo'lib xizmat qiluvchi primerlar qo'llaniladi. Primerlar - bu DNK zanjirlarining replikatsiya qilingan (amplifikatsiyalangan) bo'limlari uchlarini to'ldiruvchi sun'iy ravishda sintez qilingan qisqa nukleotidlar ketma-ketligi (15-30 nukleotid). Kerakli primerlarga ega bo'lish uchun DNK bo'limining ko'payishi kerak bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligini bilish kerakligi aniq. Reaksiya jarayonida harorat ketma-ket o'zgaradi: 90-95 ° C haroratda DNK zanjirlari ajratiladi, 40-65 ° S haroratda primer qo'shiladi (tavlanish), 72 ° C haroratda. C, DNK zanjirlari sintezlanadi.

Birinchi bosqichda ikki zanjirli DNK 90°C gacha qizdirilib, iplarni ajratib, bir ipli DNK olinadi. Keyin aralashmani astarlar bilan gibridizatsiya qilish uchun sovutiladi. Komplementar DNK zanjirlari

primerlardan boshlab har ikki yo'nalishda sintezlanadi. Bu tsiklik jarayon (1-sikl) bir xil reaksiya aralashmasi (2, 3 va boshqalar) bilan 20-30 marta takrorlanadi.

PCR DNKni klonlash va sekvensiyalash, genlarni xaritalash, genetik muhandislik va tibbiy PCR diagnostikasi uchun ishlatiladi. 1985 yilda K. Mullis tomonidan taklif qilingan (1993 yil Nobel mukofoti).

Uzunligi ikki primer orasidagi masofaga teng bo'lgan ikki zanjirli DNK fragmentlari uchinchi sikldan keyin to'plana boshlaydi. Ularning soni har bir sikldan keyin ikki baravar ko'payadi, deyarli barcha sintez qilingan qismlar primerlar bilan chegaralangan asl fragmentga to'g'ri keladi. Isitish va sovutish davrlari dasturlashtiriladigan harorat rejimiga ega bo'lgan termal sikl qurilmasida amalga oshiriladi. Bunday bir qancha davrlardan so'ng, odatda 20-30 yoki undan ko'p, primerlar orasida joylashgan asl ketma-ketlikning yuz minglab nusxalari hosil bo'ladi. Usul shu qadar sezgirki, uni, masalan, bitta odam spermasidan DNKning bir bo'lagini kuchaytirish va tahlil qilish uchun ishlatish mumkin.

Minimal qayta ishlangan dastlabki biologik material, hatto qisman yo'q qilingan bo'lsa ham, PCR uchun imkoni bor, bu butun qonni, quritilgan qon dog'larini, og'iz bo'shlig'ini, eski to'qimalarning qismlarini va boshqa namunalarni tekshirishga imkon beradi. PCR uchun boshlang'ich material genomik DNK yoki mRNK hisoblanadi. Ikkinchi holda, kDNK mRNK dan teskari transkripsiya orqali olinadi, keyinchalik u PCRda qo'llaniladi - teskari transkripsiya PCR usuli deb ataladi.

Reaksiya issiqlikka chidamli DNK polimerazadan foydalanadi, bu butun protsedura davomida faolligini yo'qotmaydi.

PCR usuli kuchaytirilgan ketma-ketlikni keyingi o'rganish uchun asos bo'lib xizmat qiladi:

- restriksion fermentlar yordamida parchalanish;
- allelga xos oligonukleotid probalari bilan gibridlanish;
- nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash;
- oqsil molekulasini qisqartiruvchi mutatsiyalarni izlash uchun in vitro ekspressiv tadqiqotlar.

Usulning turli xil modifikatsiyalari quyidagilar uchun qo'llaniladi:

- nisbatni o'zgartirish orqali bir zanjirli DNK sintezi oligonukleotid primerlari;
- rekombinant DNKni yaratish;
- klonlangan DNK mutagenezini o'rganish;

- turli allellar ekspressiyasini solishtirish;
- kam uchraydigan nukleotidlar ketma-ketligini yoki infeksiya qozgatuvchilarining DNKsini aniqlash.

PCR atigi bir kunda bajarilishi mumkin, avtomatlashtirish oson, reaksiya nisbatan arzon va o'ta o'ziga xosdir.

PCR printsipi bir zanjirli DNK yoki RNKni etiketli oligonukleotid zondlari (primerlar) bilan gibridlanishning o'zgaruvchan sikllari, termostabil DNK polimeraza yordamida qo'shimcha nukleotidlar ketma-ketligini sintez qilish va hosil bo'lgan ikki zanjirli tuzilmalarni qizdirish orqali denaturatsiya qilishdir. 20-30 sikldan keyin, kerakli nuklein kislota fragmentining nusxalari soni bir necha millionga etadi.

Reaksiya mahsulotini aniqlash uchun odatda xemiluminissensiya ishlatiladi.

Restriksion fragment uzunligi tahlili

Restriktazalar DNKni ma'lum joylarda, odatda palindromik ketma-ketlikda parchalaydi. Bunday ketma-ketlikdagi asoslardan biri mutatsiya natijasida o'zgarganda, bu maydon endi restriksion fermentlar tomonidan parchalanmaydi. Shu bilan birga, mutatsiyalar restriktazalariga sezgir bo'lgan yangi joylarning shakllanishiga olib kelishi mumkin. Natijada, genetik jihatdan bir xil bo'lmagan ikkita shaxsdan olingan DNKning mos keladigan qismlari ko'pincha turli uzunlikdagi restriksion fragmentlarini hosil qiladi. Ushbu hodisa restriksiya fragment uzunligi polimorfizmi (RFLP) deb ataladi.

Avvalo, tekshirilayotgan ketma-ketligini o'z ichiga olgan DNK fragmenti PCR yordamida amplifisirlanadi (11.5.A-rasm). Keyin amplifisirlanga fragment mos restriktaza bilan gidrolizlanadi. Fragmentlar jel elektroforezi bilan ajratiladi va kerali fragment mahsus gen zondi yordamida ajratiladi. Usul sud tibbiyotida qo'llaniladi. Jinoyat joyida topilgan to'qimalardan ajratilgan DNK namunasining restriksion xaritasi 1-gumonlanuvchidan emas, 2-gumonlanuvchidan olingan namunaga aniq mos keladi. Bunday "genetik barmoq izini" olish uchun juda oz miqdordagi DNK o'z ichiga olgan material yetarli. muhim amaliy dastur RFLP tahlili irsiy kasalliklarga olib keladigan genetik mutatsiyalarni aniqlash uchun ishlatiladi.

Oqsillarning super ekspressiyasi

Kasalliklarni davolash uchun oqsillarni talab qiladi, masalan, oqsil gormonlari, hayvonlarda oz miqdorda mavjud va shuning uchun ularni olish qiyin. Hozirgi vaqtda bunday oqsillar bakterial yoki eukariot hujayralarda haddan tashqari ko'p miqdorda ishlab chiqarilishi mumkin.

Buning uchun odam DNKsidan tegishli genni ajratib olish va uni plazmidning bir qismi sifatida klonlash kerak. Bundan tashqari, gen plazmidida xojayin hujayrasidagi plazmid DNKning replikasiyasi va transkripsiyasini ta'minlaydigan DNK ketma-ketligi bo'lishi kerak. Plazmid bilan mos hujayralar o'zgarib, replikasiya sodir bo'lgach, genning transkripsiyasi induksiya bilan boshlanadi. Hosil bo'lgan mRNKning xojayin hujayrasidagi translatsiyasi kerakli oqsilni etarli miqdorda ishlab chiqarish imkonini beradi (11.5.B-rasm).

11.5 DNKni klonlash

70-yillardan boshlab molekulyar genetikaning rivojlanishi. asosan DNKni tahlil qilish va manipulyatsiya qilish usullarini ishlab chiqish va takomillashtirishga asoslangan. "Gen injenerlik" deb atalmish ko'plab sohalarda amaliy qo'llanmalarga ega. Masalan, kasalliklarga tashxis qo'yish va davolashning yangi usullari ishlab chiqildi va tananing ayrim xususiyatlarida maqsadli o'zgarishlarni amalga oshirish imkoniyati paydo bo'ldi. Biologik xavfni to'liq bartaraf etish mumkin emasligi sababli, gen injenerlik texnikasini qo'llashda ehtiyotkor yondashuv talab etiladi. Bu va undan keyingi boblarda gen injeneriyasida qo'llaniladigan usullar haqida qisqacha ma'lumot berilgan. Odatda hujayradagi DNK ning istalgan segmenti, masalan, bitta genning tarkibi juda kichik bo'ladi. Shuning uchun DNK fragmentlari bilan tajriba o'tkazish uchun ularni ko'p marta nusxalash (klonlash) kerak. DNKni klonlashning klassik usuli bakterial hujayralarning plazmidlar deb nomlanuvchi qisqa, yumaloq DNK molekulalarini olish va ko'paytirish qobiliyatidan foydalanadi (11.6.A-rasm).



11.6-rasm - DNKni klonlash.

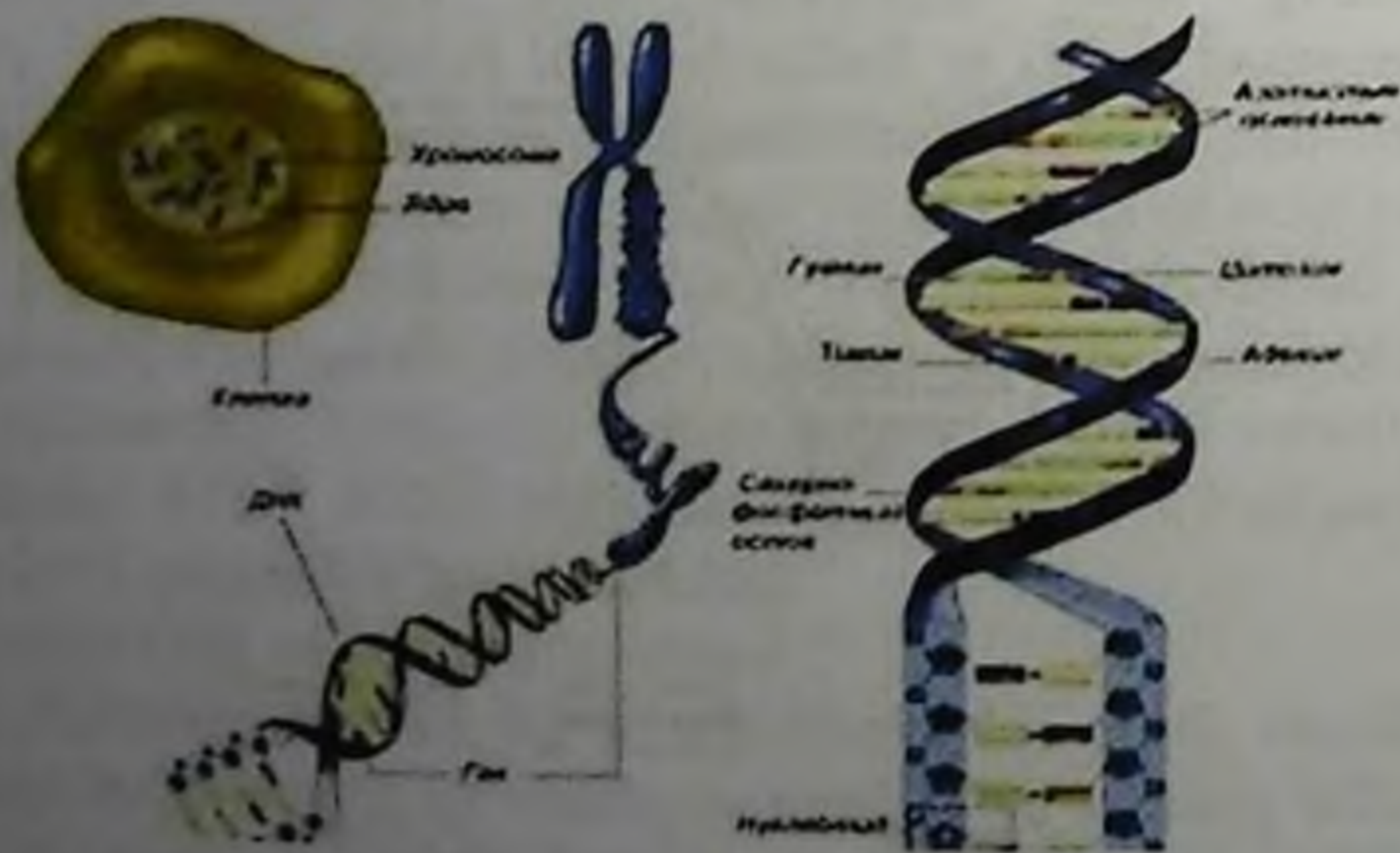
Birinchidan, klonlanadigan DNK fragmenti asl DNKdan restriktaza ferment yordamida kesiladi. Usulni ko'rsatish uchun diagrammada EcoRI bilan bo'linish ko'rsatilgan (11.6.A-rasm).

Amalda, odatda, ikki xil ferment ishlatiladi. EcoRI tomonidan tan olingan yagona hududga ega plazmid tashuvchi ("vektor") bo'lib xizmat qiladi. Yumaloq plazmid EcoRI bilan chiziqli qilib olinadi, so'ngra tekshirilayotgan DNK fragmenti bilan aralashtiriladi. Fragment va vektorning yopishqoq uchlari bir xil bo'lganligi sababli, ba'zi molekulalar gibridlanadi, shunda klonlangan fragment vektor tuzilishiga integratsiyalanadi. Chiziqli molekulaning uchlari DNK ligaza yordamida kovalent bog'lanib, yangi ("rekombinant") plazmid hosil qiladi. Ko'p sonli hujayralar ishlov berilganda, ularning ba'zilari rekombinant plazmidni (transformatsiya deb ataladi) oladi. Hujayralar o'z genomi bilan birga plazmidni ko'paytiradi. Plazmidlar odatda ma'lum bir antibiotikga qarshilig beruvchi sifatida ishlatiladi. Hujayralar populyatsiyasi antibiotik ishtirokida inkubatsiya qilinganida, faqat plazmidni o'z ichiga olgan klonlar hosil bo'ladi.

Olingan klondan plazmid ajratib olinadi va EcoRI restriktaza fermenti bilan parshalangandan so'ng klonlangan DNK fragmentining ko'p nusxalari olinadi (11.6.B-rasm).

11.6 Genlar kutubxonalari

Gen injenerligida ko'pincha, masalan, DNKning (DNA) to'liq nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash uchun hali belgilanmagan yagona fragmentni ajratib olish kerak bo'ladi. Bu muammo kDNK kutubxonalarini yaratish orqali hal qilinadi (11.7.A-rasm).



Rasm 11.7 - Gen kutubxonasi va DNK ketma-ketligi.

DNK kutubxonasi yot DNKning turli qismlarini o'z ichiga olgan ko'p sonli vektor DNK molekulalaridan iborat. Masalan, hujayraning barcha RNK molekulalarini DNK bo'laklari - kDNK shaklida olish va bu nusxalarni vektor molekulalariga tasodifiy kiritish mumkin. Hujayra DNKsini restriktaza fermentlar bilan kichik bo'laklarga parchalash va keyin bu fragmentlarni vektor DNKga kiritish orqali gen kutubxonasini olish mumkin. Bakteriofaglar DNK kutubxonalarini ishlab chiqarish uchun vektor sifatida ishlatiladi. Faglar bakteriyalarni zararlagan viruslar bo'lib, ularning genomi bakterial genom bilan birga ko'payadi. Gen kutubxonalarini qulay, chunki ular ma'lum bir vaqtda kerakli bo'laklarni izlash oson.

Ish kutubxonani tashkil etuvchi DNKning kichik bir qismini (105-106 faglar) bakterial hujayralar bilan aralashtirilishi va ozuqa muhitiga joylashtirilishi bilan boshlanadi. Bakteriyalar ma'lum vaqt davomida o'sib boradi, ozuqa muhitida zich, rangsiz hujayralar qatlamini hosil qiladi. Bunday holda, fag bilan kasallangan bakteriyalar infeksiyalanmagan hujayralarga qaraganda sekinroq o'sadi. Bu shaffof halqa zonalari, "donacha" shakllanishiga olib keladi. "Donachalar" dagi hujayralar asl kutubxonadagi faglarning avlodlarini o'z ichiga oladi. Olingan koloniyalar nitroselülozali yoki neylon filtrlarga o'tkaziladi, ularni Petri idishi qatlam yuzasiga qo'yiladi va biroz isitiladi. Agar filtr endi maqsadli fragmentning nukleotidlar ketma-ketligiga mos keladigan nishonlangan oligonükleotid zond bilan inkubatsiya qilinsa, zond gomologik DNK ketma-ketligi bilan gibridlanadi. Zondni bog'lash joyi radioaktiv yoki boshqa yorliq bilan aniqlanishi mumkin. Shundan so'ng, fag musbat (yorliqli) plitalardan ajratiladi va odatdagi tarzda ko'paytiriladi. Kerakli fragmentning katta miqdori DNKni restriktazalar bilan parchalanish yo'li bilan olinadi (11.7.A-rasm).

11.7 DNKni sekvenirlash

Sekvenirlash (ing. sequence - ketma-ketlik, tartib) - 1) polipeptiddagi aminokislotalar qoldiqlari ketma-ketligini yoki nuklein kislotadagi nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash tartibi.

DNK ning ikkita asosiy varianti mavjud: birinchisi 1976 yilda A. Makcam va V. Gilbert (kimyoviy) va ikkinchisi 1977 yilda F. Senger (fermentativ) tomonidan ishlab chiqilgan (1980 yil uchun Nobel mukofoti); 2) Tibbiy - odam tanasining ayrim patologik xususiyatlariga (masalan, semizlik) nozik ta'sir ko'rsatadigan noyob genetik variantlarni aniqlash.

Maksam-Gilbert usuli

DNK sekvensiyasining eng keng tarqalgan usullaridan biridir. Tahlil qilingan DNK fragmenti bir uchida (3' yoki 5') ^{32}P bilan belgilanadi va to'rt qismga bo'linadi, ularning har birida ma'lum kimyoviy ta'sir yordamida polinukleotid zanjiri ma'lum nukleotidlarda (C; C + T; G; G+A); keyin hosil bo'lgan bo'laklar poliakrilamid gelida elektroforez yordamida ajratiladi, bu oxir-oqibatda avtoradiogramma yordamida tahlil qilinadi va DNK fragmentlarining nukleotidlar ketma-ketligini ochish imkonini beradi. Usul 1977 yilda A. Maksam va V. Gilbert tomonidan taklif qilingan (1980 yil Nobel mukofoti F. Sanger va P. Berg).

F. Sanger usuli (fermentativ) yoki zanjirni tugatish usuli.

DNKning nukleotidlar ketma-ketligini aniqlashning zamonaviy usuli zanjirni tugatish usuli hisoblanadi. Avvalo, DNK fragmenti M13 fagiga klonlanadi, undan bir zanjirli DNK oson ajratiladi (11.7.B.1.a-rasm). U bir ipli DNKning 3' uchi bilan bog'langan primer deb ataladigan qisqa DNK bilan gibridlanadi (11.7.B.1.b-rasm). Keyin hosil bo'lgan matritsaga to'rtta deoksiribonukleozid trifosfat dNTF qo'shiladi: dATF, dGTF, dTTF va dCTF. Bundan tashqari

reaksiya aralashmasiga to'rtta dideoksiribonukleozid trifosfatlardan biri [ddNTFs] bo'lgan deoksiribonukleozid trifosfatlar qo'shiladi (sxema, 11.7.B.1-rasmga qarang). Keyin DNK polimeraza yordamida ikkinchi (komplementar) DNK zanjiri sintezlanadi. Sintezni to'xtatish (zanjirni tugatish) o'sayotgan DNK zanjiriga dNTF o'rniga mos keladigan ddNTF kiritilganda sodir bo'ladi. Diagramma misol sifatida ddGTF dan foydalangan holda usul printsipini ko'rsatadi. Bunday holda, primer plyus 3, 6, 8, 13 yoki 14 boshqa nukleotidlarni o'z ichiga olgan fragmentlar hosil bo'ladi. Nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash uchun to'rtta ddNTFning har biri ishtirokida 4 ta alohida reaksiya o'tkazish kerak (11.7.B.1.c-rasm). Keyin to'rtta namuna gel plastinkasining qo'shni quduqlariga kiritiladi va gel elektroforezi amalga oshiriladi (1-rasm). Har bir komponentning yo'l uzunligi kontaktlarning zanglashiga olib keladigan uzunligiga teskari proporsionaldir.

DNK bo'laklari tasvirlangandan so'ng nukleotidlar ketma-ketligini to'g'ridan-to'g'ri gelda pastdan boshlab, fragmentlarning alohida "izlarda" joylashish tartibiga muvofiq o'qilishi mumkin. Optimal sharoitda zanjirni tugatish usulidan foydalanib, bir tajribada yuzlab nukleotidlarni o'z ichiga olgan fragmentning tuzilishini aniqlash mumkin.

11.8 Vektorlar: umumiy ma'lumot

Vektorlar nuklein kislota fragmentlarini olib yuruvchi molekulalardir.

Vektor molekulasi bir nechta talab qilinadigan xususiyatlarga ega bo'lishi kerak. Birinchidan, xojayin hujayra populyatsiyasida har qanday vektor uzoq vaqt davomida mavjud bo'lishi kerak, ya'ni. mustaqil ravishda yoki hujayra xromosomalari bilan birgalikda replikatsiya qiladi. Ikkinchidan, har qanday vektorda uning hujayralardagi mavjudligini aniqlashga imkon beradigan biokimyoviy yoki genetik belgilar bo'lishi kerak. Uchinchidan, vektor molekulasining tuzilishi uning funksional yaxlitligini buzmasdan unga begona nukleotidlar ketma-ketligini kiritish imkonini berishi kerak. Gen injenerligida vektorlarni yaratish uchun bakterial va eukariyot hujayralarda avtonom ko'payish qobiliyatiga ega bo'lgan nuklein kislotalarning kichik molekulalari - plazmidlar, virus xromosomalari, shuningdek eukariyot hujayralar xromosomalari fragmentlari qo'llaniladi.

11.9 Gen klonotekalari

Har qanday individual gen tirik organizm genomining faqat kichik qismini egallaydi. Shu bilan birga, hatto eng oddiy tashkil etilgan bakteriyalarning genom hajmi o'rtacha 2106 p.o ni tashkil qiladi va gaploid odam genomini tashkil etuvchi DNK molekulalarining umumiy hajmi kamida uch marta kattaroqdir. Bundan kelib chiqadiki, gaploid genomda faqat bitta nusxada ifodalangan noyob genlar boshqa genom ketma-ketliklari orasida yo'qoladi va individual rekombinant DNK bilan ishlash keraksiz genetik materialni tozalashni talab qiladi.

Gen injeneriyasidagi bu muammo DNK nukleotidlari ketma-ketliklarining reprezentativ klonotekalarini yaratish orqali hal qilinadi.

Gen klonotekasi vektor molekulalarining bir qismi sifatida klonlangan turli xil DNK nukleotidlar ketma-ketligi to'plami bo'lib, ular birgalikda o'rganilayotgan organizmning butun genomini yoki uning ma'lum bir qismini tashkil qiladi. Bunday holda, vakil klonotekasi yuqori ehtimollik bilan o'rganilayotgan genomning har qanday nukleotidlar ketma-ketligini o'z ichiga olishi kerak. Eukaryotik genlarning ko'pchiligi odam-ekson tuzilishi bilan ajralib turadi va bunday genlarning birlamchi transkriptlarida mavjud bo'lgan intronlar etuk mRNK molekulalarini hosil qilish uchun birlashgan paytida kesiladi. Prokaryotik hujayralardagi eukaryotik genlarning ekspressiyasini olish, shuningdek, to'qimalarga xos genlar ifodasini

o'rganish uchun intronlarsiz eukaryotik genlarning kodlash ketma-ketligini olish zarurati tug'iladi. Bunday holda, muammo yuqori ehtimollik bilan to'qimalarda, yoki alohida somatik hujayralarda sintezlangan mRNKning nukleotid ketma-ketligini ifodalovchi vakil kDNK klonotekasini yaratish orqali hal qilinadi.

11.10 Odam genomini xaritalash: Kirish

Gen xaritalaridan farqli o'laroq, genomning fizik xaritalari asosiy juftliklarda ifodalangan markerlar orasidagi haqiqiy masofani aks ettiradi. Fizik xaritalar o'zlarining aniqlik darajasida ya'ni. ularda keltirilgan genom tuzilishi tafsilotlariga ko'ra farqlanadi. (11.8-rasm).



11.8-rasm Genetik xaritalarning turlari va ularning aloqalari.

Maksimal aniqlikdagi odam genomining keng qamrovli fizik xaritasi uning barcha xromosomalarining to'liq nukleotidlar ketma-ketligini o'z ichiga oladi. Minimal aniqlikka ega fizik xaritalarning boshqa chegarasida genomning xromosoma (sitogenetik) xaritalari mavjud.

90-yillarda odam genomi loyihasining asosiy maqsadi genomning batafsil fizik xaritasini yaratish edi. Amaliy nuqtai nazardan, bu ma'lum bir chastota bilan butun odam genomini qamrab oladigan yaxshi tavsiflangan markerlar to'plamiga ega bo'lish zarurligini anglatardi. Genlarning o'zi yoki qandaydir tarzda tavsiflangan DNK bo'laklari marker sifatida ishlatilishi mumkin. Bunday markerlar sifatida restriksiya saytlari, klonlangan DNK ketma-ketligi va ma'lum genlardan foydalanish mumkin.

Asosan, ikkita tubdan farq qiladigan xaritalar mumkin - ~~mod~~ tartibi taqsimlash xaritalari va "kontig xaritalar", ya'ni. nisbiy

pozitsiyalari ma'lum bo'lgan genomning ma'lum bir hududini qamrab oluvchi klonlangan ketma-ketliklar to'plami.

Umuman olganda, genomning ma'lum bir mintaqasini boshqa har qanday mintaqadan ajratib turadigan har qanday xarakterli xususiyat marker sifatida ishlatilishi mumkin. Bu restriksiya saytlari, transkripsiyalangan yoki takrorlangan ketma-ketliklar, tartibga soluvchi elementlar va boshqalar mavjudligi bo'lishi mumkin. Oxir oqibat, DNKning ma'lum bir qismining ketma-ketligi o'zi markerdir. Shu ma'noda, genomning to'liq birlamchi tuzilishi ushbu turdagi jismoniy xaritaning cheklovchi holatidir.

Odam genomining yuqori aniqlikdagi xaritalarini tuzishda yuqoridan pastga xaritalash va pastdan yuqoriga xaritalash deb ataladigan ikkita muqobil yondashuv eksperimental ravishda amalga oshiriladi. Yuqoridan pastgacha xaritalashda tahlilning boshlang'ich nuqtasi individual odam xromosomasining DNK namunasi.

DNK katta kesimli restriksion fermentlar (masalan, NotI) tomonidan uzun bo'laklarga bo'linadi, ular impulsli elektr maydonida elektroforez bilan ajratilgandan so'ng, boshqa cheklovchi fermentlar bilan keyingi cheklash tahliliga duchor bo'ladi. Natijada, o'rganilayotgan xromosoma yoki uning qismlarining barcha ketma-ketliklarini to'liq aks ettiruvchi makrocheklash xaritasi olinadi, ammo uning imkoniyati past. Bunday xaritada alohida genlarni lokalizatsiya qilish juda qiyin. Bundan tashqari, har bir alohida xarita kamdan-kam hollarda kengaytirilgan DNK segmentlarini qamrab oladi (odatda 1-10 Mb dan oshmaydi).

Odam genomini pastdan yuqoriga qarab xaritalashda, genomning umumiy DNKsi yoki individual xromosoma, kengaytirilgan DNK ketma-ketliklarining tasodifiy klonlari seriyasi (10-1000 kb), ba'zilari bir-biri bilan ustma-ust tushadiganlar olinadi. Bunday holda, bakteriyadan (BAC) yoki achitqilardan (YAC) sun'iy minixromosomalar ko'pincha klonlash uchun vektor sifatida ishlatiladi. Qisman bir-birini to'ldiruvchi va to'ldiruvchi klonlar qatori kontig deb ataladigan DNK nukleotidlarining uzluksiz qo'shni ketma-ketligini hosil qiladi. Olingan kontiglarning to'g'riligi ularning o'rganilayotgan xromosomalarning ma'lum hududlariga bir vaqtning o'zida bog'lanishi bilan in situ gibridizatsiya (FISH) bilan tasdiqlanadi. Contig asosidagi xaritalar alohida xromosoma segmentlarining tuzilishi haqida to'liq ma'lumot beradi va individual genlarni lokalizatsiya qilish imkonini beradi. Biroq, mavjud gen klonotekasida tegishli klonlar yo'qligi sababli bunday

xaritalarni butun xromosomalarni yoki ularning kengaytirilgan bo'limlarini qayta tiklash uchun ishlatish qiyin.

Yuqori aniqlikdagi fizik xaritalarni yaratishda ikkala yondashuvni qo'llashda hal qilinishi kerak bo'lgan asosiy muammo bu tarqoq DNK parchalarini uzluksiz nukleotidlar ketma-ketligiga birlashtirishdir. Buning uchun ko'pincha bog'lovchi klonlar deb ataladigan maxsus klonlangan DNK parchalari qo'llaniladi. Bog'lovchi klonlarning DNK bo'laklari o'zlarining ichki qismlarida katta kesimli cheklovchi fermentlarning nukleotid ketma-ketligini o'z ichiga oladi va shuning uchun fizik xaritalashning birinchi bosqichlarida ishlatiladigan DNK fragmentlari uchun joylashish joylarini ifodalaydi. Birlashtiruvchi klonlarning DNK qismlarini zondlar sifatida ishlatadigan janubiy gibridizatsiya katta kesimli restriksiyon fermentlarining cheklash joylari yaqinida nukleotidlar ketma-ketligini o'z ichiga olgan jismoniy xaritalarning DNK qismlarini aniqlaydi. Agar ikkita shunday bo'lak topilsa, unda mos keladigan bog'lovchi klon bir-biriga yopishadi va bu ikkala fragmentning bir qismidir. Bog'lovchi klonlar, o'z navbatida, gen klonotekalaridan zondlar yordamida tanlanadi, ular katta kesimli cheklash fermentlarining cheklash joylarining nukleotidlar ketma-ketligidir.

Ikkala usulning ham afzalliklari va kamchiliklari bor - yuqoridan pastga yondashuv genomning katta hududlarini xaritalashni nisbatan oson va tez qiladi, ammo natijada olingan xarita past aniqlikda. Bundan tashqari, xaritalarni tuzish uchun o'rganilayotgan genomik hududni qamrab oluvchi markerlar to'plami bo'lishi kerak. Yuqoridan pastga xaritalarni yaratishda boshqa muammolar, masalan, restriksiya saytlarini tasodifiy taqsimlanmaganligi, metilatsiya va boshqalar. Klonlangan DNKning yo'qligi o'rganilayotgan genomik hududni batafsil tahlil qilishni qiyinlashtiradi.

Pastdan yuqoriga yondashuv juda batafsil xaritalarni ishlab chiqaradi va oraliq mahsulot sifatida keyingi tadqiqotlar uchun ajoyib asos bo'lgan buyurtma qilingan klon kutubxonalarini yaratadi. Ushbu yondashuv markerlarni oldindan tanlashni talab qilmaydi, lekin ularni o'zi ishlab chiqarishga qodir. Uning kamchiliklari genomning turli hududlarini klonlash qobiliyatidagi farqlar tufayli ham, o'rganilayotgan hududni to'liq qamrab olishda statistik muammolar tufayli ham to'liq xaritalarni tuzishning fundamental qiyinchiliklarini o'z ichiga oladi. Shu sabablarga ko'ra, masalan, o'rtacha kattalikdagi odam xromosomalari kontigmasining xaritasi 200 dan 1000 gacha oraliqlarni o'z ichiga

olishini kutish mumkin. Kontig xaritaning yana bir asosiy kamchiligi klonlarning katta to'plamini saqlash zaruratidir. Shu bilan birga, turli klonotekalarni o'rganish natijasida olingan ma'lumotlarni birlashtirish juda qiyin.

Shu sabablarga ko'ra hozirda ikkala yondashuv birlashtirilmoqda. Gibrid xaritalarda kontiglarning nisbiy o'rmini aniqlash uchun cheklov xaritalash ma'lumotlari va klonlanmagan DNKni bevosita tahlil qilishning boshqa usullari (sitogenetik tahlil, somatik hujayra duragaylarini tahlil qilish va boshqalar) qo'llaniladi.

Shubhasiz, ikkala turdagi kartalar bir-biri bilan birlashtirilgan bo'lishi kerak, bu o'z-o'zidan juda qiyin ish. Biroq, PCR texnologiyasining rivojlanishi bilan bu muammoni hal qilish imkoniyati mavjud edi.

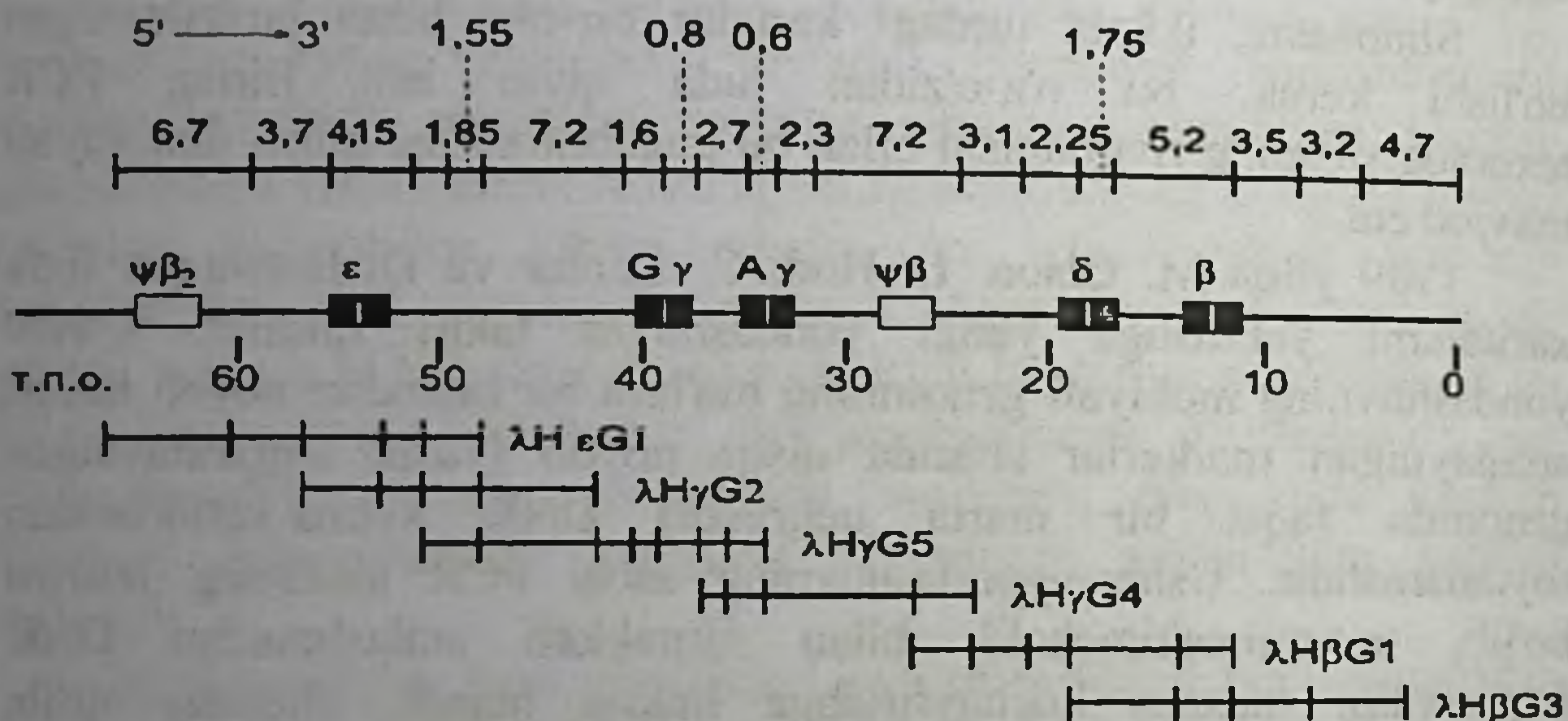
1989 yilda M. Olson, L. Hud, C. Kantor va D. Botshteyn fizik xaritalarni yaratishga yangi yondashuvni taklif qildilar. Ushbu yondashuvning mohiyati genomning ma'lum bir hududini noyob tarzda aniqlaydigan markerlar sifatida qisqa noyob (ya'ni, o'rganilayotgan genomda faqat bir marta uchraydi) DNK ketma-ketliklaridan foydalanishdir. Ushbu yondashuvning asosi PCR usulining ixtirosi bo'lib, u o'zboshimchalik bilan murakkab aralashmadan DNK fragmentini maxsus kuchaytirishga imkon beradi. Shunday qilib, "gibrid" deb ataladigan xaritalarni yaratish mumkin bo'ladi, ya'ni. ikkala turdagi jismoniy kartalarning afzalliklarini birlashtirgan va ularning kamchiliklari yo'q kartalar.

11.11 Fizik xaritalash: xromosomalar boylab yurishi.

Eukariotlar genomdagi ko'plab genlar klasterlarda joylashgan bo'lib, ularning a'zolari funktsional yoki evolyutsion jihatdan bir-biri bilan bog'liq. Shu munosabat bilan molekulyar genetikada allaqachon ajratilgan genlar yaqinida joylashgan genlarni klonlash vazifasi ko'pincha paydo bo'ladi. Ushbu muammoni hal qilish uchun "xromosoma yurishi" usuli ishlab chiqildi. Fag yoki kosmid vektorlardan olingan gen kutubxonasi gen ajratiladi va uning ketma-ketligining qisqa 5'- va 3'-terminal qismlari bu gen bilan bir-biriga mos keladigan DNK parchalarini qidirish uchun zond sifatida ishlatiladi. Proba uchun asosiy talab - bu noyob nukleotidlar ketma-ketligiga tegishli, ya'ni. genomda faqat bir marta uchraydi. Ushbu yondashuv yordamida ko'plab eukariyot gen klasterlari, xususan, tuzilishi 11.10-rasmda ko'rsatilgan odam beta-globin lokusu o'rganildi. "Xromosoma

yurishi" dan foydalanib, 250 kb gacha bo'lgan DNK hududlarini batafsil xaritalash mumkin.

"Xromosoma yurishi" usuli bilan olingan odam beta-globin gen lokusuning genetik xaritasi; odam genomik DNKsining bir-biriga o'xshash qismlari uni EcoRI cheklash fermenti bilan qisman parchalash yo'li bilan olingan, uning restriksiya saytlari ko'ndalang chiziqlar bilan belgilangan. EcoRI reatriksiya saytlari orasidagi masofalar t.p.o, beta-globin lokusuning genlari va rekombinant faglarning nomlari ko'rsatilgan.



11.10-rasm - Odam beta-globin gen lokusuning genetik xaritasi.

Yurish va boglash kutubxonalarini.

"Xromosomada sakrash" usuli sizga bir qadamda umumiy uzunligi 100 dan 500-1000 t.p.o gacha bo'lgan DNK qismlarini birlashtirishga imkon beradi. Birinchi bosqichda yuqori molekulyar DNK preparati mos keladigan restriktaza ferment bilan parchalanadi va impulsli elektr maydonida elektroforez yordamida bir xil o'lchamdagi DNK bo'laklarining bir qismi olinadi (11.11-rasm). Keyin DNK fragmentlari marker geniga, masalan, antibiotiklarga chidamlilik geni bilan bog'lanadi, natijada yumaloq molekulalar hosil bo'ladi. Aylana shaklidagi DNK molekulalari boshqa restriktaza fermenti tomonidan parchalanadi, buning uchun marker genida restriktaza saytlari mavjud emas, bu qisqa DNK fragmentlarining shakllanishi bilan birga keladi, keyinchalik ularni an'anaviy usullar yordamida klonlash mumkin. Olingan DNK fragmentlar kutubxonasi "xromosomal sakrashi" ning boshlang'ich nuqtasini to'ldiruvchi zond bilan gibrizatsiya yordamida tekshiriladi. Gibrizatsiya natijasida tanlangan klonlar bir-biridan 100

t.p.o ga ajratilgan, o'rganilgan nukleotidlar ketma-ketligi bilan yonma-yon joylashgan marker genini o'z ichiga oladi. Shunday qilib, "xromosomal sakrashi" ning boshlang'ich nuqtasidan 100 t.p.o uzoqlikda joylashgan nukleotidlar ketma-ketligi to'g'risida ma'lumot olinadi va bu ketma-ketliklar keyinchalik uning yonma-yon joylashgan DNK qismlarini ajratib olish va o'rganish uchun zond sifatida ishlatiladi (11.11-rasm). Bunday ishning uslubiy asosi 1984 yilda F. Kollinz va S. Vaysman tomonidan bildirilgan g'oya edi. Uning mohiyati shundan iboratki, faqat kengaytirilgan DNK bo'laklarining uchlari klonlanadi va boshqa barcha materiallar olib tashlanadi. Bu genomik DNKning uzun qismlarini aylanaga aylantirish va keyin uni boshqa restriktaza ferment bilan parchalash va mos vektorga klonlash orqali sodir bo'ladi. Shunday qilib, olingan kutubxonada birlashtirilgan genomik DNKning uzun bo'laklarining uchlari bo'lgan fragmentlar mavjud (11.11-rasmga qarang). Biroq, bu usulning keng qo'llanilishiga genomik DNKning kengaytirilgan qismlarini olish va ularni ajratish uchun oddiy va qulay usulning yo'qligi to'sqinlik qildi. Pulseforez usuli va kamdan-kam hazm bo'ladigan cheklovchi fermentlar kashf etilgandan so'ng, vaziyat tubdan o'zgardi. Deyarli bir vaqtning o'zida ikkita kutubxonani olish uchun noyob restriktaza fermentlardan foydalanish taklif qilingan, ulardan biri ("bog'lash") noyob cheklovchi fermentlarning bo'linish joyini o'z ichiga olgan klonlardan iborat, ikkinchisi esa ("sakrash") restriksion bo'laklarining uchlari joylashgan bo'laklardan iborat. genomik DNKning parchalanishi paytida hosil bo'ladi. (11.11-rasm).



11.11-rasm "Xromosomal sakrash" usuli sxemasi

Bog'lanish kutubxonalari xromosomalarni restriksion xaritalarini yaratish uchun keng qo'llaniladi. Ushbu usulning afzalligi shundaki, ikkita restriktaza fragmentlarining yaqinligini isbotlash imkonini beradi, ular nisbatan kam sonli klonlar yordamida xromosomalarning to'liq

restriksion xaritalarini olish imkonini beradi. Masalan, 21-xromosoma uchun NotI-bog'lovchi klonlarning to'liq to'plami 50 ta klondan iborat bo'ladi. Shu bilan birga, bunday kutubxonani yaratish va tahlil qilish qo'shimcha ma'lumot beradi, oddiy restriksiya xaritasini cheklash saytlari xaritasiga aylantiradi.

Genomning bir xil hududidan olingan "bog'lash" va "sakrash" kutubxonalarini tahlil qilish orqali restriksion saytlar tartibini aniq qayta qurish mumkin. Haqiqatan ham, agar "bog'lash" kutubxonasida klonlangan DNK restriksiya saytlariga to'g'ri kelsa va "sakrash" kutubxonasida u restriksiya bo'laklarining qarama-qarshi uchlarida joylashgan yarmidan iborat bo'lsa, u holda ikkala kutubxonadan etarli miqdordagi klonlarni ketma-ketlashtirish orqali u genomik DNKdagi restriksiya saytlarining nisbiy joylashuvi tartibini aniqlash uchun ketma-ketliklarni solishtirish orqali mumkin.

11. 12 Past aniqlikdagi fizik xaritalar

Sitogenetik xromosoma xaritalari

Odam genomining xromosoma xaritalari sitogenetik usullar, jumladan, avtoradiografiya va FISH yordamida individual xromosomalarda genetik belgilarni lokalizatsiya qilish orqali olinadi. Buzilmagan xromosomalarning o'rganilgan genetik lokusu bilan bog'liq radioaktiv yoki lyuminescent belgilar yorug'lik mikroskopiyasi yordamida aniqlanadi. Metafaza xromosomalari, asosan FISH yordamida in situ gibridizatsiya usullari 2-5 Mb ichida polinukleotid belgilarini lokalizatsiya qiladi. Bundan tashqari, irsiy material kamroq ixcham shaklda bo'lgan interfaza xromosomalari bilan in situ gibridizatsiya paytida xromosoma xaritalarining o'lchamlari 100 t.p.o ga yaqinlashadi.

Zamonaviy genetik usullar yordamida xromosoma xaritalarining aniqligi yaxshilanmoqda. Masalan, PCR ning bitta spermatozoidning DNK segmentlarini kuchaytirish qobiliyati alohida sperma namunalarda saqlanib qolgandek ko'p sonli meiozlarni o'rganish imkonini beradi. Natijada, qo'polroq usullardan foydalangan holda xromosoma xaritalarida lokalizatsiya qilingan genetik belgilarning nisbiy holatini tekshirish mumkin bo'ladi.

kDNK (genlar ekspressiyasi) xaritalari

kDNK xaritalari metafaza xromosomalaridagi ma'lum bo'lgan sitogenetik belgilarga (ekzonlarga) nisbatan ifodalangan DNK mintaqalarining (eksonlarning) o'rmini aks ettiradi. Bunday xaritalar

genomning transkripsiyalangan hududlarini, shu jumladan noma'lum funktsiyalarga ega genlarni lokalizatsiya qilish haqida tushuncha berganligi sababli, ular yangi genlarni qidirish uchun ishlatilishi mumkin. Ushbu yondashuv, ayniqsa, zarari odam kasalliklarini keltirib chiqaradigan genlarni qidirishda foydalidir, agar bunday xromosoma mintaqalarining taxminiy lokalizatsiyasi ilgari genetik bog'lanish xaritalarida oilaviy genetik tahlil natijasida amalga oshirilgan bo'lsa mumkin.

Xromosoma xaritasi: mikrodisseksiya usuli

Genomning muayyan hududlarini klonlashning yana bir muhim usuli bu mikrodisseksiya usulidir.

Bu usul 1981 yilda F. Scalenghe va boshqalar tomonidan taklif qilingan. *Drosophila melanogaster* politen xromosomalarining o'ziga xos ketma-ketligini xaritalash usulning mohiyati shundan iboratki, mikroskop ostida metafaza xromosomalaridan organilayotgan qismi kesiladi, so'ngra klonlanadi va shu qism uchun maxsus kutubxona olinadi.

Undan sutemizuvchilar genomining ma'lum bir qismidan namunalarini olish uchun foydalangan ular sichqonlarning t-kompleksining bir qator namunalarini olishga muvaffaq bo'lishdi, uni sichqonchanning X xromosomasining proksimal hududidan namunalar olish uchun ishlatgan

1986 yilda G.P. Bates va boshqalar odam genomini o'rganish uchun mikrodisseksiya usulidan foydalanishga muvaffaq bo'ldi. Shunday qilib, ushbu ish mualliflari gt10 vektorida odam 2-xromosomasining kalta elkasining distal qismining ketma-ketliklari kutubxonasini qo'lga kiritdilar. 257 potentsial rekombinantning 41 foizi odam qo'shimchalarini o'z ichiga olgan, ulardan 10 foizdan kam klonlar juda takrorlanadigan ketma-ketliklarni o'z ichiga olgan. Ushbu kutubxonadagi barcha noyob ketma-ketliklar 2-xromosomaning kalta elkasi bilan taqqoslandi va natijada olingan kutubxonaning o'ziga xosligini tasdiqladi. Shunday qilib, mikrodisseksiya ma'lum xromosoma qismlari uchun xos bo'lgan kutubxonalarini olishning juda tez va samarali usuli ekanligi isbotlangan. Mikrodisseksiya usulining qiziqarli rivojlanishi "preparativ in situ gibridizatsiya" (ISO terminologiyasida Prep-ISH) usuli edi. Ushbu usul, masalan, xromosomaning ma'lum bir hududidan kelib chiqqan genlarning mRNK ga mos keladigan kDNK kutubxonalarini yaratish kabi muammolarni hal qilish uchun ishlatilishi mumkin va ikkita usulning kombinatsiyasi - DNK molekulalarining

metafazaga in situ gibridizatsiyasi. xromosomalar va xromosomalarning mikrodiseksiyasi hisoblanadi.

Mikrodisseksiya usulining kamchiliklari texnik murakkablik va kutubxonani olgandan so'ng, hosil bo'lgan klonlarni xaritalash zarurligini o'z ichiga oladi.

11.13 Restriktiv xaritalar.

O'rganilayotgan genlarni o'z ichiga olgan uzun (40 kb gacha) klonlangan nukleotidlar ketma-ketligini o'rganishda ularning restriktiv xaritalari tuziladi. Restriktiv xaritalari turli restriktaza fermentlari uchun restriktaza saytlari nisbiy pozitsiyalarini va ular orasidagi masofani tasvirlaydigan diagrammalardir. Har bir restriktaza saytlari kDNK nukleotidlarining qat'iy belgilangan ketma-ketligidan boshqa narsa emasligi sababli, restriksiya xaritalari restriktiv xaritalangan genom mintaqalarining birlamchi tuzilishining xususiyatlari haqida ma'lumotni o'z ichiga oladi.

Restriksiya xaritasini tuzish uchun E. Sauzern usuli bo'yicha duragaylash qo'llaniladi. Klonlangan DNK fragmenti alohida yoki vektorning bir qismi sifatida preparativ miqdorda olinadi, so'ngra tegishli restriktaza fermentlar bilan ishlov beriladi va restriksiya mahsulotlari agaroz gelida elektroforez bilan ajratiladi. Ultrabinafsha nurda lyuminesent tasmalar shaklida etidiy bromid bilan bo'yalgandan so'ng aniqlangan, natijada olingan DNK bo'laklarining soni restriksiya saytlari soniga to'g'ri keladi, agar hosil bo'lgan DNK bo'laklarining o'lchamlaridagi farq elektroforez paytida ularni ajratish uchun etarli bo'lsa.

80-yillarning o'rtalariga qadar asosiy restriksion xaritalash usullari ishlab chiqilib, ayrim organizmlarning, asosan, viruslarning to'liq restriksion xaritalari olindi. Ammo nuklein kislotalarni ajratishning mavjud usullari 30-40 kilobazagacha bo'lgan o'lchamdagi fragmentlarni tahlil qilish imkonini berdi. Shunday qilib, hatto E. coli genomi (uzunligi taxminan 6 Mb) kabi nisbatan oddiy genomning restriksion xaritasini olish deyarli imkonsiz vazifa edi.

Sutemizuvchilar genomini tahlil qilish, o'sha paytda ma'lum bo'lgan cheklash fermentlarining juda keng tarqalgan tanib olish joylariga ega ekanligi bilan yanada murakkablashdi. Bu genetik usullar yordamida xaritalangan masofalar shkalasida bo'shliq mavjudligiga olib keldi (klassik genetika usullari o'rganilayotgan joyni qo'shnilariga nisbatan 2-5 sm aniqlik bilan xaritalash imkonini beradi. Sichqon

genomi 1300 sm, odam genomi esa 3300 sm, sichqon 1 sm o'rtacha 2000 kilobazaga, odamlarda esa 1000 kilobazaga to'g'ri keladi) va restriktaza fermentlari (maksimal bir necha yuz kilobaza) yordamida xaritalash mumkin bo'lgan masofadir.

Noyob restriktaza fermentlarning topilishi bilan vaziyat sifat jihatidan o'zgardi.

STS/EST: xaritalash

Xaritalash usullarining ikkita tubdan farqli guruhi mavjud - ular to'g'ridan-to'g'ri genomik DNK tahliliga va klonlangan DNK tahliliga asoslangan. Genomik DNKni tahlil qilish usullari in situ gibridizatsiyaga turli yondashuvlarni va makrorestriksiya xaritalarini tuzish usullarini o'z ichiga oladi. Bunday usullar ancha mehnat talab qiladi va unumdorligi past. Yana bir kamchilik - bu odatiy usullardan foydalanganda (bir necha yuz kilobazalar tartibida) olingan xaritalarning nisbatan past aniqligi. Ularning afzalligi shundaki, eksperimental materialni (ya'ni, xaritalash paytida tahlil qilinadigan material) tayyorlash uchun odatda muhim dastlabki ishlarni talab qilmaydi.

Klonlangan DNKni tahlil qilish orqali fizik xaritalarni tuzish o'rganilayotgan genom hududini klonlash bo'yicha dastlabki ishlarni va bu hududni yetarli darajada qamrab oluvchi bir-biriga yopishgan klonlar xaritasini yaratishni talab qiladi. Ammo bunday ishlarning natijasi eksperimental materialni olishdir, bu sizga o'zboshimchalik bilan batafsil fizik xaritalarni tezda qurish imkonini beradi. Shu bilan birga, standartlashtirish muammosini hal qilish juda osonlashadi - tartiblangan kutubxonalarni yaratish va tarqatishning zamonaviy usullari yuqori mahsuldorlikka ega va natijada ommaviy ishlab chiqarishni tashkil etish va kutubxonalarni tarqatish imkonini beradi.

CG - gen markerlari orolchalari sifatida.

Noyob restriktaza fermentlari kashf etilishining yon ta'siri shundaki, genlarni qidirishning yangi usuli paydo bo'ldi. Gap shundaki, ularning ko'pchiligi sutemizuvchilar genomida juda kam uchraydigan CpG dinukleotidini o'z ichiga oladi. Bundan tashqari, CpG orollari, ya'ni bunday dinukleotidlarning klasterlari ko'pincha ifodalangan genlarning 5' yoki 3' uchlari yaqinida joylashgan.

Binobarin, kamdan-kam uchraydigan cheklovchi fermentlar klasterining mavjudligi genomning ma'lum bir hududida gen mavjudligini ko'rsatishi mumkin.

Alu-takrorlash

Alu elementi - qisqa DNK ketma-ketligi bo'lib, u odam DNKsi Alu restriktaza fermenti bilan qayta ishlanganida topilgan. Alu takrori qisqa interspersed takrorlar (SINE) sinfiga tegishli. Primatlarning genomlarida har xil turdagi alu takrorlari ko'p miqdorda mavjud. Ular odam genomidagi eng keng tarqalgan elementlardan biridir. Alu takrori signalni aniqlash zarrachasining (SRP) tarkibiy qismi bo'lgan 7SL RNKni kodlovchi gendan olingan. Alu takrori birinchi marta primatlarning ajdodlarida paydo bo'lgan.

Alu oilasi - odam genomidagi takrorlanuvchi elementlar oilasi. Zamonaviy Alu elementlari uzunligi taxminan 300 ta asosiy juftni tashkil qiladi va shuning uchun takrorlanuvchi DNK elementlari sinfi orasida qisqa kesilgan yadroviy elementlar (SINE) sifatida tasniflanadi. Odatda struktura 5'Qism A- A5TACA6 qism B - PolyA Tail - 3', bu erda A va B qismlari o'xshash nukleotidlar ketma-ketligidir.



Rasm 11.12 Inson xromosomalarining floresan in situ gibridlanishi

Alu takroriy qo'shimchalar odamning bir nechta irsiy kasalliklari va saratonning ayrim shakllarining sababidir. Alu takrorlarini o'rganish odam populyatsiyalari genetikasi va primatlar, shu jumladan odamlar evolyutsiyasi masalalari nuqtai nazaridan ham muhimdir.

Alu takroriy oilalari

Odam genomida Alu takrorining taxminan 1 million nusxasi mavjud bo'lib, bu butun genomning taxminan 10,7% ni tashkil qiladi.

Alu takrorlarining umumiy sonining atigi 0,5% polimorfikdir. 1988 yilda Alu takrorlari ikkita katta kichik oilaga, AluS va AluJga va bir nechta kichik oilalarga bo'lingan. Keyinchalik faol Alu takrorlarini o'z ichiga olgan AluS subfamiliyasi AluY deb nomlandi. Alu takroriy subfamiliyalarni o'rganish asosiy genlar gipotezasiga olib keldi va transpozonlar (faol elementlar) va dispers takrorlar (faol elementlarning mutatsiyaga uchragan nusxalari) o'rtasidagi aloqani o'rnatish imkonini beradi.

Alu takrorlarning retropozitsiyasi i

Alu takrorlarining retropozitsiyasi RNK polimeraza III tomonidan transkript hosil qilish, transkriptni kiritish va teskari transkripsiya orqali sodir bo'ladi. Alu takrorlari oqsil mahsulotlarini kodlamaydi va ularning replikatsiyasi LINE retrotranspozonlariga bog'liq.

Alu takroriy qo'shimchalarini o'rganish primatlar va odamlar evolyutsiyasining ba'zi jihatlarini aniqlashtirishga imkon beradi. Odamlarda Alu takroriy qo'shimchalarning aksariyati boshqa primatlarning genomlari bilan bir xil joylarda joylashgan, ammo 7000 ga yaqin qo'shimchalar odamlarga xosdir.

Alu takrorlar insersiyasi va odam kasalliklari

Alu takroriy qo'shimchalar ba'zan zararli bo'lishi va irsiy kasalliklarga olib kelishi mumkin. Biroq, aksariyat hollarda, Alu takroriy qo'shimchalar faqat kasalliklarning belgilaridir va ma'lum bir allelning mavjudligi uning tashuvchisi bu kasallikka duchor bo'lishini anglatmaydi. Alu- vositachiligidagi ulanish haqida birinchi marta

irsiy saraton sezuvchanligi bilan takroriy rekombinatsiya 1995 yilda aniqlangan.

Quyidagi odam kasalliklari Alu takroriy qo'shimchalar bilan bog'liq bo'lishi mumkin:

- sut bezlari saratoni
- Yung sarkomasi
- oilaviy giperholesterinemiya
- gemofiliya
- neyrofibromatoz
- II turdagi qandli diabet

Quyidagi kasalliklar transkripsiya darajasiga ta'sir qiluvchi Alu takrorlarida bitta nukleotid polimorfizmi bilan bog'liq bo'lishi mumkin:

- Altsgeymer kasalligi
- o'pka saratoni
- oshqozon saratoni

Prep-ISH: in situ gibridizatsiya: preparative usuli

Usulning mohiyati quyidagicha: sintetik adapterlar DNK molekulalariga tikiladi, ular orasida xromosomaning ma'lum bir hududidan kelib chiqadiganlarni tanlash kerak va kuchaytirish amalga oshiriladi. Kuchaytirilgan material in situ gibridizatsiya uchun zond sifatida ishlatiladi. Keyin gibridizatsiya qilingan xromosoma preparati bo'yaladi va mikroskop ostida kerakli chiziq kesiladi. Asl primerlar bilan

keyingi kuchaytirish dastlabki aralashmadan xromosomaning ma'lum bir mintaqasining DNKsiga gomolog bo'lgan molekulalarni olish imkonini beradi.

Bu usulning asosiy muammolaridan biri boshlang'ich aralashmadan imkon qadar ko'proq molekulalarning bir xil kuchayishini ta'minlashdir. Buning uchun mualliflar Clontech Inc tomonidan taqdim etilgan Uni-Amp adapterlaridan foydalanganlar. Nazorat tajribalari shuni ko'rsatdiki, ushbu adapterlardan foydalanish kDNK kutubxonalarining murakkabligini sezilarli darajada kamaytirmadi.

Shubhasiz, bu usul genlar ifodasini o'rganishda, ma'lum xromosoma mintaqalarining transkripsiyaviy xaritalarini, kontig xaritalarini va boshqalarni yaratishda ko'plab ilovalarga ega bo'lishi mumkin.

Mikrosatellitli markerlar

Diagnostikada tez-tez qo'llaniladigan DNK polimorfizmining turiga qisqa takroriy ketma-ketliklar yoki mikrosatellitlar kiradi. Mikrosatellit lokuslari genomda yuqori chastotada paydo bo'ladi va genom uzunligi bo'ylab teng ravishda taqsimlanadi. Mikrosatellit polimorfizmi takrorlanuvchi birliklar sonidagi farqlarga asoslanadi. Mikrosatellitlardan marker lokusu sifatida foydalanish ko'p hollarda nasldagi mutant genning uzatilishini osongina kuzatish imkonini beradi.

Mikrosatellit lokuslari PCR reaksiyasi yordamida tahlil qilinadi. U odam DNKsida eng ko'p uchraydigan takroriy oilalardan biri bo'lgan dispers takroriy $(dC-dA)_n((dG-dT)_n$ dan foydalanishga asoslangan. Tadqiqotchilar $(dC-dA)_n((dG-dT)_n$ ekanligini ko'rsatdilar. dT_n bloklari turli individlar orasida uzunlik bo'yicha polimorf bo'lib, ulardan genetik marker sifatida foydalanish imkonini beradi. Masalan, adabiyotda tasvirlangan $(dC-dA)_n((dG-dT)_n$ ni solishtirish. 2 yoki undan ortiq marta klonlangan ketma-ketliklar 8 ta holatdan 7 tasida ularning uzunligi boshqacha ekanligini ko'rsatdi. Ammo, bundan ham muhimi shundaki, mualliflar ushbu markerlarni tahlil qilishning samarali usulini taklif qilishdi - ularni PCR yordamida kuchaytirish, so'ngra poliakrilamid jelda reaksiya mahsulotlarini ajratish, bu gibridizatsiyaga asoslangan an'anaviy usullarga nisbatan tahlilning sezgirligi va tezligini keskin oshirdi.

Keyinchalik mikrosatellit tahlilining juda samarali usullari ishlab chiqildi. DNK parchalarining avtomatik lazer detektor yordamida reaksiya mahsulotlarini aniqlash orqali dinukleotid takrorlarini PCR

tahlil qilish uchun floresan bo'yoq bilan etiketlangan primerlardan foydalanishni taklif qildi.

Ziegle va boshqalar standart avtomatik DNK sekvenserlari yordamida tandem takrorlarini tahlil qilishning avtomatlashtirilgan usulini ishlab chiqdi. Ular primerlarni 3 xil lyuminescent bo'yoqlar bilan belgilashni taklif qilishdi, bu 3 ta namunani bir qatorda tahlil qilish imkonini beradi (to'rtinchi bo'yoq molekulyar og'irlik standartini belgilash uchun ishlatiladi, bu bir xil chiziqqa qo'llaniladi. Bu ushbu usulning mahsuldorligini keskin oshirish va parcha uzunligini aniqlashning aniqligini oshirish imkonini berdi (0,05 bp gacha).

Samarali tahlil usullari ushbu turdagi markerni turli xil xaritalash loyihalarida keng qo'llash imkonini berdi.

Masalan, qisqa tandem takrorlashdan foydalanish model organizmlarda bir qator keng tarqalgan multifaktorial kasalliklar uchun mas'ul bo'lgan lokuslarni aniqlashga imkon berdi (masalan, irsiy gipertenziyasi bo'lgan sichqonlarda qon bosimini tartibga solish bilan bog'liq bo'lgan lokuslar sichqonlarda epilepsiya va autoimmün diabet bilan bog'liq genlardir.

11.14 Genom xaritasi: elektroforetik usullar

PFGE pulsatsiyalanuvchi maydondagi elektroforez usuli birinchi marha 1982 yilda Shvarts D.C. tomonidan tariflangan edi. Bu usul deyarli har qanday o'lchamdagi DNKni fragmentlarga ajratishga imkon beradi. Uning mohiyati shundan iboratki, DNK molekulalari vaqti-vaqti bilan yo'nalishini o'zgartiradigan elektr maydoni ta'sirida gelda ko'chib o'tadi. Ushbu usulning bir nechta modifikatsiyalari mavjudligiga va keng qo'llanilishiga qaramay, pulsatsiyalanuvchi maydonda DNK molekulalarini ajratishning miqdoriy fizik modeli hali ham mavjud emas. Dastlab D.C.Shvarts va C.L.Kantorlar ajratish effektini o'zgaruvchan maydonda turli o'lchamdagi DNK molekulalarining orientatsiya vaqti har xil bo'lishi bilan izohladilar.

Keyinchalik E.M.Southern va boshqalar. eksperimental ma'lumotlarga yaxshiroq mos keladigan modelni taklif qildi. Ular elektr maydonida harakatlanayotganda DNK molekulasi maydon bo'ylab cho'zilgan konformatsiyani olishidan kelib chiqdi. Bunday holda, molekulaning oldingi uchi faqat maydon bo'ylab harakatlanadi va molekula uning orqasida harakatlanadigan yo'lni kesib o'ta olmaydi (agar bu mumkin deb hisoblasak, molekulaning bir qismi yo'nalishda harakat qiladi deb taxmin qilishimiz kerak bo'ladi. qo'llaniladigan elektr

maydoniga qarama-qarshi). Shunday qilib, molekulaning hech bir segmenti boshqasini kesib o'tmaydi va uning umumiy uzunligi uning o'lchamiga proporsionaldir.

PFGE xaritalash usuli so'nggi yillarda standart bo'lib qoldi, shuning uchun uning yordamida amalga oshirilgan barcha ishlarni tahlil qilish mumkin emas. Misol tariqasida quyida bu boradagi so'nggi ishlarning bir qismini keltiramiz.

Misol uchun, 1992 yilda bir guruh yapon va amerikalik olimlar inson 21 xromosomasining kengaytirilgan bo'limlarining restriksiya xartisini yaratish haqida xabar berishdi. Birinchi ishda restriksiya xartisini tuzish uchun original usul ishlatilgan - odam xromosomalarining faqat 21-xromosomasini o'z ichiga olgan gibril odam va yumronqoziq hujayralarining genomik DNKsi ishlatilgan. Ushbu DNK NotI bilan parchalangan va impulsli forez yordamida ajratilgan. Odam NotI fragmentlari odamga xos Alu probi bilan duragaylash orqali aniqlandi. Qo'shni klonlar NotI-bog'laydigan klonlar bilan duragaylash yo'li bilan aniqlandi). Shunday qilib, mualliflar DNK fragmentlarining geldan gelga harakatchanligining o'zgarishi natijasida PFGE ajratish natijalarining noaniqligi bilan bog'liq muammolardan qochishga muvaffaq bo'lishdi. 21-xromosomaning uzun qo'lining proksimal qismining 20 Mb dan ko'prog'ini qamrab oluvchi 6 ta NotI-bog'lovchi klonlar bilan qo'shni xarita tuzildi. Batafsilroq xaritalash 11 ta potentsial CpG orollarini aniqlash imkonini berdi, bu esa genning mumkin bo'lgan joylashuvini ko'rsatadi.

11.15 RNK va DNKning S1 xartisi

Yagona zanjirli DNK va RNKni maxsus gidrolizlovchi nukleaza S1 DNK va kodlangan RNKning kolinearligini o'rganish, DNK matritsalarida transkripsiya boshlanishi va tugash joylarini aniq xaritalash, shuningdek, ikkita DNK yoki RNK molekulalari o'rtasidagi homologiyaning baholash uchun ishlatiladi. O'rganilayotgan genlardagi intronlarni aniqlash uchun genomik DNKning bir qismi sifatida klonlangan gen ushbu gen tomonidan kodlangan etuk RNK bilan gibril lanadi. Agar genda intronlar mavjud bo'lsa, ularning DNK-RNK duragaylaridagi ketma-ketligi bir zanjirli bo'laklar shaklida chiqariladi va S1 nukleaza bilan maxsus gidrolizlanishi mumkin. Intronlar ishtirokida denaturatsiya sharoitida gidroliz mahsulotlarini elektroforetik ajratish jarayonida DNK bo'laklarining paydo bo'lishi kuzatiladi va fragmentlarning kattaligiga qarab, gendagi intronlarning joylashishini

lokalizatsiya qilish mumkin. Xuddi shu yondashuv ikkita nuklein kislotalar ketma-ketligi o'rtasidagi homologiyaning tahlil qilish yoki mutatsiyalarni aniqlash uchun ham qo'llaniladi.

S1-nukleazadan foydalanish gen ichidagi transkripsiyani boshlash va tugatish nuqtalarining holatini bir yoki ikkita nukleotid aniqligi bilan xaritalash imkonini beradi. Va bu holda, ko'rsatilgan DNK ketma-ketligini o'z ichiga olgan genning 5'- yoki 3'-terminal qismlarining qisqa etiketli bo'laklari o'rganilayotgan RNKlar bilan gibridlanadi va natijada

DNK-RNK gibridlari S1 nukleaza bilan inkubatsiya qilinadi. Tahlil qilinayotgan RNKning terminal qismi tomonidan S1 nukleaza ta'siridan himoyalangan hosil bo'lgan DNK fragmentining elektroforetik harakatchanligi, uning sekvensiyasida hosil bo'lgan bir xil DNK bo'limining bo'laklari bilan Makcam-Gilbert usuli yordamida taqqoslanadi. Natijada tekshirilayotgan DNK fragmentlaridagi nukleotidlar holati aniqlanadi

Nazorat savollari

- 1. Biologiya va tibbiyotda gen injeneriyasining qanday usullaridan foydalaniladi?**
- 2. Yangi genetik muhandislik usullari qanday maqsadlarda ishlab chiqilmoqda?**
- 3. Rekombinant DNK ishlab chiqarish texnologiyalari uchun qanday fermentlardan foydalaniladi?**
- 4. Gen injeneriyasida restriksion fermentlar, metilazalar va polimerazalar nima uchun ishlatiladi?**
- 5. Rekombinant DNK olish uchun qanday usullardan foydalaniladi?**
- 6. Cheklov tahlili qanday amalga oshiriladi?**
- 7. DNK klonlash nima uchun amalga oshiriladi?**
- 8. Gen kutubxonalarini qanday yaratilgan?**
- 9. Polimeraza zanjir reaksiyasi qanday va nima uchun amalga oshiriladi?**
- 10. Oqsillarni qanday qilib ortiqcha ifodalash mumkin va bu usul qanday amaliy qo'llanmalarga ega bo'lishi mumkin?**
- 11. DNK sekvensiyasi qanday va nima uchun amalga oshiriladi?**
- 12. Vektorlar nima va ular gen injeneriyasida qanday ishlatiladi?**
- 13. Nima uchun gen klonlari kutubxonalarini yaratiladi va foydalaniladi?**

14. Fizik kartalarning qanday turlari mavjud?

15. Inson genomi xaritalarini tuzishda qanday yondashuvlar mavjud?

16. Bog'lovchi klonlar deb ataladigan maxsus klonlangan DNK fragmentlari nima uchun ishlatiladi?

17. Xromosoma yurishi va xromosoma sakrash usuli yordamida xaritalash qanday amalga oshiriladi?

18. Genom xaritalash uchun qanday markerlardan foydalaniladi?

19. Genom xaritalash uchun qanday elektroforetik usullar qo'llaniladi? 20. RNK va DNKning S1 xaritalashi nima uchun ishlatiladi?

XII BOB. TRANSGENNOZ VA YANGI MOLEKULAR GENETIKA

12.1 Transgenoz: umumiy ma'lumot

Ming yillar davomida odam hayvonlar bilan ishladi, ularni o'z ehtiyojlarini qondirish uchun moslashtirdi. Uy hayvonlarining butun xilma-xilligini ko'paytirish uchun biologlar tabiatning o'zi tomonidan yaratilgan o'zgaruvchanlik orasida tanlovdan foydalanganlar. Va endi biz tasodifiy emas, balki genomning bizga kerak bo'lgan joyida turli xil mutantlarni yaratishda qayta qurish va tezlashish davrida yashayapmiz. Bu yaxshi yoki yomonmi, har xil fikrlar bor, lekin bu muqarrar ravishda sodir bo'lishi kerak edi va sodir bo'ldi va buni hech qachon taqiqlab bo'lmaydi. Xuddi atom energiyasidan foydalanganimiz kabi, inson tomonidan yaratilgan va maqsadli ravishda o'zgartirilgan yangi organizmlar bilan yashashga ko'nikishimiz kerak. Bu transgenoz yordamida amalga oshiriladi. Paraseksual genetika orqali genomi o'zgargan hayvonlar yoki o'simliklar transgen deb ataladi va transgen hayvonlardan foydalanish metodologiyasi yoki, agar xohlasangiz, mafkura transgenoz deb ataladi. Uning eng umumiy shaklida transgenozni *in vitro* operatsiyalari orqali genlarning bir organizmdan ikkinchisiga o'tishi sifatida aniqlash mumkin. Transgenozning uchta muhim nuqtasi: transgenning integratsiyasi, uning ekspressiyasi va transmissiyasi, ya'ni jinsiy hujayralar orqali naslga o'tish mavjud. Ushbu bobda biz paraseksual genetika usullari butun organizm darajasida genlar va ularning mahsulotlarining muvofiqlashtirilgan o'zaro ta'siri mexanizmlari bilan bog'liq bir qator muammolarni hal qilish uchun qanday qo'llanilishini ko'rib chiqamiz, agar genlar ayrim turdagi hujayralarda ifodalangan bo'lsa, va ularning mahsulotlari boshqa hujayralarga ta'sir qiladi. Ko'pincha, boshqa genlarning ekspressiyasi induksiya qilinadi va hujayralararo signallarni - xabarchilarni yuborish va qabul qilish orqali bir-biriga bog'liq bo'lgan induksiya va ingibirlashlarning butun kaskadlari paydo bo'ladi. Bunday murakkab jarayonlarning mexanizmlarini yoritish uchun mantiqan qarama-qarshi ko'rinadigan, lekin aslida o'zlarining xulosalar tizimida birlashtirilgan ikkita yondashuv qo'llanilishini ko'ramiz. Ulardan biri genning ikkala allelini "nokaut qilish" va tirik mavjudotning o'z mahsulotlarisiz qanday yashashini ko'rishdir. Ushbu yondashuv funktsiyani yo'qotish usullari deb ataladi. Boshqasi, aksincha, ma'lum bir mahsulotni ishlab

chiqaradigan tanaga ishlaydigan gen kiritilsa, nima bo'ladi, degan savolni so'raydi, ammo bu mahsulot organizm uchun xarakterli emas. Bu funktsiyani olish usullari deb ataladi. Bularni o'z navbatida uchta oqimga bo'lish mumkin. Ulardan birida biz normal tuzilishga ega bo'lgan oddiy gen anormal tarzda tartibga solinsa nima bo'lishini aniqlaymiz. Boshqasida, agar genning o'zi o'z tuzilishini o'zgartirib, mutantga aylangan bo'lsa-da, normal nazorat ostida qolsa nima bo'lishini aniqlaymiz. Uchinchidan, unga ma'lum bir organizm uchun g'ayrioddiy gen kiritiladi va nima sodir bo'lishini ko'ramiz. Hozirgi vaqtda transgenoz ko'plab fundamental savollarga javob beradigan strategik tadqiqot sohasi sifatida paydo bo'lmoqda. U murakkab ko'p bosqichli jarayonlarning alohida bosqichlarini boshqa bosqichlar bilan bog'liq holda o'rganishga universal uslubiy yondashuvni taklif qiladi. Bu, ehtimol, oxir-oqibat, metabolik yo'l xaritalari biokimyoviy o'zgarishlar ketma-ketligini tasvirlaganidek, ushbu tarmoqlarni tavsiflovchi diagrammalarni yaratishga olib keladi. Ammo hozircha usullar ishlab chiqilmoqda va tanadagi turli tizimlarning ishlashi haqida ma'lumotlar to'planmoqda. Transgenoz yordamida promotorlar, kuchaytirgichlar, transkripsiya omillarining ta'sir mexanizmi, DNK metilatsiyasining roli butun organizm darajasida qanday ishlashini bilib olamiz va pozitsion ta'sir mexanizmlarini o'rganamiz. Biz uning qo'llanilishini immunologiya va embriogenez sohasida, asab tizimining rivojlanishi sohasida, gematopoez va angiogenez mexanizmlari sohasida, o'sish va differentsiatsiyani belgilovchi omillarni o'rganishda ko'ramiz, multipotent ildiz hujayralari va nihoyat, kanserogenez sohasida ko'ramiz. Bu erda biz onkogenlarni o'rganishni ko'ramiz, bu esa o'z navbatida hujayraning differentsiatsiyasi jarayonlarida hujayra taqdirini tanlashga qaratilgan o'zaro ta'sirlarni tushunishga olib keladi. Qadimgi rus ertaklarining qahramonlari singari, hujayra ko'pincha uchta yo'lning chorrahasida turadi: dam olish, bo'linish yoki o'lish. Transgenoz bu tanlovni qanday qilishini tushunishga yordam beradi. Biz genlarning katta guruhlarini tartibga solish uchun mas'ul bo'lgan master-regulyatsiya genlari haqida ma'lumot olamiz. Masalan, mushaklarga xos genlar guruhining faoliyatini tartibga soluvchi myoD kabi. transgenoz boshqa ko'plab imkoniyatlarni taqdim etadi. Fundamental muammolarni hal qilishdan tashqari, ular transgenoz yordamida hayvonlarning yangi zotlarini yoki o'simlik navlarini yaratishga harakat qilmoqdalar. Yangi foydali xususiyatlarga ega hayvonlarni yaratishga kamroq vaqt va xarajat bilan erishish uchun yaxshi imkoniyat mavjud.

12.2 Asosiy tadqiqotlarda transgenoz: umumiy ma'lumot.

Molekulyar genetika, hujayra biologiyasi, immunologiya, embriogenetika va boshqalarning deyarli barcha muammolarida transgen hayvonlardan juda keng foydalaniladi, desak ahamiyatsiz bo'lar edi. Avvalo, transgen sichqonlarning dastlabki tadqiqotlari, asosan, butun organizm darajasida ekspressiya nazorati va uning to'qimalarining o'ziga xosligini o'rganishga qaratilgan bo'lib, zamonaviy molekulyar biologiyaning asosiy tushunchalaridan biriga olib keldi, transkripsiyaning tartibga soluvchi elementlar asosiy omillardir. Transgenoz va ayniqsa nishonga olish natijasida olingan ma'lumotlar tez sur'atlar bilan o'sib borayotgan bo'lsa-da, 1989 va 1990 yillarda tasvirlangan sporadik tajribalar bilan solishtirganda 1994 yilda tasvirlangan 150 ga yaqin nokaut tajribalari bilan ish nisbatan kichik miqdordagi ma'lum genlar atrofida to'plangan. Biz odam genlarining atigi 3% i haqida va sichqon genlari haqida kamroq narsani bilishimizni eslaganimizda, bu ajablanarli emas. Transgenoz yordamida olingan natijalar bizning bilimimizning kichikligi haqida dalolat beradi: mavjud g'oyalar nuqtai nazaridan kutilgan natijalar ko'pincha olinmaydi. Ko'p hollarda ma'lum genlar va oqsillar uchun mutlaqo kutilmagan funksiyalar aniqlanadi. Ma'lum bo'lishicha, mavjud ma'lumotlar nuqtai nazaridan hayvonga juda muhim yoki hatto hayotiy ahamiyatga ega bo'lgan oqsillarsiz ishlashga imkon beradigan kompensatsion mexanizmlar mavjud. Tasvirlangan 263 nokautning faqat taxminan 25 foizi tug'ilishdan oldin yoki darhol o'limga olib keldi va ko'pchilik nokautlar balog'at yoshiga qadar omon qoldi. Ammo shu bilan birga, ulardan faqat o'nlab yoki ikkitasi amalda normal edi va batafsil tahlil qilinganda, ularda ham nuqsonlar borligi aniqlanishi mumkin deb taxmin qilish mumkin. Bundan tashqari, xuddi shu noll mutatsiyalar alohida sichqonlar o'rtasida o'zlarining fenotiplarida juda yuqori darajadagi o'zgaruvchanlikni namoyon qiladi. Bu keng miqyosda o'ylashni talab qiladi. Bu o'zgaruvchanlikka nima sabab bo'ladi: homiladorlik paytida ma'lum embrionning bachadondagi holati yoki saqlash sharoitlarimi? Agar bir xil mutatsiya sichqonlarning turli shtammlarida har xil ta'sir ko'rsatsa, bu tushunarliroq - bu erda o'rganilayotgan shtammlarning genetik tuzilishidagi farqlarning ta'siri aniq ta'sir qiladi. Ammo bu hali ham ushbu mutatsiyaning fenotipik ko'rinishlarida o'z izini qoldiradigan genetik omillarni tahlil qilishni talab qiladi.

Immun tizimi butun organizm darajasida ishlaydi. U o'z ishida bir nechta asosiy tamoyillarga amal qiladi. Bular. immun tizimi uning

antigenlari bilan reaksiyaga kirishmaydi va uning hujayralari va to'qimalarini rad etmaydi. Savol shundaki, u qanday qilib o'zini juda nozik tan olishiga erishadi. Hozirgi vaqtda bu kamsitish qobiliyati o'z-o'zini o'rganish davrida o'rnatiladi, deb ishoniladi. Tananing rivojlanishidagi bu davr limfotsitlar paydo bo'lishiga to'g'ri keladi. Transgen sichqonlar bu farazni o'rganish uchun noyob imkoniyatni taqdim etdi. Ushbu muammoni aniqlashtirishga qaratilgan ba'zi tajribalar g'oyasi ibtidoiylik darajasiga qadar oddiy. Keling, bu dunyoda hech bir sichqon tanasida sintez qilmagan mahsulotni kodlaydigan va sintez qiladigan genga ega transgen sichqonchani yarataylik. Ushbu gen genomda tugaydigan va irsiy bo'lib qolganligi sababli, genetik jihatdan u o'zinikidir. Ammo immunitet tizimi ushbu gen mahsuloti bilan nima qiladi? Yana ko'proq. B- va T-limfotsitlarning aksariyati ushbu mahsulotni (antigen) tan olishga tayyor bo'lgan immunoglobulinlar yoki T-hujayra retseptorlarini sintez qiladigan vaziyatni yaratish mumkin. Tanish uchun tayyor, qayta guruhlangan degan ma'noni anglatadi. Bunday qayta tashkil etilgan immunoglobulin genlari yoki ma'lum bir antigenni tan olishga tayyor T-hujayra retseptorlari maxsus hujayralardan klonlash orqali olinishi mumkin.

12.3 Maqsadni belgilash (Targeting)

Targetlash - bu xromosomada joylashgan ketma-ketliklarning hujayra ichiga sun'iy ravishda kiritilgan DNK ketma-ketliklari bilan gomologik rekombinatsiyasi tufayli ma'lum genlarning maqsadli o'zgarishi.

Targeting g'oyasi ekzogen DNKni eukaryotik hujayra genomiga eksperimental ravishda o'tkazishning asosiy imkoniyati birinchi marta ko'rsatilganda va ayniqsa transgen organizmlarni ishlab chiqarishga imkon beruvchi usullar paydo bo'lgandan keyin paydo bo'lgan.

Biroq, aslida genlarning targetingi mutant organizmlarni olish faqat 80-yillarning ikkinchi yarmida bir qator fundamental muammolar hal qilinganidan keyin mumkin bo'ldi:

- 1) sutemizuvchilar hujayralarida gomologik rekombinatsiyani aniqlash;
- 2) gomologik rekombinatsiya uchun tanlovni ta'minlaydigan tizimlarni yaratish;
- 3) kam uchraydigan genetik o'zgarishlarni aniqlash usullarini ishlab chiqish;

4) genlarni eukaryotik hujayralarga o'tkazishning samarali usullarini yaratish;

5) pluripotent embrion ozak (EO) hujayralarini yaratish va ular asosida ximer organizmlarni yaratish.

Targeting metodologiyada bu maqsadda gomologik rekombinatsiyadan foydalanish edi. Natijada, tanadagi qat'iy belgilangan genlarni ("gen nokaut") butunlay inaktivatsiya qilish va ularga kichik maqsadli mutatsiyalarni kiritish va yoki mutant allellarni tuzatish mumkin bo'ldi.

Mutant organizmlarning keyingi ishlab chiqarilishida genlarning targetingini amalga oshirish endi nafaqat sichqonlarda, balki bir qator boshqa organizmlarda ham amalga oshirildi, jumladan *Caenorhabditis elegans* nematodasida. Sutmizuvchilar orasida hozirgacha bu maqsadda faqat sichqonchadan foydalanilgan, chunki sichqonchanning EO hujayralari birinchi bo'lib olingan va allaqachon juda yaxshi tavsiflangan. Turli organizmlarda targeting uchun qo'llaniladigan usullar ba'zan ushbu tasvirlanganlardan sezilarli darajada farq qiladi, ammo umuman olganda metodologiya o'xshash va bir xil muammolarni hal qilishga imkon beradi.

Yuqorida tavsiflangan turli xil maqsadli variantlardan foydalanish embrion rivojlanish, mushak, skelet, asab va boshqa tizimlarning shakllanishi uchun mas'ul bo'lgan genlarning funksiyasi haqidagi tushunchamizni sezilarli darajada kengaytirish imkonini berdi. Immunitet va nerv sistemasi faoliyatida genlarning roli, onkogen va antionkogenlarning funksiyasi bo'yicha qiziqarli natijalarga erishildi va insonning qator kasalliklarini modellashtirish mumkin bo'ldi.

12.4 Hayvonlarning genomiga genlarni kiritish usullari DNK mikroin'ektsiyasi

Urug'langan sichqon tuxumining pronukleusiga mikroin'ektsiya qilinadi. Ushbu usul bilan, odatda, boshdan dumga turidagi tandemda tashkil etilgan ko'plab DNK molekulalari rekombinatsiya orqali integratsiyadan oldin bog'lanadi xromosomada bir xil joyga integratsiyaga kiradi.

Mikroin'ektsiyaning asosiy afzalligi shundaki, ular transgen hayvonlarni samarali yaratishga imkon beradi, ammo ularning jiddiy kamchiliklari bor: genlarni hujayralarga keyingi bosqichlarda kiritish mumkin emas, integratsiya jarayonida ko'plab qayta tashkil etishlar sodir

bo'ladi, kiritilgan DNKning ko'plab nusxalari tugaydi. genom va nihoyat integratsiya genomning ixtiyoriy joyiga tasodifiy ravishda sodir bo'ladi.

Retroviruslar gen tashuvchilar sifatida

Rekombinant retroviruslar hayvon genomiga begona DNKni kiritish uchun ishlatilishi mumkin.

Retroviruslarning afzalliklari shundaki, bu holda integratsiya ma'lum mexanizm bo'yicha sodir bo'ladi, faqat bitta nusxa xromosomaning bitta joyiga birlashtiriladi va birlashtirilgan materialning qayta tuzilishi sodir bo'lmaydi.

Yana bir afzallik - rivojlanishning turli bosqichlarida etkazib berishning qulayligi hisoblanadi. Implantatsiyadan keyingi embrion ham ishlatilishi mumkin. Retroviruslarning barchasi yaxshi va oxirgi maqsad uchun yaxshi, ammo embrion hujayralari past tezlikda ineksiyalanadi va shuning uchun transgen hayvonni ishlab chiqarish samaradorligi pasayadi.

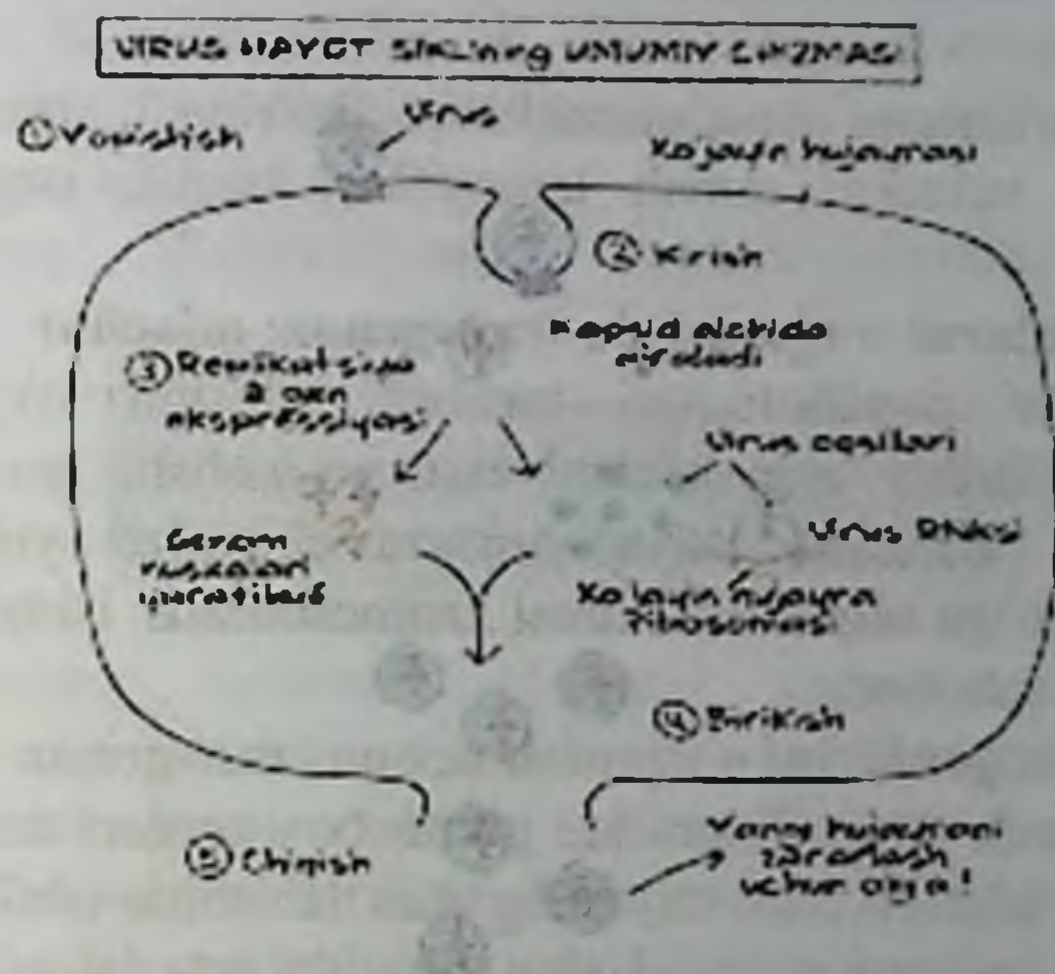
Retrovirus vektorlarining kamchiliklari ularning yordami bilan uzatilishi mumkin bo'lgan DNK hajmining cheklanishidir. Faqat taxminan 10 kilobazadan oshmaydigan fragmentlar shu tarzda genomlarga o'tkazilishi mumkin.

Retroviruslar, go'yo tabiatning o'zi kabi, genetik muhandislar ularni genetik materialni ushbu genetik muhandislar o'zgartirmoqchi bo'lgan organizm genomiga o'tkazish uchun vektor sifatida ishlatishlari uchun tayyorlangan. Ular genomga barqaror ravishda kiritilgan, ular ushbu genomga begona DNKni kiritishga qodir. Bundan tashqari, yana bir ajoyib sifat bor: siz virusli genlarni chiqarib tashlashingiz va uning o'rniga ikkita LTR orasiga genetik muhandisga kerak bo'lgan narsalarni qo'yishingiz mumkin, shu bilan birga begona ma'lumotlarni joylashtirish va uzatish imkoniyatini saqlab qolasiz. retrovirus xojayin genomiga kiradi. Keling, bu hujayra liniyalari yordamida qanday amalga oshirilishini ko'rib chiqaylik.

Proviral DNK hujayra genomiga integratsiya qilinadi. U virusli RNK va virus oqsillarini sintez qiladi, lekin hech qachon retrovirusning o'zini ishlab chiqarmaydi. RNK qadoqlash joyi yo'qligi sababli qadoqlana olmasligi sababli, u virusli oqsillardan alohida osilib qoladi. Va ular bu RNKdan alohida, ular uchun qabul qilinishi mumkin emas. Biz hujayra liniyasini oldik, biz uni qadoqlash deb ataymiz.

Keling, proviral DNKni olaylik va LTR va y-saytni qoldirib, undan ba'zi genlarini olib tashlaymiz. Va tashlab ketilgan genlar o'rniga biz

yangi genetik komponent sifatida biror joyga kiritmoqchi bo'lgan narsani kiritamiz. Biz vektorni oldik.



Rasm 12.1 - Retrovirus zarralarini paketlaydigan hujayra liniyalarini qurish printsipti.

Keling, investitsiya chizig'iga vektorni kiritaylik. Nima bo'lishini tushundingizmi? Vektor hujayra genomiga integratsiya qilinadi va uning LTR nazorati ostida vektor RNK sintezi boshlanadi. Bu RNK virus nuqtai nazaridan yaroqsiz. U virusli mahsulotlarni sintez qilishga qodir emas. Shuning uchun u yuqumli emas. Lekin u qadoqlash signalini, y-saytni o'z ichiga oladi. Va qadoqlash hujayra liniyasi virusli zarrachani hosil qilish uchun zarur bo'lgan barcha komponentlarni o'z ichiga oladi, ular faqat o'z ichiga qadoqlanishini kutmoqda. Agar u qadoqlash paroliga ega bo'lsa, hammasi bir xil. Va endi parol vektor RNKda. U qadoqlangan bo'ladi. Natijada psevdoviral zarralar bo'ladi.

Ular qadoqlash hujayralaridan ajralib chiqadi. Ular boshqa hujayralarning uyali retseptorlari bilan o'zaro aloqada bo'lishlari mumkin, bu shart emas, balki qadoqlash emas, balki, masalan, biz vektorga kiritgan genetik ma'lumotni kiritmoqchi bo'lgan hujayralar. Ular bu hujayralarga kirib borish imkoniyatiga ega bo'ladilar. Ular vektor RNKni teskari transkripsiya qila oladilar. Ular uni hujayra genomiga birlashtira oladilar. Va tamom. Bu kiritilgan DNK hujayra genomining bir qismiga aylanadi. U bizga kerakli genlarni o'z ichiga oladi. U ushbu genlarni transkripsiyalashga qodir bo'lgan LTR tartibga soluvchi elementlarni o'z ichiga oladi. Ammo bular endi yuqumli virusli

RNKlar emas, balki biz hujayra genomiga taqdim qilmoqchi bo'lgan ma'lumotni kodlaydigan zararsiz, yuqumli bo'lmagan molekulalardir. Shunday qilib, biz retroviruslarni vektor tizim sifatida ishlatish printsipli bilan tanishdik.

Haqiqatda hamma narsa murakkabroq ko'rinadi, ammo hozircha bu etarli. Keling, vektorni qurish tamoyillari haqida ozgina ma'lumot qo'shamiz.

Yangi genlarni o'rganishda transgenoz: misollar

Transgenoz metabolizmni tartibga solishni o'rganish uchun ishlatiladi rivojlanish jarayonlarini tartibga solish, gormonlar ta'siri, o'sish omillari, differentsiatsiya, hujayra chiziqlari yoki o'ziga xos belgilarni o'z ichiga olgan individual xromosomalar ishlab chiqarish va boshqa ko'plab sohalarda.

Gomeobox genlarini o'rganish uchun transgenoz

Sichqonlarda ikkita Engrailed gomeobox genlari ma'lum: En-1 va En-2. Ularning ikkalasi ham miyaning shakllanishida ishtirok etadi. Ular rivojlanayotgan miyaning xuddi shu sohasida erta ishga tushadi, lekin birinchisi ikkinchisiga qaraganda 8-10 soat oldin ishlay boshlaydi. Ma'lum bo'lishicha, nokaut natijasida En-1 gomeoboks genini yo'qotgan sichqonning jiddiy nuqsonlari, jumladan, o'rta miya va miyachaning yo'qligi tug'ilgandan ko'p o'tmay uning o'limiga sabab bo'lgan. Aksincha, boshqa gen En-2 ni nokaut qilish faqat sezilarsiz ta'sir ko'rsatdi. Ehtimol, birinchi genning mahsuloti o'z funktsiyalarida ikkinchisining mahsulotini almashtirgan. Lekin buni qanday isbotlash mumkin? En-1 genini En-2 geniga almashtirib, natijaga nazar tashlasak qoyidagilarni kuzatish mumkin. En-2 geni almashtirish vektoriga joylashtirildi va uning tartibga soluvchi elementlari nazorati ostida birinchi gen o'rniga kiritildi.

Shunday qilib, birinchi gen bir vaqtning o'zida inaktivatsiya qilingan va ikkinchisi kiritilgan. Nokautlangan va almashtirilgan sichqonga nima bo'ldi? Bu En-2 nokautli va En-1 genlarini saqlab qolgan sichqon bilan bir xil bo'lib chiqdi. Shunday qilib, En-2 geni, tegishli vaqtda ifodalanganda, o'z sherigini funktsional ravishda almashtiradi.

Ta'm bilan bog'liq bo'lgan genning nokauti

Fan barcha ta'm sezuvchilarini 5 guruhga ajratadi: shirin, sho'r, nordon, achchiq va glutamatning o'ziga xos ta'mi.

Gustducin, ta'm retseptorlari hujayra membranasining ichki yuzasida signal beruvchi oqsil 1992 yilda klonlangan. Ammo uning ta'm

sezgilarini uzatishdagi roli sirli bo'lib qoldi. Kinnamon S.C., 1996 bu oqsilni kodlovchi gen uchun nokaut sichqon haqida xabar berdi. Shunday qilib, gastducin geni, aniqrog'i uning alfa subbirligi uchun nokaut qilingan sichqon nordon va sho'r ta'mga normal munosabatda bo'lgan, ammo shirin va achchiq ta'mni tanib olish qobiliyatini yo'qotgan yoki sezilarli darajada kamaytirgan.

Genlarning ekspressiyasini mexanizmlarini o'rganishda transgenoz

Sis-ta'sir qiluvchi tartibga soluvchi nukleotidlar ketma-ketligi transgenlarning to'qimalarga xos ifodasini ta'minlaydi. Ushbu xususiyat genlarni tartibga soluvchi elementlarning aniq lokalizatsiyasini aniqlash uchun ishlatilgan.

Misol uchun, kalamush elastaz-1 genining kuchaytiruvchi (enhanser) elementi delesiya xaritasi yordamida aniqlangan. 7,2 kb DNK fragmentining bir qismi sifatida to'liq elastaz-1 geni. transgen sichqonlarda ifodalangan, bu DNK fragmentida genning ishlashi uchun zarur bo'lgan barcha nukleotidlar ketma-ketligi mavjudligini ko'rsatdi. Ushbu genning 5'-flankonli nukleotidlar ketma-ketligini o'chirish yo'li bilan olib tashlash sichqonning oshqozon osti bezi asinar hujayralarida (normal gen faollashuvi joyi) to'qimalarga xos bo'lgan ekspressiyasiga ta'sir qilmadi, chunki genga bevosita qo'shni bo'lgan 205 bp ketma-ketligi. ta'sir qilmagan, uning 5'-terminal qismi (transkripsiyani boshlash nuqtasi yaqinida).

Faqat 72 bp qoldirgan delesiyalar. 5'-flanking ketma-ketligi genni butunlay inaktiv qildi, bu esa -205 va -72 pozitsiyalarida nukleotidlar orasidagi tartibga soluvchi elementning joylashishini ko'rsatdi. Bu ketma-ketlik kuchaytirgichning barcha xususiyatlariga ega bo'lib, 3 kb ga ko'chirilgandan keyin faollikni saqlab qoldi. Bundan tashqari, u geterologik promoterlarni faollashtirish qobiliyati bilan ajralib turardi.

Transgenoz jarayonidagi mutagenez

DNK mikroin'ektsiya orqali genomga kiritilganda, u, biz bilganimizdek, genomning u yoki bu joyiga tasodifiy tushadi va ko'pincha genni yo'q qiladi. Bu ham yomon, ham ozroq darajada yaxshi. Bu yaxshi, chunki u qiziqarli sichqon mutantlarini yaratishi va yangi genlarni aniqlashi mumkin. Bundan tashqari, siz identifikatsiyalash soddalashtirilganligini korasiz, chunki gen unga kiritilgan ma'lum qo'shimcha tufayli yo'q qilinadi. Ma'lum bo'lgan transgen sichqon transgen chiziqlarining taxminan 5% bunda mutantlardir. Ulardan ba'zilarida ilgari ma'lum bo'lgan gen yo'q qilingan. Boshqalar yangilikga

ishora qiladilar. Minglab transgen sichqonlar yaratilgani va yaratilishda davom etayotganligi sababli, yangi mutatsiyalarni va shuning uchun yangi genlarni tahlil qilish uchun boy manba mavjud. Misol uchun, mutatsiya ichki quloq tizimining anormal rivojlanishiga olib keladigan lokus topildi. Lokus Vosko deb ataladi.

Inson genetik kasalliklarining hayvonlardagi modellari

Genetik omillarning odam kasalliklariga ta'sirini o'rganish juda qiyin va shuning uchun odamlarda ma'lum bo'lgan genetik nuqsonlar haqidagi muhim malumotlarni olimlar hayvonlar yordamida olishga intiladilar. Hayvonlarning odam kasalliklariga o'xshash ma'lum bo'lgan tabiiy genetik kasalliklari soni doimiy ravishda oshib bormoqda. Masalan, itlarda gemofiliya yoki cho'chqalarda ateroskleroz uchraydi (axir biz yaqin qarindoshmiz). Biroq, hayvonlarning kasalliklari tabiatda kam uchraydi va ular bilan ishlash juda qiyin, chunki ulardagi kasallik uchun mas'ul bo'lgan genlarni topish odamlarnikidan oson emas. Gomologik rekombinatsiyadan foydalanish odamning ma'lum genetik kasalliklarini modellashtiradigan hayvonlarni olish vazifasini sezilarli darajada osonlashtiradi. Albatta, shart shundaki, kasallikni keltirib chiqaruvchi gen ma'lum va odam genomi dasturining muvaffaqiyatlari quvontiradi.

Targetingdan foydalanib, biz ilgari ko'rganimizdek, nuqtali mutatsiyalari va turli xil xromosoma aberatsiyasi bo'lgan hayvonlarni olish mumkin.

Nazorat savollari

- 1. Transgen texnologiyalar nima uchun va qanday ishlatiladi?**
- 2. Nishonlashtirish nima va maqsadlilik yordamida qanday muammolar hal qilinadi?**
- 3. Odam genetik kasalliklarining qanday hayvonlar modellari yaratilgan?**
- 4. Targetlash - ma'lum genlarning maqsadli o'zgarishi (maqsadli maqsad) qanday amalga oshiriladi?**
- 5. Hayvonlar genomiga genlarni kiritish uchun qanday usullardan foydalaniladi va qanday vektorlar kerak?**
- 6. Qadoqlash katakchalari nima uchun ishlatiladi? 7. Yangi genlarni o'rganishda transgenozdan foydalanishning qanday misollari ma'lum?**

XIII BOB. HUYAYRA SIKLI

Hujayra ko'payish sikli shartli ravishda to'rt bosqichga bo'linadi: M (mitoz), G1 fazasi (DNK sintezidan oldingi davr), S fazasi (DNK sintezining o'zi) va G2 fazasi (xromosomalarning qo'sh to'plami). Yuqori organizmlarning hujayra siklida, shuningdek, G0 fazasi, DNK sintezidan oldin proliferatsiyaning kechikishi (kengaytirilgan G1) mavjud. Ba'zi neyron hujayralari va skelet mushaklari hujayralari differentsiatsiya jarayoni tugagandan so'ng bo'linmaydi. Ularning normal ishlashi, ayniqsa, G1 fazasi bilan bog'liq. Hujayra siklidagi hodisalar tartibiga qat'iy rioya qilish juda muhim; buzilishlar (masalan, DNK sintezi tugagunga qadar xromosoma kondensatsiyasi) hujayra o'limiga olib kelishi mumkin, shuning uchun hujayra sikli fazalarining o'tishi tashqi va sitoplazmatik omillarning butun majmuasi bilan tartibga solinadi. PDGF G0 - G1 fazalarida harakat qiluvchi va hujayrani S fazaga kirishiga undaydigan oqsillardan biridir. Biroq, hatto PDGF ga bog'liqligi isbotlangan hujayralar uchun ham, uning ta'siri bo'linishni haqiqiy rag'batlantirish uchun zarur, ammo etarli emas. G0 - G1-S o'tish ikki qismdan iborat: hujayra kompetentsiyasining induksiyasi va DNK sintezining o'zi induksiyasi. Ko'pgina tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, bu ikki xil hodisa bo'lib, ular vaqt ichida (bir necha soatgacha) ajratilishi mumkin va turli vositachilarning ta'siriga bog'liq

13.1 Hujayra sikli: umumiy ko'rinish

Eukariyot hujayralarning bo'linishini ta'minlaydigan takrorlanuvchi hodisalar to'plami hujayra sikli deb ataladi. Hujayra siklining davomiyligi bo'linadigan hujayralar turiga bog'liq, katta odamlarda u taxminan 8 soat yoki undan ko'proq, ayrim turdagi hujayralar uchun esa bir yilgacha yoki undan ko'proq vaqtni tashkil qilishi mumkin. Tashqi signallar hujayraning sikl davomida rivojlanishini rag'batlantirishi yoki ingibirlashi mumkin. Proliferativ signallar juda xilma-xil bo'lib, hujayra turiga, rivojlanish bosqichiga va boshqa omillarga bog'liq. Bunday signallar o'sish omillari, interleykinlar, ayrim turdagi hujayralarning ko'payishini qo'llab-quvvatlaydigan yoki qo'zg'atishi mumkin bo'lgan gormonlar bo'lishi mumkin. Signal molekulalari maxsus membrana retseptorlari bilan bog'lanadi, retseptordan yadroga hujayra ichidagi signalizatsiya yo'llarini faollashtiradi va shu bilan ma'lum genlarning transkripsiyasini keltirib chiqaradi. Siklin oqsillarini kodlovchi genlar birinchilardan bo'lib faollashadi. Oqsillar siklinlar deb ataldi, chunki

ularning hujayradagi kontsentratsiyasi hujayra siklining turli bosqichlarida harakat qilganda vaqti-vaqti bilan o'zgarib turadi. Hujayra bo'linishi (mitoz yoki meioz)dan oldin xromosomalarning ko'payishi sodir bo'ladi, bu hujayra siklining S davrida sodir bo'ladi (13.1-rasm). G1, S, G2, M hujayra siklining barcha fazalari davomiyligi jihatidan farq qilishi mumkin, lekin bu, ayniqsa, G1 fazasi uchun to'g'ri keladi, uning davomiyligi amalda nolga teng yoki shunchalik uzoq bo'lishi mumkinki, go'yo hujayralar to'xtab qolgandek tuyulishi mumkin. butunlay bo'linish. Bunday holda, hujayralar tinim holatida (G0 fazasi) deyiladi. Shunday qilib, katta yoshli odamning neyronlari umuman bo'linmaydi. Ichak epiteliy hujayralari inson hayoti davomida bo'linadi, lekin bu tez ko'payadigan hujayralarda ham bo'linishga tayyorgarlik 24 soat davom etadi. Katta yoshli organizmdagi o'pka, buyrak va jigar hujayralari faqat organlarning shikastlanishiga javoban bo'linishni boshlaydi.

Meyozning birinchi va ikkinchi bo'linishi o'rtasida S davri yo'q va qiz xromatidalar ikkinchi bo'linishda qiz hujayralarga ajraladi. Natijada, gaploid xromosomalar to'plamiga ega bo'lgan hujayralar hosil bo'ladi, ularda DNK G1 davridagi diploid somatik hujayralarga qaraganda ikki baravar ko'p, S davrining oxirida somatik hujayralarga qaraganda 4 marta kamroq bo'ladi.

Urug'lantirish paytida zigotadagi xromosomalar soni va DNK tarkibi G1 davridagi somatik hujayradagi kabi bo'ladi.

Hujayra siklining universal nazariyasi shuni ko'rsatadiki, hujayra butun hujayra sikli davomida bir qancha holatlardan o'tadi.

Har bir holatda kritik tartibga soluvchi oqsillar fosforillanish yoki defosforilatsiyadan o'tadi, bu oqsillarning faol yoki faol bo'lmagan holatga o'tishini, ularning o'zaro ta'sirini va yoki hujayra lokalizatsiyasini belgilaydi.

Davr sintez so'zining birinchi harfi bilan belgilanadi - DNK sintezi. S davrining oxiridan metafazaning oxirigacha yadro sperma yoki tuxum yadrosidan to'rt marta ko'p DNKni o'z ichiga oladi va har bir xromosoma ikkita bir xil qiz xromatidlardan iborat.

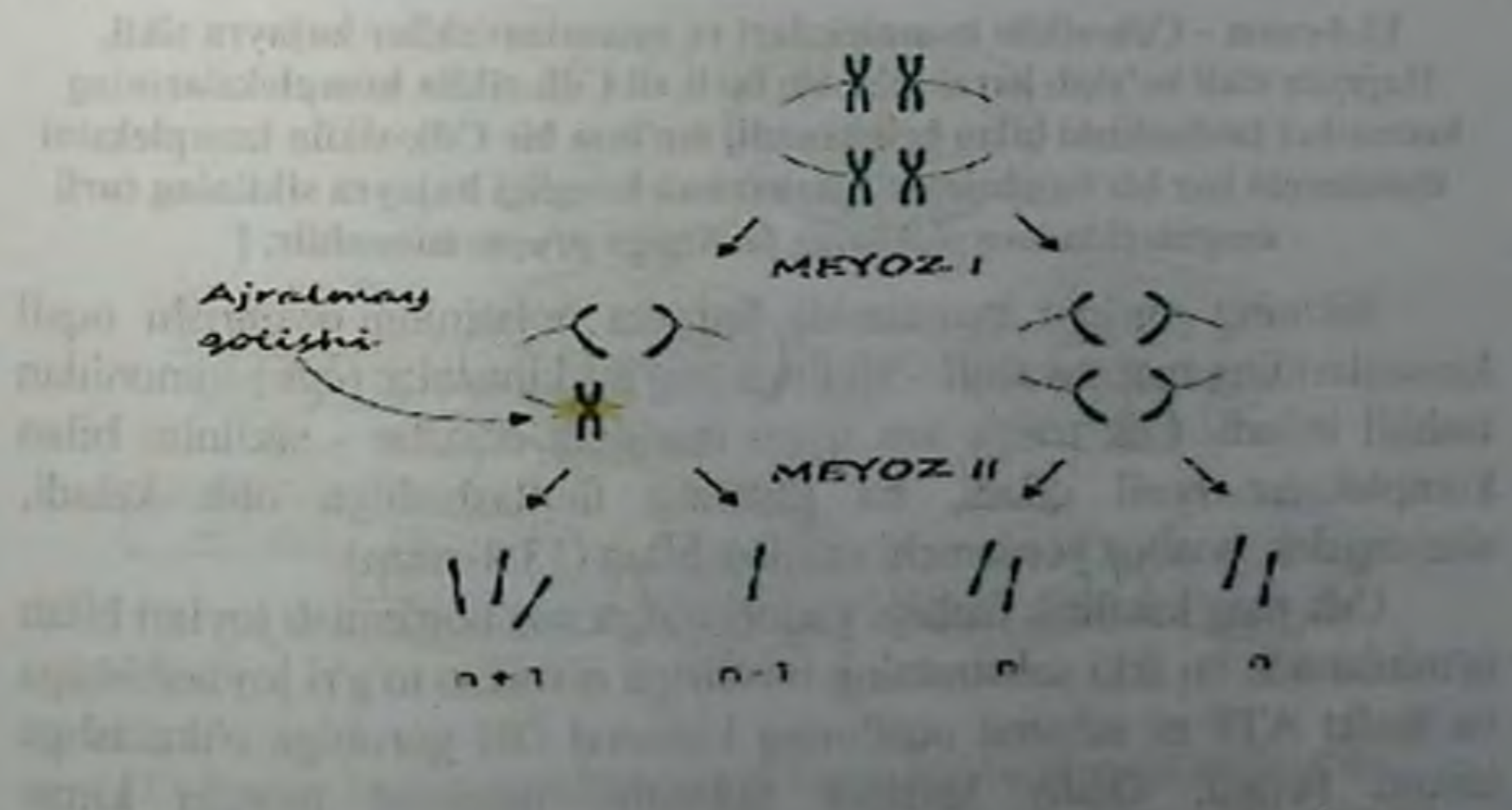
Mitoz jarayonida xromosomalar kondensatsiyalanadi va profilaktika oxirida yoki metafaza boshida ular yoruglik mikroskopda ko'rinadi (13.2-rasm).



13.2-rasm - Mitozning alohida fazalarining mikrografigi. 1-profaza, 2-metafaza, 3-anafaza, 4-telofaz, 5-sitokinez

Anafaza boshida gomologik xromosomalarning sentromeralari ajralib chiqadi va xromatidalar mitotik shpindelning qarama-qarshi qutblariga o'tadi. Xromatidlarning to'liq to'plamlari qutblarga o'tgandan so'ng (bundan buyon ular xromosomalar deb ataladi), ularning har biri atrofida ikkita qiz hujayraning yadrolarini hosil qiluvchi yadro qobig'i hosil bo'ladi. Qiz hujayralari G1 davriga kiradi va faqat keyingi bo'linishga tayyorgarlik ko'rishda ular S davriga kiradi va ularda DNK replikatsiyasi sodir bo'ladi.

Sitogenetik tahlil uchun odatda metafaza xromosomalarining preparatlari qo'llaniladi (13.3-rasm).

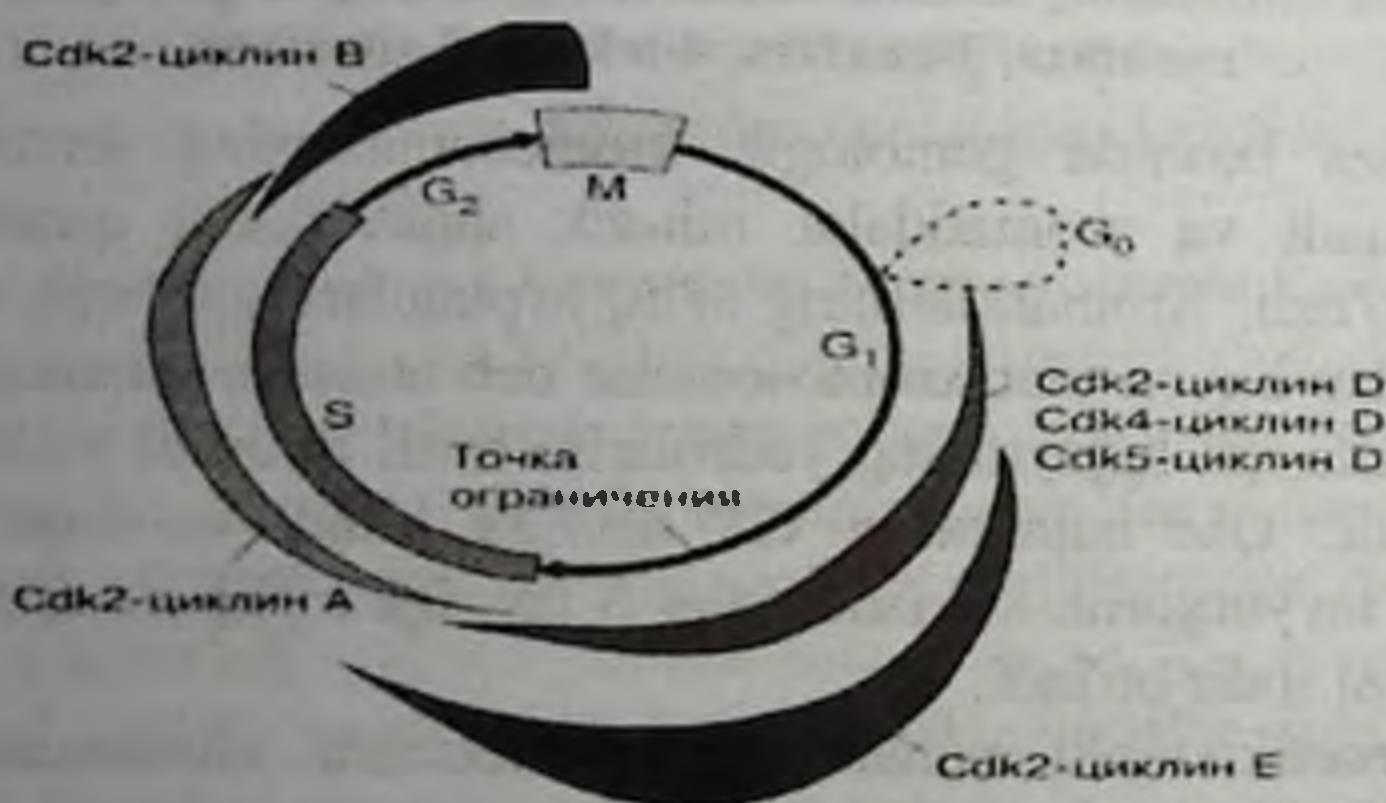


13.3-rasm - Odam limfotsitlarining metafaza xromosomalari.

Tanadagi aksariyat hujayralar diploiddir - ya'ni ular ikkita gaploid xromosomalar to'plamiga ega (gaploid to'plam gametalardagi xromosomalar soni odamlarda 23ta xromosoma, adiploid xromosomalar to'plami 46).

13.2 Hujayra sikli: nazorat qiluvchi oqsillar

Odatda, eukariotlarda hujayra sikli to'rtta davrdan iborat: mitoz (M), presintetik (G₁), sintetik (S) va postsintetik (G₂) fazalar (davrlar) (13.4-rasm). Ma'lumki, butun hujayra siklining ham, uning alohida fazalarining ham umumiy davomiyligi nafaqat turli organizmlarda, balki bir xil organizmning turli to'qimalari va organlari hujayralarida ham sezilarli darajada farqlanadi.



13.4-rasm - Cdk-siklin komplekslari va sutemizuvchilar hujayra sikli.

Hujayra sikli bo'ylab harakatlanish turli xil Cdk-siklin komplekslarining ketma-ket faollashishi bilan belgilanadi, ma'lum bir Cdk-siklin kompleksini ifodalovchi har bir bandning o'zgaruvchan kengligi hujayra siklining turli nuqtalarida kompleksning faolligiga proporsionaldir. [

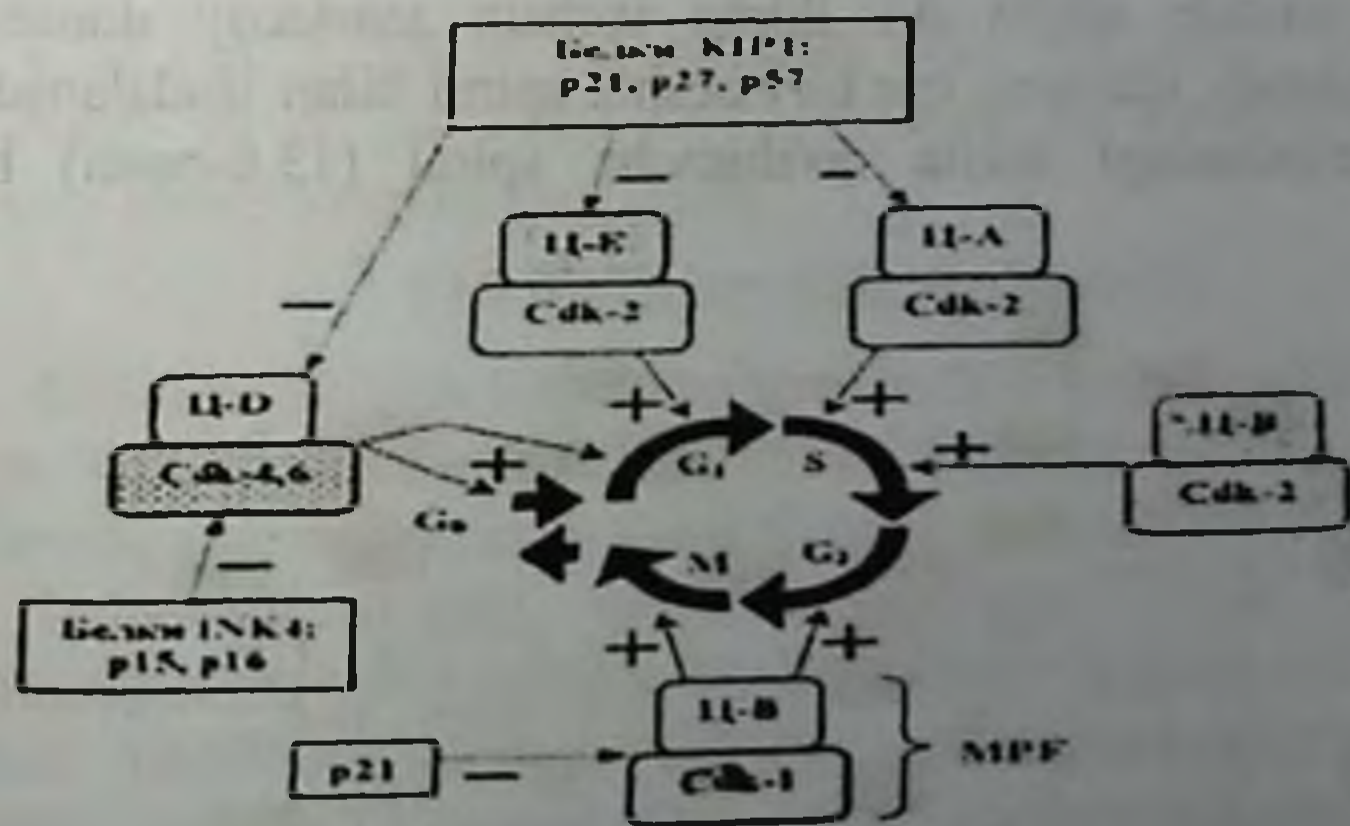
Siklining ma'lum nuqtalarida hujayra holatining o'zgarishi oqsil kinazalarining maxsus sinfi - siklinga bog'liq kinazalar (cdk) tomonidan tashkil etiladi. Cdk o'ziga xos qisqa muddatli oqsillar - siklinlar bilan komplekslar hosil qiladi, bu ularning faollashishiga olib keladi, shuningdek, boshqa yordamchi oqsillar bilan (13.4-rasm).

Cdk ning katalitik faolligi yuqori o'ziga xos bog'lanish joylari bilan ta'minlanadi, bu ikki substratning bir-biriga nisbatan to'g'ri joylashishiga va fosfat ATF ni substrat oqsilining kislorod OH guruhiga o'tkazishga imkon beradi. Oddiy katalitik subbirlilik minimal protein kinaz domenidan biroz kattaroqdir.

Siklinga bog'liq kinaz nomi shu erdan keladi. Siklin bilan bog'lanish juda muhim bo'lsa-da, CDK faolligini, substratni tanib olishni va subhujayra lokalizatsiyasini modulyatsiya qiluvchi qo'shimcha tartibga soluvchi subbirliklar va oqsil kinazlari mavjud. Cdk protein kinaz katalitik subbirliklari sifatida aniqlanadi. cdc2 genining mahsuloti, p34, siklin kinaz birligining prototipi hisoblanadi va boshqa siklin kinazalarni taqqoslash uchun standart bo'lib xizmat qiladi.

CDK3 past darajada ekspressirlanadi va uning funksiyasi hali aniqlanmagan, garchi u CDK2 kabi G1-S o'tishda ishtirok etadi deb taxmin qilinsa ham. CDK5 ning roli va u bilan o'zaro ta'sir qiluvchi siklinlar haqidagi ma'lumotlar qarama-qarshidir.

CDK4 va CDK6 G1-S o'tishini tartibga solishda ishtirok etadi. Ular D tipidagi siklinlarning asosiy katalitik sheriklari bo'lib, ular bilan Rb oqsili uchun substrat o'ziga xos xususiyatiga ega bo'lgan funksional komplekslar hosil qiladi. D1, D2 va D3 siklinlari CDK4 va CDK6 kinazalari bilan kompleks hosil qiladi. D1 siklinidan farqli o'laroq, oxirgi ikkita siklin CDK2 bilan ham birlashadi. 13.4-rasmda Cdk faollik davrlari bir-biriga mos kelishini ko'rsatadi. Siklinga bog'liq kinazlar (Cdk) hujayra mashinalar bo'lib, ular hujayra siklini ishga tushiradi va bu hodisalar uchun soat vazifasini bajaradi. Bundan tashqari, ular hujayra sikli hodisalarini nozik muvofiqlashtirish uchun hujayradan tashqari va hujayra ichidagi signallarni birlashtirgan axborot protsessorlari sifatida ishlaydi (13.5-rasm).



13.5-rasm Hujayra siklining turli fazalarini belgilovchi siklin-Cdk komplekslari. C-siklinlar, Cdk-tsiklinga bog'liq kinazlar, MPF-mitozni ogohlantiruvchi omil. To'rtburchaklar ramkalarda - murakkab inhibitorlar.

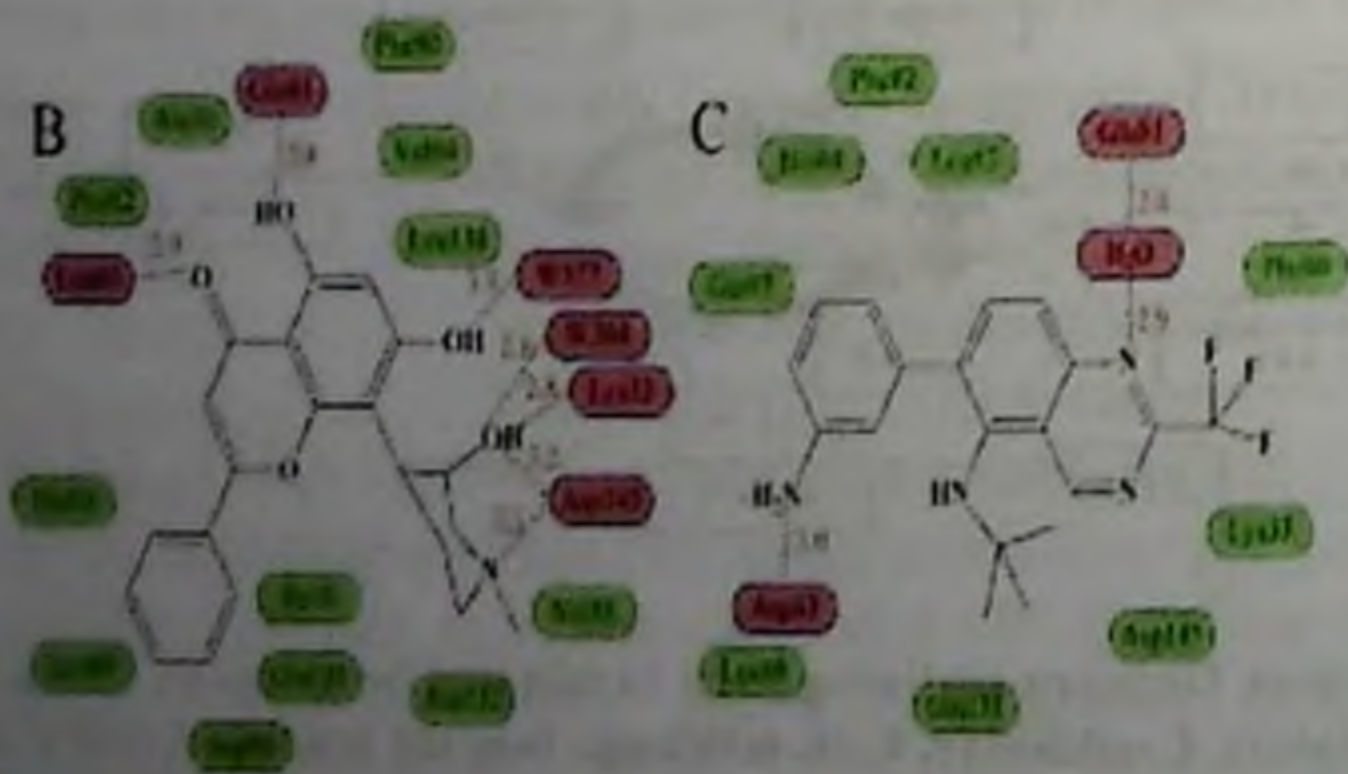
INK4 oqsillari (p15, p16, p18) CDK ingibitorlari

Bu oqsil oilasi to'rt a'zoni o'z ichiga oladi, shu jumladan o'sma supressorlari.

INK4 oilasining CDK ingibitorlari (p15INK4b, p16INK4a, p18 va p19) CDK4 va CDK6 kinazlari bilan o'zaro ta'sir qiladi. Ink4 oqsillari juda tor spesifiklikka ega: Cdk4 va Cdk6 ni bog'lash orqali ular D siklinlari bilan komplekslarini hosil bo'lishiga to'sqinlik qiladilar. P15 va p16 oqsillari o'sma supressorlari sifatida aniqlangan va ularning sintezi pRb oqsili tomonidan tartibga solinadi. Barcha to'rtta oqsil CDK4 va CDK6 ning siklinlar bilan o'zaro ta'sirini zaiflashtirish yoki ularni kompleksdan siqib chiqarish orqali faollashishini bloklaydi. Har ikkala p16 va p27 oqsillari CDK4 va CDK6 faolligini ingibirlash qobiliyatiga ega bo'lsa-da, birinchisi bu protein kinazalarga ko'proq yaqinlikka ega. Agar p16 kontsentratsiyasi CDK4/6 kinazalarning faolligini to'liq ingibirlaydigan darajaga ko'tarilsa, p27 oqsili CDK2 kinazning asosiy ingibitori bo'ladi.

Kip oilasining ingibitorlari (p27, p21 va p57) CDK+siklin komplekslarining faolligini bostiradi.

Cdk ni o'rganish hujayra siklini boshqarishning asosiy mexanizmlarini tushunish uchun juda muhimdir. Siklin A ning Cdk2 ga bog'lanishi ikkinchisining kinaz faolligini bir necha marta oshiradi. Bu Cdk ning konformatsion o'zgarishlari bilan izohlanadi. O'zgarishlar asosan Cdk ning T-sikliga tegishli (13.6-rasm). Kristall strukturasi tahlil qilish asosida siklin A1 ikkita ixcham markaziy domendan iboratligi aniqlandi, ularning har biri beshta spiral bilan ifodalanadi va C- va N-terminusdagi ikkita qo'shimcha spiral (13.6-rasm) bilan ifodalanadi.



13.6-rasm - Odanning Cdk2-siklin A1-ATP kompleksining tuzilishi.

Siklinkinaz kompleksining hosil bo'lishi PSTAIRE kinaz spiraling 3 va 5-siklin spirallari, shuningdek, kinazning C-terminal bo'lagi va siklinning N spirali bilan o'zaro ta'siri natijasida sodir bo'ladi (13.6-rasm). Katalitik subbirliklar Cdk yolg'iz harakat qilmaydi. Ularning hujayra sikli hodisalarini yoqish qobiliyati butunlay siklin subbirliklari bilan o'zaro ta'sirga bog'liq (13.6-rasm). Ushbu ma'lumotlar besh spiralli domen barcha siklinlarning yadrosi ekanligini ko'rsatadi. Ba'zi pRb oqsillari (p35) va transkripsiya omili TFIIB siklinga o'xshash domenlarga ega.

Cdk oilasining a'zolari taxminan 300 ga yaqin aminokislotalar qoldiqlaridan iborat. Ulardan 35-65% cdc2/cdc28 prototipi bilan bir xil.

Achitqilar hujayralari siklini tartibga solishda faqat bitta siklinga bog'liq kinaz, p34 ishtirok etadi. Hujayra siklining turli davrlarida bu davrga xos bo'lgan tegishli siklin va fosforilatli substratlar qo'shilishi bilan faollashadi. Umurtqali hayvonlarda cdc2/cdc28 ga o'xshash o'ndan ortiq oqsillar topilgan. Aksariyat Cdklar hujayra siklining kritik bo'lmagan regulyatorlaridir. Unda faqat cdc2/cdc28 strukturaviy gomologlari bo'lgan Cdk1 va Cdk2 asosiy rol o'ynaydi. Barcha CDK larning polipeptid zanjirlari yuqori (75% gacha) strukturaviy gomologi bilan tavsiflanadi. Ularning ishlashining o'ziga xosligi tegishli faollashtiruvchi siklinlar uchun noyob bog'lanish joylari bilan ta'minlanadi.

CDK1 A va B siklinlari bilan bog'lanadi va G2-M o'tishda ishtirok etadi.

CDK2 A, E, D2 va D3 siklinlari bilan bog'lanishi mumkin (lekin D1 emas) va S davridagi G1-S o'tishini va rivojlanishini tartibga soluvchi asosiy kinazlardan biridir.

13.3 Siklinlar: Cdk faollashuvi

Siklinlar siklinga bog'liq bo'lgan protein kinazlar (CDK) oilasining o'ziga xos faollashtiruvchilari bo'lib, hujayra siklini boshqaradigan genlarning transkripsiyasini induksiyasining asosiy ishtirokchilaridir.

Individual CDK ning faollashishi siklin bilan o'zaro ta'sirlashgandan so'ng uning kritik kontsentratsiyasiga erishilganda sodir bo'ladi. Siklinning hujayra ichidagi kontsentratsiyasining pasayishiga javoban, tegishli CDK teskari ravishda inaktivlanadi. Ba'zi CDKlar bir nechta siklin tomonidan faollashtirilgan. Bunday holda, bir guruh siklinlar, xuddi oqsil kinazalarini bir-biriga o'tkazgandek, ularni uzoq vaqt davomida faollashtirilgan holatda saqlaydi. CDK faollashuvining

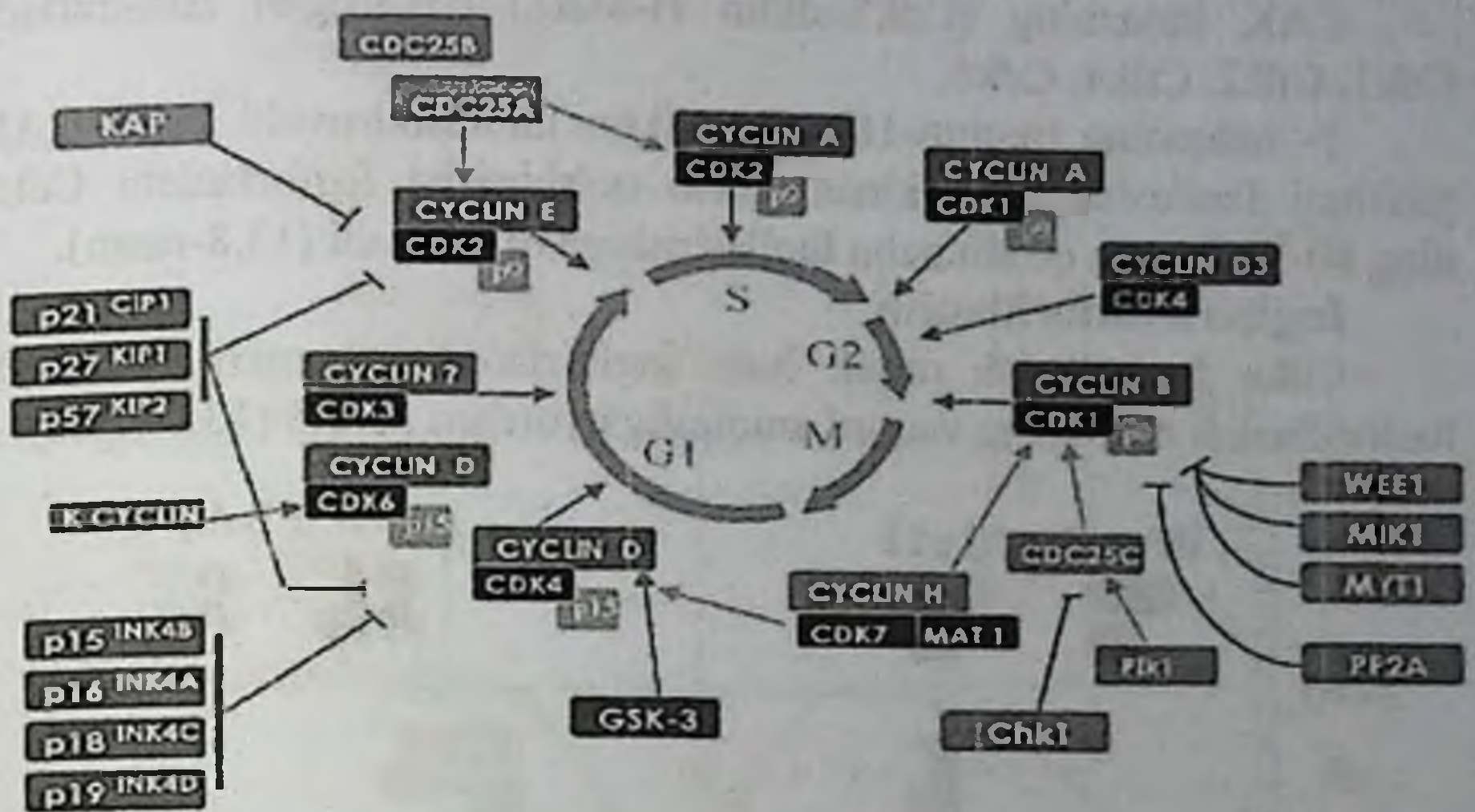
bunday to'liqlari hujayra siklining G1 va S fazalarida sodir bo'ladi (13.7-rasm).

O'sish omillari siklin D ning Ras-Raf-MAP signalizatsiya kaskadi orqali yoki cAMP ta'sirida transkripsiyasini rag'batlantiradi. Sut emizuvchilar hujayralarida o'sish omillari tomonidan proliferativ sukunat holatida rag'batlantirilganda, D tipidagi siklinlar siklin E dan ertaroq paydo bo'ladi. Siklin D1 mRNK va oqsil birinchi marta 6-8 soatdan keyin paydo bo'ladi, shundan so'ng hujayradagi D1 darajasi yuqori bo'lib qoladi. hujayra siklining oxiri.

Siklinlar qisqa yarimparchalanish davriga ega bo'lgan oqsillarni tez almashinadi, bu D tipidagi siklinlar uchun 15-20 minutni tashkil etadi. Bu ularning komplekslarining siklinga bog'liq kinazlar tomonidan dinamikligini ta'minlaydi. Aminokislota qoldiqlarining N-terminal ketma-ketligi, yo'q qilish qutisi deb ataladi, siklinlarning hujayra ichidagi degradatsiyasi uchun javobgardir. Bu ketma-ketlik siklinni proteaz tomonidan tanib olish belgisi bo'lgan ubikvitinga siklin konjugasiyasi uchun talab qilinadi. Ko'pincha sitozolik proteoliz proteazomalar tomonidan amalga oshiriladi.

Mitotik siklinlarni yo'q qilishda asosiy tartibga soluvchi komponent ko'p bo'linmali kompleks APC (anafazani rag'batlantiruvchi kompleks) yoki siklosomadir. Bu kompleks ubiquitinni siklinlar va boshqa substratlar bilan bog'laydi. Kompleks metafaza-anafazaga o'tish va mitozdan chiqish paytida turli xil substrat o'ziga xosligiga ega, chunki bu davrlarda u ikki xil tartibga soluvchi oqsillar - mos ravishda Cdc20 va Hct1 bilan bog'langan. APC substratlaridan biri - Cdc20 xromosomaning opa-singil xromatidalarini birlashtirgan sekurin va separin oqsil kompleksidir. APC-Cdc20 sekurinning yo'q qilinishiga yordam beradi; chiqarilgan separin ta'sirida qiz xromatidlari ajralib chiqadi, ya'ni anafazaga o'tish sodir bo'ladi. APC-Hct1 kompleksi siklin B ning ubikuitinatsiyasini amalga oshiradi. APC siklin A-Cdk2 tomonidan uzoq vaqtdan keyin faollashadi va G1 siklinlari tomonidan inaktivlanadi.

Ko'rinib turibdiki, barcha Cdks barcha siklinlarni bog'lamaydi, chunki ularning o'zaro ta'sirida sezilarli o'ziga xoslik mavjud (13.8-rasm).



13.8-rasm - Hujayra siklining turli fazalarini belgilovchi siklin-Cdk komplekslari va hujayraning boshqa endogen regulyatorlari.

Cdk-tsiklin o'zaro ta'sirining biokimyoviy xususiyatlari turli komplekslarda farqlanadi. Ba'zi komplekslar, masalan, siklin B - Cdk1, siklin D - Cdk2 va siklin E - Cdk2, hech qanday qo'shimcha komponentlar yoki modifikatorlar bo'lmaganda yuqori faollik bilan o'zaro ta'sir qiladi. Boshqalar, masalan, siklin A-Cdk2 va siklin H-Cdk7, treonin qoldig'ida Cdk bo'linmasi fosforillanmaguncha o'zaro ta'sir qilmaydi. G'ayrioddiy holatlarda uchinchi subbirlik talab qilinadi - Mat1.

Cdk ning aktivirlangan fosforillanishi.

Siklinlarning o'zlari tegishli CDKlarni to'liq faollashtira olmaydi. Faollashtirish jarayonini yakunlash uchun ushbu protein kinazalarning polipeptid zanjirlarida ma'lum aminokislotalar qoldiqlarining o'ziga xos fosforillanishi va defosforilatsiyasi sodir bo'lishi kerak. Ushbu reaksiyalarning aksariyati CDK7 siklin H bilan kompleksi bo'lgan CDK faollashtiruvchi kinaz CAK tomonidan amalga oshiriladi (13.8-rasm).

Cdk faollashuvi jarayonida CAK kinazining ta'siri bolishi mumkin

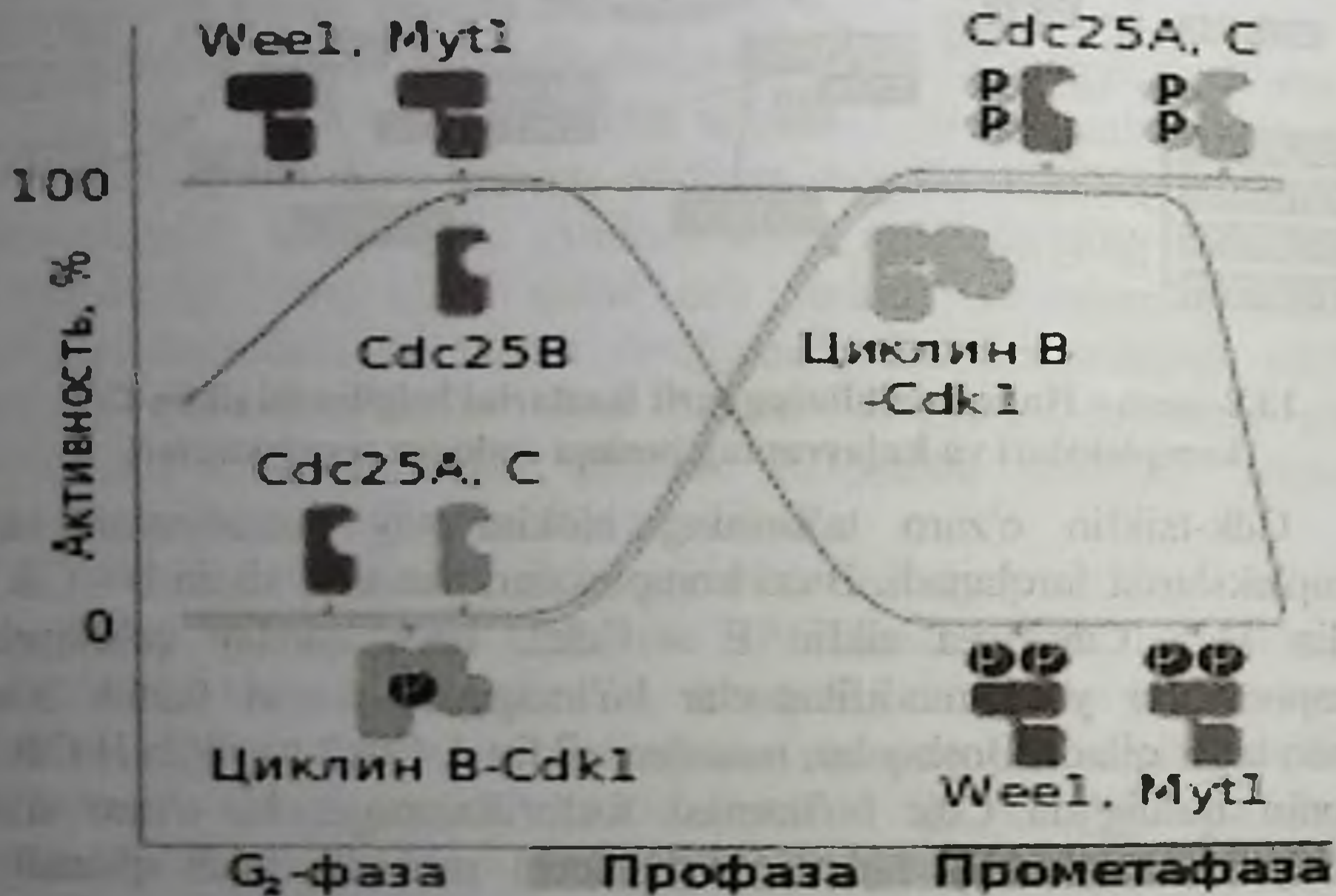
Cdk ni siklin bilan birlashtirishdan oldin ham, keyin ham amalga oshiriladi. Masalan, sutemizuvchilar hujayralarida CAK kinaz bilan fosforlanish siklin va Cdk subbirliklari bitta siklinkinaz kompleksiga birlashgandan keyingina sodir bo'ladi. Cdk faollashuvining teskari ketma-ketligi kurtakli achitqilarda kuzatiladi - CAK kinaz ishtirokida Cdk fosforillanishi siklin bilan bog'lanishidan oldin sodir bo'ladi.

CAK kinazning (Cdk7-siklin H-Mat1) o'rnatilgan substratlari: Cdk1, Cdk2, Cdk4, Cdk6.

T- halqaning treonin-161 ning siklin faollashtiruvchi kinaz CAK (siklinni faollashtiruvchi kinaz) bilan qo'shimcha fosforlanishi Cdk2 ning 80-300 marta qo'shimcha faollashishiga olib keladi (13.8-rasm).

Ingibirli fosforillanish

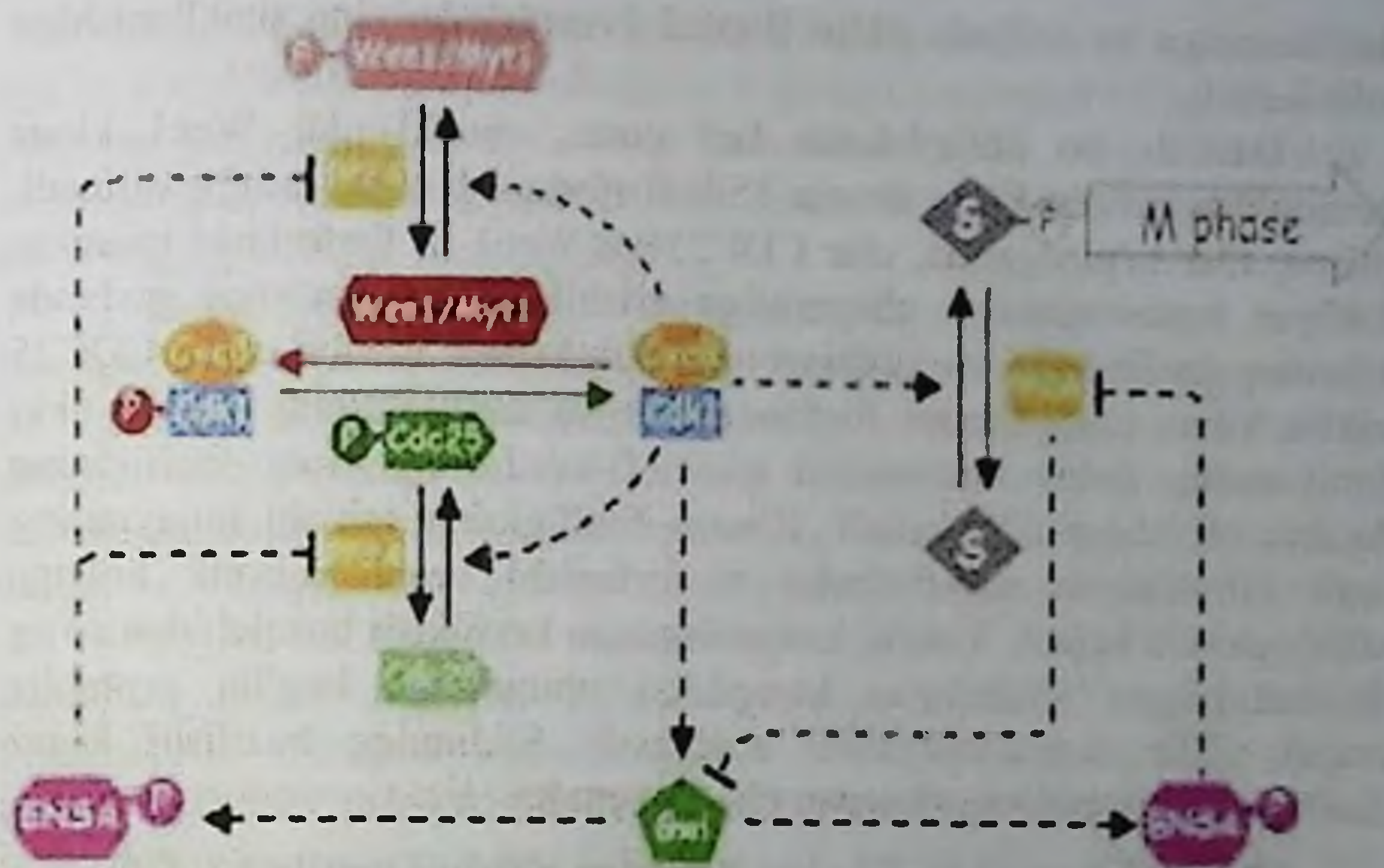
Cdks fosforlanish orqali ham ingibirlanishi mumkin. Inhibitor fosforillanish mitozning vaqtini aniqlashga yordam beradi (13.9-rasm).



13.9-rasm - B-cdc2 (Cdk1) siklin kompleksining faolligini tartibga solish: inhibitor fosforillanish va defosforilatsiya.

Mitozdan oldin siklin B-cdc2 (Cdk1) kompleksi treonin-14 va tirozin-15da fosforlanish orqali inaktivlanadi. Umurtqali hayvonlarda qoldiqlarning fosforlanishi mos ravishda Myt1 va Wee1 tomonidan amalga oshiriladi. G₂ ning oxiriga kelib, bu ikki qoldiqning o'tkir defosforilatsiyasi cdc2 ni faollashtiradi va mitozni qo'zg'atadi. Defosforilatsiya CDC25 oilasining fosfatazalari tomonidan amalga oshiriladi (13.9-rasm).

Mitoz jarayonida Myt1, Wee1 va CDC25 fosforlanadi. Bu Myt1 faolligini pasaytiradi, CDC25 faolligi esa oshadi, bu esa cdc2 faollashishiga yordam beradi (13.10-rasm).



13.10-rasm - Mitoz jarayonida Myt1, Wee1 va CDC25 fosforlanadi. Bu Myt1 faolligini pasaytiradi, CDC25 faolligi esa oshib, cdc2 faollashuviga yordam beradi.

Qizig'i shundaki, siklin B-cdc2 CDC25 ni bevosita faollashtirishi mumkin. Bu to'g'ridan-to'g'ri qayta aloqa dramatik defosforilatsiyani ta'minlaydi. CDC25 ning fosforlanishida siklin B-cdc2 dan tashqari, Polo kinazalar oilasining vakillari (sut emizuvchilarda Polo kabi kinaz 1 - Plk1) ishtirok etadilar.

Shunday qilib, hujayra siklining barcha hodisalarini qo'zg'atuvchi molekulyar mexanizmlar qaytarilmas va uzluksiz ta'sir ko'rsatadigan "hamma" yoki "hech narsa" tamoyili asosida ishlashi kerak.

Hujayra siklini Cdk faolligining ko'tarilishi va pasayishi dasturining mahsuloti sifatida ko'rish mumkin. Bitta siklin kinaz kompleksining faollashuvi nafaqat hujayra tsikli hodisalarini keltirib chiqarishi, balki keyingi siklinkinaz kompleksining faollashuvini ham boshlashi kerak. Shunday qilib, bir kompleksdan ikkinchisiga signal uzatishning dasturlashtirilgan ketma-ketligi hujayra siklining soatini ifodalaydi.

Cdk faolligining avtonom tebranishining klassik misoli Ksenopus qurbaqasining dastlabki embrionida siklin B-cdc2 kompleksi (MPF) faolligining tebranishidir. A-cdc2 siklin kompleksi vayron bo'lgandan va S fazadan chiqqandan so'ng, siklin B ning doimiy sintezi uning

to'planishiga va natijada siklin B-cdc2 komplekslarining shakllanishiga olib keladi.

Dastlab, bu komplekslar faol emas, chunki ular Wee1 kinaz tomonidan treonin-14 va tirozin-15da fosforlanish orqali inhibe qilinadi. Biroq, ular to'planganda, ular CDC25 va Wee1 ni fosforlashi mumkin bo'lgan kontsentratsiya chegarasiga erishiladi, bu esa mos ravishda ularning faollashishi va inhibitsiyoniga olib keladi. Fosforlangan CDC25 siklin kinaz kompleksini fosforsizlaydi va faollashtiradi. Ushbu ikki jarayonning ijobiy munosabati siklin B-cdc2 ning kinaz faolligining keskin oshishiga olib keladi. Kinaza faolligining oshishi hujayraning turli xil hujayra substratlarini fosforlanishi orqali mitotik holatga o'tishiga olib keladi. Yaxshi tushunilmagan kechikish bosqichidan so'ng faollashtirilgan siklinkinaz kompleksi ubiquitinga bog'liq proteoliz orqali siklin degradatsiyasini boshlaydi. Siklinning buzilishi kinaz faolligini yo'qotadi va mitozdan chiqib ketadi.

13.4 Hujayra sikli: G1-dan S-fazaga o'tishni tartibga solish

Hujayra sikli boshlanishidan oldin, p27 oqsili yuqori konsentratsiyada bo'lib, siklinlar tomonidan CDK4 yoki CDK6 protein kinazalarining faollashishini oldini oladi. D1, D2 yoki D3.

Bunday sharoitda hujayra mitogen qo'zg'atuvchini olguncha G0 fazasida yoki erta G1 fazasida qoladi. Adekvat stimulyatsiyadan so'ng, p27 inhibitori kontsentratsiyasi siklinlarning hujayra ichidagi tarkibining ortishi fonida pasayadi. Bu CDK ning faollashishi va oxir-oqibat, pRb oqsilining fosforillanishi, E2F bilan bog'liq transkripsiya omilining chiqarilishi va mos keladigan genlarning transkripsiyasini faollashtirish.

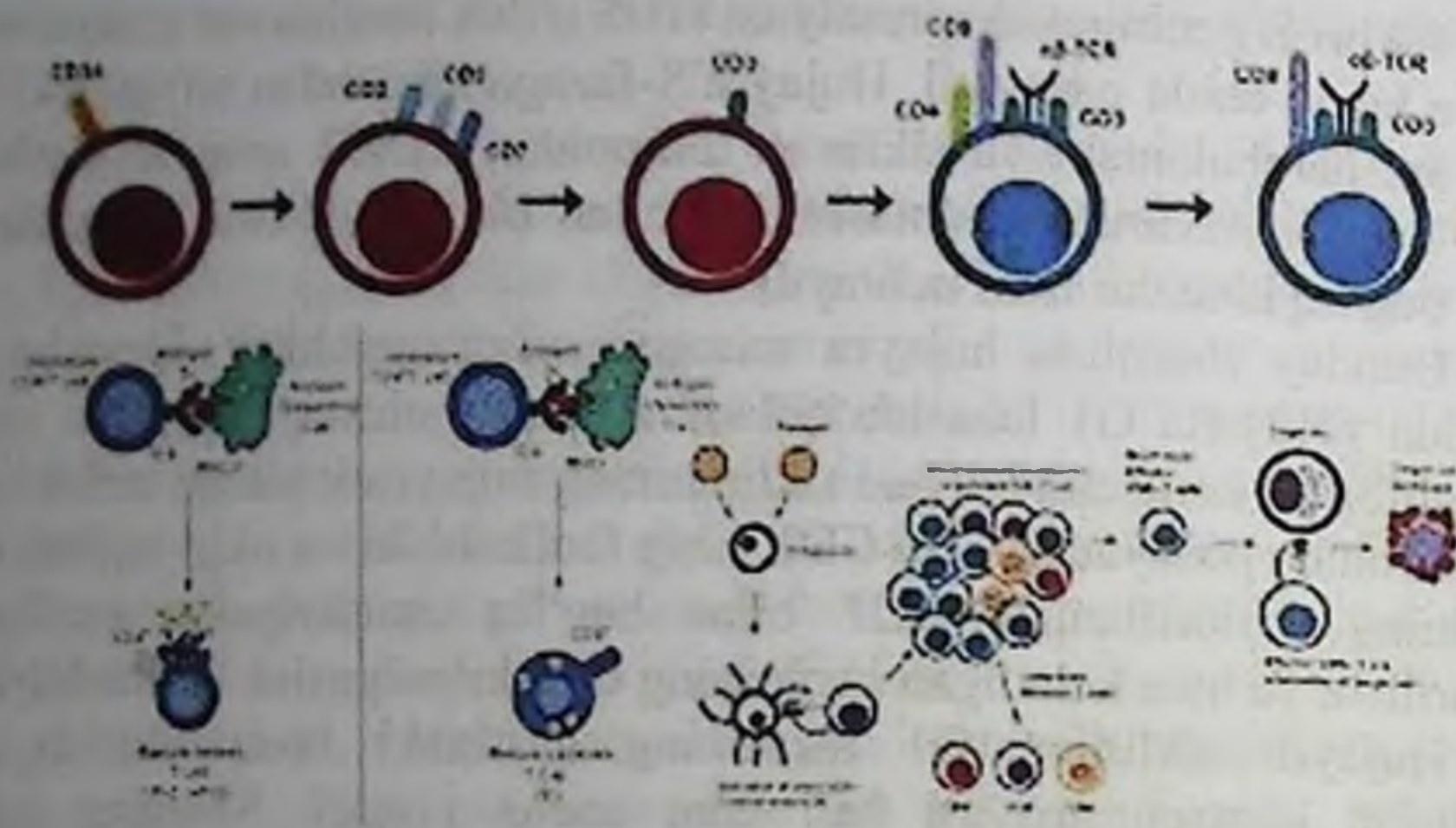
Hujayra siklining G1 fazasining dastlabki bosqichlarida p27 oqsilining kontsentratsiyasi hali ham ancha yuqori. Shuning uchun hujayralarni mitogen stimulyatsiyasi to'xtatilgandan so'ng, ushbu oqsilning tarkibi tezda kritik darajaga tiklanadi va hujayra sikli orqali hujayralarning keyingi o'tishi tegishli G1 bosqichida bloklanadi. Bu teskarilik, uning rivojlanishidagi G1 fazasi o'tish nuqtasi deb ataladigan ma'lum bir bosqichga etgunga qadar mumkin bo'ladi, shundan so'ng hujayra bo'linishga sodiq bo'ladi va o'sish omillarini atrof-muhitdan olib tashlash hujayra siklini inhibe qilish bilan birga bo'lmaydi. Garchi shu vaqtdan boshlab hujayralar tashqi signallardan mustaqil bo'lib qolishsa ham, ular hujayra siklini o'z-o'zini boshqarish qobiliyatini saqlab qoladilar.

Siklin E genining ekspressiyasi G1/S o'tish davrida tor maksimalga ega va keyin tezda pasayadi. Hujayra S-fazaga kirgandan so'ng, siklin E ning tez parchalanishi va siklin A tomonidan CDK2 ning faollashishi sodir bo'ladi, siklinlarni almashtirish bilan birga, siklinni almashtirish bilan bog'liq kinazlar ham uchraydi

Bunday sharoitda hujayra mitogen qo'zg'atuvchini olguncha G0 fazasida yoki erta G1 fazasida qoladi. Adekvat stimulyatsiyadan so'ng, p27 inhibitori kontsentratsiyasi siklinlarning hujayra ichidagi tarkibining ortishi fonida pasayadi. Bu CDK ning faollashishi va oxir-oqibat, pRb oqsilining fosforillanishi, E2F bilan bog'liq transkripsiya omilining chiqarilishi va mos keladigan genlarning transkripsiyasini faollashtirish.

Hujayra siklining G1 fazasining dastlabki bosqichlarida p27 oqsilining kontsentratsiyasi hali ham ancha yuqori. Shuning uchun hujayralarni mitogen stimulyatsiyasi to'xtatilgandan so'ng, ushbu oqsilning tarkibi tezda kritik darajaga tiklanadi va hujayra sikli orqali hujayralarning keyingi o'tishi tegishli G1 bosqichida bloklanadi. Bu qaytuvchanlik, uning rivojlanishidagi G1 fazasi o'tish nuqtasi deb ataladigan ma'lum bir bosqichga etgunga qadar mumkin bo'ladi, shundan so'ng hujayra bo'linishga sodiq bo'ladi va o'sish omillarini atrof-muhitdan olib tashlash hujayra siklini inhibe qilish bilan birga bo'lmaydi. Garchi shu vaqtdan boshlab hujayralar tashqi signallardan mustaqil bo'lib qolishsa ham, ular hujayra siklini o'z-o'zini boshqarish qobiliyatini saqlab qoladilar.

Siklin E genining ekspressiyasi G1/S o'tish davrida tor maksimalga ega va keyin tezda Hujayra S-fazaga kirgandan so'ng, siklin E ning tez parchalanishi va siklin A tomonidan CDK2 ning faollashishi sodir bo'ladi. S fazasida siklin A maksimal darajaga etadi siklinlarni almashtirish bilan birga, siklinni almashtirish. -bog'liq kinazlar ham uchraydi (13.12-rasm).



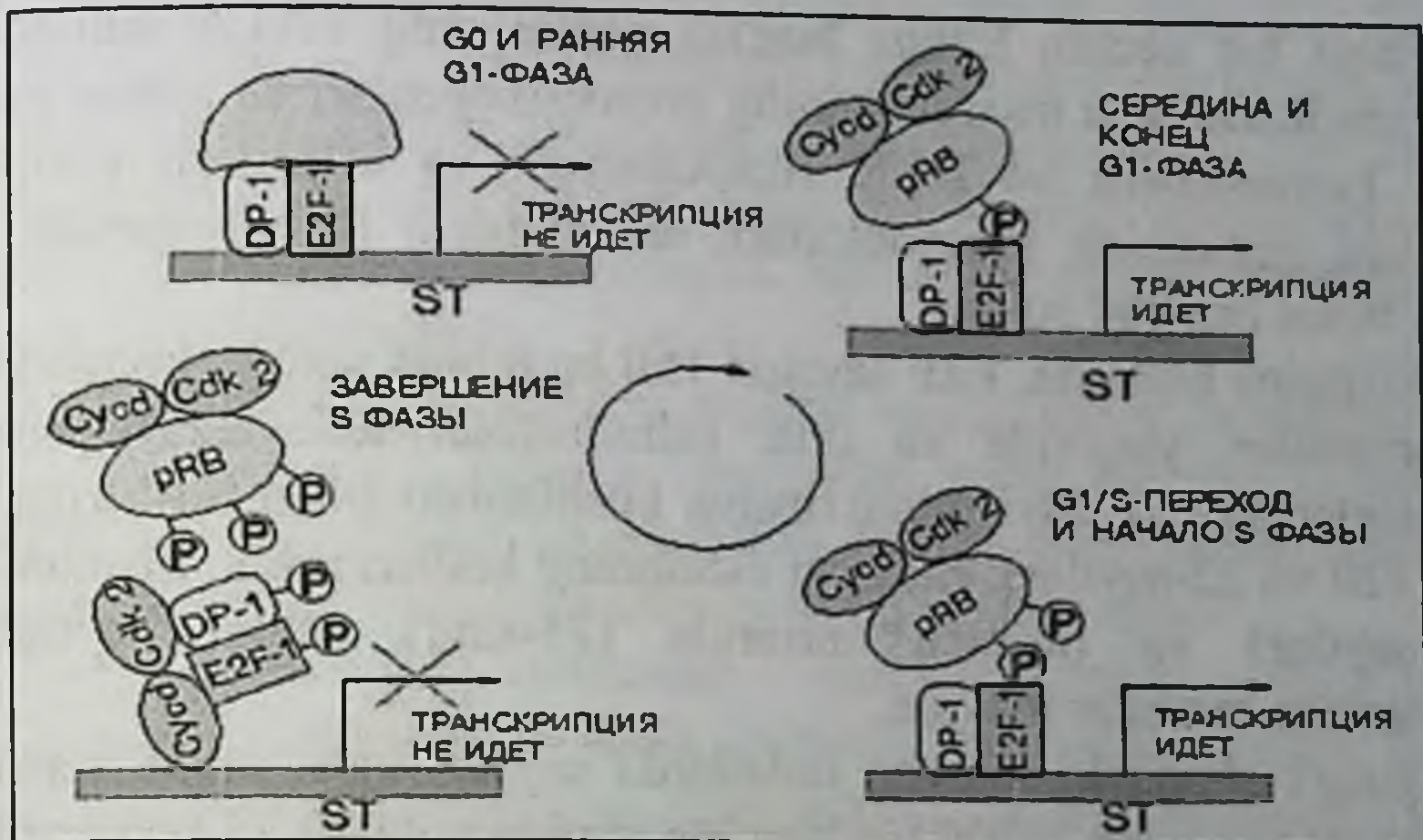
13.13-rasm. Proliferativ signallar turli hujayra ichidagi signalizatsiya yo'llari orqali gen transkripsiyasini keltirib chiqaradi bu uning E2F omillari bilan bog'lanishiga to'sqinlik qiladi (13.13-rasm). "Erkin" deb ataladigan E2F paydo bo'ladi, ular fermentlarni va PK2 replikasiya omillarini kodlovchi E2Fga bog'liq genlarning transkripsiyasini (replikativ kompleks 2), tuzatish va gistonlarni faollashtiradi. E2F1 gen transkripsiyasining avtoaktivatsiyasi proliferatsiya signalini sezilarli darajada oshiradi

13.5 Siklinga bog'liq bo'lgan individual kinazalarning faolligini hujayra siklining turli davrlarida siklinlar tomonidan tartibga solish

Mitagenlar ta'sirida birinchi bo'lib faollashganlar qatoriga siklin oqsillarini kodlovchi genlar kiradi, ular hujayra ichidagi konsentratsiyasi hujayralar siklidan o'tishi bilan o'zgarib, ma'lum bosqichlarda maksimal darajaga yetganligi sababli o'z nomini oldi. G1 fazasining o'rtalarida va oxirida siklinkinaz komplekslari CycD/Cdk2 (yoki CycD/Cdk4, CycD/Cdk6) hujayra yadrosida faol bo'lib, ular, aftidan, pRB oqsilining fosforlanishini boshlaydi, bu uning ajralishiga olib keladi.

E2F. Chiqarilgan E2F o'z geni va siklin E genining transkripsiyasini, shuningdek d-nukleotidlar va DNK, dihidrofolat reduktaza, timidin kinaz, DNK polimeraza va PCNA (replikativ kompleks 2, RK2) sintezi uchun fermentlarni rag'batlantiradi. DNK replikasiyasida ishtirok etadigan fermentlar va oqsillar, PK1 replikasiya kompleksi E2F dan mustaqil ravishda sintezlanadi va replikasiyaning kelib chiqishida allaqachon DNK bilan bog'langan.

Hosil bo'lgan CDK2-siklin E kompleksi pRb ni yanada faolroq fosforlaydi. RB oqsilining faolligi uning fosforlanishi bilan tartibga solinadi va hujayra siklining bosqichiga bog'liq (13.15-rasm -1KEL)



13.15-rasm - Hujayra siklining bosqichiga qarab C-D-Cdk2 komplekslari bilan

G1/S o'tish va erta S bosqichida E2F-1 omilining darajasi barcha E2F-ga bog'liq genlarning transkripsiya faollashuvini ta'minlash uchun etarlicha yuqori. Shu bilan birga, pRB ning fosforillanishi davom etmoqda, lekin asosan bu davrda faollikning eng yuqori nuqtasiga ega bo'lgan boshqa siklin kinaz kompleksi, ya'ni CycE/Cdk2.

Siklin E genining ekspressiyasi G1/S o'tish davrida tor maksimalga ega bo'lib, keyin tez pasayadi.

S fazasida siklin A maksimal darajasiga etadi, siklinlarni almashtirish bilan birga, siklinni almashtirish. -bog'liq kinazlar ham uchraydi. Cdk2 genining ekspressiyasi to'xtaydi, Cdc2 darajasi esa maksimal darajaga etadi. Shunday qilib, S-fazada pRB oqsilining qo'shimcha fosforillanishi siklinkinaz kompleksi CycA/Cdc2 tomonidan amalga oshiriladi; S-fazaning oxirida bu kompleks E2F-ning DNK-bog'lash domenida joylashgan joylarni fosforlaydi. 1 oqsili va DP1 oqsilining DNK bilan bog'lanish sohasi bu E2F1 ning DNKni bog'lash qobiliyatini to'liq bostiradi. Bu E2F ga bog'liq genlarning transkripsiyasini bostirishga va natijada replikatsiyaning tugashiga va hujayraning mitozga tayyorlanishiga sezilarli hissa qo'shadi.

S-fazaning tugashi va hujayraning G2 fazasiga o'tishi uchun signal CDK2 faollashuvining bir vaqtning o'zida to'xtatilishi bilan boshqa

CDK1 kinazining (yoki Cdc2 deb ham ataladi) siklin A tomonidan faollashishi hisoblanadi.

13.6 E2Fga bog'liq genlar

Faqat bir nechta E2Fga bog'liq genlar aniq TATA qutisini o'z ichiga oladi. Bularga myc oilasining protoonkogenlari va giston genlari kiradi. Fermentlarni va DNK replikatsiyasi va ta'mirlash omillarini kodlovchi genlarning promouterlari, shuningdek, B-myb genida aniq TATA boksi mavjud emas.

Ko'pgina hollarda, E2F saytlari 150 bp ichida yotadi. transkripsiya boshlanishidan yuqorida va dhfr (dihidrofolat reduktaza) genining promotorlarida E2F joyi transkripsiya boshlanishi bilan bir-biriga mos keladi (20 va 22-saytlar). Birinchi eksonning kodlanmagan qismida (11, 24,26-saytlar) va birinchi intronda (25-sayt) ushbu saytlarning joylashishiga misollar mavjud.

Qizig'i shundaki, barcha holatlarda saytlar juda yaqin masofada joylashgan: to'g'ridan-to'g'ri bir-birining yonida yoki 10-15 bp masofada. P107 genidagi ikkita E2F joyi birgalikda harakat qiladi - ularning mavjudligi sinergik transkripsiya faollashuvini ta'minlaydi. 5' sayt mutatsiyalari promotor faolligining 30% ni saqlab qolishga olib keladi, 3' sayt mutatsiyalari esa promotor faolligini mahalliy saytlar tomonidan taqdim etilgan faollik darajasining 9% gacha kamaytiradi.

Transkripsiya boshlanishiga nisbatan E2F saytlarining joylashishi, ularning tuzilishi, konteksti va turli genlarning tartibga soluvchi hududlarida nukleotid muhiti sezilarli darajada farqlanadi. Ko'rinib turibdiki, E2F saytlarining bu xilma-xilligi E2F oilasi a'zolari tomonidan ularning bog'lanishini modulyatsiya qilish uchun bir nechta mexanizmlarni va shuning uchun hujayra siklining turli bosqichlarida ushbu genlarning transkripsiyasini tartibga solishning turli mexanizmlarini ta'minlaydi.

13.7 Hujayra siklining S fazasi: DNK sintezi

Hujayra siklining markaziy hodisasi DNK replikatsiyasidir. DNK replikatsiyasi juda katta miqdordagi fermentlar va oqsil omillarining mavjudligini talab qiladi; yangi sintez qilingan DNKni xromatinga shakllash ham gistonlarning de novo sintezini talab qiladi. Ushbu oqsillarni kodlaydigan genlarning ifodasi S-fazaga xosdir.

Sutemizuvchilar hujayralari S-ga kirgandan keyin faza, CDK2 siklin A bilan bog'lanadi. Siklin A sintezi hujayralar G1/S chegarasiga yaqinlashganda boshlanadi va oqsil darhol yadroga o'tkaziladi. Siklin A

funktsiyalarining buzilishi sutemizuvchilar hujayralarida DNK sintezini inhibe qiladi. Bu shuni ko'rsatadiki, siklin A-CDK2 kompleksi S fazasi orqali o'tish uchun juda muhimdir. Bu komplekslar 1 va 2 replikatsiya komplekslari oqsillarini (RK1, RK2) fosforillaydi, ular G1 fazasida allaqachon replikatsiya kelib chiqishida DNK bilan fosforlangan holatda bog'lanadi va replikatsiya jarayonini faollashtiradi. Biroq, fosforlangan holatda replikatsiya qilinganidan so'ng, bu oqsillar replikatsiya kelib chiqishi bilan qayta bog'lana olmaydi. Bu har bir replikonda bitta DNK replikatsiyasini ta'minlaydi.

Kechikish DNK sintezining tugashi va mitozning boshlanishi (G2 fazasi) orasidagi davr hujayra tomonidan sodir bo'lgan xromosoma replikatsiyasining to'liqligi va aniqligini nazorat qilish uchun ishlatiladi. Ushbu davrdagi voqealar ketma-ketligi aniq ma'lum emas.

Siklin E ga antikorlar sutemizuvchilar hujayralariga mikroin'ektsiya qilinganda, DNK sintezi bostiriladi. Siklin E ning haddan tashqari ko'payishi bilan hujayralar G1 fazasidan tezroq o'tadi va S ga kiradi va bunday hujayralar kamroq o'sish omillarini talab qiladi.

G2 bosqichi

Replikatsiya tugallangandan so'ng, genetik material takrorlanganda, hujayra G2 postsintetik fazaga kiradi, bu davrda mitozga tayyorgarlik sodir bo'ladi. Mitoz (M faza) natijasida hujayra ikkita qiz hujayraga bo'linadi. Odatda fazalar o'rtasida ikkita muhim o'tish mavjud - G1 / S va G2 / M.

Doimiy aylanib yuruvchi hujayralarda siklin B S-fazada sintezlana boshlaydi, hujayralar G2 bo'ylab o'tgan sari uning darajasi oshadi, mitozda cho'qqiga yetadi va anafazada keskin pasayadi. CyclinB dastlab sitoplazmada to'planadi, shundan so'ng u mitozning profilaktikasida yadro membranasi vayron bo'lishidan oldin darhol yadroga kiradi. Shuning uchun CDK1 va mitotik siklinning MPF (maturatsiyani rag'batlantiruvchi omil) kompleksining funktsiyalari qisman B siklinining yadroviy transporti bilan tartibga solinishi mumkin. MPF normal xromosoma kondensatsiyasi va yadro qobig'ining yo'q qilinishi uchun zarur. A siklin mitozning oxirida siklin B dan oldin darhol parchalanadi.

M-Cdk ning faollashishi: shpindel yig'ilishini keltirib chiqaradi, xromosoma kondensatsiyasini, yadro qobig'ining erishini, tubulin sitoskeletini qayta tashkil qilishni, Golji apparati va ERni qayta tashkil etishni keltirib chiqaradi. M-Cdk ning inaktivatsiyasi teskari yo'nalishdagi o'zgarishlarni keltirib chiqaradi.

13.8 Hujayra sikli: G2 dan M fazaga o'tishi regulatsiyasi

Hujayraning mitoz orqali o'tishi qat'iy nazorat qilinadi - keyingi bosqichlar avvalgilarini to'liq tugatmasdan boshlanmaydi. Hujayraning DNK shikastlanishiga javobi mitoz boshlanishidan oldin sodir bo'lishi mumkin. Keyin p53 oqsili p21 inhibitori sintezini induktsiya qiladi, bu esa CDK1 kinazini siklin B tomonidan faollashishiga to'sqinlik qiladi va hujayra siklining keyingi rivojlanishini kechiktiradi. Ba'zi inhibitorlar xamirturushda aniqlangan, ammo ularning hayvonlar gomologlari noma'lum bo'lib qolmoqda. Masalan, mitozning metafazasida kondensatsiyalangan xromosomalarning mitotik shpindelga biriktirilishini nazorat qiluvchi achitqilar oqsillari BUB1 va MAD2 tasvirlangan. Ushbu komplekslarning to'g'ri yig'ilishi tugagunga qadar MAD2 oqsili CDC20 protein kinazasi bilan kompleks hosil qiladi va uni inaktiv qiladi. CDC20 faollashgandan so'ng oqsillarni fosforlaydi va natijada sitokinez paytida ikkita gomolog xromatidning har birining ajralishini oldini oladigan funktsiyalarini bloklaydi.

Mitoz: inisiatsiya

Hujayra bo'linishini (mitoz) boshlash uchun signal hujayra siklining M fazasini rag'batlantiradigan MPF keladi. MPF CDK1 (Cdc2) kinaz kompleksi bo'lib, uning faollashtiruvchi siklinlari A yoki B. Ko'rinib turibdiki, CDK1-siklin A kompleksi S fazasini yakunlashda va hujayrani bo'linishga tayyorlashda muhimroq rol o'ynaydi, CDK1-siklin-B esa. kompleks, birinchi navbatda, mashqlar mitozga o'tish ketma-ketligini va profilaktika va metafaza o'tishini nazorat qiladi.

B1 va B2 siklinlari G1 fazasida juda past konsentratsiyalarda mavjud. Ularning konsentratsiyasi S ning oxirida va butun G2 fazalarida ortib, mitoz davrida maksimal darajaga etadi, bu esa ularning kompleksda siklin A ni CDK1 bilan almashtirishiga olib keladi. Biroq, bu protein kinazni to'liq faollashtirish uchun etarli emas. CDK1 ning funktsional qobiliyatiga ma'lum aminokislotalar qoldiqlarida bir qator fosforillanishlar va defosforilatsiyalardan so'ng erishiladi. Bunday nazorat DNK sintezi tugagunga qadar hujayralar mitozga kirishining oldini olish uchun zarur.

Hujayra bo'linishi faqat siklin B bilan kompleksda bo'lgan CDK1 ning Thr-14 va Tyr16 qoldiqlarida WEE1 protein kinazasi, shuningdek, Thr-161 qoldig'ida CAK protein kinazasi tomonidan fosforlanganidan keyin boshlanadi va keyin Thr da fosforsizlanadi. CDC25 fosfataza tomonidan -14 va Tyr-15 qoldiqlari.

Shu tarzda faollashgan CDK1 yadrodagi strukturaviy oqsillarni, jumladan nukleolin, yadro laminlari va vimentinni fosforlaydi. Shundan so'ng yadro mitozning sitologik jihatdan aniq ajralib turadigan bosqichlaridan o'ta boshlaydi.

Mitozning birinchi bosqichi, profilaktika, CDK1 to'liq fosforlangandan so'ng boshlanadi, so'ngra metafaza, anafaza va telofaza bo'lib, hujayra bo'linishi, sitokinez bilan tugaydi. Ushbu jarayonlarning natijasi replikatsiya qilingan xromosomalarning, yadro va sitoplazmatik oqsillarning, shuningdek, boshqa yuqori va past molekulyar birikmalarning qiz hujayralarga to'g'ri taqsimlanishidir. Sitokinez tugagandan so'ng, CDK1 ning inaktivatsiyasi bilan birga siklin B yo'q qilinadi, bu hujayraning hujayra siklining G1 yoki G0 fazasiga kirishiga olib keladi.



13.16-rasm - Hujayra siklining sxemasi.

Hujayra aylanishi davom etar ekan, uning hodisalari to'g'ri sodir bo'lishini tekshirish uchun mexanizmlar bo'lishi kerak. Ushbu tekshirish nazorat punktlari deb ataladigan hujayra siklining bir necha nuqtalarida amalga oshiriladi. Bu nuqtalar G1, G2 va M fazalarining oxirida joylashgan. Birinchi nuqtada DNK shikastlanishining mavjudligi tekshiriladi, ikkinchisida DNKning shikastlanishi bilan birga replikasiyaning to'liqligi, uchinchisida mitozda xromosomalarning to'g'ri ajratilishi tekshiriladi. Agar yuqoridagi buzilishlardan biri aniqlansa, hujayra aylanishi to'xtaydi, bu ularni tuzatish uchun vaqt beradi. Agar tuzatish imkonsiz bo'lsa, apoptoz mexanizmi - dasturlashtirilgan hujayra o'limi - ishga tushiriladi.

Hujayra sikli bo'ylab harakatlanish turli siklin-Cdk komplekslarining ketma-ket faollashishi bilan belgilanadi. Ularning ko'pchiligi onkogenlarning faollashtiruvchi ta'siri yoki o'simta bostiruvchilarning inhibitiv ta'sirining maqsadlari hisoblanadi.

Odatda fazalar o'rtasida ikkita muhim o'tish mavjud - lekin keyinchalik boshqa nuqtalar ham kashf qilindi.

Bunday kamida to'rtta nuqta mavjud: G1 nuqtasi, S nuqtasi, G2 nuqtasi va mitozdagi "milni yig'ish nazorati nuqtasi" (13.1-jadval

G1da restriksiyaning nazorat nuqtasi

S-fazaga kiradigan hujayra uchun asosiy talab DNKning buzilmaganligidir, chunki shikastlangan DNKning replikatsiyasi genetik anormalliklarning naslga o'tishiga olib keladi (13.1-jadval).

13.1-jadval – Nazorat nuqtalarining xarakteristikallari

| | Возможные причины остановки цикла в данной точке |
|--|--|
| Сверточная точка G ₁ -перелома | 1. Двухцепочечные разрывы в молекулах ДНК (под действием УФ - и γ-облучения, алкилирующих агентов и т.д.). 2. Неправильная сегрегация хромосом во время предыдущего деления (в т.ч. проявляющаяся образованием микроядер). 3. Разрушение системы микрофиламентов. |
| Сверточная точка S-перелома | Недостаток нуклеотидов в клетке. |
| Сверточная точка G ₂ -перелома | 1. Незавершенность репликации каких-либо участков хромосом. 2. Крупные повреждения ДНК (сохранившиеся с предыдущих периодов или полученные вновь). |
| Сверточная точка метафазы митоза | Неправильная сборка веретена деления. Например, неприкрепление кинетохоры какой-либо хроматиды к микрофиламкам веретена деления. В частности, это может быть следствием неправильного функционирования белков (из семейств BUB и MAD), ассоциированных с кинетохорами. |

Shuning uchun DNKning uzilishiga olib keladigan mutagen ta'sirga duchor bo'lgan hujayralar (UV va g-nurlanish, alkillashtiruvchi birikmalar va boshqalar) G1da to'xtaydi va S-fazaga kirmaydi.

G1 ning tutilishi nafaqat DNKga zarar etkazuvchi ta'sirlardan so'ng, balki boshqa sharoitlarda ham, shu jumladan xromosomalar sonining buzilishiga olib keladigan holatlarda ham kuzatiladi - oldingi hujayra sikli mitoz bilan tugamaganda (xromosoma divergentsiyasi), mitoz jarayonida xromosomalar noto'g'ri ajratilganda, mikronukleuslarning shakllanishiga olib keladi, shuningdek, keyinchalik mitotik kasalliklarga olib kelishi mumkin bo'lgan mikronaychalar yo'q qilinadi. G1-dagi jarayon qaytarilmas bo'lishi mumkin, chunki g-

nurlanish holatida kuzatilgan yoki uni keltirib chiqargan omil ta'sirining tugashi bilan tugaydigan, masalan, normal maydon bo'lganda. nukleotidlar tiklanadi yoki miknaychalar tizimini tiklash paytida boladi.

Hujayra o'sishini tartibga solish mexanizmi, shu jumladan o'ziga xos cheklash nuqtasi R, mavjudligi yoki boshqa hujayralar bilan o'zaro ta'siri tufayli bo'linishni to'xtatishi kerak bo'lgan hujayralar xavfsiz to'xtash nuqtalariga (R) muhtoj bo'lganligi sababli paydo bo'lishi mumkin deb taxmin qilinadi. Bu tinim holatda hibsga hujayralar hujayra siklining G0 fazasiga kiradi.

S-fazada restriksiyaning nazorat nuqtasi

S fazadagi nazorat punkti to'g'ri DNK replikatsiyasini nazorat qiladi. Xususan, S-fazasining ma'lum bir davrida tohtashi G1 da biron bir sababga ko'ra to'xtamagan hujayralardagi nukleotidlarning etishmasligi bilan kuzatiladi.

G2 bosqichida restriksiyaning nazorat nuqtasi

DNKning shikastlanishi va boshqa buzilishlar nafaqat G1 va S fazalarida, balki hujayra siklining G2 fazalarida ham hujayraning to'xtatilishiga olib keladi. Bunday holda, oldingi tekshirish nuqtalaridan o'tish paytida o'tkazib yuborilgan yoki hujayra siklining keyingi bosqichlarida olingan zararlar aniqlanadi. Bundan tashqari, G2 bosqichida DNK replikatsiyasining to'liqligi aniqlanadi va DNK kam replikatsiya qilingan hujayralar mitozga kirmaydi.

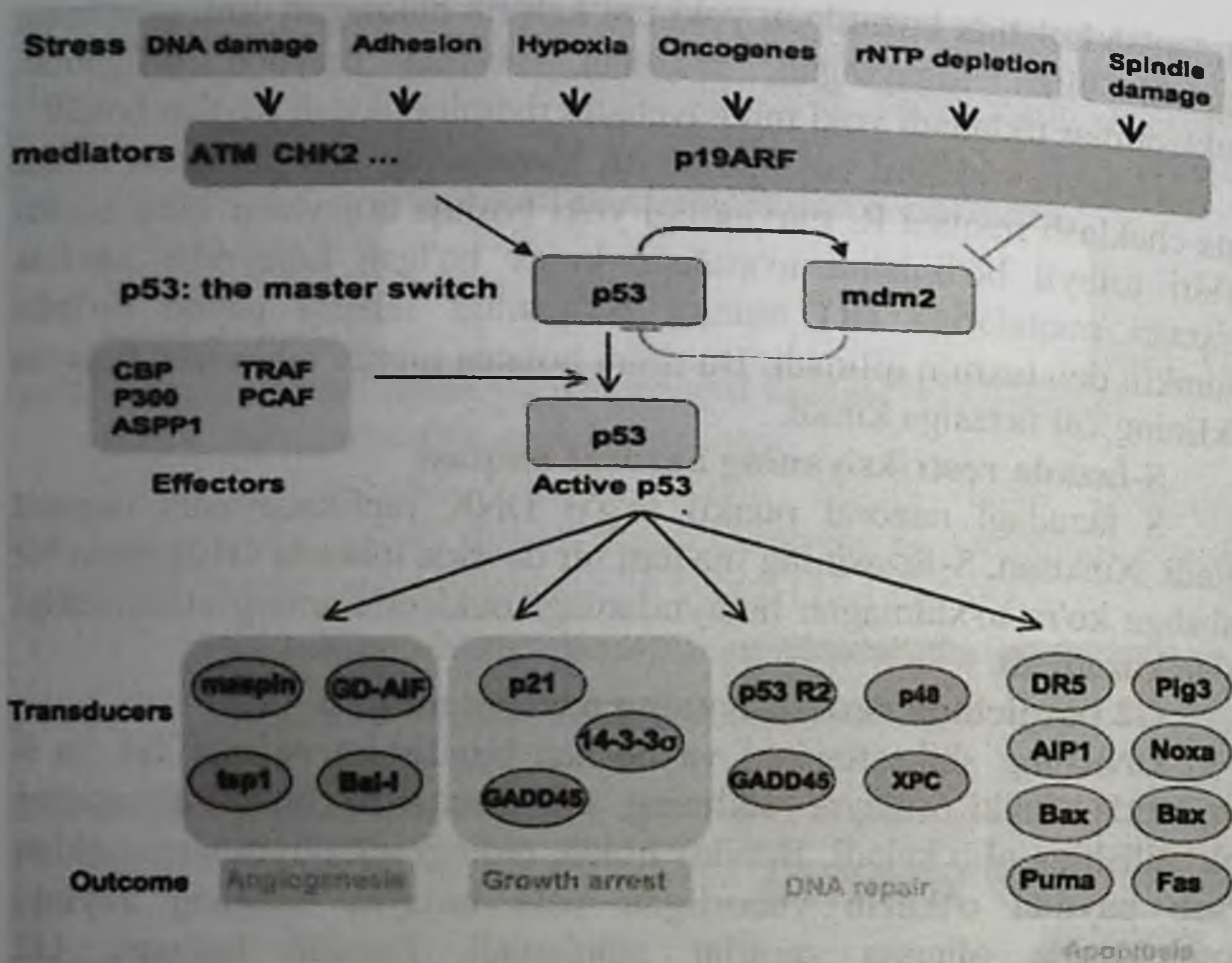
Bolinish urchugini shakllanish davrida restriksiyaning nazorat nuqtasi

Xromosomalarning noto'g'ri taqsimlanishiga yo'l qo'ymaslik uchun hujayralar metafazada barcha kinetoxorlar mikronaychalarga biriktirilgunga qadar kechiktiriladi. Lazer nurlari bilan biriktirilmagan kinetoxoralarning yo'q qilinishi anafazaning boshlanishini boshlaydi, bu davrda shpindelga biriktirilmagan xromosomalar orqada qoladi va ulardan mikroyadrolar hosil bo'ladi. Metafaza tutilishini qo'zg'atishda hal qiluvchi rol kinetokora bilan bog'langan BUB1, BUBR1, MAD1 va MAD2 oqsillarining o'zaro ta'siridagi o'zgarishlar o'ynaydi.

13.9 p53 oqsili e2f omillari va hujayra siklining faolligini tartibga solishdagi ahamiyati.

Ma'lumki, normal p53 oqsilining yuqori darajasi ikkita muhim nuqtada hujayra siklining vaqtincha kechikishi yoki hatto to'xtatilishiga olib keladi: G1 / S o'tish chegarasida va G2 / M chegarasida (rasm).

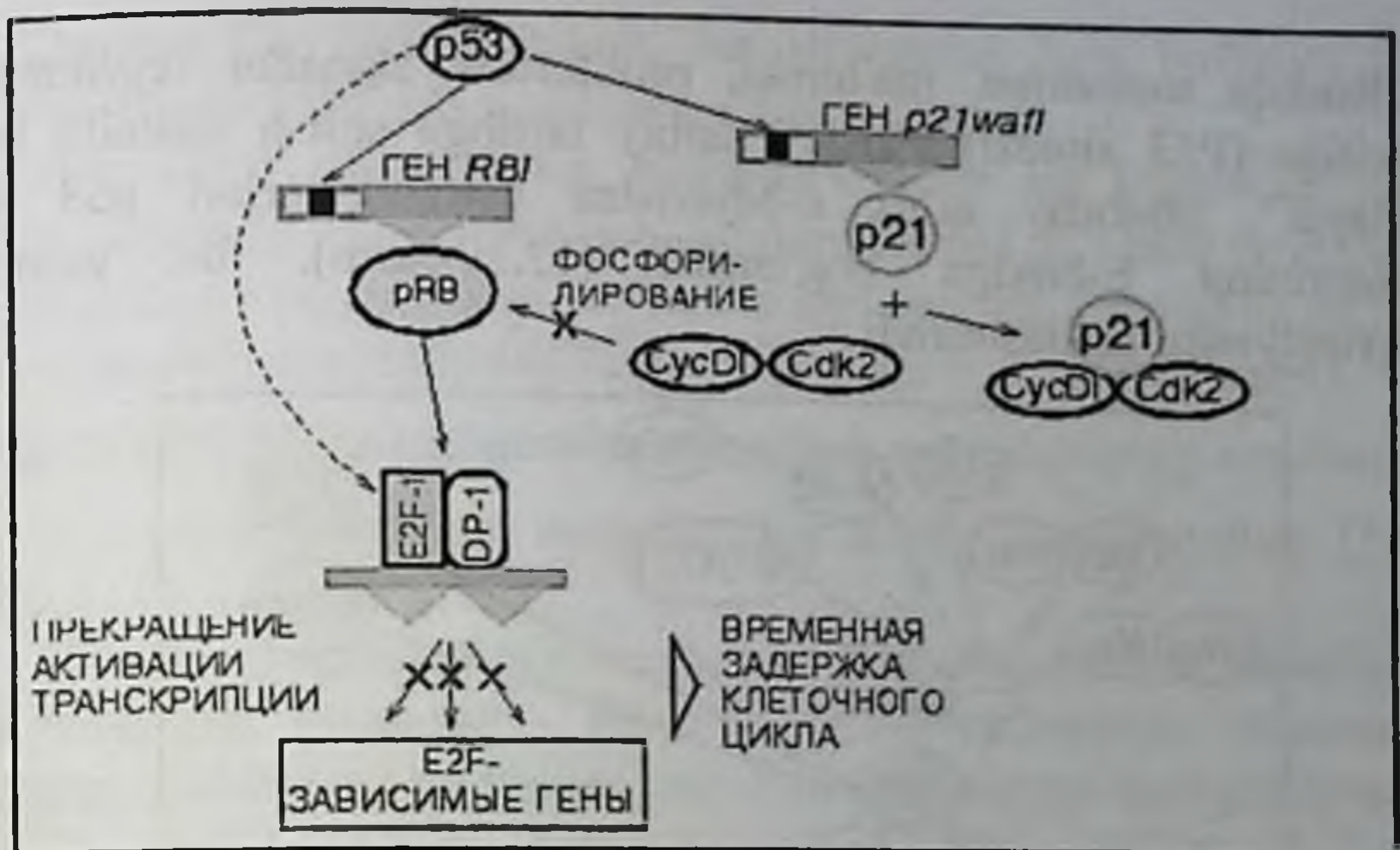
13.17)



Rasm 13.17 - p53-ga bog'liq bo'lgan genlarning hujayra siklini to'xtatish va DNK shikastlanishini tiklash yoki apoptozni qo'zg'atuvchi ekspresiyasi.

G1/S o'tishdagi birinchi kechikish DNKni tuzatishga imkon beradi, ikkinchisi G2/M chegarasida to'liq bo'lmagan replikatsiya paytida mitozga kirishni oldini oladi. Agar zarar sezilarli bo'lsa va uni tuzatib bo'lmasa, u holda p53 hujayra o'limiga va apoptozga olib keladigan oqsillarning ifodalanishini keltirib chiqaradi

G1/S chegarasida p53 tomonidan hujayra siklining to'xtatilishiga asos bo'lgan molekulyar hodisalar asosan ma'lum. p53 ning bu funksiyasi uning to'g'ridan-to'g'ri yoki bilvosita bo'lishi mumkin bo'lgan E2F-1/DP-1 heterodimerlarining faolligiga ta'siri bilan bog'liq (13.18-rasm).



13.18-rasm G1/S chegarasida p53 oqsili tomonidan hujayra siklining to'xtatilishi

To'g'ridan-to'g'ri ta'sir p53 va E2F-1 / DP-1 heterodimeri o'rtasidagi to'g'ridan-to'g'ri oqsil-oqsil o'zaro ta'siri bilan ta'minlanadi, buning natijasida bu heterodimerning faollashuv qobiliyati bloklanadi va E2F ga bog'liq genlarning transkripsiyasi faollashuvi to'xtaydi (13.18-rasm).

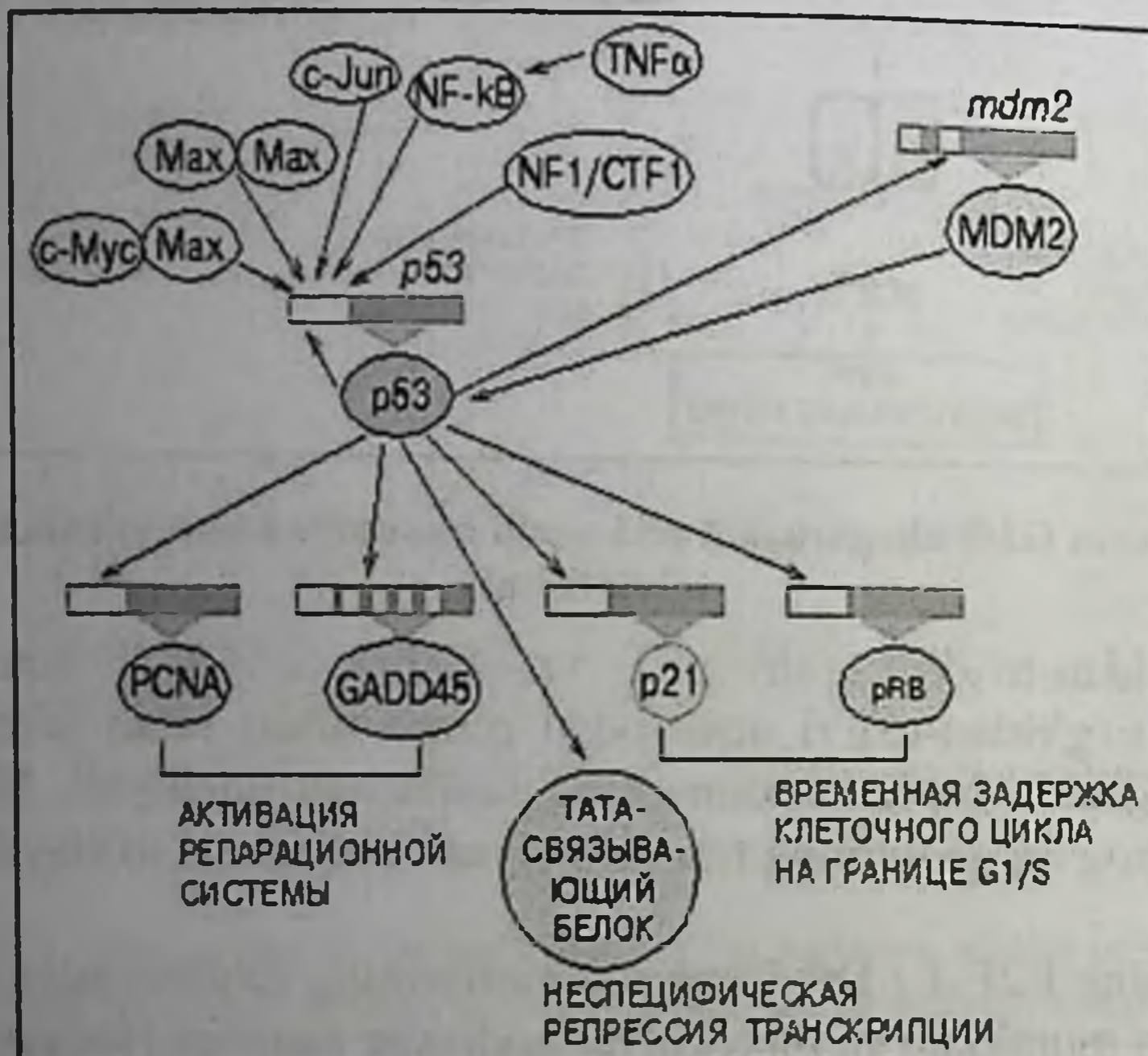
P53 ning E2F-1 / DP-1 heterodimerlarining funktsiyasiga bilvosita ta'siri ancha murakkab va molekulyar hodisalar zanjirini ifodalaydi.

Ushbu zanjirda p53 funktsiyasini ta'minlaydigan xususiyatlardan biri uning transkripsiya faollashtiruvchisi bo'lib xizmat qilish qobiliyatidir, bir qator genlarning tartibga soluvchi hududlaridagi o'ziga xos saytlar bilan o'zaro ta'sir qiladi.

Xususan, p53 RB1 genining transkripsiyasini faollashtiradi, bu E2F-1/DP-1 geterodimerlarining faolligini bostiradi. Natijada barcha E2F-ga bog'liq genlarning transkripsiyasi inhibe qilinadi va S fazaga kirishi vaqtincha kechiktiriladi. (13.18-rasm).

Bundan tashqari, p53 siklinga bog'liq kinazalarni inhibe qiluvchi p21waf1 genining transkripsiyasini faollashtiradi, buning natijasida pRB oqsilining fosforlanishi sodir bo'lmaydi, bu hujayra siklining kechikishiga olib keladi. Agar proliferativ signallar darajasi ta'sir etsa, hujayrada yuqori bo'lsa, siklinkinaz komplekslari va E2F omillari tez faollashadi -1/DP-1 va natijada DNK replikatsiyasi va mitoz sodir bo'ladi.

Boshqa tomondan, ma'lumki, proliferativ signallar replikatsiya bosqichiga (P53 sintezi) kirishni salbiy tartibga solish tizimini ham "tetiklaydi". Shunday qilib, c-Myc/Max heterodimerlari p53 gen promotorining E-boxiga bog'lanadi (13.19-rasm), bu genning transkripsiyasini faollashtiradi.



13.19-rasm. Replikatsiyaga kirishni salbiy tartibga solish tizimi, p53 sintezi.

Proliferativ signallar tomonidan qo'zg'atilgan yana bir omil, cJun, shuningdek, p53 genining transkripsiyasini faollashtiradi (13.19-rasm).

Adenoviral DNK replikatsiyasini rag'batlantirish qobiliyati bilan mashhur NF1/CTF1 omili transkripsiya boshlanishining darhol quyi oqimida joylashgan joyi bilan o'zaro ta'sir qilish orqali p53 genining ifodasini faollashtiradi (13.19-rasm).

S-fazaga kirishni ijobiy va salbiy tartibga solish tizimlari o'rtasidagi muvozanat ham salbiy tartibga solish tomon siljishi mumkin. Bunday holda, hujayra G1/S chegarasida to'xtaydi. Bu, masalan, (gamma yoki UV nurlanishi) natijasida DNK shikastlanganda sodir bo'ladi.

Shu bilan birga, p53 genining NF-kB omili tomonidan transkripsiyasi faollashishi tufayli p53 darajasining oshishi mumkin (13.19-rasm). O'z navbatida, NF-kB omil o'simta nekrozi omili (TNF

alfa) tomonidan faollashtiriladi, bu stressning ko'p turlariga javob berishga vositachilik qilish uchun ma'lum.

P53 oqsili darajasining boshlang'ich bir oz ko'tarilishi uning yanada oshishiga olib kelishi juda muhim, chunki p53 geni promotorida u kodlagan p53 oqsili uchun bog'lanish joyi mavjud. Binobarin, p53 geni uning transkripsiyasini ijobiy tartibga solishga qodir (13.19-rasm).

13.10 p53 disfunktsiyasida taqqoslash nuqtalarining nazorati.

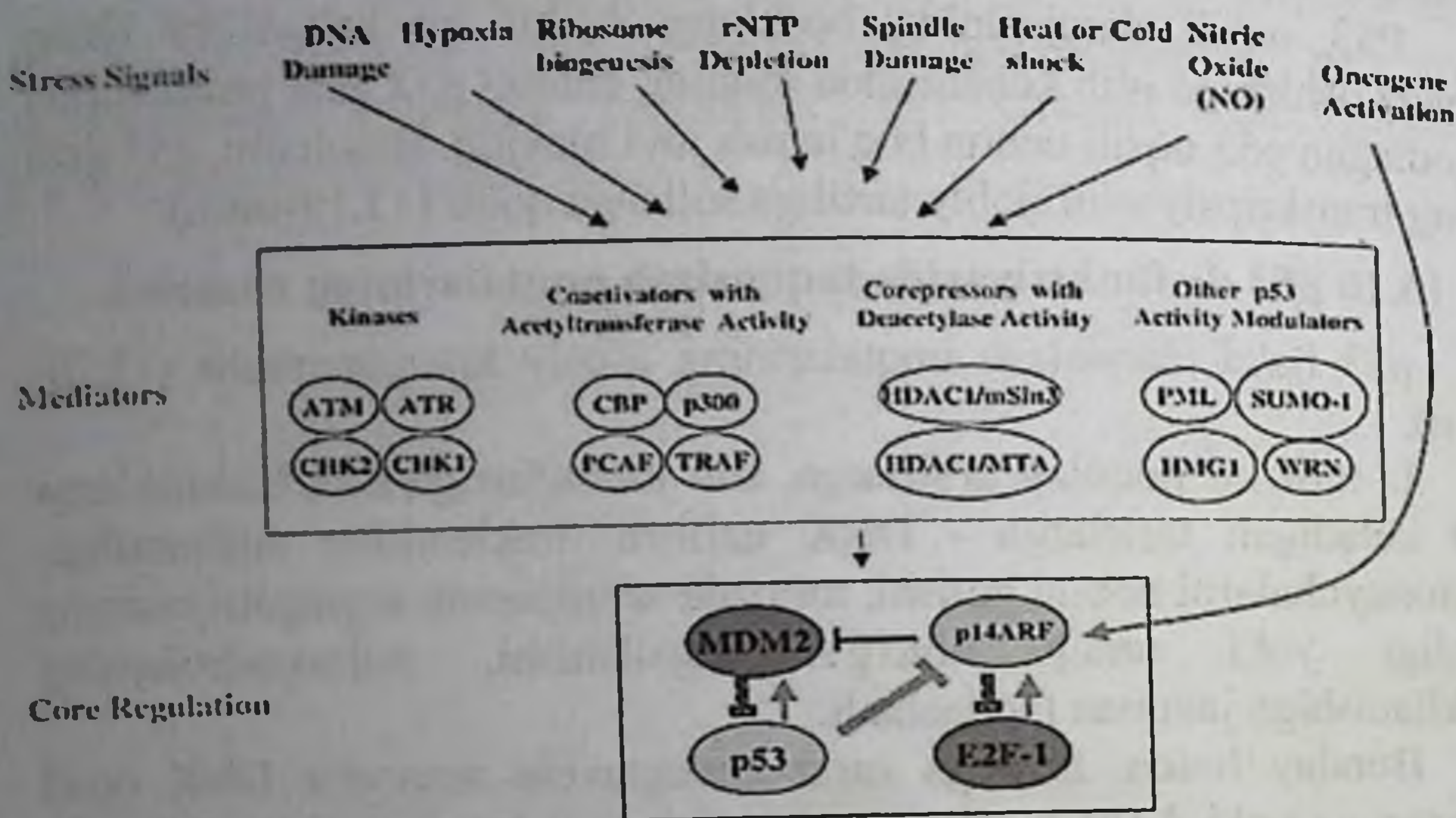
p53 ba'zi taqqoslash nuqtalarining asosiy komponentidir (13.20-rasm).

U turli xil noqulay ta'sirlarga, shu jumladan genetik kasalliklarga olib keladigan tasirlarga - DNK uzilishi, nukleotidlar etishmasligi, mikronaychalarni nobud bolishi, mitozda xromosoma segregatsiyasining yo'qligi yoki uning noto'g'ri tugallanishi, mikroyadrolarning shakllanishiga javoban faollashadi.

Bunday holda, DNKga zarar yetkazuvchi sensorlar DNK oqsil kinazasi va yoki ATM oqsili (Ataxiya-Teleangiektaziya mutated) bo'lib, ular bir tomondan DNKning erkin uchlarini tanib olish, ikkinchi tomondan esa p53 ni fosforillash qobiliyatiga ega. Ser-15, shu bilan uning Mdm2 oqsili bilan bog'lanishi, keyinchalik yadrodan tashilishi va parchalanishining oldini oladi (13.20-rasm).

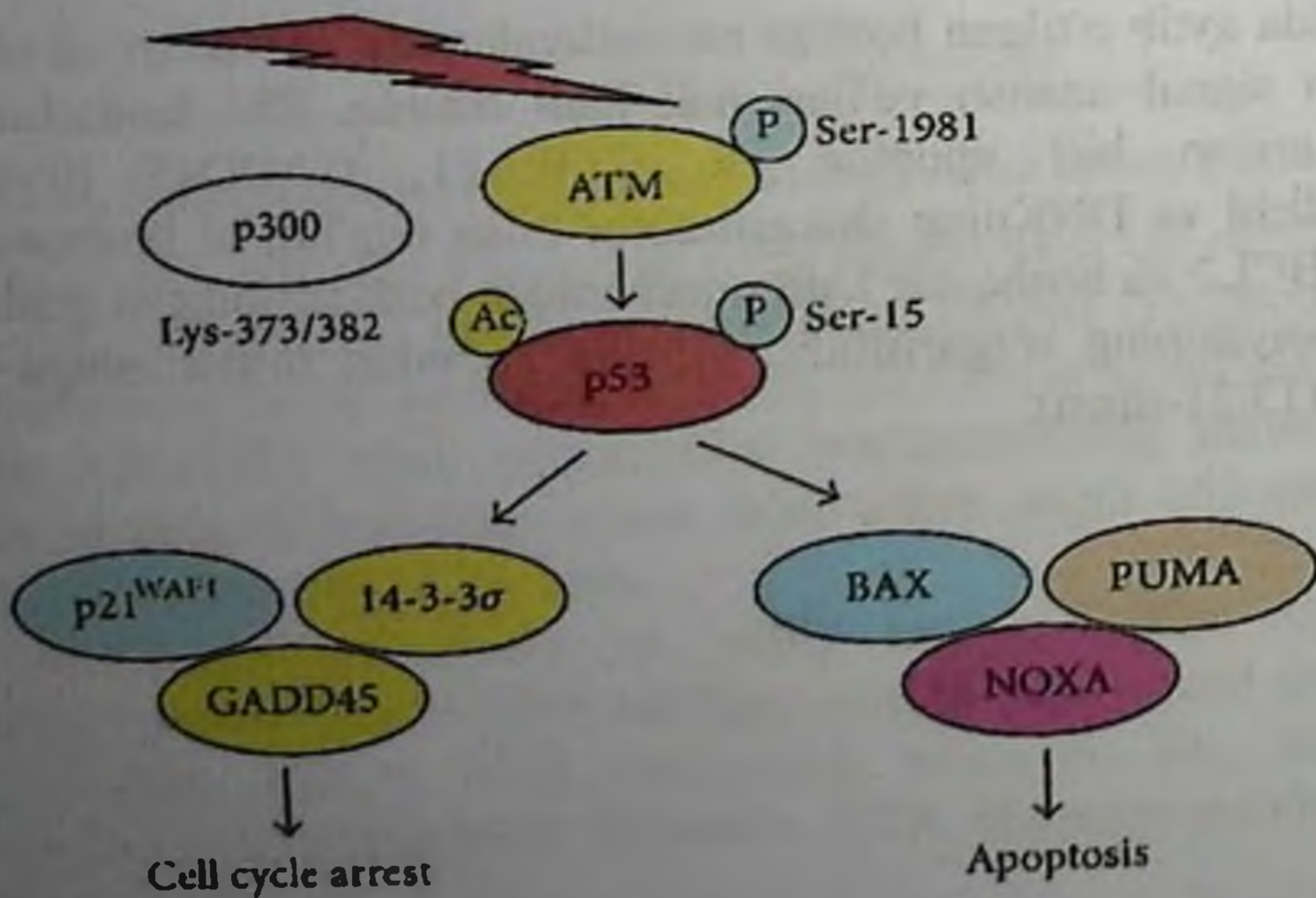
Yuqorida aytib o'tilgan boshqa anomaliyalarning sensorlari va ulardagi p53 ga signal uzatish yo'llari hali ham noaniq. P53 faollashuvining oqibatlaridan biri apoptoz va p21WAF1, GADD45 (o'sishning to'xtatilishi va DNKning shikastlanishi bilan bog'liq) ni boshqaradigan BAX, BCL2 va boshqalar kabi u tomonidan boshqariladigan genlarning ekspressiyasining o'zgarishidir. hujayra siklining to'xtatilishiga sabab boladi.(13.21-rasm)

Activation of p53



13.20-rasm -DNKning shikastlanishi va hujayra siklini salbiy tartibga solishda p53 ning roli.

DNA damage



13.21-rasm - DNK shikastlanishiga p53-ga bog'liq javob. DNK shikastlanishidan so'ng, p53 Ser-15da fosforlanadi va Lys373/382 da ATM va p300 tomonidan mos ravishda atsetillanadi. P53 ning faol shakli hujayra siklini to'xtatish va yoki apoptotik hujayra o'limini keltirib chiqaradi.

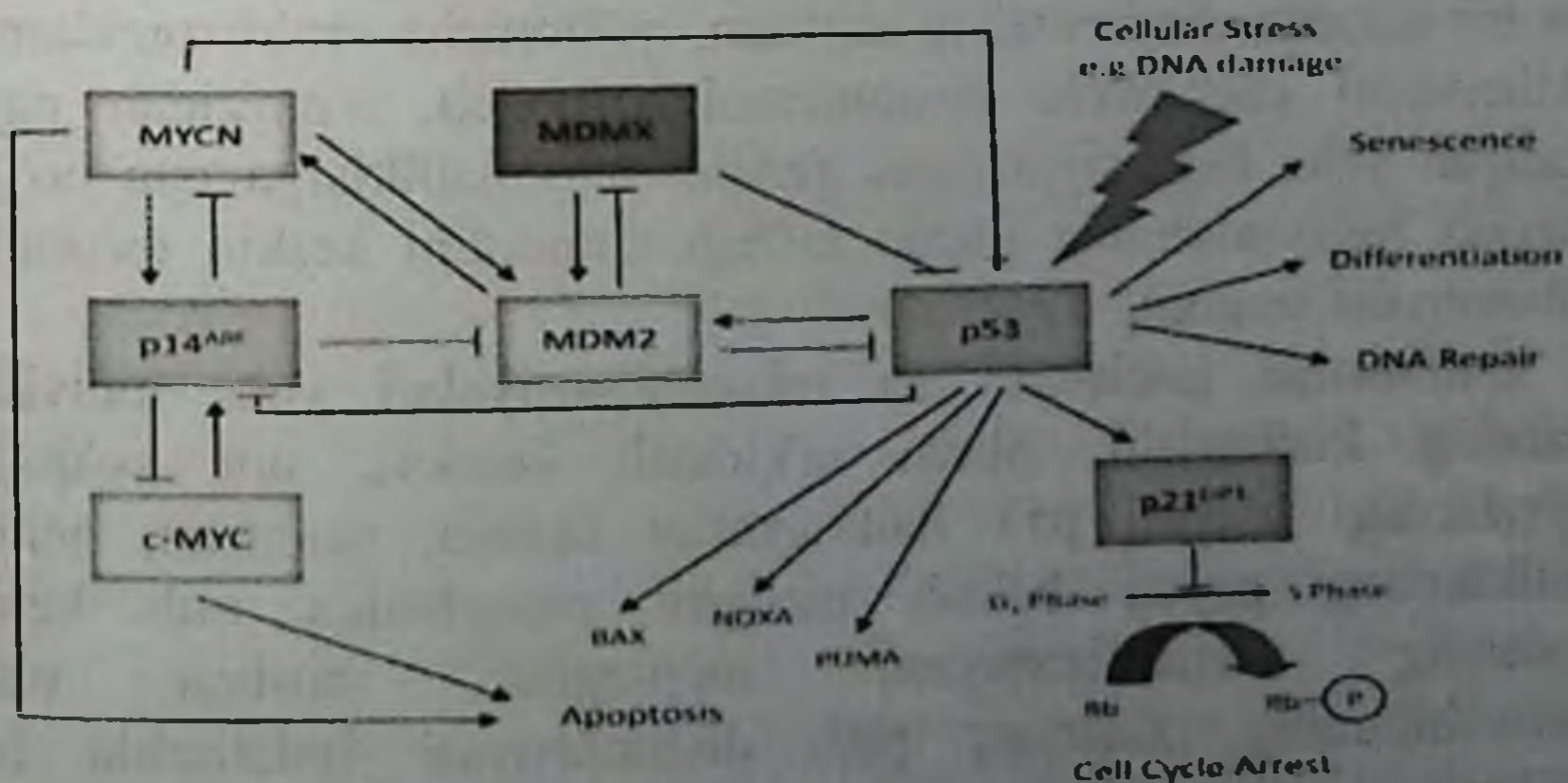
Natijada, genetik o'zgarishlar allaqachon sodir bo'lgan yoki faqat sodir bo'lishi mumkin bo'lgan hujayra apoptoz induksiyasi natijasida nobud bo'ladi yoki hujayra siklining G1- yoki G2-, ba'zan esa S-fazasida to'xtaydi.

Hujayralarni DNKni shikastlovchi moddalar bilan davolash G1/S va G2/M fazalari chegarasida hujayralarni tutib turishiga olib keladi. Bu jarayonlarda p53 faol ishtirok etadi. Shunday qilib, -/- p53 sichqonlarining fibroblastlari, odatdagilardan farqli o'laroq, gamma nurlanishi bilan nurlanishga javoban G1 ni ushlab turish qobiliyatini yo'qotdi. Hibsiga olish p53 darajasining oshishi bilan kuchli bog'liq edi.

G1 ning tutilishi faol jarayon bo'lib, uni induksiya qilish uchun oqsil sintezi zarur edi; hujayralarni oqsil sintezi inhibitori siklogeksimid bilan davolash G1 ning tutilishini bostiradi. Biroq, faqat 1991 yilda ko'rsatildi. p53 ning bu o'sish darajasi oqsil darajasida p53 hayotining keskin o'sishining natijasidir: mRNK darajasi va p53 ning tarjima tezligi o'zgarmaydi.

Hujayra stressiga javoban, p53 turli xil hujayra jarayonlarida ishtirok etadigan genlarning ekspressiyasida vositachilik qilishi mumkin, masalan, apoptoz (masalan, BAX, NOXA, PUMA), hujayra siklini to'xtatish (masalan, p21CIP1), differentsiatsiya, DNKni tiklash, qarish (13.21-rasm).).

p53, MDM2 va p14ARF p53 ifodasi va faollashuvini qat'iy tartibga solish uchun avtoregulyatsiya aloqasi zanjirini hosil qiladi. p14ARF nuqtali chiziq bilan ko'rsatilganidek, c-MYC va ehtimol MYCN kabi aberrant onkogen omillarga javoban faollashtirilishi mumkin (13.22-rasm).



13.22-rasm -1MYC oqsillari va p53/MDM2/p14ARF yo'li.

p14ARF, shuningdek, c-MYC va MYCN faolligini to'g'ridan-to'g'ri bog'lash va inhibe qilish orqali p53-mustaqil bostiruvchi ta'sir ko'rsatishi mumkin. p53 va MDM2 ham MYCN ning maqsadli genlaridir. MDM2 MYCN mRNK barqarorligi va tarjimasini tartibga solib, ijobiy geribildirim halqasini hosil qilishi mumkin (13.22-rasm).

13.11 p53 faollashganda apoptoz va hujayra siklini to'xtatish o'rtasidagi tanlov.

P53 faollashuviga ikkita mumkin bo'lgan hujayra reaksiyalari o'rtasidagi tanlov - apoptoz va hujayra siklining to'xtatilishi - ko'plab omillarga bog'liq:

gistogenetik hujayra turi (masalan, oddiy fibroblastlarda, limfotsitlarda esa hujayra siklining to'xtashi apoptozda kuzatiladi) p53 faollashuv darajasi (uning ekpressiya darajasining oshishi bilan apoptoz ehtimoli ortadi.

p21WAF1-pRb-E2F signalizatsiya yo'lining funktsional faolligi darajasi,

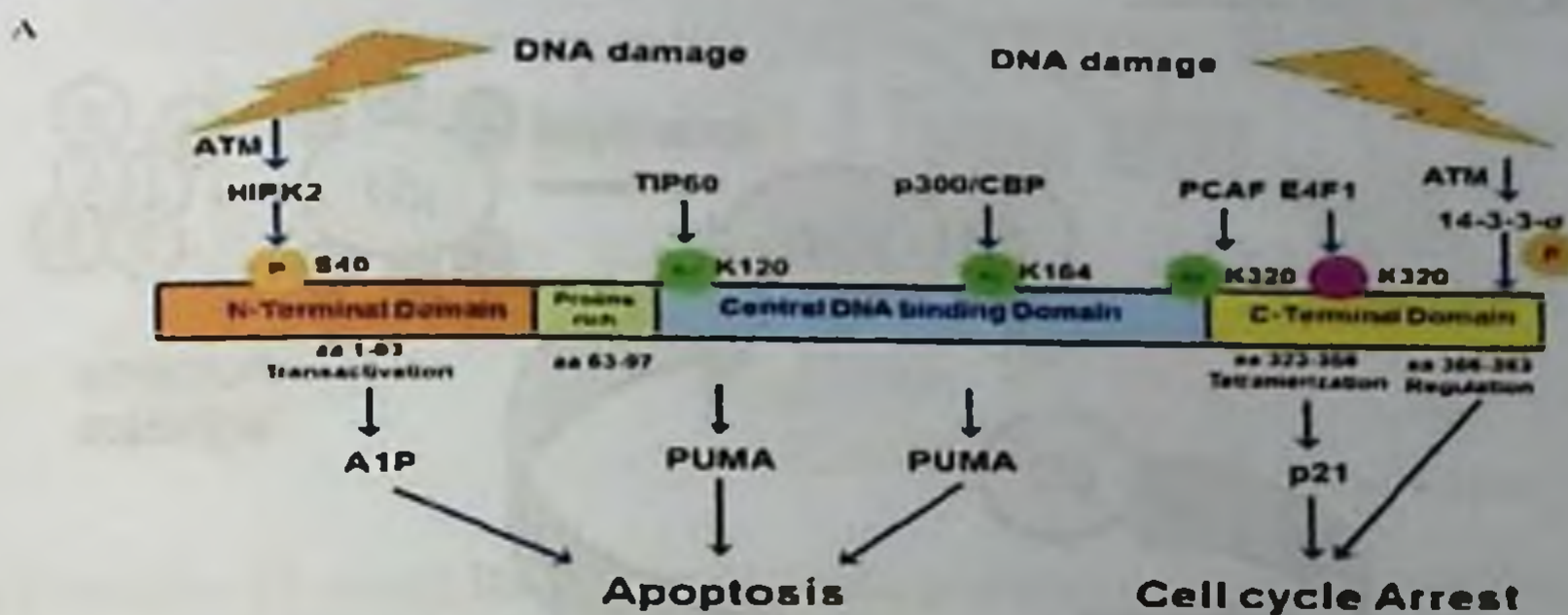
G1da toxtashi uchun mas'ul (apoptoz inaktivatsiyalangan p21WAF1 yoki pRb bilan fibroblastlarda kuzatiladi) va xakazo va hujayra siklini to'xtatish nuqtasi, birinchi navbatda, p53 ning ko'payishi paytida hujayra hujayra siklining qaysi bosqichida ekanligi bilan belgilanadi va uning faollashishiga qanday omil sabab bo'ldi.

Turli xil odam neoplazmalariga xos bo'lgan p53 funktsiyasining buzilishi hujayra siklini nazorat qilish punktlarining nazorat funktsiyalarini sezilarli darajada zaiflashtiradi va bir vaqtning o'zida apoptozning induktsiyasini ingibirleydi, bu p53 ning boshqa oqibatlar bilan bir qatorda. disfunktsiya, xususan, qo'shimcha sentrozomalarning shakllanishini cheklovchi mexanizmni yo'qotish, o'z-o'zidan paydo bo'ladigan yoki induksiyalangan genetik anormalliklarga ega bo'lgan ko'payish hujayralarining paydo bo'lish ehtimolini keskin oshiradi - xromosomalar sonining o'zgarishi

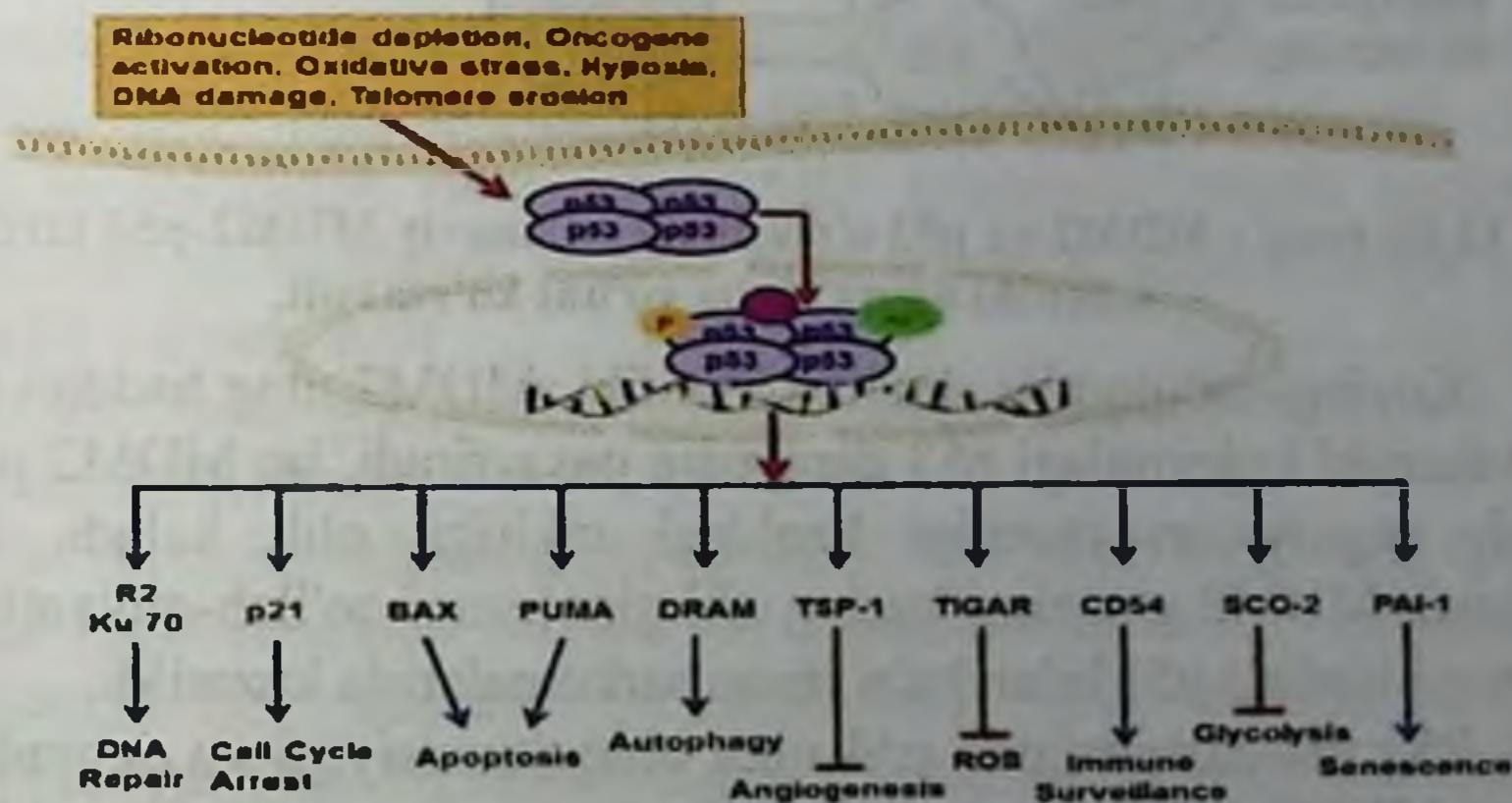
xromosoma uzilishlari va rekombinatsiyalari yoki individual genlarning kuchayishi. Shuni ta'kidlash kerakki, uni yo'qotgan hujayralardagi normal p53 funktsiyasini tiklash, aksincha, genetik kasalliklarning paydo bo'lish tezligini pasayishiga olib keladi. Genomning destabilizatsiyasi, shuningdek, boshqa o'sma bostiruvchilarning, xususan, pRb disfunktsiyasi holatlarida ham kuzatiladi.

13.12 p53 modifikatsiyalarining ta'siri

Fosforlanish (P), atsetilatsiya (Ac) yoki ubiquitinatsiya (UB) orqali translatsiyadan keyingi namunaviy modifikatsiyalar p53 faollashuvi natijasida o'ziga xos hujayrali javobga va ushbu maqsadli genlarning imtiyozli faollashuviga olib keladi. 13.23.A.



B



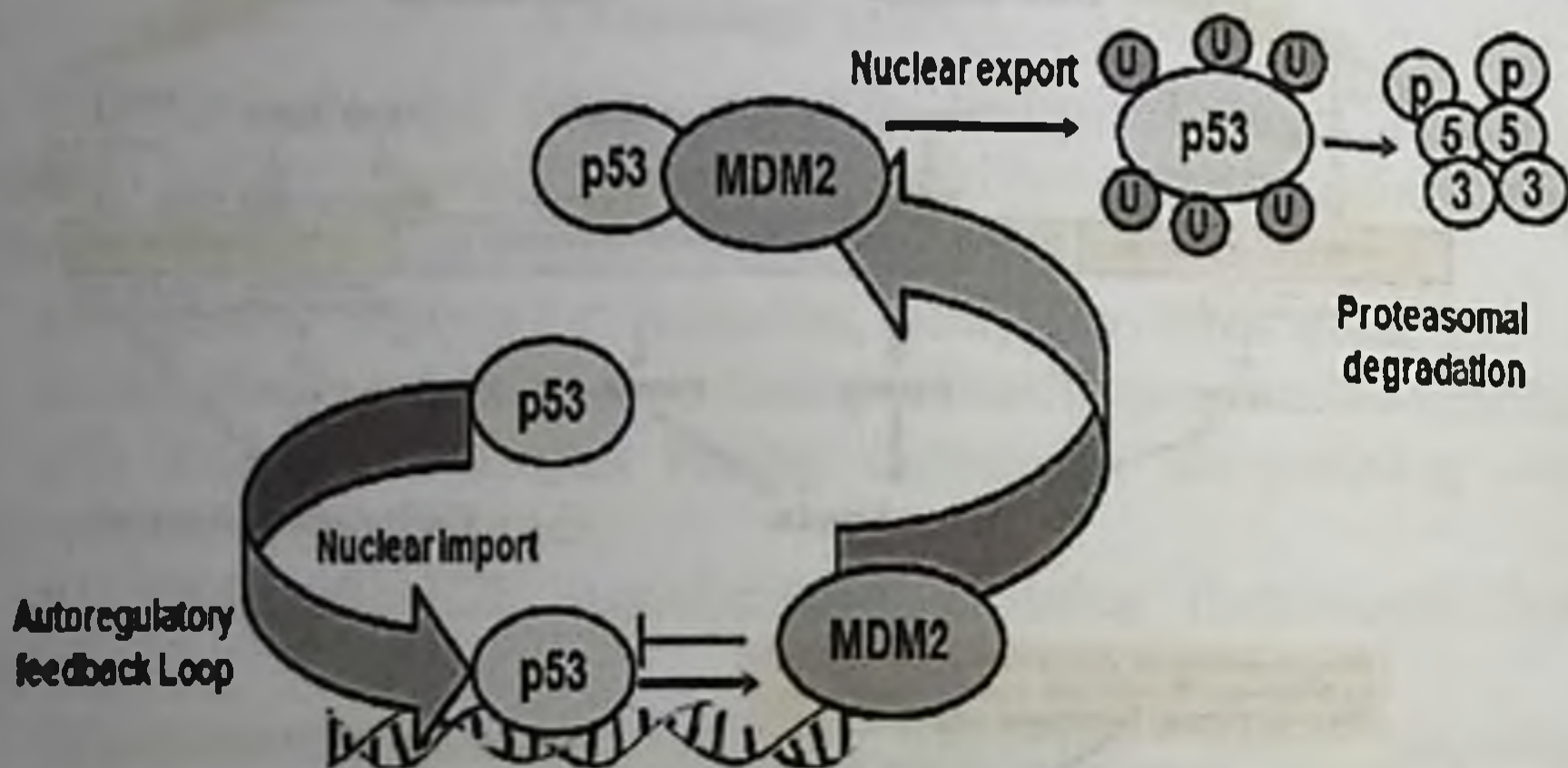
Rasm 13.23 - p53, o'simta bostiruvchi P53 ning taxminiy post-translatsiyadan keyingi modifikatsiyalari va faollashtirilgan p53 ning maqsadli genlari.

Bundan tashqari, p53, ayniqsa, proliferatsiya, omon qolish va angiogenezni ijobiy modulyatsiya qiluvchi c-fos, myc, VEGF-A va survivin genlarini ifodalashda transkripsiyaviy repressor sifatida ham harakat qilishi mumkin. Ko'pgina tadqiqotlar, shuningdek, bir nechta miRNKlarni aniqladi, ularning katta qismi miR-34 oilasining a'zolari bo'lib, ular p53 tomonidan transkripsiyaviy tartibga solinadi. P53 triggerlari tomonidan induksiya yoki transaktivatsiya tufayli mikroRNK-34 faolligining oshishi apoptozni kuchaytiradi va hujayra sikli, apoptoz, DNKni ta'mirlash va angiogenez bilan bog'liq genlar ifodasida o'zgarishlarga olib keladi.

13.13 Hujayra siklini taqqoslash nuqtalari: o'simta hujayralarida nazorat.

mdm2-p53 o'rtasidagi qaytar avtoregulyatsiya aloqa yo'li

Rasm13.24 (4-rasm) MDM2 oqsili p53 o'simta bostiruvchisi bilan bog'langanida yuzaga keladigan MDM2-p53 o'zaro ta'sirining asosiy tushunchasini ko'rsatadi.



13.24-rasm - MDM2 va p53 o'rtasidagi an'anaviy MDM2-p53 tartibga soluvchi qayta aloqa yo'lini ko'rsatadi.

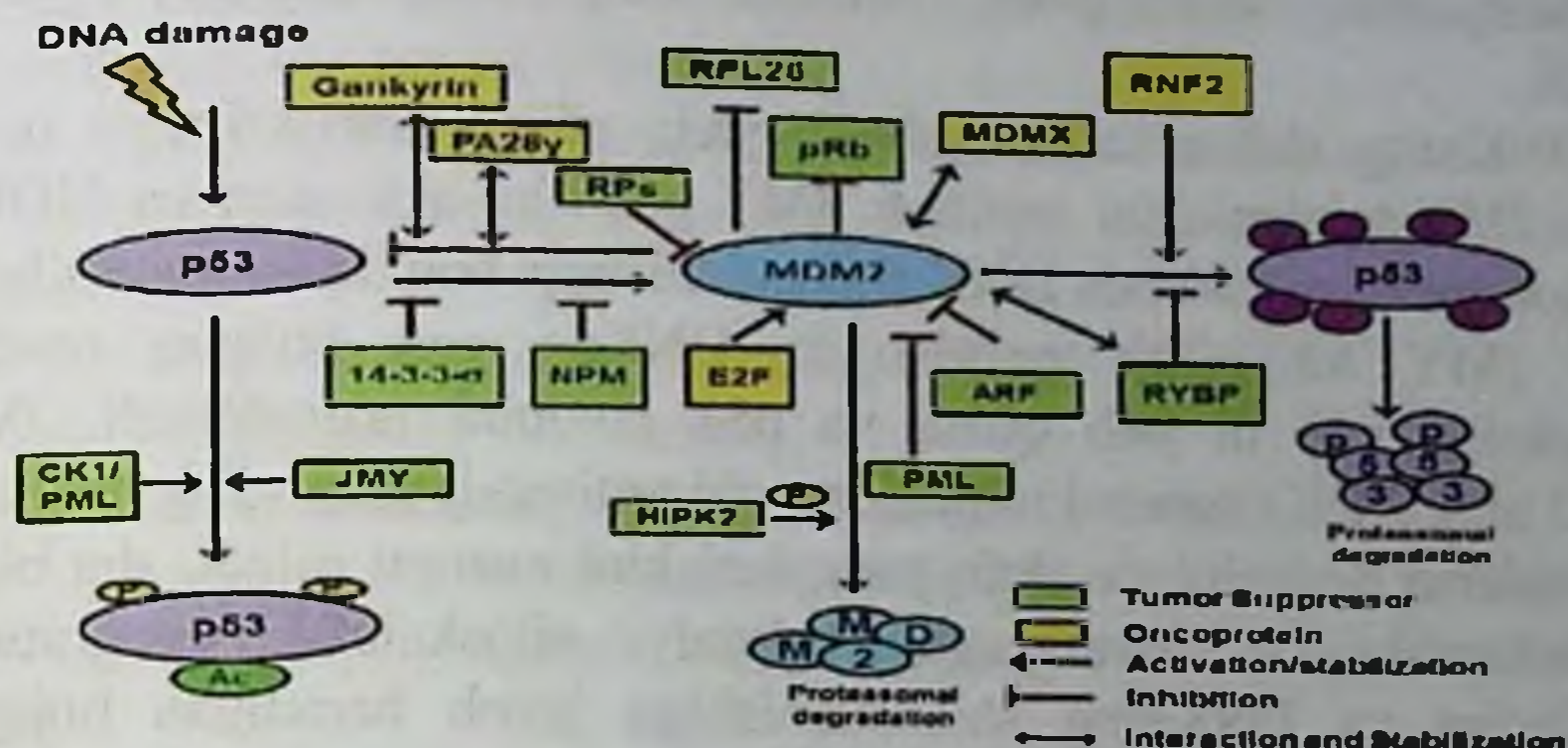
Keyingi tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, MDM2 ning haddan tashqari ifodalanishi hujayradagi p53 darajasini pasaytiradi, bu MDM2 p53 ning salbiy regulyatori ekanligi haqidagi taklifga olib keladi. Bundan tashqari, MDM2 genining kuchayishi gipotezani qo'llab-quvvatlaydigan yovvoyi turdagi p53 bilan ba'zi inson sarkomalarida kuzatildi.

P53 proteazomalarda p53 ning ubiquitinatsiyasi va degradatsiyasi uchun MDM2 uchun maqsaddir, p53 ni yadrodan chiqarib tashlaydi va p53 o'zaro ta'sirini oldini oladi. transkripsiya ko-aktivatorlari bilan va p53 ga transkripsiyaviy korepressorlarni jalb qilish boshqa tomondan, p53 MDM2 onkoproteinining ifodasini uning promouteriga bog'lash orqali tartibga solidi.

MDM2 darajasini oshirish, aksincha, erkaklarga transaktivatsiyani to'g'ridan-to'g'ri blokirovka qilish va p53 ni ubiquitinga bog'liq bo'lganlarga yo'naltirish orqali p53 ni bog'laydi va inaktiv qiladi. proteazomalarning parchalanishi (13.24-rasm, 4-rasm)

mdm2-p53 yo'lining modulyatorlari 13.25-rasmda ko'rsatilganidek (5-rasm), MDM2-P53 yo'lining ko'plab modulyatorlari

mavjud. Ularning barchasi onkogenlar yoki o'simta bostiruvchilarga tegishli.



13.25-rasm - (5-rasm) Ba'zi o'simta bostiruvchilar va onkogenlar MDM2 va p53 ning o'zaro ta'sirini tartibga soladi.

Ulardan biri, MDM2 ning qo'shilish varianti bo'lgan MDMX, shuningdek, oddiy hujayralardagi p53 ning past darajasini saqlaydi.

INK4a lokusidan ifodalangan ARF (alternativ o'qish ramkasi) oqsili MDM2 ni bloklaydi va p53 ning bilvosita faollashishiga olib keladi. ARF - o'zaro ta'sir

MDM2, shuningdek, MDM2 sumoilatsiyasini (SUMOylation) 53-mustaqil tarzda oshiradi [

NPM (proteinnukleofosmin) oqsili MDM2 bilan bog'lanish uchun p53 bilan raqobatlashadi va ARF ni barqarorlashtirishi, yadrolardagi konsentratsiyasini oshirishi va shu bilan p53 degradatsiyasini kamaytirishi mumkin. NPM and MDM2 p53 oqsilining bir xil hududiga bog'lanadi va NPM p53 ubiquitinatsiyasini kamaytiradi

PML oqsili (Promyelocytic leukemia protein) p53 ni MDM2 vositachiligidagi ubiquitinatsiyadan MDM2 ni yadrodan olib tashlash orqali himoya qiladi

Kazein kinaz 1 (CK1) shuningdek, DNKning shikastlanishiga javoban Thr18 da p53 ni fosforlash orqali PML vositachiligida himoya qilishda rol o'ynaydi va uni MDM2 vositachiligidagi degradatsiyadan himoya qiluvchi PML yadro jismlariga joylashishiga olib keladi.

14-3-3-s nurlanishdan so'ng DNK zararlanganda p53 tomonidan faollashtirilgan maqsadli oqsillardan biridir. CDK2/4 va CDC2 bilan o'zaro ta'sir qilish orqali hujayra siklining rivojlanishini salbiy tartibga soladi, siklin-CDK o'zaro ta'sirini oldini oladi va hujayra siklining G2

fazasida hujayraning to'xtatilishiga olib keladi. Protein shuningdek, p53 degradatsiyasini kamaytiradi va MDM2 autoubiquitination va degradatsiyasini, shuningdek, MDM2 ning sitoplazmaga o'tishini oshiradi.

DNKning shikastlanishi, shuningdek, p53 kotranskripsiya omili bo'lgan JMY to'planishini oshiradi. JMY p300 ko-aktivatori va MDM2 onkoproteini bilan yadroda DNK shikastlanishiga bog'liq kompleks hosil qiladi. JMY va p300 zararlangan DNKga ega bo'lgan protein kompleksiga p53 ni jalb qiladi va p53 javobini tezlashtiradi. JMY MDM2 ning RING domeni tomonidan ubiquitinatsiyadan so'ng buziladi. JMY kaderin ifodasini va aktin yadrolanishini nazorat qiladi, shu bilan harakatchanlik va invaziyaga, yakuniy sitoskeletal integratsiya hodisalariga va DNKning shikastlanishiga javob beradigan hujayra harakatiga ta'sir qiladi.

HIPK2 - bu p53 ga bevosita yoki bilvosita bog'liq bo'lgan omillarni modulyatsiya qilish orqali apoptozni rag'batlantiradigan o'simta bostiruvchisi, shuningdek, apoptozga qarshi transkripsiyali korrpressor CtBP, MDM2 p53 inhibitori va DNp63a HIPK2

MDM2 ni proteasomal degradatsiya uchun fosforlaydi va MDM2 tomonidan qo'zg'atilgan p53 inaktivatsiyasini engib, p53 apoptotik faolligini tiklaydi.

RPL5, RPL11, RPL23, RPS7, RPS14 RPS25 va RPS 27/RPS27L ribosoma oqsillari kompleks hosil qilish orqali p53 ubiquitinatsiyasini oldini olish orqali ribosoma stressiga javoban MDM2-p53 teskari aloqa zanjirini tartibga solishda rol o'ynaydi: MDM2-p53. .

Proteazoma faollashtiruvchisi PA28g MDM2-p53 o'zaro ta'sirini tartibga soladi (proteazoma faollashtiruvchi funksiyasidan mustaqil) va p53 degradatsiyasining koaktivatori bo'lib xizmat qiladi. Bundan tashqari, PA28g p21 ni bog'laydi va uning degradatsiyasini ubiquitindan mustaqil ravishda tartibga soladi. Shuningdek, u hujayra aylanishini nazorat qiluvchi oqsillar, p14 / p19ARF va p16 (INK4A) bilan bog'liq.

Nazorat savollari

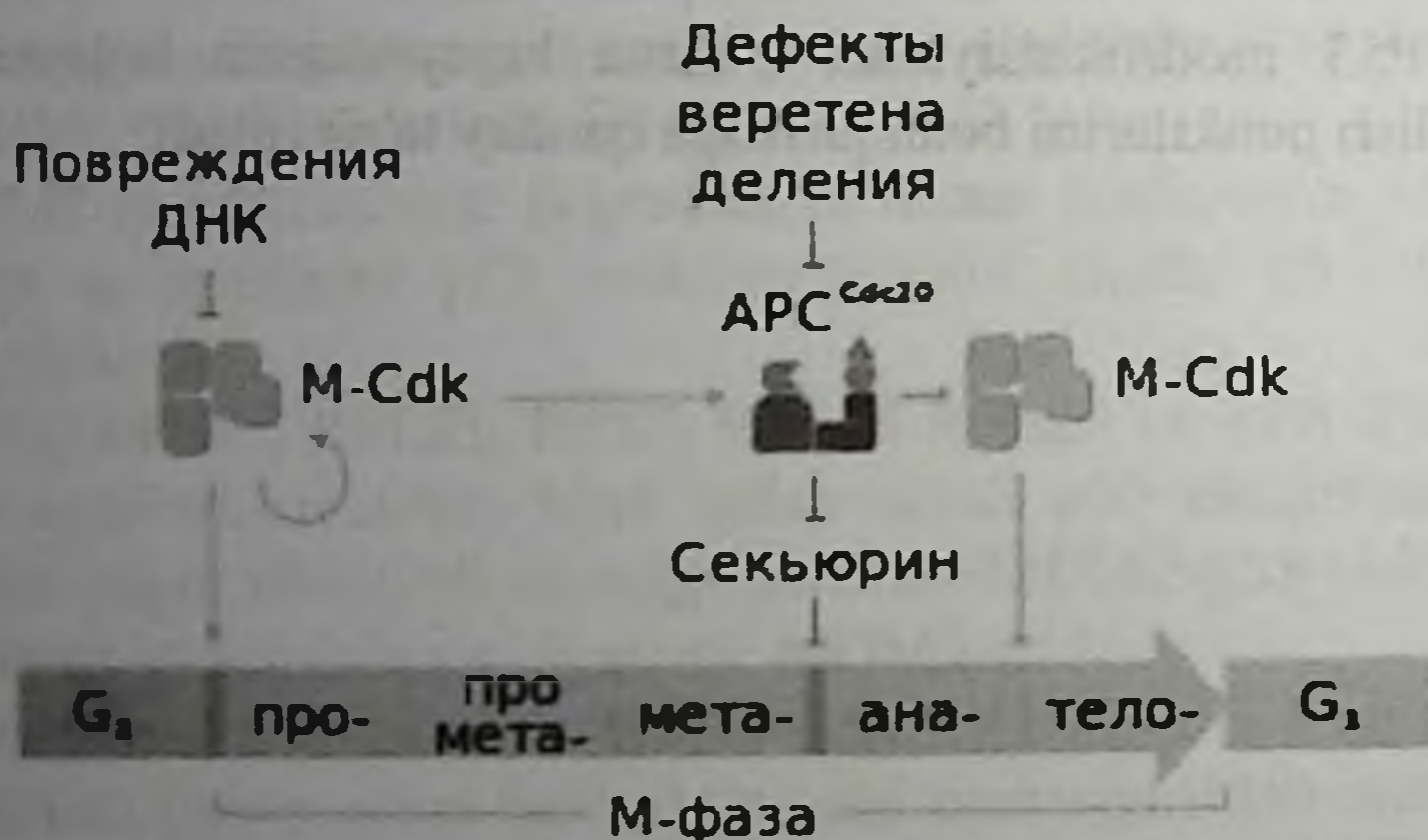
1. Hujayra tsiklining turli davrlarida siklinga bog'liq kinazalarning faolligini qanday oqsillar tartibga soladi?
2. E2F ga qaram genlar qachon va qanday faollashadi?
3. E2F/DP transkripsiya omillari proliferativ signallarni qanday birlashtiradi?
4. Hujayra siklini tartibga solishda qanday E2F ga bog'liq genlar ishtirok etadi?

5. Ayrim siklinga bog'liq kinazalarning faolligi hujayra siklining turli davrlarida siklinlar tomonidan qanday tartibga solinadi?
6. Hujayra siklida faollashtiruvchi va tormozlovchi Cdk fosforillanishi qanday rol o'ynaydi?
7. CDK ingibitorlari hujayra siklini qanday tartibga soladi?
8. Hujayra siklining S fazasini tartibga solishda qanday oqsillar ishtirok etadi?
9. G2 dan M fazaga o'tish qanday tartibga solinadi?
10. Mitoz qanday boshlanadi?
11. Hujayra siklining G0 fazasi qachon sodir bo'ladi?
12. Limit va tekshirish punktida boshqaruv tizimi qanday ishlaydi?
13. P53 oqsili hujayra siklini tartibga solishda qanday ishtirok etadi?
14. Mdm2-p53 o'rtasidagi avtoregulyatsiya qayta aloqa yo'li qanday amalga oshiriladi va mdm2-p53 yo'lining qanday modulyatorlari ma'lum?
15. P53 modifikatsiyalari o'simta hujayralarida hujayra siklini nazorat qilish punktlarini boshqarishga qanday ta'sir qiladi?

XIV BOB. MITOZNING TARTIBGA SOLINISHI

Mitozning asosiy tartibga solish mexanizmlari fosforlanish va proteoliz jarayonlaridir. Qaytariladigan fosforlanish va defosforillanish reaksiyalari mitozning teskari hodisalarini, masalan, bolinish duki yig'ilishi, parchalanishi yoki yadro qobig'ining parchalanish ta'mirlanishiga imkon beradi. Proteoliz mitozning qaytarib bo'lmaydigan hodisalari, masalan, anafazada qiz xromatidalarining ajralishi yoki mitozning kech bosqichlarida mitotik siklinlarning yo'q qilinishi kabi jarayonlarning asosini tashkil qiladi.

Mitozni tartibga solish masalasini ko'rib chiqsak, shartli ravishda mitotik bo'linishning ikkita davrini ajratib ko'rsatishimiz mumkin: profilaktika boshidan anafazagacha, keyin esa anafazadan telofaza oxirigacha. Belgilangan ikkita davrning har biri hujayra siklini tekshirish punktidan o'tish bilan boshlanadi (14.1-rasm).



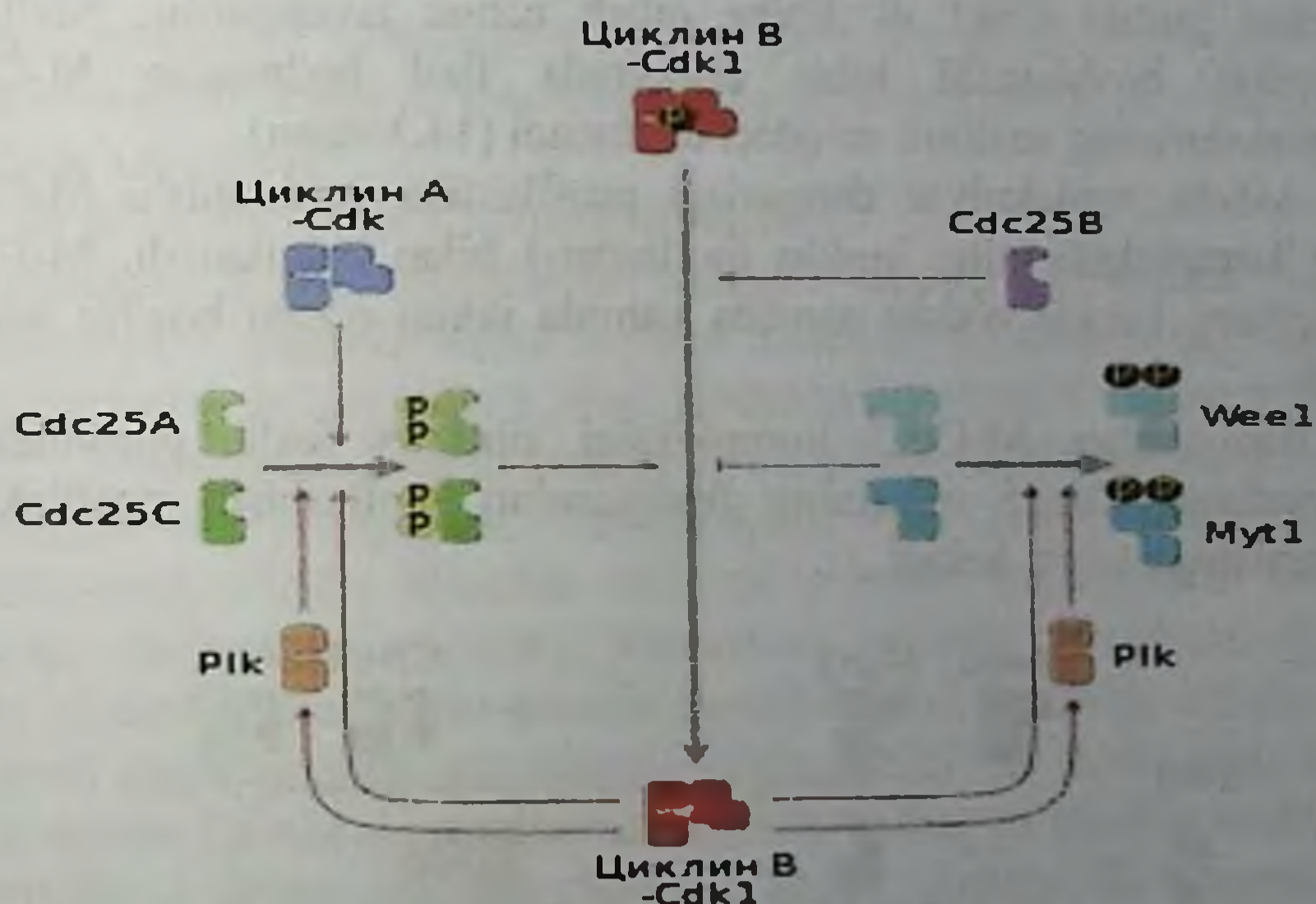
14.1-rasm - Boshqarish nuqtalari. Mitozni tartibga solishning umumiy sxemasi

Birinchi nazorat nuqtasi G₂ fazasidan M fazaga o'tishdir. G₂/M nazorat punktni yengishning asosiy sharti DNK replikatsiyasining tugallanishi hisoblanadi: mitotik bo'linish boshlanishi ko'pchilik eukaryotlarda DNKning shikastlanishi yoki to'liq bo'lmagan replikatsiyasi tufayli bloklanadi. Profazaning boshidan metafazaning oxirigacha bo'lgan voqealar boshlanadi va mitotik siklinlar va siklinga bog'liq kinazalardan (M-Cdk) tashkil topgan oqsil komplekslari ishtirokida sodir bo'ladi.

Ikkinchi nazorat punkti metafaza va anafaza chegarasida ajratuvchi to'siq bo'lib xizmat qiladi. Ushbu bosqichda bolinish dukining holati muhim ko'rsatkichdir: barcha eukaryotlarda anafazaga kirish urchuq nuqsonlari mavjud bo'lganda bloklanadi. Anafaza hodisalarining asosiy faollashtiruvchisi ubiquitin ligaza APC/Cdc20.

14.1 Mitozning asosiy regulyatorlari

Siklin kinazlar. Mitozning asosiy faollashtiruvchilari, jarayonning inisiatsiyasini profaza-metafaza hodisalarining boshlanishini ta'minlaydigan siklin kinaz komplekslari (M-Cdk)dir. Bu komplekslar ikki subbirlikdan tashkil topgan geterodimerlardir: tartibga soluvchi - mitotik siklin (inglizcha M cyclin) va katalitik - siklinga bog'liq kinaz hisoblanadi.



14.2-rasm - Mitozning faollashuvi jarayonida ijobiy qaytar aloqa printsipti: fosforillanish orqali siklin kinaz kompleksi siklin B - Cdk1 Cdc25 oilasining o'z faollashtiruvchilarini rag'batlantiradi va Wee1 oilasi ingibitorlarining ishini bostiradi. Fosfataza Cdc25B va siklin A-Cdk kompleksi teskari aloqa aylanishining mumkin bo'lgan tashabbuskorlari sifatida aniqlangan.

Barcha eukaryotlarda mitozning tartibga solinishi siklinga bog'liq kinaz Cdk1, ni o'z ichiga oladi, bu ferment bo'lib, fosfat guruhini ATP dan serin va treonin aminokislotalariga o'tkazish orqali oqsillarni o'zgartiradi. Cdk1 kontsentratsiyasi butun hujayra siklida doimiy bo'ladi, shuning uchun siklinga bog'liq kinazning mitoz davridagi faolligi asosan uning mitotik siklin bilan bog'lanishiga bog'liq (14.2-rasm).

Mitoz siklinlarining konsentratsiyasi mitoz yaqinlashganda ortadi va metafazada maksimal darajaga etadi. Turli taksonlarda turli xil mitotik siklinlar mavjud. Shunday qilib, tomurcuklanma xamirturushda to'rtta siklin Clb1, 2, 3 va 4 mitozni tartibga solishda ishtirok etadi; drozofilada - siklinlar A, B, B3; umurtqali hayvonlarda - siklin B

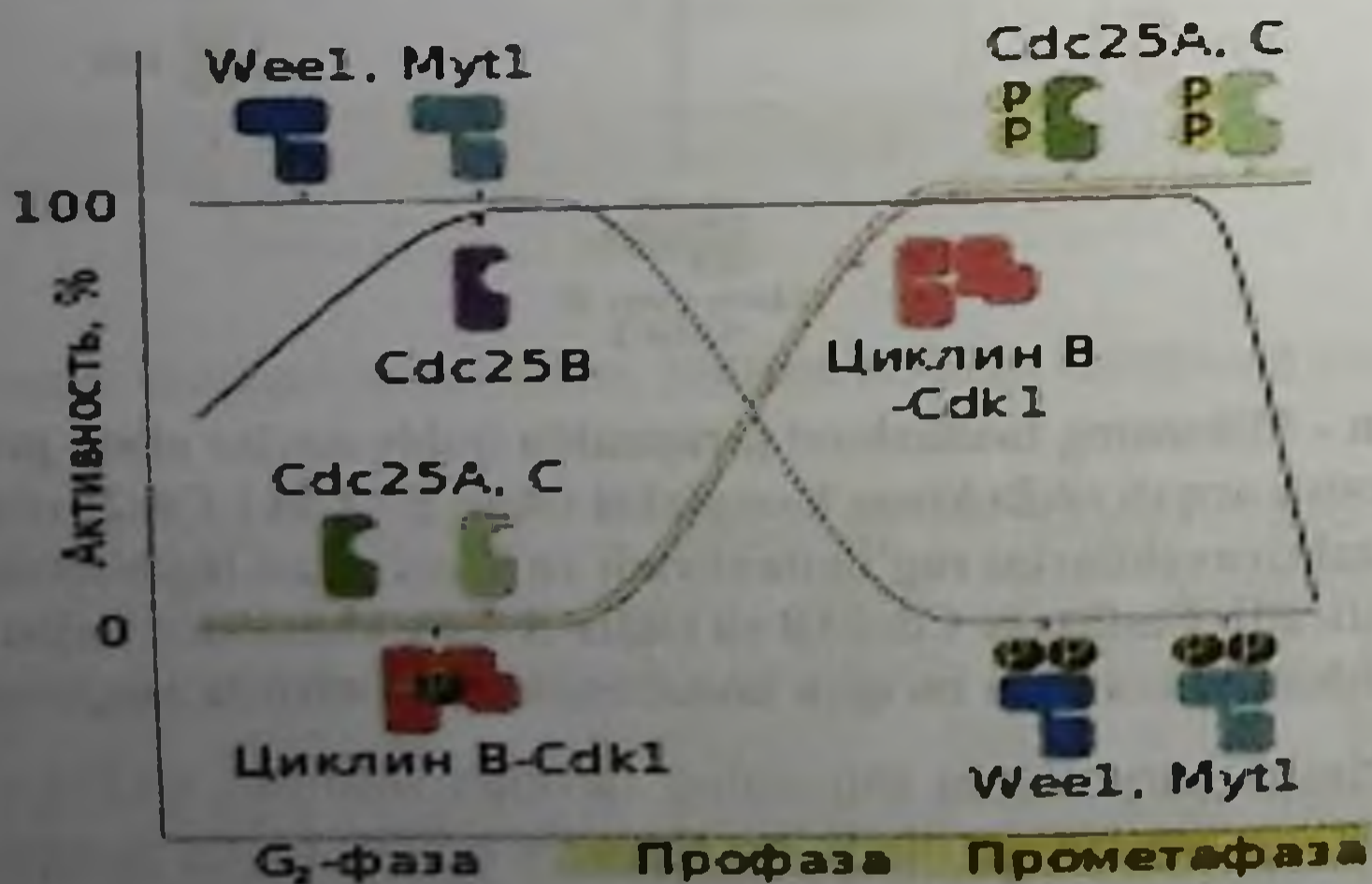
Siklin kinaz faolligi regulyatorlari

Mitotik siklinlarning to'planishi G2 bosqichida boshlanadi. Siklinlar konsentratsiyasining ortishi ularning tegishli genlarining transkripsiyasi bilan ta'minlanadi. Yangi sintez qilingan siklinlar darhol faol bo'lmagan Cdk1 kinaz bilan birlashadi. Biroq, hosil bo'lgan siklin kinaz komplekslari mitoz faollashguncha faol bo'lmagan holatda qoladi.

M-Cdk1 komplekslarining faolligi Cdk1 molekulasining inhibitiv fosforillanishi tufayli G2 fazasida bostiriladi. Wee1 oilasining protein kinazlari guruhi Cdk1 ni inhibe qilish uchun javobgardir. Natijada, mitozning boshlanishi bilan hujayrada faol bo'lmagan M-Cdk1 komplekslarining sezilarli miqdori to'planadi (14.3-rasm).

Aslida, molekulyar darajadagi profilaktika boshlanishi M-Cdk1 kinaz komplekslarining keskin faollashuvi bilan belgilanadi. M-Cdk1 faolligining keskin o'sishi asosida kamida ikkita o'zaro bog'liq hodisa yotadi.

Birinchi, M-Cdk1 kompleksini inhibitiv fosfat guruhlaridan chiqaradigan Cdc25 oilasining fosfatazalari faollashishi profilaktika boshlanishiga to'g'ri keladi.



14.3-rasm - Mitozning asosiy regulyatorlarining profilaktika bosqichidagi faoliyati (umurtqali hayvonlar misolida).

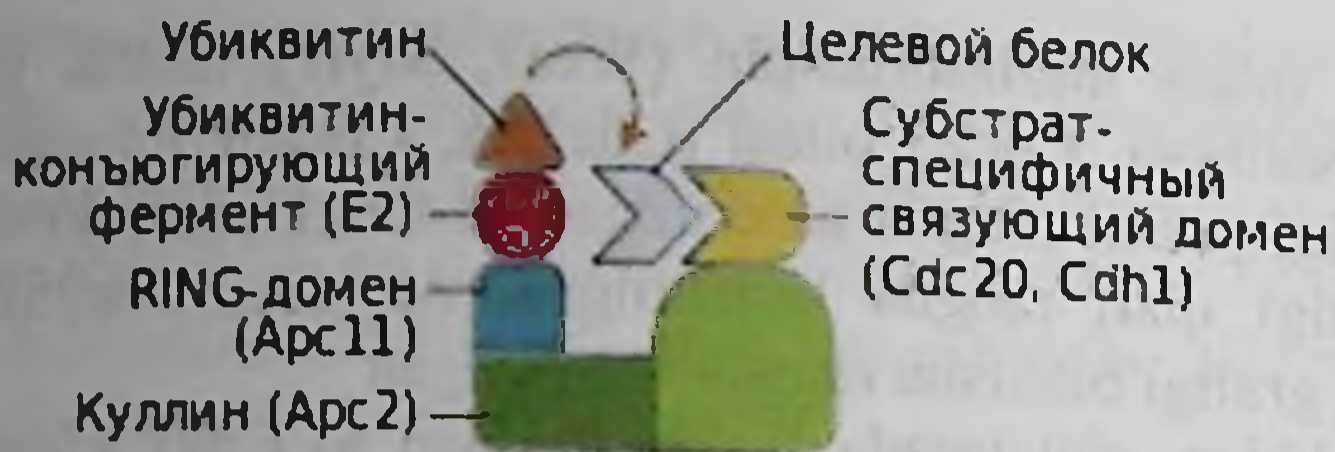
Weel oilasi ingibitorlerinin (Weel, Myt1) faollik grafigi ko'k rangda ko'rsatilgan. Cdc25 oilasi (Cdc25A, Cdc25C) fosfatazalarining faollik grafigi yashil rangda ko'rsatilgan. B-Cdk1 siklin kompleksining faollik grafigi qizil rangda ko'rsatilgan. Alohida, Cdc25B fosfataza faolligining grafigi binafsha rangda ko'rsatilgan

Ikkinchidan, shu tarzda faollashtirilgan M-Cdk1 kinazlari ijobiy qayta aloqa zanjiriga kiradi: fosforillanish orqali ular Cdc25 oilasining o'z faollashtiruvchilarini faollashtiradi va Weel oilasining o'z ingibitorlarini ingibitsiya qiladi. Natijada, Weel oilasi ingibitorlari faolligining parallel ravishda pasayishi fonida Cdc25 oilasining fosfatazalari va M-Cdk1 siklinkinazlari faolligining o'zaro bog'liq ortishi kuzatiladi. Shunday qilib, mitozning faollashuvi ijobiy aloqa printsipiga asoslanadi. Ammo, mitozning boshlang'ich mexanizmlari haqida allaqachon ma'lum bo'lganiga qaramay, qaysi stimul dastlab Cdc25 yoki Cdk1 ni faollashtirishi va shu bilan ijobiy geribildirim zanjirini tetiklashi hali ham aniq emas.

Polo va auroraga o'xshash kinazlar

Siklinga bog'liq kinazlardan tashqari, mitotik hodisalarni tartibga solishda yana kamida ikkita turdagi kinazlar ishtirok etadi: pologa o'xshash kinazalar va aurora oilasi kinazalari. Pologa o'xshash kinazlar (Plk) - serin-treonin protein kinazlari bo'lib, ular dastlabki bosqichlarda faollashadi va mitozning kech bosqichlarida yoki G1 fazasining boshida inaktivlanadi. Ushbu kinazlar turli xil mitotik jarayonlarda ishtirok etadilar: urchuqning yig'ilishi, kinetoxora ishlashi, sitokinez. Aurora oilasi kinazalari ham serin-treonin oqsil kinazlari guruhiga kiradi. Ko'p hujayrali organizmlarda bu oilaning ikkita asosiy vakili mavjud: aurora A va aurora B. Aurora A kinazasi sentrosomalar va mitotik urchuq ipi faoliyatini tartibga solishda ishtirok etadi. Aurora B kinazasi qiz xromatidlarning kondensatsiyasi va ajralish jarayonlarini tartibga solishda ishtirok etadi, shuningdek, kinetoxoralarning urchuq mikronaychalariga biriktirilishini ta'minlaydi.

Anafazani rag'batlantiruvchi kompleks APC, shuningdek siklosoma deb ataladi, anafaza faollashuvida hal qiluvchi rol o'ynaydigan katta protein birikmasidir. Funktsional jihatdan anafaza stimulyatsiyasi kompleksi ubiquitin ligaza bo'lib, ubiquitin molekulalarining turli maqsadli oqsillarga qo'shilishi bilan bog'liq reaksiyalarni katalizlaydi, ular oxir-oqibat proteolizga uchraydi. Anafaza stimulyatsion kompleksining tuzilishi taxminan 11-13 ta subbirlikdan iborat (14.4-rasm).



Рasm 14.4 - Анафаза стимуляцисyasi комплекси.

Kompleksning yadrosi kullin subbirligidan (Apc2) va RING domenidan (Apc11) iborat bo'lib, unga ubiquitin-konjugatsiya qiluvchi ferment (E2) biriktiriladi. Kompleksning ishlashi hujayra siklining to'g'ri vaqtida faollashtiruvchi bo'linmaning biriktirilishi bilan tartibga solinadi. Cdc20 oqsili (inglizcha: Celldivisioncycleprotein 20 - "hujayra sikli oqsili 20") bo'linuvchi hujayraning metafazadan anafazaga o'tish jarayonida APC kompleksini faollashtiradi. Bu quyidagicha sodir bo'ladi. Metafaza bosqichida siklinkinaz kompleksi M-Cdk fosforlanish orqali APC kompleksining yadrosini o'zgartiradi. Ushbu konformatsion o'zgarish natijasida Cdc20 aktivatorining biriktirilish ehtimoli ortadi. Oxir-oqibat, faollashtirilgan APCCdc20 kompleksi ubiquitin ligaza faolligiga ega bo'ladi va uning asosiy maqsadlari - sekurin va mitotik siklinlarni ubiquitinatsiya qiladi (14.4-rasm).

Anafaza faollashtiruvchisi APCCdc20

Sekurin (APCCdc20 ning asosiy maqsadlaridan biri) separaza fermentini faolsiz ushlab turadigan inhibitiv oqsildir. Ubiquitinatsiya reaksiyasi natijasida sekurin yo'q qilinadi va bu jarayonda ajralib chiqadigan separaza kogezinni yo'q qiladi. Qiz xromatidalarining birikishini ta'minlovchi kogezinning parchalanishidan so'ng xromosomalarining hujayra bo'linish qutblariga ajralishi va ajralishi sodir bo'ladi.

Ubiquitinatsiya va natijada mitotik siklinlarning yo'q qilinishi (APCCdc20 ning yana bir muhim maqsadi) salbiy teskari aloqa zanjirini boshlaydi. Bu shunday ko'rinadi. M-Cdk siklinkinaz kompleksi APCCdc20 ubiquitin ligaza kompleksini faollashtiradi, bu mitotik siklinlarni yo'q qiladi, bu M-Cdk siklinkinaz kompleksining degradatsiyasiga olib keladi, ya'ni reaksiyalar zanjiri asl faollashtiruvchining yo'q qilinishiga olib keladi. bu zanjir. Ammo APCCdc20 faolligi M-Cdk kompleksiga bog'liq bo'lganligi sababli, M-Cdk siklin kinazining inaktivatsiyasi APCCdc20 ning inaktivatsiyasiga olib keladi. Natijada, APCCdc20 mitozning oxiriga kelib o'chiriladi.

14.2 Transformatsion o'sish omili beta (TGF beta)

Transforming o'sish omili beta - bu ko'pchilik hujayralardagi proliferatsiya, hujayra differentsiatsiyasi va boshqa funktsiyalarni boshqaradigan oqsil. Sitokinning bu a'zosi immunitet, saraton, yurak-qon tomir kasalliklari, diabetes mellitus, Marfan sindromi, Loyes-Deets sindromi, Parkinson kasalligi va orttirilgan immunitet tanqisligi sindromi (OITS) sabab boladi.

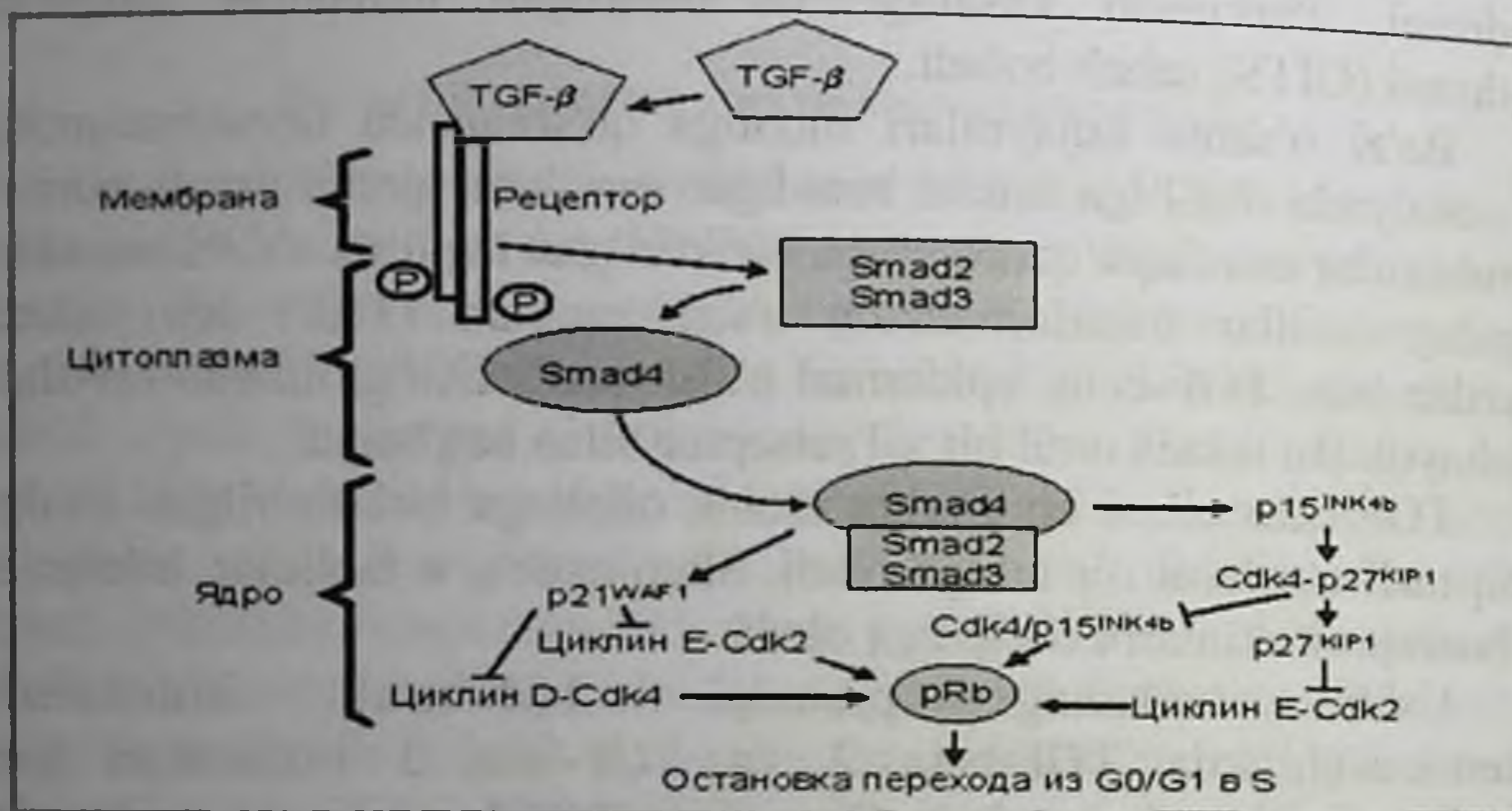
Ba'zi o'simta hujayralari muhitga qo'shilganda fibroblastlarning suspenziyada o'sishiga imkon beradigan omillarni ajratib turadi, normal fibroblastlar esa faqat qattiq sirtga biriktirilgan taqdirda o'sishi mumkin. Bunday omillar transformatsion o'sish omillari (TGF) deb ataladi. Ulardan biri, TGF-beta, epidermal o'sish omili EGFga tizimli ravishda o'xshaydi. Bu ikkala omil bir xil retseptor bilan bog'lanadi.

TGF-beta oilasi bir nechta kichik oilalarga birlashtirilgan 40 dan ortiq turli a'zolarni o'z ichiga oladi. Shuningdek, u faolinlar, inhibinlar va boshqa sitokinlarni o'z ichiga oladi.

Ushbu oilaning prototipi TGF-beta1 hisoblanadi. Sutmizuvchilarda TGF-beta 2 va TGF-beta 3 izoformlari ham ifodalanadi. Bu erda eng ko'p o'rganilgan TGF-beta1 haqida gapiramiz. Ushbu oila a'zolari ko'p sonli hujayra turlariga ko'p ta'sir ko'rsatadi va hujayralar o'sishini, differentsiatsiyasini va apoptozini tartibga solishda, shuningdek immun tizimining modulyatsiyasida ishtirok etadilar. Bu omillar urug'lantirilgan tuxumdan boshlab rivojlanishda muhim rol o'ynaydi. TGFbeta oilasi o'zining ko'p funksiyaliligiga mos ravishda o'simta hosil bo'lishida bir nechta rol o'ynashi mumkin. Dastlabki bosqichlarda ular o'simtani bostiruvchi sifatida harakat qilishlari mumkin. p15INK4b va p27KIP1a TGF-b ning retseptorlari bilan bog'lanishi natijasida paydo bo'lgan inhibitiv signallarni uzatishda asosiy komponentlardir (14.5-rasm).

90-yillarning oxirida faollashtirilgan TGF-b retseptorlari o'ziga xos signal effektorlarini, Smad2 va Smad3 oqsillarini fosforillashi va ularning Smad4 o'simtasini bostiruvchisi bilan bog'lanishiga olib kelishi aniqlandi. Hosil bo'lgan komplekslar sitoplazmadan yadroga ko'chiriladi va u yerda o'ziga xos genlarning, xususan, Cdk ingibitorlarining transkripsiyasini tartibga soladi. Natijada, p21WAF1/CIP1 va p15INK4b ham faollashtiriladi. Ikkinchisi Cdk4/6 bilan kompleksdan p27KIP1a ni siqib chiqaradi va G1 orqali progressiya uchun zarur bo'lgan D siklinlari bilan ularning komplekslarini hosil bo'lishini bostiradi. Chiqarilgan p27KIP1a, o'z navbatida, S fazasining

boshlanishi uchun mas'ul bo'lgan siklin E - Cdk2 komplekslarini bog'laydi va inhibe qiladi. p21WAF1/CIP1 ekspressiyasining ortishi ham siklin D - Cdk4,6 va siklin E - Cdk2 komplekslarining faolligini bostirishga olib keladi. Natijada, hujayra G0/G1 da to'xtaydi va S fazaga kirmaydi.



14.5-rasm. TGF-β ning o'z retseptorlari bilan bog'lanishi Smad4 - Smad2,3 transkripsiya komplekslarining hosil bo'lishiga olib keladi, ular sitoplazmadan yadroga ko'chiriladi. Bu bir qator maqsadlarning faollashishiga olib keladi, shu jumladan siklinga bog'liq p21WAF1 / CIP1, p15INK4b, p27KIP1a kinazlarining inhibitörleri, bu G1 orqali o'tish va kirish uchun mas'ul bo'lgan Cdk4,6 va Cdk2 faolligini bostirishga olib keladi. S fazasi.

Keyinchalik, keyingi bosqichlarda, hujayralar tashqi o'sish inhibitsiyoniga befarq bo'lib qolganda, u, aksincha, angiogenezni, immunosupressiyani va hujayradan tashqari matritsa sintezini rag'batlantiradigan, o'simta hosil bo'lishining promouteri sifatida harakat qilishi mumkin. Bu o'smalarning o'sishiga va metastaziga yordam beradi. Transformatsiya qiluvchi o'sish omili beta ko'krak hujayralari proliferatsiyasini ingibirlaydi.

Transformatsiya qiluvchi o'sish omili beta kollagen ishlab chiqarishning kuchli stimulyatoridir.

TGF-beta - bu hujayra tomonidan hujayradan tashqari muhitga chiqariladigan oqsil. U kamida uchta izoformada mavjud: TGF-beta1, TGF-beta2 va TGFbeta3. Bu nom dastlab ushbu oilaning birinchi a'zosi bo'lgan TGF-beta1 uchun ishlatilgan. TGF-beta1 oilasi inhibinlar, aktivinlar, anti-Myullerian gormonlar, suyak morfogenetik oqsili

(BMP), dekapentaplegik oqsil omili va VG-1 ni o'z ichiga olgan transformatsion o'sish omili superfamiliyasi deb nomlanuvchi oqsillar super oilasining bir qismidir.

TGF-beta normal epiteliya hujayralarida va o'smaning dastlabki bosqichlarida antiproliferativ omil sifatida ishlaydi.

TGF-beta chiqaradigan ba'zi hujayralar ham uning retseptorlariga ega. Ushbu mexanizm avtokrin induksiya deb nomlanadi. Saraton hujayralari ular chiqaradigan TGF-beta miqdorini oshiradi, bu ham atrofdagi hujayralarga ta'sir qiladi.

TGF-beta ko'plab hujayra turlari, shu jumladan makrofaglar tomonidan faol bo'lmagan (latent) shaklda chiqariladi, bunda u boshqa ikkita polipeptid, yashirin TGF-beta bog'lovchi oqsil (LTBP) va LAP bilan bog'lanadi. Plazmin kabi zardob proteinazalari kompleksdan faol TGFbeta ning chiqarilishini katalizlaydi. Bu ko'pincha makrofag yuzasida sodir bo'ladi, bu erda yashirin TGF-beta kompleksi CD36 retseptorlari bilan trombospondin-1 (TSP-1) ligandlari orqali bog'lanadi. Makrofaglarni faollashtiradigan yallig'lanish stimulyatorlari faol TGF-beta ajralishini kuchaytiradi, bu esa plazmin faollashishiga olib keladi. Makrofaglar shuningdek, plazma xujayralari tomonidan chiqariladigan IgG bilan bog'langan yashirin TGF-beta komplekslarini endotsitoz bilan yutib yuborishi mumkin va keyin faol TGF-beta ni interstitsial suyuqlikka chiqaradi.

TGF-beta ko'pgina hujayra turlarida apoptozni boshlaydi. TGF-beta ikkita signalizatsiya yo'lidan birini faollashtirish orqali apoptozni qo'zg'atishi mumkin: SMAD yoki DAXX.

SMAD signalizatsiya yo'li kanonikdir. TGF-beta dimerlari ikkinchi turdagi retseptorlarga bog'lanadi, ular birinchi turdagi retseptorlarni bog'laydi va fosforlaydi. Birinchi turdagi retseptorlar keyinchalik R-SMAD retseptorlarini bog'laydi va fosforlaydi. R-SMADlardan biri, SMAD3, apoptozni qo'zg'atishda ishtirok etgan. R-SMAD yana an'anaviy SMAD (SMAD4) bilan bog'lanadi va heterodimerik kompleks hosil qiladi. Ushbu kompleks hujayra yadrosiga kiradi, u erda turli genlar, shu jumladan apoptozni qo'zg'atuvchi mitogen faollashtirilgan protein kinaz yo'lini faollashtiradigan genlar uchun transkripsiya omili sifatida ishlaydi.

TGF-beta muhim hujayra faoliyatini tartibga solishda ishtirok etadi. TGF-beta-ni faollashtiradigan yo'llarning faqat kichik bir qismi ma'lum. Ma'lum bo'lgan yo'llarning ba'zilari hujayra turiga yoki to'qimalarga xosdir, boshqalari esa turli xil hujayra turlari va

to'qimalarida mavjud. Proteazlar, integrinlar, pH va reaktiv kislorod turlari TGF-beta-ni faollashtirishi mumkin bo'lgan hozirgi vaqtda ma'lum bo'lgan omillarning bir qismidir. Ma'lumki, ushbu faollashtiruvchi omillarning tebranishlari TGF-beta signalizatsiya yo'lida tartibsiz o'zgarishlarga olib kelishi mumkin, bu yallig'lanish, otoimmün kasalliklar, fibroz, saraton va katarakt kabi bir qator asoratlarni keltirib chiqarishi mumkin. Ko'pgina hollarda, faollashtirilgan TGF-beta ligand, I va II turdagi TGF-beta retseptorlari mavjud ekan, TGF-beta signalizatsiya kaskadini boshlaydi. qo'l ostida; Bu TGF-beta va uning retseptorlari o'rtasidagi yuqori yaqinlik bilan bog'liq.

14.3 Hujayralarning hujayradan tashqari matritsaga biriktirilishiga bog'liqligi: kirish

Omon qolish va ko'payish uchun normal hujayralarning aksariyat turlari hujayradan tashqari matritsaga biriktirilishi kerak.

Ushbu hodisaning asosida ikkita asosiy omil yotadi:

1) o'sish omillarining biriktirilmagan hujayralardagi siklin E - Cdk2 komplekslarini faollashtira olmasligi, S fazasiga kirish uchun javobgardir,

2) adezyon o'zaro ta'siri bo'lmaganda ko'p turdagi hujayralarda apoptozning induktsiyasi (apoptozning bu turi "anoikis" maxsus nomiga ega).

Proliferatsiyaning bostirilishi ham, biriktirilmagan hujayralardagi apoptozning induktsiyasi ham hujayralarning substratdan ajralishi va integrin retseptorlaridan signallarning yo'qligi natijasida yuzaga keladigan p53 faollashuvi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

P53p21WAF1 signalizatsiya yo'lining faollashuviga qo'shimcha ravishda, p27KIP1 to'planishi, tabiiy ravishda matritsa bilan hujayra aloqasi yo'qligida ham kuzatiladi, S-fazaga kirishni bostirish uchun javobgardir.

Hujayra ichidagi biriktiruvchi oqsillar

Hujayra ichidagi biriktiruvchi oqsillarga alfa, beta va gamma kateninlar, vinkulin, alfa aktinin va plakoglobin kiradi. Shunday qilib, qo'shni hujayralarning faol to'plamlari hujayra ichidagi biriktiruvchi oqsillar va kaderinlar orqali keng hujayralararo tarmoqqa bog'lanadi. Ushbu tarmoqning qisqarishi asosiy morfogenetik jarayonda, epiteliy hujayra qatlamlarining naychalarga katlanishida ishtirok etadi, deb ishoniladi (misol umurtqali hayvonlar embrion rivojlanishida asab nayining shakllanishi).

Hujayra ichidagi biriktiruvchi oqsillar plazma membranasining sitoplazmatik yuzasida xarakterli plastinka hosil qiladi va birikma kompleksini aktin filamentlari yoki oraliq filamentlarga biriktiradi.

Hujayra-matriksli adgezion aloqa.

Hujayra-matritsaning yopishish birikmalari hujayralarga aktin filamentlarini matritsaga biriktirish orqali hujayradan tashqari matritsaga ulanish qobiliyatini beradi.

Kultivirlangan fibroblastlarda plazma membranasining bunday ixtisoslashgan hududlari fokal kontaktlar (yoki adgezion tanachalari) deb ataladi; aktin filamentlari to'plamlari fokal kontaktlarda tugaydi. Hujayra-matritsaning yopishtiruvchi birikmalarida yopishqoq o'zaro ta'sirga vositachilik qiluvchi transmembran bog'lovchi oqsillar hujayradan tashqari matritsa sirt retseptorlari oilasining a'zolari bo'lib, integrinlardir.

Fokal kontaktdagi integrinning hujayradan tashqari sohasi hujayradan tashqari matritsaning tarkibiy qismi bilan bog'lanadi va hujayra ichidagi domen talin, vinkulin, alfa-aktininni o'z ichiga olgan hujayra ichidagi biriktiruvchi oqsillar majmuasi orqali bilvosita aktin filament to'plamlariga bog'lanadi.

14.4 Integrinlarni hujayradan tashqari matritsaga bog'lash orqali hujayralarni stimulyatsiya qilish

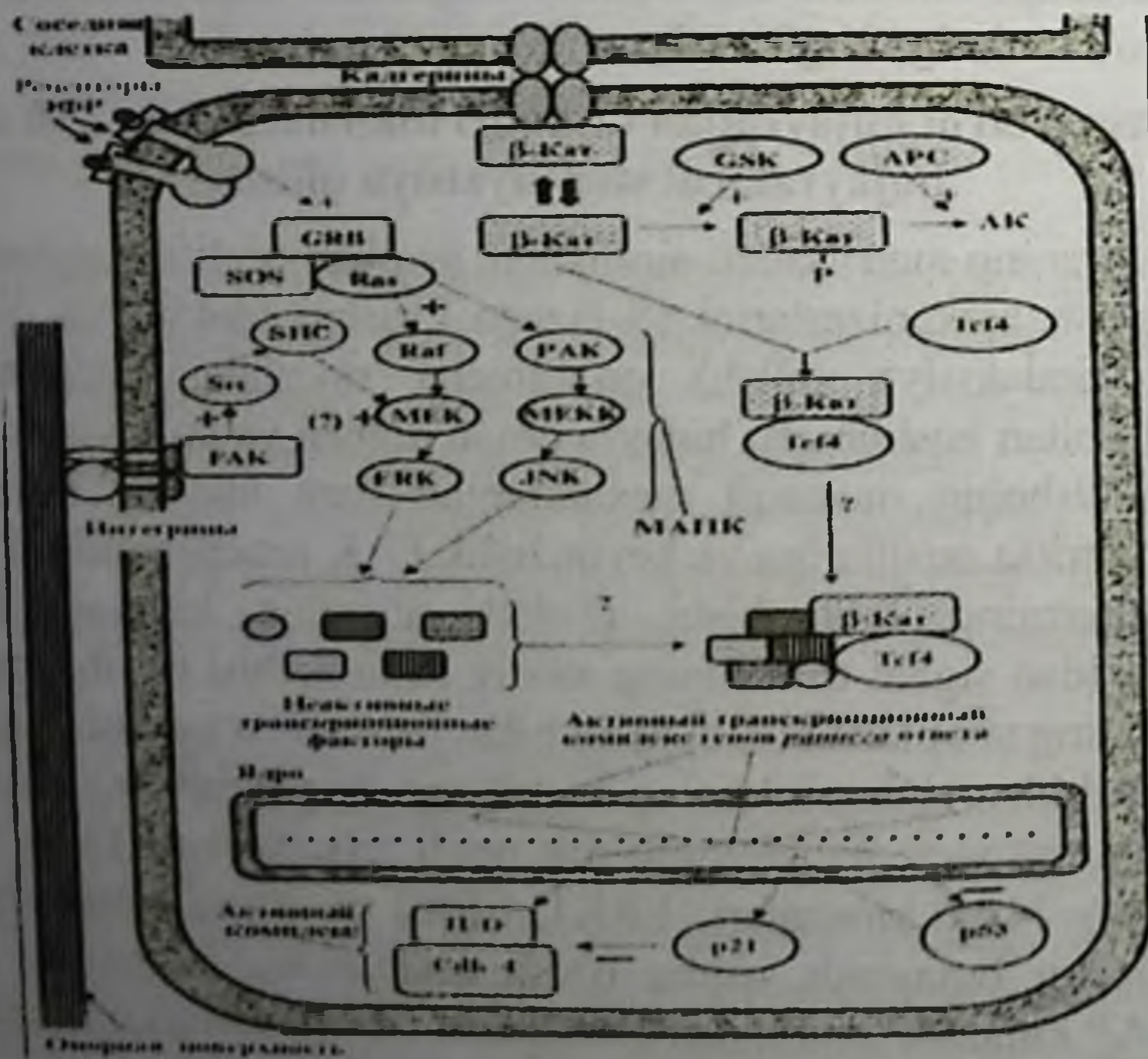
Hujayraning matritsadan ajralishiga javoban proliferatsiyani salbiy nazorat qilish mexanizmlarini (S-fazaga kirishni blokirovka qilish va apoptozni induktsiya qilish) qo'shimcha ravishda, integrinlarning bog'lanishi bilan boshlangan hujayra omon qolishi va ko'payishini ijobiy tartibga solishning mustaqil mexanizmlari ham mavjud. Hujayradan tashqari matritsa oqsillariga va keyinchalik FAK retseptorlari bo'lmagan tirozin kinazning faollashishi (Fokal adgezion kinazasi integrin retseptorlaridan signal uzatishning asosiy ishtirokchisi bo'lib, integrin b bo'linmasining sitoplazmatik domeni bilan jismoniy o'zaro ta'sir qiladi.

Birinchiidan, integrinlarning matritsaga bog'lanishi va FAK ning faollashishi mitogen signalning o'sish omili retseptorlari (EGF, PDGF) dan yakuniy MAP kinazalari -ERK1, ERK2 ga o'tishi uchun zarurdir. Bog'lanmagan hujayrada ushbu o'sish omillarining signallari MEK1 oraliq MAP kinazasi tomonidan bloklanadi, u ba'zi noma'lum sabablarga ko'ra o'z maqsadlarini fosforillamaydi - ERK1/2.

Ikkinchiidan, Shc adapter oqsili orqali Rasni faollashtirib, integrin retseptorlari nafaqat mitogen signalni rag'batlantiradi, balki RasPI3K-

PKB / Akt signalizatsiya yo'lining faollashishi tufayli anoikisni (apoptozni) bostiradi.

Agar hujayralarning hayotiyliги va/yoki ko'payishi ularning matritsa bilan bog'lanishiga bog'liqligini aniqlaydigan bir nechta mexanizmlar mavjudligidan kelib chiqadigan bo'lsak, o'simta hujayralariga xos bo'lgan adgezion o'zaro ta'siridan mustaqillikning paydo bo'lishi uchun bir nechta omillar mavjudligi aniq bo'ladi. Ko'rinib turibdiki, hodisalar zarur bo'lib, bu, bir tomondan, p53 (ushbu genning mutatsiyalari/deletsiyalari, MDM2 onkogenining haddan tashqari ifodalanishi va boshqalar) va/yoki p27KIP1 (mutatsiyalar/o'chirishlar; haddan tashqari ekspressiya) ning supressor ta'sirini bartaraf etishga imkon beradi. RAS va MYC onkogenlari, bu oqsilning degradatsiyasiga olib keladi va boshqalar) va boshqa tomondan - MEK1 kinaz darajasida mitogen signalning uzilishini chetlab o'tish (masalan, Src yoki Myc oqsillarini faollashtirish orqali, siklin E - Cdk2 komplekslarining faollashishiga olib keladi) va Ras-PI3K-PKB/Akt signalizatsiya yo'li orqali anoiklarni bloklaydi.



14.6-рasm - Erta javob genlarining faollashtirilgan transkripsiya kompleksi, hujayra bo'linishini ta'minlaydigan hujayra ichidagi signalizatsiya yo'llarini rag'batlantirish uchun zarur bo'lgan shartlar.

MAP kinazalarining faollashishi natijasida kelib chiqqan bir qator transkripsiya omillari faolligining o'zgarishi oqibati siklin D1 geni ekspressiyasining oshishi hisoblanadi (buning uchun Jun, Ets1, Ets2 oqsillari javobgar deb taxmin qilinadi)

Ko'pgina proto-onkogenlar va o'simta bostiruvchilarning mahsulotlari pRb ni fosforillaydigan siklinga bog'liq kinazalarning faolligini tartibga soladi.

pRb ning fosforillanishi, shuningdek, uning bir qator virusli onkoproteinlar bilan bog'lanishi E2F - DP transkripsiya komplekslarining chiqishi va faollashishiga olib keladi, bu genlarning ekspressiyasini oshiradi, ularning mahsulotlari S-fazadan o'tish uchun zarurdir.

Fokal aloqa: tuzilishi, funktsiyalari noaniq bo'lgan oqsillar

Fokal kontaktlar bir qator oqsillarni o'z ichiga oladi, ularning lokalizatsiyasi va funktsiyalari hali aniq emas. Bularga fimbrin (63 kDa), qoplovchi oqsil tensin (150-200 kDa) va bir qator boshqalar kiradi. Fokal kontaktlarda topilgan ko'plab oqsillar tartibga soluvchidir. Ular fokusli kontaktning ichida ham, tashqarisida ham joylashishi mumkin. Tashqi tomondan plazminogen faollashtiruvchi va plazminogen ingibitori mavjud. Ichki tomondan, alfa-aktinin bilan o'zaro ta'sir qilish qobiliyatiga ega bo'lgan 82 kDa molekulyar og'irligi bo'lgan protein kinaz C, Ca ga bog'liq proteaza, kalpain I, zixin bir qator tirozin oqsil kinazalari topildi, oqsil 200 kDa molekulyar og'irligi 68 kDa bo'lgan paxillin.

14.5 Kadxerinlar o'simta supressorlari sifatida: umumiy ma'lumot

Hujayra mitagen signallarni sezishi va bo'linishi uchun qo'shni hujayralar bilan aloqa bo'lmasligi kerak.

Transmembran retseptorlari, kadxerinlar, adgezion birikmalarni tashkil qilishda ishtirok etadilar, shuningdek, signal uzatishda ishtirok etadilar va o'simta supressorlar bo'lib, ularning funktsiyalarini yo'qotish transformatsiyaga olib keladi.

PCR yordamida ko'plab kaderinlar fibroblastlarda ifodalanganligi aniqlandi: N, P, PC43, inson yog'i, FIB1, FIB2, FIB3. FIB1 va FIB2 faqat fibroblastlarda ifodalanadi.

E-kadxerinning ekspressiyasi va funktsiyasining yo'qolishi namunada hujayra invazivligini oshiradi va E-kadherin etishmovchiligi yoki mutatsiyalar ba'zi odam o'smalarida invazivlik va metastaz berish qobiliyati bilan bog'liq. Sichqonlarda E-kadxerin genining nokautlari

rivojlanishning juda erta bosqichlarida halokatli bo'lib, bu, albatta, uning o'simta supressori rolini o'rganishni qiyinlashtiradi, lekin bu oqsilning organizm rivojlanishi uchun qanchalik muhimligini ko'rsatadi.

APC oqsili

APC (adenomatoz polipoz coli) o'simta supressor genning mahsuloti bo'lib, uning mutatsiyalari odamlarda yo'g'on ichak saratoni bilan bog'liq.

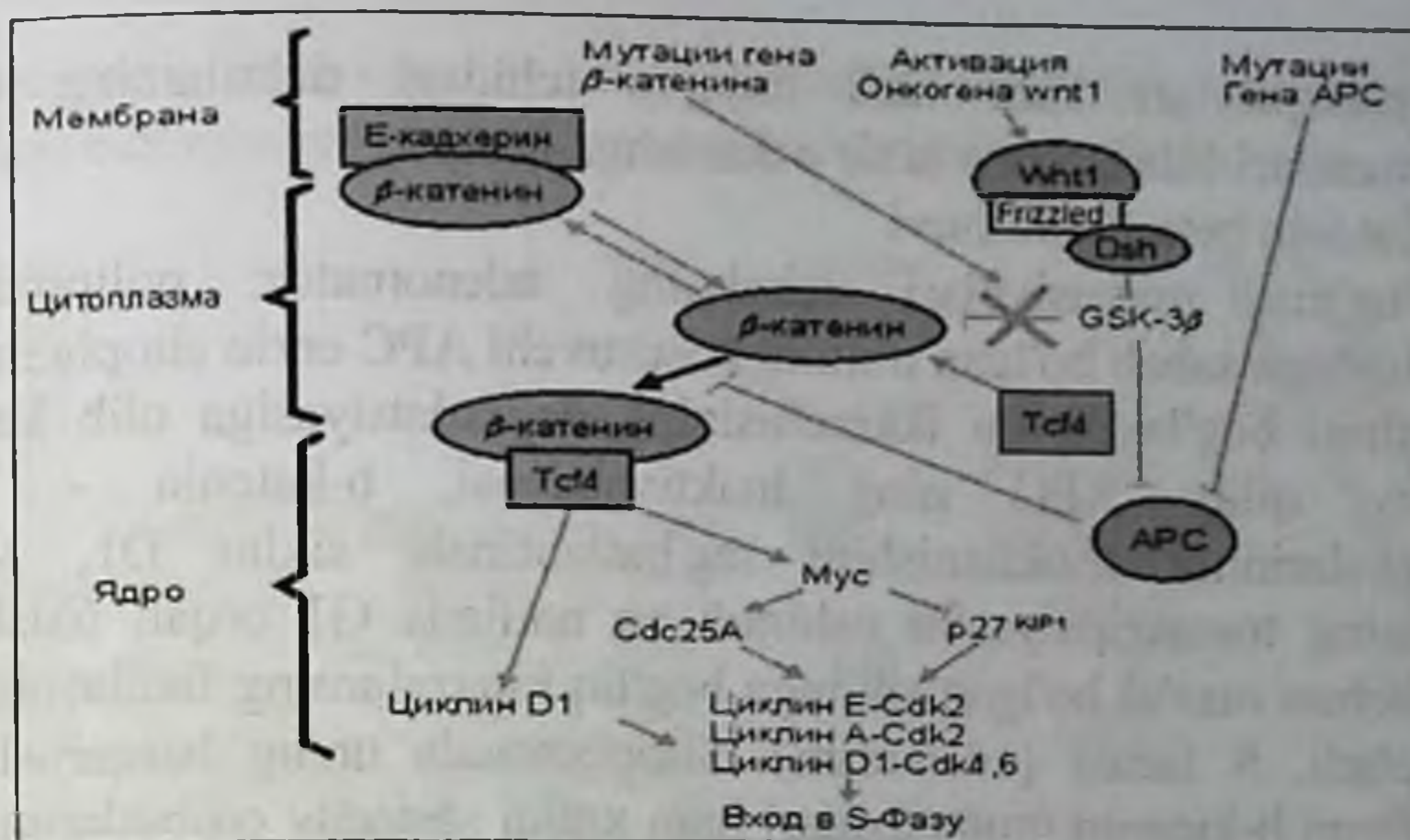
APC o'z funksiyasini yo'qotgan SW480 saraton hujayralari qatorida sitoplazmik beta-katenin darajasi oshadi; APC funksiyasini tiklash sitoplazmadagi betakatenin miqdorining pasayishiga olib keladi. APC beta-katenin va plakoglobinning sitoplazmatik darajasini nazorat qilishda ma'lum rol o'ynaydi, shuningdek, wnt / qanotsiz signalizatsiya yo'lining ishtirokchisi hisoblanadi. APC ning beta-katenin bilan o'zaro ta'siri GSK (glikogen sintaza kinaz), serin / treonin kinaz tomonidan tartibga solinadi. APC ning hujayradagi funksiyalari etarlicha aniq emas, ammo in vitro sharoitida APC va mikronaychalarning bog'lanishi ko'rsatilgan, bu hujayradagi sitoskeletal tuzilmalarning o'zaro ta'sirida ma'lum rol o'ynashi mumkin. APC beta-katenin bilan bog'lanish uchun E-kaderin bilan raqobatlashadi. APC oqsiliga ko'ra aftidan, hujayralarning yo'naltirilgan migratsiyasida ham ma'lum rol o'ynaydi.

Kadherin E (epitelial kadherin, uvomorulin, L-CAM)

E-kadherin - qatlamlardagi epiteliya hujayralari o'rtasidagi o'zaro ta'sirga vositachilik qiluvchi kaltsiyni bog'laydigan oqsil. E-kadherinning hujayra ichidagi sohasi beta-katenin bilan, so'ngra alfa-katenin orqali sitoskeleton bilan o'zaro ta'sir qiladi (14.7-rasm). Shunday qilib, epiteliy uchun mustahkam karkas hosil bo'ladi.

O'simta hujayralari tomonidan invaziv va metastatik faollikni olishda retseptorlari yopishish molekulalarining roli aniqlandi: fibronektin uchun E-kadherin va integrin retseptorlari alfa 5 beta 1 yo'qolishi, laminin uchun retseptorlarning ekspressiyasining oshishi va boshqalar.

E-kadherin yoki tizimning boshqa tarkibiy qismlarining yo'qolishi o'smaning rivojlanishiga va metastazlanishiga yordam beradi.



14.7-рasm - APC va b-катенин o'simtalarini supressorlari mutatsiyalari, shuningdek, wnt1 onkogenining faollashishi MYC va siklin D1 genlarini tartibga soluvchi b-катенин - Tcf4 transkripsiya komplekslarining shakllanishini rag'batlantiradi. Natijada bir qator siklin-Cdk komplekslarining faolligi oshadi (matndagi tushuntirishlar).

Ma'lum bo'lishicha, E-kadherin bilan bog'lanmagan holatda, b-катенин transkripsiya omili sifatida xizmat qilishi mumkin. Sitoplazmada u boshqa Tcf4 transkripsiya omili bilan bog'lanadi, shundan so'ng b-катенин - Tcf4 komplekslari yadroga ko'chiriladi va o'ziga xos sezgir elementlarni o'z ichiga olgan genlarni faollashtiradi. B-катенин - Tcf4 kompleksining transaktivatsiya ta'sirining asosiy maqsadlaridan biri siklin D1 geni va MYC geni va natijada bu faollashuvga olib keladi. G1 bo'ylab targ'ib qilish va S fazasiga kirish uchun mas'ul bo'lgan siklinga bog'liq kinazlar (15.7-rasm).

14.6 Beta-катенин: hujayralararo yopishqoqlikni (adgezivani) tartibga solish

Kadherinlar bilan to'g'ridan-to'g'ri va bilvosita aktin filamentlari bilan o'zaro ta'sir qilish orqali beta-катенин o'tishi mumkin tirozin fosforillanishi va transmembran tirozin fosfataza bilan bog'lanadi, u shunga mos ravishda in vitroda betakateninni fosforsizlantirishga qodir. Beta-катенинning tirozin fosforlanishi stimulgа javoban yopishqoqlikning pasayishi bilan bog'liq. Beta-катенин ibtidoiy hujayra-hujayra yopishishini o'rnatishda ixtiyoriy element bo'lib, unda beta-катенин kaderinning sitoplazmatik qismi bilan bevosita o'zaro ta'sir qiladi. Beta-катенин adgezion kompleksining markaziy tartibga soluvchi komponenti bo'lib, kadherinlar, APC, fassin, transkripsiya omillari va

EGF retseptorlari kabi turli hujayra ichidagi tizimlarning oqsil komponentlari bilan o'zaro ta'sir o'tkazishga qodir

Katenin beta faollashuvi

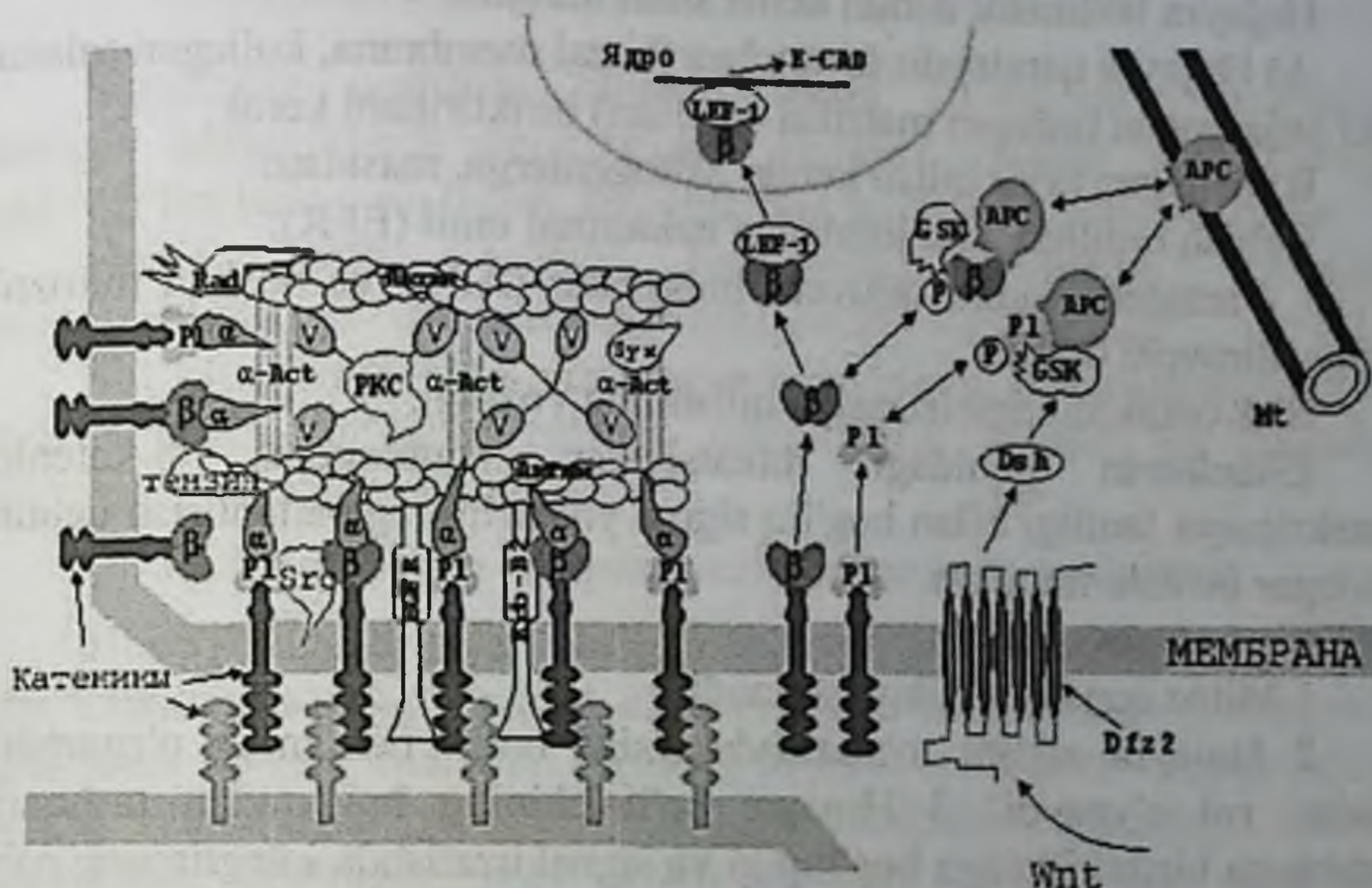
Tug'ma mutatsiyalari ichakning adenomatoz polipozining rivojlanishiga sabab bo'lgan o'simta bostiruvchi APC erkin sitoplazmatik b-kateninni bog'laydi, bu ikkinchisining degradatsiyasiga olib keladi. Shunday qilib, APC ning inaktivatsiyasi, b-katenin - Tcf4 komplekslarining shakllanishini rag'batlantirish, siklin D1, MYC genlarining transkripsiyasini oshiradi va natijada G1 orqali o'tish va kirish uchun mas'ul bo'lgan siklinga bog'liq kinazalarning faollashishiga olib keladi. S fazasi (14.7-rasm). Sitoplazmada uning barqarorligini oshiradigan b-katenin mutatsiyalari ham xuddi shunday oqibatlariga olib keladi (bunday mutatsiyalar APC mutatsiyasiga ega bo'lmagan oilaviy polipozli bemorlarda uchraydi).

Ularning ko'pchiligi glikogen sintetaza kinaz-3b, GSK-3b bilan fosforlangan b-katenin joylariga ta'sir qiladi. Shunga o'xshash rasm proto-onkogen WNT1 (Wingless/INT1) faollashtirilganda ham kuzatiladi (14.7-rasm). Wnt1 mahsulotini (sisteinga boy glikozillangan signalizatsiya oqsillari oilasining a'zosi) retseptorlari bilan bog'lash(Frizzled) Dsh sitoplazmatik oqsilining membranaga o'tishiga sabab bo'ladi, u erda GSK-3b ning kinaz faolligini inhibe qiladi, bu esa b-katenin va APC ni fosforlash orqali ularning b-katenin bilan bog'lanishi va degradatsiyasini rag'batlantiradi. Shunday qilib, Wnt1 tomonidan GSK-3b faolligini bostirish sitoplazmatik b-kateninning hujayra ichidagi kontsentratsiyasining barqarorlashishiga va oshishiga olib keladi, bu Tcf/Lef1 oilasi omillari bilan b-kateninning faol transkripsiya komplekslarini hosil qilish ehtimolini oshiradi.

Beta-katenin: signal transduksiyasi

O'sish omillari bilan faollashtirilgan hujayralarda beta-katenin ErbB tirozin kinaz retseptorlari oilasi a'zolari bilan bog'lanadi. ErbB signalizatsiya yo'lini faollashtirish uchun ushbu bog'lanishning ahamiyati hozirda muhokama qilinmoqda. Embriogenezni boshqaradigan wnt/qanotsiz signalizatsiya yo'lining tarkibiy qismi bo'lgan Drosophila Armadillo dagi beta-katenin va segmentar qutblanish genining oqsil mahsuloti o'rtasidagi homologiyaning kashfiyoti ushbu yopishish oqsillari ham xuddi shunday signalizatsiyada ishtirok etishini ko'rsatdi. Ksenopus embrionlarida beta-kateninning haddan tashqari ko'payishi dorsal kamarning qo'shimcha boshlanishiga sabab bo'lganligi

ko'rsatilgan. Beta-katenin ekspressiyasini ingibirlab, Ksenopus va sichqon embrionlarida mezoderma shakllanishini bostirdi.



14.8-rasm. Hujayralararo adgezion kompleksida molekulyar tashkil etish va signal uzatilishi.

Signallar hujayra ichidagi kateninlar bilan bog'lanadigan, erkin beta-katenin va plakoglobin darajasini o'zgartirishi mumkin bo'lgan, shuningdek, o'simta supressori bilan o'zaro ta'sir qilishi mumkin bo'lgan hujayradan tashqari joylar, kaderinlar (Cad) o'zaro ta'siri orqali hujayra-hujayra aloqasi orqali hosil bo'lishi mumkin. APC yoki transkripsiya omillari, masalan, LEF-1. Beta-katenin-LEF-1 (yoki plakoglobin-LEF-1) kompleksi yadroga o'tishi va to'g'ridan-to'g'ri E-kadherin geni (E-Cad) va boshqa genlarning 5-uchiga bog'lanib, ularning ifodasini tartibga solishi mumkin. Beta-katenin va plakoglobin, shuningdek, Wnt retseptorlari (Drozophiladagi Dfz2), Dsh va GSK3 (GSK) ni o'z ichiga olgan Wnt signalizatsiya yo'lida ishtirok etadi. APC ning mikrotubulalar (Mt) bilan bog'lanishi proliferatsiyaga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin. EGF retseptorlari (EGFR) yoki Erb-B2 retseptorlari (Erb-B2) kabi tirozin kinaz retseptorlari bilan beta-katenin va plakoglobin bilan o'zaro ta'siri ham signal uzatish uchun muhim ahamiyatga ega bo'lishi mumkin. Protein kinazlari Src protein kinaza C (PKC) hujayralararo aloqa bilan bog'liq.

Shuningdek, beta-kateninning aktin-bog'lovchi oqsil, fassin bilan o'zaro ta'siri aniqlandi.

Hujayra bo'linishi uchun uchta shart mavjud:

A) Hujayra qandaydir tayanchga (bazal membrana, kollagen tolalar yoki hujayradan tashqari matritsa oqsillari) biriktirilishi kerak;

B) Mitagen ta'sir qilish kerak. Mitogenlarga, masalan:

- o'sish omillari, shu jumladan epidermal omil (EFR);

- - antigen taqdim qiluvchi hujayralar (APC) va boshqa mitozni faollashtiruvchi omillar

B) Kontaktni ingibirizasiya qilishning yo'qligi.

E-kadherin genidagi mutatsiyalar, shuningdek, b-katenin transkripsiya faolligi bilan bog'liq signal yo'llarini rag'batlantirish uchun javobgar bo'lishi mumkin.

Nazorat savollari

1 Mitoz qanday tartibga solinadi?

2 Hujayra siklini to'xtatishda o'sish omili beta ning o'zgarishi qanday rol o'ynaydi? 3 Hujayra bo'linishining hujayradan tashqari matritsaga biriktirilishiga bog'liqligi va signal uzatishda integrinning roli qanday?

4 Hujayra-hujayra aloqalarida kaderinlar va hujayra-hujayra yopishishini tartibga solishda beta-kateninlarning roli qanday?

XV BOB. HUYAYRAGA TASHQI SIGNALNING UZATILISHI. HUYAYRA ICHIDAGI MEDIATORLAR

Signalning uzatilishi birinchi marta 70-yillarning oxirlarida biologik adabiyotlarda qayd etilgan. Hujayra ichidagi signalizatsiya haqidagi fan juda yosh bo'lib, 80-yillarning boshlarida paydo bo'lgan

Uning paydo bo'lishi fosfolipidlar (birinchi navbatda fosfoinositidlar), G- ishtiroki kabi kashfiyotlar bilan bog'liq.

Shu bilan birga, bitta buzilmagan hujayralarni o'rganishning noyob optik usullari, jumladan tasvirni tahlil qilish usullari va konfokal mikroskopiya ishlab chiqildi.

15.1 Hujayraga signalni uzatish: umumiy ma'lumot

Hujayra hayoti tashqi tartibga soluvchi signallarga bog'liq bo'lib, ular fizikaviy ta'sirlar (harorat, elektromagnit nurlanish) yoki kimyoviy birikmalar bo'lishi mumkin. Tananing hujayra faoliyatini tartibga solish uchun ishlatadigan yaxshi o'rganilgan moddalari, masalan, steroid gormonlar, sitokinlar yoki o'sish omillari bo'lib, ular maqsadli hujayralarga etib borgach, genlar guruhlarini ekspressiyasidagi o'zgarishlar bilan bog'liq metabolik o'zgarishlarga olib keladi. Bir xil darajada kuchli va o'ziga xos javob ekzogen kelib chiqadigan fiziologik faol moddalar, masalan, feromonlar yoki toksinlar tomonidan yuzaga keladi.

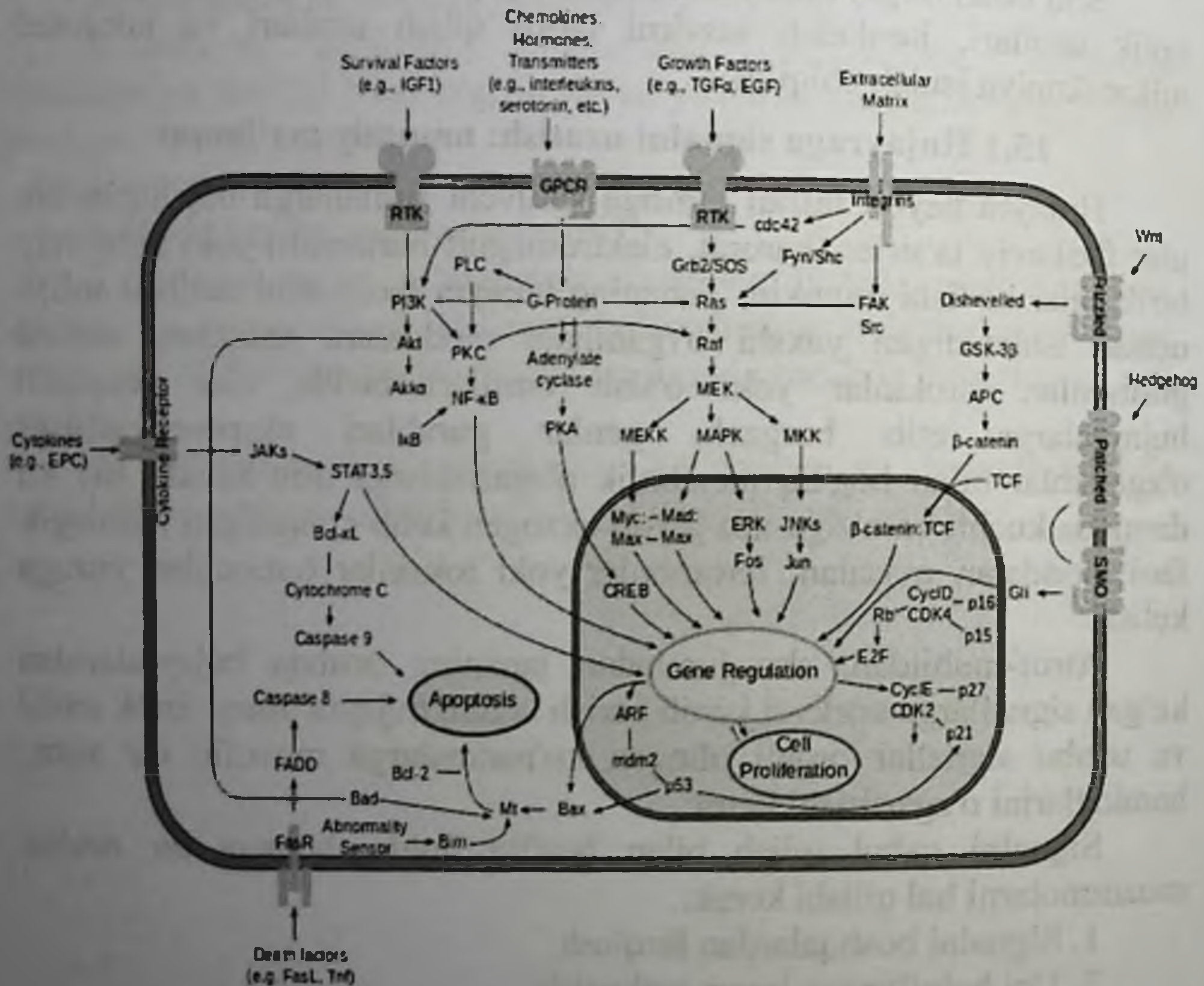
Atrof-muhitdan, shu jumladan tananing boshqa hujayralaridan kelgan signallarga adekvat javob berish uchun hujayra ularni idrok etishi va ushbu signallar orqali olingan ko'rsatmalarga muvofiq o'z xatti-harakatlarini o'zgartirishi kerak.

Signalni qabul qilish bilan bog'liq holda, hujayra bir nechta muammolarni hal qilishi kerak:

1. Signalni boshqalardan farqlash
2. Uni belgilangan joyga yetkazish
3. Signalni qabul qilishga adekvat javob berish
4. Signal hujayrani o'rab turgan muhitdan yo'qolishi bilanoq javob tizimlarini darhol o'chish.

Signalni mo'ljallangan manzilga etkazish vazifasi murakkab. Kiruvchi signal zaif va hujayra uni hujayra ichidagi qabul qiluvchilar tomonidan idrok etilishi uchun uni kuchaytirishi kerak. Hujayra bu muammoni signalni kuchaytirishning kaskad mexanizmlari yordamida hal qiladi.

Signal molekulari orqali uzatiladigan signallar, ularning ta'siriga javoban hujayralarda boshlangan biokimyoviy reaksiyalar kaskadlariga nisbatan asosiy hisoblanadi. Signalning uzatilishi - hujayra sirtidagi retseptorlar bilan hujayradan tashqari ligandlarning (hujayra signallari) o'zaro ta'sirini o'z ichiga olgan reaksiyalar ketma-ketligi, so'ngra uning hujayra ichidagi domenining holatini o'zgartirishdan iborat bo'lgan retseptorning faollashishi. Retseptorning faollashishi hujayradagi hodisalar kaskadini keltirib chiqaradi, buning natijasida hujayra tashqi signalga adekvat javob beradi (15.1-rasm).



Rasm 15.1 - Hujayralarda signal uzatish yo'llarining umumiy ko'rinishi.

Birlamchi signallar hujayralar tomonidan asosiy signalizatsiya molekulari yoki jismoniy omillar bilan o'zaro ta'sir qiluvchi maxsus oqsil retseptorlari molekulari mavjudligi sababli tan olinadi. Birlamchi signal, qoida tariqasida, u tartibga solish uchun mo'ljallangan hujayradagi metabolik jarayonlarga bevosita ta'sir qilmaydi. Uni idrok etuvchi retseptor hujayra ichida hujayra ichidagi jarayonlarni qo'zg'atuvchi oraliq kimyoviy birikmalarning shakllanishini boshlaydi,

ularning ta'siri asosiy hujayradan tashqari signalning maqsadi edi. Bunday oraliq birikmalar birlamchi tartibga soluvchi signal haqida ma'lumot olib yuradi va uning ikkilamchi tashuvchilari hisoblanadi, shuning uchun ular ikkilamchi xabarchilar deb ataladi. Ular turli xil ionlar, siklik nukleotidlar, lipidlarning parchalanish mahsulotlari va biogen kelib chiqadigan boshqa bir qator kimyoviy birikmalar bo'lishi mumkin.

Ikkilamchi xabarchilar hujayradan tashqari tartibga soluvchi molekulalardan birlamchi tartibga soluvchi signalni kuchaytirishga imkon beradi. Hujayralar va to'qimalar guruhlari birlamchi tartibga soluvchi signalga, masalan, endokrin tizimning gormoni ta'siriga bir xil va bir vaqtning o'zida javob berish qobiliyatiga ega bo'ladi. Bu ko'p hujayrali organizmni o'zgaruvchan ichki va atrof-muhit sharoitlariga tezda moslashish qobiliyatini ta'minlaydi.

Signalning uzatilishi va kuchayish mexanizmlarini o'rganish hujayra biologiyasining asosiy vazifalaridan biridir. Ularning bilimlari normal sharoitda hujayralarning funktsional reaksiyasini shakllantirish mexanizmlarini, uni tartibga solish va patologik sharoitda tuzatishni tushunish uchun zarurdir. Hozirgi vaqtda 50 ga yaqin oqsil ligandlari va retseptorlarning 14 oilasi ma'lum.

Hujayra yuzasidan hujayraga signal uzatishning bir nechta standart usullari mavjud, garchi bu muammo haligacha to'liq tushunilmagan va yangi signalizatsiya variantlari doimo paydo bo'lmoqda. Misol uchun, klassik umumlashtirilgan signal uzatish yo'li o'zaro ta'sirlar zanjiridan - signalizatsiya molekulasidan - hujayra yuzasidagi retseptordan - hujayra ichidagi kuchaytiruvchi mexanizmdan - berilgan signalga xos bo'lgan ba'zi genlarni kiritishdan iborat. 15.2-rasmda ba'zi tashqi omillarning hujayra yuzasidagi retseptor bilan o'zaro ta'siridan boshlanadigan ko'p bosqichli signal uzatish jarayonining ikkita mumkin bo'lgan yo'llarining soddalashtirilgan diagrammasi berilgan. Bunday tashqi omil qandaydir gormon yoki qandaydir o'sish omili, xususan, sitokin bo'lishi mumkin.

15.2 Gormonal signalizatsiya: adenilat siklaza yo'li

Keling, 15.2-rasmni ko'rib chiqaylik, bu erda gormon retseptor bilan bog'lanadi. Bu G proteinini faollashtiradi. Faol bo'lmagan G oqsili konstitutsiyaviy ravishda retseptor bilan bog'langan. Uning alfa subbirligi, faol bo'lmagan holatda, YaIMga bog'langan. U GTPase faolligiga ega. Faollashtirishdan so'ng YaIM chiqariladi va GTP alfa subunitiga bog'lanadi. a subbirligi bilan GTP kompleksi retseptordan va

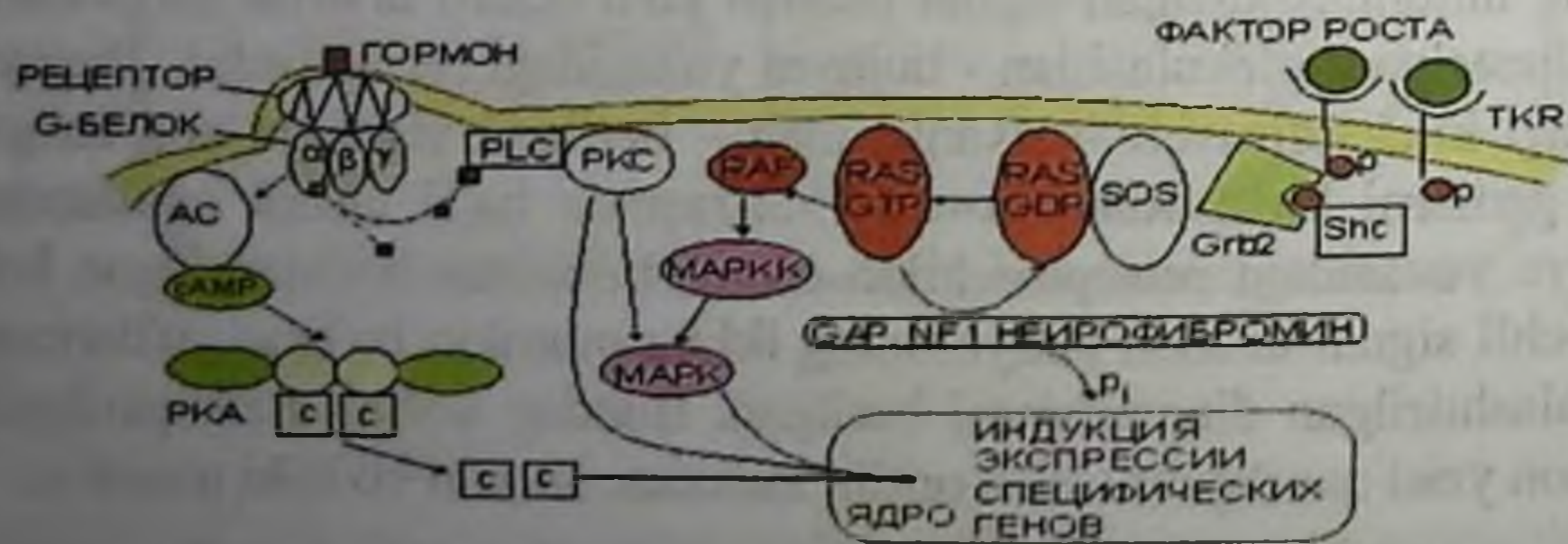
boshqa ikkita G protein bo'linmasidan ajratiladi. Bu adenilat siklaza (AC) ni faollashtiradi. cAMP hosil bo'lib, u tetramerik fermentning regulyator bo'linmalari, c-AMPga bog'liq Ser/Thr protein kinazasi (PKA) bilan bog'lanadi. Bog'lanish natijasida sitoplazmadagi bir qancha oqsillarni, shu jumladan Raf onkoproteinini fosforillaydigan katalitik bo'linma (C) ajralib chiqadi. Bu protein kinaz ham yadroga o'tadi va u erda Creb omillari (c-AMP javob elementini bog'lovchi oqsillar) guruhiga kiruvchi bir qancha transkripsiya omillarini fosforlaydi. Fosforlangan Creb o'zining DNK maqsadiga bog'lanadi

Natijada, hujayra proliferatsiyasi rag'batlantiriladi yoki aksincha, inhibe qilinadi. Ta'riflangan uzatish yo'li adenilat siklaza faollashishi bilan bog'liq. Bu yo'l Gs deb ataladigan oqsillar tomonidan amalga oshiriladi.

Bu oqsillar DNK bilan o'zaro ta'sir qilmaydi. Birgalikda faollashtiruvchilarga mos keladiganidek, ular faollashtiruvchilar bilan, bu holda CREB bilan o'zaro ta'sir qiladi. Ulangandan so'ng ular transkripsiya mashinasi bilan o'zaro ta'sir qiladi va uni rag'batlantiradi. Bog'lanish qobiliyati CREB oqsilining fosforlanishi bilan aniqlanadi.

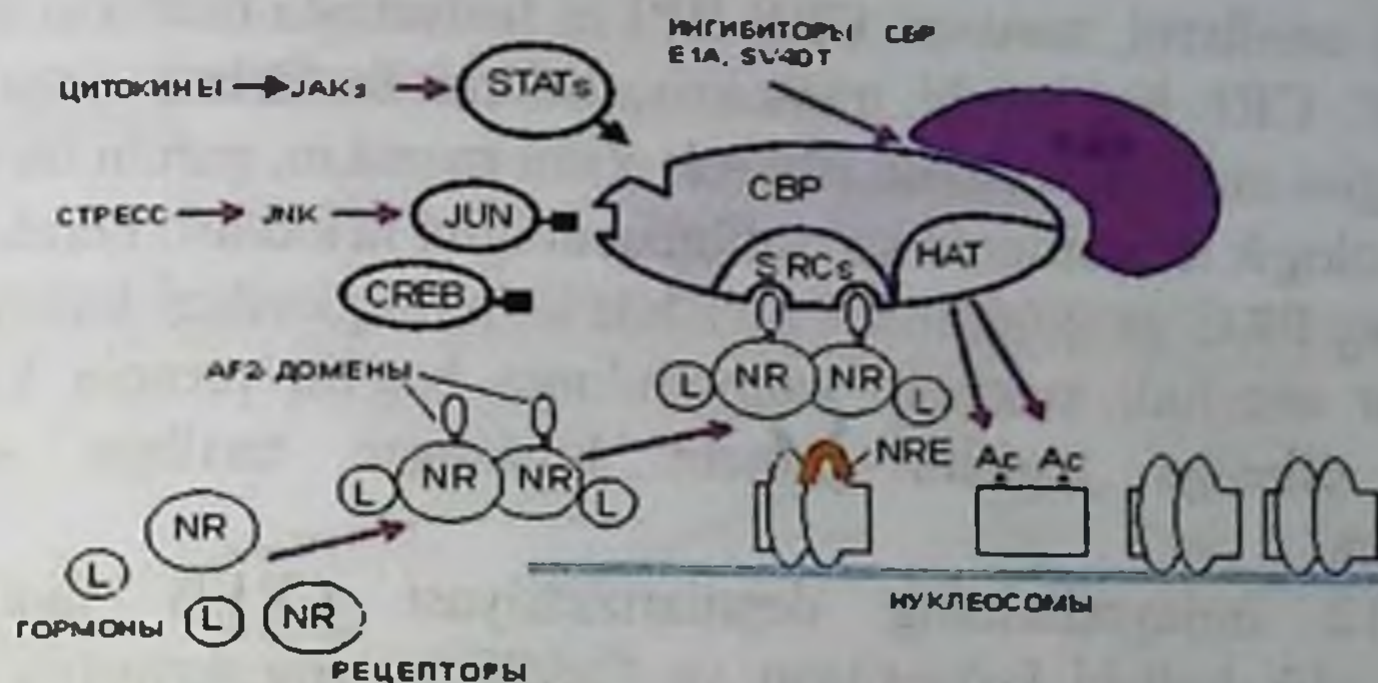
CREB: CRE bog'lovchi oqsillar

c-fos genining hujayradagi cAMP darajasini oshiradigan agentlarga javobi asosan genning promotor qismidagi CRE elementlari orqali amalga oshiriladi. CRE-bog'lovchi oqsillar CREB CRE elementiga -64/-57 pozitsiyasida bog'lanadi.



15.2-rasm. mitogen signalni retseptordan yadroga o'tkazishning ikkita asosiy yo'lining umumlashtirilgan diagrammasi.

Koaktivator rolini CREB-bog'lovchi protein CBP (CREBbinding protein, CBP, 15.3-rasmga qarang) va uning gomologi p300 bajaradi.



Rasm 15.3 - (13-rasm svyr) Gormon retseptorlari, sitokinlar va stressdan hujayraga signal uzatilishi. Gormon retseptorlari (NR) ligandlar (L) bilan bog'lanadi va xromatinga o'ralgan DNKda ularning javob elementlari (NRE) bilan o'zaro ta'sir qiladi. Retseptor faollashtiruvchi domenlari (AF-2) CBP ga bog'langan ko-aktivator SRC bilan o'zaro ta'sir qiladi. Natijada, CBP bilan bog'langan giston asetilaza gistonlarni asetilatlaydi, xromatin ochiladi va transkripsiya uchun mavjud bo'ladi. CBP shuningdek, PolII deb nomlangan transkripsiya kompleksi bilan o'zaro ta'sir qilishini ko'rsatdi. CBP bilan o'zaro ta'sir qiluvchi ba'zi omillar ko'rsatilgan.

CREB oqsillari kamida o'n xil gen tomonidan kodlangan va bu oila CREBga qo'shimcha ravishda faollashtiruvchi transkripsiya omillari (ATF) ni o'z ichiga oladi

Fos va Jun oqsillari kabi CREB oqsillari dimerizatsiya uchun zarur bo'lgan leysin fermuar motiviga (ZIP) ega va CRE bilan dimerik shaklda bog'lanadi. Ta'kidlash joizki, ular c-Jun oqsili bilan ham dimerlanishi mumkin. Jun/CREB heterodimeri TREga qaraganda CREga ko'proq yaqinlikka ega.

CREB oqsilida PKA-ga bog'liq faollashuvi uchun zarur bo'lgan KID ("kinaz-inducible domen") yoki P-box deb nomlangan domen mavjud bo'lib, unda Ser-133 - PKA fosforillanishi uchun joy joylashgan.

Transkripsiyani inhibe qiluvchi va "CRE modulyatorlari" (CREM) deb ataladigan CRE-bog'laydigan oqsillar oilasining bir nechta a'zolari mavjud.

Barcha CRE-bog'laydigan oqsillar orasida eng kichik o'lcham faqat DNKni bog'lash va dimerizatsiya domenlarini o'z ichiga olgan va transkripsiyani bostirishni aniqlaydigan cAMP-induktsiyali erta repressordir (ICER).

CREB oqsillari PKC tomonidan fosforlangan bo'lishi mumkin PKC Ser-133 da CREB ni, shuningdek CREM-taudagi shunga o'xshash saytni fosforlashi mumkin. PKC, shuningdek, boshqa CRE-

bog'lovchi omillarni, xususan, CRE-BP1 ni fosforlashi mumkin. Shunday qilib, PKC CRE-bog'lovchi transaktivatorlarni fosforlash orqali c-fos gen faolligini tartibga solishda ishtirok etishi mumkin, garchi bu tartibga solish fiziologik sharoitlarda ko'rsatilmaganligini ta'kidlash kerak.

Biroq, PKC ga qo'shimcha ravishda ko'p miqdordagi kaltsiy qabul qiluvchilar mavjud, xususan, kalmodulinga bog'liq protein kinazalar (CaMK) oilasiga tegishli protein kinazlarni tartibga soluvchi kalmodulin.

PC-12 hujayralarining depolarizatsiyasi CREB faolligining oshishiga olib kelishi ko'rsatilgan va CaMK bu transkripsiya omilini fosforillaydi.

Ser-133 in vitro.

Biroq, CaMKII izoformasi CREB stimulyatsiyasida katta rol o'ynamaydi, chunki bu izoform hujayra yadrosida topilmaydi va qo'shimcha ravishda Ser-142 da CREBni fosforlaydi, bu uning faollashuvini bloklaydi. Shu bilan birga, yadroga ko'chib o'tishga qodir bo'lgan CaMKIV CREBni faqat Ser-133 da fosforlaydi, bu uning faolligini oshirishga yordam beradi.

PKA va CaMK ga qo'shimcha ravishda PC-12 hujayralarida NGF va EGF ga javoban Ser-133da CREB ni fosforillaydigan protein kinazasi topildi. Bu protein kinaz, sanab o'tilganlardan farqli o'laroq, to'g'ridan-to'g'ri emas

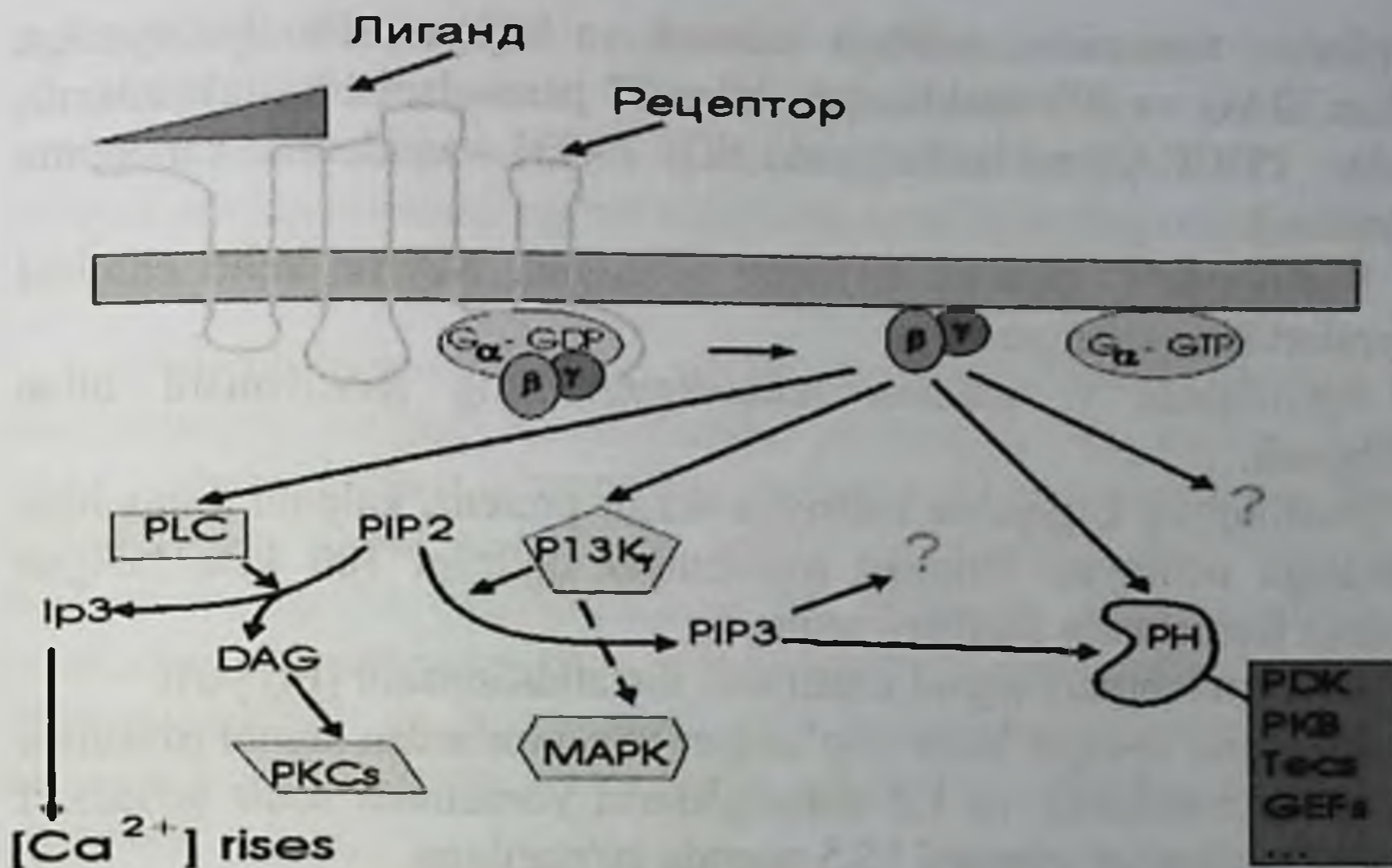
ikkilamchi messenjerlarning efektori. U Rasga bog'liq signal uzatish yo'lining tarkibiy qismi sifatida ishlaydi va RSK va pp70 (S6K) dan farq qiladi.

Shunday qilib, PC-12 hujayralaridagi cAMPga sezgir elementlarni PKA va CaMK ishtirokisiz boshqarish mumkin.

15.3 Signal uzatish: cGMP yo'li

Gt tipidagi G oqsillari cGMP fosfodiesterazasini faollashtiradi. Ba'zi hollarda alfa subunit emas, balki beta-gamma dimer effektor oqsili bilan o'zaro ta'sir qiladi. Qanday bo'lmasin, barcha holatlarda bir qator fosforlanish hodisalari sodir bo'ladi, bu oxir-oqibat transkripsiyalangan genlar spektrining o'zgarishiga olib keladi.

Agar siz 15.4-rasmga diqqat bilan qarasangiz, G oqsilidan uchta kinaz kaskadining ishtirokchilariga olib boradigan o'qlarni ko'rasiz.



15.4-rasm. G oqsili bilan bog'langan retseptordan hujayra ichidagi signal uzatish diagrammasi. Signal uzatishning faqat beta-gamma geterodimer vositachiligidagi qismi ko'rsatilgan. $G\alpha$ -GDP va $G\alpha$ -GTP: uchta kichik birlikli G oqsillarining α -bo'linmasi, $\beta\gamma$ IM yoki GTP bilan bog'langan. uch bo'linmali G oqsillarining $\beta\gamma$ subbirliklari. PLC β : fosfolipaza C beta. PIP2: fosfatidilinositol 4,5-bifosfat. IP3: Inositol 3,4,5-trifosfat. DAG: diatsilgliserin. PKCs: protein kinaz C. P13K γ : fosfoinositid 3-kinaz gamma. PIP3: fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat. PH: plekstrin homologiyasi domeni, PH domeni. PDK: fosfoinositidga bog'liq kinaz. PKB: protein kinaz B. GEFs: guanin almashinuvi omillari.

Bu shuni anglatadiki, uchta kinaza kaskadi G oqsillari orqali ham faollashishi mumkin. Albatta, bu raqam bunday parallel faollashtirishning barcha mumkin bo'lgan variantlarini ko'rsatmaydi, lekin siz hujayradagi turli xil signal uzatish yo'llarining ko'plab mumkin bo'lgan kesishmalari mavjudligini tasavvur qilishingiz kerak. Natijada o'zaro bog'liq hodisalarning juda murakkab zanjiri paydo bo'ladi. Hujayra yadrosiga turli xil signallar turli yo'llar bilan shunday uzatiladi, u erda ular bajarish uchun qabul qilinadi (15.4-rasm).

15.4 Fosfolipaz C gamma PLC. Hujayra ichidagi signal uzatilishi: fosfatidilinositol (PI) yo'li

PLCning bir nechta izoformlari sutemizuvchilar hujayralarida ekspressiyalangan. Eng keng tarqalgan izoform, PLC-gamma, boshqalarga o'xshash katalitik domenga ega, ammo uning tartibga soluvchi muhiti boshqacha. PLC-gamma faollashtirilgan o'sish omili

retseptorlari tomonidan tartibga solinadi va hujayra stimulyatsiyasiga javoban DAG va IP3 shakllanishi bilan PI parchalanishini ta'minlaydi, masalan, PDGF (fibroblastlar) yoki EGF (A431 - epidermal karsinoma hujayralari).

Fosfolipaz C gamma miyadan ajratilgan. Neyron kelib chiqishi hujayralarida aniqlangan.

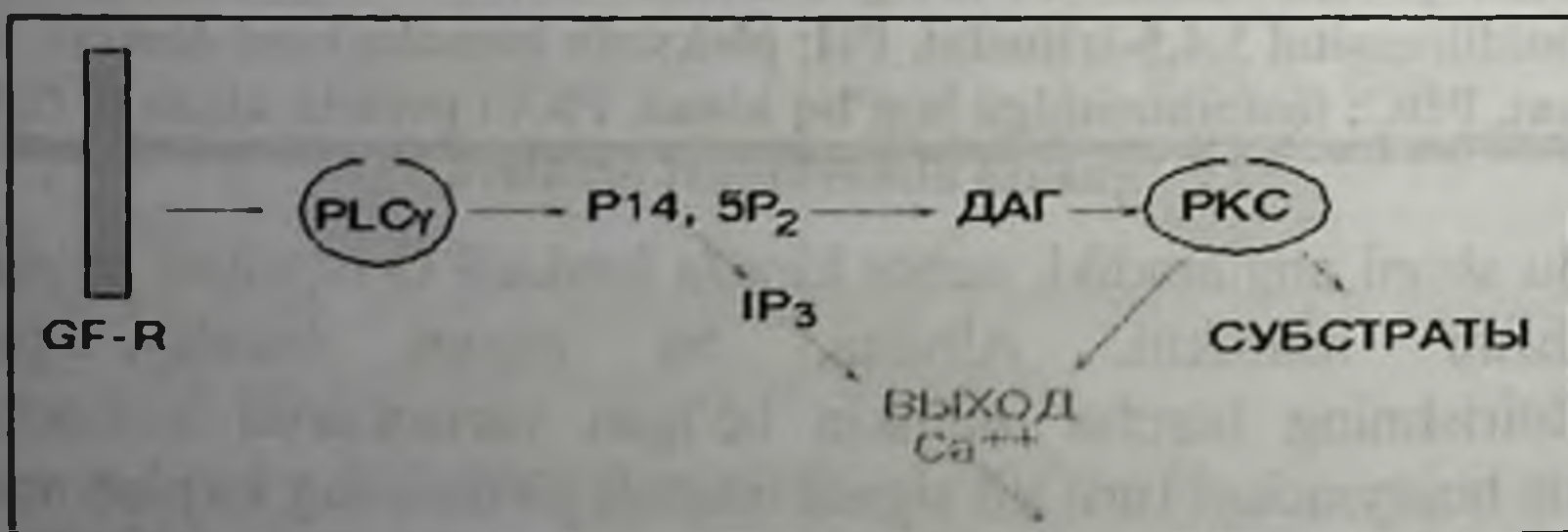
Fosfolipaza C gamma homodimerlarning shakllanishi bilan tavsiflanadi.

Fosfolipaza C gamma kaltsiyga sezgir proteaz, kalpain tomonidan proteolizga uchraydi. Olingan molekulyar og'irligi 100 kDa bo'lgan mahsulot fermentativ faollikni saqlaydi

Hujayra ichidagi signal uzatilishi: fosfatidilinositol (PI) yo'li

Ko'pgina G-oqsil bilan bog'langan retseptorlardan signal uzatilishi inositol 1,4,5-trifosfat va 1,2 diatsilgliserin yordamida sodir bo'ladi. PI yo'lining faollashuv sxemasi 15.5 rasmda ko'rsatilgan.

Bu moddalar membrana lipid fosfatidilinositol 4,5-difosfat gidrolizlanishi natijasida hosil bo'ladi. Inozitol 1,4,5-trifosfat hujayra ichidagi tuzilmalardan kaltsiyning ajralib chiqishiga sabab bo'ladi, 1,2diatsilgliserol esa protein kinaz S ni faollashtiradi. Inositol 1,4,5-trifosfat va 1,2diasilgliserol hujayra proliferatsiyasi va mediatesini tartibga solishda ishtirok etadi.



15.5-rasm - O'sish omili retseptorlari tomonidan PI yo'lini faollashtirish mexanizmi.

DAG PKC ning kaltsiy ionlariga yaqinligini oshiradi, buning natijasida PKC faollashadi va uning substratlarining Ser/Thr qoldiqlarini fosforlaydi. Shuni ta'kidlash kerakki, dam olish hujayralarida DAG deyarli yo'q, ammo uning konsentratsiyasi birlamchi messenjer bilan bog'langanda tezda ortadi.

Bombesin amfibiyalarning terisidan olinadi. U markaziy asab tizimida ham, oshqozon-ichak traktida ham biologik faollikka ega. Samarali termostat. Bombesinga o'xshash peptidlar va uning

retseptorlari kalamushlar miyasida topilgan. Sichqon miyasida bombesinning neyromedin B va gastrin-relizing peptid bilan strukturaviy va funktsional aloqalari aniqlandi. Tajriba ichak saraton hujayralarining o'sishini rag'batlantirishda bombesinning rolini aniqladi.

15.5 PI3K: umumiy ma'lumot

Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K, fosfatidilinositol 3-kinaz) turli signalizatsiya yo'llari kesishmasida joylashgan va asosiy hujayra funktsiyalarini nazorat qiluvchi eng muhim tartibga soluvchi oqsillardan biridir. PI3K (lipid va protein kinaz) da topilgan ikki tomonlama fermentativ faollik, shuningdek, PI3K ning bir qator signalizatsiya oqsillarini, shu jumladan ba'zi onkoproteinlarni faollashtirish qobiliyati PI3K ning o'sish va omon qolish kabi hujayra funktsiyalarini tartibga solishdagi fundamental ahamiyatini belgilaydi, qarish va o'smaning o'zgarishi.

Fosfatidilinositol 3-kinaz, PI3K yo'lining asosiy fermenti, katalizlaydi.

PI4P ning fosforlanish reaksiyalari (fosfatidilinositol-4-fosfat) va PI4,5P2 (fosfatidilinositol 4,5-difosfat). PI (fosfatidilinositol) uning substrati sifatida ko'rinmaydi.

PI3K ikki subbirligidan tashkil topgan sitoplazmatik oqsildir p85 (tartibga soluvchi) va p110 (katalitik). Tartibga soluvchi subbirlilik o'sish omillari bilan PI3-kinaz faolligini rag'batlantirish uchun javobgardir. Katalitik bo'linma p110 p21ras bilan o'zaro ta'sir qilishi mumkin.

PI3K effektorlari orasida markaziy o'rinni mitogen o'tkazuvchi signalizatsiya oqsillari egallaydi: protein kinaz C, fosfoinositidga bog'liq kinazlar, kichik.

PI3K lipid mahsulotlari bilan o'zaro ta'sir qilish yoki PI3K ga bog'liq bo'lgan protein fosforilatsiyasi orqali faollashtirilgan G-oqsillari, MAP kinazalari (mitogen faollashtirilgan oqsil).

PI3K ning antiapoptotik ta'siri boshqa seriyadagi signalizatsiya oqsillarini - protein kinaz B (PKB) va PKBga bog'liq fermentlarni (GSK-3, ILK) faollashtirish orqali amalga oshiriladi.

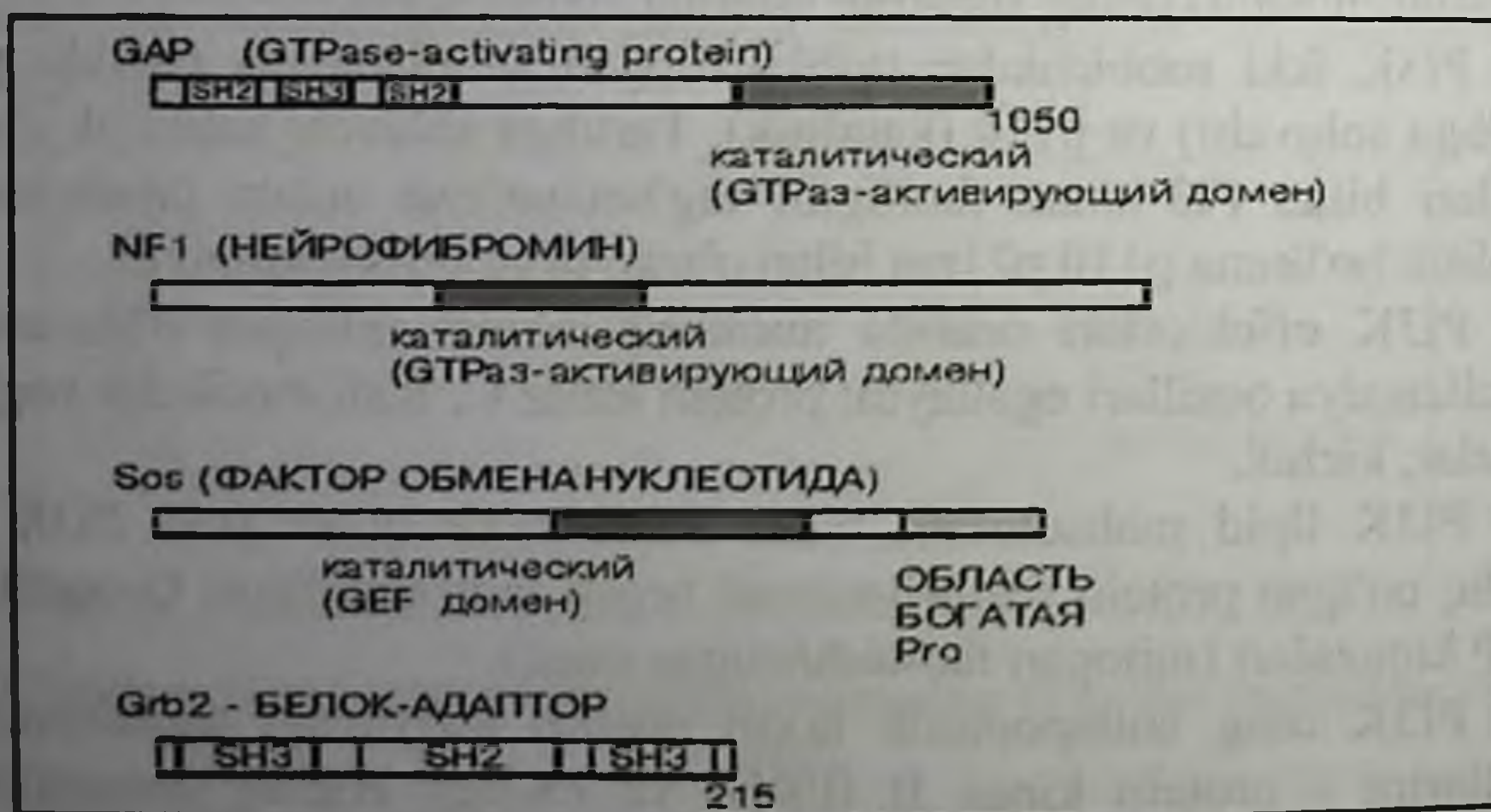
PI3K o'simta o'zgarishi jarayonida alohida rol o'ynaydi. PI3K nafaqat mustaqil onkogen faollikka ega, balki virusli va hujayrali onkoproteinlarning bir qismi (src, ras, rac, alb, T-antigen) bilan komplekslar hosil qiladi, ular o'zlarining transformatsion salohiyatini amalga oshirish uchun hujayrada PI3K mavjudligini talab qiladi.

15.6 Hujayra ichidagi signal uzatish: ras yo'lining faollashishi: Grb2 * Sos

Ba'zi o'sish omillari rasni faollashtiradigan birinchi dalil 1985 yilda paydo bo'lgan: p21ras (Y13-259) ga qarshi antikorlarning mikroin'ektsiyalari PDGF va EGF signallarini blokirovka qilgan. ras keyinchalik HGF/SF va insulin tomonidan faollashtirilganligi ko'rsatilgan. Uzoq vaqt davomida ushbu faollashuv uchun javobgar bo'lgan omillarning tabiati noma'lum bo'lib qoldi.

Grb2 (Growth Receptor Binding protein) adapter oqsilining va GEF (Guanine nukleotid almashinuvi omili) Sos oilasi oqsilining ketma-ket kashfiyoti kalitni topishga yordam muammoni hal qilishga yordam berdi.

Barqaror Grb2*Sos kompleksining hosil bo'lishi avval immunoblotlash, so'ngra xamirturush ikki gibriz tizimi bilan tasdiqlangan. Grb2 oqsili prolin (Pro) ga yaqinligi bo'lgan 2 ta SH3 domenini o'z ichiga oladi va Sosning C-terminusi ushbu aminokislota bilan ayniqsa boyitilgan, bu o'zaro ta'sirning mumkin bo'lgan mexanizmi gipotezasiga olib keldi (15.6-rasm).



15.6-rasm p21ras oqsillari-regulyatorlari

1993 yilda bir guruh olimlar GTP - guanin almashinuvi omili uchun YaIM almashinuvi rag'batlantiradigan Mr=150kDa bo'lgan oqsilni ajratib oldilar.

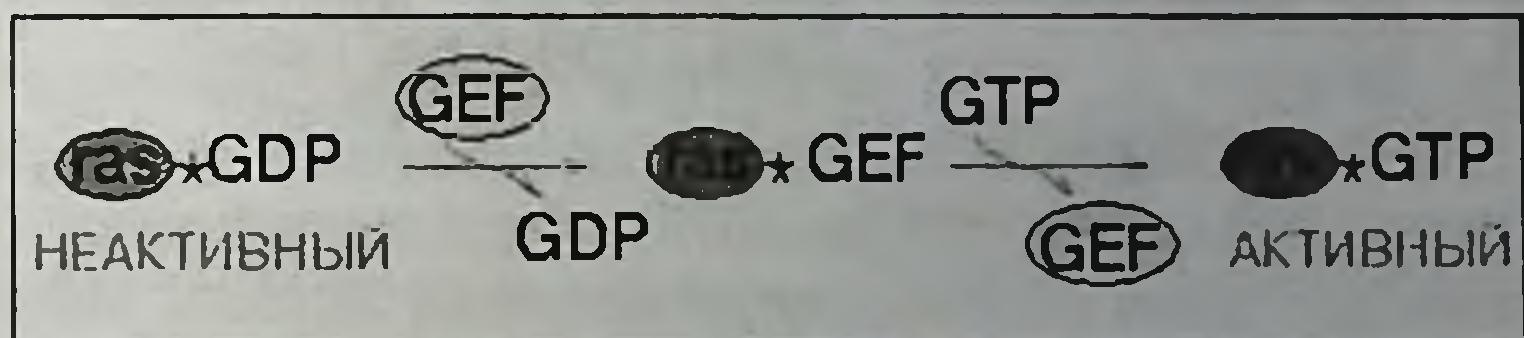
Sos.

YaIMni GTP ga almashtirishni faollashtiradigan oqsillar GEF (guanin-nukleotid almashinuvi omillari) yoki GNRP (guanin-nukleotid-

ajratish oqsillari) yoki GDS (guanin-nukleotid-disotsiatsiyani stimulyatorlari) deb ataladi.

GEFlar Ras oqsillarining YaIM bilan bog'langan shakli bilan bog'lanib, nukleotidlar almashinuvini tezlashtiradi. Bunday holda, YaIM tezda ajralib chiqadi va Ras oqsili darhol GTP bilan bog'lanadi, bu GEFning dissotsiatsiyasi va Ras oqsilining "faol" shaklga o'tishi bilan birga keladi. GEF faolligining yo'qolishi Ras oqsillarining yo'qligiga o'xshaydi, bu esa bu tartibga soluvchi oqsillar Rasning normal ishlashi uchun zarurligini ko'rsatadi. GEF faolligini yo'qotishning bu ta'siri Ras oqsillaridagi "onkogen" mutatsiyalar yoki ba'zi hollarda GAP faolligini yo'qotish orqali yo'q qilinishi mumkin.

Ikki mintaqa alohida qiziqish uyg'otadi: birinchidan, katalitik domen (aminokislota qoldiqlari 600-1020), bu boshqa ma'lum GEF oqsillarining o'xshash domenlari bilan yuqori darajadagi homologiyaning ko'rsatadi; ikkinchidan, 200 ga yaqin aminokislota qoldiqlaridan iborat C-terminal Pro ga nihoyatda boy (taxminan 20%). Sosning katalitik sohasi reaksiyani quyidagi mexanizmga muvofiq amalga oshiradi (15.7-rasm).



15.7-rasm - (8-a-rasm). Nukleotidlar almashinuvi va faollashuvi.

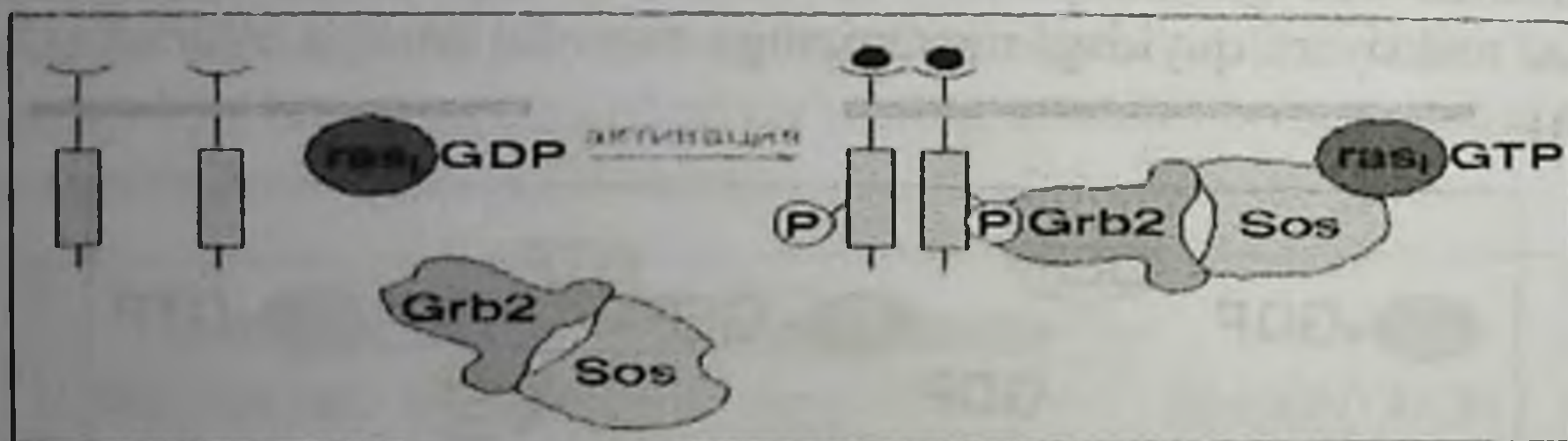
Dominant salbiy (Ser17--Asp) ras mutant GEFdan ajralib chiqa olmaydi va uni funktsional bo'lmagan komplekslarga bog'laydi deb taxmin qilinadi.

Haqiqatan ham, yuqoridagi usullardan foydalangan holda, Sosning C terminali Grb2 ning SH3 mintaqalari bilan bog'lanishini tasdiqlash mumkin edi. Sosning C-terminusining alohida qismlarini ifodalash orqali uning o'zaro ta'sir qilish joylaridan biri lokalizatsiya qili.

Grb2 va Sos oqsillari dam oluvchi va EGF-rag'batlantirilgan hujayralarda kompleksning bir qismi sifatida mavjud. Biroq, faqat EGF stimulyatsiyasidan so'ng u EGF-R immunoprecipitatlarida aniqlandi, bu Grb2 ning SH2 domenining EGF-R bilan bog'lanishini ko'rsatadi. Bundan tashqari, EGF tomonidan hujayralarni stimulyatsiya qilish ras-bog'langan YaIMning GTPga almashinish tezligini oshiradi va shu bilan hujayradagi faol ras*GTP ulushini oshiradi va signalning keyingi

uzatilishiga imkon beradi. Bu ma'lumotlarning barchasi ras-yo'lni faollashtirish sxemasini yaratishga imkon berdi (15.8-rasm).

Retseptor ligand bilan bog'lanmagan bo'lsa-da, Grb2*Sos kompleksi sitoplazmada lokalizatsiya qilinadi va p21ras YaIM bilan bog'lanadi va shuning uchun faol emas. Hujayralarni o'sish omili bilan stimulyatsiya qilingandan so'ng (ko'rsatilgan ishlarda EGF) retseptor dimerlanadi, o'zaro fosforillanadi va Grb2 SH2 domeni orqali unga bog'lanadi. Grb2 adapterining o'zi fermentativ faollikka ega emas, lekin rasGEF Sos bilan nokovalent bog'langan. Sos rasni GTP bilan bog'langan holatga aylantirish orqali nukleotidlar almashinuvi tezligini oshiradi. Sos faollashuvi mexanizmi noaniq: bu, ehtimol, EGF retseptorlari tomonidan fosforillanishi yoki retseptorlari bilan bog'langanda konformatsiyaning o'zgarishi bilan izohlanishi mumkin. Shu bilan birga, boshqa usul ham mumkin: GEF faolligini sitoplazmadan ras lokalizatsiya qilingan membranaga o'tkazish.



15.8-rasm - rasni faollashtirish sxemasi

Ras hujayra zich birikmalarining ishlashini tartibga solishda rol o'ynaydi.

Rasning maqsadlaridan biri, AF-6 (6-xromosomadan ALL-1 sintez sherigi) MDCK nasl-nasabining epitelial hujayralarida qattiq birikma joylarida to'planishi ko'rsatilgan.

AF-6 ZO-1 (zona occludens 1) yoki qattiq birikma oqsili 1 [15q13/TJP1] bilan o'zaro ta'sir qiladi va bu o'zaro ta'sir faollashtirilgan Ras tomonidan inhibe qilinadi. Bundan tashqari, AF-6 qattiq birikmalarga ega bo'lmagan Rat1 PC12 kalamush chizig'ining fibroblastlarida (feokromositoma) hujayralararo kontakt joylarida ZO-1 bilan kompleksda topilgan. Faollashtirilgan Rasning haddan tashqari ko'payishi hujayralararo o'zaro ta'sir doirasidan AF-6 va ZO-1 ning olib tashlanishi bilan birga hujayralararo kontaktlarning yo'q qilinishiga olib keldi.

Noub va Xoll antitanalarni in'ektsiya qilish orqali Rasni ingibirlash fokal adegezion zonalarining ko'payishiga olib keladi va hujayra harakatini bloklaydi, ehtimol fokal adegezion dinamikasini buzadi. Faol Rasning fokal adegezion zonalarini bilan vaqtinchalik bog'lanishi kuzatilgan va Ras va Rho GTPazlari o'rtasida molekulyar darajadagi o'zaro ta'sir qilish uchun bir qancha imkoniyatlar mavjud bo'lib, ular aktin sitoskeletonini tartibga solish uchun muhim bo'lishi mumkin. Misol uchun, Ras-o'zgartirilgan hujayralardagi stress fibrillalarining etishmasligi Rasning quyi oqimidagi ERK-MAP kinaz signalizatsiya yo'lga bog'liq bo'lgan Rho kinazdan RhoA ning ajralishidan kelib chiqishi ko'rsatilgan. Qizig'i shundaki, MAP kinaz yo'li a'zolarining faoliyati mikrotubulaga xos agentlarga bog'liqligi uzoq vaqtdan beri ma'lum. MKL2 va JNK (JNK - c-Jun-NH2-terminal protein kinaz) kabi kinazlar fibroblastlardagi mikrotubulalar bo'ylab o'ziga xos tuzilmalarda lokalizatsiya qilinganligi kuzatilishi ayniqsa qiziq. MKL2 ERK ni faollashtiradi va shuning uchun stress fibrillalari va fokal adezyon zonasi shakllanishiga ta'sir qilish orqali RhoA yo'lining quyi oqimini tartibga solishda ishtirok etishi mumkin.

Ikki gibrida MKL2 ning o'chirilishi KIF3, kinesin superfamiliasining motori bilan bog'liq bo'lib, u yopishish joylariga etkazilgan regulyatorlardan biri bo'lishi mumkinligini ko'rsatadi.

Rasning hujayra ichidagi lokalizatsiyasi mikrotubulalar tomonidan aniqlanishi mumkin. Ki-Ras4B hujayra harakati uchun eng muhim Ras izoformi bo'lib ko'rinadi va Ki-Rasni membranaga etkazib berish mexanizmlari mikronaychalarning yaxlitligi va buzilmagan dinamikasiga bog'liq ekanligi ko'rsatilgan. Rasning bu izoformasi mikronaychalar bilan bog'lanadi va mikronaychalar taksol ta'sirida barqarorlashganda yoki tartibsizlanganda uning plazma membranasiga o'tishi to'xtaydi. Shunday qilib, mikrotubulalar faol Ki-Rasni yopishish joylariga etkazib berishni modulyatsiya qilish orqali fokal adezyon dinamikasiga ta'sir qilishi mumkin.

Ras oqsillari: nishonlar

Rasning ma'lum hujayra oqsillari (effektorlari) bilan jismoniy bog'lanishi, ularning fermentativ faolligini faollashtirishi ko'rsatilgan. Raf oilasi kinazlari (c-Raf-1, A-Raf, B-raf) Rasning to'g'ridan-to'g'ri nishonlaridan biridir).

Rafning faollashuvida Rasning (submembran oqsili) roli ikkinchisining lokalizatsiyasini o'zgartirishdan iborat deb taxmin

qilinadi. Faollashtirilgan Raf fosforillanadi va shu bilan MAPKK (mitogen bilan faollashtirilgan protein kinaz kinaz) ni faollashtiradi, bu esa o'z navbatida MAPK (mitogen bilan faollashtirilgan protein kinaz) ni faollashtiradi. Bu kinaz kaskadi dastlabki signalni ko'p marta kuchaytiradi (15.9-rasm). Kinazlarning faollashishi ba'zi transkripsiya omillarining fosforlanishiga va keyinchalik ba'zi genlarning ekspressiyasining faollashishiga olib keladi.



15.9-rasm - Kinazalarning mitogen va motogenlar tomonidan faollashishi.

Boshqa ma'lum Ras substratlari: PI3K (fosfatidilinositol-3-OH kinaz), fosfatidilinositol 3-kinaz yo'lining asosiy fermenti; Ras guanin nukleotid dissotsiatsiyasining stimulyatori hisoblanadi.

15.7 MAP kinaz kaskadi

MAPK: klassifikatsiyasi

Kamida 11 ta ma'lum bo'lgan hayvonlarning MAPKlari ushbu jarayonning yakuniy bosqichida yadro transkripsiyasi omillari, hujayra sitoskeletal oqsillari va signal uzatish oqsillarini tartibga soluvchi fosforlanishni amalga oshiradi. MAPK oilasiga quyidagilar kiradi:

1) hujayradan tashqari signallar, ERK1 va ERK2 tomonidan boshqariladigan kinazlar

(hujayradan tashqari signal bilan boshqariladigan kinazlar);

2) Jun transkripsiya omilining N-terminal qismining kinazalari va stress bilan faollashtirilgan JNK/SAPK alfa, beta va gamma oqsil

kinazlari (NH₂-terminal Jun kinaz/stress bilan faollashtirilgan protein kinazlar);

3) MAPK p38 guruhi, to'rtta alfa, beta va gamma va delta oqsillaridan iborat.

Ushbu guruhlarining MAPKlari protein kinazlari tomonidan maxsus tan olinadi va fosforlanadi

1) - MEK1 va MEK2, shuningdek, MKK1 va MKK2 qisqartmalari bilan ham tanilgan; 2) - JNKK1, SEK1, shuningdek, MKK4 va MKK7; 3) - MKK3 va MKK6.

MAPK ning polipeptid zanjirlari va ularning MKK kinazlari yuqori homologiyaga ega, bu MAPK moduli genlarini ko'paytirish orqali butun kaskad genlarining kelib chiqishi mumkinligini ko'rsatadi.

MAPK: umumiy ma'lumot

Mitogen faollashtirilgan oqsil kinazalari (MAPK - mitogen faollashtirilgan protein kinazlar) hujayra faoliyatining barcha ko'rinishlarida gen ekspressiyasini tartibga solishda muhim rol o'ynaydi.

Mitogen yoki genotoksik (mutagen) ta'sir ko'rinishidagi hujayradan tashqari signallarni olgandan so'ng, shuningdek yallig'lanish yoki apoptozni keltirib chiqaradigan sitokinlarning ta'siriga javoban hujayralarda fosforlanish reaksiyalarining kaskadlari rivojlana boshlaydi, bu esa o'ziga xos faollashuv yoki bostirish bilan yakunlanadi. transkripsiya omillari yoki boshqa tartibga soluvchi oqsillarning faolligi, bu tegishli genlarning ekspresyon darajalarining o'zgarishi bilan birga keladi (15.10-rasm). Protein kinazalari va boshqa tartibga soluvchi oqsillarning fosforillanish reaksiyalarining MAPK kaskadlari birlamchi dekodlashni bosqichma-bosqich ta'minlaydi. effektor signallari ularni hujayra yuzasidan yadroga yoki boshqa hujayra ichidagi tarkibiy qismlarga o'tkazish orqali tana hujayralarining birgalikdagi javoblari bilan yakunlanadi.

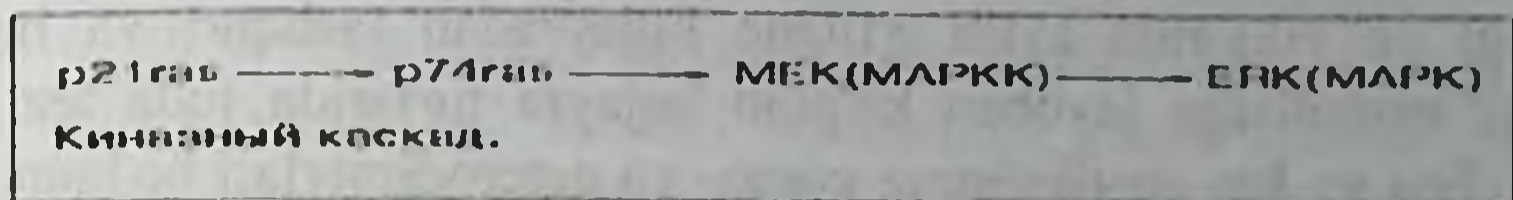
MAP kinaz kaskadi.

MAPK kinazalarining uchta oilasi serin-treonin protein kinazlaridir. Ular oxir-oqibat tashqi stimulgacha javoban transkripsiya spektrini o'zgartiradilar. MAPK bu o'zgarishga uch xil yo'l bilan erishishi mumkin:

(15.10-rasm).

MAPK o'zi yadroga o'tishi va u erda transkripsiya omillarini fosforilatlashi mumkin. Ma'lum omillar c-Myc oqsili va Elk-1 oqsili shunday fosforlanadi.

ulardan biri mitogen signalizatsiya protein kinaz kaskadi (ERK) tomonidan boshqariladi, ikkinchisi esa hujayra o'sishini inhibe qiluvchi stress bilan faollashtirilgan protein kinaz kaskadi (SAPK) bilan bog'liq. va yallig'lanish reaksiyalari. MAPKKK rolini taniqli protein RAF o'ynaydi.



15.11-rasm. Kinaz kaskadi.

MAPK: faollashtirish

MAPK ning MAPKK kinazlari tomonidan faollashishi bir xil kontekstda joylashgan aminokislotalar qoldiqlarini fosforillash orqali umumiy mexanizm orqali sodir bo'ladi. Bundan tashqari, MAPKKlar ikki tomonlama o'ziga xoslikka ega bo'lgan noyob protein kinazlar sinfining vakillari: ular Ser/Thr va Tyr qoldiqlarini fosforlashi mumkin.

MAPK kinazalarining (MKK) o'zlari Ser/Thr qoldiqlarini MAP kinaz kinaz kinazalari (MKKK yoki boshqacha tarzda MAPKKK deb ataladi) tomonidan fosforillanishi orqali faollashadi. Har biri ma'lum bir protein kinaz (MKK) tomonidan tan olingan va fosforlangan MAPKlardan farqli o'laroq, har qanday MKK bir nechta turli MKKKlar, shu jumladan Raf oilasi oqsillari, MEK kinazalar (MEKK), c-Mos va MLK (ko'p avlod oqsillari) tomonidan fosforlanishi va faollashishi mumkin. kinaz). MKK ning faollashtiruvchi hamkorlariga nisbatan bunday behayoligi fosforlanish kaskadining muayyan bosqichlaridan boshlab MAPK faollashtirish yo'llarining keng doirasini ta'minlaydi.

MAPK: nishonlar

MAPK tomonidan uzatiladigan signalning to'g'ridan-to'g'ri maqsadlaridan biri, proto-onkogenlar fos va jun, AP-1 ko'p bo'linmali transkripsiya omilining asosiy komponentlari bo'lgan oqsillarni kodlaydi. Faktor Fos oilasi (FosB, Fra-1 va Fra-2) va Jun oilasi (c-Jun, Jun-B va Jun-D) oqsillarining homodimerlari yoki geterodimerlarini o'z ichiga oladi. AP-1 komponentlarini fosforillanishi omil faolligini modulyatsiya qiladi (ko'taradi yoki kamaytiradi). Shunday qilib, JNK kinaz ta'sirida c-Jun polipeptid zanjiridagi Ser-63 va Ser-73 qoldiqlarining fosforlanishi c-Jun/c-Jun homodimer yoki c-Jun hosil bo'lgandan keyin o'z genining transkripsiyasini faollashtiradi. /ATF2 geterodimeri. Boshqa tomondan, mitogenlar yoki stress ta'sirida c-fos genining induktsiyasi (masalan, UV nurlanishi) TCF (uchlik kompleks

omil) transkripsiya omilining bir qismi bo'lgan ELK-1 oqsilining fosforlanishi orqali amalga oshiriladi. , bu genning promouterining SRE tartibga solish ketma-ketligi bilan o'zaro ta'sir qiladi.

Fos va Jun oqsillarini kodlovchi genlar bevosita erta genlar oilasiga mansub bo'lib, ularning induksiyasi de novo oqsil sintezini talab qilmaydi va yuqorida aytib o'tilgan hujayradan tashqari va hujayra ichidagi stimullarga javoban ko'plab hujayra turlarida juda tez sodir bo'ladi. Fos va Jun oqsillarining gomo- va geterodimerlari bo'lgan AP-1 transkripsiya omillari proliferatsiya, terminal differentsiatsiya va apoptozni tartibga solishda asosiy rol o'ynaydi. Masalan, fos/jun genlari qon zardobiga javoban tinch fibroblastlarda vaqtinchalik induksiya qilinadi. Biroq, miyeloid hujayralarning differentsiatsiyasi jarayonida ularning barqaror induksiyasi sodir bo'ladi va terminal differentsiatsiyadan o'tgan etuk hujayralarda gen transkripsiyasi darajasi maksimal darajaga etadi. Bularning barchasi Fos/Jun oqsillarining gematopoetik hujayralarni terminal differentsiatsiyasi dasturini boshlash va ishlab chiqishda, shuningdek, ularning differentsiatsiyalangan holatini saqlashda ishtirok etish imkoniyatini ko'rsatadi.

MAP kinazalarini o'z ichiga olgan signal uzatish hujayra siklini tartibga solishda bir xil darajada muhim rol o'ynaydi.

MAPKlar, ERK guruhining a'zolari ("hujayradan tashqari signal bilan boshqariladigan protein kinazlar"), SRE promotor elementida hosil bo'lgan uchlamchi kompleksning fosforilat komponentlari, xususan, p62 (TCF) yoki Elk-1 qo'shimcha omillari.

Faktorlar bilan bog'liq ERP (ets-related protein) omili

Elk oilasi. Biroq, uning c-fos genini tartibga solishda ishtirok etishi noma'lum.

15.8 Transkripsiya omillari:TF 1.1.1. AP-1oilalari

AP-1 oilasining transkripsiya omillari (1.1.1) signal uzatish jarayonlarida ishtirok etadi. Faktor AP-1 bilan bog'lanadi

Protein kinaz C (PKC) ni o'z ichiga olgan tartibga solish yo'llarining maqsadli joylari bo'lgan TRE elementlari (TPA-javob beruvchi elementlar).

Biroq, bu ishlash modeli faqat AP-1 oilasining eng yaxshi o'rganilgan a'zolari uchun amal qiladi. Bularga, birinchi navbatda, c-Fos/c-Jun heterodimerlari kiradi, ular aksariyat hollarda AP-1 omilini ifodalaydi. AP-1 dimerining boshqa mumkin bo'lgan komponentlari

(FosB, Fra-1, Fra2, JunB, JunD) turli xil, o'ziga xos ishlash mexanizmlariga ega bo'lishi mumkin.

NF-E2 omillarining oqsil komponentlari (1.1.1.4) AP-1 faktorini bog'lash joylariga o'xshash kengaytirilgan DNK ketma-ketliklariga afzallik bilan bog'langanligi asosida bir xil oilaga tayinlangan.

Ko'rib chiqilayotgan oila (1.1.1) shuningdek, Maf tipidagi oqsillar (1.1.1.3) va NF-E2 p45 tipidagi oqsillarning kichik oilasini o'z ichiga oladi. Bir qator AP-1 ga o'xshash TF zamburug'lari alohida kichik oilaga birlashtirilgan (1.1.1.5). Nihoyat, CRE-BP kabi ko'plab ATF oqsillari (1.1.1.6) ham oilaga tayinlanishi kerak (1.1.1). Ular odatda omillar bilan geterodimerlarni hosil qiladi ham Jun tipi, ham ba'zi hollarda Fos tipi, buning natijasida ular CRE tipidagi DNK ketma-ketliklari bilan o'zaro ta'sir qilish imkoniyatiga ega. Ular uchun klassik bog'lanish joyi TGACGTAA ketma-ketligidir.

Jun va Fos oqsillaridan tashkil topgan klassik AP-1 omili ko'plab genlarning promouterlarida joylashgan TGACTCA konsensus ketma-ketligini tan oladi. Bu omilning induktsiyasi, xususan, forbol efir (TRA) sinfining o'simta promotorlari hujayraga ta'sir qilganda sodir bo'ladi.

cAMP javob elementini bog'lovchi omil (CREB) va faollashtiruvchi oqsil 1 (AP-1) tizimli ravishda homologdir va bir xil DNK ketma-ketligini taniydi. CREB kanonik AP-1 saytlari bilan ishlashga qodir, lekin bu saytlardan transkripsiyani faollashtira olmaydi. Yadroda bu omillarning bir vaqtning o'zida mavjudligi AP-1 tomonidan qo'zg'atilgan transkripsiyani bostiradi. Ushbu ikki omil o'rtasidagi qarama-qarshilik darajasi CREB ning cAMPga bog'liq fosforlanishi bilan tartibga solinadi.

AP-1 transkripsiya omili ko'plab genlarning ekspressiyasining bazal darajasini saqlab turishda ishtirok etadi. Bu hujayra proliferatsiyasi yoki differentsiatsiyasini keltirib chiqaradigan birikmalar uchun asosiy maqsadlardan biridir.

Uning funktsiyalari hujayraning ko'payishi va o'zgarishi jarayonlari bilan chambarchas bog'liq.

Hujayra differentsiatsiyasining induktsiyasi AP-1 kompleksining komponentlarini kodlovchi genlarning transkripsiyasini faollashishiga olib keladi.

AP-1 transkripsiya faktorining bir qismi sifatida c-Fos oqsili (AP-1 tuzilishiga qarang) aniq funktsiyalarni bajaradi.

AP-1 kompleksining DNK bilan bog'lanish faolligini o'zgartirib, Fos oilasi oqsillari uni keyingi reaktsiyalarning borishini belgilab, aniq maqsadli genlarga yo'naltirishi mumkin.

Transkripsiya omili AP-1: TRE bilan bog'lanish

AP-1 transkripsiya omili c-fos gen promotorining TRE elementi bilan bog'lanadi (TGACTCA konsensus ketma-ketligi).

AP-1 kompleksining tarkibi DNKning ulanishiga ta'sir qiladi. Fos-oqsillar c-Junning TRE bilan bog'lanishini sezilarli darajada oshiradi, FosB esa eng kuchli. Shu bilan birga, Jun oqsillari turli xil DNKni bog'lash xususiyatlariga ega va JunB, TRE ni eng zaif tarzda bog'lash orqali, qo'shimcha ravishda, dimer shakllanishi paytida c-Junning DNKni bog'lash faolligini bostirishi mumkin.

JunB/c- Jun.

Shuni yodda tutish kerakki, sis ta'sir etuvchi TRE va SRE elementlari c-fos gen promotoriga juda yaqin joylashganki, ular bilan transaktsion omillarning bog'lanishi sterik cheklovlar tufayli bir-birini istisno qiladi.

Nazorat savollari

1. Hujayraga signal uzatishning qanday yo'llari bor?
2. G protein bilan bog'langan retseptordan hujayra ichidagi signal uzatilishi qanday sodir bo'ladi?
3. PLC Fosfolipaz C gammasi fosfatidilinositol (PI) yo'li orqali hujayra ichidagi signal uzatilishida qanday ishtirok etadi?
4. Fosfatidilinositol 3-kinaz, PI3K qanday vazifalarni bajaradi?
5. Gormonal signallar adenilatsiklaza yo'li orqali qanday uzatiladi?
6. Genning promotor mintaqasidagi CRE elementlari bilan qanday oqsillar bog'lanadi?
7. Qaysi proteinkinazlar CREB oqsillarini fosforlaydi?
8. Ras yo'li Grb2*Sos tomonidan qanday faollashtiriladi?
9. Ras oqsillari qanday maqsadli effektorlar bilan bog'lanadi?
10. MAP kinaz kaskadi transkripsiya spektrini qanday o'zgartiradi?
11. MAPKlar qanday faollashtiriladi?
12. AP-1 kompleksining tarkibi c-fos gen promotorining TRE elementi bilan bog'lanishiga qanday ta'sir qiladi?

XVI BOB. APOPTOZ

16.1 Apoptoz: kirish

Apoptoz (apoptoz, yunoncha apo - bo'lmasdan, dan, va ptosis - tushish, o'lim, o'lish, "barglarning tushishi") - a'zolar va to'qimalarning differentsiatsiyasi, gomeostazi va transformatsiyasini tartibga solish uchun muhim bo'lgan dasturlashtirilgan hujayra o'limi jarayoni. Apoptoz orqali genetik dasturni faollashtiradigan ichki yoki tashqi omillar hujayra o'limiga va uning to'qimalardan samarali olib tashlanishiga olib keladi; xususan, yuqumli agent tomonidan ta'sirlangan o'simlik hujayralarining apoptozi infeksiyaning yanada tarqalishini oldini oladi. Apoptoz yadro DNKsini mayda bo'laklarga bo'luvchi lizosomal bo'lmagan endogen endonukleazalarning faollashishi bilan tavsiflanadi. Apoptoz turli xil molekulyar mexanizmlar orqali tartibga solinadi. Eukariotlarda apoptozning ingibitorlari (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1, Bclw, adenoviral E1B) va faollashtiruvchilari (Bax, Bak, Nbk/Bik1, Bad, Bcl-xS) mavjud. Apoptozning asosiy oqsillari kaspazlardir.

Prokaryotlarda apoptozning analogi sifatida E. coli hujayra populyatsiyasining bir qismining turg'unlik sharoitida o'limi - bakterial populyatsiyaning o'sishini to'xtatish (masalan, ozuqa substrati tugaganda) hisoblanishi mumkin.

Apoptozning genetik mexanizmi bu holda ikkita gen (mazE va mazF) ishiga asoslanadi, ularning birinchisi barqaror sitotoksik oqsilni, ikkinchisi esa birinchisiga beqaror antidot bo'lgan oqsilni kodlaydi. Apoptoz hujayra va to'qimalar o'limining boshqa shakllaridan farq qiladi - nekroz va atrofiya).

1972 yilda ingliz olimlari J.F.R. tomonidan taklif qilingan "apoptoz" atamasi. Kerr, A.N. Uilli va A.R. Kerri ikki yunoncha so'zdan iborat bo'lib, so'zma-so'z "gulbarglarini guldan ajratish" degan ma'noni anglatadi va hujayraga nisbatan qo'llaniladi - uni qismlarga bo'lish orqali o'limning maxsus turi ("apoptotik tanalar"), ular keyinchalik turli xil qo'shni hujayralar tomonidan fagotsitlanadi. turlari.

"Dasturlashtirilgan hujayra o'limi" atamasi metamorfoz va rivojlanish bilan bog'liq bo'lgan ko'p hujayrali organizm hayotining tabiiy qismi bo'lgan ushbu jarayonning funktsional maqsadini aks ettiradi.

Ko'p hujayrali organizmlarning genetik apparati - hayvonlar, o'simliklar va zamburug'lar - hujayra o'limi dasturini o'z ichiga oladi. Bu

muayyan sharoitlarda hujayrani o'limga olib kelishi mumkin bo'lgan maxsus dastur. Xususan, apoptoz saraton kasalligining o'zini o'zi oldini olishning asosiy mexanizmlaridan biridir.

Apoptoz rivojlanishda ham, gomeostazda ham katta rol o'ynaydi. Hujayralar rivojlanayotgan embrionda morfogenez yoki sinantogenez jarayonida, katta yoshli hayvonlarda esa to'qimalar almashinuvi jarayonida apoptoz orqali nobud bo'ladi. Dasturlashtirilgan hujayra o'limi tizimi immunitetning muhim omilidir, chunki infeksiyalangan hujayraning o'limi infeksiyaning butun tanaga tarqalishini oldini oladi. Ontogenezdagi shakllanish jarayonlari, hayvonlarda T- va B-limfotsitlarning ijobiy va salbiy tanlanishi, o'simliklarning patogenlar hujumiga o'ta sezgir reaksiyasi, kuzgi barglarning tushishi dasturlashtirilgan hujayra o'limiga (apoptoz) bir nechta misollardir.

Ko'pgina yuqumli agentlar infeksiyalangan hujayralarning erta o'limini oldini olish uchun maxsus choralar ishlab chiqdilar. Dasturlashtirilgan hujayra o'limi tizimidagi buzilishlar jiddiy patologiyaning sababi hisoblanadi. Apoptozning zaiflashgan qobiliyati malign o'smalarning rivojlanishiga olib kelishi mumkin. Ba'zi kasalliklar, xususan, asab tizimining degenerativ shikastlanishi, haddan tashqari apoptozning natijasidir.

Oddiy va patologik to'qimalarni tekshirish vaqtida J.F.R. Kerr va boshqalar o'layotgan hujayralar 2 toifaga bo'linganligini aniqladi. Jiddiy shikastlangan to'qimalarda nekroz jarayonlari ustunlik qiladi, ular butun hujayra maydonlariga ta'sir qiladi va organellalarning shishishi va parchalanishi, membranalarning yo'q qilinishi, hujayra lizisi, hujayra ichidagi tarkibning atrofdagi to'qimalarga chiqishi va yallig'lanish reaksiyasining rivojlanishi bilan passiv hujayra degeneratsiyasi bilan tavsiflanadi. Nekroz har doim qo'pol patologiyadan kelib chiqadi, uning mexanizmlari energiya sarfini talab qilmaydi va uni faqat zarar sababini bartaraf etish orqali oldini olish mumkin.

Tanadagi ba'zi hujayralar hujayralar yuzasida joylashgan o'lim retseptorlari deb ataladigan noyob sensorlarga ega. O'lim retseptorlari hujayralararo o'lim signallarining mavjudligini aniqlaydi va javoban apoptozning hujayra ichidagi mexanizmini tezda ishga tushiradi.

Apoptozning fiziologik roli juda muhim bo'lganligi sababli, bu jarayonning buzilishi juda zararli bo'lishi mumkin. Shunday qilib, ba'zi miya neyronlarining o'z vaqtida apoptozi Altsgeymer va Parkinson kasalliklari kabi kasalliklarning paydo bo'lishiga yordam beradi, DNK

sezilarli darajada buzilganidan keyin bo'linadigan hujayralar apoptozga o'tishga qodir emasligi saraton rivojlanishiga yordam beradi.

Apoptoz rivojlanishining 3 bosqichi mavjud: signal (induktor), effektor va degradatsiya (destruktsiya). Apoptoz induktorlari tashqi (hujayradan tashqari) bo'lishi mumkin f) omillar va hujayra ichidagi signallar. Signal retseptor tomonidan qabul qilinadi va keyin ketma-ket turli xil tartibdagi vositachi molekulalarga (xabarchilarga) uzatiladi va o'limga qarshi genlarni faollashtirish orqali hujayrali "o'z joniga qasd qilish" dasturi faollashtirilgan yadroga etib boradi. Apoptozning birinchi morfologik belgilari yadroda qayd etiladi - yadro membranasiga ulashgan osmiofil to'planishi hosil bo'lishi bilan xromatinning kondensatsiyasi. Keyinchalik yadro membranasining invaginatsiyalari (depressiyalari) paydo bo'ladi va yadroning parchalanishi sodir bo'ladi. Xromatin degradatsiyasi DNKning fermentativ parchalanishiga asoslanadi. Avval 700, 200-250, 50-70 ming tayanch juft bo'lgan fragmentlar, so'ngra 30-50 ming tayanch juftlikdan iborat bo'laklar hosil bo'ladi. Ushbu bosqich tugagandan so'ng, jarayon qaytarilmas holga keladi. Keyin internukleosoma DNK parchalanishi sodir bo'ladi, ya'ni. nukleosomalar orasidagi DNK zanjirlarining uzilishi. Bunday holda, bir nukleosoma ichidagi DNK zanjirining uzunligiga to'g'ri keladigan 180-190 ta asosiy juftlik hajmiga ko'payadigan fragmentlar hosil bo'ladi. Membran bilan chegaralangan ajratilgan yadro bo'laklari apoptotik tanalar deb ataladi. Sitoplazmada endoplazmatik retikulum kengayadi, granulalarning kondensatsiyasi va ajinlari paydo bo'ladi. Apoptozning eng muhim belgisi - mitoxondriyalarning transmembran potensialining pasayishi va sitoplazmaga turli apoptojenik omillarning chiqishi (sitoxrom c; prokaspazlar 2, 3, 9; apoptoz qo'zg'atuvchi omil). Bu apoptozning ko'p turlarining rivojlanishida asosiy rol o'ynaydigan mitoxondriyal membranalarning to'siq funksiyasining buzilishidir. Hujayra membranasini villozligini yo'qotadi va vezikulyar shishlar hosil qiladi. Hujayralar yumaloq va substratdan ajratilgan. Hujayra yuzasida fagotsitlar tomonidan tan olingan turli molekulalar - fosfoserin, trombospondin, desialillangan membrana glikokonjugatlari ifodalanadi, natijada hujayra tanasi boshqa hujayralar tomonidan so'riladi va fagotsit

Apoptoz mexanizmlarini o'rganish uchun 2002 yil Nobel mukofoti S. Brenner, R. Horvits va J. Sulstonlarga berildi..

Tanadagi turli hujayralar soni qanday qilib doimiy saqlanadi?

Turli xil odamlarning tanasida ko'proq yoki kamroq bir xil miqdordagi hujayralar mavjud. Dalgalanishlar mavjud, ammo ular

nisbatan kichik. Sog'lom kattalardagi har qanday organdagi hujayralar sonini solishtirsak, biz ham xuddi shunday raqamlarni olamiz. Masalan, qon tekshiruvchi hujayralar sonining o'zgarishini ko'rsatsa, shifokor tashvishlana boshlaydi. Shunday hayvonlar borki, ularda hujayralar soni tor chegaralarda ham o'zgarmaydi. Juda kichik, uzunligi bir millimetrga yaqin, *Caenorhabditis elegans* gelmintida aynan 945 hujayra bor; Ularning 302 nafari nerv hujayralaridir, ular ko' ham emas, kam ham emas. Bu izchillik qanday saqlanadi?

Bir guruh mexanizmlar juda aniq. Hujayra ikkita qiz hujayraga bo'linishi yoki bo'linmasligi mumkin. Bu imkoniyatlardan qaysi biri amalga oshishi genetik dasturga (hujayra siklini tartibga solishga qarang) ham, hujayra qo'shnilaridan yoki atrof-muhitdan oladigan tashqi signallarga bog'liq. Ammo, hujayra siklini tartibga solishdan tashqari, so'nggi yillarda olimlarning e'tiborini tortgan yana bir mexanizm mavjud. Ma'lum bo'lishicha, hujayra bo'linishini tartibga soluvchi dastur bilan bir qatorda maxsus genetik dastur ham mavjud bo'lib, uning amalga oshirilishi ma'lum sharoitlarda hujayrani o'limga olib keladi (apoptoz). Hujayra ba'zi bir tashqi qotilning qo'lida o'lmaydi (garchi bu ham sodir bo'lsa-da), u organizmning yaxshiligi uchun o'zini qurbon qiladi.

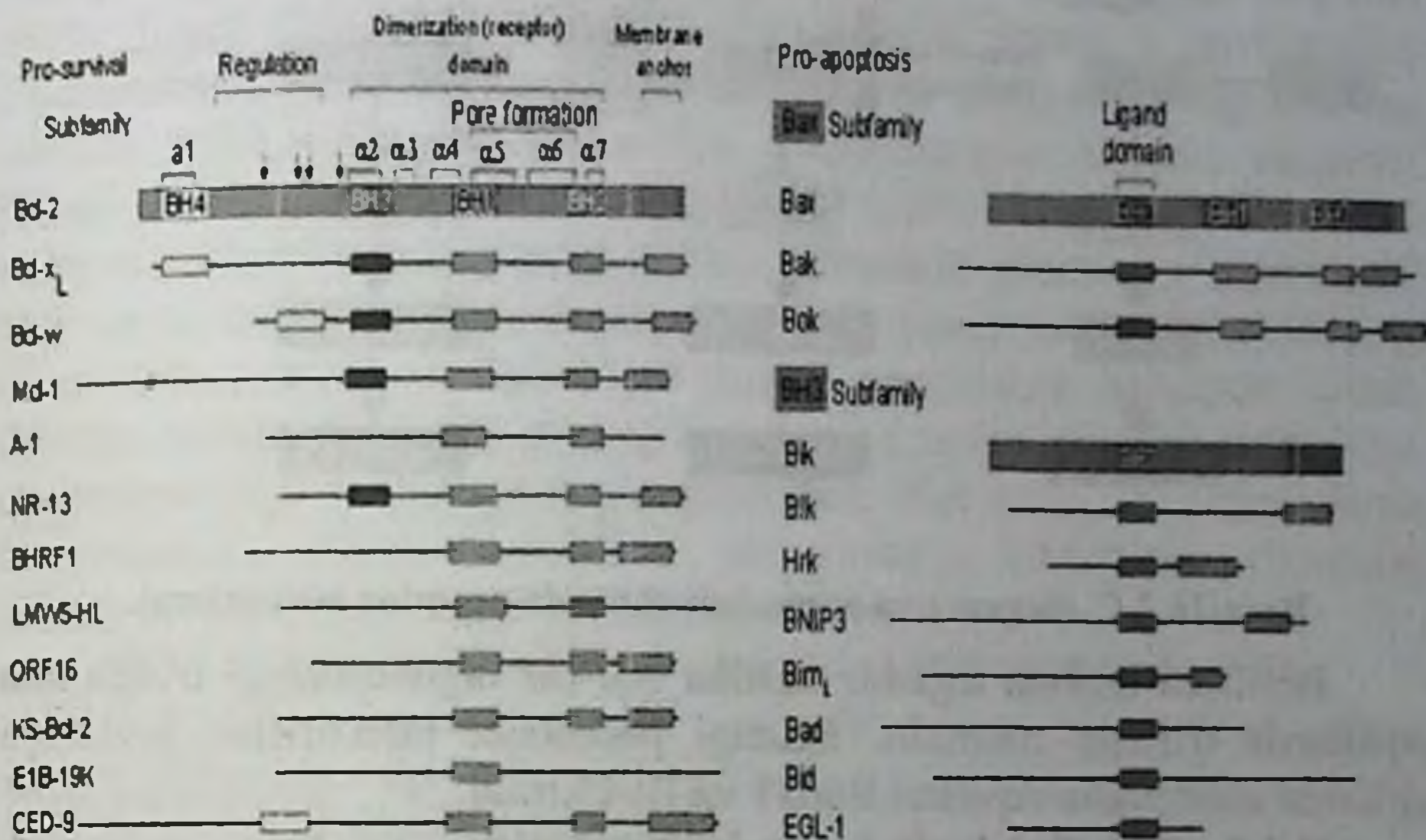
Oqsillar apoptozning induktorlari va repressorlari

90-yillarda apoptoz rivojlanishini rag'batlantiradigan va oldini oladigan oqsillar topildi.

Sutemizuvchilarda nematoda hujayralarining omon qolishini belgilovchi *sed-9* nematoda genining gomologlari *bcl-2* protoonkogen oilasi hisoblanadi. *Bcl-2* genlari dastlab B-hujayrali limfomada aniqlangan, bu erda ularning tartibga solinmagan ishlab chiqarilishi hujayra o'lim mexanizmlarini blokirovka qilgan va shu bilan o'simta hosil bo'lishini qo'llab-quvvatlagan. *Bcl-2* va unga tegishli protein *Bcl-x-1* ham sutemizuvchilar miyasida mavjud. Ular ishemik ta'sir qilish, o'sish omillarini olib tashlash va *in vivo* va *in vitro* neyrotoksinlarning ta'sirida neyronlarni apoptozdan himoya qiladi. *Bcl-2* genlarining ekspresion mahsulotlarini tahlil qilish antiapoptotik (*Bcl-2* va *Bcl-x-1*) va proapoptotik (*Bcl-x-s*, *Bax*, *Bad*, *Bag*) o'z ichiga olgan *bcl-2* bilan bog'liq oqsillarning butun oilasini aniqladi.) oqsillar. *Bax* va *Bad* oqsillari ketma-ketlik homologiyasiga ega va *in vitro*da *Bcl-2* va *Bcl-x-1* bilan heterodimerlarni hosil qiladi. O'limni bostiruvchi faollik uchun *Bcl-2* va *Bcl-x-1* *Bax* oqsili bilan dimerlarni hosil qilishi kerak, Yomon oqsilli dimerlar esa o'limni kuchaytiradi. Bu *Bcl2* va tegishli molekulalar

markaziy asab tizimida hujayra omon qolish yoki hujayra o'limining asosiy determinantlari degan xulosaga keldi.

P53, P21 (WAF1) kabi ba'zi oqsillar apoptoz rivojlanishiga yordam berishi mumkin.



16.1-rasm bcl oqsillar oilasi.

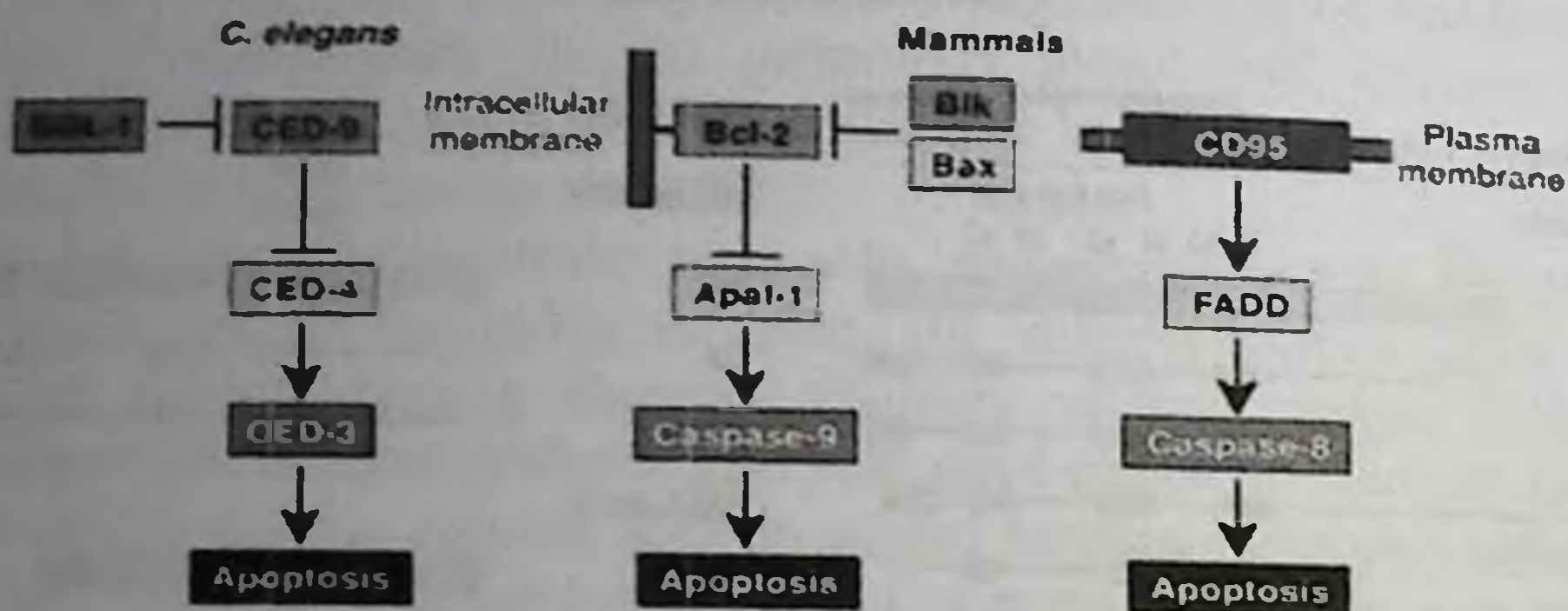
Bundan farqli o'laroq, sutemizuvchilardagi yettita ma'lum bo'lgan qotil oqsillar faqat markaziy qisqa (9 dan 16 aminokislotagacha) BH3 domeniga ega; aks holda ular hech qanday ma'lum proteinga o'xshamaydi va faqat Bik va Blk bir-biriga o'xshash. Ushbu "BH3 domeni" oqsillari omon qolishni qo'llab-quvvatlovchi oqsillarning fiziologik antagonistlarini yaxshi ifodalashi mumkin, chunki *C. elegans*da dasturlashtirilgan hujayra o'limi CED-9 [Conradt ea] bilan bog'langan va orqali harakat qiladigan EGL-1ni talab qiladi (16.2-rasm).

BH3 qotil hujayralar, shu jumladan EGL-1 faoliyati uchun muhimdir.

Bcl-2 oilasi: hujayrali lokalizatsiya

Bcl-2 mitoxondriyaning tashqi membranasi, endoplazmatik retikulum (ER) va yadro konvertining sitoplazmatik yuzasida joylashgan bo'lib, bu tuzilmalarning shikastlanishini aniqlay oladi va ularning xatti-harakatlariga ta'sir qiladi, ehtimol kichik protein molekulalarining transportini o'zgartiradi. Bcl-2 gidrofobik domenining COOH terminali (16.2-rasm) uning membrana biriktirilishi uchun muhim bo'lsa-da, uni

olib tashlash Bcl-2 ning omon qolish funksiyasini bloklamaydi. Bundan tashqari, Bcl-xL ning faqat bir qismi membranalarda o'tiradi va Bax apoptotik stimullarga nisbatan sitozolik oqsildir, garchi ikkalasi ham, boshqa oila a'zolari kabi, hidrofobik domenlarga ega. (16.2-rasm)



Rasm 16.2 C. elegance va sutemizuvchilarda apoptoz mexanizmi.

Bcl-2 va boshqa tegishli oqsillar har bir organelladagi o'ziga xos oqsillarda o'tirishi mumkin. ERdagi potentsial biriktirilish joylariga ajralmas membrana oqsillari Bap31 va BI-I kiradi.

Bcl-2 oilasi: fiziologik funksiyalar: kirish

Bcl-2 turli xil sitotoksik ta'sirlardan himoya qiladi - masalan, Gamma va ultrabinafsha nurlanish, sitokinlarni olib tashlash, deksametazon, stauroskorin va sitotoksik dorilardan. Timusdagi autoreaktiv T hujayralarining tanlanishi bcl-2 transgeni tomonidan bloklanmaydi. Bundan tashqari, Bcl-2 CD95 retseptorlari ligandlari tomonidan limfotsitlarda CD95 orqali qo'zg'atilgan apoptozdan yomon himoya qiladi. Shuning uchun, hech bo'lmaganda, kaspaza 8 ni faollashtiradigan CD95 vositachiligidagi asosiy yo'l ko'pchilik stress yo'llari uchun umumiy bo'lgan Bcl-2-inhibe qilingan qadamni chetlab o'tadi (16.2-rasm). CD95 muqobil yo'llarni ham ishga tushirishi mumkin, chunki Bcl-2 ma'lum hujayra turlarida CD95 keltirib chiqaradigan o'limdan himoya qiladi.

Bcl-2 oilasi: gen nokauti.

Garchi omon qolish genlari bir xil effektor funksiyalarga ega bo'lsa-da, gen-nokaut sichqonlarida o'tkazilgan tajribalar ularning har biri ma'lum bir organ tizimi uchun javobgar ekanligini ko'rsatdi. Embrionogenez jarayonida Bcl-2 ning keng tarqalgan ifodalanishiga qaramay, bcl-2 -/- sichqonlari an'anaviy tarzda rivojlanadi va faqat keyinchalik og'ir limfoid apoptoz, melanoma, asab va ichak kasalliklari

va oxir-oqibat jigar kasalligini ko'rsatadi. Bundan farqli o'laroq, bcl-x -/- sichqonlari ko'plab eritroid va asab hujayralarining o'limi natijasida bachadonda nobud bo'ladi va kimeralar bilan o'tkazilgan tajribalar ularning B hujayrasi emas, balki T hujayralarining rivojlanishi buzilganligini ko'rsatadi. Voyaga etgan bcl-w -/- sichqonlari sog'lom, ammo jinsiy hujayralar va qo'llab-quvvatlovchi Sertoli hujayralarining o'limi tufayli spermatogenez buziladi. Har bir hujayra turi apoptozdan kamida bitta qo'riqchi tomonidan himoyalangan bo'lishi mumkin. Proapoptotik gen yo'qolishi kutilgandek, bax/- sichqonlari bir nechta hujayra turlari sonining ko'payishini ko'rsatadi: granuloza hujayralari, ba'zi nerv hujayralari, limfotsitlar va yosh jinsiy hujayralar. Ularning timositlari gamma nurlanishiga normal sezgirlikni namoyon qiladi, shuning uchun Bax p53 ga bog'liq apoptoz uchun muhim emas. Gen etishmovchiligi bo'lgan sichqon gibridlari. Bax bcl-x -/- sichqonlarda neyronlarning o'limi va bcl-2 -/- sichqonlarda limfotsitlar o'limining aksariyat qismi uchun mas'ul ekanligini ko'rsatdi.

Bcl-2 oqsillari: kanal hosil qiluvchi oqsillarga o'xshashlik

Bcl-2 oilasi oqsillari qanday qilib o'ziga xos mitoxondrial ta'sirga olib kelishining bir ko'rsatkichi Bcl-xL oqsilining uch o'lchovli tuzilishini aniqlashdan kelib chiqadi.

Bcl-xL oqsili difteriya toksini va kolitsin kabi ma'lum turdagi bakterial toksinlarning teshik hosil qiluvchi domenlari bilan ajoyib o'xshashliklarga ega bo'lgan egiluvchan aloqalar bilan bog'langan etti alfa spiraldan iborat. Ularning tuzilishiga ko'ra, Bcl-2, Bcl-xL va Bax sintetik membranalarga qo'shilganda ion kanallarini hosil qilishi mumkin.

Teshiklarning hosil bo'lishi uchun mas'ul bo'lgan alfa-5 va alfa-6 spirallarini olib tashlash Bcl-2 va Bax orqali sintetik membranalarda kanallarning shakllanishini bekor qiladi.

Bcl-2 yoki Bcl-xL tomonidan tashqi membrana yaratilgan kichik ion o'tkazuvchanlik kanali mitoxondrial fiziologiyaga qanday ta'sir qilishi mumkin? Minimal (yopiq) VDAC (kuchlanishga bog'liq anion kanali) konfiguratsiyasida ham u taxminiy diametri 1,5 nanometr bo'lgan teshiklarni hosil qiladi [Mannella ea 1992]. Bu shuni anglatadiki, tashqi membrana ionlar va ko'pchilik metabolitlar uchun erkin o'tkazuvchan bo'lishi kerak. Bcl-2 va Bcl-xL ion tashishni boshqaradigan ichki membrana oqsillari, masalan, PT pora komponentlari yoki PT dan mustaqil ravishda matritsa hajmini tartibga soluvchi ion transport oqsillari bilan funktsional yoki jismoniy aloqa qilishi mumkin.

Bcl-2 va Bcl-xL, shuningdek, qandaydir tarzda membranalararo bo'shliqning pH darajasini tartibga solishi mumkin, bu esa mitoxondriyadan proton chiqarish tezligining oshishiga olib keladi. Achitqilardagi Bax bilan bog'liq sitotoksiklik va sutemizuvchilar hujayralarida Bax tomonidan qo'zg'atilgan apoptoz ichki mitoxondriyal membranada F0F1-ATPase proton nasosining ishlashini talab qiladi. In vitro ma'lumotlar Bax kanalining potentsial va pH ga bog'liqligini ko'rsatadi.

Mitoxondriyaning tashqi membranasi qutblanmagandek ko'rinsada, uning birikish komplekslari hududida ichki membranaga yaqin bo'lishi mumkin. u erda joylashgan oqsillarni to'kib tashlang.

16.2 Apoptozning mexanizmi. Apoptozning bosqichlari.

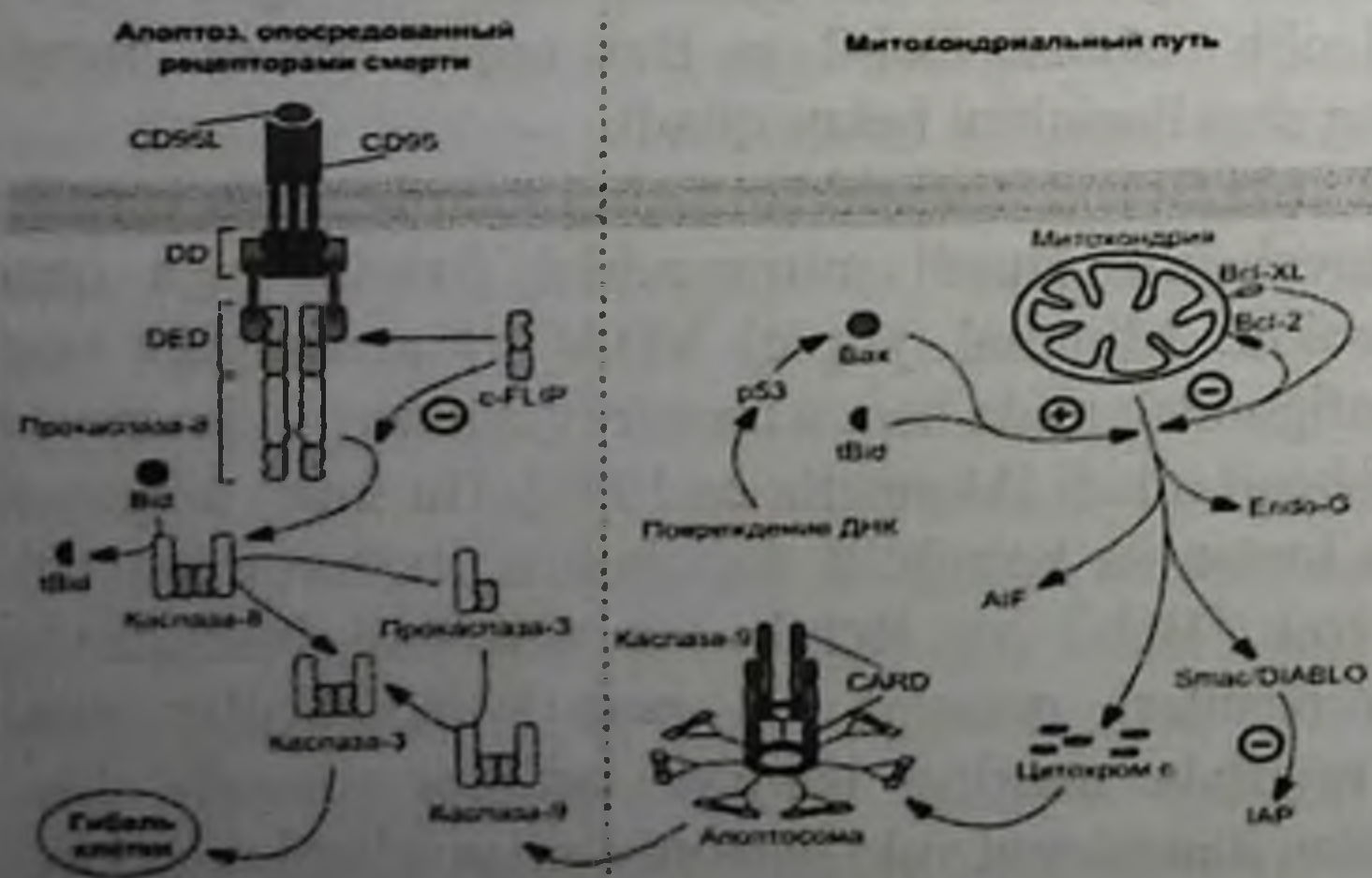
Apoptoz sodir bo'lganda, taxminan to'rt bosqichni ajratish mumkin. Inisiatsiya -> Dasturlash -> Dasturni amalga oshirish -> O'lik hujayrani olib tashlash.

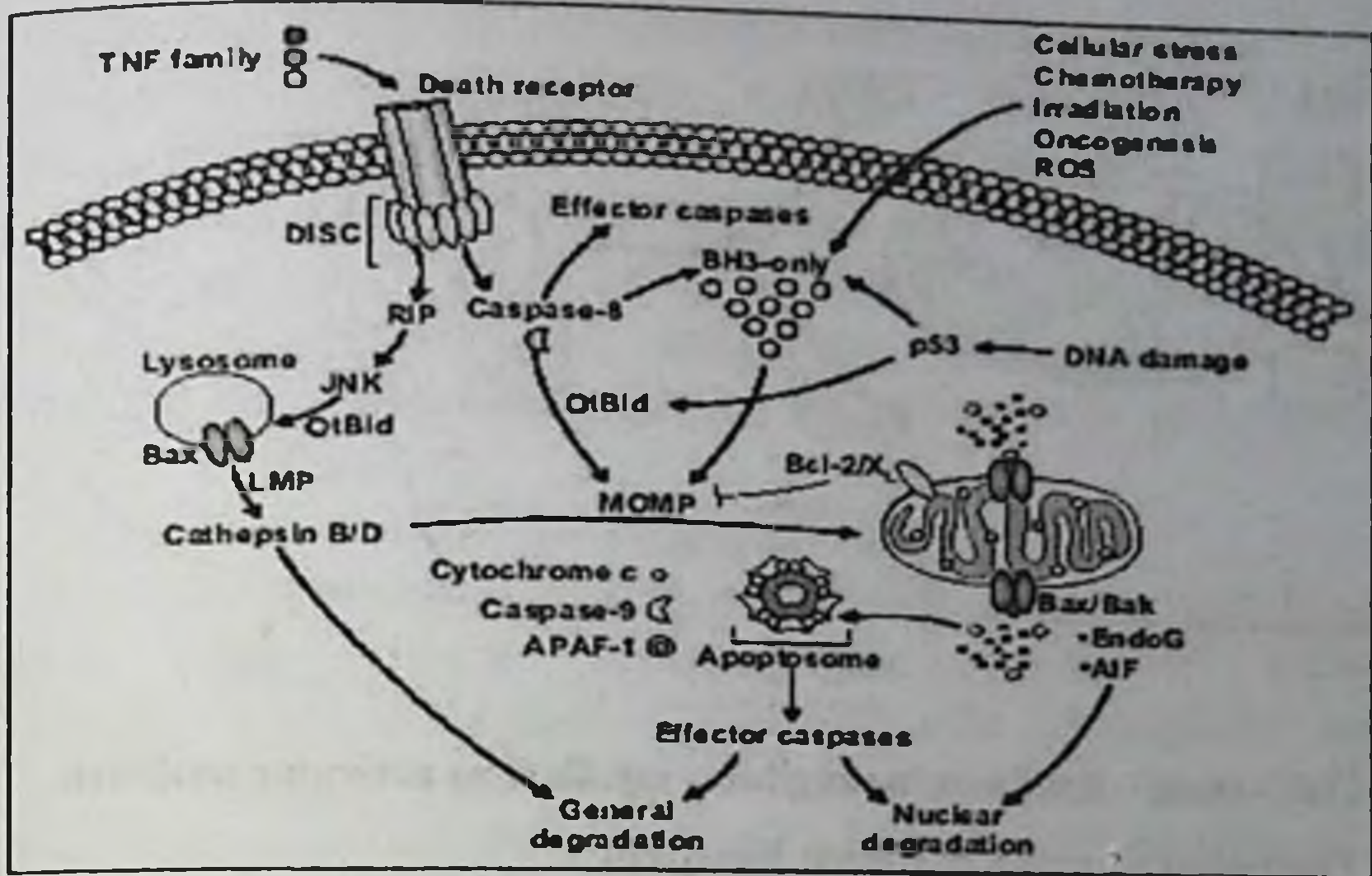
Apoptozning bosqichlari

Inisiatsiya bosqichi. Bu bosqichda axborot signallari hujayra tomonidan qabul qilinadi. Patogen agentning o'zi signaldir yoki hujayrada signal hosil bo'lishiga va uning hujayra ichidagi tartibga soluvchi tuzilmalarga va molekulalarga uzatilishiga sabab bo'ladi (16.3-rasm).

Apoptozni boshlaydigan stimullar transmembran yoki hujayra ichidagi bo'lishi mumkin (16.3-rasm).

- Ijobiy signallar oxir-oqibat apoptoz dasturining boshlanishini keltirib chiqaradi. Shunday qilib, FasL ning CD95 (Fas) membrana retseptorlari bilan bog'lanishi hujayra o'lim dasturini faollashtiradi (16.4-16.5-rasm).





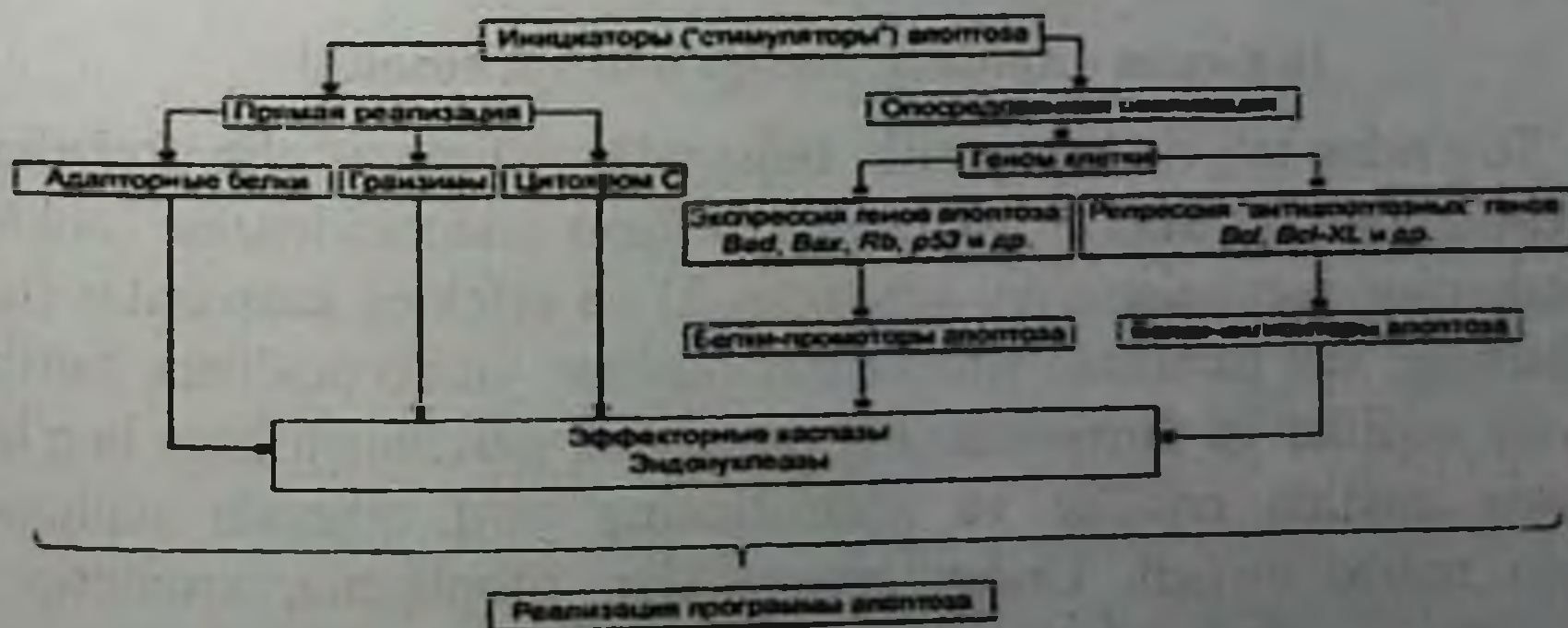
16.5-rasm - apoptoz dasturini ishga tushirish uchun transmembran signallari.

- Aralash signallar birinchi va ikkinchi gurub signallari ta'sirining birikmasidir. Shunday qilib, mitogen tomonidan qo'zg'atilgan, ammo begona Ag bilan aloqada bo'lmagan limfotsitlar apoptozdan o'tadi. Ag ta'sir qilgan, ammo boshqa signallarni olmagan limfotsitlar, masalan, mitogen yoki HLA dan ham o'ladi.

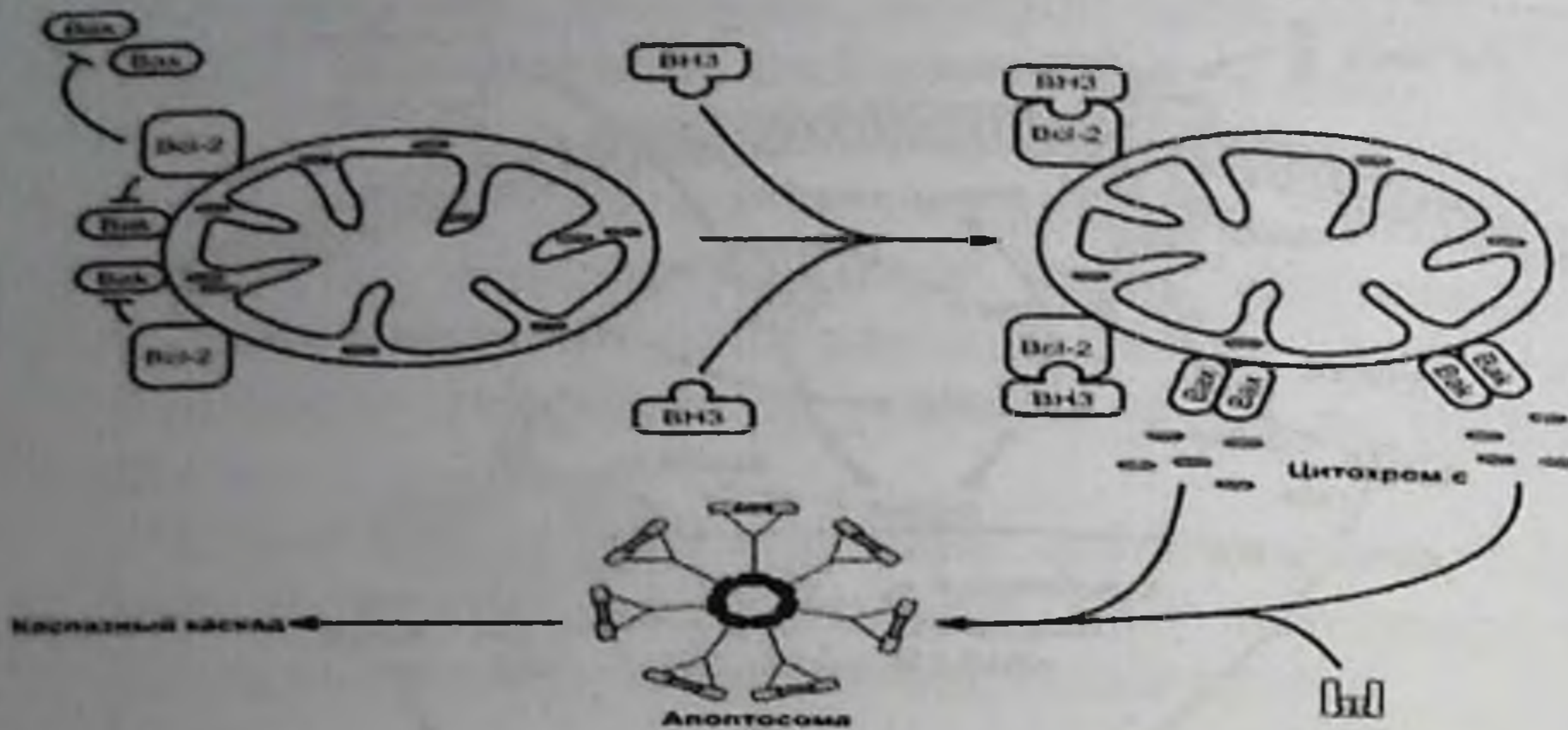
- apoptozning hujayra ichidagi stimullari orasida ortiqcha H⁺, lipidlar va boshqa moddalarning erkin radikallari, yuqori harorat, hujayra ichidagi viruslar va yadro retseptorlari orqali ta'sir qiluvchi gormonlar (masalan, glyukokortikoidlar) aniqlangan.

Dasturlash bosqichi

Dasturlash bosqichi (apoptotik jarayonlarni boshqarish va integratsiyalashuvi) 16.6-rasmda keltirilgan. -16.7.



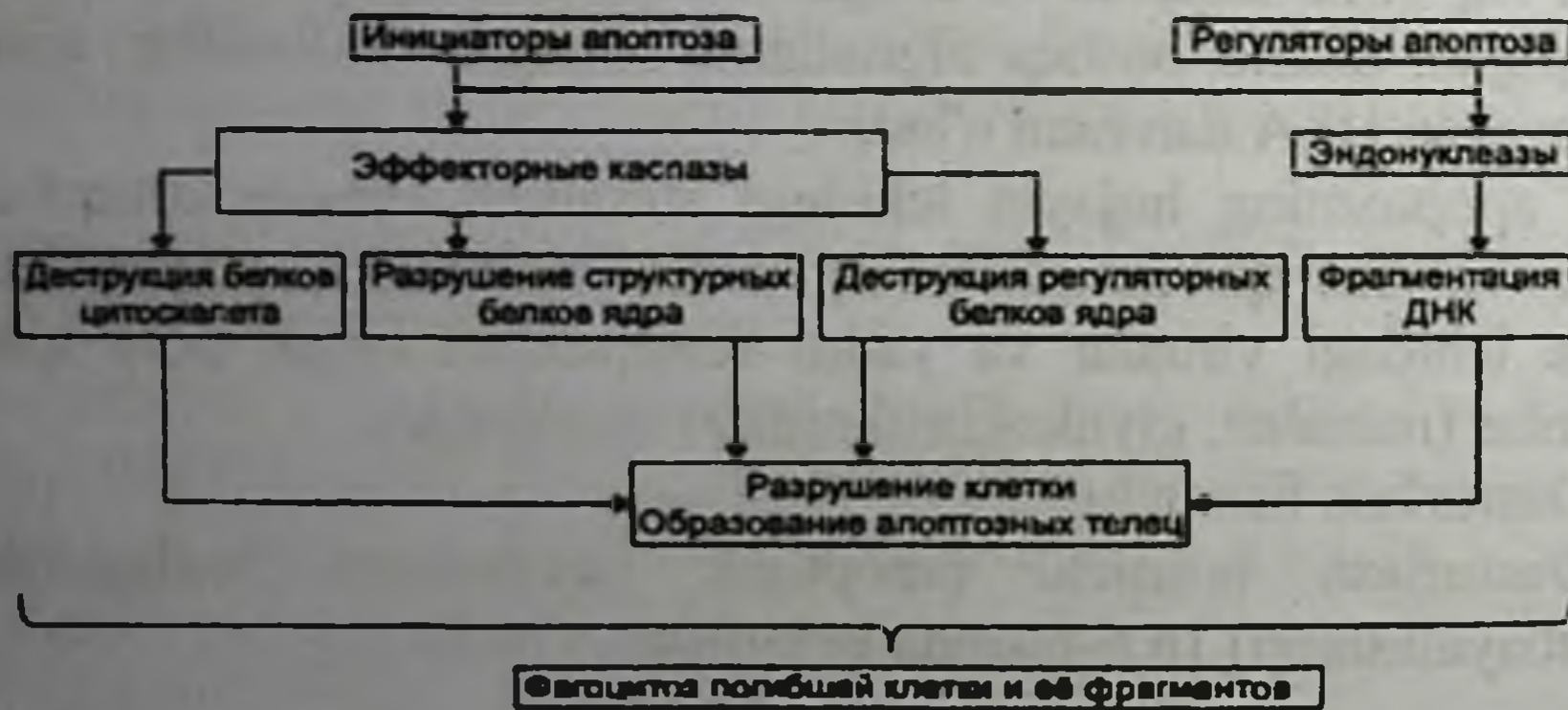
16.6-rasm - Apoptoz: dasturlash bosqichi. Apoptoz dasturini amalga oshirish.



16.7-rasm - Apoptozning ingibitor oqsillari va activator oqsillari.

Dasturni amalga oshirish bosqichi

Apoptoz dasturini amalga oshirish bosqichi (ijro etuvchi, effektor) proteolitik va nukleolitik kaskadlarni faollashtirish orqali amalga oshiriladigan haqiqiy hujayra o'limidan iborat (16.8-rasm).

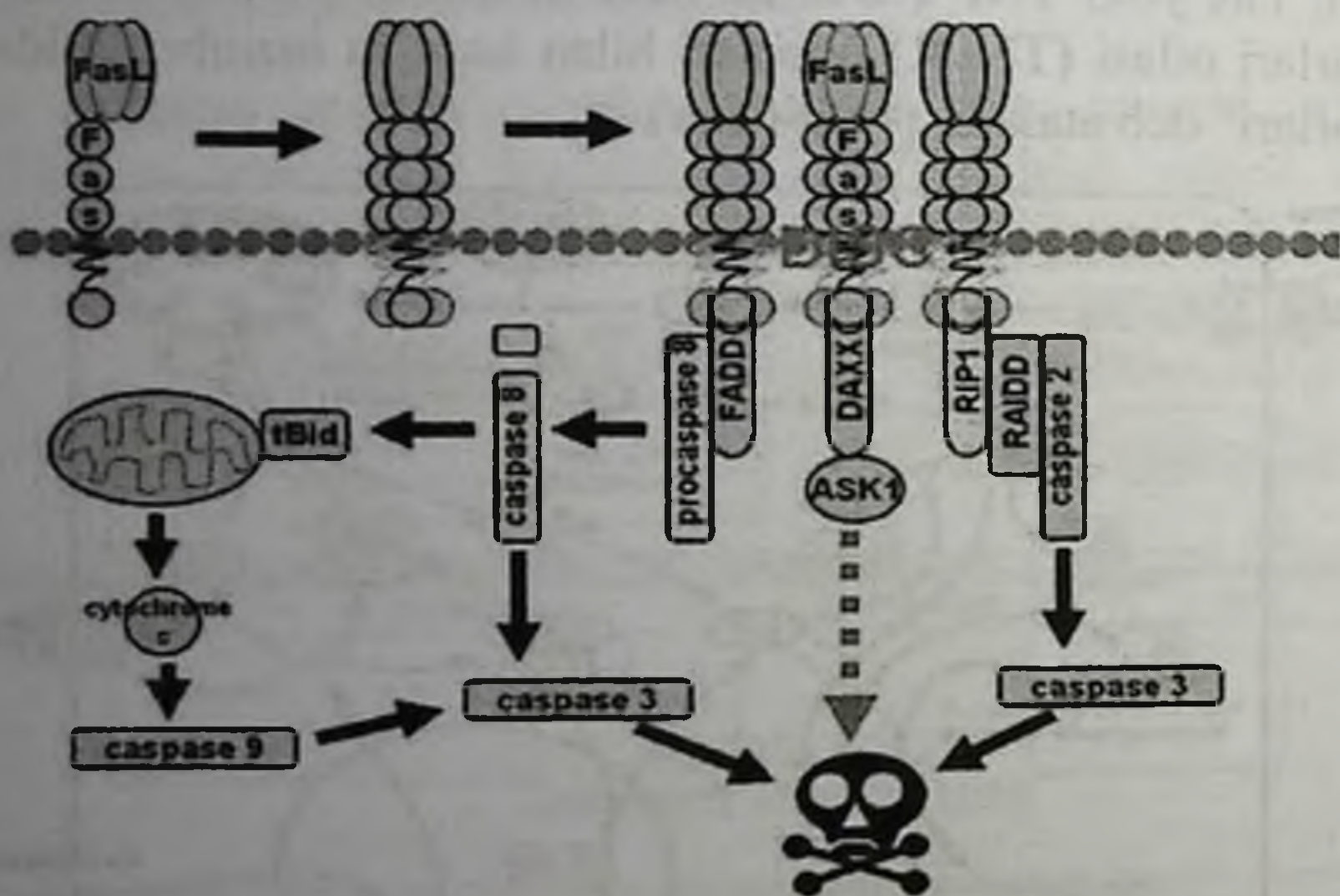


16.8-rasm - Apoptoz: amalga oshirish bosqichi

To'g'ridan-to'g'ri kaspototik hujayralar o'limiga olib keladigan fermentlar Ca^{2+} , Mg^{2+} ga bog'liq bo'lgan endonukleazlar (nuklein kislotalarning parchalanishini katalizlaydi) va effektor kaspazalar (turli oqsillarning, shu jumladan sitoskeletal oqsillar, yadro oqsillari, tartibga soluvchi oqsillar va fermentlarning proteolitik parchalanishiga bog'liq). Apoptoz paytida oqsillar va xromatinning yo'q qilinishi natijasida hujayra nobud bo'ladi. Undan organellalar, sitoplazma, xromatin va sitolemma — apoptotik jismlar qoldiqlari bo'lgan fragmentlar hosil bo'ladi va kurtaklanadi.

O'lim retseptorlari apoptoz mexanizmi bilan bevosita bog'liq. Hujayra muhitidan va hujayra yaxlitligini kuzatuvchi ichki sensorlardan keladigan omon qolish signallari odatda apoptotik mexanizmni tayyor holatda saqlaydi. Agar hujayra atrof-muhit bilan aloqani yo'qotsa yoki tuzatib bo'lmaydigan ichki shikastlansa, hujayra apoptozga kiradi. Bo'linish siklini davom ettirish yoki to'xtatish uchun bir vaqtning o'zida qarama-qarshi signallarni qabul qiladigan hujayralar ham apoptozga o'tadi.

Faollashtirilgan kaspaza-8 sitoplazmaga chiqariladi va u erda effektor kaspazalarini faollashtiradigan proteaz kaskadini boshlaydi - xususan, retseptor va mitoxondrial yo'llarning kesishish nuqtasi bo'lib xizmat qiluvchi kaspaza-3 (16.10-rasm). kaspaza faollashuvi. Qarang (16.10-rasm).



Rasm. 16.10. Fassignal yo'l. Nuqtali kulrang chiziqlar bir necha bosqichlarni ifodalaydi.

Sutemizuvchilar, shuningdek, alohida hujayraning o'z-o'zini yo'q qilishga imkon beradigan yana bir mexanizmni ishlab chiqdilar. Ushbu turdagi "ko'rsatma" apoptoz immunitet tizimida ayniqsa muhimdir. O'lim retseptorlari - maxsus "o'lim ligandlari" tomonidan boshlangan apoptotik signallarni uzatuvchi hujayra yuzasi retseptorlari "ko'rsatma" apoptozda katta rol o'ynaydi. Ushbu retseptorlar ligand bilan bog'langandan so'ng bir necha soniya ichida o'limga olib keladigan kaspazlarni faollashtirishi mumkin, bu esa bir necha soat ichida apoptotik hujayralarni yo'q qilishga olib keladi.

O'lim retseptorlari o'simta nekrozi omili (TNF) super oilasiga tegishli bo'lib, ularning barchasi sisteinga boy hujayradan tashqari domenlarga o'xshashdir. O'lim retseptorlari o'lim domeni deb ataladigan homolog sitoplazmatik ketma-ketlikni ham o'z ichiga oladi.

Eng ko'p o'rganilgan o'lim retseptorlari :

CD95 (Fas, Apo1)

TNFR1 (p55, CD120a).

CAR1 ,

D3 (Apo3, WSL-1, TRAMP, LARD),

DR4

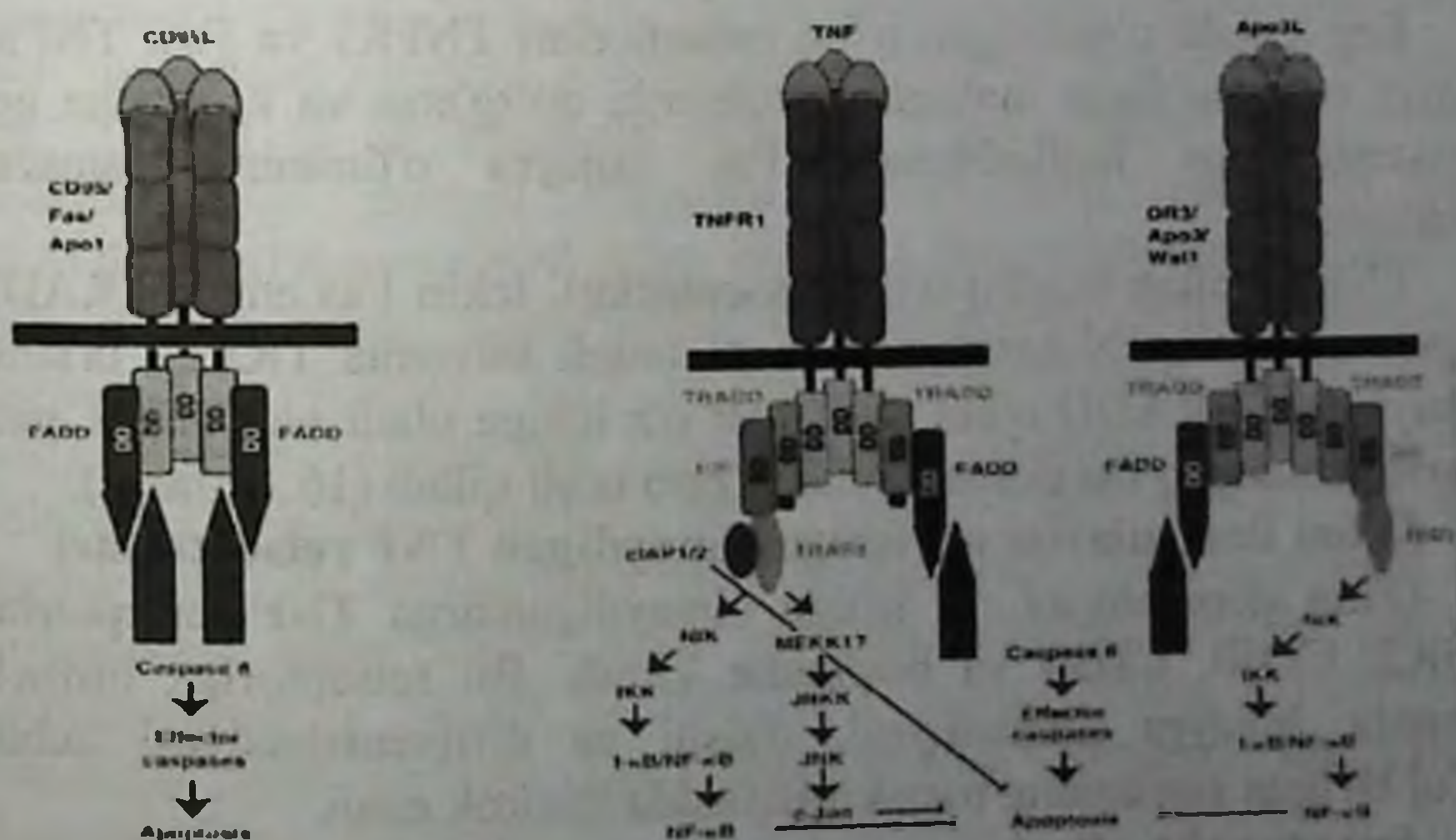
DR5 (APO2, TRALL-R2, TRICK, KILLER)

P75 o'sish omili (NGF) retseptorlari o'lim domenini ham o'z ichiga oladi

Qoramol chechagi virusi oqsili C_{rm}A nekrozda ishtirok etadigan bir nechta faol tashabbuskor kaspazalar va kaspazalarning kuchli ingibitori (K_i 1nM dan kam) bo'lgan (serpin) serpantinlar oilasidan hisoblanadi.

TNF retseptorlari: umumiy ma'lumot

TNF retseptorlari superoilasi tarkibida TNFalfaga o'xshash sitokinlarning tegishli a'zolari tomonidan maxsus faollashtirilgan 20 dan ortiq tizimli bog'liq transmembran oqsillari mavjud bo'lib, ular gen transkripsiyasini faollashtirish va apoptoz induksiyasini o'z ichiga olgan hujayrali javoblarning keng doirasiga olib keladi (111-rasm).



Rasm16.11 CD95, TNFR1 va DR3 olim domenlari orqali apoptoz signalizatsiyasi sxemasi. DED - o'lim effektor domeni.

Ularning barchasi transmembran oqsillari bilan ifodalanadi, ular hujayradan tashqari joylarda induktor ligandlarining trimerlari bilan o'zaro ta'sir qiladi. Retseptor va ligandning o'zaro ta'siri retseptor molekulalarining klasterlarining shakllanishiga va ularning hujayra ichidagi joylarining adapterlarga bog'lanishiga olib keladi. Adapter retseptor bilan aloqada bo'lib, effektorlar bilan o'zaro ta'sir qiladi (16.11-rasm).

Ushbu retseptorlar superoilasi a'zolari keng tarqalgan bo'lib, ko'plab muhim biologik hodisalarda, jumladan limfoid va asab to'qimalarining rivojlanishida, tug'ma va adaptiv immunitet va gomeostazni saqlashda muhim rol o'ynaydi.

Ushbu retseptorlarning signalini boshqaradigan agentlar revmatoid artrit, koroner yurak kasalligi, transplantatsiyani rad etish, insulin qarshiligi, ko'p a'zolar shikastlanishi va neoplazmalar kabi ko'plab inson kasalliklarini davolash yoki oldini olishda va'da beradi.

TNF retseptorlari superfamiliyasi hujayra ichidagi hududda o'lim domenini o'z ichiga oladimi-yo'qligiga qarab ikkita kichik guruhga bo'linishi mumkin.

O'lim domenlarini o'z ichiga olgan TNF retseptorlar va o'lim domenlarini o'z ichiga olmaydi TNF retseptorlari bor.

O'lim domenlarini o'z ichiga olgan TNF retseptorlari

O'lim domenlarini o'z ichiga olgan retseptorlar o'lim retseptorlari deb nomlanadi

Eng yaxshi o'rganilgan o'lim retseptorlari TNFR1 va Fas; TNFR1 hujayra o'limini faqat ma'lum sharoitlarda qo'zg'atsa va ko'pincha gen transkripsiyasini faollashtiradi, Fas hujayra o'limining samarali induktoridir.

TNFR1 bilan bog'liq o'lim retseptorlari, lekin Fas emas, TRADD adapter oqsilining N-terminal domeni orqali bilvosita TRAF2 ta'sirini kuchaytiradi. TRADD o'lim domenini o'z ichiga oladi va TNFR1 ning hujayra ichidagi o'lim domeni bilan o'zaro ta'sir qiladi (16.11-rasm).

O'lim domenlarini o'z ichiga olmaydigan TNF retseptorlari

O'lim domenlarini o'z ichiga olmaydiganlarga TNF retseptorlari TNFR2, CD40, CD30 va boshqalar kiradi. Bu retseptorlar, birinchi navbatda, hujayra adaptasiyasi, o'sishi va differentsiatsiyasi uchun mas'ul bo'lgan genlarning transkripsiyasida ishtirok etadi.

Apoptoz signallari

Birinchi bosqichda hujayra atrof-muhitdan - qo'shni hujayralardan yoki hujayralararo moddalardan "apoptotik signallarni" oladi. Axborot

hujayra ichidagi signal molekulalarining hujayra membranasidagi turli retseptorlari yoki retseptorlari birikmasi bilan bog'lanishi orqali uzatiladi.

Hujayrani o'rab turgan muhitda ma'lum bir moddaning yo'qligi ham ma'lumot bo'lishi mumkin. Yadrosiz tizimlarda apoptozning mavjudligi (sitoplastlar - yadrosi yo'q hujayralar) jarayonning sodir bo'lishi uchun yadro mavjudligi shart emasligini ko'rsatadi.

Hayvonlar va inson hujayralariga nisbatan apoptoz ko'p hollarda kaspaz kaskadining proteolitik faollashuvi bilan bog'liq.

Biroq, apoptoz kaspazalarning ishtirokisiz ham mumkin: apoptoz promotor oqsillari Bax va Bakning haddan tashqari sintezi kaspaza ingibitorlari ishtirokida apoptozni keltirib chiqaradi.

TNFR1 (p55, CD120a): signal uzatish oqsili

TNF asosan faollashtirilgan makrofaglar va T hujayralari tomonidan infektsiyaga javoban ishlab chiqariladi. TNFR1 yordamida TNF tegishli immunomodulyatsion va yallig'lanishga qarshi genlarning NF-kB va AP-1 transkripsiya omillarini faollashtiradi (16.11-rasm). Ba'zi hujayra turlarida TNF TNFR1 orqali apoptozni ham qo'zg'atadi.

Biroq, CD95L bilan farqli o'laroq, TNF kamdan-kam hollarda apoptozni qo'zg'atadi, agar protein sintezi bloklanmasa, bu TNF tomonidan ishlab chiqarilgan apoptotik stimullarni bostirishi mumkin bo'lgan ba'zi maxsus hujayra omillari mavjudligini ko'rsatadi. Ushbu bostiruvchi oqsillarning ifodasi, ehtimol, NF-kB va JNK/AP-1 orqali boshqariladi, chunki bu yo'llarning birortasini inhibe qilish hujayraning TNF tomonidan apoptoz induksiyasiga nisbatan sezgirligini oshiradi. TNF TNFR1 ni bog'langanda sozlaydi, o'lim retseptorlari domenlari assotsiatsiyasini keltirib chiqaradi (16.11-rasm). Shundan so'ng, TRADD (TNFR-associatrd o'lim domeni) deb nomlangan adapter o'z o'lim domeni orqali klasterlangan retseptorlarning o'lim domenlariga bog'lanadi. TRADD bir nechta signalizatsiya molekulalarini faollashtirilgan retseptorga bog'laydigan yagona adapter sifatida ishlaydi. TNFR bilan bog'liq 2 omil (TRAF2-TNFR retseptorlari bilan bog'liq omil) va retseptorlari bilan o'zaro ta'sir qiluvchi protein RIP (retseptorlar bilan o'zaro ta'sir qiluvchi protein) etakchi yo'llarni rag'batlantiradi. e NF-kB va JNK/AP-1 faollashishiga, FADD (o'lim domeniga ega bo'lgan Fas bilan bog'liq protein) apoptozning faollashishiga olib keladi.

Ushbu komponentlardan faqat RIP fermentativ faollikka ega, ya'ni serin-treonin kinaz faolligi, ammo RIP faolligining NF-kB yoki

JNK/AP-1 faollashuvidagi rolini aniqlash kerak. TRAF-2 va RIP NF-kB induksiya qiluvchi kinazni (NIK) faollashtiradi, bu esa o'z navbatida IKK inhibitori KB (I-kB) kinaz kompleksini faollashtiradi.

IKK I-kB ni fosforlaydi, bu esa I-kB ning yo'q qilinishiga olib keladi va NF-kB ning transkripsiyani faollashtirish uchun yadroga o'tishiga imkon beradi (16.11-rasm).

TRAF2 va RIP dan JNKga o'tish yo'li mitogen bilan faollashtirilgan protein (MAP), MEKK1 (MAP/Erk kinaz kinaz-1), JNKK (JNK kinazalar) va JNK (16.11-rasm) ni o'z ichiga olgan jarayonlar kaskadini o'z ichiga oladi. JNK - c-

Jun-NH2-terminal protein kinaz. JNK kinaz AP1 oilasining dimerik transkripsiya omillaridan birini tashkil etuvchi c-Jun va ATF2 ning o'ziga xos protein domenlari bilan bevosita bog'lanadi. Natijada, c-Jun va ATF2 N-terminal domenlarida fosforlanadi. Ushbu domenlar aktivator bo'lib, ularning fosforillanishi ularning AP1 dimerining transkripsiya faolligining oshishiga olib keladi.

MEKK1 NIK bilan bir xil rol o'ynaydi va u signal uzatish pallasida ishtirok etadi, chunki MEKK1 ning kinaz-inaktiv mutantlari faollashuvni bloklaydi.

JNK TNF ta'sirida, lekin MEKK1 TRAF2 bilan bog'lanmaydi, bu boshqa TRAF2 bog'lovchi kinaz MEKK1 oqimining yuqorisida yoki o'mida harakat qiladi degan taxminlarga olib keladi (16.11-rasm). TRAF2 geni o'chirilgan sichqon hujayralari yoki TRAF2 ning dominant salbiy mutantlarini ifodalovchi transgenik sichqon hujayralari TNFga javoban juda zaif NF-kB javobini ko'rsatadi. Shunday qilib, TRAF2 TNF tomonidan NF-kB faollashuvi uchun muhim bo'lmasligi mumkin va aksincha, TRADD va NIK bilan bog'langan va TRAF2 o'rmini bosadigan TRAF oilasining boshqa a'zosi bo'lishi mumkin. TRAF2 etishmovchiligi bo'lgan hujayralar TNF ga javoban JNKni faollashtira olmaydi, bu TRAF2 ning bu ta'sirdagi muhim rolini ta'kidlaydi.

RIP etishmovchiligi bo'lgan hujayralarning reaktsiyalaridan kelib chiqadigan rasm qarama-qarshi xususiyatga ega. TNFga javoban NF-kB faollashuvi yo'q, JNK faollashuvi esa buzilmagan bo'lib qoladi. Shuning uchun, RIP TNFR1ning NF-kB bilan bog'lanishi uchun talab qilinadi, lekin TNFR1ning JNK bilan bog'lanishi uchun muhim bo'lmasligi mumkin. TRAF-2 va RIP geni o'chirilgan sichqonlarda TNF signalizatsiyasi bilan bog'liq bo'lmagan patologiyalar mavjud bo'lib, bu oqsillarning har biri qo'shimcha funktsiyalarga ega ekanligini ko'rsatadi.

TRAF2 shuningdek, antiapoptotik faollikka ega bo'lgan hayvon va virusli oqsillar oilasiga mansub TAP1 va c-TAP2 (apoptozning hujayra ingibitori 1, 2) bilan bog'lanadi.

FADD (o'lim domeniga ega Fas bilan bog'liq protein) kaspaza-8 ni faollashtirish uchun TNRF1-TRADD kompleksini bog'laydi va shu bilan apoptozni boshlaydi (16.11-rasm) Genetik jihatdan yo'q qilingan FADD bo'lgan sichqonlarning hujayralari TNF tomonidan qo'zg'atilgan apoptozga chidamli bo'lib, bu javobda FADD ning hal qiluvchi rolini ko'rsatadi. FADD dan tashqari, TNRF1 RAIDD (CRADD) deb nomlangan adapterni ham jalb qilishi mumkin. RAIDD o'lim zonasi orqali RIPning o'lim domeniga va CARD elementi orqali o'lim efektori kaspaza-2dagi o'xshash ketma-ketlikka bog'lanadi va shu bilan apoptozni boshlaydi (16.9-rasm).

TRAF oqsillari

TRAF oqsillari hujayra faollashuvi, hujayra moslashuvi va TNF superfamily retseptorlarining anti-apoptotik funksiyasining asosiy vositachilaridir. Ular retseptorlari bilan to'g'ridan-to'g'ri o'zaro ta'sir qilish yoki TRADD adapter oqsili orqali TNF retseptorlarining faollashishiga olib kelishi mumkin.

TNF retseptorlari tomonidan hujayra faollashishi, moslashuvi va anti-apoptotik funksiyalari ko'p hollarda TNF retseptorlari bilan bog'liq omillarning TRAF oilasi oqsillari (TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6) tomonidan vositachilik qiladi. Ikkala TNF retseptorlari to'plami TRAF oqsillarini jalb qilishi mumkin. O'lim domenlarini o'z ichiga olmaganlar signal uzatish paytida TRAF oilasining ko'plab a'zolarining harakatlarini to'ldiradi.

TRAF oqsillari *Drosophila*, *C. elegans* va *Dictyostelium discoideum* kabi ko'p hujayrali organizmlarda genetik jihatdan saqlanib qolgan.

TRAF signalining ta'sir qiluvchi omillari NF- κ B va AP-1 oilalarining transkripsiya omillari, ular turli jihatlarda ishtirok etadigan turli genlarga ta'sir qilishi mumkin. hujayra va immun funksiyalari. Bundan tashqari, NF- κ B va AP-1 faollashuvi anti-apoptotik genlarning transkripsiyasi orqali hujayralarni apoptozdan himoya qilishi ko'rsatilgan.

Maqsadli genni yo'q qilish apoptoz signalini bostirish uchun TRAF2 funksiyasining ahamiyatini ochib beradi.

16.3 Apoptoz va kaspazlar

Apoptoz - bu maxsus hujayra mexanizmi tomonidan amalga oshiriladigan hujayra o'limining bir turi. Bunday mexanizm mavjudligi va juda barqarorligi noqulay fiziologik sharoitlar tufayli yoki o'rtacha zarardan keyin hujayra o'limi morfologiyasini kuzatish orqali ko'rsatildi. Ushbu o'zgarishlar kaspazlar deb ataladigan sistein oqsillari oilasi tomonidan amalga oshiriladigan murakkab biokimyoviy hodisalar zanjirini aks ettiradi (16.13-rasm).



16.13-rasm - apoptoz induksiyasining kaspaz kaskadi

Hozirgi vaqtda umurtqali hayvonlarda sed-3/ICE o'xshash oqsillarning 7 gomologi aniqlangan. Filogenetik tahlil ularning bir qatori *C. elegans* ced-3 bilan chambarchas bog'liqligini aniqladi. Ular pro-fermentlar sifatida sintezlanadi va faol fermentlarni - kaspazalar guruhini hosil qilish uchun proteolizdan o'tadi, ular sistein proteazlari bo'lib, hujayrada bir nechta variantda ifodalanadi. Taxminlarga ko'ra, bu fermentlar proteolitik kaskad hosil qilib, o'zaro bir-birini faollashtiradi va shu bilan hujayra degradatsiyasiga olib keladi (16.13-rasm).

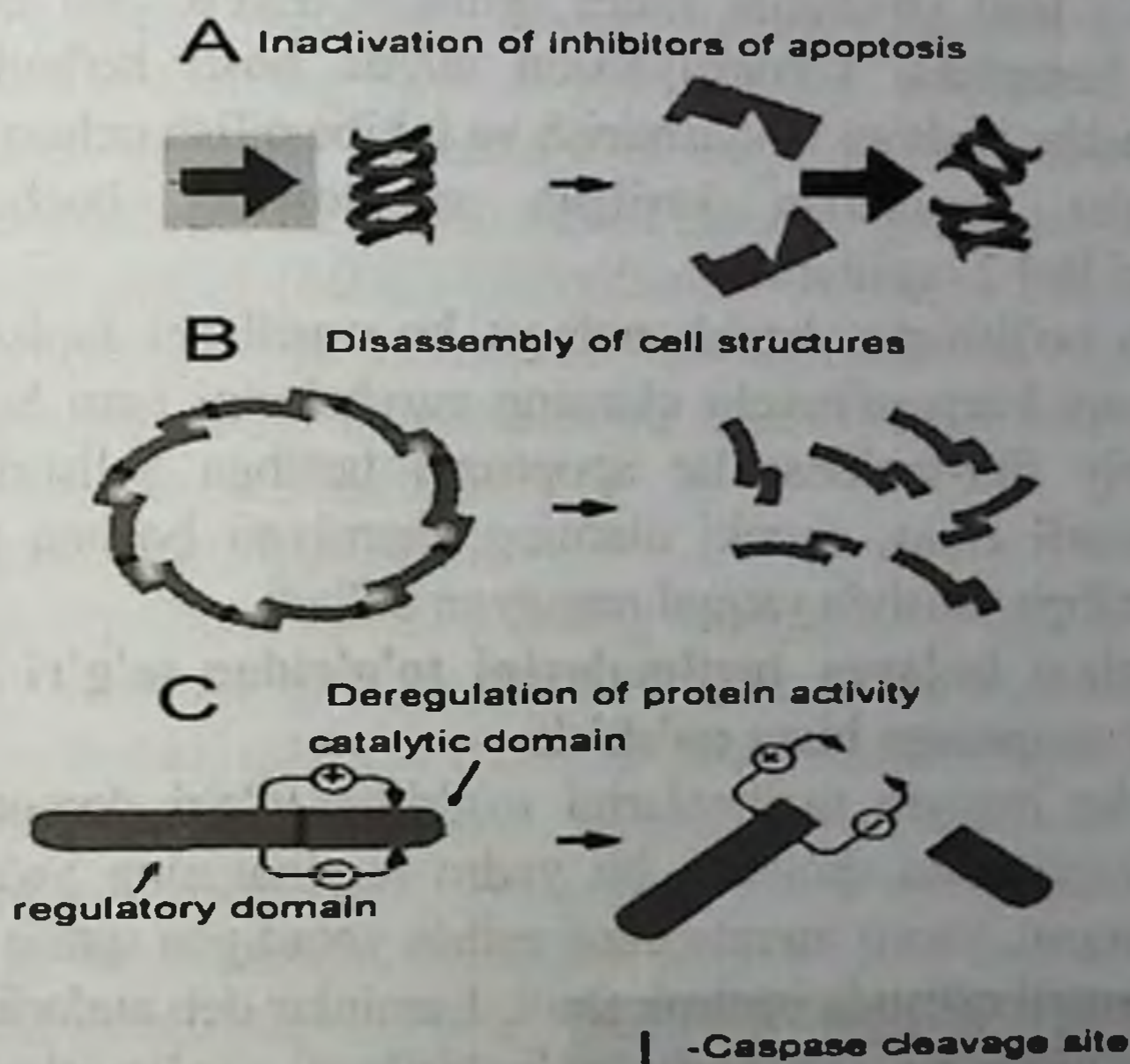
Kaspazlar: hujayrani qanday o'ldiradilar: kirish

Apoptoz jarayoni DNKning parchalanishi, xromatin kondensatsiyasi, membrananing to'planishi (miyozin II tufayli kortikal aktin filamentlarining qisqarishi plazma membranasining qisqarishiga olib keladi, membrana bilan aktin aloqalarining zaiflashuvining fokusli joylari bundan mustasno), hujayraning qisqarishi, parchalanishi va apoptotik jismlarga qadoqlashiga sabab boladi. (16.14-rasm).

In vivo, bu jarayonlar apoptotik tanalarni boshqa hujayralar tomonidan yutib yuborishi bilan yakunlanadi, aks holda hujayra ichidagi tarkibni chiqarish natijasida yuzaga keladigan asoratlarni oldini oladi.

Ushbu o'zgarishlar oldindan aytib bo'ladigan, takrorlanadigan ketma-ketlikda sodir bo'ladi va 30 dan 60 minutgacha yakunlanishi mumkin. Kaspazlar bu jarayonlarga qanday hissa qo'shadi?

To'liq rasm hali ham to'liq tushunilmagan, asosan ma'lum bo'lgan ko'plab substratlar tasodifan topilgan. Natijada, 40 ga yaqin aniqlangan substratlarning faqat yarmida kesish va hujayra o'limi o'rtasidagi bog'liqlik o'rnatilgan. Biroq, bu misollar kaspazalarning (effektorlarning) ba'zi subfamilyalari apoptoz paytida sodir bo'ladigan hujayralardagi o'zgarishlarga javob beradi va bu o'zgarishlarning mexanizmlarini tushunish uchun material beradi (16.14-rasm).



16.14-rasm - Apoptoz jarayonida yuzaga keladigan hujayralardagi o'zgarishlar.

Kaspazlar turli strategiyalardan foydalangan holda ma'lum bir oqsil to'plamini kesib, hujayrani o'ldiradi. Ular

(A) apoptotik o'zgarishlarni oldini oluvchi oqsil ingibitorlarini (masalan, CAD/I-CAD (kaspaza bilan faollashtirilgan deoksiribonukleaza)) faolsizlantiradi.

(B) hujayra tuzilmalarini (masalan, lamina) yo'q qiladi va

(C) tartibga soluvchi va katalitik domenlarni ajratish orqali oqsillarni tartibga solishni bekor qilish, natijada kerakli funktsiyalarni bajarish qobiliyatini yo'qotish (masalan, gelsolin yoki DNK-PKcs) vazifasini bajaradi.

Kaspazalar: hujayrani apoptozdan himoya qiluvchi oqsillarni faolsizlantirish

Kaspazalarning vazifalaridan biri tirik hujayrani apoptozdan himoya qiluvchi oqsillarni faolsizlantirishdir. Bunga yaqqol misol, Icad/DFF45 ning kesilishidir, DNK parchalanishi uchun mas'ul bo'lgan nukleaza ingibitori, SAPR (kaspaza bilan faollashtirilgan deoksiribonukleaza). Apoptotik bo'lmagan hujayralarda SAPR Icad bilan faol bo'lmagan kompleks sifatida mavjud. Apoptoz paytida Icad kaspazlar tomonidan o'chiriladi, SAPR bo'sh qoladi va uning yadro vazifasini bajarishiga imkon beradi. Bu tizim ko'rinadigan darajada oddiy emas - Icad yo'qligida sintez qilingan SAPR faol emas, ya'ni SAPR-Icad kompleksi kotranslyatsion tarzda hosil bo'ladi, shuning uchun Icad ushbu yadroni faollashtirish va inhibe qilish uchun kerak.

Kaspazlar tomonidan kesilgan apoptozning boshqa salbiy regulyatorlari Bcl-2 oqsillaridir.

Ma'lum bo'lishicha, kesish nafaqat bu oqsillarni faolsizlantiradi, balki apoptozni kuchaytiruvchi ularning parchalarini ham hosil qiladi. Bunday ijobiy fikr-mulohazalar apoptozni tartibga solishda ishtirok etishi ajablanarli emas, chunki ularning ahamiyati boshqa proteolitik tizimlarni tartibga solishda yaqqol namoyon bo'ladi.

Kaspazlar: hujayra tuzilmalarini to'g'ridan-to'g'ri demontaj qilish orqali apoptozga hissa qo'shish

Kaspazlar hujayra tuzilmalarini to'g'ridan-to'g'ri demontaj qilish orqali apoptozga hissa qo'shadi, bu yadro laminasining yo'q qilinishi bilan tasvirlangan, yadro membranasi ostida yotadigan qattiq struktura, xromatinni tashkil qilishda ishtirok etadi. Laminlar deb ataladigan oraliq filament oqsillarining o'xshash yo'naltirilgan polimerlari ketma-ketligidan hosil bo'ladi. Apoptoz paytida laminalar (polimerlar) ma'lum bir joyda kaspazlar tomonidan kesiladi, bu laminaning qulashiga olib keladi va xromatin kondensatsiyasiga yordam beradi (16.14-rasm).

Kaspazlar: bilvosita hujayra tuzilmalarini qayta tashkil etish

Kaspazlar, shuningdek, gelsolin, fokal adezin kinaz (FAK) va p21 bilan faollashtirilgan kinaz 2 (PAK2) kabi sitoskeletal tartibga solishda ishtirok etadigan ba'zi oqsillarni kesish orqali hujayra tuzilmalarini bilvosita qayta tashkil qiladi. .

Gelsolin sitoskeletal oqsil bo'lib, uchta aktinni bog'laydigan joyni o'z ichiga oladi. Gelsolin molekulasining C-terminal yarmida yadro hosil bo'lishida ishtirok etadigan Ca ga sezgir aktin bilan bog'lanish joyi mavjud. Molekulaning Ca ni biriktiruvchi hududi ham shu yerda

joylashgan. Molekulaning N-uchida yana ikkita aktin bog'lovchi joy joylashgan. Oxiriga yaqinroqda aktin monomerlari va filament uchlarini bog'lash uchun yuqori afinitelli joy mavjud va biroz uzoqroqda aktin polimeri uchun PIP2-inhibe qilingan bog'lanish joyi lokalizatsiya qilingan. Gelsolinning PIP2 va boshqa polifosfoinositidlar bilan bog'lanishi molekulaning N-terminalidagi hidrofobik hudud orqali amalga oshiriladi. Polifosfoinositidlar bilan bog'langanda, gelsolinning kesish faolligi inhibe qilinadi).

PAK (p65) oqsili

PAK serin/treonin kinazlari Rac va Cdc42 ning ikkilamchi effektorlari ekanligi aniqlandi. PAKlar ko'plab signalizatsiya yo'llarida ishtirok etadilar, ularning ba'zilari lamellipodiya chiqishi bilan bevosita bog'liq bo'lishi mumkin. Masalan, PAKning Cdc42 va Rac bilan o'zaro ta'siri lamellipodiyani biriktirish uchun zarur bo'lgan komponent bo'lgan miyozin engil zanjiri (MLC) fosforillanish darajasini oshiradi. PAKlar fosforlanish uchun Lim kinazlarini faollashtirishi va shuning uchun lamellipodiyadagi aktin almashinuviga ta'sir qiluvchi kofilin faolligini blokirovka qilishlari ko'rsatilgan.

Rac va Cdc42: nishonlar

Ushbu oqsillarni kesish ularning faoliyatining tartibga solinishiga olib keladi. Masalan, gelsolin (aktin filamentlarini muntazam ravishda hizalanishini tashkil qiluvchi oqsil) holatida, kaspaza bilan kesish o'zlari faol bo'lgan qismlarni hosil qiladi. Regulyatsiya va effektor sohalarining dissotsiatsiyasi kaspaza funktsiyalarining o'ziga xos belgisidir. Masalan, ular DNKni ta'mirlashda (masalan, DNK-RKcs), mitoxondrial RNK qo'shilishida (masalan, U1-70k) va DNK replikatsiyasida (masalan, replikatsiya omili C) ishtirok etadigan oqsillarni faolsizlantiradi yoki tartibga soladi. Ushbu kesishlar oqibatlarining hujayra o'limiga aloqasi yaxshi tushunilmagan bo'lsa-da, muhim gomeostatik va ta'mirlash funktsiyalarini bajarish hujayraning parchalanishiga yordam beradi. B bilan Umuman olganda, bu va boshqa topilmalar apoptozda kaspazalarning ishtiroki yaxshi rejalashtirilgan va amalga oshirilgan mahsus operatsiyaga o'xshashligini ko'rsatadi. Ular atrofdagi hujayralar bilan aloqani buzadi, sitoskeletonni qayta tashkil qiladi, DNK replikatsiyasi va ta'mirlanishini to'xtatadi, qo'shilishni to'xtatadi, DNKni yo'q qiladi, yadro tuzilmalarini buzadi, hujayralarni fagotsitlarga ularning mavjudligi haqida signallarni ishlab chiqarishni rag'batlantiradi va hujayralarni apoptotik tanalarga parchalaydi. Yangi kaspazlarni izlashda yangi yondashuvlar ishlab chiqilishi bilan, bu o'zgarishlarga

erishish uchun foydalaniladigan mexanizmlarni yaxshiroq tushunish paydo bo'ladi.

Hujayrada (masalan, saraton xujayrasi) apoptozni tanlab qo'zg'atish qobiliyatiga oid potentsial terapevtik strategiyalarni ko'rib chiqish kaspaza substratlari bilan bog'liq bir qancha savollar tug'diradi. Misol uchun, hujayrani xavfsiz yo'q qilish uchun kesilishi kerak bo'lgan substratlarning minimal to'plami qanday? Ko'rinishidan, Icad ning kesilishi hujayra o'limiga olib keladi, ammo hujayralarni yutishini keltirib chiqarishi dargumon. Boshqa tomondan, tirik hujayrani oddiygina "ko'mish" orqali hujayraning so'rilishini tashkil qilish mumkinmi? Ushbu amaliy masalalardan tashqari, ko'plab asosiy oqsillarning standartlashtirilgan kesish joylari mavjudligining kashfiyoti hayot va uning evolyutsiyasini tushunish haqida savollar tug'diradi. Haqiqatan ham, qanday qilib uyali komponentlar ikki tomonlama funktsiyaga ega - uni tirik saqlash, balki uni o'ldirish ham? Ushbu savollarga javoblar hujayra o'limining muqarrarligi haqidagi bayonotning mutlaqo radikal bo'lmagan ko'rinishiga olib kelishi mumkin.

16.4 Kaspazlar: umumiy ma'lumot Initiator kaspazalarning faollashishi: modellar

Apoptoz mexanizmining markaziy qismi kaspazalar deb ataladigan oqsillar oilasini o'z ichiga olgan proteolitik tizimdir. Kaspazlar ilgari ICE (interleykin-1b-konvertatsiya qiluvchi ferment) nomi bilan ma'lum bo'lgan sistein proteazlari sinfiga tegishli bo'lib, ular aspartik kislota qoldiqlaridan keyin oqsillarni maxsus ravishda parchalaydi.

Ular tuzilishi jihatidan *C. elegans* nematodasining CED-3 geni mahsulotiga o'xshaydi (Ced 3 oqsili *C. elegans* nematodasida apoptozni qo'zg'atish uchun zarurdir). Hozirgi vaqtda sutemizuvchilarda 14 ta kaspaza ma'lum, ulardan 11 tasi odamlarda o'xshashdir. Kaspazlarni substratning o'ziga xosligi va funktsiyasiga qarab bir necha guruhlariga bo'lish mumkin.

Birinchi guruhga hujayra o'lim signalini tanib olish va uzatish uchun zarur bo'lgan kaspaza 8, kaspaza 9, kaspaza 10 kiradi.

Ikkinchisiga genlararo o'zaro ta'sirlarni tartibga solish, tiklashda ishtirok etadigan hujayraning tarkibiy qismlari va hayotni qo'llab-quvvatlovchi elementlarini parchalash jarayonida ishtirok etadigan CED-3 (kaspaza 2, kaspaz 3, kaspaza 6, kaspaz 7) analoglari bo'lishi mumkin. DNK va yadro membranasi (masalan, PARP-1).

Kaspazalarning uchinchi guruhi ICEga o'xshash kaspazlardir (kaspaza 1, kaspaza).

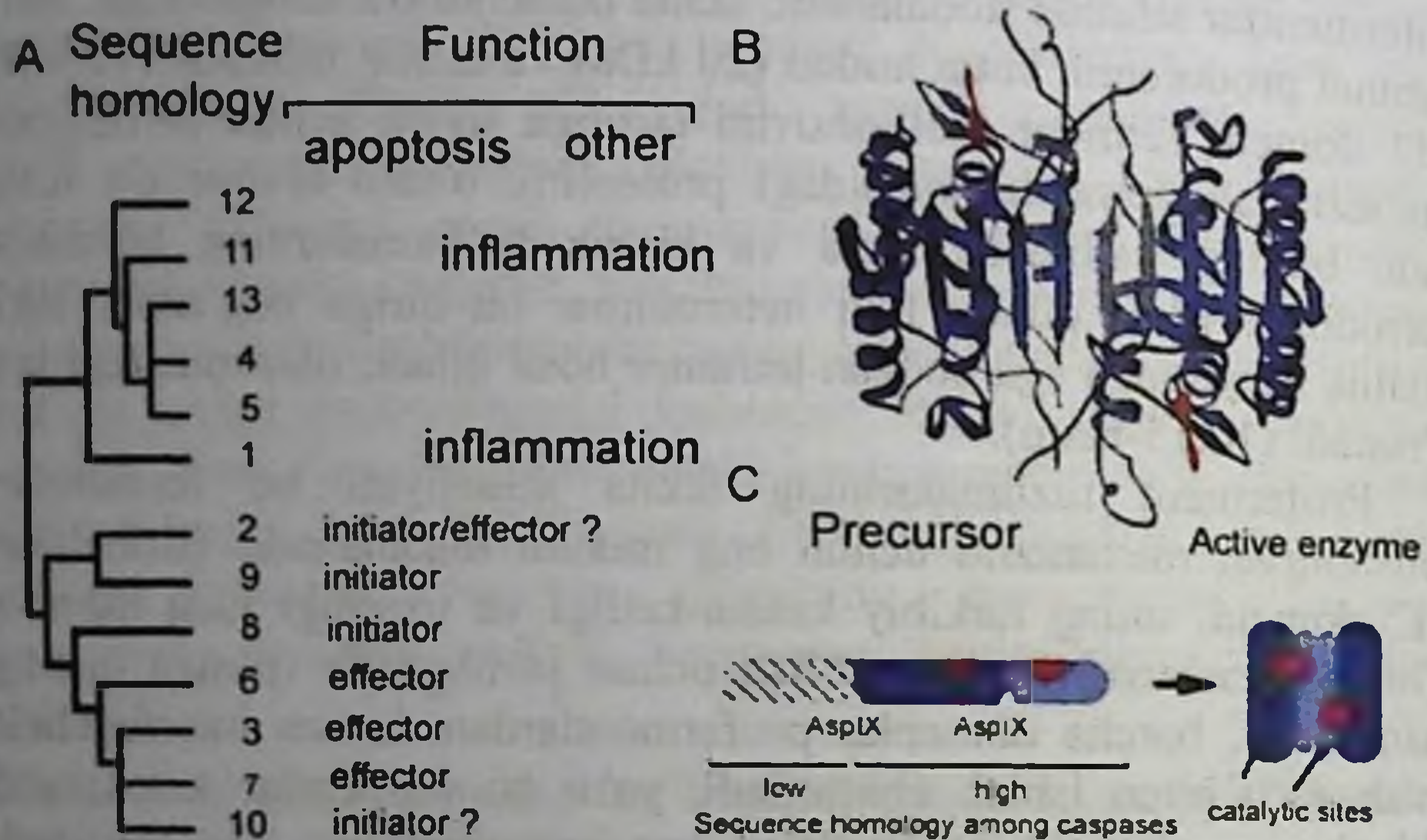
4, kaspaz 5 va kaspaz 13). Ular hujayra o'limi va yallig'lanish jarayonida teng ravishda ishtirok etishlari mumkin.

Kaspazlar molekulyar og'irligi 30 dan 50 kDa gacha bo'lgan profermentlar sifatida ifodalanadi, uchta domenni o'z ichiga oladi: NH₂-terminal prodomani, katta hudud (20 kDa) va kichik mintaq (10 kDa). NH₂ domeni ferment faollashuvini tartibga solish uchun javobgardir. Faollashtirish domenlar orasidagi proteolitik o'zaro ta'simi o'z ichiga oladi, buning natijasida katta va kichik bo'linmalarning birlashishi heterodimer hosil qiladi. Ikki heterodimer bir-biriga bog'lanib, ikkita katalitik maydonga ega bo'lgan tetramer hosil qiladi, ular mustaqil ta'sir ko'rsatadi (16.15-rasm).

Proferment tuzilmalarining ikkita xususiyati bu fermentlarni faollashtirish mexanizmi uchun eng muhim hisoblanadi. Birinchidan, NH₂ domeni, uning tarkibiy ketma-ketligi va uzunligi juda xilma-xil bo'lib, faollashuvni tartibga solish uchun javobgardir (pastga qarang). Ikkinchidan, barcha domenlar profermentlardan domen interfeyslarida kesish yo'li bilan ishlab chiqariladi, ya'ni bu fermentlar avtokatalitik yoki shunga o'xshash ta'sir o'ziga xos xususiyatlarga ega fermentlar tomonidan reaksiyalar kaskadi orqali faollashishi mumkin. Kaspazlar eng o'ziga xos proteazlar qatoriga kiradi, ular aspartatdan keyin bo'linish uchun g'ayrioddiy va mutlaqo o'ziga xos talablarga ega. Bog'lanish joyida kamida to'rtta aminokislota NH₂ terminalini tanib olish ham samarali kataliz uchun zaruriy shartdir. Tetrapeptidni tanib olish uchun kerakli sharoitlar kaspazlar orasida katta farq qiladi va ularning biologik funktsiyalarining xilma-xilligini tushuntiradi. Ularning o'ziga xosligi yanada qattiqroq: optimal tetrapeptid ketma-ketligini o'z ichiga olgan barcha oqsillar kesilmaydi, bu uchinchi darajali strukturaviy elementlar substratni tanib olishga ta'sir qilishi mumkinligini ko'rsatadi. Kaspazalar orqali oqsillarni kesish nafaqat o'ziga xos, balki juda samaralidir ($K_{cat}/K_m > 10^{**6} \text{ MS\#}$) (16.15-rasm).

A) Kaspaza oqsillari *C. elegans*dan to odamgacha bo'lgan barcha organizmlarda uchraydi. 13 ta aniqlangan sutemizuvchilar kaspazlari (kaspaza-1 dan kaspaza-13 deb nomlangan) apoptoz va yallig'lanishda alohida funktsiyalarga ega. Sichqoncha kaspazlari oilasi ikkita gomologga (11 va 12) ega bo'lib, ularda ma'lum odam hamkasbi yo'q. Apoptoz jarayonida kaspazlar hujayraning parchalanishiga olib keladigan proteolitik reaksiyalar (effektorlar) uchun bevosita javobgar

bo'lib, avvalgi bosqichlarda (boshlovchilar) amalga oshirilgan tartibga solish funksiyalariga ta'sir qiladi. Kaspazalarning funksiyalari turli fenotipli hayvonlar bilan tajribalar, fermentlarning o'ziga xosligini o'rganish va boshqa biokimyoviy tadqiqotlar natijalari asosida eksperimental tarzda aniqlandi.



16.15-rasm - (1-rasm) Kaspazalarning tavsiya etilgan funksiyalari va tuzilishi.

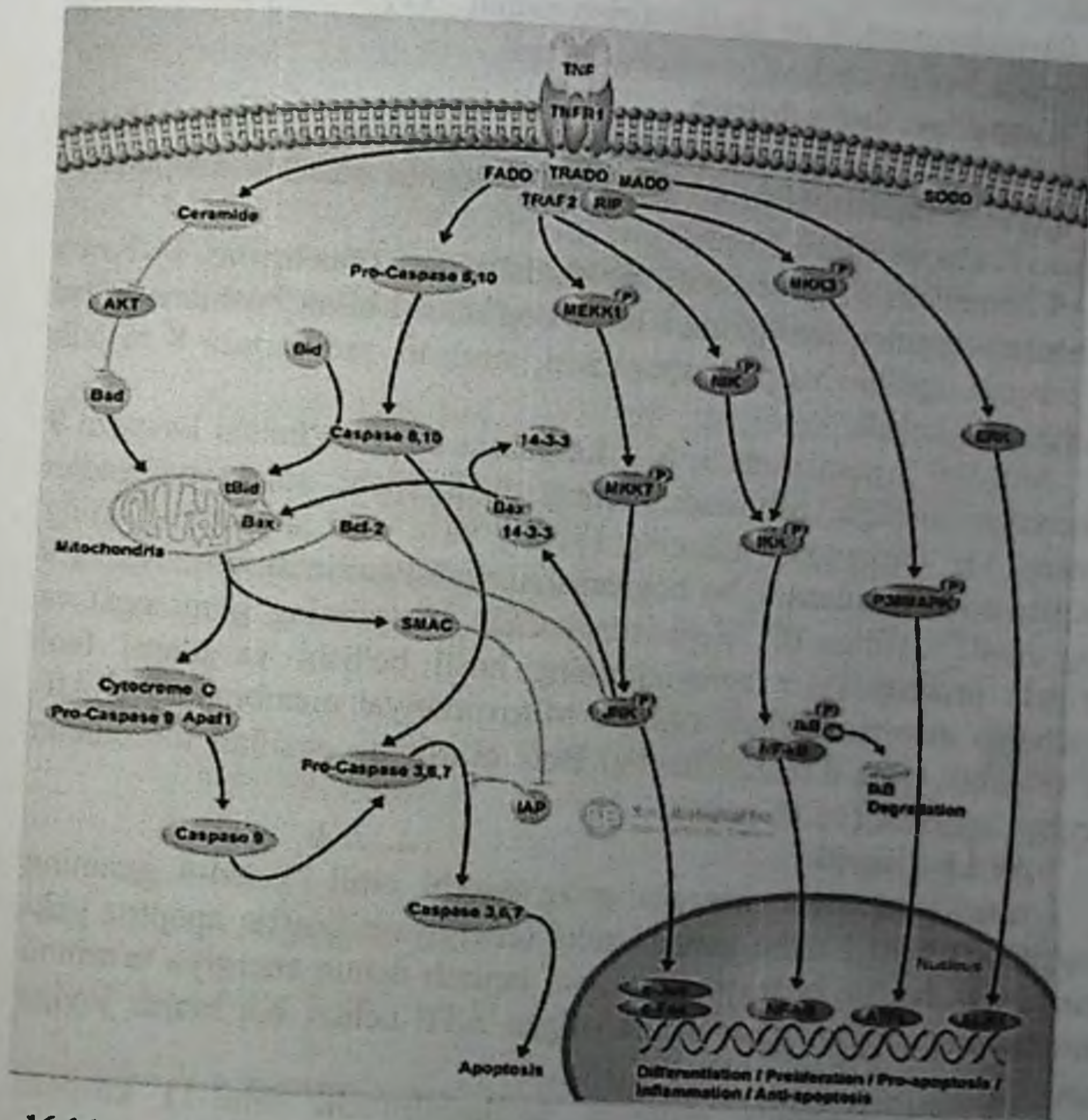
(B) Rasmda aldegid inhibitori tetrapeptid (qizil) bilan komplekslangan kaspaza-3 ning kristall tuzilishi ko'rsatilgan. Faol ferment katta (20kD binafsha rang) va kichik (10, kulrang) bo'limdan iborat bo'lib, har birida faol zonaga qaragan aminokislota mavjud. Mavjud kristall tuzilmalarda ikkita geterodimer birlashib tetramer hosil qiladi.

(C) Boshqa proteazlarda bo'lgani kabi, kaspazalar proteolitik kamolotga uchragan prekursorlar sifatida sintezlanadi. Uzunligi (23 dan 216 aminokislota gacha) va ketma-ketlik tarkibi jihatidan katta farq qiluvchi NH₂ terminal domeni bu fermentlarni ~20kD ~10kD NH₂ tartibga solishda ishtirok etadi.

Kaspazalarning qat'iy o'ziga xosligi apoptoz oqsillarni befarq yo'q qilish bilan birga emas, balki oqsillarning tanlangan kichik to'plami yuqori darajada muvofiqlashtirilgan tarzda, odatda bitta joyda kesilib, ularning yo'qolishi yoki o'zgarishiga olib kelishini kuzatish bilan mos keladi. funksiyasi (16.16-rasm).

Kaspazlar evolyutsion ravishda saqlanib qolgan sistein proteazlari oilasi bo'lib, ular aspartik kislota qoldiqlaridan keyin oqsillarni maxsus parchalaydi (sharhlarga qarang. Strukturaviy gomologiyaga asoslanib, kaspazlar kichik oilalarga bo'linadi

- a) kaspaza 1 (kaspaza 1, kaspaza 4, kaspaza 5),
- b) kaspaza 2 (kaspaza 2) va
- c) kaspaza 3 (kaspaza 3, kaspaza 6, kaspaza 7, kaspaza 8, kaspaza 9, kaspaza 10). Sistein proteazlari o'simliklardagi apoptozda ishtirok etganga o'xshaydi.



16.16-rasm - Kaspazalarning transmembran va hujayra ichidagi faollashuvi va differentsiatsiya, proliferatsiya, apoptoz, yallig'lanish va antiapoptotik genlarni faollashtirish yo'llari

Kaspazalarning proteolitik faollashuvi hujayra o'limi jarayonining boshlanishiga olib keladi. Kaspazlar avtokatalitik ta'sir ko'rsatadigan enzimatik kaskad hosil qiladi, bu apoptoz uchun dastlabki signalning sezilarli darajada oshishiga olib keladi. Bu jarayon turli kaspaz kofaktorlari tomonidan tartibga solinadi. Enzimatik kaskadni ishga tushirishning ikkita usuli mavjud:

1) hujayra o'limi retseptorlarining ligand bilan o'zaro ta'sirida prokaspaza 8 faollashishi orqali (masalan, Fas retseptorlari Fas ligand bilan);

2) prokaspaza 9 ni faollashtirish orqali. Yetuk kaspaza 9 so'ng prokaspaza 3 ni parchalaydi va faollashtiradi.

Kaspazlar: faollashtirish

Kaspazalarning faollashuviga olib keladigan kamida ikkita tubdan farq qiluvchi signalizatsiya yo'llari borligi taxmin qilinadi: kaspaza 3, kaspaza 6, kaspaza 7(16.16-rasm).

Ulardan biri o'ziga xos qotil molekulalarining (Fas ligand, TNFa va boshqalar) ularning retseptorlari bilan bog'lanishi bilan boshlanadi, bu esa adapter oqsillari va prokaspazalarni, xususan, prokaspaza 8 ni jalb qilishga olib keladi.

Muqobil mexanizmda 3, 6, 7 kaspazalarining bo'linishi kaspaza 9 tomonidan amalga oshiriladi, uning faollashishi mitoxondriyadan proteaz AIF (Apoptosis inducing Factor) va / yoki sitoxrom C ning chiqishi bilan boshlanadi, bu bog'lanishni rag'batlantiradi. prokaspaza 9 ning Apaf1 oqsiliga (C. elegansdagi CED-4 oqsilining gomologi) va natijada prokaspaza 9 agregatlarining hosil bo'lishi va ularni faol shakllarga avtomatik qayta ishlash. Mitoxondriyal membrananing AIF va sitoxrom C ga o'tkazuvchanligi Bcl2 oilasining oqsillari tomonidan tartibga solinadi. (16.16-rasm).

APAF-1 oqsili

Apaf-1 (apoptoz proteaza qo'zg'atuvchi omil-1) sed-4 genining analogidir. Apaf-1 o'lim mexanizmini (energiyaga bog'liq apoptoz yoki energiyaga bog'liq bo'lmagan nekroz) tanlash uchun energiya ta'minoti darajasining muhimligini ta'kidlaydigan ATP uchun bog'lanish joyiga ega.

APAF-1 (apoptoz proteaza faollashtiruvchi omil-1) kaspaza faollashuvida ishtirok etadi.

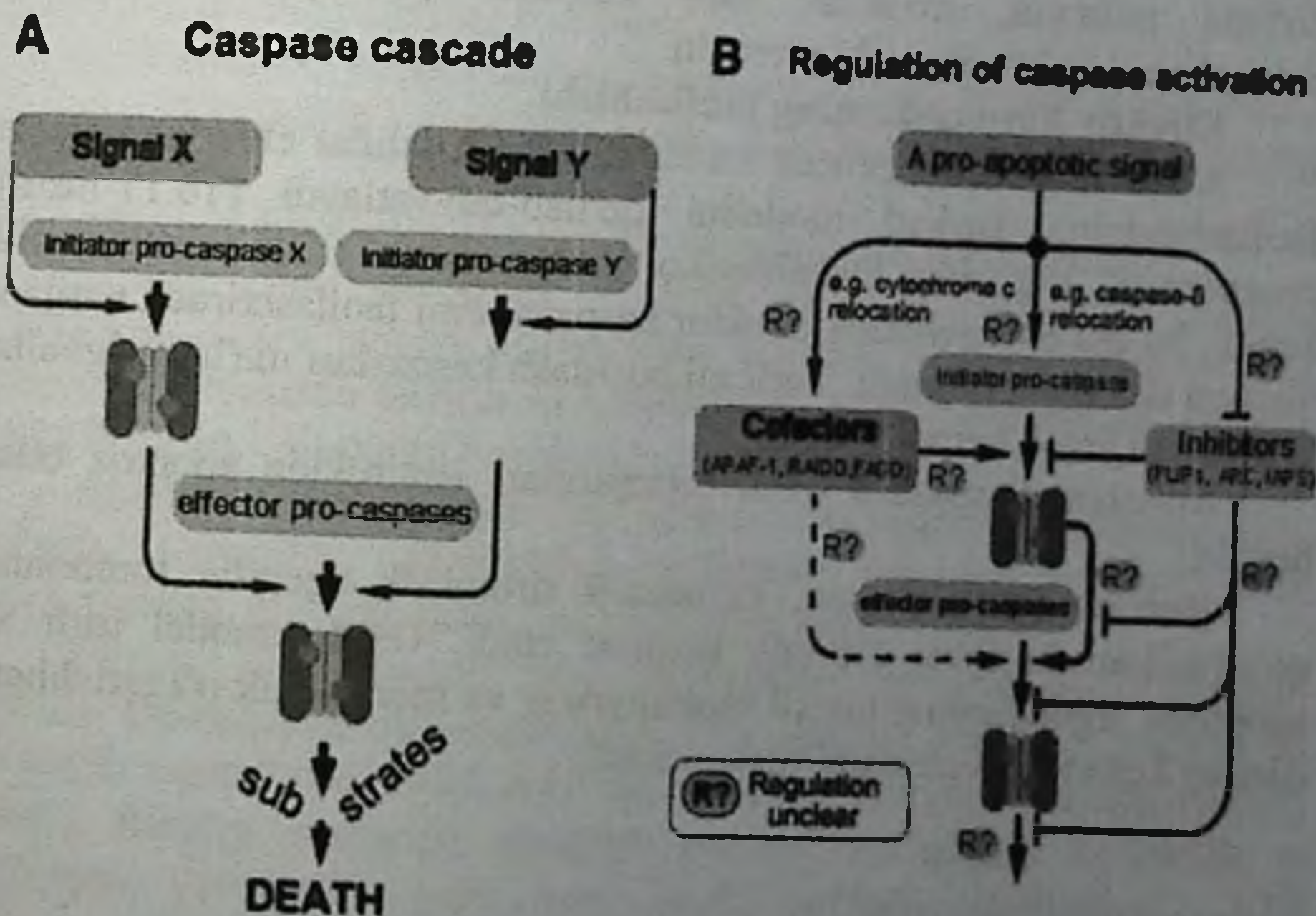
9. Bu molekulyar og'irligi 130 kDa bo'lgan sitoplazmatik oqsil bo'lib, N-terminusda CARD domenini va 12 ta takroriy aminokislota WD-40 ketma-ketligini o'z ichiga oladi, sitoxrom c va dATP yoki ATP

[Li ishtirokida prokaspaza 9 bilan kompleks hosil qiladi, (hujayradagi dATP kontsentratsiyasi ATP kontsentratsiyasidan 1000 baravar past APAF-1 kaspaza 9 ni avtokatalitik qayta ishlash amalga oshiriladigan armatura rolini.

Initiator kaspazalarini faollashtirish: modellar

Mavjud dalillar shuni ko'rsatadiki, tashabbuskor kaspazalarning faollashishi maxsus kofaktorlar bilan bog'lanishni talab qiladi, bu mexanizm ko'pincha proteazlar bilan kuzatiladi. Ushbu bog'lanish (prodomain) va unga mos keladigan kofaktorda joylashgan kamida bir yoki ikkita turli tizimli tizimlar orqali sodir bo'ladi.

Prokaspaza-8 ning faollashishi uning kofaktori FADD (o'lim domeni bilan Fas bilan bog'liq protein) bilan DED domeni (o'lim effekti domeni) orqali bog'lanishni talab qiladi, prokaspaza-9 esa faollashishini talab qiladi. CARD domeni (caspase recruitment domain) orqali APAF-1 kofaktori bilan kompleks hosil bo'lishi. (16.17-rasm).



16.17-rasm Kaspaza kaskadi va kaspazni tartibga solish modeli.

A) Apoptoz jarayonida turli xil hayvonlarning to'qimalarida bir xil morfologik o'zgarishlar sodir bo'lishi bu jarayonni bir xil irsiy

biokimyoviy tizim tomonidan boshqariladi degan xulosaga keldi. Endi ma'lum bo'ldiki, bu o'zgarishlar bir xil effektor kaspazalarining faolligi bilan bog'liq. Turli xil o'lim signallarining apoptozning bir xil rivojlanishiga olib kelishi, effektor kaspazalarning turli xil inisiator kaspazalar tomonidan faollashishi, ularning har biri bir qator apoptotik signallar bilan faollashishi bilan izohlanadi.

(B) Dalillar shuni ko'rsatadiki, kaspazalar faollashtiruvchi va inhibitorlarning qarama-qarshi harakatlari bilan tartibga solinadi. Tashqi signallar kofaktorlar, kaspaza tashabbuskorlari va inhibitorlarni o'z ichiga olgan uchta yo'lni boshlaydi. Kofaktorlarning faollashishi (masalan, sitoxrom c ning mitoxondriyadan sitoplazmaga o'tishi), kaspazaning modifikatsiyasi (masalan, kaspaza-8 ning retseptorlar kompleksiga ko'chirilishi) va inhibitorning deaktivatsiyasi (hozircha aniqlangan misollar yo'q) birgalikda tashabbuskor kaspazaning faollashishi. Kofaktordan effektor kaspazagacha bo'lgan nuqtali chiziq effektor kaspazasining avtokatalitik mexanizm bilan faollashishi mumkinligini aks ettiradi. Darhaqiqat, tartibga solish yanada murakkab bo'lishi mumkin, masalan, faol kaspaza qayta aloqa aylanish mexanizmida ishtirok etishi mumkin.

Effektiv kaspazalarning faollashishi

Katta miqdordagi genetik va biokimyoviy dalillar effektor kaspaza faollashuvining kaskad modelini qo'llab-quvvatlaydi (16.17-rasm): proapoptotik signallar tashabbuskor kaspazaning faollashishiga olib keladi, bu esa o'z navbatida effektor kaspazalarini faollashtiradi, natijada hujayra demontaj qilinadi. Turli xil boshlash kaspazlari ma'lum signallar to'plamiga javob beradi.

Masalan, kaspaza-8 o'lim retseptorlari ishtirokida apoptoz bilan bog'liq.

Bundan farqli o'laroq, kaspaza-9 sitotoksik agentlar tomonidan qo'zg'atilgan hujayra o'limida ishtirok etadi. Ushbu model turli xil apoptotik signallarning bir xil biokimyoviy va morfologik o'zgarishlarni qanday keltirib chiqarishini tushuntiradi.

16.5 Mitoxondriya va apoptoz. Mitoxondriya va hujayra o'limi: Kirish

Apoptozning ko'plab asosiy hodisalari mitoxondriyalarga, jumladan kaspaza faollashtiruvchilarining (masalan, sitoxrom c) chiqarilishiga, elektron transportidagi o'zgarishlarga, mitoxondrial transmembran potentsialining yo'qolishiga, hujayradagi oksidlanish jarayonlarining pasayishiga ta'siriga va pro-va ishtirok etishiga qaratilgan. antiapoptotik Bcl-2 oqsillari oilasi. Ushbu hodisalarni boshlash yoki inhibe qilish uchun mitoxondriyalarda birlashadigan turli signallar va ularning keyingi bosqichlari fiziologik hujayra o'limining bir necha asosiy yo'llarini ta'kidlaydi.

Mitoxondriya: ular hujayra o'limini qanday qo'zg'atadi?

Agar mitoxondriyalar hujayra hayoti va o'limini boshqarishda markaziy bo'lsa, bu organellalar qanday qilib o'ldiradi? Kamida uchta asosiy mexanizm ma'lum va ularning harakatlari bo'lishi mumkin o'zaro bog'langan, shu jumladan

- elektron tashish, oksidlovchi fosforillanish va adenozin trifosfat (ATP) ishlab chiqarishning buzilishi;
- sitoxrom C va apoptozning boshqa vositachilarining chiqarilishi
- oksidlanish potentsialining buzilishi va peroksidlarning shakllanishi.

Mitoxondriya: elektron tashish va apoptozning buzilishi

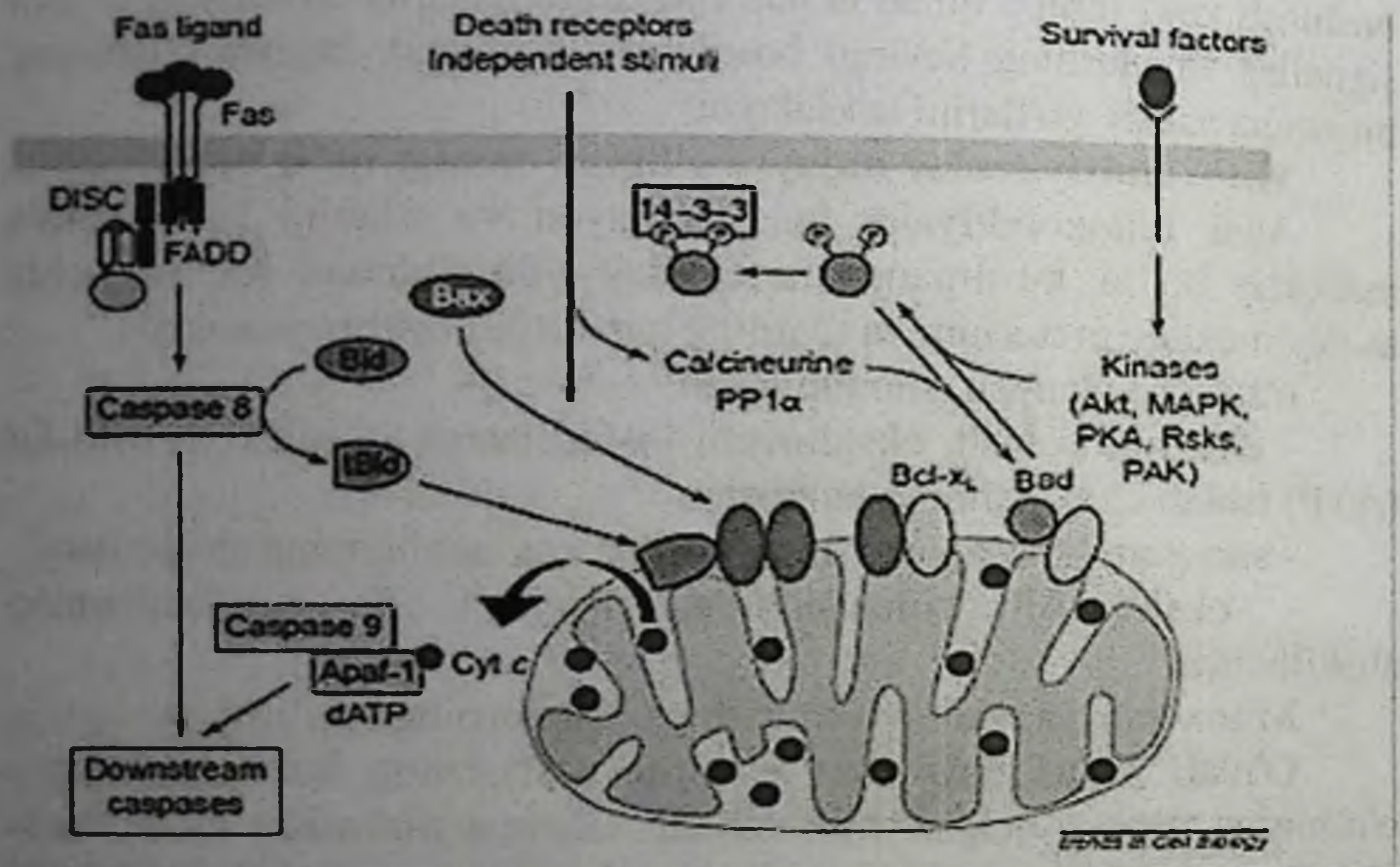
O'nlab yillar davomida elektron tashishning buzilishi hujayra o'limining asosiy belgisi hisoblanadi. Gamma nurlanishi timositlarda apoptoz va elektron tashish zanjirining buzilishiga olib keladi, ehtimol b-cl/sitoxrom c sitoxrom bosqichida [Scaife ea 1966].

Apoptozni tashkil qilishda ishtirok etadigan ikkinchi xabarchi bo'lgan Ceramide, izolyatsiya qilingan mitoxondriyadagi kabi hujayralardagi elektron tashishni bir xil bosqichda buzadi.

Fasning FAS ligand bilan bog'lanishi hujayralardagi elektron tashish funksiyasining buzilishiga olib keladi. Elektron transportni yo'qotish oqibatlaridan biri ATP ishlab chiqarishning pasayishi bo'lishi kerak. Bunday pasayish apoptoz paytida kuzatilgan bo'lsa-da, u ko'pincha jarayonda juda kech sodir bo'ladi. Darhaqiqat, ATP apoptozning kech bosqichlarida talab qilinadi. Shu sababli, mitoxondriyal ATP ishlab chiqarishni yo'qotish hujayrani o'ldirishi mumkin bo'lsa-da, bu apoptozni qo'zg'atuvchi mexanizm emas.

Mitoxondriya: apoptozda sitoxrom C chiqarilishining ahamiyati.

Apoptoz paytida (in vivo va in vitro) sitoxrom C mitoxondriyadan chiqariladi (16.18-rasm) va bu jarayon ushbu organellalarda Bcl-2 mavjudligi bilan inhibe qilinadi. Sitozolik sitoxrom C apoptosoma tuzilishining muhim qismidir. Natijada kaspaza-9 faollashadi, u keyin hujayralarni biokimyoviy o'ldirishni tashkil qilish uchun boshqa kaspazalarni qayta ishlaydi va faollashtiradi.



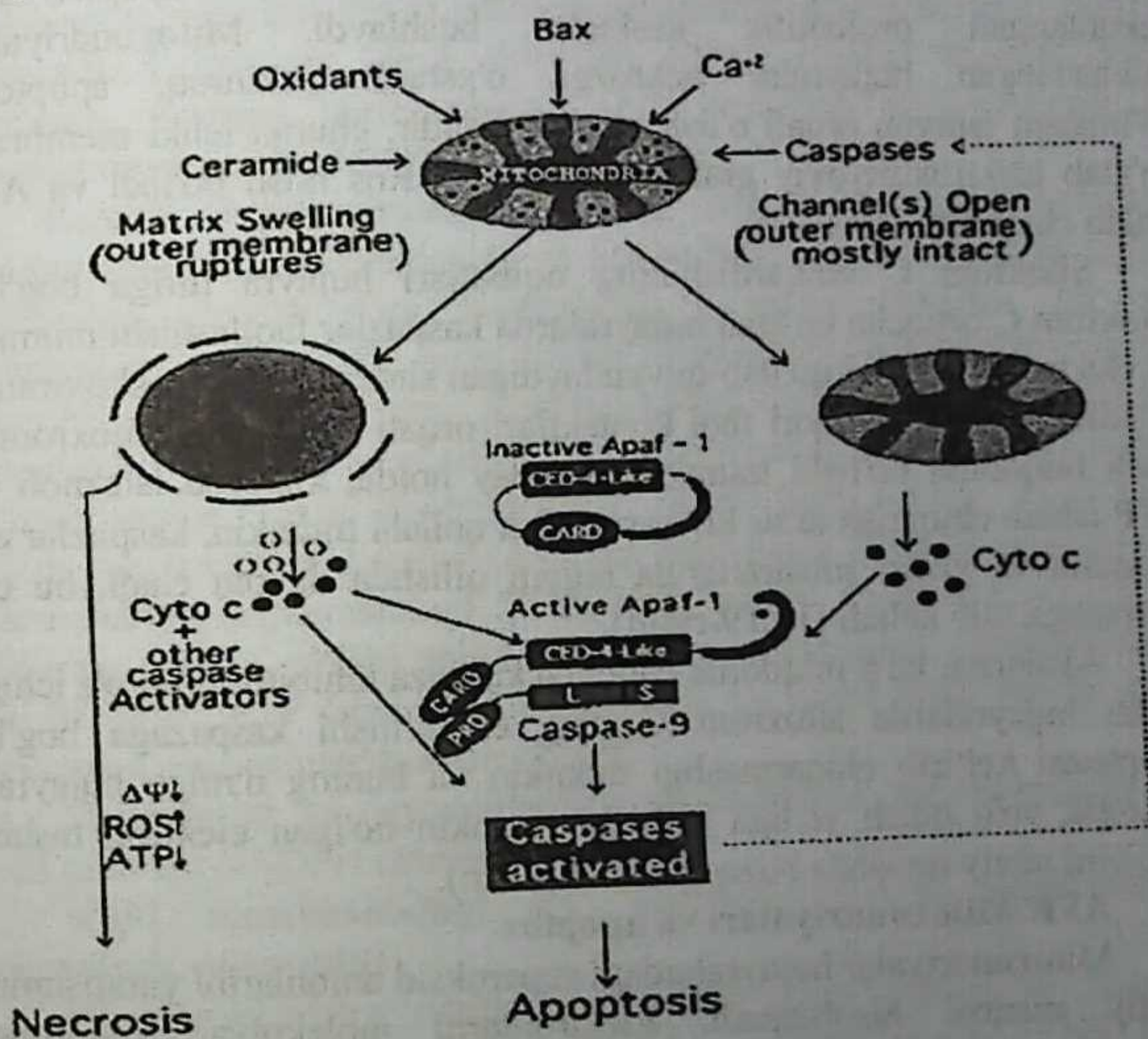
Rasm 16.18 - O'sma nekrozi omili retseptorlari - FAS guruhi vakillari tomonidan qo'zg'atilgan mitoxondriyadan sitoxrom C ning chiqarilishi va kaspaza-8 ning keyingi kaspazalarning faollashishiga ta'siri kuchaygan.

Shuni ta'kidlash kerakki, kaspaza ingibitorlari bir nechta apoptojenik agentlar, jumladan, ultrabinafsha nurlanishi, stauroskorin va Bax haddan tashqari ekspressiyasi tomonidan qo'zg'atilgan sitoxrom C ning chiqarilishiga to'sqinlik qilmaydi. (16.18-rasm).

Istisno - bu o'simta nekrozi omili retseptorlari - FAS guruhi a'zolari tomonidan qo'zg'atilgan mitoxondriyadan sitoxrom C ning chiqarilishi, bunda sitoxrom C ning chiqarilishi bog'langan sitoplazmatik domenga bog'langan kaspazalarni (asosan kaspaza-8) inhibe qilish orqali oldini oladi. FAS (16.18-rasm). Biroq, sitoxrom C ning chiqarilishi ba'zan kaspaza-8 ning quyi oqimdagi kaspazalarning faollashuviga ta'sirini

kuchaytirish orqali FAS vositachiligidagi apoptozga hissa qo'shishi mumkin

Ushbu ma'lumotlardan kelib chiqadigan rasm shundan iboratki, S sitoxromi chiqarilgandan so'ng, hujayra Apaf-1 tomonidan kaspazalarni faollashtirishni o'z ichiga olgan tez apoptotik mexanizm yoki elektron transportining qulashi natijasida yuzaga keladigan sekinroq nekrotik jarayon tufayli o'linga mahkum bo'ladi. sitoxrom C mitoxondriyadan (qisman) chiqarilganda, turli xil zararli ta'sirlarga, jumladan kislorodli erkin radikallarning paydo bo'lishiga va ATP ishlab chiqarishning pasayishiga olib keladi (16.19-rasm).



16.19-rasm Mitoxondriyalar orqali kaspazani faollashtirish modeli

Bax, oksidlovchilar, ortiqcha Ca^{2+} , faol kaspazlar va ehtimol keramidlar kabi ko'plab stimullar mitoxondriyadan sitoxrom c (yopiq doiralar) va, ehtimol, AIF va intramitoxondrial kaspazlar (ochiq doiralar) kabi boshqa oqsillarni o'z ichiga olgan kaspaza faollashtiruvchi oqsillarni chiqarishiga olib kelishi mumkin.

Kaspazani faollashtiruvchi oqsillarni chiqarishning ikkita asosiy mexanizmi taklif qilingan: biri matritsa bo'shlig'ining kengayishiga, organellalarning shishishiga va keyinchalik tashqi membrananing yorilishiga olib keladigan osmotik muvozanatni o'z ichiga oladi (chapda). Boshqasi tashqi membranada kanallarning ochilishini (organellalarning mos keladigan shishishisiz) va sitokrom c ni mitoxondriyaning membranalararo bo'shlig'idan sitozolga chiqarishni o'z ichiga oladi. Sitokrom C kaspazalarni Apaf-1 bilan bog'lash orqali faollashtiradi, bu uning prokaspaza-9 bilan bog'lanishini keltirib chiqaradi, bu esa kaspaza-9 faollashishiga olib keladi va apoptoz bilan yakunlangan proteolitik kaskadni boshlaydi. Mitoxondriyalari shikastlangan hujayralar nekrozga o'xshash sekinroq, apoptotik bo'lmagan jarayon orqali o'lish xavfi ostidadir, chunki ichki membrana bo'ylab elektrokimyoviy gradient yo'qoladi, Ros hosil bo'ladi va ATP ishlab chiqarish kamayadi.

Sitokrom C chiqarilishining oqibatlarini hujayra turiga bog'liq. Sitokrom C ortiqcha bo'lgan hujayralarda kaspazlar faollashishi mumkin va elektron tashishni qo'llab-quvvatlaydigan sitokrom b-c va sitokrom C oksidazalari bilan yuqori faol kontaktlari orqali bog'langan sitokrom C etarli miqdorda bo'lishi mumkin. Bunday holda, kislorod iste'moli va ATP ishlab chiqarish ta'sir ko'rsatmasdan qolishi mumkin, kaspazlar esa sitozolik va yadro substratlariga hujum qilishda davom etadi, bu esa apoptozga olib keladi (16.19-rasm).

Aksincha, ko'p miqdorda endogen kaspaza inhibitörlerini o'z ichiga olgan hujayralarda sitokrom C ning chiqarilishi kaspazaga bog'liq apoptozni keltirib chiqarmasligi mumkin va buning o'rniga hujayrani nekrotik yo'q qilish yo'liga qo'yishi mumkin bo'lgan elektron tashish zanjirini tabiiy ravishda buzadi. (16.19-rasm).

AFK Mitoxondriyalari va apoptoz

Mitoxondriyalar hujayralardagi superoksid anionlarini yaratishning asosiy manbai hisoblanadi. Elektronlarni molekulyar kislorodga o'tkazish jarayonida nafas olish zanjiridagi elektronlarning 1 dan 5% gacha yo'qolishi taxmin qilinadi, ularning aksariyati O₂ hosil bo'lishida ishtirok etadi. Zanjirda o'tkazuvchanlik samaradorligini pasaytiradigan va elektron tashishni buzadigan har qanday narsa, masalan, hujayra oksidlanish (qaytarilish) potentsialining buzilishi, superoksidlar ishlab chiqarishni oshirishi mumkin. Apoptoz paytida superoksidlar va lipid peroksidatsiyasining miqdori ortadi.

Biroq, ROS generatsiyasi nisbatan kech bosqichda sodir bo'lishi mumkin, bu hujayra kaspaza faollashuv jarayoniga kirgandan keyin sodir bo'ladi. Shu munosabat bilan, gipoksik sharoitda apoptozni o'rganishga urinishlar shuni ko'rsatdiki, hech bo'lmaganda ba'zi proapoptotik stimullar kislorod yo'qligi yoki deyarli yo'qligida ishlaydi, bu ROS apoptozning yagona haydovchisi emasligini anglatadi. Biroq, ROS virtual anaerobioz sharoitida yaratilishi mumkin va shuning uchun ularning apoptozdagi rolini faqat shu asosda rad etib bo'lmaydi.

Mitoxondriyaning tashqi membranasi buzilganda membranalararo hajmdan termolabil omil ajralib chiqadi, bu esa ksantin dehidrogenazning ksantin oksidazaga qaytarilmas konversiyasini keltirib chiqaradi. Faktor bir qator sinovdan o'tgan proteaz ingibitorlarini, jumladan, kaspaza ingibitorlarini, serin proteaza ingibitorlarini va metalloproteinaza ingibitorlarini chidamlidir.

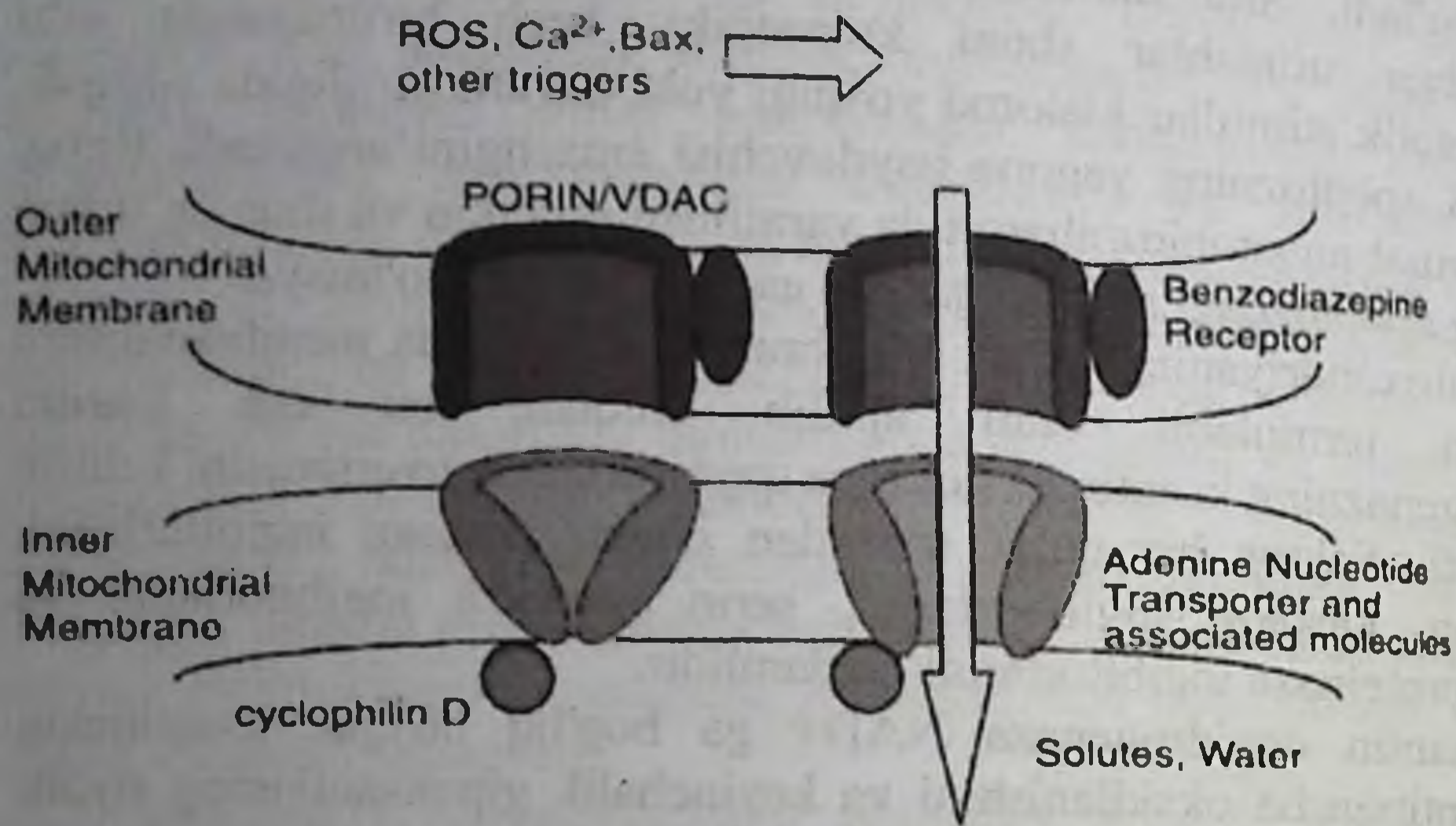
Ksantin dehidrogenaza NAD^+ ga bog'liq bo'lgan ksantinning gipoksantingacha oksidlanishini va keyinchalik gipoksantinning siydik kislotasiga oksidlanishini katalizlaydi. Ksantin oksidaza bir xil reaksiyalarni katalizlaydi, lekin NAD^+ bilan emas, balki elektron qabul qiluvchi sifatida O_2 bilan. Bunday holda, $\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ va ulardan mitoxondriyalarni yo'q qiladigan va apoptozning kuchli induktorlari bo'lgan boshqa reaktiv kislorod turlari (ROS) hosil bo'ladi. ROS hosil bo'lish mexanizmlari ksantin oksidaza reaksiyasi bilan cheklanmaydi. Mitoxondriya hujayralardagi ROS ning asosiy manbai hisoblanadi. ROSning keskin o'sishi mitoxondriyadagi membrana potentsialining oshishi bilan, ATP iste'moli kamayganida va nafas olish tezligi ADP tomonidan cheklanganida sodir bo'ladi.

Makrofaglar va neytrofillarning sitoplazmatik membranasida O_2 hosil qiluvchi NADPH oksidaz mavjud.

Ichki membranadagi PT poralari, tashqi membranani parchalash va apoptoz

PT g'ovaklarining tuzilishi va tarkibi faqat qisman aniqlangan, ammo uning tarkibiy qismlari adenin nukleotid translokatori (ANT) kabi ichki membrana oqsillarini va kuchlanishga bog'liq anion kanali, VDAC kabi tashqi membrana oqsillarini o'z ichiga oladi. tashqi membrana va ichki membranalar aloqa joylarida va taxminan 1,5 kD o'lchamdagi molekulalar o'tadigan kanal hosil qiladi. Ushbu kanalning ichki membrana ochilishi mitoxondriyaning matritsasi va membranalararo bo'shlig'ida ionlar muvozanatini o'rnatishga imkon beradi, shu bilan H^+ gradientini ichki membrana bo'ylab tarqatadi va nafas olish zanjirini

buzadi. Bundan ham muhimroq bo'lishi mumkinki, PT gözeneklarining ochilishi mitoxondriyaning ommaviy deregulyatsiyasiga olib keladi.



Rasm 16.20 Apoptoz paytida mitoxondriyal o'tkazuvchanlikning o'zgarishi.

O'tkazuvchanlik g'ovaklarini hosil qiluvchi ba'zi komponentlarni ko'rsatadigan spekulativ model. Porin va benzodiazperin retseptorlarining roli juda muhim bo'lib qolmoqda. Ochiq teshik holatida suv va eritmalar matritsaga kirib, matritsaning shishishi va tashqi membrananing yorilishi (16.19.- 1-rasmga qarang), sitoxrom C va boshqa oqsillarni chiqarishga olib keladi.

Matritsaning giperosmolalligi, bu matritsa hajmining oshishiga olib keladi. Buklangan ichki membrananing sirt maydoni tashqi membrana qaraganda kattaroq bo'lganligi sababli, matritsa hajmining bunday kengayishi tashqi membrananing yorilishiga olib kelishi mumkin, bu esa membranalarda bo'shliqda joylashgan kaspaza faollashtiruvchi oqsillarni sitozolga chiqaradi (16.20-rasm). Teshiklarning ochilishiga olib keladigan turli omillar mavjud. Bularga glutatyon kamaygan hujayralarning kamayishi, hujayralarning NAD(P)H, ATP va ADP bilan kamayishi, reaktiv kislorod turlarining hosil bo'lishi, protonofor birikmalari bilan oksidlovchi fosforillanishning ajralishi va sitoplazmada Ca^{2+} miqdori ortishi kiradi. Mitoxondriyadagi teshiklarning shakllanishiga keramid, NO, kaspazlar, amfipatik peptidlar, yog 'kislotalari sabab bo'lishi mumkin. Teshiklarning diametri 2,9 nm bo'lib, molekulyar og'irligi 1,5 kDa va undan past bo'lgan moddalarning membranani kesib o'tishiga imkon beradi. Teshikning ochilishi oqibati mitoxondriyal matritsaning shishishi, mitoxondriyaning

tashqi membranasining yorilishi va membranalarda hajmda eriydigan oqsillarning ajralib chiqishidir. Bu oqsillar orasida bir qator apoptogenik oqsillar mavjud: sitoxrom c, procaspase 2, procaspase 3 va procaspase 9, AIF oqsili. Procaspaza 3 ham mitoxondriyaning membranalarda hajmda, ham sitoplazmada joylashgan.

AIF: kaspazadan mustaqil yo'l orqali apoptozni qo'zg'atuvchi omil

Apoptoz (dasturlashtirilgan hujayra o'limi) kaspazlarning ishtirokisiz sodir bo'lishi mumkin. Kaspazaga bog'liq bo'lmagan apoptotik yo'l mitoxondriyalarni yo'q qilish va apoptozni qo'zg'atuvchi omilni chiqarish orqali qo'zg'atiladi.

(AIF).

AIF membranalarda mitoxondrial flavoprotein bo'lib, molekulyar og'irligi 57 kDa bo'lib, 613 ta aminokislota qoldig'idan iborat. AIF geni Xq25-26 lokusiga joylashtirilgan.

Apoptotik signalni olgandan so'ng, AIF translokatsiyasi mitoxondriyadan sitoplazmaga, so'ngra yadroga o'tadi.

AIF orqali apoptozni qo'zg'atish mexanizmi yadro DNKsini parchalaydigan endonukleazning faollashuvidir. Ko'rsatilganidek, AIF mustaqil ravishda mitoxondriyaning transmembran potentsialining pasayishiga, xromatin kondensatsiyasiga va DNK parchalanishiga olib kelishi mumkin. AIF HeLa hujayralarining izolyatsiya qilingan yadrolariga ta'sir qilganda, xromatin kondensatsiyasi va DNK parchalanishi kuzatiladi. AIF ning buzilmagan kalamush fibroblastlariga mikroinjeksiyasi mitoxondriyalarda membrana potentsialining pasayishiga, yadro periferiyasi bo'ylab tez (1 minut ichida) xromatin kondensatsiyasiga va DNKning 50 kb uzunlikdagi yirik bo'laklarga bo'linishiga olib keladi. va boshqalar. Izolyatsiya qilingan kalamush jigar mitoxondriyalariga AIF qo'shilishi sitoxrom c va kaspaza 9 ning eritmaga chiqarilishiga olib keladi. N-benziloksikarbonil-Val-Ala-Asp-fluorometilketon kaspaza inhibitori tomonidan AIF ning ushbu ta'sirining hech biri oldini olmaydi.

Z-VAD-fmk), bu sitoxrom C bilan tajribada qo'zg'atilgan apoptozning oldini oladi. Ushbu ma'lumotlar AIF kaspazalardan mustaqil ravishda ta'sir qiluvchi hayvonlarda apoptozning mitoxondrial effektori ekanligini tasdiqlaydi.

AIF ning apoptoz vositachisi sifatidagi muhim roli sichqonchanning embrion ildiz hujayralarida o'tkazilgan tadqiqotda ham ko'rsatildi - AIF etishmovchiligi bo'lgan hujayralar apoptozga chidamli.

16.6 p53 oqsili: apoptozda ishtirok etishi.

90-yillarda apoptozni tartibga solishda ishtirok etuvchi bir qator genlar topildi.

Bu genlarning ba'zilarining mahsulotlari aktivatorlar, boshqalari esa apoptozning ingibitorlari hisoblanadi. DNKning shikastlanishiga javoban p53 darajasining oshishi teri hujayralarida, timositlarda apoptozni keltirib chiqaradi va ichak epiteliysining hujayralarida shuningdek.

Kimyoterapevtik vositalar yoki transkripsiya omili E1F, adenoviral E1A oqsilining konstitutsiyaviy ifodasi yoki c-myc ning haddan tashqari ko'payishi tufayli hujayra siklining disregulyatsiyasi ham p53 ga bog'liq apoptozni keltirib chiqaradi.

Biroq, p53 DNKning jiddiy shikastlanishi yoki hujayra siklining buzilishi natijasida kelib chiqqan apoptozning faqat o'ziga xos turlarini qo'zg'atadi. Shunday qilib, hujayralarni glyukokortikoidlar bilan davolash p53 +/+ va p53 -/- sichqonlaridan ikkala timositda apoptozni keltirib chiqaradi.

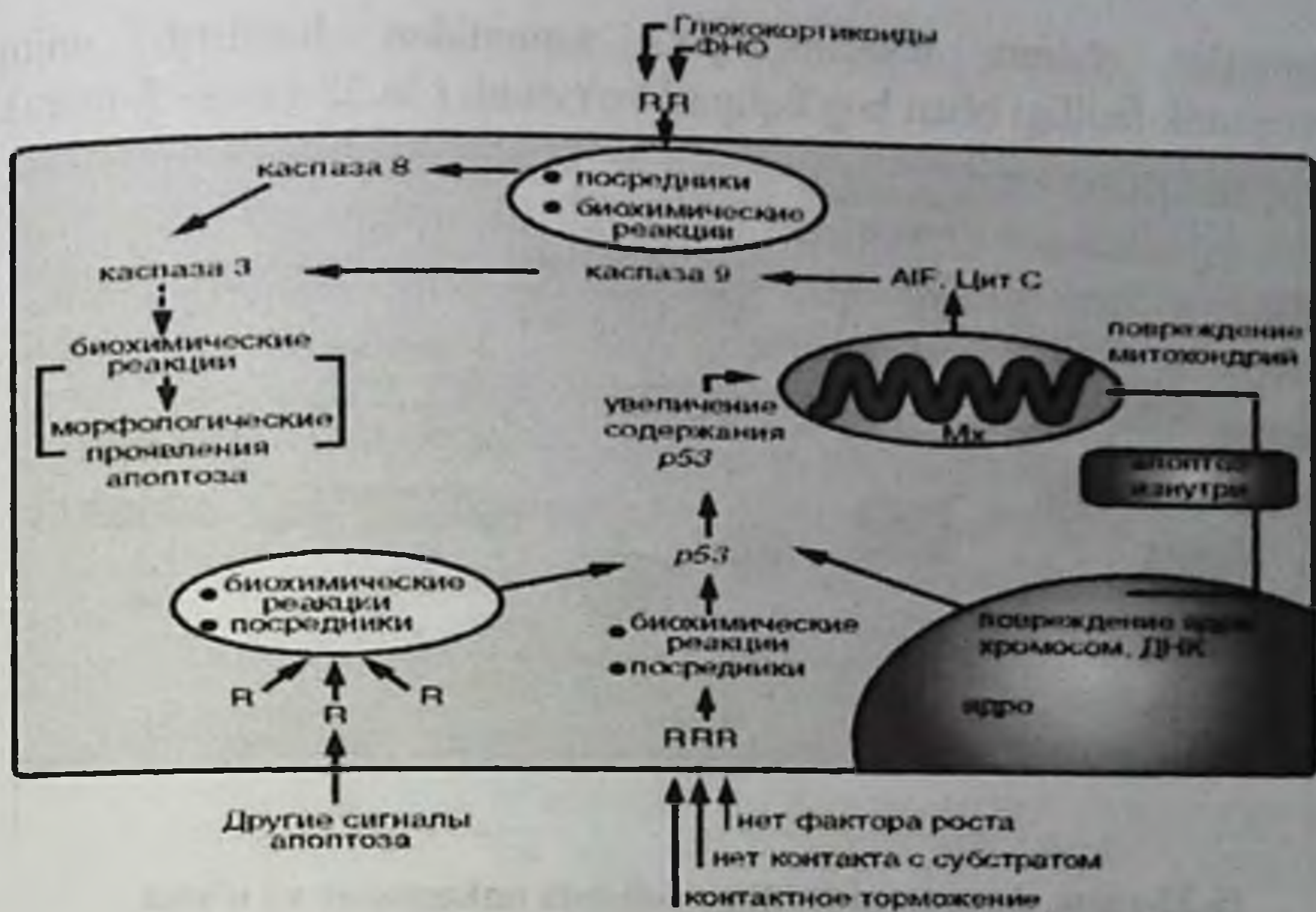
p53 rivojlanish jarayonida yuzaga keladigan apoptotik jarayonlarda ishtirok etmaydi

organizm, chunki -/- p53 sichqonlari butunlay normal o'sadi.

Ko'rinishidan, p53 ga bog'liq apoptoz hujayra ikkita qarama-qarshi signalni qabul qilishiga javoban sodir bo'ladi: S fazaga kirish uchun signal va qarama-qarshi inhibitor signal. Oddiy fibroblastlarda p53 darajasining oshishi G1 ni to'xtatishga olib keladi (qarang: p53 oqsili: Hujayra sikliga ta'siri). G1 hibsga olinishini va yuqori p53 darajalari bilan S fazasiga kirishni blokirovka qilish apoptozni keltirib chiqaradi. Shunday qilib, E1A adenoviral oqsilini ifodalashda p53 darajasining barqarorlashishi va ortishi va Rb oilasi oqsillarining bir vaqtning o'zida inaktivatsiyasi apoptozga olib keladi, bu E1B 19K adenoviral oqsilining ekspressiyasi bilan bloklanadi.

Transgen sichqonlarda Rb ning normal funksiyasining buzilishi (E7 ifodasi yoki Rb ning to'g'ridan-to'g'ri nokauti) ko'z gavhari rivojlanishida apoptozni keltirib chiqardi, ammo bu sichqonlarda kuzatilmadi. Rb bilan birga p53 inaktivatsiya qilingan (E6 ifodasi yoki p53 nokauti bilan).

G1 tutilishiga qo'shimcha ravishda, yovvoyi turdagi p53 radiatsiya va boshqa DNKga zarar etkazuvchi vositalar tomonidan qo'zg'atilgan apoptotik jarayonda ishtirok etadi (16.21-rasm).



16.21-рasm. p53 oqsilining apoptozda ishtiroki.

Yovvoyi tipdagi p53 va radiosensitivlikning ifoda darajasi o'rtasidagi muhim bog'liqlik odam o'smalari, Burkitt limfomasi va limfoblastomalarining hujayra chiziqlarini tahlil qilishda aniqlandi. Yuqori darajadagi p53 ifodasi bo'lgan hujayra liniyalari G1 tutilishini boshdan kechirdi va ko'proq radiosensitiv edi. P53 ni sintez qilmaydigan timositlar p53-musbat hujayralarga qaraganda ionlashtiruvchi nurlanish va etoposidga (DNK topoizomeraz II ingibitori) nisbatan ancha chidamli, lekin glyukokortikoidlar va kaltsiy ionoforlariga nisbatan normal sezuvchanligini saqlab qoladi (16.21-rasm). Shunday qilib, genotoksik moddalar ta'sirida p53 nafaqat DNKni tiklash vaqtini oshiradi, balki tanani xavfli mutatsiyalar bilan hujayralar tarqalishidan himoya qiladi. P53 oqsilining tuzilishi va oqsilning transkripsiyasi va boshqa xususiyatlarini tartibga solish uchun turli sohalarning ahamiyati yaxshi o'rganilgan, ammo p53 ning proapoptotik faolligi mexanizmi noma'lum.

P53 ning inson kanserogenezidagi asosiy roli, eng keng tarqalgan o'smalarning yarmidan ko'pida ushbu genning inaktivatsiya mutatsiyasining juda yuqori chastotasi, shuningdek, sichqonlarning yuqori sezuvchanligi bilan tasdiqlanadi. o'z-o'zidan paydo bo'ladigan va radiatsiyadan kelib chiqqan o'smalarga p53 ifoda etmaydi. Ko'pgina

ma'lumotlar o'simta o'sishini p53 tomonidan bostirish uning proapoptotik faolligi bilan bog'liqligini ko'rsatadi (16.22-rasm - 5-rasm).



16.22-rasm. Apoptozni tartibga solishda onkogenlar va o'sma supressorlarining ishtiroki.

Shunday qilib, p53 faollashuvi kuchli apoptojenik signalni ta'minlaydi, uni amalga oshirish kaspaza induksiyasining turli mexanizmlarini o'z ichiga oladi. Shuni ta'kidlash kerakki, p53 ga bog'liq apoptoz nafaqat shikastlangan hujayralarni, balki proliferatsiyaning tartibga solinmagan stimulyatsiyasi kuzatiladigan hujayralarni ham, masalan, MYC onkogenini va/yoki E2F transkripsiya faktorini konstitutsiyaviy faollashtirish natijasida kelib chiqadi. .

Mdm2: transkripsiya funktsiyasini repressiyasi va p53 degradatsiyasi

p53 dan foydalanish oqsil parchalanishining ubiquitin mexanizmini o'z ichiga oladi. Hujayra ubiquitinatsiya jarayonlarini inhibe qilish yovvoyi turdagi p53 oqsilining to'planishiga olib keladi.

Oddiy (stressli bo'lmagan) vaziyatda birlamchi hujayralardagi yovvoyi turdagi p53 ning umri 30 daqiqadan kam. Hujayralarni DNKga zarar etkazuvchi moddalar bilan davolash p53 ning umrini keskin oshirishga olib keladi. P53 ni barqarorlashtirish uchun signal shakar-fosfat magistralidagi bir va ikki zanjirli uzilishlar bo'lib, ular to'g'ridan-to'g'ri DNKni buzuvchi moddalar (topoizomeraz ingibitorlari, gamma-nurlanish) ta'sirida yoki ushbu agentlarning faollashishi natijasida yuzaga keladi. bunday tanaffuslarni keltirib chiqaradigan uyali tizimlar (masalan, ultrabinafsha nurlar bilan ekzonni tiklash tizimini induksiya qilish).

p53 MDM2 gen promotorini faollashtiradi, uning mahsuloti p53 ning faolligini bostiradi.

Mdm2 transkripsiyaning faollashtiruvchi domen hududida p53 ning N-terminal hududiga bog'lanadi. Bog'lanish p53 transkripsiya faolligini bostirishga olib keladi va shu bilan birga proteasomal degradatsiyani rag'batlantirish. Mdm2 va p53 o'rtasidagi o'zaro ta'sir mutatsiyalarni kiritish orqali buzilganida, p53 faollashishi va to'planishi sodir bo'ladi. P53 ga bog'liq bo'lgan transkripsiyaning faollashishi va keyinchalik hujayra bo'linishining to'xtatilishi, shuningdek, Mdm2-p53 kompleksini monoklonal antikorlar yoki raqobatdosh peptidlar tomonidan yo'q qilinishidan kelib chiqadi, bu doimiy ehtiyojni ko'rsatadi, somatik hujayralar proliferatsiyasini ta'minlash uchun p53 ingibirlanadi.

Mdm2 oqsili tomonidan p53 transkripsiya funksiyasini bostirish transkripsiya apparati komponentlari bilan murakkab o'zaro ta'sir tufayli sodir bo'ladi. Mdm2 bir vaqtning o'zida p53, TBP, TAFII250 va p300/CBP N-terminal hududiga bog'lanadi. p300/CBP ning N- va C-terminal hududlari bir vaqtning o'zida p53 transkripsiya faollashtiruvchi domeni bilan o'zaro ta'sir qiladi. Mdm2 bir vaqtning o'zida p300/CBP va p53 ning N-terminal hududlariga bog'lanadi va bu oqsillar o'rtasida kompleks hosil bo'lishining oldini oladi, bu esa p53 ga bog'liq transkripsiyaning repressiyasiga olib keladi.

P53-ga bog'liq transkripsiyaning bostirishning shunga o'xshash mexanizmi p53 funksiyasini bostiradigan virusli oqsillar tomonidan qo'llaniladi.

Mdm2 ga ulanishda p53 degradatsiyasining tezlashishi ikkita jarayon tufayli sodir bo'ladi. Ikkala p53 va Mdm2 yadroviy eksport uchun mas'ul bo'lgan hududlarni o'z ichiga oladi. Ushbu signallar tufayli Mdm2 p53 ni yadrodan olib tashlaydi va uni proteazomaga yo'naltiradi, bu erda ikkala oqsil ham ubiquitinga bog'liq degradatsiyaga uchraydi.

Bundan tashqari, Mdm2 molekulasining o'zi ubiquitin ligaza faolligiga ega va p53 ning ubiquitinatsiyasida ishtirok etadi. p300/CBP bilan Mdm2 kompleksi ham p53 degradatsiyasida rol o'ynaydi.

p53 oqsili: JNK degradatsiya tizimi

P53 ning Mdm2-ga bog'liq degradatsiyasiga qo'shimcha ravishda, stressga duchor bo'lmagan hujayralardagi faollashtirilmagan JNK funksiyalaridan foydalanadigan muqobil tizim. JNK 97-117 aminokislota qoldiqlari hududida p53 bilan bog'lanadi va p53 ning ubiquitinilatsiyasi va destabilizatsiyasiga yordam beradi.

16.7 Prokaspazlar: kofaktorlar bilan faollashuv.

Prokaspazani faollashtirishda prokaspazaga o'xshash oqsillar

Prokaspazalar va ularning kofaktorlarining o'zaro ta'siri prokaspazaga o'xshash oqsillar tomonidan ingibirlanishi mumkin. Bir misol, FADD-ga o'xshash ICE ingibitiv oqsillarni (FLIPs) kashf qilish bilan bogliq. Bu oqsillar ketma-ketligi bo'yicha prokaspaza-8 ga juda o'xshash, faqat ularda muhim katalitik elementlar mavjud emas. Bu oqsillar, ehtimol, prokaspaza-8 bilan uning FADD kofaktoriga ulanishda raqobatlashadi va shu bilan kaspaza faollashishini oldini oladi. Ma'lum bo'lishicha, kaspaz-8 yagona hamkasbiga ega emas, yaqinda ARC (kaspazani jalb qilish domeniga ega apoptoz repressori) deb nomlangan CARD domenini o'z ichiga olgan oqsilning kashfiyoti taklif qilganidek. Kofaktorlarning prokaspazalar va ularning hiyla-nayranglarini qanday farqlashini aniqlaydigan omillar noma'lum.

Kaspazalarni ularning kofaktorlaridan ajratib olish

Kaspazalarni kofaktorlaridan ajratib olish kaspaza faollashuvini tartibga solishning yana bir usuli bo'lib ko'rinadi. Ushbu da'volar ba'zi tirik hujayralardan olingan ekstraktlar kaspazalarni o'z-o'zidan faollashtirishi mumkinligi haqidagi kuzatishlar bilan tasdiqlanadi. kaspaza faollashuvi uchun zarur bo'lgan barcha komponentlar tirik hujayrada mavjudligini, ammo qandaydir tarzda izolyatsiya qilinganligini ochib beradi. Ushbu kuzatish in vitroda kaspaza-9 faollashuvi sitoxrom C ni talab qilishini va apoptoz kofaktorlarning chiqarilishiga olib keladigan mitoxondriyal o'zgarishlarni keltirib chiqarishi mumkinligi haqidagi gipotezani aniqlashga olib keldi.

Yana bir misol, kaspaza-8 Fas retseptorlari kompleksiga bog'langanda faollashishini aniqlashdir. Kaspazalar va ularning kofaktorlarining hujayralardagi joylashishini aniqlash bo'yicha ishlar, ehtimol, kaspaza regulyatsiyasini tushunishga olib keladigan kuchli tadqiqot sohasidir.

Inhibitorlar kaspazalarning regulyatorlari sifatida

Murakkab proteolitik tizimlarni tartibga solishda ingibitorlarning muhim rolini hisobga olsak, ular hujayra o'limi jarayonlarida ishtirok etadigan proteazalarni nazorat qilishda ham ishtirok etishlari ajablanarli emas. Kaspaza ingibitorlarini aniqlash apoptoz hodisasini infektsiyaga oddiy xost hujayra javob darajasiga kamaytiradigan (kamaytiruvchi) viruslar ustida olib borilgan ishlarning natijasi edi. Virusli

ingibitorlarning uchta alohida klassi tavsiflangan: CrmA, , Xue ea 1995a IAP oqsillari oilasi (apoptoz ingibitorlari).

Qoramol chechagi virusi oqsili CrmA serpinlar oilasining a'zosi bo'lib, nekrozda ishtirok etadigan bir nechta faol inisiatsion kaspaza va kaspazalarning kuchli inhibitori hisoblanadi.

P35 bakulovirus oqsilining ma'lum gomologlari yo'q va uning kaspazalarga selektiv ta'siri aniq tushunilmagan.

IAP oqsillari katta oilaga tegishli bo'lib, faqat bu oila sutemizuvchilarda uchraydigan vakillarni o'z ichiga oladi. IAP oqsillarining o'ziga xos kaspaza ta'sir zanjirlari noaniq bo'lib qolmoqda. Kaspaza-3 va kaspaza-7 ning kuchli, tanlab inhibe qilinishi X bilan bog'langan IAP bilan in vitro kuzatildi, bu IAPlar effektor kaspazalarni inhibe qilish orqali apoptozni ingibirlashini ko'rsatadi.

Ammo ular haddan tashqari ekspressiyalanganda bu fermentlarning faollashishiga to'sqinlik qiladi va hujayralardagi haqiqiy maqsadlar kaspaza profermentlari yoki faollashtirish kompleksidagi boshqa oqsillar ekanligi ko'rinadi. Aksincha, agar effektor kaspazalar inisiator kaspazalarni faollashtirish orqali apoptotik signallarni kuchaytirsa, IAPlar ushbu aloqa zanjirining salbiy regulyatori sifatida ishlashi mumkin.

IAPlar va boshqa kaspaza inhibitörleri apoptozni tartibga solishda qanday ishtirok etadilar? Boshqa proteolitik tizimlarga o'xshab, ingibitorlar hujayra demontajini boshlash uchun zarur bo'lgan faol effektor kaspazalarning kontsentratsiyasini aniqlaydigan chegaralarni o'rnatishi mumkin va shu bilan profermentlarning tasodifiy yoki o'z-o'zidan faollashishi oqibatlarini oldini oladi. Inhibitorlar, shuningdek, ushbu fermentlarning faolligini hujayraning ma'lum joylarida lokalizatsiya qilishlari mumkin.

IAP1 oqsili

IAP oqsillari (apoptoz ingibitorlari)

NF-kB apoptoz ingibitorlari IAP1 va IAP2, IAP oqsillari oilasining a'zolari ekspressiyasini oshiradi, kaspaza 3, kaspaza 6, kaspaza 7, kaspaza 8, kaspaza 9 funksiyasini bloklaydi.]

Rel / NF-kB oilasi omillari: apoptozni bostirish

Rel/NF-kB oilasining omillari (V-Rel virusli onkoproteinining gomologlari; ularning genlarining kuchayishi va qayta tuzilishi ko'plab inson neoplazmalariga xosdir, apoptozni bir necha usul bilan inhibe qiladi. (16.22-rasm - 5-rasm kop).

NF-kB sitoxrom C va/yoki AIF ning chiqarilishini inhibe qiluvchi Bcl2 oqsillari oilasining a'zosi bo'lgan A1/Bfl1 oqsilini kodlovchi genni transaktiv qiladi.

Shu bilan birga, NF-kB apoptoz inhibitörleri IAP1 va IAP2, kaspaza 3, kaspaza 6, kaspaza 7, kaspaza 8, kaspaza 9 funksiyasini bloklaydigan IAP oqsillari oilasi a'zolarining ifodasini oshiradi.

PI3K ning antiapoptotik ta'siri (PKB/AKT faollashuvi)

PKB ning PI3K ga bog'liq faollashuvi PI3K ning RAS/RAF/ERK yo'lidagi ta'siridan mustaqil ravishda sodir bo'ladi: agar birinchi holatda PI3K ning lipid mahsulotlarining PKB bilan bog'lanishi etarli bo'lsa, u holda PI3K ning MAP kinazalariga ta'siri uchun sodir bo'ladi. , PI3K protein kinaz komponentining ishtiroki zaruriy shartdir.

PI3K ning antiapoptotik ta'siri PKB/Akt serin treonin protein kinazining faollashishi bilan bog'liq (birinchi marta AKR sichqonlarida T-hujayra limfomalarini keltirib chiqaradigan retrovirus AKT8 onkogeni sifatida aniqlangan) apoptozni bir necha usullar bilan bloklaydi. (16.22-rasmga qarang, 5-cop), PI3K va PKB ning lipid mahsulotlari o'rtasida kompleks hosil bo'lishi bilan boshlangan. Birinchidan, u,

Raf kabi BAD oqsilni fosforillash va faolsizlantirish qobiliyatiga ega. Bundan tashqari, Forkhead oilasining transkripsiya omili bo'lgan DAF-16 oqsilining funksiyasini bostirish orqali PKB / Akt ni ingibirlashi mumkin.



Rasm 16. PI3K ning hujayra signalizatsiya yo'llarini tartibga solishda ishtirokini ko'rsatadigan model. PI3K retseptorlari (o'sish omili retseptorlari) yoki retseptorlari bo'lmagan (p60-src) tirozin kinazlari bilan o'zaro ta'sir qilish orqali faollashadi. PI3K ning asosiy quyi oqim effektorlari antiapoptotik signalni uzatish uchun mas'ul bo'lgan PKV ni o'z ichiga oladi; RAS/ERK etakchi mitogen o'tkazuvchi yo'ldir va RAC/JNKK/JNK mitogen signalning o'tkazilishini qisman boshqaradigan yo'ldir, lekin asosan hujayraning boshqa funksiyalarini tartibga solishda ishtirok etadi, masalan, stressga javob berish, hujayralarni qayta tashkil etish.

RKB dan signal qanday uzatiladi va RKB dan kelib chiqadigan va hujayra omon qolishini nazorat qiluvchi signalizatsiya yo'llarining tabiati qanday?

Hozirgi vaqtda PKB orqali faollashtirilgan va apoptoz blokirovkasiga olib kelishi mumkin bo'lgan bir nechta mustaqil mexanizmlar ajratilgan (rasm).

16.23 - 2pi3k-rasm).

PKB ning boshqa mumkin bo'lgan effektorlari orasida aniq anti-apoptotik ta'sirga ega bo'lgan va faolligi PKB kinaz tomonidan to'g'ridan-to'g'ri fosforillanish bilan ortaydigan p70 S6 kinaz kiradi.

Nihoyat, so'nggi tadqiqotlar natijalari GSK-3 fermentining (glikogen sintetaza kinaz-3) dasturlashtirilgan hujayra o'limini qo'zg'atishdagi muhim rolini aniqladi. GSK-3 ni tartibga solish usullaridan biri uning PKB kinaz tomonidan to'g'ridan-to'g'ri fosforlanishi bo'lib, bu GSK-3 faolligining keskin pasayishiga olib keladi.

16.8 Hujayra ichidagi signalizatsiya: sfingomiyelin yo'li va apoptoz

Dalillar to'plami shuni ko'rsatadiki, CD95-L yoki anti-CD95 antikori va TNF membrana sfingomielinini keramid va fosfokolinga gidrolizlovchi sfingomiyelinazni rag'batlantirish orqali sfingomiyelin signalizatsiya yo'lini faollashtirad.

Seramid ikkinchi xabarchi sifatida ishlaydi va apoptozning keyingi bosqichlarini qo'zg'atadi. Sintetik keramidlar turli xil hujayralardagi o'limga olib kelishi ko'rsatilgan. TNF yoki anti-CD95 antikori bilan davolangan hujayralarda keramid kontsentratsiyasining sezilarli o'sishi ligand qo'shilgandan keyin 30 soniyadan keyin aniqlanadi. Sfingomiyelin yo'lining faollashishi retseptorlarni bog'laydigan oqsillar orqali signal uzatilishining natijasimi yoki mustaqil hodisami, aniq emas.

Sfingozi va seramid: apoptozdagi roli

Keramidning apoptotik signalni uzatishda ishtirok etishi mumkin bo'lgan ishonchli dalillarga qaramay, uning hujayra o'limi vositachisi sifatidagi aniq roli hali ham noaniqligicha qolmoqda.

Ba'zi tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, neytrofillar va kardiomiotsitlar TNFa va HL- bilan davolash qilinganda -

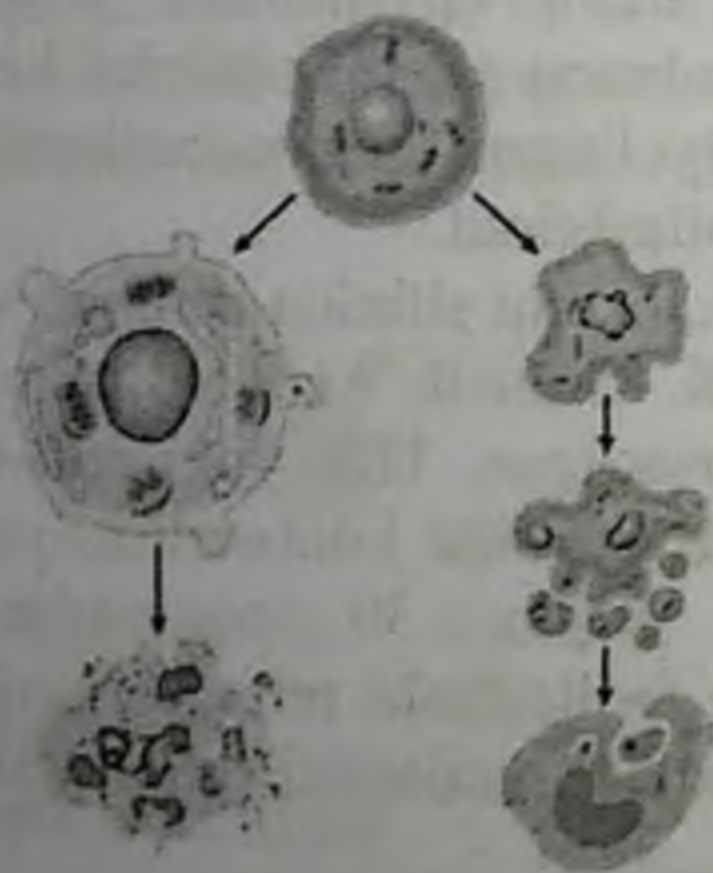
60 forbol ester nafaqat keramidni, balki sfingozinni (SPS) ham to'playdi.

Shuningdek, TNF-a ning sichqonlarga bir marta qo'llanilishi jigar hujayralarida va ularning yadrolarida seramid va SFZ to'planishiga olib kelishi aniqlandi.

O'simta hujayralariga ekzogen ravishda qo'shilgan SPS va N, Ndimetilsfingozin 6 soatdan keyin hujayralarning 90 foizida apoptozni keltirib chiqaradi, bu internukleosomal DNK degradatsiyasi va apoptozga xos bo'lgan morfologik o'zgarishlar (yadro kondensatsiyasi, apoptotik tanachalarning shakllanishi va boshqalar) bilan qayd etiladi. bu hujayralarda protein kinaz C inhibitörleri (staurosporin va H7) tomonidan yuzaga keladi. (16.24-rasm).

Ba'zi hujayra turlari (L929) topilgan, ularda TNFa zaharli signal o'tishida keramid hosil bo'lishiga olib kelmaydi.

Ushbu sfingomiyelin metabolitining apoptoz induksiyasini isbotlash uchun bir qator tadqiqotchilarning ishida qo'llaniladigan sintetik keramidlar har doim ham tabiiy analogga mos kelmasligi haqida xavotirlar mavjud. Ushbu keramidlar kesilgan yog 'kislotasini o'z ichiga oladi va ularning tabiiy hamkasbiga qaraganda hujayralar uchun sezilarli darajada zaharli bo'lishi mumkin.



16.24-rasm. Nekroz (chapda) va apoptoz (o'ngda) davridagi morfologik o'zgarishlar.

Differensiatsiya bosqichida HL-60 hujayralariga qo'shilgan keramid CPZ ga osongina aylanadi, bu seramidaza faollashishini ko'rsatadi.

SPP va sfinganinning subletal konsentratsiyalarda (750 nM dan kam) keramidning (10 mkM) proapoptotik faolligini sinergik ravishda kuchaytirishini ko'rsatadigan kuzatuvlar juda qiziq edi. Shu sababli,

apoptoz induktorlari ta'sirida hujayralarda keramid ham, sfingozin ham to'planishi tasodif emas. SPP singari, boshqa PKC inhibitörleri ham hujayralardagi keramid bilan birlashganda sinergik ta'sir ko'rsatadi, ya'ni. sfingoid asoslar va ushbu fermentning boshqa inhibitörleri tomonidan PKC ni inhibe qilish fosfatazalarning faollashtiruvchisi sifatida ma'lum bo'lgan seramidning proapoptotik ta'sirini keskin oshiradi.

Apoptozga chidamli hujayralar bir vaqtning o'zida seramid va SPZni to'plashga qodir emas. Misol uchun, radiatsiyaga chidamli malign A431 hujayralari nurlanganda, ularning keramid tarkibidagi o'sish aniqlanmadi, lekin PPZ darajasi ko'tarildi. Seramid SPZ bilan solishtirganda yuqori konsentratsiyalarda apoptozni keltirib chiqaradi; Ehtimol, uning bir qismi hujayra tomonidan sfingosin ishlab chiqarish uchun ishlatilishi kerak. Hujayraga turli xil toksik ta'sirlar ostida apoptoz uchun eng samarali bo'lgan seramid va sfingozinning birgalikdagi ta'siri deb taxmin qilish mumkin.

Nazorat savollari

1. Apoptozning qanday bosqichlarini ajratish mumkin va ularni qanday mexanizmlar amalga oshiradi?
2. Qaysi oqsillar apoptozning induktori va repressori hisoblanadi?
3. Organizmdagi turli hujayralar soni qanday qilib doimiy saqlanadi?
4. Kaspazlar hujayrani qanday o'ldiradi?
5. Qanday oqsillar kaspaza ingibitorlari hisoblanadi?
6. PI3K ning apoptozga qarshi ta'siri (PKB/AKT faollashuvi) qanday amalga oshiriladi?
7. Apoptozda sfingozin va keramid qanday rol o'ynaydi?
8. Qanday qilib mitoxondriya hujayra o'limiga sabab bo'ladi?
9. Bcl-2 oilasiga qanday oqsillar kiradi va ularning apoptozdagi roli?
10. AIF qanday qilib kaspazaga bog'liq bo'lmagan yo'l orqali apoptozni keltirib chiqaradi?
11. P53 oqsili ta'sirida apoptozning qanday va qanday turlari paydo bo'ladi?
12. KILLER/DR5 kaspaz kaskadini qanday boshlaydi?
13. Signalning uzatilishi TRADD, TRAF2 va RIP orqali hamda FADD va kaspaza-8 orqali qanday amalga oshiriladi? 14. NF-kB faollashuvi vaqtida TNRF1 va DR3 orqali signal uzatilishi qanday sodir bo'ladi?

XVII BOB. ONKOGENETIKA

17.1 Hujayra siklini tartibga solishda onkogenlar va antionkogenlar: kirish.

O'sma paydo bo'lishi ma'lum hujayralarning haddan tashqari ko'payishiga asoslanadi. Shuning uchun hujayra siklini tartibga solishning buzilishi neoplastik hujayraning ajralmas va asosiy xususiyati ekanligi tabiiydir. Hujayra siklining "motori", ma'lumki, siklinga bog'liq kinazlarni bir-birini ketma-ket almashtirish faoliyatidir. (17.1-rasm).

Har bir siklinga bog'liq kinaz (Cdk) holoferment kompleksining katalitik subbirligi bo'lib, uning faoliyati faollashtiruvchi subbirlilik siklin mavjudligini talab qiladi. Cdk faolligini tartibga solish hujayra siklining ma'lum fazalarida ma'lum siklinlar darajasining maqsadli o'zgarishi orqali amalga oshiriladi. Bundan tashqari, Cdks faolligi ularning o'ziga xos aminokislotalar qoldiqlarining fosforlanishining o'zgarishi bilan tartibga solinadi. Faol shaklda siklin-Cdk komplekslari ushbu fazaning borishini boshqaradigan tartibga soluvchi oqsillarni fosforlaydi.

Ko'pchilik ma'lum bo'lgan proto-onkogenlar va o'sma supresorlari u yoki bu tarzda hujayra siklining S fazasiga kirish uchun mas'ul bo'lgan siklinga bog'liq kinazalarning faoliyatini tartibga soladi. Ba'zi hujayrali (Mdm2) yoki virusli (SV40 virusining T-antigeni, E1A adenoviruslari, E7 HPV va boshqalar) onkogenlarning mahsulotlari bunday Cdk - pRb ning asosiy substratini bog'laydi va faolsizlantiradi. Ko'rinib turibdiki, Cdk2,4/6 - pRb - E2F/DP signalizatsiya yo'llaridagi buzilishlar doimiy ravishda ko'payadigan neoplastik hujayralar paydo bo'lishi uchun zarurdir. Hujayra siklining buzilishi - bu hujayrani tartibga solinmasdan ko'paytirishga undashning bir usuli. Saraton hujayralari siklin D va siklin E ni haddan tashqari ishlab chiqarishi mumkin va p53 yoki p16 kabi asosiy hujayra siklini regulyatorlari etishmasligi mumkin.

Onkogenlar va antionkogenlar: siklin-CDK komplekslariga ta'siri

Ko'pgina proto-onkogenlar va o'sma supressorlarning harakati ma'lum siklin-Cdk komplekslarini tartibga solishga qaratilgan (17.1-rasm).

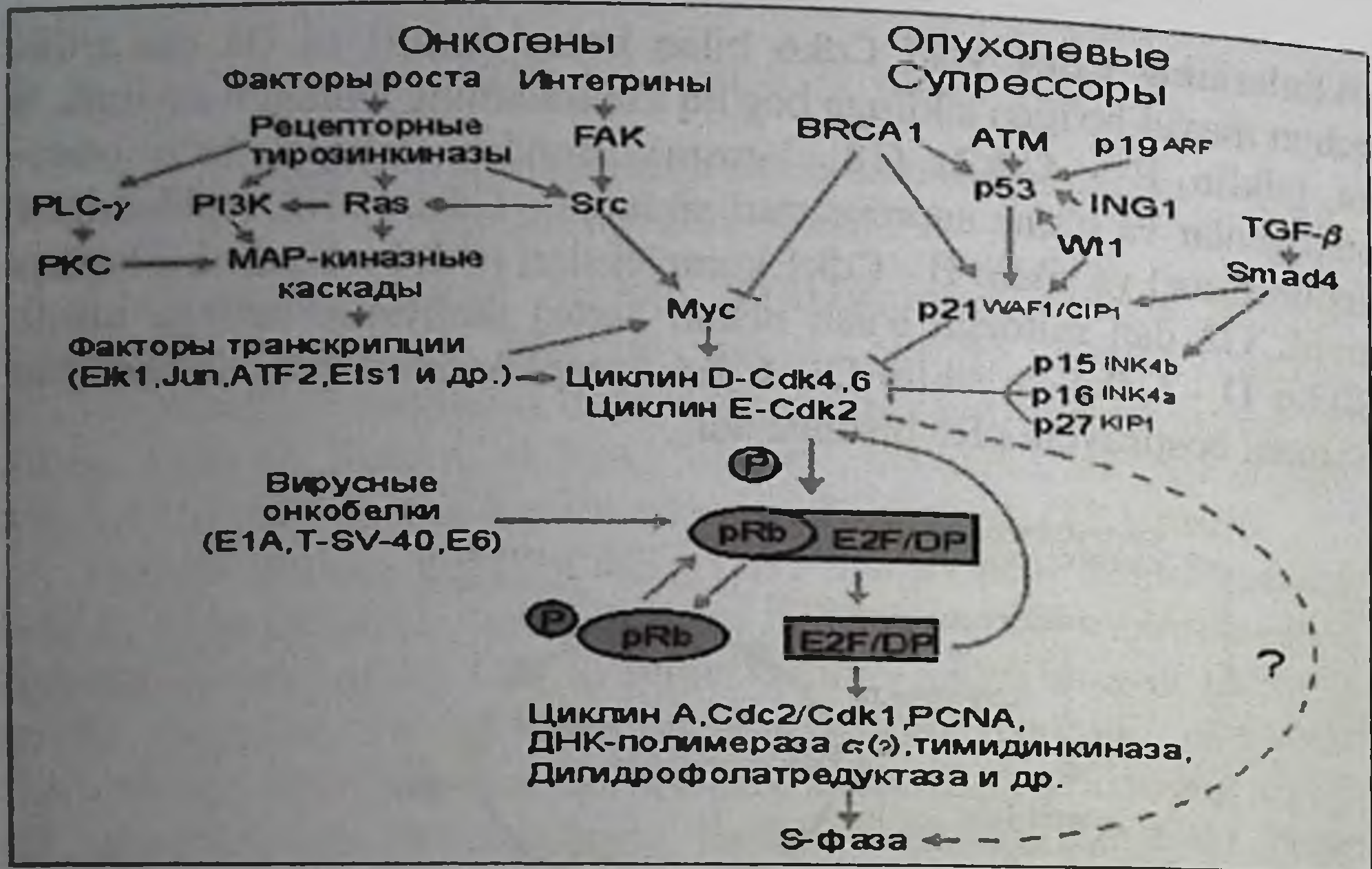
Ularning ko'pchiligining oqsil mahsulotlari G1 presintetik fazasining dastlabki bosqichlari (hujayra turiga qarab D1, D2, D3

siklinlarining Cdk4 yoki Cdk6 bilan komplekslari) va G1 dan o'tish uchun mas'ul bo'lgan siklinga bog'liq kinazalarning faolligini oshiradi. S ga (siklin E - Cdk2) (18. 1-rasm). Bundan tashqari, ba'zi proto-onkogenlar va o'sma supressorlari siklin A - Cdk2 (DNK replikatsiyasi uchun zarur) va siklin B - Cdk1 komplekslari (Cdk1 - Cdc2 ning boshqa nomi, G2 dan mitozga o'tish uchun zarur) faoliyatini tartibga soladi. Siklin D - Cdk4 va siklin D - Cdk6 komplekslarining asosiy substrati o'smani bostiruvchi pRb hisoblanadi.



17.1-rasm - (1-rasm) Onkogenlar va antionkogenlar: siklin-cdk komplekslariga ta'siri

Hujayra sikli bo'ylab harakatlanish turli siklin-Cdk komplekslarining ketma-ket faollashishi bilan belgilanadi. Ularning ko'pchiligi onkogenlarning faollashtiruvchi ta'siri yoki o'sma supressorlarning ingibir ta'sirining maqsadlari (17.2-rasm).



17.2-рasm - (2-рasm) Ko'pgina proto-onkogenlar va o'sma supressorlarning mahsulotlari pRb ni fosforillaydigan siklinga bog'liq kinazalarning faolligini tartibga soladi. pRb ning fosforillanishi, shuningdek, uning bir qator virusli onkoproteinlar bilan bog'lanishi E2F - DP transkripsiya komplekslarining chiqishi va faollashishiga olib keladi, bu genlarning ekspressiyasini oshiradi, ularning mahsulotlari S- o'tishi uchun zarurdir.

Ko'pgina proto-onkogenlarning mahsulotlari odatda siklin D - Cdk4 (6) va siklin E - Cdk2 komplekslarini (pRb bilan kompleksdan E2F - DP transkripsiya omillarini chiqarishga sabab bo'ladi) faollashtirish uchun javob beradigan signal yo'llarining tarkibiy qismlari hisoblanadi. o'sish omillari ta'siriga va/yoki hujayradan tashqari matritsa oqsillariga hujayra yopishishiga (17.2-rasm)

Ko'pgina proto-onkogenlar va o'sma supressorlarning mahsulotlari pRb va Rb-ga o'xshash oqsillarni p105 va p130 fosforillaydigan siklinga bog'liq kinazalarning faolligini tartibga soladi. pRb ning fosforillanishi, shuningdek, uning bir qator virusli onkoproteinlar bilan bog'lanishi E2F - DP transkripsiya komplekslarining chiqishi va faollashishiga olib keladi, bu genlarning ekspressiyasini oshiradi, ularning mahsulotlari S-fazadan o'tish uchun zarurdir.

MDM2 oqsili E2F-1 va DP-1 omillarini bog'lashi mumkin, bu E2F-1 / DP-1 geterodimerlarining faollashuv qobiliyatining oshishiga olib keladi. pRB va MDM2 oqsillari o'rtasidagi to'g'ridan-to'g'ri o'zaro ta'sir ham ko'rsatilgan.

O'sma hujayralari: tekshirish nuqtalarining tarkibiy qismlaridagi o'zgarishlar

O'sma hujayralari hujayra siklini nazorat qilish punktlarining tarkibiy qismlarining o'zgarishi bilan tavsiflanadi, ular o'zgarishlar sensori yoki hujayra siklini to'xtatish vositachisi bo'lgan effektorlardir. Shunday qilib, MAD1 yoki MAD2 disfunktsiyasi bilan bog'liq bo'lgan milya yig'ish nazorat punktining inaktivatsiyasi ko'krak bezi saratoni va HTLV-1 virusi keltirib chiqaradigan T-hujayrali leykemiya holatlarida kuzatiladi, va BUB1 va BUBR1 genining mutatsiyalari yo'g'on ichak saratoni holatlarining kichik bir qismida aniqlanadi.

Biroq, ba'zi o'sma supressorlari va proto-onkogenlarning, xususan, p53, pRb, Myc va Rasning disfunktsiyasi hujayra siklini nazorat qilish punktlarining inaktivatsiyasi uchun juda katta ahamiyatga ega (17.3-rasm).

Proto-onkogenlarni faollashtirishda tekshirish nuqtalarini nazorat qilish

Ba'zi proto-onkogenlarning faollashishi hujayra siklini nazorat qilish punktlarining faoliyatini zaiflashtirishi mumkin (17.3-rasm - 6-rasm) va natijada genetik beqarorlikni oshiradi.

Shunday qilib, Myc haddan tashqari ekspressiyasi p21WAF1 ning siklin D - Cdk4 va siklin E - Cdk2 komplekslariga inhibitiv ta'sirini yengib chiqadi va shu bilan p53 faollashuvi natijasida yuzaga kelgan G1 tutilishini bekor qiladi (17.3-rasm).

Yovvoyi turdagi p53 ning haddan tashqari ko'payishi nafaqat G1 / S chegarasida, balki G2 / M chegarasida ham hujayralarni hibsga olishga olib keladi. P53 ni yo'qotgan hujayralar, shuningdek, DNKning shikastlanishiga javoban G2 / M chegarasida hujayralarni hibsga olish qobiliyatini yo'qotdi. G2 hibsga olish mexanizmi, shuningdek, p53 ning undagi ishtiroki G1/M hibsga qaraganda ancha kam o'rganilgan. Ma'lumki, DNKning shikastlanishiga javoban hujayralar chegarada qoladi

G2/M. Bu jarayonlarda Weel-ga o'xshash kinaz va CDC25 fosfataza ishtirok etishi mumkin.



17.3-rasm - (6-rasm) Hujayra siklining "tekshirish nuqtalari" va ularni tartibga solishda ba'zi o'sma supressorlari va onkogenlarning ishtiroki.

G2 tutilishida p53 ning roli xromosomalar soni yoki xromosomalarning amplifikatsiyasini nazorat qilish uchun muhim bo'lishi mumkin, garchi bu nazorat mitotik urchuq darajasida amalga oshirilishi mumkin.

Rasning giperfunktsiyasi, shuningdek, G1 va G2 nazorat punktlari ishining zaiflashishiga olib kelishi va genetik beqarorlikni keltirib chiqarishi mumkin, ammo bunday ta'sirlar faqat p53 tomonidan boshqariladigan signalizatsiya yo'llarida ma'lum anormalliklarga ega bo'lgan hujayralarda namoyon bo'lishi mumkin.

Hujayra bo'linishini rag'batlantiradigan signalizatsiya yo'llarida proto-onkogenlar

O'sish omillari ta'siriga javoban siklinga bog'liq kinazalarning faollashuviga vositachilik qiluvchi signal yo'llarining ko'p ishtirokchilari va natijada hujayra bo'linishini rag'batlantirish proto-onkogenlar zimmasidadir.

Salbiy tartibga soluvchi omillar ta'siridan qochishga va / yoki ekspressiyaning doimiy o'sishiga olib keladigan ularning tuzilishidagi o'zgarishlar (mutatsiyalar), bunday proto-onkogenlarni onkogenlarga aylantiradi. Aniqlangan onkogenlarning mahsulotlari mitogen signallarni tartibga solishning barcha bosqichlarini ifodalaydi:

o'sish omillari - PDGF-b (Sis), FGF1 va boshqalar;

retseptorlari tirozin kinazlar - EGF-R (ErbB), HGF-R (Met), Ret va boshqalar; Ras oilasi oqsillari - K-Ras, H-Ras va N-Ras; Ras effektorlari serin-treonin kinazalari Raf va Mos; transkripsiya omillari - Jun, Ets1, Myc va boshqalar; va nihoyat siklin D1 (Prad1).

Ko'rinishidan, har bir neoplazmada batafsil tahlil signalizatsiya yo'llarining (proto-onkogenlar) kamida bittasida o'zgarishlarni aniqlaydi, bu siklinga bog'liq kinazalarning faolligini osish omillari doimiy ravishda qo'zg'atadi va ta'siridan qat'iy nazar hujayra bo'linishini boshlaydi.

Qizig'i shundaki, Cdk-Rb-E2F signalizatsiya yo'li nafaqat pRB, balki boshqa ko'plab bostiruvchi oqsillar tomonidan ham boshqariladi (17.2-rasm). Ulardan ba'zilari Cdk inhibitör bo'linmalari (CKI - Cdk inhibitorlari) bo'lib, ular turli hujayradan tashqari va hujayra ichidagi signallarga javoban hujayra siklini to'xtatishga vositachilik qiladi.

Onkogenlar TGFb ning ingibitor ta'sirini bostiradi

MYC yoki MDM2 proto-onkogenlarining haddan tashqari ekspressiyasi va Smad4, p15INK4b, pRb o'simtalarini bostiruvchi mutatsiyalarning inaktivatsiyasi bitta umumiy oqibatlariga olib keladi - hujayralar TGF-b ning inhibitiv ta'siridan qochadi.

TGF-b ning inhibitiv ta'siridan hujayrali qochish epiteliya o'smalari, xususan, ichak va oshqozon osti bezi saratoni rivojlanishi uchun juda muhim ko'rinadi

O'sma supressorlari bu gen bo'lib, uning mahsuloti hujayralardagi o'sma transformatsiyasining oldini olishni ta'minlaydi. Supressor genlarning oqsil mahsulotlari supressor oqsillar yoki anti-onkoproteinlar deb ataladi. (17.4-17.5-rasmlar). Bundan tashqari, antionkogenlar imikroRNKni kodlashi mumkin. Supressor genlar odatda o'simta shakllanishida fenotipik tarzda namoyon bo'ladigan inaktivatsiya mutatsiyalari bilan topiladi. Funktsional jihatdan supressor genlar onkogenlarga qarama-qarshi bo'lib, ko'pincha hujayra bo'linishi va o'sishini, shuningdek, otapoptozni salbiy tartibga soladi. Eng mashhur supressor oqsillar p53, pRb va PTEN hisoblanadi

Ma'lum bo'lgan o'smalarni bostiruvchi genlar

RBI, BRCA1

O'smani suppressor genlari haqidagi g'oyalarning ochilishi va rivojlanishi tarixi

Xatarli o'smalarning rivojlanishiga irsiy moyillik uzoq vaqtdan beri ma'lum bo'lsa-da, 1900 yilda Mendel qonunlari qayta kashf etilgandan

keyingina bu haqiqatni ilmiy tushuntirish mumkin bo'ldi. Bu vaqtga kelib, o'simta hujayralari o'zgargan xromosomalar to'plamiga ega ekanligi allaqachon ma'lum edi. Teodor Boveri saraton genetikasini tushunishga hissa qo'shdi: u hujayra bo'linishini rag'batlantiradigan xromosomalar mavjudligini va uni ingibirlovchi xromosomalar mavjudligini taklif qildi. Bugungi kunda biz ikkala turdagi genlarning haqiqatda mavjudligini bilamiz.



17.4-rasm. Retinoblastoma oqsilining uchlamchi tuzilishi.



Rasm. 17.5. DNK bilan p53 oqsil kompleksi

CDKN1A

Odamning CDKN1A geni siklinga bog'liq kinaz ingibitorini kodlaydi. Ushbu oqsil p21, Cip1, Waf1 sifatida ham tanilgan. U siklin/tsiklinga bog'liq kinaz komplekslari (birinchi navbatda CDK1 va CDK2) bilan bog'lanadi va ularning faoliyatini modulyatsiya qiladi. O'ziga xos ta'sir inhibitorning kontsentratsiyasiga bog'liq: past kontsentratsiyalarda p21 proliferatsiyani rag'batlantiradi, yuqori kontsentratsiyalarda esa G1 fazasida hujayra siklini to'xtatishga olib keladi. Bundan tashqari, p21 hujayralarni apoptozdan himoya qiladi. Ya'ni, sharoitga qarab, CDKN1A onkogenga qarshi yoki onkogen rolini o'ynashi mumkin.

CDKN1A geni odatda xatarli o'smalarda to'liq inaktivlashtirilmaydi. Kanserogenezda p21 ning aniq roli hali to'liq aniqlanmagan. Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, ba'zi turdagi o'smalarda p21 yo'qolishi omon qolish imkoniyatining pastligi belgisidir. Biroq, hujayralardagi ushbu oqsilning kontsentratsiyasining oshishi o'simtaning agressivligi va uning metastaz qilish qobiliyati bilan ijobiy bog'liq bo'lgan holatlar mavjud. Bu, ayniqsa, p21 hujayra yadrosida emas, balki sitoplazmada to'plangan holatlarga tegishlidir.

CDKN1B

Odam CDKN1B geni siklinga bog'liq bo'lgan boshqa kinaz ingibitori CDKN1B yoki p27 (Kip1) ni kodlaydi. Bu oqsil hujayra siklining borishini tartibga soladi va uning G1 fazasida toxtashi uchun javobgardir. CDKN1B siklin A / siklinga bog'liq kinaz 2 va siklin E / siklinga bog'liq kinaz 2 komplekslarining faolligini ingibirlaydi.

CDKN1B genidagi mutatsiyalar odamlar va kalamushlarda endokrin bezlarning ko'plab o'smalarining rivojlanishiga moyillikni keltirib chiqaradi. Bir oilada tasvirlangan ushbu kasallik IV turdagi ko'p endokrin neoplaziya deb ataladi.

CDKN1B genining ma'lum allel variantlari va prostata saratoniga moyillik o'rtasida bog'liqlik o'rnatildi. Yagona nukleotid polimorfizmining variantlaridan biri 326T/G (V109G) almashinuvidir. 326T varianti uchun homozigotlik rivojlangan prostata karsinomasini rivojlanish xavfi bilan bog'liqligi ko'rsatilgan. Yana bir misol -79C/T polimorfizmi, odamning genotipida C allelining mavjudligi prostata va boshqa organlar saratoni rivojlanish xavfining oshishi bilan bog'liq.

PTEN

Odamlardagi PTEN geni oqsil va lipid substratlariga nisbatan faol bo'lgan bir xil nomdagi PTEN (fosfataza va tensin gomologi) fosfatazasini kodlaydi. Bu gen birinchi marta saratonning har xil turlarida tez-tez mutatsiyaga uchraganligi aniqlangan.



Rasm. 17.6. Odam fosfatazasi PTENning tuzilishi. N-terminal fosfataza domeni (chapda) va C-terminal C2 domeni (o'ngda) ko'rsatilgan.

17.2 Monogen irsiyatga ega bo'lgan oilaviy havfli o'smalar

Hozirgi vaqtda malign neoplazmalarning 100 ga yaqin shakllari ma'lum, ularning moyilligi monogenik tarzda irsiylanib o'tadi. Ularning aksariyati kamdan-kam uchraydi. Irsiylangan turi odatda autosomal dominant bo'ladi, lekin DNK ta'miridagi nuqsonlar (masalan, pigmentli kseroderma, Fanko-ni anemiyasi, ataksiya-telangiyektaziya) tufayli kelib chiqqan havfli neoplazmalar autosomal retsessiv tarzda irsiylanib o'tadi.

Avtosomal dominant shakllarning rivojlanishi uchun mas'ul bo'lgan genlarning ko'pchiligi suppressor c genlardir (17.1-jadval).

17.1-jadval O'smalar supressor genlari mutatsiyalarini keltirib chiqaradigan oilaviy havfli neoplazmalar.

| Kasallik | Gen | Joylashishi | O'sma |
|--|---------|---------------|---|
| Gorlin – Goltz sindromi | PT | 9q22.3 | Bazal hujayrali karsinoma, kistalar |
| | CH | | Pastki jag', medulloblastoma |
| Oilaviy ko'krak saratoni turi 1 | BR CA1 | 17q21 | Ko'krak, tuxumdon, yo'g'on ichak, prostata saratoni |
| Oilaviy ko'krak saratoni turi 2 | BR CA2 | 13q12.3 | Ko'krak saratoni (ayollar va erkaklar) |
| Oilaviy melanoma | CD KN2A | 9p21 | Melanoma, oshqozon osti bezi saratoni |
| Yo'g'on ichakning adenomatoz polipozi | AP C | 5q21q22 | Adenomatoz poliplar va yo'g'on ichak saratoni |
| Retinoblastoma | RB 1 | 13q14.1q14.2 | Retinoblastoma, osteogen sarkoma |
| Nefroblastoma (Wilms shishi) | WT 1 | 11p13 | Nefroblastoma, WAGR sindromi |
| Ko'p ekzostoz I turdagi xondrodisplaziya | EX T1 | 8q24.11q24.13 | Ekzostoz, xondrosarkoma |
| Ley - Fraumeni sindromi | TP5 3 | 17p13.1 | Sarkomalar, ko'krak saratoni |
| Neyrofibromatoz I turi | NF 1 | 17q11.2 | Neyrofibromalar, neyrofibrosarkomalar, miya опухоли |
| Neyrofibromatoz II turi | NF 2 | 22q12.2 | Koxlear asabning shvannomasi, miya pardasi переддверно-ома |
| Tuberoz skleroz turi 2 | TS C2 | 16p13.3 | Angiofibroma, buyrakning angiomyolipomasi |
| Hippel-Lindau kasalligi | VHL | 3p26p25 | Shaffof hujayrali buyrak saratoni, feokromotsitoma, retinal angioma, gemangioblastoma |

a WAGR - nefroblastoma, aniridiya, gipogonadizm, aqliy zaiflik.

Ushbu genlar quyidagilar bilan tavsiflanadi:

- irsiy mutatsiyalar odatda bitta allelning funksiyasini bostiradi;
- o'simta hujayralarida qolgan normal allel ham somatik mutatsiya natijasida buziladi;

- Odatda, supressor genlar hujayra proliferatsiyasini ingibirlaydi yoki ularning differentsiatsiyasini rag'batlantiradi.

13-xromosomada joylashgan retinoblastoma geni (RB1) o'sma supressor genning tipik namunasidir. Retinoblastoma sezuvchanligining otosomal dominant irsiy bo'lgan oilalarda odatda ushbu genning bir allelida funktsiyani bostiruvchi mutatsiya mavjud. O'simta hujayralarining DNK tahlili ikkinchi allelning ham zararlanganligini ko'rsatadi.

Retinoblastomaning sporadik holatlari ham mavjud bo'lib, ularda o'simta odatda bir ko'zga ta'sir qiladi va kasallikning oilaviy shakliga qaraganda biroz kattaroq yoshda paydo bo'ladi. Irsiy moyillik bo'lmasa, hujayradagi RB1 genining ikkala alleliga zarar etkazadigan ikkita somatik mutatsiya tufayli retinoblastoma rivojlanadi.

O'sima supressor genlar TP53 genini ham o'z ichiga oladi (17-xromosomaning qisqa qo'lida lokalizatsiya qilingan, p53 oqsilini kodlaydi), mutatsiyalari ko'pincha qattiq o'simta hujayralarida uchraydi. Boshqa genlardan farqli o'laroq, o'sma supressorlari, dominant-salbiy noto'g'ri mutatsiyalar ko'pincha TP53 genida yuzaga keladi va bitta mutatsiya natijasida ikkala allelning funktsiyasi bostiriladi.

TP53 genidagi mutatsiyalar inson o'smalarining taxminan yarmida uchraydi. TP53 irsiy mutatsiyasi og'ir oqibatlariga olib kelishi ajablanarli emas: sarkomalar, miya shishi va leykemiya rivojlanishi bilan tavsiflangan Li-Fraumeni sindromi.

Ko'pincha, malign neoplazmalarning oilaviy shakllarini keltirib chiqaradigan genlarning kashfiyoti hujayra proliferatsiyasini normal tartibga solish mexanizmlarini yaxshiroq tushunishga imkon beradi. Shunday qilib, odamning eng keng tarqalgan autosom dominant kasalliklaridan biri bo'lgan I turdagi neyrofibromatozni o'rganishda pozitsion klonlash yo'li bilan 17-xromosomaning uzun qo'lida joylashgan mutant NF1 geni topildi. Neyrofibromatozning I turi bilan terida kafe-au-lait dog'lari va neyrofibromalar paydo bo'ladi, iris hamartomalari (Lisch tugunlari), neyrofibrosarkoma va gliomaga moyillik ham xarakterlidir.

NF1 geni Ras oqsillari faoliyatini tartibga soluvchi neyrofibromin oqsilini kodlaydi. Neyrofibromin - bu GTPaz faollashtiruvchi oqsil bo'lib, Ras oqsillarini (bu oqsil bilan bog'langan GTPni YaIMga gidrolizlash orqali) faol, hujayra proliferatsiyasini ogohlantiruvchi shakldan nafaol shaklga aylantiradi. NF1 genining ikkala allelini yo'qotish (biri irsiy, ikkinchisi somatik mutatsiya natijasida) hujayraning haddan tashqari ko'payishiga yordam beradi, chunki Ras oqsillari hozir doimiy ravishda faollashgan holatda.

Achitqilarda NF1 ga gomolog genlar ham mavjud (shuningdek, 17.1.(84.1)-jadvalda keltirilgan ko'plab boshqa genlar).

Garchi autosom dominant saratonlarning aksariyati o'smani supressor genlardagi mutatsiyalar tufayli yuzaga kelgan bo'lsa-da, bu qoidaga bir nechta e'tiborga molik istisnalar mavjud. Masalan, gipofiz adenomalari, medullar qalqonsimon saraton va (ba'zi oilalarda) feokromotsitoma rivojlanishi bilan tavsiflangan avtosomal dominant kasallik bo'lgan MEN II turi 10-xromosomada joylashgan RET proto-onkogenini faollashtiradigan mutatsiyalarga asoslangan. Qizig'i shundaki, RET funksiyasini bostiradigan mutatsiyalar butunlay boshqa patologik fenotipning shakllanishiga olib keladi - Xirshsprung kasalligi (yo'g'on ichakning tugma aganglionoz), bunda distal yo'g'on ichakning devorida ichak neyronlari yo'q. Bu aganglionik qism doimiy spazm holatidadir, chunki intramural neyronlarning odatda ichakning silliq mushaklariga ta'sir qiladigan ingibir ta'siri yo'q.

Yo'g'on ichak saratoni, moyilligi autosom dominant tarzda meros bo'lib, ba'zida yo'g'on ichakning adenomatoz polipozi fonida yuzaga keladi. Ikkinchisi odatda genning mutatsiyasidan kelib chiqadi

Biroq, ko'p hollarda, irsiy yo'g'on ichak saratoni o'zgarmagan epiteliyadan rivojlanadi.

Polipozsiz irsiy yo'g'on ichak saratoni - Linch sindromi tashxisi odatda oilada kamida ikki avlodda yo'g'on ichak saratoni bilan kasallanganda, kamida uchta bemorda bo'lsa va kamida bitta bemorga 50 yoshga to'lgunga qadar saraton tashxisi qo'yilgan bo'lsa qoyiladi. Ba'zi ma'lumotlarga ko'ra, Linch sindromining tarqalishi 1:200 ni tashkil qiladi. Linch sindromi odatda juftlashtirilmagan DNK nukleotidlarini reparasiyasida ishtirok etadigan to'rtta gendan biridagi mutatsiyalar natijasida yuzaga keladi (17.2-jadval). Linch sindromidagi genetik kasalliklar.

17.2-jadval (Harrison) Linch sindromidagi genetik kasalliklar

| Gen | Bemorlar soni, % |
|-------------|------------------|
| <i>MSH2</i> | 31 |
| <i>MLH1</i> | 33 |
| <i>PMS1</i> | 2 |
| <i>PMS2</i> | 4 |

Liu B. et al, Nature Med 2:169, 1996.

Ushbu genlar replikatsiyadan keyingi erta DNK ta'mirlash tizimining tarkibiy qismlaridir.

Linch sindromidagi o'simta hujayralari aniq genomik beqarorlik bilan tavsiflanadi, ayniqsa qisqa tandem takrorlanish mintaqasida (mikrosatellit DNK), masalan, Linch sindromi bilan og'rigan bemorlarning o'simta hujayralarida dinukleotid takrorlanish uzunligining beqarorligidir.

Proto-onkogenlar: faollashtirish mexanizmlari, DNK bo'limlarining amplifikasiyasi.

DNK bo'limlarini amplifikasiyasi ekspressiyaning kuchayishi tufayli onkogenlarning faollashishiga olib keladi. DNK fragmenti nusxalari sonining ko'payishi sitogenetik jihatdan oddiy xromosomalarning bir xil bo'yalgan qismlari yoki qo'sh mikro xromosomalar deb ataladigan qo'shimcha juft kichik xromosomalar sifatida aniqlanadigan o'ziga xos xromosoma aberratsiyasining paydo bo'lishi bilan birga bo'lishi mumkin. Taxminlarga ko'ra, o'simta hujayrasida ma'lum bir joyning DNKsining kuchayishi unga normal hujayralarga nisbatan ustunlik beradi, bu tezlashtirilgan o'sishda yoki o'smaga qarshi dorilarga qarshilik kuchayishida namoyon bo'ladi.

Kuchaytirilgan DNK hududlarini identifikatsiyalash qiyosiy genomik duragaylash deb ataladigan ikki rangli floresan in situ gibrizatsiya texnikasi yordamida sezilarli darajada osonlashadi. DNK o'simta va oddiy to'qimalardan ajratiladi, turli xil floresan bo'yoqlar bilan etiketlanadi va oddiy metafaza xromosomalari bilan gibrizlanadi. Duplikatsiyalar va deletsialarni o'z ichiga olgan o'simta hujayralari DNKsining hududlari floresan intensivligining o'zgarishi bilan tan olinadi. Ushbu usul sizga butun genomni tekshirish va xavfli o'smalarning rivojlanishida ishtirok etgan genlarni o'z ichiga olgan xromosoma qismlarini aniqlash imkonini beradi.

Inson o'simta hujayralarida ko'plab genlar kuchayishi aniqlangan. Bir nechta proto-onkogenlar (jumladan, MYCN) o'simta hujayralarining kuchaytirilgan DNK hududlarida mavjudligi, shuningdek, ma'lum onkogenlarga o'xshashligi tufayli aniqlangan. Ba'zi turdagi havfli o'smalarda (ayniqsa, sarkomalarda) yuz minglab nukleotidlardan iborat kengaygan hududda bir nechta onkogen bo'lishi mumkin.

12-xromosomada DNK mintaqasining amplifikasiyasi turli odam sarkomalarida va neyroblastomalarda aniqlangan.

MDM2, GLI (glioma bilan bog'liq onkogen gomologi), CDK4, SAS (Gen: [12q1/SAS] shuningdek, hujayra proliferatsiyasini boshqaradigan boshqa genlar ko'pincha bir vaqtning o'zida amplifikatsiyalanadi.

Ba'zi havfli neoplazmalar uchun klinik ko'rinishlar va genlarning kuchayishi o'rtasidagi bog'liqlik kuzatilgan (ayniqsa, ko'krak bezi saratoni va MYCN neyroblastomadagi ERBB2 geni); hujayra proto-onkogenining kuchayishi odatda yomon prognozni ko'rsatadi. Genni amplifikatsiyasi o'sma hujayralarini kimyoterapiyaga chidamli qilishi mumkin. Shunday qilib, digidrofolat reduktaza faolligini ingibirlash metotreksat bilan davolash paytida hujayralar ko'pincha ushbu fermentni kodlovchi genning kuchayishi bilan paydo bo'ladi.

Har xil turdagi o'smalardan ajratilgan hujayra liniyalarida turli proto-onkogenlarning kuchayishiga ko'plab misollar mavjud: leykemiya hujayralarida smyc geni 20-30 marta kuchayadi va neyroblastomalarda miyeloid leykemiya hujayralarida cabl geni 10 marta kuchaytiriladi.

Qattiq o'smalarda ham kuchaytirilgan protoongenlar mavjud: epidermal karsinoma hujayralarida cerbB 15-20 marta va kolorektal karsinoma hujayralarida cmyc 30 marta kuchayadi. Yuqorida sanab o'tilgan ko'plab holatlarda kuchaytirilgan genlar butunlay normal mahsulotni kodlashi ko'rsatilgan.

Shunday qilib, onkogen faollashuv asosan kuchaytirilgan proto-onkogenning haddan tashqari ko'payishi natijasida yuzaga keladi.

DMX va GOO dagi ketma-ketliklarni o'rganish, ko'pincha o'sma hujayralari liniyalarida uchraydi, havfli transformatsiyani boshqaradigan yangi genlarni kashf etishga olib keldi.

DMX xromosoma moddasini o'z ichiga olgan o'z-o'zidan ko'payadigan kichik juft tanachalardir. Ularda sentromeralar yo'q, shuning uchun mitozda tasodifiy bo'linadi.

HOO (xromosomalarning bir hil bo'yalgan hududlari) xromosomalarda aniqlanadi va ma'lum bir xromosomaga xos bo'lgan

chiziqli tarqalish naqshini buzadigan bir xil bo'yalgan hududning paydo bo'lishi bilan tan olinadi. Bu hudud ko'pincha kengdir, bu esa o'z navbatida normaga nisbatan xromosomaning sezilarli darajada uzayishiga olib keladi.

Shunday qilib, ushbu usul bilan topilgan pro-onkogen HER-2/neu yoki c-erbB-2 o'rganilgan 257 ta adenokarsinomadan 58 ta holatda kuchaytirildi.

Neyroblastoma hujayralari genomining kuchaytirilgan hududlarini o'rganishda yana bir muhim kashfiyot myc oilasining yangi geni - N-mycning kashf etilishi edi. Uning kuchayishi Neyroblastoma bilan og'rigan o'rganilgan 63 bemorning 22 tasining hujayralarida kuchaytirilish aniqlandi: 12 bemorda 100-300 marta va 10 bemorda 3-10 marta, kasallikning yanada rivojlangan bosqichiga to'g'ri keladi..

Kichik hujayrali o'pka saratoni hujayralarida, bu oilaning yana bir geni kuchaytirilgan hududlarda topilgan - L-myc. Barcha uchta gen, c-myc, N-myc va L-myc ko'pincha o'pka shishi hujayralarida kuchaytirilgan shaklda topiladi. Shunday qilib, 31 ta o'pka o'simtasi hujayra chizig'ini o'rganayotganda, ularning 14 tasi ushbu genlardan birining kuchayishini ko'rsatdi va yuqori darajadagi amplifikatsiya ham havfli o'smaning ilg'or bosqichlariga xos edi.

Eslatib o'tamiz, myc oilasi genlarining oqsil mahsuloti miqdorining ko'payishi ko'plab o'smalarda va o'zgartirilgan hujayra liniyalarida kuzatiladi va turli sabablarga ko'ra (virusli integratsiya, translokatsiya) yuzaga kelishi mumkin. Bundan tashqari, mRNK va mic genlari oqsilining ortib borayotgan darajasi odam o'smalarida uning kuchayishi va o'ziga xos xromosoma translokatsiyasi bo'lmagan taqdirda ham topiladi.

Yuqorida aytilganlarning barchasidan ko'rinib turibdiki, ko'p hollarda faollashishi sifatli o'zgarishlar (struktura genidagi mutatsiyalar) tufayli yuzaga keladigan ras genlari oilasidan farqli o'laroq, myc oilasi genlarining onkogen potentsiali asosan aniqlanadi. oqsil mahsulotidagi miqdoriy o'zgarishlar bilan. Boradi.

Onkogenlar. Saraton rivojlanishida onkogenlarning roli.

Hayvonlar va odamlarning normal hujayralarida onkogenlarning topilishi ularning virusli bo'lmagan o'smalarning rivojlanishidagi mumkin bo'lgan roli, ya'ni turli tabiatdagi kanserogenlar tomonidan onkogenlarni faollashtirish orqali o'smalarning paydo bo'lishining yagona patogenetik mexanizmi masalasini ko'taradi. (kimyoviy, fizik, biologik). Evolyutsiya jarayonida malign o'simtaning shakllanishini

dasturlashtirgan genlar qanday qilib yo'q qilinmaganligi va hujayra genomining normal tarkibiy qismlari sifatida saqlanib qolganligi masalasi muhokama qilinadi. Taxminlarga ko'ra, onkogenlik ushbu genlar ta'sirining qo'shimcha mahsuloti bo'lib, faqat istisno hollarda o'zini namoyon qiladi, ammo ularning asosiy vazifasi hujayralarning normal ko'payishi va differentsiatsiyasi jarayonlarida ishtirok etishdir. Shunday qilib, c-ras onkogeni kalamushlarda jigar regeneratsiyasi vaqtida namoyon bo'lishi va regeneratsiya tugagandan so'ng o'zining dastlabki darajasiga qaytishi ko'rsatilgan. Onkogenlar embriogenez jarayonida ayniqsa muhim rol o'ynaydi. Hozirgi vaqtda qushlar, kemiruvchilar va maymunlar viruslarining o'sma hosil qiluvchi faolligini aniqlaydigan 40 ga yaqin onkogenlar aniqlangan. Inson xromosomalarida hujayrali onkogenlarning lokalizatsiyasi aniqlandi va ular nafaqat malign neoplazmalarda o'ziga xos o'zgarishlar mavjud bo'lgan xromosomalarda, balki ushbu qayta tuzilishlar bilan buzilgan joylarda ham lokalizatsiya qilinganligi aniq bo'ldi. Shunday qilib, surunkali miyeloid leykemiyada c-abl onkogen 9-xromosomadan 22-xromosomaga, Burkitt limfomasida esa c-myc geni 8-dan 14-ga ko'chiriladi. Ushbu o'ziga xos qayta qurishlarning ma'nosi shundaki, onkogen genomning faol hududlariga o'tkaziladi, bu esa onkogenning faollashishi bilan birga keladi. Haqiqatda, malignizatsiya jarayoni ancha murakkab va bir nechta onkogenlarning faollashishini talab qiladi, deb ishoniladi. Hozirgi vaqtda inson xromosomalarida 40 dan ortiq onkogenlarning lokalizatsiyasi aniqlangan, shu jumladan yuqorida qayd etilgan c-ab va c-myc onkogenlari (gen nomlari abl - Abelson sichqon leykemiyasi mos keladigan viruslar nomlaridan olingan uchta lotin harflaridan iborat) virus, myc - parranda miyelositomatoz virusi, src - Rous sarkomasi virusi, mos - Moloney sichqoni sarkomasi virusi va boshqalar). Quviq, o'pka, ko'krak, yo'g'on ichak, oshqozon osti bezi saratoni, neyroblastoma, B va T hujayrali limfoma, tolali rabdomiyosarkoma va boshqalar kabi odam o'smalari hujayralarida faollashtirilgan transformator genlar (onkogenlar) aniqlangan. Qon trombositlarining normal oqsil o'sish omili bilan onkogen ekspresyon mahsulotining o'xshashligini aniqlash muhim kashfiyot boldi. Bu onkogen tomonidan hujayralarning havfli transformatsiyasi odatda o'sishni rag'batlantiradigan mahsulotni haddan tashqari ishlab chiqarish orqali amalga oshirilishi mumkinligini ko'rsatdi. Agar, IF Seitz ta'kidlaganidek, u holda agar bunday qonuniy irsiylanish aniqlansa, havfli transformatsiyaning sababini sifat jihatidan emas, balki normal

fiziologik asosda o'sishni tartibga soluvchi mexanizmlardagi miqdoriy o'zgarishlarda izlash kerak bo'ladi. Ushbu tadqiqot sohasi juda tez rivojlanmoqda va ko'p bosqichli kanserogenezda onkogenlarning o'rni (onkogenning faollashishi faqat tetik, jarayonning qolgan bosqichlari esa avtonom rivojlanadi) kabi savollarga javob olish mumkin. , yoki har bir bosqich maxsus onkogeni faollashtirishni talab qiladimi); onkogen o'ziga xoslik darajasi (o'smaning har bir turi o'z onkogenidan kelib chiqadimi yoki bitta onkogen yoki onkogenlarning ba'zi birikmasi turli xil o'smalarning paydo bo'lishi uchun javobgar bo'lishi mumkinmi). Bu masalalarning yechimi bevosita amaliyot bilan bog'liq. Taqdim etilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, viruslarning odamda xavfli o'smalari paydo bo'lishida bevosita etiologik roli faqat alohida holatlarda isbotlangan (bu kattalardagi T-hujayrali leykemiya va, ehtimol, Afrika Burkitt limfomasi). Bir vaqtlar gipotetik proviruslar yoki protoviruslar orqali amalga oshiriladigan kanserogenezning yagona mexanizmi haqida tushunchalar ilgari surilgan. Hozirgi vaqtda virusli karsinogenez faqat kanserogenezning alohida holati sifatida ko'rib chiqiladi va har qanday etiologiyali o'smalarning paydo bo'lishida umumiy bo'g'in faollashuv, o'z hujayra genlarini (proto-onkogenlar) onkogenlarga aylantirish hisoblanadi.

17.3 O'smalarda xromosoma o'zgarishlari. Odamlarda saraton rivojlanishining sabablari.

Agar jinsiy hujayralarda xromosoma mutatsiyalari paydo bo'lsa, ular normal to'qimalarning barcha somatik hujayralarida va o'sma hujayralarida topiladi. Jinsiy hujayralar mutatsiyalari bilan bog'liq bo'lmagan malign neoplazmalarda normal to'qimalar normal karyotipni saqlab qoladi, ammo o'sma hujayralarining xromosomalari o'zgarishi mumkin va bu o'zgarishlar faqat ma'lum o'simta uchun xos bo'lishi mumkin. O'smalardagi o'ziga xos karyotip o'zgarishlarining birinchi misoli 1960 yilda Filadelfiya (Ph') xromosomasining surunkali miyeloid leykemiya (KML) hujayralarida topilgan bo'lib, uning paydo bo'lishi 22-xromosomaning uzun elkasidan. 9-xromosomaning uzun elkasiga transformasiyasi sababli kelib chiqadi..

Ushbu mutatsiya bemorlarning 70-90 foizida qayd etilgan, qolganlarida Ph' xromosomalari aniqlanmaydi va ulardagi kasallikning klinik kechishi, shuningdek, terapevtik aralashuvga javob biroz boshqacha. Jinsiy hujayralardagi mutatsiyalar bilan bog'liq bo'lmagan boshqa ko'plab xromosoma belgilari kabi pH xromosomasi irsiy

xususiyat emas, balki orttirilgan xususiyatdir. So'nggi o'n yarim yillikda har bir xromosomani alohida aniqlash imkonini beruvchi xromosoma preparatlarini tayyorlash va differentsial bo'yashning yangi usullari tufayli ba'zi odam o'smalari hujayralarida karyotipdagi o'ziga xos o'zgarishlar, asosan gematologik malign o'smalari aniqlandi. O'tkir miyeloid leykemiya (AML) 8-xromosoma qismining 21-xromosomaga yoki 6-dan 9-xromosomaga ko'chishi sodir bo'ladi. Maxsus xromosoma o'zgarishlari o'tkir promielotsitar, monoblastik va limfoblastik leykemiya, Burkitt limfomasi va boshqalarda aniqlangan. Suyak iligi hujayralarida tashxis qo'yish vaqtida bo'lmagan ba'zi o'ziga xos xromosoma anomaliyalari kasallikning keyingi bosqichlarida, ya'ni o'simtaning rivojlanishida namoyon bo'ladi. masalan, CMLda 6 va 9-xromosomalar orasidagi translokatsiyalar. Xuddi shunday xromosoma anomaliyalari ma'lum nozologik shakldagi barcha o'smalarda emas, balki ularning ayrim guruhlarida uchraydi va terapevtik remissiyalarni osonroq beradi va karyotipdagi turli xil atipik o'zgarishlarga ega. Leykemiya hujayralarining karyotipi mustaqil prognostik belgi bo'lishi mumkin. odamning qattiq o'smalarining karyotipi uslubiy qiyinchiliklar tufayli hali etarlicha o'rganilmagan. Retinoblastomalarda karyotipdagi o'zgarishlar katta qiziqish uyg'otadi. Ushbu kam uchraydigan (1/20-30 ming) o'simtaning irsiy (autosoma dominant) va sporadik shakllari mavjud. Retinoblastoma paydo bo'lishi uchun ikkita mutatsiya kerak, deb ishoniladi. Agar 1-mutatsiya prezigotik (jinsiy hujayralarda), 2-mutatsiya somatik (retinoblastda) bo'lsa, u holda o'simta irsiy xususiyat sifatida namoyon bo'ladi, ikki tomonlama yoki ko'p fokaldir. Retinoblastdagi ikkita mutatsiya bilan sporadik bir tomonlama shish paydo bo'ladi. Ko'p hollarda retinoblastomalar qo'shimcha 6-xromosomaga ega bo'lib, ularda 2 ta onkogen lokalizatsiya qilinadi. Yuqorida aytib o'tilganidek, o'smalarda xromosomalarning qayta tuzilishi xromosomalarning onkogenlar lokalizatsiya qilingan hududlarida sodir bo'ladi. Shunday qilib, B-hujayrali limfomalarda onkogenlar translokatsiyalar paytida ko'chiriladi, shuning uchun ularning faollashuvi sodir bo'ladi, ya'ni malign o'smalarda xromosomalarning qayta tuzilishi, bu ikkinchi darajali hodisa emas, balki kanserogenezdagi bog'liqlikdir. Ko'pchilik tadqiqotchilar va mutaxassislar Hozirgi vaqtda xalqaro komissiyalar odamlarda xavfli o'smalarning asosiy qismi atrof-muhit omillari tufayli yuzaga kelishini tan olishadi. So'nggi 20 yil ichida o'tkazilgan ko'plab epidemiologik tadqiqotlar saraton paydo bo'lishida nafaqat alohida kanserogenlarning,

balki ovqatlanish va chekish kabi omillarning rolini aniqlashga imkon berdi. Yuqorida aytib o'tilganidek, laboratoriya hayvonlarida shish paydo bo'lishiga olib keladigan har qanday birikma odamlar uchun kanserogen xavf tug'diradi. Biroq, bu xavfning haqiqati faqat epidemiologik tadqiqotlar bilan isbotlanishi mumkin, ular barcha mumkin bo'lgan qo'shimcha omillarni istisno qilib, ushbu birikma va populyatsiyada o'smalar sonining kuzatilgan o'sishi o'rtasidagi etiologik bog'liqlikni shubhasiz aniqlaydi. An'anaviy "inson kanserogeni" atamasi aynan shu erdan kelib chiqqan - an'anaviy, chunki boshqa kanserogenlar ham, qoida tariqasida, odamlarda o'smalarni keltirib chiqarishi mumkin, ammo buning uchun hali aniq dalillar yo'q. Ushbu atamadan foydalanish "inson kanserogenlari" ga nisbatan amaliy ma'noga ega; ayniqsa, ishda yoki uyda ular bilan aloqani cheklash uchun qat'iy choralar ko'rish kerak va iloji bo'lsa, ularni butunlay taqiqlash yaxshiroqdir. Inson kanserogenlarini aniqlash bo'yicha ko'p ish IARC tomonidan amalga oshiriladi, u nashr etilgan epidemiologik tadqiqotlar natijalarini muhokama qiladigan turli mamlakatlardan ekspert komissiyalarini chaqiradi. Sanoat va dorivor kanserogenlar bo'yicha quyida keltirilgan ma'lumotlar bunday komissiyalarning xulosalariga asoslanadi. R. Doll va R. Petoning ishlari ham qo'llanildi, ular mavjud epidemiologik ma'lumotlarni umumlashtirib, Qo'shma Shtatlardagi malign neoplazmalardan umumiy o'limda turli etiologik omillarning rolini miqdoriy baholashga harakat qildilar.

17.4 Saraton rivojlanishining virusli nazariyasi. Virusli karsinogenez.

1908-1911 yillarda tovuqlarda leykemiya va sarkomaning virusli tabiati aniqlandi. Keyingi o'n yilliklarda qushlar va sutemizuvchilarda bir qator limfoid va epiteliya o'smalarining virusli etiologiyasi isbotlangan. Hozirgi vaqtda ma'lumki, tabiiy sharoitda, masalan, leykemiya tovuqlar, mushuklar, qoramollar, sichqonlar va gibbon maymunlarida viruslar keltirib chiqaradi. So'nggi yillarda odamlarda leykemiya rivojlanishiga sabab bo'lgan birinchi virusli patogen topildi - bu ATLV (kattalar T-hujayrali leykemiya virusi - kattalar T-hujayrali leykemiya virusi) Voyaga etgan T-hujayrali leykemiya endemik kasallikdir, dunyoning ikkita mintaqasi va Klushi orollarida va Yaponiya dengizidagi Shixokuda va Karib dengizi mamlakatlarining qora tanli aholisi orasida uchraydi. Ushbu limfoma bilan og'rikan bemorlar boshqa hududlarda vaqti-vaqti bilan topiladi, ammo ularning

ko'pchiligi endemik hududlar bilan bog'liq. Ushbu kasallik odatda 50 yoshdan oshgan odamlarda uchraydi, terining shikastlanishi, gepatomegali, splenomegali, limfadenopatiya bilan kichadi. ATLV yoki HTLV virusi odamlar uchun ekzogen bo'lib, hayvonlarning boshqa ma'lum retroviruslaridan farq qiladi, gorizontaal ravishda T hujayralariga onadan bolaga, erdan xotinga (lekin aksincha emas), qon quyish orqali uzatiladi va boshqa hech qanday virusda uchramaydi.

Shunday qilib, kattalardagi T-hujayrali leykemiya tipik yuqumli kasallikdir (virusning jinsiy hujayralar orqali vertikal uzatilishi maxsus tadqiqotlar bilan istisno qilingan). Endemik hududlarda amalda sog'lom odamlarning 20% dan ortig'i, asosan bemorlarning qarindoshlari virus tashuvchisi hisoblanadi. Dunyoning boshqa qismlarida virusga antitanalar kamdan-kam hollarda aniqlanadi. Taxminlarga ko'ra, kasallangan har 2000 kishidan 1 nafari kasal bo'lib qoladi. Afrikadagi maymunlarda ATLV dan ajratilmaydigan virus topildi. Limfoma (leykemiya) bilan bir qatorda, bu virus OITSGa olib kelishi mumkin, unda T-hujayra immuniteti buziladi. Virusli etiologiya boshqa ba'zi inson o'smalariga nisbatan ham shubha qilingan. Epstein-Barr virusi (EBV), herpes viruslari guruhining a'zosi, Burkitt lenfomasida yuqori ehtimoliy etiologik omili, EBV DNK muntazam ravishda Afrikadagi endemik o'choqlarda ushbu lenfoma hujayralarida aniqlanadi. Biroq, Burkittning limfomasi Afrikadan tashqarida uchraydi, ammo EBV DNK bunday holatlarning faqat ozchiligida topiladi. EBV-musbat va EBV-manfiy o'smalar umumiy xususiyatga ega bo'lgan xarakterli xromosomalarning qayta tuzilishi (8 va 14-xromosomalar orasidagi translokatsiya), bu o'smalarning umumiy etiologiyasining dalili sifatida qaraladi. Ushbu virusning DNKsi differentsiatsiyalanmagan nazofarengial karsinoma hujayralarining genomida topilgan, ammo boshqa gistogeneznining nazofarengial o'smalarida emas. Ushbu o'smalari bo'lgan bemorlarda EBV ning turli tarkibiy qismlariga antikorlarning yuqori titri qayd etilgan, bu aholi orasida bu ko'rsatkichlardan sezilarli darajada oshib ketgan - EBV keng tarqalgan va unga antikorlar sog'lom odamlarning 80-90 foizida topilgan. Limfogranulomatozli bemorlarda antikorlarning yuqori titri aniqlandi. Immunitetni bostirish va EBV faollashishi, ba'zi mualliflarning fikriga ko'ra, transplantatsiya qilingan bemorlarda limfomalar va immunoblastik sarkomalarning rivojlanishining asosiy sababidir. immunosupressiv dorilar ta'siriga uchragan zararlangan buyraklar, Bu EBV ga antikorlarning yuqori titri va o'simta hujayralari genomida EBV DNKni aniqlash bilan

quvvatlanadi. Bachadon bo'yni saratonining yuqumli (virusli) etiologiyasini ko'rsatadigan dalillar mavjud; bu saraton kasalligi jinsiy faollikning erta boshlanishi bilan sheriklarning tez-tez o'zgarishi bilan ko'proq bo'ladi; birinchi xotinlari ham ushbu kasallikdan aziyat chekkan erkaklarning ikkinchi xotinlarida ko'payadi. bir xil kasallik. Seroepidemiologik ma'lumotlarga asoslanib, ular herpes virusi II ning tashabbuskor sifatidagi roli haqida o'ylashadi; Kondiloma virusi ham shubha qilingan. Virusli gepatit B bilan kasallanish yuqori bo'lgan hududlarda gepatotsellyulyar saraton kasalligi ham ko'payadi. Boshqa tomondan, bu o'simta bilan og'rikan bemorlarda sog'lom odamlarga qaraganda gepatit B virusi uchun seropozitiv bo'lish ehtimoli ko'proq; ammo saratonning seronegativ holatlari ham mavjud. Virusli DNKni o'z ichiga olgan va uning antijenini ishlab chiqaradigan o'simta hujayralari liniyalari olindi. Umuman olganda, gepatit B virusining gepatotsellyulyar karsinomani qo'zg'atishdagi roli noaniqligicha qolmoqda. Papilloma viruslarining bir nechta turlari inson sigillaridan (*verrucae vulgaris*) ajratilgan bo'lib, ular faqat malign o'smaga moyil bo'lmagan yaxshi xulqli o'smalarni keltirib chiqaradi, deb ishoniladi. Bu viruslardan faqat bittasi (5-toifa) irsiy epidermodisplazi verruciformisda rivojlanadigan va malignizatsiyaga moyil bo'lgan papillomlardan ajratilgan. Dastlab, o'simta viruslari hujayralarni tartibga solinmasdan ko'payishiga olib keladigan yuqumli agentlar sifatida ko'rib chiqildi. Bundan farqli o'laroq, L.A. Zilber (1945) nazariyani ishlab chiqdi, unga ko'ra o'simta hosil qiluvchi virus genomi oddiy hujayra genomiga birlashib, uni o'simta hujayrasiga aylantiradi, ya'ni o'simta hosil qiluvchi viruslar o'z ta'sirida tubdan farq qiladi. yuqumli kasalliklardan. 70-yillarda oddiy hujayraning o'sma hujayrasiga aylanishi uchun zarur bo'lgan genlar o'smadan olingan RNK o'z ichiga olgan viruslar - transformator genlar yoki onkogenlarda topilgan. Keyinchalik, onkogenlarning nusxalari yoki analoglari turli hayvonlar va odamlarning normal hujayralarida (c-ops - "hujayra" - hujayrali onkogenlar) aniqlandi, keyin onkogenning virus genomiga integratsiyalashuv qobiliyati isbotlandi. Hozirgi vaqtda onkogenlar aniqlangan, ularning kimyoviy tuzilishi va xromosomalardagi joylashuvi aniqlangan. Proteinlar, bu genlar faoliyatining mahsulotlari ham aniqlangan, ularning har biri o'ziga xos oqsilni sintez qiladi.

17.5 Kanserogenlarning organotropizmi. Kanserogenlarning tropikligi.

Tizimli kanserogenlar organizmga kiritilganda, ular deyarli barcha a'zolar va to'qimalarga ta'sir qiladi va ularning faqat ba'zilarida shish paydo bo'ladi. Gepatotrop kimyoviy kanserogenlar, osteotrop radionuklidlar va boshqalar ma'lum. Organotropizm ayniqsa kanserogen nitrozo birikmalarida yaqqol namoyon bo'ladi. Nitrozometil- va nitrozoetiluriya, transplental yoki tug'ruqdan keyingi davrda ta'sirlanganda, kalamushlarda asab tizimi o'smalarining ko'p bo'lishiga olib keladi. Nitrozooksipropilamin me'da osti bezi o'smalarini, nitrozobutilamin siydik pufagi o'smalarini, dimetilsidrazin va indutestis ko'p kichik o'smalarini qo'zg'atadi. Kanserogen 1-piridil-3,3-dietiltriazin yuqori chastotada og'iz orqali yuborilganda kalamushlarda yurak nevromalarini, teri ostiga yuborilganda 1,2-dimetilgidrazin sichqonlarning ayrim shtammlarida buyrak kapsulasi sarkomalarini keltirib chiqaradi. Bu erda, qoida tariqasida, inyeksiya joyida shish paydo bo'lishiga olib kelmaydigan tizimli kanserogenlar alohida qayd etilgan. Radionuklidlar bilan taqqoslaganda, tizimli kanserogenlarning tropizmi ularning o'simta rivojlanadigan organlarda to'planishi bilan bog'liq deb o'ylash mumkin. Biroq, bu tasdiqlanmadi. Shunday qilib, metilxolantren sichqonlarga og'iz orqali yuborilganda, ular yuqori chastotali timus limfomalari va o'pka o'smalarini rivojlantirdilar, ammo kanserogenning eng yuqori kontsentratsiyasi tupurik bezlarida bo'lib, u erda o'smalar umuman paydo bo'lmaydi. Shu bilan birga, ma'lum bir organ ichida uch karsinogenning to'planishi, dozani yoki aloqa vaqtini oshirish orqali tabiiy ravishda o'smalarning paydo bo'lishini oshiradi. Kanserogen metabolitlar DNKning alkillanishiga olib keladi va hozirda ishonganidek, bu o'zaro ta'sirning karsinogenez uchun xos bo'lgan mahsuloti alkilguanindir. Ma'lum bo'lishicha, alkilguaninning uzoq muddatli davom etishi aynan shu kanserogen ta'sirida o'smalar paydo bo'lgan organlarda sodir bo'ladi. Bu nitrozoetiluriya etilguaninni ishlab chiqaradigan kalamush miya to'qimalarida namoyon bo'ldi, bu juda sekin chiqariladi. Ushbu mahsulot jigarda ham hosil bo'ladi, lekin u erdan tezda tozalanadi, nitrozometil yoki nitrozoetiluriyaning bir martalik ta'sirida jigar o'smalari paydo bo'lmaydi. Garchi bu qoida istisno bo'lmasa-da, alkilguaninning organdagi uzoq muddatli saqlanishi va unda o'smalar rivojlanishi o'rtasida bog'liqlik mavjud. Shuningdek, ular kanserogenlarning tropizmini organlarning proliferativ faolligidagi farqlar bilan bog'lashga harakat qilishdi. m bir xil kanserogen, ko'pincha

mos kelmaydi. 2-naftilamin va benzidin odamlarda va itlarda faqat bitta maqsadli organga ega - siydik pufagi. Sichqonlar va sichqonlarda bu moddalar boshqa organlarda va kamdan-kam hollarda siydik pufagida shish paydo bo'lishiga olib keladi. Buning sababi bu birikmalar almashinuvining o'ziga xos xususiyatlarida ko'rinadi, buning natijasida uroteliy uchun kanserogen bo'lgan metabolitlar sichqon va kalamushlarda emas, balki odamlarda va itlarda hosil bo'ladi. Ammo odamlarda ham, hayvonlarda ham to'liq tasodifiy holatlar mavjud: asbest plevra mezoteliomalarini, vinilxlorid esa jigar angiosarkomalarini keltirib chiqaradi, ya'ni kanserogenning sitotropizmi mumkin bo'lgan turdagi to'siqlardan kuchliroq bo'lib chiqadi. Odamlarda ko'plab kanserogenlar sabab bo'ladi. bir organning o'smalari va laboratoriya hayvonlarida - bir nechta, ammo ikkinchi holatda, qoida tariqasida, real sharoitlarda odamlarga ta'sir qiladigan dozalardan yuzlab marta yuqori dozalar qo'llaniladi. Shuni ta'kidlash kerakki, ko'plab kanserogenlar har qanday qabul qilish yo'li bilan qat'iy belgilangan organga nisbatan tropizmni namoyon qiladi. Shunday qilib, tamaki nitrozaminlari nafaqat og'iz orqali yuborilganda, balki teri ostiga va qorin bo'shlig'iga yuborilganda ham og'iz bo'shlig'i va qizilo'ngach saratonini keltirib chiqaradi. Odamning qizilo'ngach epiteliysi DNK bilan o'zaro ta'sir qiluvchi metabolitlarni hosil qilish bilan nitrozaminlar va PAHlarni metabollash qobiliyatiga ega ekanligi ko'rsatilgan. Kantserogenlarning organotropizmi o'simta qo'zg'alishida biologik substrat rolining yorqin namunasidir.

Politsiklik aromatik uglevodorodlar birikmalarning katta guruhi bo'lib, ular turli darajadagi kanserogen faollikka ega bo'lgan ko'plab moddalarni o'z ichiga oladi. PAH aralashmalari, masalan, kuyikish, ko'mir smolalari, mineral moylar va boshqalar uzoq vaqtdan beri inson kanserogenlari sifatida tan olingan, ular bilan ishlaydiganlarda teri, nafas olish yo'llari va kanserogen bilan bevosita aloqa qilish joylaridan uzoqda bo'lgan ba'zi organlarning o'smalarini keltirib chiqaradi. Benzo(a)piren (BP) PAH ko'rsatkichi sifatida ishlatiladi va deyarli har doim boshqa PAHlar ham mavjud bo'lgan joylarda topiladi. Biroq, atrof-muhit ifloslanishida BP ning nisbiy tarkibi kichik. Shunday qilib, avtomobil chiqindi gazlarida 100% sifatida qabul qilingan barcha PAHlar yig'indisiga nisbatan BPning o'rtacha nisbiy konsentratsiyasi 2,8%, ftorit - 25,3%, xrizin - 14,8% edi. Bu Kaspiy va Boltiq dengizlari suvlaridagi PAH tarkibini o'rganish orqali tasdiqlandi, bu erda suv qatlamidagi BP miqdori 0,7%, pastki cho'kindilarda esa - barcha PAHlar

yig'indisiga nisbatan 3,7%. Ba'zi dengiz va daryo organizmlarining BPni to'plash qobiliyati ko'rsatildi. Albatta, ma'lum bir muhitga kiradigan kanserogenlar unda hech qanday o'zgarishlarga duch kelmaydi deb o'ylamaslik kerak. Atmosfera havosida BPning buzilishi ultrabinafsha nurlanish ta'sirida, tirik organizmlarda - to'qimalarning mikrosomal fermentlari ta'sirida, tuproq va suvda - mikroblarning hayotiy faoliyati natijasida sodir bo'lishi mumkin. PAHlar asosan mahalliy kanserogenlardir. Teriga surtilganda ular epidermisdan yoki teri qo'shimchalaridan kelib chiqadigan epiteliy o'smalarini, oshqozon trubkasi orqali yuborilganda - papillomalar va oshqozon kirish yo'llarining skuamoz epiteliy bilan qoplangan (lekin bezli oshqozon emas) karsinomalarini keltirib chiqaradi. intratraxeal - o'pkaning epiteliy o'smalari. Bularning barchasida sarkomalar ham rivojlanishi mumkin. Sarkomalar PAH in'ektsiya joyida teri ostiga yoki yumshoq to'qimalarga osonlik bilan induktsiya qilinadi. Deyarli har qanday organning o'smalari PAHlarning mahalliy ta'sirida paydo bo'lishi mumkin. Hozirgi vaqtda bu birikmalar faqat prokarsinogenlar ekanligi, ko'plab to'qimalar, shu jumladan epiteliy va teri fibroblastlari tomonidan ham in vivo, ham in vitro metabolizatsiyasi ishonchli tarzda isbotlangan. BP ning metabolik o'zgarishlarining bir qancha yo'llari mavjud bo'lib, ular natijasida ba'zi yakuniy kanserogenlar (BP uchun bu dihidrodiol epoksidlar), boshqalari natijasida - kanserogen bo'lmagan fenollar, xinonlar va boshqalar hosil bo'ladi. faol PAH metabolitlari sitoxrom P-450, epoksid gidrataz fermenti va yadro membranalarida lokalizatsiya qilingan ferment tizimini o'z ichiga olgan NADPHga bog'liq monooksigenazlar fermenti tizimi tomonidan amalga oshiriladi.

Endogen kanserogenlar haqidagi ta'limot L. M. Shabad va boshqalarning ishlarida eksperimental dalillarni oldi. saraton kasalligidan vafot etgan odamlarning jigaridan benzol ekstraktida kanserogen faollikni aniqlash bo'yicha. Ushbu ta'limot triptofan, metoksiindollar, tirozin metabolitlarining aromatik hosilalarida kanserogen faollikning aniqlanishi va shunga mos ravishda har xil turdagi o'smalari bo'lgan bemorlarda aromatik aminokislotalarning buzilgan metabolizmining aniqlanishi munosabati bilan o'ziga xos mazmun bilan boyitilgan. Ayniqsa, M O Raushekbax (1977) va uning hamkasblari tomonidan keng ko'lamlari va ko'p qirrali tadqiqotlar olib borildi. Ushbu ta'limotning muhim bosqichi qovuq saratonni rivojlanishida aromatik triptofan hosilalarining etiologik rolini aniqlash edi. Bemorlarning siydigida 3-gidroksikinurenin va 3-gidroksiantranil

kislotani aniqlash va ularning qovuq o'smalarini qo'zg'atish qobiliyati o'rtasida ma'lum bir bog'liqlik aniqlandi. Adabiyotda bu haqda juda ko'p xabarlar mavjud va ko'plab patologik sharoitlar (taxminan 30 turdagi patologiya), triptofan va tirozin almashinuvidagi buzilishlar aniqlangan. Albatta, faqat triptofan yoki tirozin metabolizmidagi buzilishlar uzoq davom etadigan va uzoq vaqt davom etadigan vaziyatlarni hisobga olish kerak, chunki eksperimental tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, triptofan yoki tirozin metabolitlarining kanserogen faolligi faqat uzoq vaqt davomida namoyon bo'ladi. hayvonlarga muddatli foydalanish. Ko'rinib turibdiki, ovulyatsiyani nazorat qilish uchun estrogenlardan uzoq muddatli foydalanish, irsiy B6 vitamini etishmovchiligi, irsiy tirozinuriya, dorivor maqsadlarda glyukokortikoidlarni uzoq muddatli qo'llash va B6 antagonist dori-darmonlari e'tiborga loyiqdir. Ko'pchilik ayollar estrogenlarni profilaktika maqsadida yillar davomida ishlatishadi. Epidemiologik tadqiqotlar jigar, bachadon bo'yni va endometrium saratoni bilan kasallanishning ko'payishini ko'rsatdi. Bundan tashqari, ko'p miqdorda gidroksifenillaktik kislota chiqaradigan irsiy tirozinemiya bilan og'riqan bemorlarda gepatomlar tez-tez rivojlanishi ma'lum. Kanserogen bo'lmagan metabolitlar (antranilik kislota, fenilaktik kislota) bunday xususiyatlarga ega emas. Bunday holda, tirozin aminotransferaza va triptofan oksigenaza induksiyasi o'zaro kanserogen metabolitlar orqali amalga oshirilishi mumkin. Shunday qilib, hosil bo'lgan kanserogen metabolitlar bir xil endogen kanserogenlarning keyingi shakllanishi va to'planishiga olib keladigan zanjir reaksiyasining bir turi paydo bo'ladi. Gidroksifenillaktik kislota inson embrion hujayralariga ta'sirini o'rganishda o'ziga xos ta'sirga erishildi. Ma'lum bo'lishicha, bu kanserogen metafaza inhibitori bo'lib, kolxitsin ta'siriga o'xshash patologik mitozlarni keltirib chiqaradi. Kimyoviy kanserogenlarning mumkin bo'lgan ta'sir mexanizmlaridan biri bu ularning zanjirli radikal oksidlanish reaksiyalarini keltirib chiqarish qobiliyatidir. So'nggi paytlarda metil oleat peroksidlanishining namunaviy tizimi bo'yicha in vitro tajribalari tirozin, triptofan va serotoninning kanserogen metabolitlari (gidroksifenillaktik, 3-gidroksiantranil, 5-metoksi-3-indolilatsetik kislota) esa ularning o'xshash bo'lmagan peroksidlanish jarayonini tezlashtirishi aniqlandi. yoki oksidlanish tezligiga ta'sir qilmaydi yoki uni inhibe qiladi. Shunday qilib, inson organizmida endogen kanserogenlarning hosil bo'lish mexanizmlari va shartlari isbotlangan, ular sof shaklda ajratib olinadi va sintezlanadi va tajribalarda kanserogen faollikka ega. Bu faollik kichik,

hayvonlarda o'smalar uzoq yashirin davrdan keyin paydo bo'ladi, o'smalarning spektri spontanga yaqin, bu ularning hayvonlarda o'z-o'zidan paydo bo'lishidagi rolini ko'rsatadi.

17.6 Onkogenlarning ochilishi va umumiy tavsifi

O'sma hosil qiluvchi viruslarda onkogenlar mavjudligining nazariy asoslari 60-70-yillarga to'g'ri keladi. Bunday bayonotlar bir nechta ishlarda berilgan, ammo molekulyar biologik tadqiqotlarning keyingi rivojlanishiga eng katta ta'sir ko'rsatgan R. Huebner va G. Todaro (1969) ning retroviruslarning doimiy tarkibiy qismi sifatida virusli onkogen (RNK o'z ichiga olgan) haqidagi gipotezasi bo'lgan. onkogen viruslar - onkoviruslar).

Ularning fikriga ko'ra, onkovirus (virogen, shuningdek, onkogenni o'z ichiga olgan) genomi dastlab qushlar va sutemizuvchilarning barcha normal hujayralari (jumladan, reproduktiv hujayralar) DNKsida mavjud bo'lib, ota-onadan avlodga vertikal ravishda uzatiladi.

Har qanday o'sma jarayoni, ularning fikriga ko'ra, virogenning bir qismi sifatida onkogenning faollashishiga to'g'ri keladi. Bir oz oldinga qarab, aytish kerakki, R. Huebner va G. Todaroning ko'plab farazlari allaqachon isbotlangan. Shu bilan birga, N. M. Temin (1971) protovirus gipotezasiga ko'ra, ularning endogen virusda onkogenning doimiy mavjudligi va faraziy universal proviruslar yoki protoviruslarning mavjudligi haqidagi taxminlari tasdiqlanmadi. 1970 yilga kelib, turli xil eksperimental tizimlarda o'tkazilgan tajribalarda olingan ko'plab faktlar to'plandi. Ushbu ma'lumotlar o'simta viruslarining onkogen va transformatsion faolligi namoyon bo'lishi uchun ularning genomining faqat bir qismi kerakligini aniq ko'rsatdi.

Ma'lum bo'lishicha, nuqsonli DNK va RNK o'z ichiga olgan o'simta viruslari, ba'zi hollarda genomning 50% dan ko'prog'idan mahrum bo'lsa ham, transformatsiya va onkogen qobiliyatini saqlab qolgan.

D. Baltimor (1975) 70-yillarning o'rtalarida retrovirus genomlarining strukturaviy tashkil etilishi va faoliyati bo'yicha katta hajmdagi materiallarni umumlashtirib, ularning tarkibida quyidagi genlar mavjudligini taklif qildi: gag, pol, env va ons. Birinchi uchta gen, uning fikricha, hujayralardagi retroviruslarning ko'payishini ta'minlashi kerak edi. Onc geni (onkogen) virusning o'zgaruvchan kuchi uchun javobgardir. Haqiqatan ham, bu taxminlar eksperimental ravishda

tasdiqlangan va onkogen tushunchasi virusli karsinogenez mexanizmi haqidagi zamonaviy g'oyalarning asosini tashkil qiladi.

Onkogen DNK yoki RNK o'z ichiga olgan o'sma viruslarining o'ziga xos genidir, deb ishoniladi, mahsulot bu oddiy hujayraning o'simta hujayrasiga aylanishiga olib keladi va keyin o'zgartirilgan fenotipni saqlaydi.

Onkogenlarning tabiati va klassifikatsiyasi.

Virusli onkogenning hujayrali kelib chiqishi haqidagi taxminlar, mikroorganizmlarning transduksiyasi fenomeniga o'xshab, hujayradan o'simta bo'lmagan virus tomonidan ushlanib, shu bilan bu virusni onkogenga aylantiradi, N. P. Mazurenko tomonidan uzoq vaqt oldin ifodalangan. Bir oz boshqacha protovirus gipotezasi 1971 yilda N. M. Temin tomonidan ishlab chiqilgan bo'lib, uning asosi teskari transkriptaza edi.

Uning fikricha, barcha retrovirus genlar, shu jumladan onkogen ham organizmning individual rivojlanishi jarayonida hujayra genlaridan doimo yangidan kelib chiqadi. Va nihoyat, virus genomiga kiradigan hujayralarning bo'linishi va "ijtimoiy" xatti-harakatlarini tartibga solish uchun mas'ul bo'lgan diskret mustaqil, normal hujayrali genlar sifatida onkogenlar g'oyasi A. D. Altshteyn (1973, 1982) va R. tomonidan mustaqil ravishda ifodalangan.).

Onkogenlarning tabiatini eksperimental asoslash va shunga mos ravishda retroviruslarning blastomogen faolligi 1975 - 1978 yillarda J. M. Bishop laboratoriyasi tomonidan bir qator ishlarda taqdim etilgan. Ishlab chiqilgan uslubiy yondashuv molekulyar zondlar sifatida ishlatilishi mumkin bo'lgan individual virus genlariga, shu jumladan onkogenlarga mos keladigan DNK transkriptlarini olish imkonini berdi. Ushbu uslub tufayli RSV src genining 3[H]-DNK transkripti olindi, uning yordamida oddiy tovuq hujayralaridan DNKda molekulyar gibridlanish usuli har bir haploid genomda src onkogenining 1-2 nusxasini aniqladi. [Stehelin D. va boshqalar, 1976]. Shunday qilib, src tovuq Rous sarkomasi virusiga nukleotidlar ketma-ketligida homolog bo'lgan va src-DNK sifatida belgilangan DNK oddiy parranda hujayralari genomida topiladi. Bundan tashqari, endogen tovuq C tipidagi virusdan xoli parranda hujayralari ham src DNKni o'z ichiga olgan, ammo boshqa virusli genlarga mos keladigan ketma-ketliklardan mahrum ekanligi ko'rsatildi. Bundan tashqari, keyinchalik src-DNK ketma-ketligi Rous virusi bilan kasallanmagan barcha umurtqali hayvonlarning genomida topilganligi aniqlandi.

Boshqacha qilib aytganda, src genining hujayrali analogi juda konservativ gen bo'lib, turli turlarda 400 million yil davomida saqlanib qolgan, src-DNK ketma-ketligi oddiy (embrion va postembrional) hujayralarda, shuningdek o'simta hujayralarida (metilxolantr sarkomalar) biroz transkripsiyalanadi. Shunga o'xshash ma'lumotlar turli retroviruslarning onkogenlari yoki onkogenlarni o'z ichiga olgan molekulyar klonlarga nisbatan etiketli DNK transkriptlari yordamida olingan.

Dastlabki qiyosiy tadqiqotlar natijalariga ko'ra, turli retroviruslarning onkogenlari bir-biridan ancha farq qiladi. Misol uchun, Moloney va Kirsten sarkomasi viruslari onkogenlari, shuningdek, RSV onkogenlari, miyelotsitomatoz virusi MC29 va tovuqlarda buyrak o'smalarini keltirib chiqaradigan MH2 virusi o'rtasida hech qanday

Biroq, bu mutlaqo to'g'ri emas. Aniqlanishicha, Rous va Y73 sarkoma viruslarining src va yes genlari gibridlanish xususiyatlarida mutlaqo farq qiladi, aminokislotalar ketma-ketligida 70% homologiyaga ega va 93% homologiya kuzatiladigan 133 ta aminokislotalar ketma-ketligi mavjud.

Shunga o'xshash holat Xarvi va Kirsten kalamush sarkomasi viruslarining ras geni holatida topilgan: bu genlar DNK darajasida past homologiyaga ega, ammo bu genlarning mahsuloti, p21 oqsili o'xshashdir. Shunday qilib, so'nggi natijalar shuni ko'rsatadiki, individual virusli onkogenlar ko'p jihatdan hujayralilarga o'xshash va ko'plab mezonlarga ko'ra turli guruhlarda bir-biriga o'xshashdir.

Onkogenlar evolyutsiyasini keyingi o'rganish umurtqali hayvonlardan drozofila va nematodalar kabi filogenetik jihatdan uzoq turlarga olib keldi, ularda turli retroviruslarning onkogenlariga homolog bo'lgan ketma-ketliklar ham aniqlandi. Nihoyat, yuqorida aytib o'tilganidek, onkogenlarning hujayrali kelib chiqishi to'g'ridan-to'g'ri biologik tajribalarda ASV mutantlarining qisman o'chirilishi bilan tasdiqlangan. Shuni ta'kidlash kerakki, hujayra madaniyati bo'yicha in vitro tizimida bunday tajribalar muvaffaqiyatli bo'lmadi. Shunga o'xshash sharoitlarda src genida to'liq nuqsonli ASVlar ham transformatsion faollikni tiklamadi. Bu jarayon har doim ASV ning yovvoyi variantida virusli src uchlarida joylashgan ayrim hududlar mavjudligini talab qilgan. Ushbu terminal ketma-ketliklar genetik ma'lumotni rekombinatsiya qilish harakati uchun zarurmi yoki ularning src-DNKga biriktirilishi blastomogen xususiyatlarni aniqlaydimi yoki yo'qmi aniq emas.

Virusli genomlardan onkogenlarni ajratib olishning yuqoridagi usullariga qo'shimcha ravishda, ularni normal hujayralardagi identifikatsiyalash orqali transfeksiya usuli yordamida onkogenlarni ajratish usuli ishlab chiqilgan. Bu usul normal va o'simta hujayralaridan DNKni sichqon hujayralariga kiritishga asoslangan NIH/ 3T3, bir vaqtning o'zida o'zgartirilgan fenotipga ega bo'ladi.

NIH hujayralari bilan ishlashda ularning o'z-o'zidan o'tish qobiliyati yuqori bo'lganligi sababli alohida e'tibor talab qilinishiga qaramay, ushbu test tizimi qulay va juda asosli, chunki bu hujayralardagi individual genlarning ishlashi molekulyar biologik testlar yordamida kuzatilishi mumkin.

Bundan tashqari, fenotipik jihatdan NIH hujayralarining o'zgarishi aniq ajralib turadi. Oddiy hujayralardagi DNK odatda NIH/3T3 hujayra transformatsiyasiga o'simta hujayralari DNKsidan 10-100 baravar kamroq sabab bo'ladi. Ma'lum bir turdagi o'smaning ma'lum onkogenlar bilan bog'liqligi va onkogenning hujayra gomologi hujayra differentsiatsiyasining ma'lum bir bosqichida ifodalanganligi taxmin qilinadi.

NIH/3T3 hujayra liniyasi fibroblastlar bo'lganligi sababli, taklif qilingan tizim har doim ham boshqa gistogenez hujayralarini o'zgartiruvchi onkogenlar uchun samarali bo'lmasligi mumkin. Ehtimol, bu holat tufayli barcha biologik faol onkogenlar NIH / 3T3 hujayralarida aniqlanmaganligini istisno qilib bo'lmaydi. Qanday bo'lmasin, DNKning har xil turlarini transfeksiya qilish bo'yicha tajribalar natijalarini tahlil qilish uchun ushbu tizimning etarliligi masalasi ochiqligicha qolmoqda.

Onkogen - bu o'simta viruslarini o'z ichiga olgan DNK yoki RNKning o'ziga xos genidir, uning mahsuloti oddiy hujayraning o'simta hujayrasiga aylanishiga olib keladi va keyin o'zgartirilgan fenotipni saqlaydi.

Retrovirus onkogenlari, ularning tuzilishi, genomda joylashishi va hujayra gomologlari.

Molekulyar biologiyaning turli usullarini, xususan, genetik muhandislik usullarini, birlamchi strukturani cheklash xaritasini va tahlilini keng qo'llash qisqa vaqt ichida turli xil retroviruslar onkogenlarining tarkibiy va funksional tashkil etilishini o'rganishga imkon berdi (17.3-17.4-jadvallar).

src geni

ASV parranda sarkomasi retroviruslarining src onkogenining tuzilishi eng batafsil o'rganilgan: RSV ning turli shtammlari (Brian,

Shmidt - Ruppini, Praga), B77 virusi va rekombinatsiya natijasida olingan rASV guruhining barcha viruslari. ptdRSV mutantlarini c-src gen ketma-ketligi bilan qisman o'chirish (17.3-17.4-jadvallarga qarang. Retrovirus onkogenlari va ularning mahsulotlari).

src geni 1,5 kb hajmga ega va virus genomida 3-uchida lokalizatsiya qilingan src geni nafaqat fibroblastlarni, balki gematopoetik hujayralarni, xususan, limfoid hujayralarni ham o'zgartirishga qodir ekanligi ko'rsatilgan. Odam DNKsidagi c-src tuzilishi hayvonlarning hujayra DNKsidagi c-src tuzilishiga juda yaqin.

Onkogenlarning src oilasiga fps, yes va ros transformatsion genlar kiradi.

c-src ning tuzilishiga kelsak, qarama-qarshi ma'lumotlar olindi, ularga ko'ra c-srcdagi intronlar soni 5 dan 11 gacha. c-src ketma-ketligini o'z ichiga olgan hujayra genomi hududining darajasi to'liq aniqlanmagan. Tovuq hujayralaridan RSV, rASV va c-src ning ekzogen v-src hududlarini solishtirganda, turli xil kelib chiqadigan virusli onkogenlar va ularning hujayrali c-src bilan homologiyasi o'rtasidagi o'xshashliklar topildi.

Masalan, ushbu genni tashkil etuvchi 1578 ta nukleotidlar orasida A kichik guruhi viruslari, Shmidt-Ruppini shtammi RSV-SR-A va "qutqarilgan" virus ASVI441 viruslarida faqat 17 ta farq aniqlangan. Ikkala holatda ham src genining protein mahsulotining hajmi 526 aminokislotalardan iborat bo'lib, ular orasida faqat 6 ta aminokislotalar bir-biridan farq qiladi.

rASV ning v-src ekzonlari c-src bilan deyarli bir xil bo'lib chiqdi, bu "qutqarilgan" viruslar genomidagi onkogenlarning hujayrali kelib chiqishini aniq isbotlaydi. V-src va c-src ning COOH uchidagi aminokislotalar ketma-ketligi bir-biridan farq qilishi aniqlandi va bu, aftidan, v-src ning onkogen ta'sirini tushuntiradi [Swanstrom R. va boshq., 1983]. Birlamchi strukturaning qisman o'zgarishi zonasi kodlash hududida 5' uchidan genning 2/3 qismi masofada joylashganligi ko'rsatilgan.

Bu faktlarning barchasi retroviruslar genomiga hujayra src ketma-ketliklarining kiritilishi post-transkripsiya darajasida, ya'ni src geni mRNKning "o'zaro bog'lanishi" (splaycing) dan keyin sodir bo'lishi haqida muhim xulosa chiqarishga imkon beradi. Muqobil imkoniyat, ya'ni hujayra DNKsi darajasida rekombinatsiya, c-srcdagi intronlarning ko'pligi sababli dargumon deb hisoblanadi.

17.3-jadval - Ayrim virusli onkogenlarning xususiyatlari va proto-onkogenlar.

| Onkogen | Proto-onkogenning funksiyalari | Virus manbai | Ushbu virus tomonidan qo'zg'atilgan o'sma |
|--------------|--|--------------------|--|
| abl | Protein kinaz (tirozin) | Sichqoncha, mushuk | Leykemiya, sarkoma |
| erb- B | Protein kinaz (tirozin): epidermal o'sish omili (EGF) retseptorlari. Mutant o'sish omili retseptorlari doimiy ravishda proliferatsiya uchun signallar yuboradi | Tovuq | Eritroleykemiya, fibrosarkoma |
| fes | Protein kinaz (tirozin) | Mushuk, Tovuuq | Sarkoma |
| fms | Protein kinaz (tirozin)): koloniyani ogohlantiruvchi omil (M-CSF) retseptorlari | Mushuk | Sarkoma |
| fos, jun | AP1 oqsilini tartibga soluvchi genni tashkil etuvchi bog'langan mahsulotlar | Sichqon, Tovuuq | Osteosarkoma fibrosarkomasi |
| kit | Protein kinaz (tirozin) | Mushuk | Sarkoma |
| raf | RAS oqsili tomonidan faollashtirilgan protein kinaz (serin/treonin). | Tovuq Sichqon | Sarkoma |
| myc | HLH oilasidan oqsilni tartibga soluvchi gen. Faoliyatiga olib keladigan yadro omili doimiy hujayra bo'linishiga | Tovuq | Sarkoma, miyelotsitoma, karsinoma, parranda leykemiya va ko'plab odam va hayvonlar o'smalari |
| H-rac, K-ras | GTR - bog'lovchi oqsil, hujayra ichiga sitoplazmatik faollashtirilgan signal o'tkazgich, tarqalishiga olib keladi | Sichqon | Sarkomasi, eritroleykemiya |
| rel | NFkB bilan bog'liq proteinni tartibga soluvchi gen | kurka | Retikuloendomiyeoz |
| sis | Trombotsitlardan kelib chiqadigan o'sish omili - PDGF | Maymun | Sarkoma |
| src | Protein kinaz (tirozin), hujayra ichiga faollashtirilgan signal uzatuvchi, uning ko'payishiga olib keladi | Tovuq | Qushlarning sarkomasi va sutemizuvchilar |

Barcha retrovirus onkogenlari shartli ravishda ikkita asosiy guruhga bo'linadi:

1. mustaqil, o'z o'qish ramkasiga ega, tegishli proteinni kodlaydigan o'z RNKsi,

2. birlashtirilgan, boshlang'ich kodoni boshqa gen ichida joylashgan, odatda gag geni, virion yadrosining tarkibiy oqsilini kodlaydi.

Shuning uchun termoyadroviy onkogenning oqsil mahsuloti ham gag determinantlarini, ham noyob antigenik determinantlarni o'z ichiga oladi. Shuni ta'kidlash kerakki, turli retroviruslarda bir xil onkogen turli xil tuzilishga ega bo'lishi va turli hayvon turlarining retroviruslarining blastomogen faolligini aniqlashi mumkin (masalan, ras va abl genlari).

Deyarli barcha ma'lum bo'lgan onkogenlar, hujayrali kelib chiqishiga qaramay, molekulyar gibridizatsiya testlarida odatda bir-biridan farq qiladi, ikkita holat bundan mustasno: src, fps, ha genlari va yuqori darajadagi homologiyaga ega bo'lgan ras va bas genlari. ham nukleotid, ham nukleotid darajalari aminokislotalar.

Ammo shuni ta'kidlash kerakki, onkogen mahsulotlarning birlamchi tuzilishini tahlil qilganda, genetik bog'liqlik darajasi sezilarli darajada yuqori bo'ldi. Bu, ehtimol, bu oqsillarning funktsiyalaridagi o'xshashlik bilan bog'liq.

17.7 Hayvon va odam o'smalarining hujayrali onkogenlari va kanserogenez

So'nggi yillarda hayvonlar va odamlarning malign neoplazmalari hujayralarida o'sma viruslari onkogenlari bilan bir qatorda onkogenlar aniqlandi. Bundan tashqari, ma'lum bo'lishicha, virusni o'zgartiruvchi genlarning bu chambarchas bog'liq gomologlari (ularning mahsulotlari ham gomologik) yuqori darajada saqlanib qolgan va nafaqat o'simta hujayralarida, balki oddiy umurtqali hayvonlar hujayralarida ham mavjud.

Taxminlarga ko'ra, bu genlar embriogenez (hujayra bo'linishini boshqarish) paytida hayotiy funktsiyalar uchun javobgardir yoki hujayra siklining yoki differentsiatsiya bosqichlarining ma'lum fazalarida ishlaydi. Buzilgan tartibga solish natijasida hujayralarning neoplastik transformatsiyasi paytida ularning faolligi o'zgargan fenotipning namoyon bo'lishiga olib keladi.

Tirik organizmlarning, shu jumladan odamlarning eng past shakllaridan eng yuqori shakllariga uzoq muddatli evolyutsiya

jarayonida hujayrali onkogenlarning saqlanishi, shuningdek ularning saqlanishi (odam onkogenlari *Drosophila*, tarakan, qush, sichqonchanning tegishli onkogenlariga gomologik). kalamush, maymun) bu genlar evolyutsiyaning barcha darajalarida normal hujayralardagi hayotiy funktsiyalarni bajarishini ko'rsatadi. Yuqoridagi barcha faktlar kanserogeneznining umumiy kontseptsiyasini shakllantirishga imkon berdi, unga ko'ra o'simta o'zgarishining asosiy omillari normal o'sishni, ko'payishni va, ehtimol, rivojlanish va differentsiatsiyaning ma'lum bosqichlari bilan bog'liq bo'lgan noyob, o'ziga xos hujayrali genlardir. Ushbu muammoning markaziy jihati bu hayotiy genlarning (proto-onkogenlar) o'zgaruvchan hujayra fenotipini ta'minlaydigan ishlaydigan onkogenlarga aylantirish mexanizmlarini ochishdir.

17.8 Hujayra onkogenlarini lokalizatsiya qilish va ularning kanserogenezdada birgalikda ishtirok etishi

In vitro model tizimlarini o'rganishda onkogenning faolligi va o'zgartirilgan fenotipning saqlanishi o'rtasidagi aniq bog'liqlik ishonchli tarzda namoyon bo'ldi, bu in vivo o'smalarni, asosan, inson o'smalarini tahlil qilishni boshlash imkonini berdi.

Hozirgi vaqtda ushbu tadqiqotlar quyidagi yo'nalishlarda olib borilmoqda: o'smalarda potentsial onkogenlarni aniqlash transfeksiya usuli bilan chap inson hujayralari, skrining o'smalari va inson o'simta liniyalari faoliyat onkogenlar borligi uchun in vitro yetishtirilgan, inson o'simta hujayralarida xromosoma anomaliyalari va bu xromosomalarda onkogenlarning mahalliyashtirish o'rtasidagi munosabatlarni aniqlash. Ushbu sohalarning barchasini rivojlantirishda olingan dastlabki natijalar F. L. Kiselev (1983) sharhida umumlashtirilgan.

Barcha hujayrali, virusli bo'lmagan onkogenlar donor hujayralar sifatida NIH3T3 sichqon fibroblastlari yordamida DNK transfeksiyasi orqali aniqlandi. Genetika muhandisligi usullaridan foydalangan holda, agar hujayra onkogeni DNKdan ajratilsa va promotor (aktivator), ya'ni DNKning qo'shni mintaqasi transkripsiyasini faollashtiradigan hududni o'z ichiga olgan DNKga o'tkazilsa, hosil bo'lgan kompleks o'zgarishi mumkinligi ko'rsatilgan. madaniyatdagi hujayralar, virusga o'xshash.

Ushbu usul yordamida har xil turdagi sutemizuvchilarning har xil turdagi o'simta hujayralarida (turli tabiatdagi) faol transformatsiya qiluvchi genlar aniqlandi: kimyoviy kanserogenlar tomonidan o'zgartirilgan sichqonlarning fibroblastlari, nitrozoetiluriya qo'zg'atgan kalamushlarning neyroblastomalari, tovuqlarning bursa limfomalari va

nefroblastomalari, siydik pufagi karsinomalari. sichqonlar, quyonlar va odamlar, sichqonlar va odamlarning o'pkasi karsinomalari, sichqonlar va odamlarning sut bezlari karsinomalari, sichqonlar va odamlarning neyrobblastomalari va gliomalari, sichqonlarning buyrak usti po'stlog'ining o'smalari.

Bu barcha o'smalarning hujayralaridan DNKni o'rganish shuni ko'rsatdiki, unda 7-8 ta transformator genlari va bir xil turdagi to'qimalardan (masalan, epiteliya) kelib chiqqan o'smalar bir xil onkogenlarni o'z ichiga oladi.

Onkogenlarning src, myb, myc, fec, erb, ras, mos, sis va boshqalarning molekulyar klonlari yordamida turli xil o'simta hujayralaridan DNKni retroviruslarning transformatsion genlari bilan transfeksiya qilish orqali aniqlangan transformatsiya qiluvchi genlar o'rtasida aloqa o'rnatildi. Ushbu protsedura turli cheklash fermentlari bilan ishlov berilgan o'zgartirilgan NIH3T3 hujayralaridan DNK bilan gibridizatsiya testlarida ishlatilgan.

Odamning sut bezlari o'simta hujayralaridan (tx-4, MMTV int1 va int2) yoki B- va T-hujayrali limfomalardan (Blym-1, Tlym-1, tx-1, tx-2, tx-3) DNK transfeksiyasi paytida topilgan onkogenlar retroviruslarning ko'rsatilgan transformator genlari bilan homologiyaga ega emas edi, ya'ni bu hujayrali onkogenlar o'simta viruslari genomlarining bir qismi emas [Cooper G. M., Leyn M. A., 1984; Morton S. S. va boshqalar, 1984].

MMTV yoki kimyoviy kanserogenlar keltirib chiqaradigan sichqon sut bezlari karsinomalarida va inson ko'krak saratoni hujayra madaniyatida faollashtirilgan onkogenlar xuddi shunday tuzilishga ega ekanligi ko'rsatildi [May E.F.etal, 1983]. MCF7 inson sut o'simta hujayralarining DNKsida uchta transformator gen aniqlandi. Ulardan biri yovvoyi N-ras deb aniqlangan, qolgan ikkita gen esa ma'lum bo'lgan onkogenlarga homolog emas.

17.9 Hujayra onkogenlarini faollashtirish mexanizmlari

Nuqta mutatsiyalari T24 odamning siydik pufagi karsinomasi hujayra chizig'ida o'tkazilgan tajribalarda oddiy hujayrali genni onkogenga aylantirish mexanizmlaridan biri aniqlandi [Reddy E. va boshq., 1982]. Ushbu mexanizm hujayrali c-Ha-ras genining bir nukleotididagi (guanozin-timidin) nuqta mutatsiyasiga to'g'ri keladi, bu p21-dagi 12-pozitsiyadagi glitsinni valin bilan almashtirishga olib keldi.

Mononukleotidlarning bunday almashinishi bilan p21 ning birinchi domenining konformatsiyasi a-spiral mintaqalar uzunligining oshishi tufayli o'zgardi, bu esa ushbu domenning tuzilishini yanada qattiqroq qildi. M. R. Pincus va boshqalar (1983) p21 ning mutatsiyaga uchragan ushbu mintaqasini o'rab turgan hidrofobik dekapeptidning energetik jihatdan ruxsat etilgan konformatsiyasini o'rganishdi - inson qovuq karsinomasi hujayralaridan c-Ha-ras genlari mahsulotlari va uning normal homologi. Hisob-kitoblar shuni ko'rsatdiki, eng energiya jihatdan qulay p21 tuzilishi 12-pozitsiyadagi glitsin chap qo'lda konformatsion egilishda bo'lganda hosil bo'ladi. Boshqa hech qanday aminokislota shunga o'xshash tuzilishdagi glitsin o'rmini bosa olmaydi.

Shuning uchun, masalan, glitsinni valin bilan almashtirish, siydik pufagi karsinoma hujayralarida p21 ning uch o'lchovli tuzilishini sezilarli darajada o'zgartiradi. Mualliflar 12-pozitsiyada aminokislotalardagi mutatsion o'zgarishlar tufayli onkoprotein molekulasining uch o'lchovli tuzilishining oddiy modelini taklif qilishdi.

Keyinchalik, p21 v-Ha-rasning avtofosforilatsiyasi 12-pozitsiyadagi aminokislota qoldig'i tomonidan aniq modulyatsiyalanganligi aniqlandi, ya'ni bu oqsilning biokimyoviy faolligi normal va faollashtirilgan inson ras genlari o'rtasidagi biologik farqlar bilan belgilanadi, xuddi shu oiladan c-N-rasning boshqa normal hujayrali genining faollashishi ham xuddi shunday sodir bo'ldi. Faqat bu holatda, ko'rsatilgan gen mahsulotida - p21 - lizin 61-pozitsiyada glitsin bilan almashtirildi.

NIH3T3 hujayralariga tozalangan Ha-ras p21 mikroin'ektsiyalaridan foydalangan holda o'tkazilgan tajribalar shuni ko'rsatdiki, bu oqsilning o'zgartirish qobiliyati odatdagidek o'zgarmagan ras gen mahsulotining faolligiga teng. s hujayralari. Biroq, o'zgartirilgan p21 ras pastroq konsentratsiyalarda samarali bo'ladi.

Aniqlanishicha, T24 qovuq karsinoma hujayralaridan faollashtirilgan Ha-ras abadiylashtiruvchi vosita bo'lib, SV40 yoki M-MuLV tartibga soluvchi hududi nazorati ostida bo'lib, u bir vaqtning o'zida abadiylashtiruvchi va o'zgartiruvchi potentsialga ega.

D. A. Spandidos va N. T. ham shunday xulosaga kelishgan. M. Wilkie (1984), u mutatsiyaga uchragan Ha-ras 1 normal hujayrani malign hujayraga aylantirish jarayonini boshlash uchun ikkinchi hamrohlik qiluvchi onkogenni talab qilmasligini ko'rsatdi.

c-Ki-ras2 genining birlamchi strukturasi tahlil qilish shuni ko'rsatdiki, bu onkogenning ikki chiziqli hujayralarida faollashishi p21

oqsilining 12-aminokislotasiga mos keladigan bir xil kodondagi ikki xil nuqta mutatsiyalari tufayli sodir bo'ladi. Glitsin bu holatda valin yoki sistein bilan.

Ma'lum bo'lishicha, c-Ki-ras2 mRNK ikki usulda - ikki turdagi mRNK, shu jumladan 4A yoki 4B eksonini hosil qilish bilan, Ki-ras2 genini virusli gomologidan ajratib turadi. Exon 4B tez-tez ishlatiladi.

Ehtimol, bu mRNKlar transformatsiyada faol va faol bo'lmagan p21 ning shakllanishi uchun javobgardir. Rekombinant plazmidlar qurilgan bo'lib, ularda p21 kodlash qismlari SV40 promouterining nazorati ostida bo'ladi. Glitsinning valin va sisteinning tarkibiy o'rmini bosishlari muhim va ko'p hollarda c-Ki-ras2 gen mahsulotining transformatsion faolligini saqlab qolish uchun zarur ekanligi aniqlandi.

Bir nechta sinovdan o'tgan kamida bitta hujayra chizig'i faollashtirilgan genning mutant allelining tarkibi uchun homozigot bo'lib chiqdi. Oddiy inson hujayralaridan c-bas (sichqoncha sarkomasi virusi, ras geniga juda bog'liq) hujayrali proto-onkogen ham nuqta mutatsiyasi natijasida faollashgani ko'rsatilgan, ammo guanozin adenin bilan almashtirilgan.

P21 ning ikkilamchi tuzilishini mashina tahlili 12-pozitsiyadagi glitsinni boshqa har qanday aminokislotalar bilan almashtirish oqsil molekulasining ikkilamchi tuzilishida bir xil o'zgarishlarga olib kelishi kerakligini aniqlashga imkon berdi. Shuning uchun, p21 ning transformatsion faolligini olish uchun o'ziga xos konformatsion o'zgarishlar etarli. Bundan tashqari, c-ras/bas proto-onkogenining 12-kodonining kodlash xususiyatlariga ta'sir qiluvchi har qanday mutatsiyalar uning faollashishiga olib kelishi haqida ko'rsatmalar mavjud.

Shunga o'xshash mononukleotidlar almashinuvi boshqa ba'zi onkogenlar mahsulotlarida, shuningdek o'sish omillarida (RTF va EGF) sodir bo'ladi. Oddiy odam RTF dan ajratilgan birinchi peptidda 73-pozitsiyada izolösin mavjud bo'lib, u bu holatda birinchi peptidda sis onkogenining virusli mahsuloti valin bilan almashtiriladi. Inson EGF ning intrasitoplazmatik domenida aminokerminal pozitsiyalarida 691, 902 va 994-da valinning uchta o'rmini bosish aniqlandi va 994-pozitsiyadagi o'rinbosarlik yuqori darajadagi avtofosforlanish bilan tavsiflangan joyda sodir bo'ladi. Valin bilan almashtirish AEF erb onkogenining mahsuloti bo'lgan P75erbda ham sodir bo'ladi. Ba'zi onkogenlardagi, masalan, smycdagi qayta tuzilishlar turli o'smalarda farq qilib aniqlandi.

Shunday qilib, molekulyar tizimlar mavjud bo'lib, ularda nuqta mutatsiyalari oqsillarning konformatsiyasi va biologik funksiyasining o'zgarishiga olib keladi.

17.10 Inson T-hujayrali leykemiya onkogeni

Dunyo bo'ylab ko'plab laboratoriyalar tomonidan 25 yildan ortiq vaqt davomida amalga oshirilgan odam o'simtasi viruslarini ajratish bo'yicha ko'plab urinishlar nihoyat muvaffaqiyat bilan yakunlandi.

Bir nechta tadqiqot guruhlari T-hujayrali leykemiya shakllaridan biri (teri) bilan og'rikan odamlarda C tipidagi retrovirusni izolyatsiya qilish va aniqlash bo'yicha ishonchli ma'lumotlarni taqdim etdi.

Inson T-hujayrali leykemiya/limfoma virusi (HTLV) deb ataladigan ushbu virus inson malignitesi patogenezida ishtirok etishi ishonchli tarzda isbotlangan birinchi virus edi. HTLV inson bemorlarining biopsiyalaridan (kattalar T-hujayrali leykemiya deb ataladigan) olingan hujayra liniyalaridan, shuningdek bemorlarning yangi limfotsitlaridan ajratilgan.

Inson leykemiyalari va limfomalarining boshqa shakllari bilan solishtirganda, teri T-hujayrali limfomasi nisbatan kam uchraydigan va ehtimol endemik kasallikdir.

Kasallik asosan 30 yoshdan 60 yoshgacha bo'lgan davrda dunyoning ikki mintaqasida: janubi-g'arbiy Yaponiya va Karib dengizi orollarida rivojlanadi. Virus gorizontal ravishda tarqaladi, qon quyish paytida virusli infeksiya paytida T hujayralariga o'tadi.

Shunday qilib, T-hujayrali leykemiya yuqumli kasallik bo'lib, Yaponiyaning endemik hududidagi kattalarning 10-20 foizi HTLV (yuqori xavfli guruh) ga antikorlarni tashuvchilardir.

Shu bilan birga, HTLV genomi faqat kasal odamlarning T-limfotsitlarida uchraydi va asosan boshqa hujayralarda yo'q, bu tabiiy ravishda uni ehtimoldan yiroq qiladi. virusning jinsiy hujayralar orqali aniq uzatilishi [Gallo R. va boshq.,

Biroq, HTLV ning onadan bolaga vertikal uzatilishini ko'rsatadigan ma'lumotlar olindi, terminal hujayralar orqali yoki transplental tarzda.

HTLV T-limfotsitlar uchun yuqori tropizmga ega (yordamchi yoki bostiruvchi), lekin ba'zi hollarda bu virusning maqsadi nafaqat etuk inson T hujayralari bo'lishi mumkin. HTLV infeksiyasiga sezgir bo'lgan Blimfotsitlar infeksiyalangan organizmda ushbu virusning rezervuari bo'lishi mumkinligi taxmin qilingan.

HTLV ning asosiy xususiyatlaridan biri bu oddiy T-limfotsitlarni o'zgartirish qobiliyatidir, ularning sezgirligi turli donorlar orasida sezilarli darajada farq qiladi. HTLV bilan o'zgartirilgan quyon limfoid hujayra chizig'ining o'simtaga xosligi ko'rsatilgan.

Bugungi kunga kelib, dunyoning turli mintaqalaridagi bemorlardan virusli zarrachalarni hosil qiluvchi ko'p sonli barqaror hujayra liniyalari (ularning aksariyati, sirt belgilariga ko'ra, yordamchi fenotipga tegishli) olingan.

Ushbu barcha izolyatsiyalarni morfologik, virusologik, immunologik va molekulyar biologik testlar yordamida batafsil tahlil qilish shuni ko'rsatdiki, ularning deyarli barchasi bir xil virusdir, ammo molekulyar gibridizatsiya va cheklash tahliliga ko'ra, ba'zi izolatlarning genomlari gomolog emas edi.

Morfologiya nuqtai nazaridan, bu markazda joylashgan nukleoidga ega bo'lgan tipik C tipidagi virionlar edi. Ular tarkibida yuqori molekulyar og'irligi 60 - 70 S RNK va molekulyar og'irligi 95 000 bo'lgan teskari transkriptaza mavjud.

Nazorat savollari

1. Onkogenlar va antionkogenlar qanday ishlaydi?
2. O'simta hujayralarida tekshirish nuqtalarining tarkibiy qismlarining o'zgarishi qanday sodir bo'ladi?
3. Signal yo'llaridagi protoonkogenlar hujayra bo'linishini qanday rag'batlantiradi?
4. Onkogenlar TGFb ning inhibitiv ta'sirini qanday bostiradi?
5. Hujayrada topilgan o'simta bostiruvchi genlar qanday?
6. Odamda monogen irsiy qanday oilaviy xavfli o'smalar uchraydi?
7. Protoonkogenlar qanday faollashadi?
8. Onkogenlar saraton rivojlanishida qanday rol o'ynaydi?
9. O'smalarda qanday xromosoma o'zgarishlari kuzatiladi.
10. Odamlarda saraton rivojlanishining ma'lum sabablari nima?
11. Saraton rivojlanishining virusli nazariyasi qanday tasdiqlangan?
12. Virusli karsinogenez qanday rivojlanadi?
13. Qanday kanserogen moddalar o'sma rivojlanishiga sabab bo'ladi?
14. Retrovirus onkogenlari qanday hujayra transformatsiyasiga olib keladi, ularning tuzilishi, genomda lokalizatsiyasi qanday va qanday hujayra gomologlari aniqlangan?

15. Hayvonlar va odamlarda hujayra onkogenlari qanday o'smalarni keltirib chiqaradi? Hujayra onkogenlarining qanday faollashuv mexanizmlari mavjud?

16. Odamning T-hujayrali leykemiya onkogeni qanday yuqadi?

GLOSSARIY

A

Avtoradiogramma - elektroforez natijasida olingan va radioaktiv yorliqli zond bilan gibridlangan DNK fraksiyalarining joylashishini qayd qiluvchi fotografik nashr. Southern blot gibridizatsiyasidan so'ng olingan nitrosetuloza membranasiga radiatsiyaga sezgir fotografik plyonkani qo'llash orqali olingan.

Adenin, A (adenin, A, gr. aden - temir va lot. -in (e) - "o'xshash" ma'nosini bildiruvchi qo'shimcha) - purinli azotli asos, 6-aminopurin. A. barcha tirik hujayralarda nuklein kislotalar (DNK va RNK), adenozin fosforik kislotalar, siklik AMP, kofermentlar (NAD, NADP) tarkibida bo'ladi, DNKda adenin timinni to'ldiruvchi (qarang) va ikkita vodorod hosil qiladi. u bilan bog'lanadi.

Adenozin 5'-monofosfat (AMF) RNK molekulasining nukleotidi bo'lib, fosfor kislotasi qoldig'i, karbondidrat ribozasi va adeninning purinli azotli asosidan iborat.

Adenozin trifosfat (ATP) ribonukleozid 5-trifosfat bo'lib, hujayra energiya aylanishida fosfat guruhi donori sifatida ishtirok etadi.

Alu oilasi - ko'plab sutemizuvchilar va boshqa ba'zi organizmlarda ma'lum bo'lgan o'rtacha takrorlanadigan DNK ketma-ketligi oilasi; Alu takrorining o'lchami taxminan 300 bp ni tashkil qiladi va har bir bunday takrorlashda AluI cheklash fermentini tanib olish joyi mavjud.

mRNKning muqobil splayslanishi - bu genning ekzonlari turli kombinatsiyalarda birikishi va natijada turli xil etuk mRNK molekulalari hosil bo'ladigan splicing variantidir.

Aminoatsil-tRNK sintetaza (kodaza) - tegishli tRNK molekulasiga aminokislota qo'shilishini katalizlovchi ferment. Aminoatsil-tRNK sintetazalarining 20 turi mavjud (aminokislotalar soniga ko'ra). Har bir tRNK sintetaza 3 ta bog'lanish joyiga ega: aminokislotalar, tRNK va ATP uchun. Birinchidan, aminoatsil-tRNK sintetaza o'ziga xos aminokislota bilan bog'lanadi, so'ngra ATP bilan faollashtirilgan aminokislota CCA tRNK tripletini qabul qiluvchi adeninga biriktiriladi.

Aminokislotalar aminokislotalar (NH₂) va karboksil guruhi (-COOH) ni o'z ichiga olgan organik birikma. Proteinlarni tashkil etuvchi 20 ta asosiy aminokislotalar ma'lum. Aminokislotalarning umumiy

formulasi: NH_2-CR_2COOH , bu erda R har bir alohida aminokislota uchun o'ziga xos radikaldir. Amplifikatsiya - DNK zanjirlari sonini, gen nusxalari sonini ko'paytirish (ko'paytirish) jarayoni (qarang Genni kuchaytirish).

Genni kuchaytirish (genni kuchaytirish) - 1. Hujayra nusxalari sonining ko'payishi. ma'lum bir hujayradagi gen yoki PCR usuli yordamida sinov naychasida - polimeraza zanjiri reaksiyasi (qarang). 2. Muayyan DNK ketma-ketligi ota-ona hujayralariga nomutanosib ravishda ko'payadigan har qanday jarayon. Rivojlanish jarayonida ba'zi genlar ixtisoslashgan to'qimalarda kuchayadi, masalan, ribosoma genlari kuchayadi va oogenez jarayonida, ayniqsa, ba'zi amfibiyalarning oositlarida faol ishlaydi. Drosophiladagi xorion oqsillarini kodlaydigan genlar ovulyatsiya qiluvchi follikulyar hujayralarda ham kuchayadi.

Kuchaytirgich, termosikl (kuchaytirgich yoki termosikl) - bu dastur bo'yicha reaksiya aralashmasining kichik hajmlarini tez isitish va sovutishni ta'minlovchi qurilma. A. PCR - polimeraza zanjiri reaksiyasini amalga oshirish uchun ishlatiladi (qarang). Bu DNKning termal denaturatsiyasi (taxminan $90-94^{\circ}C$), primer tavlanihi ($50^{\circ}C$ da) va primer kengayishi ($70-72^{\circ}C$ da DNK zanjiri sintezi) imkonini beradi.

Antikodon - uch asosdan iborat guruh bo'lib, uzatish RNKda qat'iy pozitsiyani egallaydi (qarang Transfer RNK), u messenjer RNKdagi kodonni to'ldiruvchi (qarang) (qarang. Messenger RNK).

Antionkogenlar (o'smani bostiruvchi genlar) - faolligi o'smalarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladigan genlar. Funktsional maqsadiga ko'ra antionkogenlar onkogenlarning antagonistlari hisoblanadi. Yaxshi o'rganilgan antionkogen Rb genidir (normal hujayralardagi hujayra bo'linishini bostiradigan pRb oqsilini kodlaydi). Rb genining mutatsiyasi retinoblastoma va ba'zi boshqa o'smalarning (osteosarkoma, o'pka karsinomasi, siydik pufagi karsinomasi va boshqalar) shakllanishiga olib keladi.

Apoptoz - bu normal rivojlanish, ishlash va to'qimalarning yangilanishi paytida yuzaga keladigan dasturlashtirilgan hujayra o'limi jarayoni. Bu hujayra o'limiga tashqi omillar (stress yoki toksinlar) sabab bo'lgan nekrozdan farq qiladi.

Avtosplikatsiya - mRNK prekursorlarining birikishi, boshqa har qanday makromolekulalar (fermentlar) ishtirokisiz sodir bo'ladi, ya'ni. mRNKning o'zi bu jarayonning katalizatori (ribozim); hodisasi A. T. Tsex va boshqalar tomonidan kashf etilgan. 1981 yilda Tetrahymena

thermophila siliatida ribosoma 26S rRNKning qayta ishlanishini tahlil qilishda.

B

Gen banki - bu organizmning rekombinant DNK asosida olingan genlari to'plami (qarang: Genomik kutubxona, Gen kutubxonasi).

"Rink barmoq" oqsillari DNKni bog'laydigan oqsillarning asosiy guruhlaridan biri hisoblanadi: ular transkripsiya regulyatorlari bo'lib, 2 sistein va 1 gistidin qoldiqlarini o'z ichiga olgan xarakterli domenni o'z ichiga oladi: - bu aminokislotalar sink ioni va polipeptid bilan o'zaro ta'sir qiladi. ular o'rtasida joylashgan zanjir "barmoq" shaklida aylanadi; keng qamrovli guruh

B. "C.P." genom bo'ylab keng tarqalgan Zfp guruhi genlari tomonidan kodlangan (masalan, sichqonlarda ular X, Y, 11 va 8 xromosomalarida ma'lum); eng mashhur B.lardan biri "Ts.P." Krüppel geni tomonidan kodlangan.

Gen kutubxonasi - bu organizm genomik DNKsining tasodifiy klonlangan bo'laklari to'plami (qarang: Genomik kutubxona, Gen banki) yoki hujayrada ifodalangan mRNK to'plamini (qarang, messenjer RNK, cDNK) ifodalovchi DNK bo'laklarining maxsus to'plami. ma'lum bir vaqtda. Bunday kutubxonalarda fragmentlar mos vektorlarga, masalan, kosmid yoki bakterial vektorlarga kiritiladi va mos xostga aylantiriladi. Ideal holda, genomik kutubxona o'zi kelib chiqqan turning deyarli butun genomini o'z ichiga olishi kerak va cDNK kutubxonasi rivojlanishning bir bosqichida ma'lum bir hujayraning barcha turli mRNK molekulalarini o'z ichiga olishi kerak.

Biopolimerlar tirik organizmlar tarkibiga kiruvchi yuqori molekulyar organik birikmalar (oqsillar, polisaxaridlar, nuklein kislotalar).

Blotting - bu Southern blot gibridizatsiya jarayonining bosqichi bo'lib, natijada DNKning butun elektroforetik spektri jelga qo'llaniladigan nitroseluloz membrana (plyonka) kapillyar kuchlar tufayli muhrlanadi (bloting), keyin esa yuqori harorat yordamida o'rnatiladi.

Hogness qutisi, TATA qutisi - eukaryotik genlarning promotor hududlarida mavjud bo'lgan o'ziga xos nukleotidlar ketma-ketligi; B.H.ning umumlashtirilgan tuzilishi. - TATA(AT)A(AT); tartibga soluvchi funktsiyani bajaradi - prokaryotlarda Pribnow qutisiga funktsional ekvivalent bo'lgan promotorga nisbatan RNK polimeraza yo'nalishini ta'minlab, transkripsiyani boshlashda ishtirok etadi.

Pribnov qutisi - prokariotlardagi nukleotidlar ketma-ketligi, transkripsiyaning boshlang'ich nuqtasidan 10 nukleotid masofada joylashgan va odatda 6 (ba'zan 9 tagacha) asosdan iborat, B.P.ning kanonik ketma-ketligi. - TATAAT; B.P.da, deb taxmin qilinadi. DNK zanjirlarining yechilishi transkripsiya boshlangan paytda sodir bo'ladi, shuningdek, B.P. promotorga RNK polimerazasini to'g'ri yo'naltirish uchun zarur; B.P ning analogi. eukariotlarda bir xil funktsiyalarni bajaradigan Hogness qutisi mavjud.

IN

Genom o'lchami - har bir haploid genom uchun DNKning asosiy juftliklari soni (bp); ba'zan (bu noto'g'ri) V.g.ning kontseptsiyasi. DNKning vazn tarkibini ko'rsatish uchun ishlatiladi (har bir hujayradagi pikogramlarda). V.G.ning so'nggi ma'lumotlariga ko'ra. Bu: bakteriyalarda - $2 \cdot 10^6$ bp, nematodalarda - $1 \cdot 10^8$ bp, hasharotlarda - $2,3 \cdot 10^9$ bp, mollyuskalarda - $1,6 \cdot 10^9$ bp, baliqlarda - $1,4 \cdot 10^9$ bp, qushlarda - $1,2 \cdot 10^9$

bp, sutemizuvchilar - $2,6 \cdot 10^9$ bp, odamlar - $3 \cdot 10^9$ bp, gimnospermlar - $1,6 \cdot 10^{10}$ bp.

Viruslar hujayradan tashqari hayot shakllari bo'lib, ular DNK (DNK viruslari: adenoviruslar, bakuloviruslar, geminiviruslar va boshqalar) yoki RNK (RNK viruslari: bromoviruslar, retroviruslar va boshqalar) va oqsil qobig'idan iborat. V. tarkibida hujayra organellalari bo'lmaydi va ko'payish uchun xost hujayraning metabolizmidan foydalanadi. Ko'payish jarayonida xost hujayra yo'q qilinishi mumkin va V. hujayradan ajralib chiqadi. V., bakteriyalar uchun patogen bakteriofaglar deb ataladi (qarang).

Ikkinchi xabarchi (ikkinchi xabarchi) - kimyoviy tashuvchining (masalan, gormon) maqsadli hujayraga kira olmaydigan signaliga javob berishda ishtirok etadigan hujayra ichidagi kimyoviy birikma.

Kod degeneratsiyasi genetik kodning xususiyati bo'lib, unda 20 ta aminokislotalardan 18 tasi bir nechta kodonlar bilan kodlangan. Bitta kodon faqat metionin va triptofan aminokislotalarini kodlaydi.

Ko'p takrorlanadigan DNK - yuz minglab yoki millionlab takroriy genomdagi nukleotidlar ketma-ketligi va umumiy DNKning renaturatsiyasi paytida birinchi bo'lib qayta assotsiatsiyalanadi; Qoidaga ko'ra, B. DNKning birligi ("monomer") oz miqdordagi nukleotidlardan iborat (masalan, jinsiy xromosomalarda GATA va GACA tetranukleotidlarining ko'p millionli takrorlanishi ma'lum) va geteroxromatin va yo'ldosh DNKning bir qismidir.

G

G oqsillari guanozin tri- va difosfatlar (GTP va GDP) bilan bog'langan plazma membranasining ichki yuzasida joylashgan oqsillardir. Ular membrana tashqarisidan signallarni transmembran retseptorlari (G protein bilan bog'langan retseptorlari) orqali adenilatsiklazaga uzatadilar, bu hujayra ichida ikkilamchi tashuvchi - siklik AMP hosil bo'lishini katalizlaydi.

Jel polimer komponenti va bufer eritmasidan tashkil topgan jelga o'xshash matritsa bo'lib, elektroforez jarayonida DNK va RNK makromolekulalari (agaroz G., poliakrilamid G.) yoki oqsillarni (poliakrilamid yoki kraxmal G.) ajratish uchun ishlatiladi.

Gen irsiyatning asosiy jismoniy va funktsional birligi bo'lib, ma'lumotni avlodan-avlodga o'tkazadi. G. — DNKdagi, ba'zi viruslarda esa RNKdagi nukleotidlarning o'ziga xos ketma-ketligi bo'lib, ular ko'chirish RNK (tDNK) yoki ribosoma RNK (rDNK) yoki oqsillardagi aminokislotalarning nukleotidlar ketma-ketligini aniqlaydi. Qoida tariqasida, genlar kodlash (eksonlar) va kodlanmaydigan (intronlar) ketma-ketliklaridan iborat. Cha intron ketma-ketligi ko'pincha eukariotlarda uchraydi. Har qanday gen xromosomada qat'iy belgilangan joyni yoki lokusni egallaydi va turli xil allel holatlarga o'tishi, shuningdek, gomologik genlar bilan rekombinatsiyalanishi mumkin. G.ning harakati fenotipda namoyon bo'ladi. Bajaradigan funktsiyalariga ko'ra, genlar 3 sinfga bo'linadi: a) DNKga ko'chiriladigan (qarang Transkripsiya) va keyin ribosomalarda (Tarjimaga qarang) polipeptid zanjirlariga o'tkaziladigan strukturaviy genlar; b) rRNK yoki tRNKga transkripsiyalangan va o'zlari bevosita foydalaniladigan strukturaviy genlar; v) transkripsiya qilinmagan, lekin DNK replikatsiyasi va transkripsiyasi jarayonida fermentlar va boshqa oqsillarni tanib olish joylari (qarang) bo'lib xizmat qiluvchi tartibga soluvchi G.. Bu atama 1909 yilda V. Yogensen tomonidan kiritilgan va ko'pincha "irsiy omil" tushunchalari bilan almashtiriladi.

Regulyator gen - bu operator geni bilan o'zaro ta'sir qiluvchi repressor oqsilini kodlaydigan va shu tariqa "uning" operonining transkripsiyasini tartibga soluvchi gen.

Genetik barmoq izlari va shaxslarni identifikatsiya qilish - bu alohida DNK namunalarining molekulyar genetik tahlili asosida hayvonlar va o'simliklarning individlarini aniq identifikatsiya qilish (qarang).

Gen barmoq izi, DNK barmoq izi, DNK barmoq izi,

DNK ketma-ketligi, PCR texnologiyalari).

Genetik xaritalar genetik rekombinatsiya bo'yicha tajribalarda aniqlangan xromosomadagi (bog'lanish guruhleri) genlarning chiziqli joylashuvi xaritalari, shuningdek, genlarning turli xromosomalarda tarqalishi, odatda ular orasidagi genetik masofani ko'rsatadi.

Genetik kod - bu DNK yoki RNKdagi nukleotidlar ketma-ketliklarining ma'lum bir almashinuviga asoslangan, oqsillardagi tegishli aminokislotalar uchun kodonlarni hosil qiluvchi (qarang) nuklein kislota molekulalarida irsiy ma'lumotni qayd qilish tizimi (qarang). G. k. triplet (qarang Triplet) - 1 aminokislota uchun 3 ta nukleotid kodlanadi. Kod degenerativ deb ataladi (kodning degeneratsiyasiga qarang), chunki 20 ta aminokislotalardan 18 tasi bitta emas, balki ko'p sonli kodonlar bilan aniqlanadi. Kod sobit boshlang'ich nuqtadan, bir yo'nalishda, 3 ta ketma-ket nukleotid (uchlik) o'qiladi. G. k. barcha tirik organizmlar uchun universaldir.

Genom - bu organizmning ma'lum bir turi xromosomalarining haploid to'plamiga xos bo'lgan genlar to'plami. Xromosomalarning asosiy gaploid to'plami.

Genomik kutubxona - bu individual (turlar) genomini ifodalovchi klonlangan DNK bo'laklari to'plami (qarang: Gen kutubxonasi, Gen banki). Sutmizuvchilar (shu jumladan odamlar) katta genomlarga ega, shuning uchun odatda ular uchun xromosoma kutubxonalari yaratiladi.

(sm.).

Genomik DNK (geitomik DNK) - 1. Organizmning barcha xromosoma DNKsi;

2. Eukaryotik hujayralardagi yadro DNKsi (qarang Dezoksiribonuklein kislota).

Geterotroflar - tayyor organik moddalar bilan oziqlanadigan organizmlar. G. hayvonlar, zamburug'lar, ko'pchilik bakteriyalar, ko'plab protistlar va parazit o'simliklardir.

Geterokromatin - hujayra siklining interfazasida kondensatsiyalangan holatda bo'lgan xromatin qismi, qoida tariqasida, evromatinga qaraganda kechroq takrorlanadi va asosan juda takrorlanadigan ketma-ketliklardan iborat; G. dagi DNK ko'pincha transkripsiyalanmaydi; "G" atamasi 1922 yilda E. Heitz tomonidan taklif qilingan.

Primer gibridizatsiyasi - bu PCRning ikkinchi bosqichi bo'lib, bunda in vitro reaksiya aralashmasidagi harorat 92 C dan 50 C gacha pasayganda, primerlarning shablonli DNK zanjirlari bilan

duragaylanishi sodir bo'ladi (qarang. Yuvish). Ushbu bosqich odatda 30 soniya davom etadi.

Gibrid (rekombinant) DNK - bu ikki yoki undan ortiq gomologik bo'lmagan DNK molekulalarini o'zaro bog'lash (ligatsiyalash (qarang)) orqali in vitro hosil bo'lgan yangi DNK ketma-ketligi. Masalan, bir yoki bir nechta xorijiy DNK qo'shimchalarini o'z ichiga olgan rekombinant plazmid (qarang). Bunday in vitro tuzilgan DNKni o'z ichiga olgan organizmlar ham rekombinantlar (rekombinant fag, bakteriyalar) sifatida tasniflanadi.

Guanin, G (guanin, G) [ispan. huanu - go'ng va lat. -in(e) - "o'xshash" ma'nosini bildiruvchi qo'shimcha] - nuklein kislotalardagi sitozinni to'ldiruvchi purin asos (2-amino-6-gidroksipurin), barcha tirik hujayralarda DNK va RNK tarkibiga kiradi, guanozin G. tarkibiga kiradi - past molekulyar koenzimlarning tarkibiy qismi, pterinlar, riboflavin va foliy kislota biosintezidagi boshlang'ich modda. Nukleotid G. (guanozin trifosfat, GTP) oqsil sintezi, yog' kislotalarining faollashuvi, trikarbon kislotalar aylanishi va glyukoneogenezda ishtirok etadi.

Guanozin 5'-monofosfat (GMF) RNK molekulasining nukleotidi bo'lib, fosfor kislota qoldig'i, karbongidrat ribozasi va guaninning purinli azotli asosidan iborat.

Д

Ikki zanjirli cDNK molekulasi - qarang cDNK , DNKni to'ldiruvchi.

Ikki tomonlama replikatsiya - bu replikatsiya bo'lib, unda ikkita replikatsiya vilkalari umumiy startdan qarama-qarshi yo'nalishda harakatlanadi - oriC.

D-loop mitoxondrial DNK ichidagi mintaqa bo'lib, unda RNK primerining kichik qismi DNK zanjirlaridan biri bilan o'zaro ta'sir qiladi va asl komplementar zanjirni almashtiradi. Xuddi shu atama RecA oqsili tomonidan katalizlangan hodisani tasvirlash uchun ishlatiladi, bu ikki tomonlama DNKdagi bir zanjirni tashqaridan olingan boshqa bir zanjirli DNK bilan almashtirishni o'z ichiga oladi.

Dezoksiriboza, shakar halqasining 2'-uglerod atomida gidroksil guruhiga ega bo'lmagan riboza molekulasi deoksinukleotidlarning bir qismidir.

Dezoksiribonuklein kislota (DNK) to'rtta deoksiribonukleotiddan (A, T, C, G) tashkil topgan yuqori molekulyar polimer bo'lib, ularning aperiodik almashinuvi viruslar, bakteriyalar va yuqori organizmlarning genetik ma'lumotlarini kodlaydi. DNK, masalan, ba'zi viruslarda

bo'lgani kabi, bir zanjirli (ssDNK) yoki barcha yuqori organizmlarda ikki zanjirli (dsDNK) bo'lishi mumkin. Ikki zanjirli DNKda spiral shaklida o'ralgan ikkita to'ldiruvchi zanjir mavjud bo'lib, bir ip ikkinchisini atrofida qarama-qarshi yo'nalishda (antiparallel, 5' 3' va aksincha, 3' 5'). Ikki ip bir-birini to'ldiruvchi asoslar ($A = T$; $G = C$) orasidagi vodorod bog'lari bilan birga ushlab turadi. DNK o'z-o'zini ko'paytirishga qodir, bu ko'payish jarayonida avlodlar o'rtasidagi genetik uzluksizlikni ta'minlaydi. DNK zanjiridagi nukleotidlar ketma-ketligini buzish irsiy o'zgarishlarga - mutatsiyalarga olib keladi.

Deoksiadenozin 5'-monofosfat (dAMP) DNK molekulasiining nukleotidi bo'lib, fosfor kislotasi qoldig'i, uglevod dezoksiriboza va purin azotli asosli adenindan iborat.

Deoksiguanozin 5'-monofosfat (dGMP) fosforik kislota qoldig'i, uglevod dezoksiriboza va purin azotli asos guanindan tashkil topgan DNK molekulasiining nukleotididir.

Deoksitimidin 5'-monofosfat (dTMP) fosforik kislota qoldig'i, uglevod dezoksiriboza va pirimidin azotli asosli timindan tashkil topgan DNK molekulasiining nukleotididir.

Deoksisitidin 5'-monofosfat (dCMP) fosforik kislota qoldig'i, uglevod dezoksiriboza va pirimidin azotli asosli sitoizindan tashkil topgan DNK molekulasiining nukleotididir.

DNK denaturatsiyasi - 1. Fizik va kimyoviy omillar (harorat, bosim, pH va boshqalar) ta'sirida nuklein kislotalarning qo'sh spiralini komplementar bir ipli zanjirlarga ajratish jarayoni. 2. PCRning birinchi bosqichi, bunda in vitro reaksiya aralashmasidagi harorat 90 C gacha qizdiriladi. Bunda 15 sekund ichida DNK zanjirlari orasidagi kuchsiz vodorod bog'lari vayron bo'ladi va bitta qo'sh zanjirli DNK molekulasidan ikkita bir ipli hosil bo'ladi.

Dideoksinukleotid, ddNTP (Dideoksinukleotid) - sun'iy ravishda olingan nukleozid trifosfat, shakar halqasining 2' va 3' uglerod atomlarida gidroksil guruhlari bo'lmagan (ddATP, ddGTP, ddTTP, ddCTP).

Dideoksiriboza - shakar halqasining 2'- va 3'-uglerod atomlarida gidroksil guruhlari bo'lmagan riboza molekulasi, dideoksinukleotidlar tarkibiga kiradi (qarang: Riboza, deoksiriboza).

Distrofin - katta mushak oqsili (odamning molekulyar og'irligi 427 kDa) ko'p yadroli mushak tolalarining tashqi membranasi bilan bog'langan va keng tarqalgan Dyuchenne va Bekker mushak distrofiyalarining patogenezida ishtirok etadi; D geni X xromosomasida

joylashgan (Xp21.2) va eng katta inson genlaridan biri (uzunligi taxminan 2,6 million bp, 79 ekzondan iborat).

DNK-DNK gibrizatsiyasi - bu ikkita to'ldiruvchi bir zanjirli DNK molekulalaridan ikki zanjirli DNK hosil bo'lish jarayoni.

DNK ligazalari DNK molekulasidagi qo'shni nukleotidlar o'rtasida fosfodiester bog'lanishlarining shakllanishini katalizlovchi fermentlardir. Konjugat gidroliz reaksiyasining energiyasi hisobiga C-C, C-S, C-O va C-N o'rtasida bog'lar hosil bo'ladi. Rekombinant DNK texnologiyasi asosan E. coli va fag T4 dan ajratilgan ikkita DNK I dan foydalanadi. DNK-I. ikkita DNK molekulasini to'mtoq yoki yopishqoq uchlarini bog'lash (qarang). U birinchi marta 1966 yilda B.Vays va K.Richardson tomonidan ajratilgan.

DNK probi (zond) - qo'shimcha ketma-ketlikka ega bo'lgan maxsus DNK molekulalarini aniqlash uchun molekulyar klonlashda ishlatiladigan o'ziga xos (ma'lum) radioaktiv va flüoresan yorliqli nuklein kislotalar ketma-ketligi. Shu maqsadda avtoradiografiya yoki k.-l. etiketli prob uchun boshqa aniqlash tizimi.

DNK shabloni (shablon) - nuklein kislotalarning komplementar zanjirlarini sintez qilish uchun asos bo'lib xizmat qiladigan DNK (RNK) asoslarining ketma-ketligi.

DNK polimerazalari DNK sintezida ishtirok etadigan fermentlardir. E. coli dan uch turdagi DNK ketma-ketligi ajratilgan: pol I, pol II va pol III. Pol III bakteriya hujayrasida DNK replikatsiyasi (q.v.) uchun mas'ul bo'lgan asosiy fermentdir. Boshqa ikkita ferment asosan DNKni tiklashda ishlaydi. Eukariotlarda ko'p turdagi DNK mavjud

P. , hujayraning turli qismlarida: yadroda, sitoplazmada yoki mitoxondriyada joylashgan bo'lib, replikatsiya, ta'mirlash va rekombinatsiya kabi turli funktsiyalarni bajaradi.

DNK topoizomerazalari DNKning supercoiling darajasini nazorat qiluvchi fermentlar guruhidir.

DNK barmoq izi, DNK barmoq izi usuli (DNK barmoq izi yoki DNK barmoq izi texnikasi) (qarang: DNK barmoq izi) - genomik DNK endonukleazlar tomonidan cheklanadigan usul (qarang), hosil bo'lgan qismlar jel elektroforez yordamida ajratiladi (qarang), membranalarga o'tkaziladi (qarang). nitroselüloz filtrlari, qarang) va etiketli problar (sm) bilan duragaylash. Agar o'rganilayotgan DNKda problarga gomologik hududlar mavjud bo'lsa, odatda har bir DNK namunasi uchun xos bo'lgan polimorf gibrizlanish bantlari hosil bo'ladi. Shuning uchun usul

bir xil turdagi shaxslarning genetik identifikatsiyasi (barmoq izlari) uchun ishlatilishi mumkin. U genomlarni xaritalashda, otalikni aniqlashda va sud tibbiyotida qo'llaniladi.

Domen - oqsil polipeptid zanjirining uning ba'zi funktsiyalarini bajaradigan bo'limi (masalan, sitoplazmatik D., transmembran D. va boshqalar); har bir D. qo'shni intronlar (ya'ni bitta ekson) o'rtasida joylashgan gen hududi bilan kodlangan bo'lib, bu intronlar (masalan, sutemizuvchilar gemoglobin genlarida) joylashuvining evolyutsion konservatizmini belgilaydi; shuningdek, D. xromosomaning qo'shni bo'limlardan (domenlardan) mustaqil ravishda spirallanadigan yoki DNazga sezgirligi oshgan diskret kesimidir.

E

Escherichia coli, E. coli, Escherichia coli molekulyar biologiyada keng tarqalgan grammusbat ichak bakteriyasi hisoblanadi. Uning genomi (xromosoma) taxminan o'z ichiga oladi. 4500 kb DNK, 50 ta mustaqil topologik domenlarda tashkil etilgan va bir qator qo'shimchalarni o'z ichiga oladi. Karvonsaroy. vr. butun E. coli genomi to'liq ketma-ketlikda bo'lgan. E. coli rekombinant DNKning eksperimental tadqiqotlari uchun katta ahamiyatga ega (qarang), chunki u juda ko'p turli xil viruslar, plazmidlar va kosmid klonlash vektorlari uchun uy egasi bo'lib xizmat qiladi (qarang. Klonlash vektori. Kosmid).

ERK1 va 2 (hujayradan tashqari signal bilan boshqariladigan kinazlar) MEK kinaz tomonidan fosforillanish orqali faollashtirilgan hujayradan tashqari signalni tartibga soluvchi kinazlardir. Yadroga kiradigan ERK1 va 2 bevosita fosforillovchi omillar.

Z

Kechiktirilgan ip - bu DNKning qizi zanjiri bo'lib, unda replikatsiya paytida komplementar zanjirning sintezi Okazaki bo'laklarini birlashtirish orqali amalga oshiriladi.

VA

Izoakseptor tRNKlar bir xil aminokislotalarni bog'laydigan, ammo turli xil antikodonlarga ega bo'lgan tRNKlar guruhidir; turli I.tRNKlar bir xil aminoatsil-tRNK sintetaza tomonidan tan olinadi; I.tRNKlar metionin va triptofanda yo'q, ularning eng ko'p soni (har biri 6 ta) adenin, leysin va serin kodonlari bilan tan olinadi; I.tRNKlar bir xil antikodonlarga ega bo'lishi mumkin, lekin birlamchi tuzilmalari har xil.

Invertli terminal takrorlash - IS elementlari kabi ba'zi mobil genetik elementlarning uchlarida joylashgan qarama-qarshi yo'nalishda yo'naltirilgan qisqa gomologik ketma-ketliklar.

Teskari takrorlanish - nuklein kislota molekulasining ikkita segmenti bir xil nukleotidlar ketma-ketligiga ega bo'lgan, ammo qarama-qarshi yo'nalishga ega bo'lgan qismidir.

Initiator kodon mRNKdagi AUG kodon bo'lib, metioninni (formilmetioninni) kodlovchi, undan ko'p (ehtimol barcha) polipeptid zanjirlarining sintezi boshlanadi (boshlanadi). Bakteriyalarda AUG dan tashqari initsiatsiya ba'zan GUG, eukariotlarda - har doim AUGgacha.

Ribosomalar tomonidan polipeptid zanjirining sintezini boshlash uchun zarur bo'lgan boshlang'ich kompleksi kichik (30S) ribosoma subbirligidan, boshlang'ich omillar molekulalaridan, formilmetionin tRNK, GTP va haqiqiy tarjima qilingan mRNKdan iborat; shuningdek, I.K. - shablonli DNK va ribonukleozid trifosfat inisiatorli RNK polimeraza kompleksi, uning shakllanishi transkripsiyani boshlash uchun zarurdir.

Axborot (xabarchi) RNK (i-RNK, mRNK) - bu DNKda qayd etilgan ma'lumotlarni oqsil sintezi joylariga uzatuvchi, bir zanjirdan iborat, birdan o'n mingtagacha asos juftlarini o'z ichiga olgan RNK shaklidir.

Intronlar yoki intragenik hududlar yoki oraliq ketma-ketliklar eukaryotik genlardagi nukleotidlar ketma-ketligi bo'lib, ular pro-mRNKga transkripsiya qilinadi, keyinchalik ular yadroda kesiladi va parchalanadi. Qolgan transkript ketma-ketliklari (Eksonlarga qarang) etuk messenjer RNKni hosil qilish uchun birlashtiriladi (qarang), undan protein translatsiyasi sodir bo'ladi. Bu. I. oqsil tarkibida hech qachon bo'lmaydi. I. uzunligi (50 dan 12 000 nukleotidgacha), bir genga (bir yoki bir nechta) soni va nukleotidlar ketma-ketligi bilan farqlanadi. Lekin ko'pchilik I.larda I. va ekzon orasidagi chegara joylari bir xil. Ushbu chegara hududlari ekzonlarning to'g'ri eksiziyasini (kesish, qarang) va birlashtirishni ta'minlaydi.

Sun'iy genetik tuzilmalar - bu DNK qismlarini, butun genlarni yoki ularning qismlarini uzatishning sun'iy usullaridan foydalangan holda biologik faol DNKning yangi shakllari va genetik jihatdan yangi hujayralar shakllari maqsadli ravishda ishlab chiqilgan (yaratilgan).

In vitro (lat. .), "in vitro" - butun (butun) organizmdan izolyatsiya qilingan sharoitda eksperimental o'rganish jarayonida simulyatsiya qilingan biologik jarayonlar, ya'ni "in vitro", masalan, to'qimalar madaniyati, ferment-substrat reaksiyasi va boshqalar.

In vivo - tabiiy sharoitda o'sadigan tirik material.

TO

Xaritalash - DNK zanjiri bo'ylab genlar yoki ma'lum joylarning joylashishini aniqlash (qarang. Genetik xaritalar, Cheklov xaritalari).

Gen xaritalash - genlarning chiziqli tashkil etilishini o'rnatish, genlarning xromosomalarda (qarang: Xromosoma xaritalari) yoki plazmidlarda (dumaloq bog'lanish xaritasi) nisbiy lokalizatsiyasini va ular orasidagi nisbiy masofani aniqlash. Genetik xaritalar klassik genetikada qabul qilingan rekombinatsion tahlil (qarang) asosida yoki molekulyar genetika ma'lumotlari asosida, ya'ni to'g'ridan-to'g'ri DNK ketma-ketligi ma'lumotlaridan foydalangan holda tuzilishi mumkin (qarang: DNK ketma-ketligi).

Kaspazlar faol joyda sistein bo'lgan va aspartik kislotalarda maqsadli oqsillarni kesadigan proteazlardir.

Katabolik repressiya - glyukoza qo'shilganda yuzaga keladigan ko'plab bakterial operonlarning ifodalanishining zaiflashishi; hujayradagi siklik AMP darajasining pasayishi va buning natijasida tartibga soluvchi CAP oqsilining inaktivatsiyasi natijasida yuzaga keladi.

Kb, kilobaza (kb, kilobaza) ikki zanjirli DNKdagi nuklein kislotalarning (sm), $1 \text{ kb} = 1000$ nukleotid yoki asos juftlarining (bp) hajmini ifodalash uchun ishlatiladigan birlikdir.

cDNK, komplementar DNK (cDNK, komplementar DNK) - yagona-

yoki mRNK molekulasini to'ldiruvchi ikki zanjirli DNK molekulasi. U in vitro teskari transkriptaza (qarang) yordamida mRNKning teskari transkripsiyasi paytida hosil bo'ladi. cDNK intronlarsiz o'ziga xos genga mos keladi.

Kinazlar - fosfat guruhining yuqori energiya holatidan (ATPda bo'lgani kabi) boshqa molekulaga harakatini katalizlovchi fermentlar.

Ichak tayoqchasi - qarang *Escherichia coli*.

Hujayra sikli - ona hujayraning bo'linishi paytida hosil bo'lgan paytdan boshlab, uning bo'linishigacha (shu jumladan, bu bo'linish) yoki o'limigacha bo'lgan hayoti.

Gen klonlash - qarang DNK klonlash.

DNKni klonlash (DNK klonlash) - bu DNK fragmentini, masalan, genni (qarang) klonlash vektoriga kiritish (qo'shish) va vektorni mos xost hujayraga aylantirish orqali ushbu ketma-ketlikni ko'paytirish uchun rekombinant DNK texnologiyasidan foydalanish. masalan, *E. coli* hujayralariga.

Kodon DNK yoki RNKdagi uchta qo'shni nukleotidlar ketma-ketligi bo'lib, ma'lum bir aminokislota yoki tarjimaning boshi va oxirini kodlaydi (qarang), ya'ni genetik kodning diskret birligi. Tripletlarda nukleotidlarning jami 64 ta mumkin bo'lgan kombinatsiyasi mavjud – ulardan 61 tasi 20 ta aminokislotalarni, 3 tasi esa bema'ni kodonlardir (qarang: “To'xtash kodoni”).

Dumaloq DNK molekulalari - plazmidlarga qarang (dumaloq).

3'-uchi (3'-uglerod atomining uchi yoki 3'-terminus) - chiziqli DNK yoki RNK molekulasining uchlaridan biri, 3'-uglerod atomida erkin gidroksil guruhi (OH-) bo'lgan nukleotidni olib yuradi. riboza yoki deoksiriboza.

Primerning 3'-uchi - ribozaning 3' uglerod atomida erkin gidroksil guruhi (OH) bo'lgan primerning uchi, undan teg polimeraza uchinchi bosqichda 5'-3' yo'nalishda o'sib borayotgan DNK zanjirini yakunlaydi. PCR siklining (qarang).

5'-uchun (5'-uglerod atomining uchi yoki 5'-terminus) - chiziqli DNK yoki RNK molekulasining uchlaridan biri, 5' da fosfor kislotasi qoldig'ida gidroksil (OH-) guruhiga ega nukleotidni olib yuradi. -riboza yoki deoksiribozaning uglerod atomi. Polinukleotid zanjirlarining sintezi replikatsiya (qarang), transkripsiya (qarang) va tuzatish (qarang) jarayonida 5' oxirida boshlanadi.

Gibrid DNK molekulalarini qurish - turli xil DNK parchalarini uzatish va o'zaro bog'lashning sun'iy usullaridan foydalangan holda biologik faol DNKning yangi shakllarini yaratish.

Terminal transferaza ikki zanjirli DNK yoki bir zanjirli DNKning ikkala uchining 3'-OH guruhlariga 10-40 deoksinukleotid 5'-trifosfat qo'shilishini katalizlovchi ferment bo'lib, zanjirning 3' gomopolimer kengayishini (polideoksidenilat) hosil qiladi.) va noorganik pirofosfatni chiqaradi. Ferment DNK molekulasini radioaktiv tarzda belgilash va DNKning 3' uchida gomopolimer dumlarini hosil qilish uchun ishlatiladi. T. t. rekombinant DNK texnologiyalarida keng qo'llaniladi (qarang).

Krossingover - (ingliz tilidan, crossingover - o'zaro faoliyat) - meyozi jarayonida juftlashgan homolog xromosomalar o'rtasida genlar va butun xromatid segmentlarining o'zaro almashish mexanizmi. Xromosomalarning konjugatsiyasi paytida bir xromosomadan ikkinchisiga o'tadigan ikkita xromatidning kesishishi natijasida chiasmata paydo bo'ladi. Krossing-over bu chiasmatalarning yorilishi bilan tavsiflanadi va kesishgan xromatidlar segmentlari qo'shni homolog

xromosomalar tarkibiga kiradi, natijada homolog xromosomalar o'rtasida irsiy omillar almashinuvi sodir bo'ladi. Bu atama Morgan tomonidan kiritilgan (1911).

Qopqoq – eukaryotik mRNKlarning 5' uchidagi tuzilish; mRNKning 5' terminal asosiga guanin nukleotidining 5' uchini biriktirib, transkripsiyadan so'ng hosil bo'ladi. Ushbu strukturani metillash mumkin hech bo'lmaganda qo'shilgan guanin molekulasiga ko'ra. "Qopqoq" quyidagi tuzilishga ega 7MeG5'ppp5'Np...

L

Laktoza operon, lak-operon - E. coli DNK genlari majmuasi (umumiy hajmi - taxminan 6 ming tayanch juft), shu jumladan gen operatori va 3 ta strukturaviy gen: lacZ (-galaktosidazani kodlaydi), lacY (-galaktozid o'tkazuvchanligi), lacA (galaktozid transatsetilaz), - L.o.ning transkripsiyasi natijasida. polikistronik mRNK hosil bo'ladi; oqsil repressori lacI geni bilan kodlangan, lacY va lacZ genlari bilan kodlangan fermentlar laktozani tashish va parchalashda ishtirok etadi va lacA genining mahsuloti L.O.ning induktori bo'lgan allo-laktoza hosil qilish uchun laktozani izomerlaydi.

lac-Z-gen (lac-Z-gen) E. coli ning laktoza operonining geni bo'lib, galaktosidazani kodlaydi. Bu ferment laktoza disaxaridlarining monosaxaridlar va glyukozaga aylanishini katalizlaydi. Lac-Z geni turli xil klonlash vektorlariga kiritilgan va transformatsiya tajribalarida reportyor gen sifatida xizmat qiladi (qarang).

Ligazalar, sintetazalar - qarang DNK ligaza.

Ligand - kovalent bo'lmagan aloqalar orqali oqsil bilan bog'langan kichik molekula (masalan, faollashtiruvchilar, substratlar va ferment faolligi ingibitorlari); kompleks hosil qilish uchun boshqa kimyoviy komponentlarni bog'laydigan ion yoki molekula.

Ligatsiya (ligalion) - 1. Ligaza fermenti ishtirokida amalga oshiriladigan nuklein kislotalarning ikkita chiziqli molekulalarini fosfodiefir bog'lari orqali kovalent bog'lanish jarayoni. 2. Gen injeneriyasida ligaza fermenti yordamida xorijiy DNK plazmid DNKga kiritiladigan texnika (qarang).

Etakchi zanjir - replikatsiya vilkasidagi DNKning qiz zanjiri bo'lib, u doimiy ravishda sintezlanadi. Lizis, lizis (lizis) - lizosomalarda mavjud bo'lgan va virus zarralarini yuqtirish orqali ajralib chiqadigan fermentlar ta'sirida mezbon hujayralarning viruslari tomonidan yo'q qilinishi, natijada atrof-muhitga virusning yangi avlodi chiqishi.

Bog'lovchi, bog'lovchi DNK (bog'lovchi, l. DNK) - Bir yoki bir nechta tanib olish joylarini o'z ichiga olgan ma'lum bir ketma-ketlikdagi sintetik oligodeoksiribonukleotid (qarang). L. T4DNK ligaza yordamida dupleks DNKning istalgan to'mtoq uchiga (qarang) bog'lanishi mumkin (qarang).

Yopishqoq uchi - bu ikki zanjirli DNK molekulasiga ishora qiluvchi atama bo'lib, unda bir zanjir boshqasiga qaraganda uzunroq ("ortiqcha osilgan") ("ko'milgan"). Ipning chiqadigan qismi unga qo'shimcha bo'lgan boshqa chiqadigan (yopishqoq) uchi bilan birlashishi mumkin. Misol: chiziqli lambda fag genomining (cos sayt) har ikki uchida ikkita qisqa (12 nukleotid) bir ipli 5' o'simtalar. Ushbu nukleotidlar ketma-ketligi bir-birini to'ldiradi va dumaloq DNKni hosil qilish uchun juftlashishi mumkin.

M

Makrosatellit nisbatan katta sun'iy yo'ldosh elementi bo'lib, uning diametri xromatid filament qalinligining yarmidan oshadi.

Kichik yadroli RNK (snRNK) 100-300 bp uzunlikdagi RNK transkriptlari bo'lib, oqsillar bilan bog'langanda kichik yadro ribonukleoprotein zarralarini hosil qiladi. Aksariyat snRNKlar spliceosomalarning tarkibiy qismidir.

Otishma usuli - ma'lum bir organizmning klonlangan DNK qismlarining tasodifiy massiv namunasini olish (ya'ni, genomning "parchalanishi"), buning asosida uning genomik kutubxonasini tuzish mumkin; "Sh.-g." natijasida olingan. qo'shimcha klonlashdan so'ng nukleotidlar ketma-ketligi turli genetik tajribalarda qo'llanilishi mumkin.

Metillanish - bu metil guruhini nukleotidga biriktirish jarayoni - xususan, hayvon hujayralari DNKsida sitozin qoldiqlarining 7% gacha "odatda" metillanadi va yo'ldosh DNKsi odatda DNKga qaraganda ko'proq metillanadi. metillangan DNK odatda faol bo'lmagan holat bilan bog'liq bo'lgan va demetillangan - gen faollashuvi bilan bog'liq bo'lgan strukturaviy genlar, bu qoidadan istisno - M.ning yuqori darajasida ko'proq ifodalangan O6-metilguanin-DNK metiltransferaza geni; Bakteriyalarda cheklash joyini o'zgartirish (modifikatsiya qilish) jarayoni DNKni o'z endonukleazlari tomonidan yo'q qilishdan himoya qiladi va maxsus metilazlar tomonidan boshqariladi.

Mikrosatellitlar, mikrosatellit lokuslari (STR loci, Short Tandem Repeats) yadro DNKsi va organellalar DNKsidagi (mitoxondriyalar va plastidlar) turli hududlar (lokuslar) bo'lib, ular juda ko'p - yuztagacha yoki undan ko'p - tandemda takrorlanadigan bir xil "motiflar" dan iborat.

. Motif bir necha (ikki sakkiz) nukleotid juftlarining qisqa ketma-ketligi bo'lib, odatda "takrorlash" deb ataladi. Takrorlashning uzunligiga qarab, mikrosatellitlar di-, tri-, tetra-, penta- va bo'lgan lokuslarga bo'linadi. geksanukleotid takrorlanadi. Ular genetik va genomik tadqiqotlarda keng qo'llaniladigan molekulyar markerlardir.

Minisatellitlar (minisatellites) qisqa (14-100 bp), o'rtacha takrorlanuvchi, tandem tarzda tashkil etilgan, juda o'zgaruvchan DNK ketma-ketligi (odatda GC ketma-ketligiga boy), inson genomi bo'ylab tarqalgan (o'simlik va hayvonlarda ham mavjud). Xonim. natijada yuzaga keladigan uzunlikdagi sezilarli polimorfizmni namoyon qiladi tengsiz kesib o'tishni yedi. Natijada M.-larda. qisqa tandem takrorlash soni (qarang) o'zgaradi, bu uzunligi 0,1 dan 20 kb gacha bo'lgan ketma-ketliklarning shakllanishiga olib keladi. Qisqa tandem takrorlanuvchi M.-lar, bog'lanish tahlili uchun yaxshi genetik marker bo'lib (qarang: DNK barmoq izlari), yuqori polimorf M.-larni bir vaqtda aniqlash uchun duragaylash zond sifatida foydalanish mumkin. DNK cheklovlari doirasida. Ikki kishida bir xil DNK bo'laklari to'plamining identifikatsiya qilish ehtimoli nazariy jihatdan shunchalik kichikki, har bir kishi avtoradiograflarda duragaylash natijasida aniqlangan chiziqlar to'plamida (bir xil egizaklar bundan mustasno, qarang) noyob hisoblanadi.

Mitogen - hujayralarni mitozga kirishni rag'batlantiradigan har qanday birikma (degeneratsiya mahsulotlari, o'ziga xos mitotik gormonlar va boshqalar); hujayralarning G0 fazasidan hujayra bo'linishiga o'tishini keltirib chiqaradigan omil. Masalan, o'sish omillari.

Mitogen faollashtirilgan kinazlar (MAPK) hujayradan tashqari stimullarga (mitogenlar) javob beradigan va ko'plab hujayra jarayonlarini (gen ifodasi, bo'linish, differentsiatsiya va apoptoz) tartibga soluvchi protein kinazlardir. Hujayradan tashqari stimulyatorlar MAPK signalizatsiya kaskadi orqali faollashishiga olib keladi (masalan, Ras/MAPK kaskadi). MAPK oilasining a'zolariga quyidagilar kiradi: Raf oqsillari, ERK1 va 2 kinazlar (hujayradan tashqari signal bilan boshqariladigan kinazlar); MEK kinazlari (MEKK - mitogen faollashtirilgan hujayradan tashqari kinazalar) va boshqalar.

Mitoxondriyal genom - mitoxondriyaning bir qismi bo'lgan dumaloq ikki zanjirli DNK molekulasi (hayvonlarda mtDNKning o'lchami odatda taxminan 16 ming tayanch juft, o'simliklar va mikroorganizmlarning turli guruhlarida bu qiymat sezilarli darajada kattaroq va juda o'zgaruvchan); M.G. tRNK va rRNK genlarini, ba'zi

fermentlarni (ATPaz subbirliklari, sitoxrom oksidaza va boshqalar) o'z ichiga oladi, u universal triplet kodidan ba'zi og'ishlarni o'z ichiga oladi (masalan, yadro genomidagi stop-kodon bo'lgan UGA tripleti, triptofanni kodlaydi. hayvonlarning MGlari); odatda M.G. onaning turiga ko'ra meros bo'lib o'tgan; mtDNK strukturasi cheklash fermentlari yordamida tahlil qilish populyatsiya genetik tadqiqotlarida keng qo'llaniladi.

Mediatorlar (lotincha mediator - vositachi) asab hujayralari tomonidan ishlab chiqarilgan va hujayralararo bo'shliqqa chiqariladigan fiziologik faol moddalar bo'lib, ular yordamida nerv impulslarini uzatishning dastlabki bosqichi amalga oshiriladi. Retseptor membranasi bilan bog'lanib, vositachi o'zining ma'lum ionlarga o'tkazuvchanligini o'zgartiradi, bu esa impulslarni uzatish uchun zarur bo'lgan faol elektr potentsialini yaratishga olib keladi. Markaziy asab tizimining vositachilariga atsetilxolin, adrenalin, serotonin va boshqalar kiradi.

Ikki zanjirli DNK molekulasi modeli - 1953 yilda J. Uotson va F. Krik E. Chargaff va R. Franklin ma'lumotlari asosida DNK molekulasi fazoviy modelini qurdilar va uning genetik ma'lumot tashuvchisi sifatidagi rolini izohladilar. (Anjir.). Ularning modeliga ko'ra, DNK molekulasi qo'sh spiralga o'ralgan ikkita qo'shimcha polinukleotid zanjiridan iborat. Ikkala DNK zanjiri nukleotidlarining azotli asoslari spiralning burilishlari orasiga o'ralgan va vodorod bog'lari bilan bog'langan. Chargaff qoidalariga ko'ra, bir zanjirdagi adenin ikkinchi zanjirda faqat timin bilan, guanin esa faqat sitozin bilan bog'langan. Azotli asoslarning (A=T va G=C) mos kelishining bunday tartibi komplementarlik deb ataladi va shuning uchun DNKdagi iplar bir-birini to'ldiradi. DNK zanjirlarining har birida nukleotidlar fosfor kislotasi qoldig'i va dezoksiriboza molekulasi yordamida ketma-ket bir-biriga bog'langan. DNK molekulasidagi ikkala zanjir ham qarama-qarshi yo'nalishga ega, biri 5'-3', ikkinchisi esa 3'-5'.

Modifikatsiya - yangi xususiyatlarning paydo bo'lishi bilan tavsiflangan o'zgartirish, o'zgartirish.

DNK molekulasi - qarang Deoksiribonuklein kislotasi.

Molekulyar biologiya - hayotning molekulyar darajada namoyon bo'lishini o'rganadigan biologiya sohasi. M. b.ning asosiy yo'nalishi. — biologik muhim molekulalarning (oqsillar, nuklein kislotalar va boshqalar) organizmlarning o'sishi va rivojlanishida, irsiy ma'lumotlarni saqlash va uzatishda, tirik hujayralardagi energiya aylanishi va boshqalardagi rolini yoritish. M. b. molekulyar genetika, molekulyar

virusologiya, molekulyar immunologiya va boshqalarni o'z ichiga oladi M. b. 20-asr o'rtalarida shakllangan. va bugungi kunda jadal rivojlanmoqda.

Molekulyar genetika - zamonaviy genetikaning irsiy xususiyatlarni saqlash, ko'paytirish va uzatish qonuniyatlari va molekulyar mexanizmlarini o'rganadigan bo'limi.

Irsiy kasalliklarning molekulyar genetik diagnostikasi - bu individual DNK namunalarining molekulyar genetik tahlili asosida irsiy kasalliklarni aniq aniqlash (qarang: Southern blot tahlili, DNK barmoq izlari, DNK ketma-ketligi, PCR texnologiyalari). Molekulyar genetik diagnostika sakkiz hujayrali embriongacha, intrauterin rivojlanishning barcha embrion bosqichlari, post-embriyon bosqichlari va boshqalardan boshlab, inson tanasining rivojlanishi va hayotining barcha bosqichlarida irsiy kasalliklarni aniq aniqlash imkonini beradi.

Rek mutatsiya – mutatsiya, n E. coli da gomologik rekombinatsiya jarayonini buzish; R.-M. uzilish-qo'shilish rekombinatsiyasida ishtirok etuvchi fermentlarni kodlovchi bir nechta genlarda uchraydi (eksonukleaza, DNK polimeraza, DNK ligaza va boshqalar); birinchi marta R.-M. 1965 yilda A. Klark va A. Marguelis tomonidan E. coli dan olingan, bundan tashqari, ular rekmutantlarning ultrabinafsha nurlanishiga sezgirligining keskin oshishini ko'rsatdilar, bu rekombinatsiya jarayonlari, xususan, rekombinatsiya jarayonlari o'rtasidagi chambarchas bog'liqlikni tasdiqladi. ularda ishtirok etuvchi fermentlarning umumiyliigi.

Mutagen - fizik yoki kimyoviy vosita bo'lib, mutatsiyalar chastotasini spontan darajadan oshiradi.

MEK 1 va 2 (MEKK, - mitogen faollashtirilgan hujayradan tashqari kinaz kinazlar) RAF oqsillarining fosforillanishi bilan faollashtirilgan mitogen bilan faollashtirilgan hujayradan tashqari kinaz kinazalardir. MEKlar ERK1 va 2 ni fosforlaydi, bu esa yadroga kiradigan omillarni fosforlaydi.

N

Nuklein kislota - bir nukleotidning 5'-fosfati va keyingi nukleotidning 3'-gidroksili o'rtasida hosil bo'lgan fosfodiester bog'lari bilan bog'langan ribo- yoki dezoksiribonukleozid monofosfatlardan tashkil topgan universal biopolimer; molekulyar og'irligi N.K. 1010 ga yetishi mumkin; N.K.ning 2 ta asosiy turi (kiruvchi qandlar turiga ko'ra) mavjud. – DNK va RNK, N.K.ning asosiy roli. – genetik axborotni saqlash va uzatish; "N.K." atamasi 1889 yilda taklif qilingan (N.K.

birinchi marta 1868 yilda F. Misher tomonidan inson leykotsitlarida topilgan).

Nukleozid - azotli asos va uglevod qoldiqlaridan tashkil topgan kimyoviy birikma - ribonukleozid va deoksiribonukleozid; asosiy tabiiy N. nuklein kislotalar (adenozin, guanozin, uridin, sitidin, timidin) tarkibiga kiradi; N. nuklein kislotalar va nukleotidlarning gidrolizlanishi jarayonida hosil bo'ladi.

Nukleosoma - diametri taxminan 10 nm bo'lgan disk shaklidagi struktura bo'lib, u xromosoma DNKsini xromatinda qadoqlash uchun elementar birlikdir; oqsil yadrosidan iborat (H2, H3, H4 gistonlarining oktamerini o'z ichiga oladi, lekin H1 emas), DNK qo'sh spiraling 7/4 burilishi bilan "belbog'langan" (140 juft nukleotid), nukleosomalararo DNK bo'limlari (bog'lovchilar) turlicha bo'ladi. uzunligi 15 dan 100 gacha va nukleotid juftlaridan ortiq; bir N.ning umumiy molekulyar og'irligi 262 kDa (108 kDa — gistonlar, 130 kDa — DNK, 24 kDa — giston bo'lmagan kichik oqsillar) deb baholanadi; Nukleosoma tuzilishi eukaryotik organizmlar uchun universaldir - uning yo'qligi [DNazga] o'ta sezgir bo'lgan joylarda ma'lum.

Nukleotidlar - purin yoki pirimidin asosi, riboza qand (dezoksiriboza) va fosfor kislotasidan tashkil topgan organik moddalar, nuklein kislotalar va ko'plab koenzimlarning tarkibiy qismi (NAD, NADP, koenzim A va boshqalar). Ular nuklein kislotalarning monomerlaridir. N.lar nukleozid fosfatlar deb ham ataladi: adenozin monofosfat (AMP), guanozin monofosfat (GMP), sitidin monofosfat (KMP), uridin monofosfat (UMP), timidin monofosfat (TMP). N. ba'zi yuqori energiyali birikmalar, masalan. ATP.

Teskari transkriptaza, RNKga bog'liq DNK polimeraza, teskari transkriptaza (RNKga bog'liq DNK-polimeraza) transferaza sinfining retrovirus ko'p funksiyali fermenti bo'lib, shablon sifatida bir zanjirli RNK yordamida ikki zanjirli DNKni sintez qiladi.

va boshqalar cDNK sintezi uchun DNK rekombinant texnologiyasida keng qo'llaniladi

(qarang) in vitro zarur DNKni olish uchun messenjer RNK bilan va genetik muhandislikda. Ayrim retroviruslarda (qarang) O. t. monomer, ba'zilarida esa dimer.

Oligo (dT) primeri sintetik gomopolimer oligodeoksiribonukleotid bo'lib, u poliadenillangan mRNKning poli (A) dumiga (qarang) birlashtirilishi mumkin va teskari transkriptaza yordamida cDNKning birinchi zanjirini sintez qilish uchun primer (qarang).

Oligonukleotid primerlari - astarga qarang.

Operator - o'ziga xos repressor oqsillari tomonidan tan olingan va strukturaviy genlarning transkripsiyasini salbiy tartibga soluvchi DNK bo'limi, hajmi - bir necha o'nlab nukleotidlar; qoida tariqasida, O. to'g'ridan-to'g'ri tartibga solinadigan strukturaviy genga qo'shni bo'ladi (operon modeli bo'yicha); O.ning nuqta mutatsiyalari ma'lum bo'lib, tegishli genning doimiy (konstitutsiyaviy) ifodalanishiga olib keladi.

Operon, transkripton (operon) bakterial xromosomaning bir nechta strukturaviy genlarni o'z ichiga olgan bo'limi (masalan, lak-O. E. coli 3 genni o'z ichiga oladi), bitta polikistronik mRNK molekulasini hosil qilish uchun transkripsiyalanadi (qarang); har bir O., qoida tariqasida, uning transkripsiyasini boshqaradigan o'ziga xos operator genlari va regulyator genlarini o'z ichiga oladi.

Ochiq o'qish ramkasi (ORF) DNK nukleotidlarining ketma-ketligi bo'lib, u ATG boshlang'ich kodonidan boshlanadi va uchta to'xtash kodonidan biri bilan tugaydi - TAA, TAG yoki TGA; potentsial O.r.s. polipeptid zanjiriga aylantirilishi mumkin.

Yuvish - bu nuklein kislotani gibrizatsiya deb ham ataladigan tiklash (renaturatsiya) jarayoni bo'lib, bu jarayonda bir zanjirli polinukleotidlar ikkita zanjirning bir-birini to'ldiruvchi nukleotidlari o'rtasida vodorod bog'lari bilan ikki zanjirli molekula hosil qiladi. O. to'ldiruvchi zanjirlar orasida paydo bo'lishi mumkin DNK yoki RNK hosil bo'ladi, natijada gibriz ikki zanjirli molekulalar hosil bo'ladi. Bu nom O. jarayoni namunaning dastlabki isishi va uning keyingi sovishi bilan bog'liqligi bilan bog'liq.

Palindrom ikki zanjirli DNK molekulasining hududi bo'lib, uning ikkala zanjiri ham 5' dan 3' oxirigacha o'qilganda bir xil nukleotidlar ketma-ketligiga ega bo'ladi, ya'ni. P. tandem teskari takrorlangan. P. transkripsiyaning tugash jarayonlarini ta'minlashda muhim rol o'ynaydi (prokariotlarda P. genlarning barcha terminator hududlarida uchraydi), restriksion fermentlarning ta'sir o'tkazish joyi hisoblanadi, shuningdek, bir qator boshqa jarayonlarda ishtirok etadi. Birinchi rekombinant (gibriz) DNK molekulasini 1972 yilda P. Berg tomonidan yaratilgan bo'lib, u fag 1, E. coli va maymun virusi sv-40 fragmentlarini o'z ichiga olgan.

Plazmidlar xromosomadan tashqari (ekstraxromosomal) genetik element bo'lib, dumaloq, avtonom replikatsiyalanuvchi qo'sh zanjirli DNK molekulasini bo'lib, hajmi 1 dan 200 kb va undan ortiq va bakteriya hujayrasida birdan bir necha yuz nusxagacha bo'ladi. P.ning nusxa

raqami atrof-muhit omillariga bog'liq bo'lishi mumkin. P. odatda xost hujayraga selektiv afzalliklarni beradi (masalan, antibiotiklarga qarshilik). Konjugativ oqsillar boshqa hujayralarga o'tkazilishini ta'minlaydigan genlar to'plamiga ega. Klonlash vektorlarini yaratish uchun bakterial bakteriyalar keng qo'llaniladi. "P" atamasi. J. Lederberg va boshqalar tomonidan 1952 yilda taklif qilingan

Takrorlanuvchi nukleotidlar ketma-ketligi (DNK) (takroriy DNK) - bir xil nusxalar ko'rinishidagi xromosoma DNKsi tarkibidagi nukleotidlar ketma-ketligi; juda takrorlanadigan nukleotidlar ketma-ketligini (har bir genomda millionlab nusxalar), shuningdek, o'rtacha takrorlanadigan ketma-ketliklarni (har bir genomda o'nlab va yuzlab nusxalar) farqlash.

Poli(A), poliadenilat (poli(A) yoki poliadenilat) adenin nukleotid qoldiqlarini o'z ichiga olgan gomopolimerdir. Deyarli barcha eukaryotik mRNKlar 3' uchida poli(A) yoki poli(A) quyruq ketma-ketligini o'z ichiga oladi.

Polylinker, bir nechta klonlash joyi (polilinker yoki bir nechta klonlash joyi) - bu ko'plab cheklash joylarini o'z ichiga olgan sintetik ikki zanjirli oligonukleotid (qarang). P. vektorlarga begona DNKni kiritish imkoniyatlarini kengaytirish uchun kiritiladi.

Polimerizatsiya PCR siklining uchinchi bosqichi bo'lib, uning davomida in vitro reaksiya aralashmasidagi harorat 50°C dan 72°C gacha ko'tarilganda, teg polimeraza ikkala primerni ham 3' uchidan shablon DNK zanjirining o'lchamiga qadar kengaytiradi. Bu jarayon 90 soniya ichida sodir bo'ladi. Natijada DNK miqdori ikki barobar ortadi. Tag polimeraza fermenti termofil *Thermus aquaticus* bakteriyalaridan ajratilgan va yuqori haroratga chidamli. 70°C haroratda primer-DNK gibridd denatüratsiyalanmaydi va Tag polimeraza yuqori tezlikda ishlashga qodir.

Polimeraza zanjiri reaksiyasi (PCR)

- 15 kb gacha bo'lgan DNK fragmentini 108 martagacha kuchaytirish (ko'paytirish) mumkin bo'lgan in vitro amplifikatsiya jarayoni (qarang). Buning uchun o'rganilayotgan DNKning ikki uchidagi ketma-ketlikni to'ldiruvchi, hajmi 10-30 nukleotiddan iborat ikkita primer sintezlanadi. Ushbu ikkita oligonukleotid primerining ortiqcha miqdori (qarang) genomik DNK bilan aralashtiriladi, aralashma DNK duplekslarini 90°C gacha denatüre qilish uchun isitiladi. Keyinchalik haroratning 50°C gacha pasayishi bilan primerlar o'zlarining genomik gomologlariga biriktiriladi va DNK polimeraza yordamida uzaytirilishi

mumkin, ya'ni DNK shablonida ikkinchi zanjir sintezlanadi. Denaturatsiya, primerni yumshatish va uni kengaytirishning ketma-ket jarayoni (jarayonlar tsikli) 20-40 marta takrorlanadi. Natijada, o'rganilayotgan nusxalarning eksponentsial o'sishi kuzatiladi

DNK. 25 dan ortiq kuchaytiruvchi tsikllar, maqsadli DNK ketma-ketliklari soni taxminan 106 marta ortadi. Yangi DNK zanjirlarini sintez qilish uchun termostabil DNK polimerazalari (Taq polimeraza, Vent™ DNK polimeraza) ishlatiladi. Karvonsaroy. vr. PCR molekulyar biologiyada keng qo'llanilishini topdi va uning asosida genomlarni tahlil qilishning ko'plab usullari ishlab chiqilgan. Bundan tashqari, teskari polimeraza zanjiri reaksiyasi mavjud, ya'ni ma'lum ketma-ketlikning yadro mintaqasiga ulashgan noma'lum DNK ketma-ketligini kuchaytirishga imkon beruvchi an'anaviy PCR modifikatsiyasi.

O'zboshimchalik bilan primerlar bilan polimeraza zanjiri reaksiyasi (o'zboshimchalik bilan astarlangan polimeraza zanjiri reaksiyasi, AP-PCR) - bu DNK nukleotidlari ketma-ketligi haqida oldindan ma'lumotga ega bo'lmasdan, o'zboshimchalik bilan primerlar yordamida maqsadli DNK ketma-ketligini kuchaytirishga (qarang) imkon beradigan standart PCR usulining modifikatsiyasi. berilgan genom.

Polisaxaridlar - glikozid bog'lari bilan bog'langan 10 dan ortiq monosaxaridlardan tashkil topgan chiziqli yoki tarmoqlangan polimerlar.

Polikistronik xabar - bir nechta oqsillar ketma-ketligini kodlaydigan mRNK molekulasini; bir operonning bir qismi bo'lgan ikki yoki undan ortiq qo'shni genlarning transkripsiyasi paytida hosil bo'ladi.

Yarim konservativ replikatsiya - bu ikki zanjirli DNK molekulasini replikatsiya qilish usuli bo'lib, unda dastlabki molekula ikkita zanjirga bo'linadi (hosil qilish uchun). replikatsiya vilkasi), ularning har biri ikkinchi (yangi) qo'shimcha polinukleotid zanjirining sintezi uchun shablon bo'lib xizmat qiladi; gipoteza P.R. DNKning qo'sh spiral g'oyasi bilan bir vaqtda J. Uotson va F. Krik tomonidan ilgari surilgan va M. Meselson va F. Stahlning markazlashtirilgan DNKni sentrifugalash usuli yordamida uzatish bo'yicha tajribalari bilan isbotlangan. seziiy xloridning zichlik gradienti.

Shine-Dalgarno ketma-ketligi prokaryotik mRNKlarda saqlanib qolgan ketma-ketlik bo'lib, 16S ribosomali RNKning 5' uchi yaqinida joylashgan ketma-ketlikni to'ldiradi va shu tariqa tarjima boshlanishi jarayonida ishtirok etadi.

Tanib olish ketma-ketligi - Tanib olish saytiga qarang.

Chargaff qoidasi har qanday ikki zanjirli DNK molekulasida adenin asoslari soni doimo timin asoslari soniga teng bo'lishini ko'rsatadigan qoidadir (A).

= T), va guanin asoslari soni sitozin (G = C) asoslar soni. P.ga ko'ra.

Pirimidinlar soni (T + C) purinlar yig'indisiga teng (A + G). P. Ch. 1950 yilda kashf etilgan va klassik Uotson-Krik DNK modelini yaratishda asosiy tamoyillardan biri hisoblanadi.

Primer, primer (primer) DNK yoki RNKning qisqa oligonukleotididir, uzunroq DNK yoki RNK molekulasining bir qismini to'ldiradi. Z'OH uchiga DNK polimeraza (qarang) 5'-3' yo'nalishda o'sayotgan DNK zanjiriga nukleotidlarni qo'shishi mumkin. Prokaryotlarda RNK polimeraza (qarang) DNK replikatsiyasi uchun bunday RNK primerlarining sintezini katalizlaydi. P. RNKga bog'liq DNK polimeraza uchun ham kerak (teskari transkriptaza, qarang). In vitro (qarang) o'lchami 10 bp gacha bo'lgan sintetik P. ishlatiladi. DNK polimeraza yoki teskari transkriptaza yordamida DNK polimerizatsiya reaksiyasi uchun P. cDNK sintezi, Sanger DNK sekvensiyasi (qarang), polimeraza zanjiri reaksiyasi, PCR (qarang) va boshqalar uchun kerak.

Primazalar, DNK primazasi (DNK primazasi) Okazaki fragmentlarining keyingi sintezi uchun RNK primerlarining sintezini, shuningdek, bakteriofag DNKning replikativ shakli sintezi jarayonida RNK primerlarining sintezini amalga oshiradigan fermentlardir. Eukariotlarda DNK primazasi DNK polimerazasining sub birligidir. An'anaviy RNK polimerazalardan farqli o'laroq, DNK primazasi ham ribo- va dezoksiribonukleotidlarni substrat sifatida ishlatishga qodir, boshqa fermentlar - primosoma (sm) bilan kompleks hosil qiladi.

Primosoma - bu Okazaki fragmentlarini shakllantirish orqali replikatsiya vilkasidagi orqada qolgan ipning sintezini ta'minlaydigan fermentlar majmuasi; P.ning asosiy fermentlaridan biri DNK primazasi (sm).

Pre-mRNK mRNKning kashshofidir (ko'pincha juda katta), transkripsiya paytida strukturaviy genning DNK shablonida sintezlanadi va yadrodan chiqishdan oldin transkripsiyadan keyingi o'zgarishlardan o'tadi.

To'ldiruvchilik printsipti - o'zaro ta'sir qiluvchi molekulalar yoki ularning qismlari sirtlarining fazoviy bir-birini to'ldirishi (o'zaro muvofiqligi), ular o'rtasida ikkilamchi (van der Vaals, vodород, ionli)

bog'lanishlarning paydo bo'lishiga olib keladi. Bir-birini to'ldiruvchi tuzilmalarning o'ziga xosligi va mustahkamligi yuqori selektivlik, atom guruhlari yoki zaryadlar darajasidagi o'zaro ta'sirning katta maydoni bilan belgilanadi (antigen-antikor va ferment-substrat komplekslari, to'rtlamchi tuzilishi). oqsillar, nuklein kislotalarning ikkilamchi va uchinchi darajali tuzilishi). Naib. K. ikki zanjirli DNK va RNK tuzilishida yaqqol namoyon bo'ldi, bu yerda ikkita polinukleotid zanjiri purin va pirimidin asoslari juftlarining (A-T, G-C) komplementar o'zaro ta'siri natijasida qo'sh zanjirli molekula hosil qiladi. Bir zanjirli polinukleotidlarning (tRNK, rRNK) o'ziga xos ikkilamchi va uchinchi darajali tuzilishi ham zanjir bo'ylab "ilmoqlar" va "soch iplari" hosil qilish uchun qo'shimcha asoslar juftligi bilan aniqlanadi. K. ko'plikning asosidir. biologik hodisalar molekulyar darajada "tan olish" bilan bog'liq o'ziga xoslik.

Prionlar (inglizcha oqsilli yuqumli zarrachalardan - oqsilli yuqumli zarrachalar) yuqumli agentlarning maxsus sinfi bo'lib, nuklein kislotalarni o'z ichiga olmaydi, odamlarda va bir qator yuqori hayvonlarda markaziy asab tizimining og'ir kasalliklarini keltirib chiqaradigan ("sekin infeksiyalar"). G'ayritabiiy uch o'lchovli tuzilishga ega bo'lgan prion oqsili gomologik normal hujayra oqsilining o'xshash (prion) ga strukturaviy o'zgarishini bevosita katalizlash, maqsadli oqsilga biriktirish va uning konformatsiyasini o'zgartirishga qodir. Qoida tariqasida, oqsilning prion holati oqsil a-spirallarining b-varaqa o'tishi bilan tavsiflanadi.

Prionlar ko'payishi nuklein kislotalarning ishtirokisiz sodir bo'lgan yagona yuqumli agentlardir.

Prokariotlar - hujayralarida membrana bilan bog'langan yadro bo'lmagan organizmlar; yadroning analogi nukleoid bo'lib, uning genetik tizimi (genofor) ibtidoiy xromosomaga mos keladi; P.da mitoz yo'q, P. hujayralarida xloroplastlar, mitoxondriyalar, Golji apparati, sentriolalar yo'q, ribosomalar eukariot hujayralar ribosomalaridan sezilarli darajada farq qiladi; P. alohida podshohlikni (ehtimol, supershohlikni) tashkil etadi, jumladan, bir hujayrali (arxebakteriyalar, eubakteriyalar) va ko'p hujayrali (ko'k-yashil suv o'tlari yoki siyanobakteriyalar) organizmlar; "P" atamasi. 1937 yilda birinchi bo'lib E. Shatton tomonidan taklif qilingan e P. va eukariotlar o'rtasidagi asosiy farqlarni shakllantirdi.

Promotor - DNK molekulasining 80-120 bp uzunlikdagi bo'limi bo'lib, unga RNK polimeraza molekulalari biriktiriladi, bu tegishli genlarning transkripsiyasining boshlanishi bilan birga keladi; har bir gen

(yoki operon) uning transkripsiyasini boshqaradigan o'z P.siga ega; P. mavjudligini birinchi marta F. Yakob va J. Monodlar E. coli ning lak operonini tahlil qilishda ko'rsatgan.

Proteazlar oqsillarning gidrolizlanishini, ya'ni oqsil molekulalaridagi aminokislotalar qoldiqlarini bog'lovchi peptid bog'larining parchalanishini katalizlovchi fermentlardir. Sinonimi: peptidazlar.

Protein kinazlar serin, treonin yoki tirozin qoldiqlari joylashgan joyda oqsil molekulasiga fosfat guruhini (guruhlarini) qo'shishni katalizlovchi fermentlardir.

protoonkogen - hujayralarning normal ko'payishi yoki differentsiatsiyasini boshqaradigan gen, somatik mutatsiya yoki transpozitsiya natijasida onkogenga aylanishi mumkin; Odatda, protoonkogenlar oqsil kinazalarini (masalan, c-src oilasi genlari), membrana bilan bog'langan oqsillarni (c-ras oilasi), o'sish omillari va ularning retseptorlarini kodlaydi.

Qayta ishlash - hujayradagi etuk RNK molekulalari va oqsillarni hosil qilish jarayonlari majmuasi; Yakuniy, funktsional faol mahsulotlar hosil bo'lishi bilan prekursor molekulasining endonukleaza yoki proteazlar tomonidan ketma-ket bo'linishini o'z ichiga oladi (masalan, ko'plab eukariotlarda 41S-, 32S-, 20S-rRNK oraliq; 5,8S-, 18S-, 28S - rRNK yakuniy) va degradatsiyasi

"ortiqcha" joylar; eukariotlarda P. mRNK intronlarning ajralish bosqichini va qo'shilish natijasida etuk molekula hosil bo'lishini o'z ichiga oladi; P. tizimiga turli modifikatsiyalar ham kiradi - masalan, alohida asoslarning metillanishi va boshqalar.

PCR (PCR) - qarang. Polimerazaning qimmatli reaktsiyasi.

PCR kuchaytirilishi - polimeraza qiymat reaktsiyasi (PCR), gen kuchaytirilishiga qarang.

PCR texnologiyalari - PCR yordamida DNKni ko'paytirishning (amplifikatsiyasining) turli usullari.

p53 (p53 oqsili) hujayra siklini tartibga soluvchi transkripsiya omilidir. p53 malign o'smalarning shakllanishini bostiruvchi vazifasini bajaradi; shunga ko'ra, TP53 geni antionkogendir.

Radiomarkali DNK probi - qarang DNK probi.

DNKni cheklash bo'laklarini ajratish - Agaroz gel elektroforeziga qarang.

Taniqli saytlar - Tanish saytlariga qarang.

recA muhim rol o'ynaydigan ko'pchilik bakteriyalarda topilgan oqsildir

DNKni tiklash va rekombinatsiya jarayonlaridagi roli.

Rekombinatsiya - bu irsiy kombinativ o'zgaruvchanlikka olib keladigan ota-ona genetik materialining qayta taqsimlanishi; umumiy ma'noda R. deb ota-ona gametalari birlashganda genlarning yangi birikmasini yaratish tushuniladi, torroq qilib aytganda, R. hujayra bo'linishi jarayonida xromatidalar va xromosomalar bo'limlarining almashinishi; prokariotlarda R. konjugatsiya, transformatsiya yoki transduksiya jarayonida, viruslarda aralash infeksiya paytida; eukariotlarda, qoida tariqasida, R. meyoza xos (meyotik R.), lekin ba'zan mitoz (somatik R.)da ham uchraydi; O'zaro (DNK molekulasining bo'limlarini o'zaro almashish), o'zaro bo'lmagan (DNK bo'limining bir tomonlama o'tkazilishi) mavjud; umumiy (krossingover), saytga xos va noqonuniy R. (xromosomalarning qayta tuzilishi natijasida gomologik bo'lmagan xromosomalar bo'limlarining almashinishi).

Gen rekombinatsiyasi - (lotincha re - qayta va combinare - bog'lash) - ikkita xromosoma yoki bir-biridan genomlari bilan farq qiluvchi ikkita hujayra o'rtasida gen almashinuvi. Ikkinchisi somatik hujayralarning "gibridlanishi", somatik kesishishi paytida paydo bo'lishi mumkin. Genetik rekombinatsiyaning birligi - bu kashfiyot. Genlarning rekombinatsiyasi hujayralar va organizmlarning evolyutsion o'zgarishi nuqtai nazaridan katta biologik ahamiyatga ega, chunki buning natijasida ota-ona shakllarida mavjud bo'lmagan genlarning bunday birikmalari paydo bo'lishi mumkin.

Rekombinatsiya rekombinatsiyasi molekulyar ta'mirlash mexanizmlaridan biri bo'lib, uzilish-qo'shilish rekombinatsiyasi jarayonida sodir bo'ladi - 2 molekula orasidagi rekombinatsiya jarayonida uning shikastlangan segmentini shikastlanmagan segmentga almashtirish orqali mahalliy DNK molekulasining hosil bo'lishi.

Rentgen strukturaviy tahlil - bu rentgen nurlarini ob'ekt orqali o'tkazishda diffraksiya (egilish) hodisasidan foydalanishga asoslangan hujayralarning molekulyar tuzilishini o'rganishning muhim usullaridan biri. Ob'ektning fazoviy panjarasidagi molekulalarning joylashish xususiyatiga qarab, fotoplastinkada konsentrik halqalar va yoylarning tasviri paydo bo'ladi, ularning kengligi va ular orasidagi masofa molekulalarning o'lchami va joylashishini aniqlaydi. Rentgen nurlari diffraksiya tahlili asosida DNK molekulasining strukturasi diagrammasi tashkil etiladi.

Renaturatsiya - biopolimerning (oqsil yoki nuklein kislota) tabiiy (biologik faol) fazoviy tuzilishini tiklash; xususan, R. DNK (isitish orqali denatürasyondan keyin) sekin sovutish paytida paydo bo'lishi mumkin, bu gibrid heteroduplekslarni olish uchun ishlatiladi.

Reparativ replikatsiya - eksizyonni tiklash bosqichi bo'lib, uning davomida hosil bo'lgan bo'shliqlar to'ldiriladi va DNK replikatsiyasi tamoyillariga muvofiq amalga oshiriladi. DNK polimeraza I ishtirok etadi.

Ta'mirlash fermentlari - ta'mirlash jarayonida ishtirok etadigan o'ziga xos hujayra fermentlari to'plami; R.F.ga. nukleazlarni o'z ichiga oladi (masalan, E.coli-da uvrA va uvrB genlari tomonidan kodlangan va shikastlangan joylarni kesib tashlaydi).

DNK), DNK polimeraza I, fotoreaktivlashtiruvchi ferment - deoksiribopirimidin fototoliaz (E. coli da phr geni bilan kodlangan), fotoreaktivatsiyada ishtirok etadi, shuningdek, ta'mirlash uchun kamroq xos bo'lgan boshqa bir qator fermentlar - masalan, DNK ligaza.

Reparatsiya, reparativ sintez - DNK molekulasining mahalliy birlamchi tuzilishini tiklash (ya'ni replikatsiya va rekombinatsiya jarayonida o'z-o'zidan paydo bo'ladigan yoki tashqi omillar ta'sirida yuzaga keladigan zararni tuzatish); fotoreaktivatsiya, eksizyon va postreplikativ R.ni farqlay oladi; R. maxsus reparativ fermentlar majmuasi yordamida amalga oshiriladi; nuqsonli R.DNK insonning ayrim irsiy kasalliklarida - pigmentoz kseroderma, ataksitelangiyektaziya, fankoniy anemiya, trixotiyodistrofiya va boshqalarda kuzatiladi.

Replikatsiya - bu genetik ma'lumotlarning aniq nusxalarini avlodlar seriyasiga o'tkazish bilan birga nuklein kislota molekulalarining aniq o'zini o'zi ko'paytirish jarayoni. R. atamasi asosan genom tarkibidagi ma'lumotlarni to'g'ri nusxalash maqsadida DNK shablon zanjirida yangi DNK zanjirini sintez qilish jarayonini belgilash uchun ishlatiladi. R. DNK yarim konservativdir. Ushbu jarayonning asosiy bosqichlari replikatsiya vilkasini hosil qilish uchun DNK zanjirlarini ajratish, DNK polimerazasini bog'lash va 3' uchidan boshlab komplementar nukleotidlarni qo'shishni o'z ichiga oladi. Uzluksiz takrorlanadigan ip (etakchi ip, etakchi ip) uzluksiz takrorlanadigan boshqa (orqada qolgan) ipdan qisqa bo'laklarga (Okazaki bo'laklari) ajratilishi kerak. Sintezdan so'ng, Okazaki bo'laklari to'liq orqada qolgan ipni hosil qilish uchun bog'lanadi (DNK ligazasi yordamida). Rolling doira replikatsiyasi replikatsiya usuli bo'lib, bunda replikatsiya vilkasi

dumaloq matritsada ko'p burilishlar qiladi; Har bir siklda sintez qilingan DNK zanjiri oldingi siklda sintezlangan zanjirni siqib chiqaradi va bitta zanjirli shablon halqasini to'ldiruvchi chiziqli ketma-ketliklardan iborat dum hosil qiladi.

Replikon - bitta replikatsiyani boshlash nuqtasi (replikator) nazorati ostidagi avtonom replikatsiya birligi; prokariotlarda R. butun genom bilan ifodalanadi, eukariotlarda esa genomga ko'p R. kirishi mumkin; "R" atamasi. 1963 yilda F. Jeykob va S. Brenner tomonidan taklif qilingan.

Replikatsiya mintaqasi - DNKning ma'lum bir vaqtda replikatsiya jarayonini boshdan kechiruvchi qismi (replikon); eukariotlarda replikatsiya jarayonining sezilarli darajada desinxronizatsiyasi tufayli R.U.ning tarqalishi. turi va xromosomaga xos bo'lib chiqadi, bu, xususan, 1963 yilda V. Shmid tomonidan inson genomi uchun ko'rsatilgan.

Repressor - (lotincha repressio - bostirish) - protein sintezi darajasining pasayishiga olib keladigan ishlaydigan gen operonining ta'sirini bloklashi mumkin bo'lgan gen regulyatori tomonidan kodlangan oqsil. Repressor effektorlar deb ataladigan metabolitlar bilan bog'langanda, oqsil sintezi qayta faollashadi.

Muxbir gen - bu genetik va biokimyoviy jihatdan yaxshi o'rganilgan va boshqa genlarning tartibga soluvchi mintaqasi bilan osongina bog'lanishi mumkin bo'lgan gen. Uning faolligi odatda ushbu gen o'tkaziladigan organizmda aniqlanmaydi. Ko'pchilik R. g.ning faolligini ancha sodda usullar bilan osongina tekshirish mumkin (masalan, galaktozidaza, -glyukuronidaza, xloramfenikolatsetiltransferaza va boshqalar uchun oqsil mahsulotining fermentativ faolligini aniqlash orqali).

Cheklash fermentlari - bu cheklash joylari deb ataladigan ma'lum nukleotidlar ketma-ketligida DNKni kesuvchi cheklovchi fermentlar (qarang). R.ni nafaqat bakteriya genomi, balki plazmidlar va bakteriofaglar ham kodlash mumkin. Ular gen muhandisligining asosiy vositalaridan biri bo'lib, rekombinant DNK olish uchun keng qo'llaniladi (qarang). Sinonimi: cheklovchi endonukleazlar.

Retrotranspozonlar - harakatlanuvchi genetik elementlar guruhi bo'lib, ularning harakati teskari transkripsiya mexanizmi (teskari transkriptaza ishtirokida) yordamida amalga oshiriladi; R.ga drozofilaning mobil dispers genlari, xamirturushning Ty-elementi va boshqalar kiradi.

Retseptor - bu plazma membranasida lokalizatsiya qilingan transmembran oqsili bo'lib, membrananing tashqi tomonidagi ligand bilan bog'lanishga qodir va shu bilan sitoplazmaga qaragan tomonda faollikning o'zgarishiga olib keladi. Ko'pincha ligandlarning bog'lanishiga imkon beruvchi molekula hududiga murojaat qilish uchun ishlatiladi.

Retsipient organizm, retsipient - 1. Qabul qiluvchi har qanday hujayra yoki organizm: a) begona DNK yoki RNK ko'rinishidagi yangi genetik ma'lumot; b) k.-l. boshqa donor organizmdan biologik material. 2. Transduksiya va konjugatsiya jarayonida genetik materialni qabul qiluvchi hujayra.

To'g'ridan-to'g'ri (to'mtoq) uchlar - bu ikki zanjirli DNK bo'laklariga ishora qiluvchi atama bo'lib, uning uchlari yopishqoq uchlaridan farqli o'laroq, birorta ip boshqasidan tashqariga chiqmaydi (qarang). R.k. natijasida shakllanadi cheklash fermentlari (cheklash endonukleazalari) Alu I, Ecor V, Hpa I, Nac I, Pvu II, Sma I va boshqalarning ta'siri, shuningdek, S1-nukleaza yordamida bir ipli uchlarini olib tashlash yoki ularni DNK polimeraza I yordamida to'ldirish orqali.

Ribonuklein kislotasi (RNK) ko'pincha bir zanjirli polinukleotid bo'lib, u riboza va urasil shakarlari (DNKda dezoksiriboza va timin o'miga) mavjudligi bilan tavsiflanadi. Genetik ma'lumotlarning uzatilishini ta'minlaydi (messenjer mRNK va transport tRNK), ribosomalar (ribosoma rRNK) uchun strukturaviy asos bo'lib xizmat qiladi va fermentativ funktsiyalarni (ribozimlar) bajaradi. Barcha hujayrali RNKning 90% ga yaqini rRNK, 8% ga yaqini tRNK va mRNK 2% dan kamrog'ini tashkil qiladi. Eukariotlarda RNK molekulalari, qoida tariqasida, katta molekulalar (pro-RNK prekursorlari) sifatida transkripsiyalanadi, so'ngra splays va boshqa post-transkripsiya o'zgartirishlar orqali kichikroq (ba'zan sezilarli darajada) faol (etuk) shakllarga aylanadi. hajmi. Pro- va eukariotlarda RNK funktsiyalari juda farq qiladi. Ko'pgina viruslar uchun barcha genetik ma'lumotlar DNK o'miga bir va ikki zanjirli RNKda mavjud.

Ribosoma - bu protein biosintezi amalga oshiriladigan hujayra organellasi. R. diametri 10—20 mkm bo'lgan assimetrik ribonukleoprotein zarrasi bo'lib, u ikkita subbirlikdan iborat bo'lib, peptid bog'lanish hosil bo'lishi, ya'ni aminokislotalar qoldiqlarini polipeptid zanjiriga polimerizatsiyasi uchun javob beradigan katalitik funktsiyaga ega. oqsil. R. mRNK bilan bog'langanda polipeptidlar

sintezi boshlanadi. Kichik bo'linmada mRNK bilan bog'langan ribosoma oqsili (S oqsillari) bilan bog'langan rRNKning bir zanjiri (prokaryotlar, xloroplastlar va o'simliklarda 16S, hayvonlarda 18S rRNK) mavjud. Yirik subbirlik rRNKning yagona yirik zanjiri (prokariotlarda 23S rRNK, o'simliklar va mitoxondriyalarda 25S, hayvonlarda 28S), bir yoki ikkita kichik rRNK (prokariotlarda 5S, eukariotlarda 5S va 5,8S) va ribosoma L dan iborat kompleksdir. -oqsillar. Bu kompleksda 2-3 tRNK molekulalarining biriktirilishi uchun joy mavjud.

RNK primeri RNK polimeraza (sm) yoki DNK primazasi (sm) ishtirokida sintez qilingan oligoribonukleotiddir: RNK-Z ning 5' uchidan. DNK polimeraza III ishtirokida yangi DNK molekulasini (yoki Okazaki fragmenti) sintezi boshlanadi, keyin esa RNK-3 boshlanadi, ajraladi, hosil bo'lgan bo'shliq bir vaqtning o'zida DNK polimeraza I bilan to'ldiriladi va bir zanjirli uzilishlar DNK ligaza tomonidan tiklanadi.

RNK polimeraza, RNK sintetaza ribonukleozid trifosfatlardan RNKning shablonli sintezini amalga oshiradigan ferment; ishlatiladigan matritsaga qarab - DNK yoki RNK - DNKga bog'liq va RNKga bog'liq RNK-P farqlanadi; Prokariotlarda 2 xil RNK-P mavjud: ulardan biri Okazaki fragmentlari uchun RNK primerlarini sintez qiladi, ikkinchisi esa boshqa barcha turdagi RNKlarni sintez qiladi; eukariotlarda RNK-P.ning 3 turi mavjud: RNK-P.I rRNKni, RNK-P.II mRNKni, RNK-P.III esa tRNK, 5S-RNK va boshqa mayda RNKlarni sintez qiladi; RNK-P faolligi. ba'zi antibiotiklar bilan butunlay bostirilishi mumkin - masalan, rifamitsin va aktinomitsin D (bakterial RNK.), alfa-amanitin (prokaryotik RNK-P.II).

Rho-bog'liq terminator - terminator (transkripsiyaning tugashini ta'minlaydigan nukleotidlar ketma-ketligi), uning normal ishlashi rho omilining mavjudligini talab qiladi.

Rho-mustaqil terminator - rho omili bo'lmaganda ishlaydigan terminator; R.-N.T tuzilishining xarakterli xususiyati. muhim ipda 4-8 adenil nukleotidlar klasteridan oldingi markaziy simmetriyaga ega bo'lgan GCga boy hududning mavjudligi.

Rho omil, tugatish omili - Rhoga bog'liq terminatorlarda transkripsiyani tugatish uchun zarur bo'lgan E.coli oqsili; R.-F. faol shaklda - molekulyar og'irligi 55 kDa bo'lgan tetramer; in vitro R.-F. katalitik miqdorlarda u tugatish omili sifatida ishlaydi va shuningdek, uning ishlashi uchun zarur bo'lgan RNKga bog'liq ATPaz (GTPaz) faolligiga ega.

Ras oqsillari 189 ta aminokislota qoldig'idan tashkil topgan tartibga soluvchi membrana bilan bog'langan G oqsillari. Ular hujayra tashqarisidan signal uzatishning birinchi bosqichlaridan birini amalga oshiradilar va, qoida tariqasida, hujayra ko'payishini tartibga soladilar. Translatsiyadan keyingi modifikatsiyaning tabiatiga ko'ra, Rasning uchta izoformasi mavjud: N, H va K. Ba'zi mutatsiyalar Rasning doimiy faollashishiga olib kelishi mumkin, bu esa hujayra bo'linishini tartibga solishni buzadi. Ras regulyatsiyasidagi xatolar o'simta o'sishi va metastaziga olib kelishi mumkin.

Ras/MAPK yo'li eukariotlarda hujayra ichidagi signal uzatishning murakkab, tarmoqlangan yo'lidir. Ushbu yo'lda tirozin kinaz retseptorlari signali bir qator protein vositachilari orqali, ularning kaliti Ras oqsili bo'lib, bir-birini ketma-ket faollashtiradigan mitogen faollashtirilgan protein kinazalarga (MAPK) uzatiladi (Raf-MEK-ERK).) fosforlanish va oxir-oqibat, yadroga kiradigan fosforilat transkripsiya omillari bilan. Buning oqibati gen ekspressiyasining o'zgarishi, hujayra o'sishi va differentsiatsiyasining oshishi.

Raf oqsillari Ras oqsillari tomonidan faollashtirilgan serin/treonin kinazlardir. Ikki domendan iborat bo'lib, ulardan C-terminal katalitik hisoblanadi. Rafning uchta izoformasi ma'lum - A, B va C. Har bir izoform faolligi bilan farqlanadi. Raf fosforlanish orqali sitoplazmatik MAPKlardan birini, MEK, serin/treonin kinazni (ilgari MAP kinaz, MAPKK deb nomlanuvchi) faollashtiradi. Buning ortidan oqsil kinazalarining ketma-ket faollashuvi kaskadi keladi. To'g'ridan-to'g'ri MEK yoki boshqa MAPKlar yadroga kiradigan omillarni fosforlaydi.

Silencer - bu repressor oqsillari (transkripsiya omillari) bog'langan DNK ketma-ketligi. Repressor oqsillarni susturucular bilan bog'lash DNKga bog'liq RNK polimeraza fermenti tomonidan RNK sintezining pasayishiga yoki to'liq bostirilishiga olib keladi. Susturucular promouterdan 2500 bp gacha bo'lishi mumkin.

Klonlash joyi - qarshilik genlaridan birida lokalizatsiya qilingan klonlash vektoridagi ma'lum bir cheklash fermenti tomonidan DNKning bo'linishi joyi (joyi). Bu klonlash jarayonida selektiv muhitda antibiotik qarshiligining yo'qolishi orqali kiritilgan begona DNKni aniqlash imkonini beradi (qarang).

Tanib olish joyi bu DNKning o'ziga xos ketma-ketligi bo'lib, u bilan cheklash endonukleazalari bog'lanadi va bu ferment tomonidan DNK molekulasining parchalanishi boshlanadi. Har bir cheklov fermenti

o'ziga xos tanib olish ketma-ketligiga ega. Odatda S. u. qisqa palindrom bilan ifodalanadi.

Mustaqil replikasiya - bir qator xromosomadan tashqari genetik elementlarning (plazmidlarning) avtonom ko'payish qobiliyati.

Yo'ldosh DNK ortiqcha genomik DNK bo'lib, u, qoida tariqasida, A+T/G+C nisbatining (A+T - "engil" satDNK ga; G+C ga - "og'ir" satDNK ga) siljishi bilan keskin farqlanadi. muhim (105 yoki undan ko'p) takroriy sonni o'z ichiga olgan va shunga mos ravishda noyob ketma-ketliklarga qaraganda tezroq qayta tiklanadigan boshqa DNK bo'limlari; C.DNK asosiy fraktsiyalarga nisbatan qo'shimcha ("sun'iy yo'ldosh") shaklida seziiy xloridning zichlik gradientida santrifujlash orqali ajratilishi mumkin; Qoida tariqasida, C.DNK sentromeralarda va kamroq tez-tez xromosomalarning telomerlarida lokalizatsiya qilinadi va geteroxromatinning bir qismidir.

Southern blot tahlili - DNK molekulalari va ularning qismlarini Southern blot gibridizatsiya usuli yordamida tahlil qilish.

Southern blot gibridizatsiyasi - bu DNKning o'ziga xos genlari va boshqa cheklash fragmentlarini elektroforetik ajratishdan keyin aniqlash imkonini beruvchi usul. Usulning mohiyati shundan iboratki, birinchi navbatda agaroz jelida ajratilgan DNK fragmentlari bir zanjirli molekulalarga denatüratsiya qilinadi, so'ngra DNKning butun elektroforetik spektri nitroseluloz membrana (plyonka) bilan biriktirilgan kapillyar kuchlar tufayli muhrlanadi (blotlanadi). jel, undan keyin u yuqori harorat yordamida o'rnatiladi. Keyinchalik, membrana maxsus radioaktiv yorliqli DNK probini o'z ichiga olgan gibridizatsiya buferiga joylashtiriladi - qisqa, o'ziga xos DNK ketma-ketligi. Zond ma'lum bir komplementar DNK fragmenti bilan gibridlanishga qodir va natijada paydo bo'lgan DNKni cheklash fragmentlarining butun elektroforetik spektridan faqat bir yoki bir nechta o'ziga xos fraksiyalar bilan bog'lanadi. Oxirgi bosqichda olingan DNK fragmentlarining butun spektrini, shu jumladan radioaktiv yorliqli zond bilan gibridlangan fraktsiyalarni o'z ichiga olgan rentgen plyonkasi nitroseluloz membranasiga qo'llaniladi. Ta'sir qilingandan so'ng, plyonkada (avtoradiogramma) DNK fraktsiyalarining joylashishiga mos keladigan yoritilgan joylar aniqlanadi. Usul 1975 yilda E. Southern va R. Davis tomonidan ishlab chiqilgan. Luminescent DNK fraksiyalari agaroz yoki poliakrilamid geldagi ikki zanjirli DNK fraksiyalari bo'lib, etidiiy bromid bo'yog'i bilan bo'yalgan bo'lib, ular bilan birgalikda UV nurlari ostida qip-qizil rangga ega bo'ladi.

DNK ketma-ketligi DNK molekulasidagi asoslar ketma-ketligini aniqlash usulidir. Bir nechta ketma-ketlik usullari mavjud: avtomatik, kimyoviy, to'g'ridan-to'g'ri, Maxam-Gilbert, Sanger sekvensiyasi va boshqalar.

Maxam-Gilbert bo'yicha DNK ketma-ketligi, kimyoviy usul (Maxam-Gilbert sekvensiyasi yoki kimyoviy s.) DNK molekulasidagi nukleotidlarning birlamchi ketma-ketligini aniqlashning eng keng tarqalgan usullaridan biridir. Dastavval DNK 0,6-2,0 kb bo'laklarga bo'linadi. hajmi bo'yicha, bo'laklarning uchlari radioaktiv yorliqli yoki radioaktiv bo'lmagan yorliqli bo'lib, bir ipli molekulalarni hosil qilish uchun eritiladi. Radioaktiv markirovka oltingugurt 35S yoki fosfor 32P izotoplari bilan, radioaktiv bo'lmagan etiketkalar - biotin yoki lyuminescent yorliq yordamida amalga oshirilishi mumkin. Belgilangandan so'ng, DNK namunasi 4 qismga bo'linadi, ularning har biri to'rtta DNK asoslaridan birini maxsus ravishda yo'q qiladigan reagent bilan ishlanadi. Reaksiya sharoitlari shunday tanlanadiki, har bir DNK molekulasida bir nechta zararlar bo'ladi. Ushbu zararlangan molekulalar piperidin bilan ishlov berilganda, singan asos joylashgan DNKda tanaffus hosil bo'ladi. Natijada uzunliklari vayron qilingan asosdan molekulaning oxirigacha bo'lgan masofa bilan belgilanadigan 5'-belgili bo'laklar to'plami hosil bo'ladi. 4 turdagi re natijasida hosil bo'lgan parchalar aktsiyalar poliakrilamid jelda elektroforezga (qarang) duchor bo'ladi, so'ngra bantlar etiketkalash usuliga qarab tegishli usul bilan aniqlanadi. Elektroforez natijalari asosida dastlabki DNKdagi nukleotidlar va ularning ketma-ketligi aniqlanadi.

Sanger bo'yicha DNK ketma-ketligi, enzimatik usul (Sanger sekvensiyasi yoki fermentativ usul s.) - bir zanjirli DNKni ketma-ketlashtirish texnikasi (qarang). Usul ketma-ketlik primerini (qarang) (odatda sintetik oligonukleotidlar) bir zanjirli DNK matritsasiga biriktirishga asoslangan. Reaksiya aralashmasi 4 ta probirkaga o'tkaziladi, unga barcha 4 ta deoksinukleozid trifosfat qo'shiladi, ulardan biriga 32P belgisi qo'yiladi. Har bir naychada turli xil dideoksinukleozid trifosfatlar (ddATP, ddCTP, ddGTP va ddTTP) mavjud. Komplementar zanjimi sintez qilish uchun probirkalardagi bir zanjirli shablonlar ketma-ketligiga DNK polimeraza fermenti (qarang) qo'shiladi. Natijada, primer shablon ketma-ketligiga muvofiq uzaytiriladi. Matrisaga mos keladigan dNTP o'rniga ddNTP o'sayotgan zanjirga kiritilganda, o'sayotgan zanjirning 3' uchi gidroksil guruhini yo'qotadi va undan keyin cho'zila olmaydi: zanjir tugaydi. Natijada, har bir reaksiya aralashmasi umumiy

5' uchi (primer), lekin har xil 3' uchli radioaktiv yorliqli DNK fragmentlari to'plamini oladi. Reaksiya tugagandan so'ng, DNK denatüre qilinadi, so'ngra poliakrilamid jelida elektroforezga duchor bo'ladi (Sequencing gel-ga qarang) va avtoradiografiya yordamida radioaktiv chiziqlar aniqlanadi (qarang). Dastlabki DNK shablonidagi nukleotidlar ketma-ketligini to'g'ridan-to'g'ri avtoradiografdan o'qish mumkin.

Skrining - bu begona DNKning kerakli qismini o'z ichiga olgan ma'lum bir koloniya klonlarini gen kutubxonasi qidirish.

Sekreksiya - molekulaning hujayradan hujayra membranasi orqali o'tishi.

s omil prokaryotik RNK polimerazasining sub birligi bo'lib, ma'lum boshlash ketma-ketliklaridan transkripsiyani boshlash uchun javobgardir.

Signal peptidi - oqsilning N-uchida joylashgan 15-30 aminokislotalar qoldig'i bo'lib, u oqsil sekreksiyasida (hujayra membranasidan o'tishi) ishtirok etadi deb hisoblanadi. Protein hujayradan chiqarilgandan so'ng, signal peptidi chiqariladi.

SOS javobi - bu DNKning jiddiy shikastlanishi (masalan, UV nurlari bilan nurlanish natijasida) bo'lgan bakteriyalarda tiklanish, rekombinatsiya va replikatsiyani ta'minlovchi oqsillarning to'liq to'plamining sintezi.

Spacer - gen klasterining takrorlanuvchi transkripsiyalangan elementlarini ajratib turadigan DNK molekulasi transkripsiyalanmagan hududi; S. odatda saqlanib qolgan transkripsiyalangan hududlardan (genlardan) farqli o'laroq, kattaligi (rRNK gen klasterlarida) ham, nukleotidlar tarkibida ham juda o'zgaruvchan; shuningdek S. - faol genlarni ajratuvchi DNKning transkripsiyalanmagan har qanday bo'limi (odatda uning o'lchami 5-10 juft nukleotiddir); ba'zan S. transkripsiyasi ham mumkin.

Splicing - eukariotlarda mRNK prekursorlarini qayta ishlash shakli; Natijada S. prekursor molekulasidan intron ketma-ketliklarini olib tashlaydi va ekzon ketma-ketliklariga kovalent qo'shib, etuk mRNK molekulalarini hosil qiladi.

Splicome - bu yadro skeleti bilan bog'liq bo'lgan ribonukleoprotein strukturasi bo'lib, avtonom (in vitro va in vivo) mRNK prekursorlarining birikish jarayonini ta'minlashga qodir.

Kodoni to'xtating, bema'ni kodon, terminator - mRNKdagi trinukleotid, polipeptid sintezining tugashi va ribosomadan to'liq polipeptid zanjirining chiqishi haqida signal beradi (qarang). S.-to.ning

uch xil turi mavjud: UAG (qahrabo), UGA (opal) va UAA (oxra). Ularning hech biri tRNK antikodoniga mos kelmaydi.

T

Tag polimeraza, Tag DNK polimeraza (Tag polimeraza yoki Tag DNK p) deoksinukleotidlarni polimerizatsiya qiluvchi termofil eubakterium *Thermus aquaticus*dan olingan fermentdir. Ferment juda termostabil (optimal harorat 70-75 °C) va har qanday klonlangan DNKni 10 million martagacha tanlab kuchaytirilishini (qarang) deb ataladigan usul yordamida yuqori aniqlik bilan ta'minlaydi. polimeraza zanjiri reaksiyasi (qarang: PCR). Genetik kodlar jadvali (lug'ati), kodonlar lug'ati (genetik kodlar jadvali (lug'at)) - bu individual kodonlarning (qarang) yoki tripletlarning (qarang) genetik qiymatlarini o'z ichiga olgan jadval, ularning hosilalari. faoliyat ko'rsatmoqda. 64 ta kodonni o'z ichiga oladi, ulardan 61 tasi semantik, ya'ni. ularning har biri o'ziga xos aminokislota va 3 ta to'xtash kodonini (qarang) yoki bema'ni kodonlarni kodlaydi, bu polipeptid sintezining tugashi va ribosomadan polipeptid zanjirining chiqishi haqida signal beradi (qarang).

Tandem takrorlash (tandem takrorlash) - bir xil DNK ketma-ketliklarining birin-ketin joylashgan va bir yo'nalishda yo'naltirilgan ko'p nusxalari, masalan, (AATAT)_n, (AATAG)_n va boshqalar. Tandem takrorlash kodlash va kodlanmagan holda uchraydi. hududlar. Ular klaster uzunligi va takroriy birlik hajmida farqlanadi.

Qorong'i (qorong'i eksizyon, eksizyon) replikatsiyadan oldingi tuzatish shakllaridan biri bo'lib, u (fotoreaktivatsiyadan farqli o'laroq) ko'rinadigan yorug'lik energiyasini talab qilmaydi va "kesish va yamoq" mexanizmi bo'yicha amalga oshiriladi; T.R. bakteriyalarda yaxshi o'rganilgan, lekin ikkitadan faglarda ham ma'lum zanjirli DNK va eukariotlarda; xususan, *E. coli* da *uvrA* va *uvrB* nukleazlari buzilgan tuzilishga ega bo'lgan DNK bo'limlarini tanib, so'ngra TR ning boshlang'ich bosqichini ta'minlaydi. (zararlangan joyni kesib tashlash); birinchi marta T.R. 1964 yilda R. Setlow va V. Carrier tomonidan bakteriyalarda tasvirlangan.

Telomera - xromosomaning terminal bo'limi bo'lib, ba'zan geteroxromatinga boy bo'lib, T. yopishib qolishining oldini olish orqali xromosoma yaxlitligini saqlashda rol o'ynaydi; terminal deletsiyalar bilan, genomning boshqa qismlarida lokalizatsiya qilingan heterokromatin qismlari bilan T.ning o'z-o'zidan "shifo topishi" mumkin.

Telomeraza - xromosoma telomerlarining hajmi, soni va nukleotidlar tarkibini nazorat qiluvchi transferaza guruhining fermenti;

T. birinchi bo'lib kirpiksimon *Tetrahymena thermophil*dan ajratilgan bo'lib, uning makronukleusida bir necha o'n minglab telomerlar bo'lishi mumkin. Ularning takrorlanishi har bir telomerada bo'ladi) molekulyar og'irligi taxminan 500 kDa.

Telomerik ketma-ketlik (takrorlash) - DNK (xromosomalar) ning terminal bo'limlariga xos bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligi, odatda oligonukleotidlarning ko'p takrorlanishi bilan ifodalanadi va xromosomalarning terminal ketma-ketliklarining replikatsiyasini yakunlash uchun zarur bo'ladi, shuningdek, ehtimol himoya rolini o'ynaydi; xususan, umurtqali hayvonlarda T.P. yuqori darajada saqlanib qolgan. (TTAGGG)_n, barcha xromosomalarning telomerlarida asosiy sinflardan - baliqlar, amfibiyalar, sudraluvchilar, qushlar, sutemizuvchilarning 100 dan ortiq turlarida aniqlanadi; birinchi marta T.P. 1978 yilda E. Blabern va J. Gall tomonidan siliat *Tetrahymena pyriformis* (AACCCC geksanukleotidining 30-70 ta takrorlanishi) tasvirlangan.

Erish harorati ma'lum DNK molekulasining (yoki gibrid DNK/RNK dupleksining) asosiy xarakteristikalaridan biridir - qo'sh spiralning 50% dissotsiatsiyalanadigan harorat ma'lum turdagi organizmlarning DNKsiga xosdir, chunki nukleotid tarkibiga va uning umumiy hajmiga bog'liq; T_m nuklein kislota molekulasidagi AT/GC nisbatini aks ettiradi, chunki G-C juftligida 3 ta vodorod aloqasi (AT-T - 2) mavjud va bu juftlikning nukleotidlari orasidagi o'zaro ta'sir mos ravishda kuchliroqdir.

Timin [T, timin, lat. timus - timus bezi va -in(e) - "o'xshash" ma'nosini bildiruvchi qo'shimcha] - pirimidin asosi, 5-metiluratsil. Timin. barcha tirik hujayralarda DNK va transport RNKning bir qismi sifatida topilgan; uglevod almashinuvining ba'zi koenzimlarining tarkibiy qismi. DNKda timin mavjud. adeninni to'ldiruvchi, u bilan 2 ta vodorod bog'ini hosil qiladi.

Tirozin oqsil kinazalari fosfat guruhini ATP dan oqsildagi tirozin aminokislota qoldig'iga o'tkazadigan fermentlardir. Aksariyat tirozin kinazlar birlashgan tirozin fosfatazlarga ega. Tirozin kinazlar ikki guruhga bo'linadi: sitoplazmatik va transmembran (retseptorlar bilan bog'langan).

Replikatsiyaning kelib chiqishi replikatsiyaning boshlanishi sodir bo'lgan replikon (DNKning replikatsiya bo'limi) hududidir.

Replikatsiyani tugatish nuqtasi replikatsiya tugashi sodir bo'ladigan replikatsiya qiluvchi DNK mintaqasining hududidir.

Rekombinatsiya nuqtasi - ikkita rekombinatsiya qiluvchi ikki zanjirli DNK molekulalarining qo'shilish nuqtasi

Cheklov nuqtasi (R nuqtasi) hujayra siklining G1 bosqichidagi eng sezgir nuqtadir. Cheklov nuqtasiga yetgandan so'ng, hujayralar odatda keyingi bosqichga o'tishni taklif qiluvchi signalni olmaguncha bo'linishni to'xtatadilar. Cheklov nuqtasida hujayra o'sishi noqulay sharoitlarda, masalan, ularning zichligi oshganida yoki ochlik paytida inhibe qilinadi. Bunday holda, hujayra to'xtashi va tsikldan G0 fazasiga chiqishi mumkin.

Transkripsiyalangan spacer - ikkita yuqori molekulyar og'irlikdagi rRNK genlarini ajratuvchi ribosoma DNK klasterining bo'limi; T.S. rRNKning o'zi etilish davrida kesiladi; ba'zi organizmlarda (bakteriyalar va boshqalar) T.S tarkibida. past molekulyar og'irlikdagi rRNKni (5,8S) aniqlaydigan kodlash ketma-ketligini o'z ichiga olishi mumkin.

Transkripsiya - bu DNK yoki RNK shablonidagi RNK molekulalarining sintezi, DNKga bog'liq yoki RNKga bog'liq RNK polimeraza tomonidan amalga oshiriladi. T. prokariotlarda RNK polimeraza fermenti va eukariotlarda genlarni transkripsiya qiluvchi kamida 3 turdagi RNK polimeraza ishtirokida amalga oshiriladigan DNKda qayd etilgan genetik axborotni amalga oshirishning birinchi bosqichidir.

Tarjima - mRNK dan shablon sifatida foydalangan holda ribosomalarda oqsil (polipeptid zanjiri) sintezi. T. boshlanishi, tRNK molekulalarining aminoatsillanish reaksiyalari, polipeptid zanjirlarining cho'zilishi (cho'zilishi) va sintezning tugashi bosqichlaridan iborat. T. jarayoni mRNKning 5'-bosh uchi ribosoma bilan bog'langanda boshlanadi. Keyin mRNK ribosoma bo'ylab harakatlanadi va polipeptid zanjirini qurish uchun shablon bo'lib xizmat qiladi. Aminokislotalarni ribosomalarga oqsil sintezi joyiga yetkazib berish tRNK tomonidan amalga oshiriladi. Har bir tRNK o'z antikodonini mRNKdagi mos keladigan kodonga biriktirib, polipeptid zanjiridagi aminokislotalarning ketma-ketligini aniqlaydi. Polipeptid zanjirining sintezi aminokislota uchida (N-terminus) boshlanadi va karboksil uchida (C-uchida) tugaydi. mRNK translatsiya tezligini o'zgartirish gen ifodasini tartibga soladi.

T ranspozaza - ba'zi mobil genetik elementlarning (MGE) transpozitsiyasining dastlabki bosqichlarida ishtirok etadigan ferment, masalan, faollashuv-dissosiyatsiya tizimidagi bakterial Tn3 yoki Ac; T. geni rezolvaza fermenti kabi MGE ning o'ziga kiradi.

Transpozon, transposable element, mobil e. (transpozon, Tn yoki transposable element yoki mobil e.) - genom ichidagi o'rmini o'zgartirishi mumkin bo'lgan DNKning bo'limi. T. qisqa teskari takrorlanishlar bilan yonma-yon joylashgan bo'lib, ularni kesish, uzatish va yangi joyga kiritishni ta'minlovchi fermentlarni kodlaydi. T.dan klonlash vektorlarini qurish, transpozon mutagenez va transpozon teglarini yaratish uchun foydalanish mumkin. Ko'p sonli turli T.lar ma'lum (drozofilaning P-elementi, makkajo'xorining ko'chma elementlari va boshqalar).

Transpozitsiya: xuddi shu yoki boshqa DNK molekulasidagi yangi joyga transpozon yoki kiritish ketma-ketligini kiritish jarayoni. Turli transpozonlar turli mexanizmlar orqali harakatlanishi mumkin va transpozitsiyaning aniq mexanizmi hali to'liq ma'lum emas. Bakteriyalardagi transpozitsiya transpozon va maqsadli DNK o'rtasida kengaytirilgan homologiya mintaqalarining mavjudligini talab qilmaydi.

Transfer RNK (t-RNK) past molekulyar og'irlikdagi RNK (7590 nukleotidni o'z ichiga oladi) bo'lib, aminokislotalarning oqsillarga qo'shilishi uchun ribosomalarga (qarang) o'tkazilishini ta'minlaydi. tRNKlar "yonda bargi" shaklida o'ziga xos ikkilamchi tuzilishga ega, antikodon antikodon halqasida joylashgan va 5' uchida har doim guanin (G) mavjud. Aminokislotalar tRNKdagi CCA ketma-ketligining 3' uchiga aminoatsillanish reaksiyasi orqali qo'shiladi. tRNKning ikkilamchi tuzilishi uchun "yonca bargi" modeli R. Holley va boshqalar tomonidan taklif qilingan. 1965 yilda

Trans-splaysing - bir mRNK molekulasida turli genlarning ekzonlari ketma-ketligini birlashtirish jarayoni; T.-S. birinchi bo'lib in vitroda kashf etilgan va 2 ta qayta ishlangan RNK molekulasining intronik mintaqalarining to'ldiruvchi bo'limlarini X shaklidagi figuraga ulashdan, so'ngra turli xil boshlang'ich molekulalardan ekzon juftlarini birlashtirishdan iborat; T.-S., ehtimol, ekzonlarning "aralashmasi" paytida, shuningdek, tripanozlarda ba'zi etuk mRNKlarning shakllanishi paytida paydo bo'ladi.

Transferazalar - bir molekuladan boshqasiga atomlarning turli guruhlarini (masalan, amin, asil, fosfat va boshqalar) o'tkazishning qaytar jarayonlarini katalizlovchi fermentlar sinfi (fermentlar tasnifida birinchi raqam 2); kichik sinflarga bo'linish - o'tkazilgan guruhning tuzilishiga qarab; taxminan 450 T ma'lum.

Transformatsiya - 1. Izolyatsiya qilingan DNK yordamida plazmidlar ishtirokida yoki ishtirokisiz bakteriya hujayralariga genetik

ma'lumotni o'tkazish (qarang), lekin har doim viruslar ishtirokisiz. 2. O'zgartirilgan hujayraning genomiga kiritilgan boshqa genotipli hujayradan tozalangan yoki rekombinant DNK yordamida hujayra genomini yo'naltirilgan modifikatsiya qilish. 3. Onkogen viruslardan nuklein kislota hujayra genomiga integratsiyalashganidan keyin, kimyoviy kanserogenlar ta'siridan keyin yoki o'z-o'zidan (onkogen T. .). 4. Hujayra ichiga begona DNKning kirib borishi natijasida uning irsiy xususiyatlarining o'zgarishi. Birinchi marta 1928 yilda pnevmokokklarda F. Griffit tomonidan kashf etilgan.

Transgen organizmlar - irsiy tuzilmalariga boshqa organizmdan kamida bitta faol ishlaydigan gen sun'iy ravishda kiritilgan organizmlar.

O'zgartirilgan organizmlar - begona DNKning kirib borishi natijasida irsiy xususiyatlari o'zgargan organizmlar.

Triplet DNK yoki RNK molekulasidagi ketma-ket joylashgan uchta nukleotidlarning birikmasi bo'lib, 1 aminokislota kodlaydi (qarang Kodon).

U

Ubiquitin barcha eukaryotik hujayralarda mavjud bo'lgan kichik protein bo'lib, uning vazifasi proteolitik parchalanish uchun mo'ljallangan oqsillarni belgilashdir (chunki ular shikastlangan yoki hujayraga endi kerak emas).

Noyob (takrorlanmaydigan) DNK ketma-ketligi - bu ma'lum genomda bir nusxada (kamdan-kam hollarda bir nechta, lekin odatda 10 dan ko'p bo'lmagan) mavjud bo'lgan DNK molekulasining bo'limlari; ko'pchilik strukturaviy genlar (ko'p genli oilalarni tashkil etuvchilaridan tashqari) U. p. bilan ifodalanadi.

O'rtacha takrorlanadigan DNK - genomda 10-100 marta takrorlanadigan nukleotidlar ketma-ketligi (uzunligi 100-500 nukleotid juftligi); U.P. DNK geteroxromatinning bir qismi sifatida topilgan, u hayvonlarning rRNK va tRNK genlarini, ba'zi boshqalarni, ko'p genli oilalarni, shuningdek, turli tabiatdagi mobil genetik elementlarni o'z ichiga oladi.

DNKni qadoqlash - ikki zanjirli DNK molekulasining mutlaq uzunligining keskin qisqarishiga olib keladigan spirallanish va o'z-o'zidan katlama jarayonlari to'plami; U.ning samaradorligi qadoqlash indeksi bilan baholanadi.

Uratsil (2,4-dioksopirimidin) ribonuklein kislotalarning tarkibiy qismi bo'lgan va odatda DNKda mavjud bo'lmagan va nukleotidning bir qismi bo'lgan pirimidin asosidir. Nuklein kislotalarning bir qismi sifatida

u adenin bilan qo'shimcha ravishda bog'lanib, ikkita vodorod aloqasini hosil qilishi mumkin.

Uridin 5'-oy nofosfat (UMF) RNK molekulasining nukleotidi bo'lib, fosfor kislotasi qoldig'i, riboza karbongidrat va urasilning pirimidin azotli asosidan iborat.

Bo'linish joyi - Cheklov saytiga qarang. Tanib olish sayti - Tanib olish saytiga qarang.

F

O'sish omillari tirik hujayralarning o'sishi, ko'payishi va / yoki differentsiatsiyasini rag'batlantirishi mumkin bo'lgan birikmalardir. Qoida tariqasida, bu peptid yoki steroid gormonlardir. O'sish omillari hujayralar orasidagi o'zaro ta'sir uchun signalizatsiya molekulalari sifatida ishlaydi. Masalan, hujayraning o'ziga xos retseptorlari bilan bog'langan sitokinlar va gormonlar.

Transkripsiya omillari - bu transkripsiyaning asosiy bosqichlari (boshlanish, cho'zilish va tugatish) orqali RNK polimerazalarini osonlashtiradigan, shuningdek transkripsiyaning selektiv xarakterini ta'minlaydigan yordamchi oqsillar (masalan, kuchaytirgichlar bilan o'zaro ta'sir qilish orqali to'qimalarga xos genlarni ifodalash).

Cho'zilish omili (Ef-G - prokariotlarda) translatsiya paytida ribosomaning harakatlanishini ta'minlaydigan yirik oqsil: F.E. GTP (guanozin trifosfat) va ribosoma bilan o'zaro ta'sir qiladi, bu GTPaz faolligining paydo bo'lishi, GTP ning harakati va ajralishi bilan birga keladi, GTP gidrolizi esa ribosoma harakati uchun bevosita talab qilinmaydi, shundan so'ng P.E. ribosoma bilan kompleksdan ajralib chiqadi; P.E.ning molekulyar og'irligi. E. coli 77444 D; hujayradagi P.E. molekulalari soni taxminan ribosomalar soniga teng.

IF2 omili, prokariotlarda translatsiyani boshlashning asosiy omili, molekulyar og'irligi 100 kDa (IF2a) yoki 90 kDa (IF2b) bo'lgan kislotali tabiatning katta oqsili bo'lib, GTP bilan kompleksda formilmetionin-tRNK va 30S subbirligi bilan o'zaro ta'sir qiladi. ribosomalar, mRNKning bog'lanishiga yordam beradi.

Fermentlar barcha tirik hujayralarda mavjud bo'lgan oqsil moddalari bo'lib, ulardagi biokimyoviy jarayonlarni boshqaradi, tartibga soladi va sezilarli darajada tezlashtiradi; metabolizmga muhim rol o'ynaydi.

DNK barmoq izi elektroferogrammalarda (barmoq izi) yuqori darajada o'ziga xos gibridizatsiya chizig'i bo'lib, genomik DNKni cheklash fragmentlarining uzunlik polimorfizmi natijasida hosil bo'ladi

(RFLP, qarang). Bunday polimorfizmning sababi cheklash joyidagi mutatsiyalar (qarang), DNK takrorlanishi (mini- va mikrosatellitlar) va boshqalar bo'lishi mumkin.

Flanking DNK ketma-ketligi - boshqa ketma-ketlik bilan ("qo'shni", "qanotda") yonida joylashgan har qanday nukleotidlar ketma-ketligini tavsiflaydi; 5' va 3' yonma-yon DNK ketma-ketliklarini farqlash, ya'ni. polinukleotid zanjirining mos ravishda 5' va 3' uchlaridagi asosiy ketma-ketlikka ulashgan.

Fosforlanish - bu fosfor kislotasi qoldig'ini donor fosforillovchi vositadan substratga o'tkazishning ferment-katalizli jarayoni bo'lib, fosfor kislotasi efirlari hosil bo'lishiga olib keladi. Tirik hujayralarda fosforillanish post-translatsion oqsil modifikatsiyasining eng keng tarqalgan turlaridan biridir. Turli substratlarning fosforillanishi va fosforillanishi jarayonlari eng muhim biokimyoviy reaksiyalar qatoriga kiradi. Ular kinazalarning maxsus klassi yoki boshqa fosfotransferazalar sifatida tasniflangan maxsus fermentlar tomonidan katalizlanadi.

Okazaki fragmentlari nisbatan kichik (E.coli-da - 1-2 ming, sutemizuvchilarda - 100 ga yaqin nukleotid juftlari) replikasiya vilkasining "ortda qolgan zanjirida" (5' 3' yo'nalishda) sintezlangan DNK molekulasining qismlari. ; o'zaro bog'lanish (ligatsiyalash) F.O. DNK ligaza ishtirokida, F.O. sintezining boshlanishi bilan sodir bo'ladi. primazaning ta'siri natijasida hosil bo'lgan RNK primerlari yordamida sodir bo'ladi; F.O. R. Okazaki va boshqalar tomonidan tasvirlangan. 1968 yilda.

Radioaktiv yorliqli zond bilan gibridlangan fraksiyalar DNK molekulalarining elektroforetik fraksiyalashdan so'ng Southern blot gibridizatsiyasi paytida radioaktiv zond bilan qo'shimcha ravishda bog'langan qismidir.

Katlama (oqsilning katlanmasi) - bu polipeptid zanjirining o'z-o'zidan noyob mahalliy fazoviy tuzilishga (uchlamchi tuzilish deb ataladigan) o'z-o'zidan buklanish jarayoni.

X-Gal erimaydigan ko'k-ko'k cho'kma hosil qilish uchun galaktosidaza fermenti (lac-Z genining mahsuloti) (qarang) tomonidan parchalanadigan maxsus substratdir. O'matilgan begona DNKga ega plazmidlarni o'z ichiga olgan bakterial koloniyalarni aniqlash (identifikatsiya qilish) uchun genetik muhandislikda keng qo'llaniladi.

Ximer plazmidlar - bu begona DNKning qo'shimchasi (fragmenti) bo'lgan plazmidlar.

Xromatidlar - (yunoncha chroma - rang va eidos - o'xshash) - o'z navbatida xromonemalardan tashkil topgan xromosomalarning uzunlamasına yarmi. Ikkinchisida DNKni o'z ichiga olgan xromofibrillar ajralib turadi. Xromatidlar mitozning profilaktika va metafazalarida xromosomalarning ajralmas qismi bo'lib ishlaydi. Keyinchalik, anafazada, xromosomalar xromatidlarga bo'lingandan so'ng, har bir xromatid mustaqil shaxsga aylanadi va qiz yoki opa-singil xromosoma sifatida belgilanadi. "Xromatid" atamasi MakKlung (1900) tomonidan taklif qilingan.

Xromatin - (yunoncha chroma - rang) - asosiy bo'yoqlar bilan kuchli bo'yalgan hujayra yadrosining moddasi. "Xromatin" atamasini adabiyotga Flemming (1880) kiritgan.

Xromosoma - nukleoprotein eukaryotik hujayraning yadrosidagi uni saqlash, amalga oshirish va irsiy axborotni uzatish uchun tuzilma. Xromosomalar yorug'lik mikroskopida faqat hujayraning mitotik yoki meiotik bo'linishi paytida aniq ko'rinadi. Karyotip deb ataladigan hujayradagi barcha xromosomalar to'plami turga xos xususiyatdir. Odamning diploid hujayrasida 46 ta xromosoma mavjud, ya'ni 6 pg DNK. Gaploid to'plamining umumiy uzunligi (23 xromosoma) $3,2 \times 10^9$ nukleotid juftligini tashkil qiladi. Strukturaviy genlarning haqiqiy soni 30-40 mingtani tashkil qiladi. Interfaza hujayrasida xromosomalar xromatin bilan ifodalanadi. Yorug'lik mikroskopi bilan xromosomalar mitozda (mitotik xromosomalar) kuzatiladi.

Xromosoma kutubxonasi (xromosomaga xos kutubxona) genomik kutubxona turlaridan biri (qarang), masalan, katta genomlarni tahlil qilish uchun ishlatiladi. odam. X. b. individual homolog xromosomalarning DNK qismlarini klonlash (qarang) orqali yaratilgan.

C

Tsiklik adenozin monofosfat (cAMP) ko'plab hujayra ichidagi reaksiyalarni tartibga soluvchi xabarchi molekuladir; ko'plab gormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmlarida, asab qo'zg'alishning uzatilishida, mushaklarning qisqarishida va boshqalarda ishtirok etadi.

Siklinlar - siklinga bog'liq kinaz (CDK) fermentlarini faollashtiradigan oqsillar oilasi. Siklinsiz CDK faol emas. Hujayra siklining rivojlanishiga turli siklin-CDK komplekslarini ketma-ket faollashtirish va inaktivatsiya qilish orqali erishiladi. Siklin-CDK komplekslarining ta'sir qilish mexanizmi maqsadli oqsillarga fosfat guruhini (fosforlanish) qo'shishdir. Hujayra yuzasida o'sish omilining retseptorlari bilan bog'lanishi natijasida yuzaga keladigan signal

hodisalari kaskadining asosiy natijasi siklin D-CDK4 va / yoki siklin D-CDK6 kompleksining faollashishi hisoblanadi. Siklin D-CDK4 va/yoki siklin D-CDK6 komplekslari G1, S va G2 fazalarida va mitozning boshida ishlaydi. Ushbu kompleks hujayraning S fazaga kirishi uchun zarur bo'lgan turli xil protein transkripsiya omillarini fosforlaydi. Shuningdek, siklin D-CDK4/6 kompleksi siklin E ning sinteziga yordam beradi.

Siklinga bog'liq kinazlar (Cdk) siklin va siklinga o'xshash molekulalar tomonidan boshqariladigan oqsillar guruhidir. Ko'pchilik siklinga bog'liq kinazlar hujayra sikli fazasi o'zgarishida ishtirok etadi; ular mRNKning transkripsiyasi va qayta ishlanishini ham tartibga soladi. Siklinga bog'liq kinazlar serin/treonin kinazlar bo'lib, oqsillardagi mos keladigan aminokislota qoldiqlarini fosforillaydi.

Sink barmog'i DNKni bog'laydigan oqsil bo'lib, ikkita bir-biriga yaqin joylashgan sistein qoldig'i va ikkita gistidin qoldig'i bo'lgan hududni o'z ichiga oladi, ular bitta Zn^{2+} ioni uchun ligand bo'lib xizmat qiladi. Rux ioni bog'langanda struktura konformatsiyasini o'zgartiradi, aminokislotalar zanjiri barmoqsimon shaklga chiqib, oqsilning DNKning asosiy yivi bilan o'zaro ta'sir qilishiga imkon beradi.

Sitidin 5'-monofosfat (CMP) fosfor kislotasi qoldig'i, uglevod riboza va pirimidin azotli asos sitozindan tashkil topgan RNK molekulasi n nukleotididir.

Sitozin (C, sitozin) - pirimidin asosi, 2-gidroksi-4-aminopirimidin. Sitozin barcha tirik hujayralarda DNK va RNKning bir qismi sifatida topiladi, shuningdek, ba'zi kofermentlar va antibiotiklarning bir qismidir. DNKdagi sitozinning metillanishi, uni 5-metilsitozinga aylantirishi gen transkripsiyasini tartibga solishda muhim jarayondir (qarang Metillanish).

H

Proteinning to'rtlamchi tuzilishi - bu alohida polipeptid zanjirlarining nisbiy joylashuvi va o'zaro ta'sirining turli xil variantlari tufayli faqat polimerik (ya'ni, ikki yoki undan ortiq polipeptid zanjirlaridan iborat) oqsillarga xos bo'lgan fazoviy tashkilot shaklidir.

Chet DNK - bu organizmning qabul qiluvchi organizmga nisbatan DNKsi.

Sh

Chaperonlar - ribosomalardan ajralib chiqqandan keyin polipeptidlarning uch o'lchovli konformatsiyasining to'g'ri yig'ilishini va shakllanishini in vivo jonli ravishda ta'minlaydigan oqsillar oilasi,

chaperonlar esa yakuniy oqsil tuzilishining bir qismi emas. Prokariotlarda bir xil funktsiyalarni bajaradigan oqsillarga chaperoninlar deyiladi. Qarang: issiqlik zarbasi oqsillari.

Shtamm - ma'lum bir manbadan (tuproq, suv, organizm va boshqalar) ajratilgan va maxsus fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarga ega bo'lgan ma'lum turdagi mikroorganizmlar yoki viruslarning sof madaniyati.

"Soch to'sig'i" - qo'shni teskari nukleotidlar ketma-ketligi o'rtasidagi to'ldiruvchi o'zaro ta'sir natijasida hosil bo'lgan bir zanjirli DNK yoki RNK molekulasining ikki ipli qismi.

E

Ekzonlar (eksonlar) eukaryotik genlarning ketma-ketligi bo'lib, ular, qoida tariqasida, pro-mRNKni qayta ishlash jarayonida saqlanib qoladi va etuk matritsa yoki xabarchi RNKni hosil qiladi. E., qoida tariqasida, nitronlar bilan almashtiriladi (qarang). E. bir-biridan tubdan farq qiluvchi uchta funktsiya bilan belgilanadi: a) yetakchi funktsiya: birinchi E.da transkripsiya boshlanishi uchun signallar (qarang) va matritsaning ribosomalarga biriktirilishini boshqaruvchi funktsiyaga ega ketma-ketliklar mavjud (qarang) va bu emas. oqsilga tarjima qilingan (Tarjimaga qarang); b) matritsaning funktsiyalari (axborot); E. alohida aminokislotalardan oqsil hosil bo'lishini ta'minlaydigan ma'lumotlarni o'z ichiga oladi; c) tugatish funktsiyalari (qarang: Tugatish): oxirgi E. o'z ichiga oladi etuk mRNKda translatsiyaning oxiri uchun signal bo'lgan ketma-ketliklar, shuningdek, gomopolimer adenil uchi (quyruq) - poli (A) mRNK. Ekson atamasi 1978 yilda V. Gilbert tomonidan taklif qilingan.

Eksonukleaza - nuklein kislota molekulasi (DNK yoki RNK) oxiridan nukleotidlarni ketma-ket ajratib turadigan ferment.

Eksizyon fermentlari - bu eksizyonni tiklash jarayonida ishtirok etadigan va zararni "kesish" ni (nukleaza, DNK glikozidaza) va hosil bo'lgan bo'shliqlarni (DNK polimeraza, DNK ligaza) keyingi "yamoq" ni ta'minlaydigan fermentlar.

Eksizyonni ta'mirlash - bu DNKning ikkita zanjirli ta'mirlash jarayoni bo'lib, u bitta DNK zanjirining shikastlangan yoki noto'g'ri qismini olib tashlash va uni yangisi bilan almashtirishni o'z ichiga oladi, qo'shimcha DNK zanjiri shablonidan foydalanib sintezlanadi.

Gen ifodasi DNKda kodlangan genetik ma'lumotni uning transkripsiyasi (qarang) va mRNKning tarjimasi (qarang) orqali amalga oshirishdir.

Agaroz gel elektroforezi - elektr maydonida zaryadlangan biologik makromolekulalar (oqsillar, nuklein kislotalar va boshqalar) ni elektr zaryadi, shakli va hajmidagi farqlaridan kelib chiqib ajratish usuli. Molekulalar elektr maydoni ta'sirida inert agaroz jeli orqali o'tadi. E.ni 1807-yilda F.F.Reis kashf etgan. E.ni biologiyada A.Tiselius ishlata boshlagan, u 30-yillarda oqsillarni elektroforetik ajratish uchun birinchi qurilmani yaratgan. XX asr

Elektroforez kamerasi elektroforezni o'tkazish uchun qurilmaning bir qismidir. Vertikal va gorizontal E.k.lar mavjud.

Cho'zilish - yangi nukleotidlar (DNK yoki RNK sintezi) yoki aminokislotalarni qo'shib aminokislotalar zanjiri qo'shilishi bilan nukleotid zanjirining uzaytirilishi.

Enhanser - bu RNK polimeraza II tomonidan genlarning transkripsiyasini qayta-qayta kuchaytiradigan o'ziga xos sis ta'sir qiluvchi nukleotidlar ketma-ketligi; bir qator E.ning differentsiatsiyalangan hujayralardagi o'ziga xos oqsillar bilan o'zaro ta'sir o'tkazish qobiliyati mos keladigan genlar ifodalanishining to'qimalarga xosligini ta'minlaydi; E. ko'chma genetik elementlarning shakllaridan biri ekanligiga ishoniladi; E.lardan biri Spm elementidir.

Etidiy bromid (3,8-diamino-6-etil-5-fenilfenantridiy bromid) floresan bo'yoq (kanserojen) bo'lib, u ikki zanjirli DNK va RNKdagi tayanch juftlari o'rtasida o'zaro bog'lanish qobiliyatiga ega. E. b bilan nuklein kislota kompleksi. UV nurlari ostida lyuminesatsiyalanadi. 590 nm da lyuminesent nurlanish bilan agaroz va poliakrilamid jellarida (qarang) ikki zanjirli DNK molekulalarini vizual aniqlash uchun ishlatiladi. E. b. preparat tarkibidagi nuklein kislotalar tarkibini miqdoriy baholash imkonini beradi.

Evromatin faol xromatin bo'lib, qadoqlashning past zichligi tufayli butun interfaza davomida vizual ravishda aniqlanmaydi, faol transkripsiyalangan genlarning katta qismini o'z ichiga oladi va X xromosomasining inaktivatsiyasi jarayonida teskari ravishda fakultativ geteroxromatinga aylanishga qodir.

Epidermal o'sish omili (EGF) embrion to'qimalari va epiteliyning bo'linishini rag'batlantiradigan 53 aminokislota qoldig'idan iborat polipeptiddir. U 1168 ta aminokislota qoldiqlarini o'z ichiga olgan transmembran prekursor oqsilidan hosil bo'ladi. Tuprik bezlari, shuningdek, boshqa ekzo- va endokrin bezlar tomonidan ishlab chiqariladi. Qon, sekretsia, siydikda mavjud.

JAK-STAT yo'li eukariotlardagi sitokin retseptorlaridan hujayra ichidagi signal uzatilishining oddiy yo'li bo'lib, uning asosiy komponentlari JAK kinaz va STAT transkripsiya omili (signal o'tkazgichlari va transkripsiya faollashtiruvchilari).

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Альбертс Б., Брей Д., Хопкин К. и др. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, К. Хопкин и др.; пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 768 С
2. Багоцкий С. В. Физик, перевернувший биологию / С. В. Багоцкий // Химия и жизнь. – 2016. – № 6. – С. 50–53.
3. Бурмистрова О. А., Гольцов А. Ю., Абрамова Л. И., Каледа В. Г., Орлова В. А., Рогаев Е. И. МикроРНК при шизофрении: генетический анализ и экспрессия гена miR-130b (22q11) / О. А. Бурмистрова, А. Ю. Гольцов, Л. И. Абрамова, В. Г. Каледа, В. А. Орлова, Е. И. Рогаев // Биохимия. – 2007. – Том 72. – С. 860–866.
4. Гоглева А. А., Артамонова И. И. CRISPR-системы: механизм действия и применения / А. А. Гоглева, И. И. Артамонова // Природа. – 2014. – № 7. – С. 3–9. 5. Гоглева А. А., Артамонова И. И. CRISPR-системы: структура и гипотетические функции / А. А. Гоглева, И. И. Артамонова // Природа. – 2014. – № 6. – С. 16–21.
6. Дерябин Д. Г. Функциональная морфология клетки: Учебное пособие / Д. Г. Дерябин. – М.: КДУ, 2005. – 320 С.
7. Джагаров Д. Э. Умные ножницы для ДНК / Д. Э. Джагаров // Химия и жизнь. – 2014. – № 7. – С. 6–9.
8. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции: учебник для студентов высших учебных заведений / С. Г. ИнгеВечтомов. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2015. – 720 С.
9. Котельников Р. Н., Шпиз С. Г., Калмыкова А. И., Гвоздев В. А. Белки, связывающие РНК, в процессах РНКинтерференции / Р. Н. Котельников, С. Г. Шпиз, А. И. Калмыкова, В. А. Гвоздев // Молекулярная биология. – 2006. – Том 40. – С. 595–608.
10. Кребс Дж., Голдштейн Э., Килпатрик С. Гены по Льюису / Дж. Кребс, Э. Голдштейн, С. Килпатрик: пер. 10-го англ. изд. – М.: Лаборатория знаний, 2017. – 919 С.
11. Лейн Н. Лестница жизни: десять величайших изобретений эволюции / Н. Лейн: пер. с англ. П. Петрова. – Москва: АСТ: CORPUS, 2013. – 528 С. 262
12. Марков А. Рождение сложности. Эволюционная биология сегодня: неожиданные открытия и новые вопросы / А. Марков. – Москва: Из-во АСТ: CORPUS, 2015. – 527 С.

13. Марков А., Наймарк Е. Эволюция. Классические идеи в свете новых открытий / А. Марков, Е. Наймарк. – Москва: АСТ: CORPUS, 2017. – 656 С.

14. Проскуряков С. Я., Габай В. Л., Коноплянников А. Г. Некроз – активная, управляемая форма программируемой клеточной гибели / С. Я. Проскуряков, В. Л. Габай, А. Г. Коноплянников // Биохимия. – 2002. – Т. 67, Вып. 4. – С. 467–491.

15. Рогаев Е. И., Боринская С. А., Исламгулов Д. В., Григоренко А. П. МикроРНК человека в норме и патологии / Е. И. Рогаев, С. А. Боринская, Д. В. Исламгулов, А. П. Григоренко // Молекулярная биология. – 2008. – Том 42, № 5. – С. 751–764.

16. Савицкая Е. Е., Мушарова О. С., Северинов К. В. Разнообразие механизмов CRISPR-Cas-систем адаптивного иммунитета прокариот и возможности их применения в биотехнологии / Е. Е. Савицкая, О. С. Мушарова, К. В. Северинов // Биохимия. – 2016. – Т. 81, № 7. – С. 870–880.

17. Самуилов В. Д. Биохимия программируемой клеточной смерти (апоптоза) у животных / В. Д. Самуилов // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Том 7, № 10. – С. 18–25.

18. Спирин А. С. Молекулярная биология: рибосомы и биосинтез белка / А. С. Спирин. – М.: Издательский центр «Академия», 2011. – 496 С.

19. Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию / Ю. С. Ченцов. – М.: ИКЦ «Академия», 2004. – 320 С.

20. Шноль С. Э. «Самое важное на свете – сомнение»: лекция Симона Шноля об истории науки / С. Э. Шноль // Индикатор. Интернет-издание, 2016. 263

21. Шноль С. Э. Герои, злодеи, конформисты отечественной науки / С. Э. Шноль. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2012. – 720 С.

22. Baltimore D., Girard M., Darnell J. E. Aspects of the synthesis of poliovirus RNA and the formation of virus particles // Virology. – 2016. – Vol. 29. – P. 179–189.

23. Barrangou R., Fremaux C., Deveau H. et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes // Science. 2007. – V. 315, № 5819. – P. 1709–1712.

24. Bolotin A., Quinquis B., Sorokin A., Ehrlich S. D. Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers

of extrachromosomal origin // *Microbiology*. – 2005. – № 151. – P. 2551–2561.

25. Charpentier E., Doudna J. A. Biotechnology: Rewriting a genome // *Nature*. – 2013. – V. 495. – P. 50–51.

26. Datsenko K., Pougach K., Tikhonov A. et al. Molecular memory of prior infections activates the CRISPR / Cas adaptive bacterial immunity system // *Nat. Commun.* – 2012. – V. 3. doi:10.1038/ncomms1937.

27. Doyle S., Genest O., Wickner S. Protein rescue from aggregates by powerful molecular chaperone machines // *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2013. – № 14. – P. 617–629.

28. Gill S. R. et al. Metagenomic analysis of the Human distal gut microbiome // *Science*. – 2006. – Vol. 312. – P. 1355–1359.

29. Grissa I., Vergnaud G., Pourcel C. The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats // *BMC Bioinformatics*. – 2007. – № 8. – P. 172.

30. Hobert O. Gene regulation by transcription factors and microRNA // *Science*. – 2008. – V. 319. – P. 1785–1786.

31. Jansen R., Embden J. D., Gaastra W., Schouls L. M. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes // *Mol. Microbiol.* – 2002. – № 43. – P. 1565–1575. 264

32. Jore M. M., Lundgren M., van Duijn E. et al. Structural basis for CRISPR RNA-guided DNA recognition by Cascade // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2011. – V. 18, № 5. – P. 529–536.

33. Landgraf P., Rusu M., Sheridan R., et al. 2007. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing // *Cell*. – 2007. – V. 129. – P. 1401–1414. 37. Lillestøl R. K., Shah S., Brügger K. et al. CRISPR families of the crenarchaeal genus *Sulfolobus*: bidirectional transcription and dynamic properties // *Mol. Microbiol.* – 2009. – V. 72, № 1. – P. 259–272.

34. Lim L. P., Lau N. C., Garrett-Engele P. Grimson A., Schelter J. M., Castle J., Bartel D. P., Linsley P. S., Johnson J. M. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs // *Nature*. – 2005. – V. 433. – P. 769–773. 35. Martin K. C., Barad M., Kandel E. R. Local protein synthesis and its role in synapse-specific plasticity // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2000. – V. 10. – P. 587–592.

36. Mojica F. J. M., Diez-Villasecor C., Garcia-Martinez J., Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive

from foreign genetic elements // *J. Mol. Evol.* – 2005. – V. 60, № 2. – P. 174–182.

37. Nakabachi A., Yamashita A., Toh H. et al. The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella* // *Science*. – 2006. – Vol. 314. – P. 267.

38. Nakata A. et al., 2019 / A. Nakata // *Journal of Bacteriology*. – 2019. – Vol. 171. – P. 3553–3556.

39. Newton I. L. G., Woyke T., Auchtung T. A. et al. The *Calyptogenia magnifica* chemoautotrophic symbiont genome // *Science*. – 2007. – Vol. 315. – P. 998–1000.

40. Pourcel C., Salvignol G., Vergnaud G. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA and provide additional tools for evolutionary studies // *Microbiology*. – 2005. – № 151. – P. 653–663.

41. Schrott G. M., Tuebing F., Nigh E. A. Kane C. G., Sabatini M. E., Kiebler M., Greenberg M. E. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development // *Nature*. – 2006. – V. 439. – P. 283–289.

42. Sempere L. F., Freemantle S., Pitha-Rowe I., Moss E., Dmitrovsky E., Ambros V. 2004 Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation // *Genome Biol.* – 2004. – V. 5. – P. R13.

43. Sorek R., Kunin V., Hugenoltz P. CRISPR – a widespread system that provides acquired resistance phages in bacteria and archaea // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – № 6. – P. 181–186.

44. Spiegelman S., Haruna I. A rational for an analysis of RNA replication // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2016. – Vol. 55. – P. 1539–1554.

45. Tang T-H., Polacek N., Zywicki M. et al. Identification of novel non-coding RNAs as potential antisense regulators in the archaeon *Sulfolobus solfataricus* // *Mol. Microbiol.* – 2005. – № 55. – P. 469–481.



Toshmamatov B.N. Samarqand davlat tibbiyot universiteti Odam anatomiya kafedrasi v.v.b. dotsent



Nazarova F.Sh. Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedrasi katta o'qituvchi



DJumanova N.E. Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedrasi katta o'qituvchi

SamDTU 2024-yil 28-fevral kuni bo'lib o'tgan

7-son Ilmiy Kengash bayonnomasidan

KO'CHIRMA

Qatnashganlar: Ilmiy kengash majlisi raisi universitet rektori, professor J.A. Rizayev. Ilmiy Kengash a'zolari, barcha kafedra mudirlari va kurs rahbarlari (jami 236 kishi).

KUN TARTIBI:

7. Har xil masalalar.

Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedراسi xodimlari PhD, dotsent B.N. Toshmamatov, F.Sh. Nazarova, N.E. Djumanovalar tomonidan tayyorlangan «Molekulyar biologiya» nomli darslikni tasdiqlash va chop etishga ruxsat berish.

Taqrizchilar: t.f.d., professor M.A. Yuldashov, PhD, dotsent E.U. Xusanov.

ILMIY KENGASH QARORI:

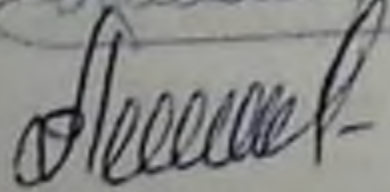
Samarqand davlat tibbiyot universiteti Tibbiy biologiya va genetika kafedراسi xodimlari PhD, dotsent B.N. Toshmamatov, F.Sh. Nazarova, N.E. Djumanovalar tomonidan tayyorlangan «Molekulyar biologiya» nomli darslik tasdiqlansin va chop etishga ruxsat berilsin.

Ilmiy kengash raisi, professor



J.A. RIZAYEV

Ilmiy kengash kotibi, dosent



U.U. OCHILOV

**SAMARQAND DAVLAT
TIBBIYOT UNIVERSITETI
ILMIY KOTIB**



**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
SOG‘LIQNI SAQLASH
VAZIRLIGI**

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLYIY TA‘LIM, FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

GUVOHNOMA



O'QUV ADABIYOTINING NASHR RUXSATNOMASI

Samarqand davlat tibbiyot universitetining
20 24 yil "29" fevral dagi "A/F 84"
-sonli buyrug'iga asosan

B.N. Toshmamatov,

(muallif ismi sharifi)

F.Sh. Nazarova, N.E. Djumanova

(ta'lim yo'nalishi (mutaxassisligi))

Tibbiyot oliy ta'lim muassasalari

ning

talabalari (o'quvchilari) uchun tavsiya etilgan

Molekulyar biologiya

(o'quv adabiyotining nomi va turi: darslik, o'quv qo'llanma)

Darslik

ga

O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash
vazirligi Samarqand davlat tibbiyot universiteti
tomonidan litsenziya berilgan nashriyotlarda nashr
etishga ruxsat berildi.

REKTOR:

J. RIZAYEV



Ro'yxatga olish raqami

G/000217-2024



“ARTEX NASHR”

Mas’ul muharrir — Madina Mirzakarimova

Musahhih — Madina Mirzakarimova

Texnik muharrir — Raxmonov Shohimardon

Dizayner va sahifalovchi — Raxmonov Shahzod

“ARTEX NASHR” bosmaxonasida chop etildi.

Alisher Navoiy ko’chasi 186 - uy

Bosishga 07.12.2023 ruxsat etildi.

Bayonnoma raqami: 4 Bichimi 60x841/16.

“Times New Roman” garniturasida. 9.77 bosma taboq.

Adadi: 200 nusxa. Buyurtma raqami:

2 / 25.12.2024 Tel:(97) 897-80-00

