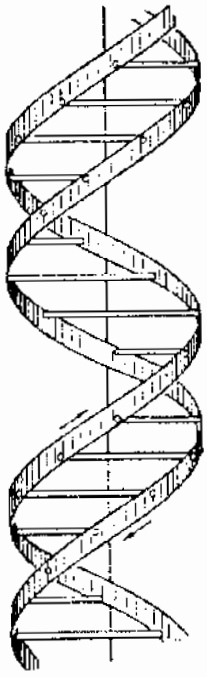
Ռ.Գ. ՔԱՄԱԼՅԱՆ, Գ.Յու. ՄԱՐՄԱՐՅԱՆ

ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆԵՐԸ



ԵՐԵՎԱՆ 2005

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ԱԳՐԱՐԱՅԻՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ
ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱՅԻ և ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԱՄԲԻՈՆ

ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆԵՐԸ

Ուսումնական ձեռնարկ

ԵՐԵՎԱՆ
ՀՊԱՀ հրատարակչություն
2005

ՀՏԴ 577. 1(07)
ԳՄԴ 28.072 g7
Ն 966

Աշխատանքը հավանության է արժանացել Հայաստանի պետական ագրարային համալսարանի գիտական խորհրդի կողմից:

Կազմեցին՝ կ.գ.դ., պրոֆեսոր **Ռ.Գ. Քամալյանը**
կ.գ.թ. Գ.Յու. Մարմարյանը

Գրախոսներ՝ կ.գ.դ., պրոֆեսոր **Վ. Զորանյան**
կ.գ.դ., պրոֆեսոր **Մ. Աղաջանով**
կ.գ.դ. **Ս.Մարդանյան**

Ն 966 ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆԵՐԸ. Ուսումնական ձեռնարկ. - Եր. Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան, 2005. 56 էջ:
Ձեռնարկը ծանոթացնում է ինֆորմացիոն մոլեկուլների կառուցվածքի և ֆունկցիաների հետ: Սանրամասն նկարագրված են նուկլեինաթթուների տեսակները, դրանց անջատման եղանակները, փորձերը, որոնց վրա հիմնված են արդի տեղեկությունները նուկլեինաթթուների կառուցվածքի և ֆունկցիաների մասին: Աշխատանքը բաղկացած է վեց մասից, որոնցում ներկայացված են նուկլեինաթթուների կառուցվածքը, ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրումը, ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան, միջնորդային ՌՆԹ-ի տրանսկրիպցիան, գենետիկ կոդը և նրա տրանսլյացիան: Ձեռնարկը օգտակար է կենսաքիմիայի և գենետիկայի հիմունքներն ուսումնասիրողների համար:

Ն $\frac{1903010000}{0173(01)\,2005}$ 2005թ. ԳՄԴ 28.072 g7

© Ռ.Գ.Քամալյան, Գ.Յու.Մարմարյան, 2005 թ.
© Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան, 2005 թ.

1. Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը և ֆունկցիաները

Ներածություն

Ժամանակակից կենսաբանական գիտություններում կենտրոնական տեղ է գրավում նուկլեինաթթուների մոլեկուլի կառուցվածքի և ֆունկցիաների ուսումնասիրումը: Այդ պատճառով այն կենտրոնական տեղ է գրավում բոլոր միջճուղային կենսաբանական քննական ծրագրերում.
Տվյալ համառոտ ձեռնարկի նպատակն է լուսաբանել ուսուցման այս կարևոր բնագավառի սկզբունքային հիմունքները, ապահովելով ունկընդիրներին համապատասխան ինֆորմացիայով և առաջարկություններով պրոբլեմի հետագա ուսումնասիրման համար:
Ձեռնարկը բաղկացած է 6 հետևյալ մասերից՝

Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը
Նուկլեինաթթուները և ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրումը
ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան
Տրանսկրիպցիա
Ժառանգական կոդը
Տրանսլյացիա

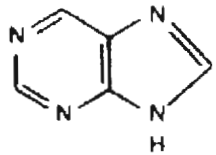
2. Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը

Չնայած նրան որ նուկլեինաթթուները հայտնաբերվել են Ֆրիդրիխ Միշերի կողմից դեռ 1868թ., նրանց քիմիան և կենսաբանական նշանակությունը պարզաբանվել է միայն 1940 ական թվերին: Հիմնականում նուկլեինաթթուները բաժանվում են երկու տեսակի՝ դեզոքսիռիբոնուկլեինաթթուների և ռիբոնուկլեինաթթուների: Այդ միացությունները բաղկացած են ֆոսֆոշաքարային կմաղքից և շաքարային մասին միացված օրգանական հիմքից:

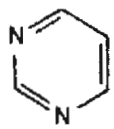
-շաքար-ֆոսֆորական թթու- շաքար-ֆոսֆորական թթու-շաքար-ֆոսֆորական թթու
| | |
հիմք հիմք հիմք

Շղթայի կրկնվող միավորը անվանվում է նուկլեոտիդ: Նուկլեոտիդները կապվում են միմյանց հետ ֆոսֆոդիէսթերային կապով:

Հիմքերը: Նուկլեոտիդային հիմքերը ներկայացված են պիրիմիդինային կամ պուրինային օղակներով:

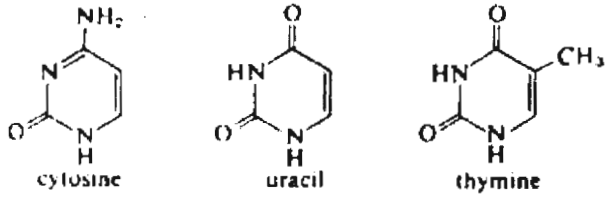


պուրին

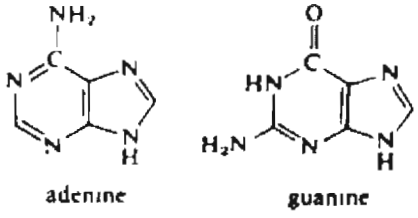


պիրիմիդին

ԴՆԹ-ում հիմնականում հանդիպում են չորս տարբեր հիմքեր՝ ադենին (A), գուանին (G), ցիտոզին (C) և թիմին (T). Առաջին երկուսը պուրինային հիմքեր են, վերջինները՝ պիրիմիդինային: ՌՆԹ-ում թիմինի փոխարեն ներկայացված է ուրացիլը: Ստորև ներկայացված են նրանց բանաձևերը:



pyrimidines



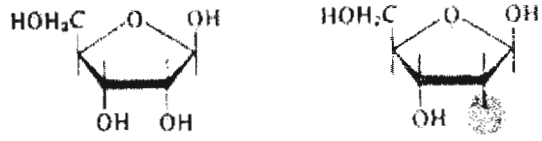
purines

cytosine-ցիտոզին, uracil-ուրացիլ, thymine-թիմին, adenine-ադենին, guanine-գուանին

Բացի հիմնական հիմքերից ԴՆԹ-ում և ՌՆԹ-ում հանդիպում են այսպես կոչված "մինորային հիմքեր": Անվանումը տրված է նրանց նվազ հաճախականության պատճառով:

Շաքարները: ԴՆԹ-ում ներկայացված շաքարն է դեզօքսիռիբոզը, որով և պայմանավորված է նրա անվանումը: ՌՆԹ-ի միակ շաքարն է ռիբոզը:

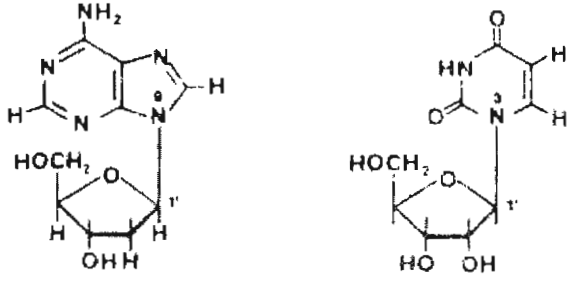
"Դեզօքսի" նախածանցը նշանակում է առանց թթվածնի: Երկու շաքարներն էլ պարունակում են 5 ածխածին, որոնք հարմարության համար նշվում են նրբազծիկով, հիմքերի ատոմներից տարբերելու նպատակով:



ribose deoxyribose

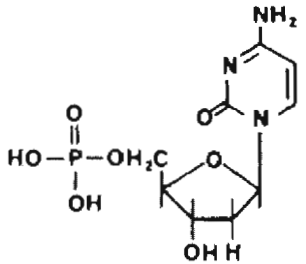
ribose-ռիբոզ, deoxyribose-դեզօքսիռիբոզ

Նուկլեոզիդներ: Երբ հիմքը միացված է շաքարի մոլեկուլի հետ միացությունը անվանվում է նուկլեոզիդ: Ռիբոզի դեպքում դա ռիբոնուկլեոզիդ է, դեզօքսիռիբոզի դեպքում դեզօքսիռիբոնուկլեոտիդ է: Պուրինային հիմքի դեպքում շաքարը կապված է այսպես կոչված գլիկոզիդային կապի միջոցով պուրինի 9-րդ դիրքում գտնվող ազոտի հետ, իսկ պիրիմիդինի դեպքում վերջինիս 3-րդ ազոտի հետ:

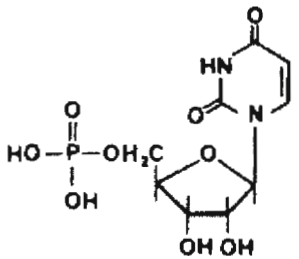


Deoxyadenosine uridine

Նուկլեոտիդներ: Եթե նուկլեոզիդի շաքարին միացված է ֆոսֆորաթթու այդ միացությունը անվանվում է նուկլեոտիդ: Նուկլեինաթթուների կազմում ֆոսֆորական թթուն միացված է էսթերային կապով շաքարի 5' կամ 3' ածխածնի հիդրոքսիլ խմբին: Ստորև բերված են նուկլեոտիդների օրինակներ:

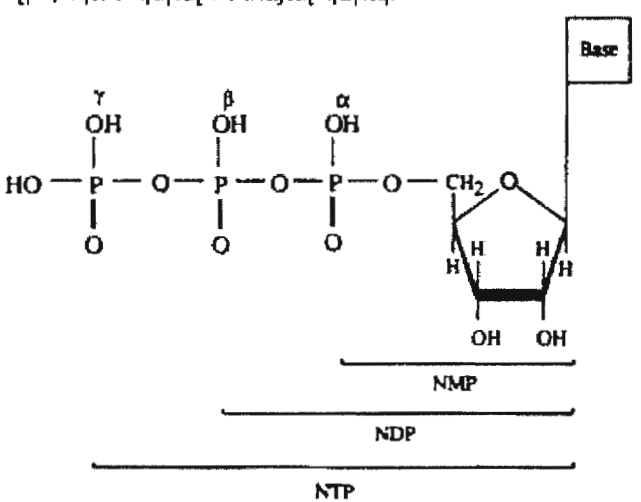


Դեզօքսիցիտիդին 5'-մոնոֆոսֆատ



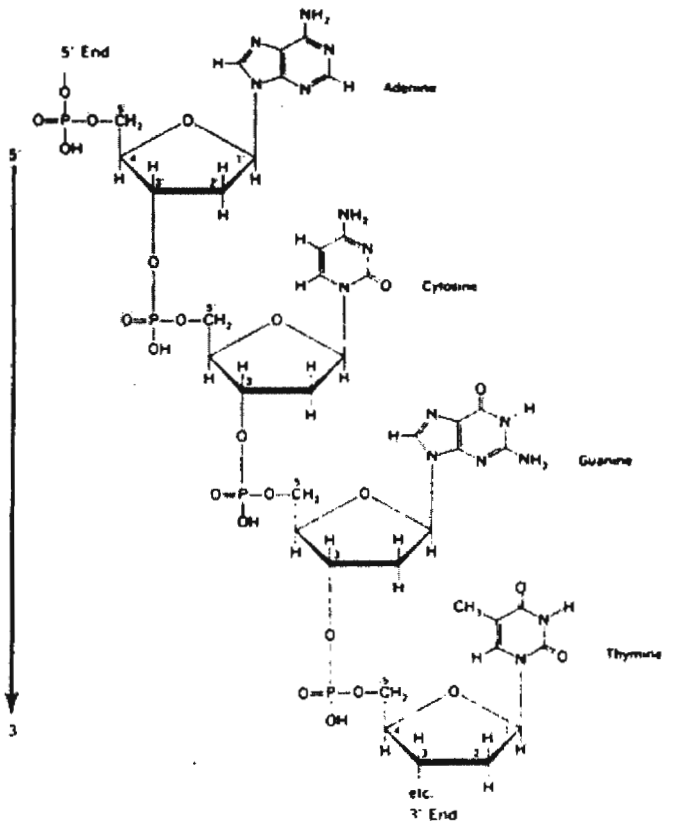
ուրիդին 5'-մոնոֆոսֆատ

Նուկլեոզիդ դի- և տրիֆոսֆատներ: Նուկլեոտիդների ֆոսֆատին կարող են միանալ պիրոֆոսֆատային կապով ևս մեկ կամ երկու ֆոսֆատային խմբեր առաջացնելով նուկլեոզիդ դի- և տրիֆոսֆատներ: Օգտագործելով N տառը նուկլեոզիդ բառի փոխարեն այդ միացությունները կարելի է պատկերել հետևյալ կերպ:



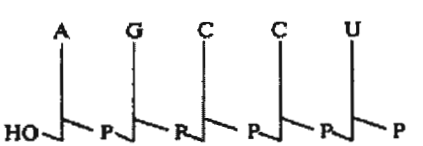
Նշված միացությունները կենսական դեր են խաղում բջջի միջանկյալ նյութափոխանակության պրոցեսներում:

Պոլինուկլեոտիդներ և նուկլեինաթթուներ:
Պոլինուկլեոտիդները և նուկլեինաթթուները առաջանում են նուկլեոտիդների մոնոմերներից շնորհիվ շաքարի և ֆոսֆորական թթվի միջև առաջացող ֆոսֆոդիէսթերային կապերի:



Պոլիդեզօքսիռիբոնուկլեոտիդ

Ներկայացված պատկերում երևում է, որ ֆոսֆոդիեստերային կապը առաջանում է մեկ շաքարի 5' ածխածնի ատոմի և մյուս շաքարի 3' ածխածնի ատոմի միջև: Քանի որ ամեն անգամ բերել այդպիսի կառուցվածք հարմար չէ, նրանք ներկայացվում են հետևյալ երեք ձևով՝



$\equiv$ ApGpCpCpUp $\equiv$ $^{5'}$AGCCU$^{3'}$

Եթե "p"-ն գտնվում է հիմքի ձախ կողմից ապա նա կապված է շաքարի 5'-րդ ածխածնի հետ, իսկ եթե աջ կողմից՝ 3'-րդ ածխածնի հետ: Քանի

որ սրանք հաճախակի են օգտագործվում իմաստ ունի քաջ ծանոթանալ այս հապավումների հետ:

3. ԴՆԹ՝ ֆիզիկական և քիմիական հատկությունները:

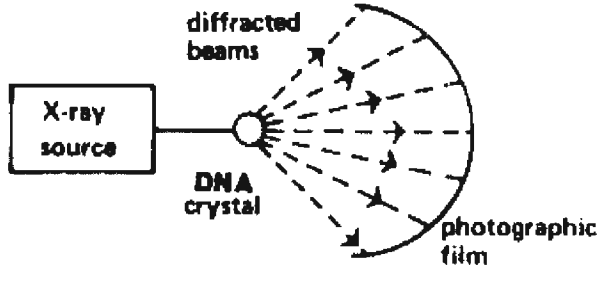
Անջատումը: Բջջային նմուշներում հիմնական խարնուրդն է սպիտակուցը: Այն հեռացնելու համար օգտագործում են ֆենոլ և ԴՆԹ-ն նստեցնում են սառեցված էթիլ սպիրտով: Այլ բջջային խարնուրդները հեռացնում են մշակելով ԴՆԹ-ն լիպազներով, պրոտեազներով, ամիլազներով և ՌՆ-ազով (ռիբոնուկլեազ): ԴՆԹ-ի անջատման հիմնական պրոբլեմը, կապված նրա բարձր մոլեկուլային զանգվածի հետ ($M_r 10^7$ կամ ավելին), դա նրա տրոհումն է: ԴՆԹ-ի խոշոր մոլեկուլների դեպքում թեկուզ մեղմ պրոցեդուրան օրինակ լուծույթի կաթոցիչով հավաքելը կարող է բերել ԴՆԹ-ի տրոհմանը:

Հիմքային կազմը: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի քայքայման համար օգտագործվում են երկու մոտեցում՝ 1. 100^0C-ի պայմաններում քլորաթթվով մշակումը բերում է ԴՆԹ-ի ճեղքմանը մինչև նրա մեջ պարունակվող հիմքերի, 2. Ֆերմենտային մշակում (ԴՆ-ազ, ֆոսֆոդիէսթերազ և այլն), որը բերում է ԴՆԹ-ի տրոհմանը նուկլեոտիդների:
Առաջացած նյութերի խառնուրդը կարող է բաժանվել քրոմատոգրաֆիայի կամ էլեկտրոֆորեզի եղանակներով և յուրաքանչյուր բաղադրամասը որոշվի քանակորեն: Օգտագործելով նման մոտեցումներ Չարգաֆը և աշխատակիցները 1940-ական թվականների վերջում նշեցին, որ՝

1. բջջի ԴՆԹ-ի հիմքային կազմը բնորոշ է տվյալ օրգանիզմին
2. նույն օրգանիզմի բջիջները և հյուսվածքները ունեն նման հիմքային կազմ
3. մոտ կանգնած օրգանիզմները ցուցադրում են նման հիմքային կազմ (այդ հատկությունը օգտագործում են մանրէաբանությունում քիմիական տաքսոնոմիայի համար)
4. ԴՆԹ-ների մեծամասնությունը դրսևորում է որոշակի քիմիական կանոնավորություն, որը սահմանվում է որպես Չարգաֆի զուգակցված հիմքերի կանոն (հիմքերի համարժեքություն):Այն արտահայտվում է նրանում, որ ադենինի քանակը հավասար է թիմինի, իսկ գուանինինի քանակը ցիտոզինի քանակին (նաիր աղյուսակը):

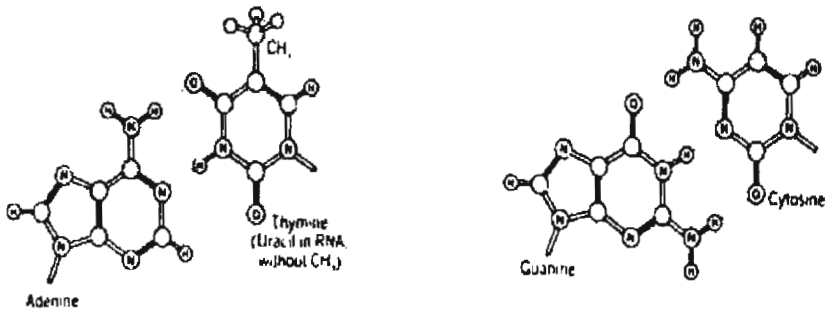
ԴՆԹ-ի աղբյուրը	Ադենին	Գուանին	Ցիտոզին	Թիմին	5-մեթիլ-ցիտոզին
Կովի թիմուս	28.2	21.5	21.2	27.8	1.3
Կովի փայծաղ	27.9	22.7	20.8	27.3	1.3
Կովի սպերմա	28.7	22.2	20.7	27.2	1.3
Առնետի ոսկրուղեղ	28.6	21.4	20.4	28.4	1.1
Տարեխի ամորձիներ	27.9	19.5	21.5	28.2	2.8
Ծովավոզնի	32.8	17.7	17.3	32.1	1.1
Ցորենի սերմ	27.3	22.7	16.8	27.1	6.0
Թթխմոր	31.3	18.7	17.1	32.9	
E. coli	26.0	24.9	25.2	23.9	
Mb.tuberculosis	15.1	34.9	35.4	14.6	
FX 174	24.3	24.5	18.2	32.3	

Միակ բացառություն հիմքերի համարժեքությունից ներկայացնում է FX 174 վիրուսը, ինչը բացատրվում է նրանով որ նրա ԴՆԹ-ն միապարույր է:
Երկայնությունը և ծևը: 1947-ին ուսումնասիրելով ԴՆԹ-ն ռենտգենյան ճառագայթման դիֆրակցիայի եղանակով Աստբերին սխեմատիկորեն ցույց տվեց հետևյալը՝



Երբ ռենտգենյան ճառագայթների խուրծը բախվում է բյուրեղի էլեկտրոններով խիտ տեղամասի հետ տեղի է ունենում դիֆրակցիա: Դիֆրակցիայի ենթարկված ճառագայթի պատկերը թույլ է տալիս որոշել ատոմների դասավորվածությունը բյուրեղում: Այս եղանակով Աստբերին եզրակացրեց, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլում ամեն 3.34Å ից հետո կա կրկնվող հատված: Այդպիսի սիստեմատիկ կրկնվող յուրահատկությունը բացատրվել է որպես "բյուրեղագրային կրկնողություն" կամ

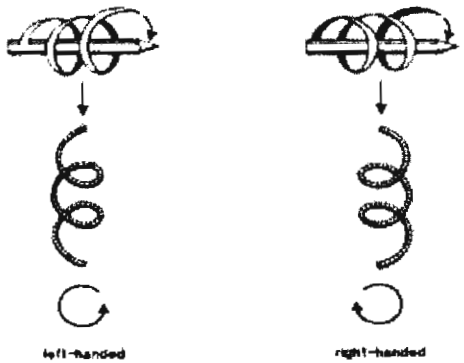
"նմանության պարբերություն":Ֆրանկլինի, Հոսլինի, Ուիլկինսի և աշխատակիցների (1953) հետագա հետազոտությունները ցույց տվեցին ԴՆԹ-ի երկու ձևի առկայությունը՝ A (բյուրեղային ձև) և B(պարաբյուրեղային ձև): Ցույց տրվեց, որ A ձևում հիմքերը թեքված են ուղղաձիգ առանցքի նկատմամբ, իսկ B ձևում, որը ուսումնասիրել էր Աստբերին, հիմքերը դասավորվում են ուղղահայաց հարթությունում և ինտերվալը կազմում է 3.4Å(10հիմք պարույրի մեկ պտույտի վրա): Հիմնվելով ռենտգենյան ճառագայթային դիֆրակցիայի տվյալների և Չարգաֆի հիմքերի համարժեքության կանոնի վրա Ուոտսոնը և Կրիկը 1953-ին առաջարկեցին ԴՆԹ-ի կառուցվածքը որպես կրկնակի պարույր: Այդ երկու պարույրից կազմված շաքար-ֆոսֆատային կառույցները կապված են միմյանց հետ նրանց ներսը տեղակալված հիմքերի միջև առաջացող ջրածնային կապերի միջոցով: Ընդ որում մեկ շղթայում տեղակալված A-ին(ադենին) համապատասխանում է մյուս շղթայի T-ը(թիմին), իսկ G-ին(գուանին) C-ը(ցիտոզին): Այդ հիմքերի միջև առաջանում են հետևյալ ջրածնային կապեր:



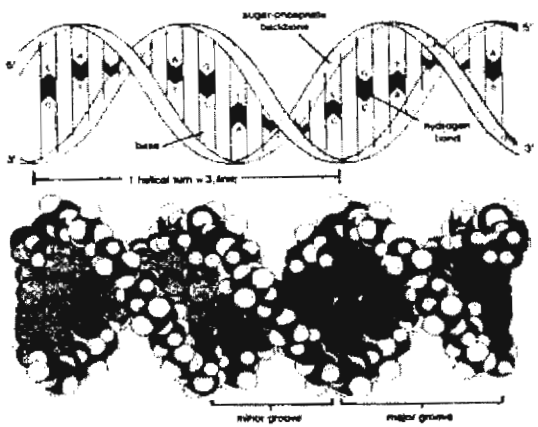
Ադենին Թիմին գուանին ցիտոզին (ՌՆԹ-ում ուրացիլ)

Քանի որ երկու պոլինուկլեոտիդային շղթաները կարող են ունենալ տարբեր ուղվածություն ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարող է հանդես գալ երկու հնարավոր կոնֆիգուրացիայով: Դրանցից մեկում շղթաները ունեն հակառակ ուղվածություն, որը հայտնի է որպես հակազուգահեռ դասավորվածություն: Ցույց է տրված, որ բնական ԴՆԹ-ին բնորոշ է հենց այդպիսի կոնֆիգուրացիա, որը նպաստավոր է նրա կենսաբանական ֆունկցիայի իրականացման համար:
Պարույրաձև կոնֆիգուրացիան կարող է ընդունել երկու տեսակի տարածքային դասավորվածություն՝ մեկը աջ, մյուսը ձախ պտույտ ունեցող պարույր: Տարբերությունը երկուսի միջև հեշտությամբ կարելի է ցու-

ցադրել օգտագործելով երկու պարույր, որոնք փաթաթվում են մատիտի շուրջը հակառակ ուղությամբ, ինչպես ցույց է տրված նկարում: Եթե նայենք թիկունքից շղթաներից մեկը կունենա ժամացույցի սլաքի ուղությամբ (դեպի աջ) պտույտ մյուսը հակառակ ժամացույցի սլաքի (ձախ պտույտ), անկախ նրանից թե կառուցվածքի որ ծայրից են դիտում:



Տարածքային մոդելների օգտագործմամբ կատարված հետազոտությունները ցույց տվեցին հետագայում, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլում կան երկու փորակ, մեկը մակերեսային (~12Å) մյուսը ավելի խոր (~22Å): Այս յուրահատկությունը կարևոր է առանձին հակաբիոտիկների, պոլիմերազների և այլ նյութերի կապման համար: ԴՆԹ-ի կառուցվածքի առանցքային հատկություններ սխեմատիկորեն պատկերված են ստորև բերված նկարում:



Նախկինում ցույց է տրված, որ վիրուս FX174-ից անջատված ԴՆԹ-ն չի համապատասխանում "հիմքային համարժեքության" կանոնին: Ինչպես նշվեց վերեվում դա կապում են նրա միապարույրության և ոչ նորմալ երկակի ձևի հետ: Դա նշանակություն ունի նրա ռեպլիկացման (պատճեահանման) ձևի համար:

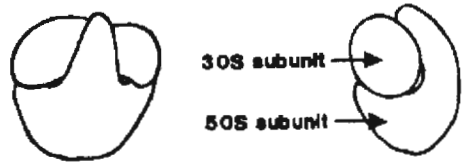
4. ՌՆԹ. Ֆիզիկական և քիմիական հատկությունները

Անջատում: Անջատման եղանակը նման է ԴՆԹ-ի անջատման եղանակին: ՌՆԹ-ի տրոհման կանխման համար անհրաժեշտ է ավելացնել միջավայր ՌՆազ-ի արգելակիչ: Ի տարբերություն ԴՆԹ-ից, որը գտնվում է բոլոր բջիջներում քիչ թե շատ հոմոգեն վիճակում, ՌՆԹ-ն ներկայացված է մոլեկուլների ընտանիքով, որոնցից յուրաքանչյուրը տարբերվում է իրեն կառուցվածքով և ֆունկցիայով: Այդպիսի բազմապիսությունը պահանջում է ՌՆԹ-ի առաջնային փուլի հետագա բաժանումը նրա բաղադրամասերի: Օգտագործվող եղանակները հետևյալն են՝

(ա) ցենտրիֆուգացում խտուցյան գրադիենտում
(բ) իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիա
(գ) գել ֆիլտրացիա
(դ) էլեկտրոֆորեզ

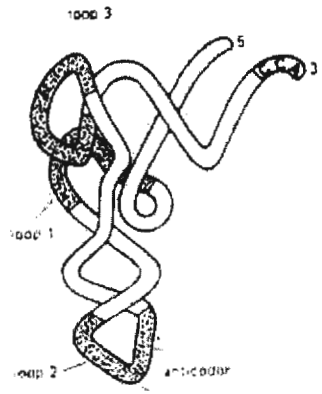
Հիմքերի կազմը: ՌՆԹ-ի անջատված մոլեկուլները կարող են տրոհվել քիմիական (ալկալի) կամ ֆերմենտային եղանակով(ՌՆազ): Առաջացող հիմքերի կազմը որոշվում է ինչպես և ԴՆԹ-ի դեպքում: Հիմնական տարբերությունը կայանում է նրանում, որ ՌՆԹ-ի կազմում բավականին տարածված են մինորային հիմքերը և այն հանգամանքը, որ դեպքերի մեծամասնությանը ՌՆԹ-ում չի նշվում "հիմքերի համարժեքություն", ինչը պայմանավորված է նրանով, որ ՌՆԹ-ի մոլեկուլը հիմնականում միապարույր է: Ինչպես նշված էր հանդիպում են բացառություններ: Օրինակ՝ ուռուցքային վերքի կամ մկան ենցեֆալոկարդիտի վիրուսներից անջատած ՌՆԹ-ն ցուցաբերում է "հիմքերի համարժեքություն", ինչը կայանում է նրանում, որ A-ի քանակը հավասար է U-ի, իսկ G-ինը C-ի քանակին: Այդ վիրուսների դեպքում ժառանգական ինֆորմացիան պարունակվում է ՌՆԹ-ի կրկնակի պարույրային մոլեկուլում:

Երկայնությունը և ձևը:
Գոյություն ունեն երեք գլխավոր ձևի ՌՆԹ՝ ռիբոսոմային (ռՌՆԹ), տրանսպորտային (տՌՆԹ) և միջնորդային (մՌՆԹ): Դրանք հանդիպում են բոլոր գլխավոր կենդանի ձևերում այլ տարբեր ՌՆԹ մոլեկուլների հետ, որոնք ոչ այդքան ունիվերսալ են: Ռիբոսոմային ՌՆԹ-ն կազմում է բջջի ընդհանուր ՌՆԹ-ի մոտ 80%-ը: Այն կապված է սպիտակուցի հետ, առաջացնելով ռիբոսոմների անվան տակ հայտնի ցիտոպլազմային մասնիկներ: Վերջիններս բաղկացած են երկու, մեծ և փոքր ենթամիավորներից: Երկուսն էլ պարունակում են 65% ՌՆԹ և 35% սպիտակուց: ռՌՆԹ-ն բարձրամոլեկուլյար է և նյութափոխանակապես կայուն:
ՌՆԹ-ի որոշ մոլեկուլների նկարագրման դեպքում օգտագործվում է s-մեծությունը, որը ցույց է տալիս առանձին մոլեկուլների նստեցման արագությունը ցենտրիֆուգում և արտահայտվում է Սվեդբերգի միավորներով (S): Պարզ է, որ այն կապված է մոլեկուլի զանգվածի, չափսի և ձևի հետ: Հետևաբար նույն զանգված ունեցող մոլեկուլներից ավելի արագ կնստի ավելի փոքր չափսեր ունեցողը:



front view — տեսք առջևից
side view — տեսք կողքից
subunit - ենթամիավոր

Մյուս տարածված ՌՆԹ-ի տեսակն է տրանսպորտային ՌՆԹ-ն, որը կազմում է բջջի ընդհանուր ՌՆԹ-ի մոտ 15%-ը: Նրա մոլեկուլար կշիռը ավելի ցածր է, քան ռՌՆԹ-ինը և հաճախ նշվում է որպես 4S ՌՆԹ: Ինչպես մենք կտեսնենք ստորև այս մոլեկուլները գործում են որպես ադապտեր ամինաթթուների համար սպիտակուցի կենսասինթեզի ընթացքում և գոյություն ունեն առանձին ամինաթթուների յուրահատուկ տՌՆԹ-ներ: տՌՆԹ-ի մոլեկուլը միապարույր է, սակայն շղթան փաթաթվում է ինքն իրեն շուրջը զանազան ձևերով (նաիր նկարը) այնպես որ կառուցվածքի մոտ 50-60%-ը ներկայացվում է զուգակցված հիմքերով: Բջջի մնացած ՌՆԹ-ի մեծամասնությունը կազմում է մՌՆԹ-ն, որը էուկարիոտների մոտ առաջանում է կորիզում և անցնում է ցիտոպլազմ սպիտակուցի սինթեզի ընթացքում (նաիր ստորև): մՌՆԹ-ն բարձրամոլեկուլյար և չափազանց շարժունակ միացություն է: Ինչպես մենք կտեսնենք հաջորդ մասում, մՌՆԹ-ն մասնակցում է ժառան



գական ինֆորմացիայի փոխադրմանը և էքսպրեսիայում (արտահայտչությանը), նա պատասխանատու է բջջի տարբեր սպիտակուցների ամինաթթվային հաջորդականության համար: Քանի որ մՌՆԹ-ների չափերը տատանվում են նրանք չունեն ստույգ s-մեծություններ:

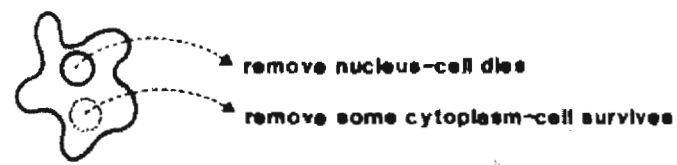
5. Նուկլեինաթթուները և ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրումը

Ուսումնասիրման նպատակն է՝
Յուրաքանչյուր ունկնդիր պետք է ունակ լինի՝
- նկարագրի առնվազն երեք անկախ աշխատանք, որոնցում բերված են նուկլեինաթթուների ժառանգական ինֆորմացիայի տեղափոխման պրոցեսում մասնակցության ապացույցներ
- նկարագրել ընդհանուր առմամբ Գրիֆիտսի (1928) և Էվերիի և Մակ-Լեոդի (1944) կողմից ժառանգական ինֆորմացիայի տեղափոխման վերաբերյալ կատարված փորձերը
- քննարկել Հեռշիի և Չեյզի 1953-ում կատարած փորձը
- քննարկել Հեռշիի և Չեյզի փորձից բխող եզրակացությունները
- բնութագրել գենոտիպիկ և ֆենոտիպիկ էքսպրեսիայի միջև եղած տարբերությունները

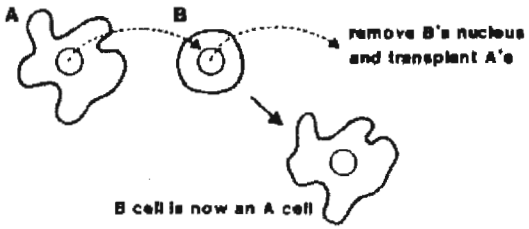
Ներածություն: Տվյալ մասի նպատակն է լուսաբանել նուկլեինաթթուների և ժառանգական ինֆորմացիայի տեղափոխման միջև եղած կապը: Հաջորդ մասերը նվիրված են այդ չափազանց բարդ պրոցեսի տարբեր փուլերի մոլեկուլային իրադարձությունների մանրամասն քննարկմանը: Սովորաբար, երբ խոսք է գնում գեների և ժառանգականության մասին մենք հիշում ենք երեխաների և ծնողների նմանության մասին կամ

կախված սկզբնական գիտելիքներից կարող ենք հիշել Մենդելին և նրա լոբազգի բույսերի բարձրության և գույնի մասին: Գենետիկայի այդ մակարդակը հայտնի է որպես ֆենոտիպիկ էքսպրեսիա, երբ անհատի ֆենոտիպը ներկայացնում է իրենից բացահայտ և ճանաչվող բնութագրեր, որոնցով նմանեցվում է անհատը: Այդ մակարդակը ավելի համապատասխան է դասական գենետիկային և բնորոշ չի մեր ժամանակին: Տվյալ մասում խոսքը կգնա այն ժառանգական գործոնների մասին, որոնք բնորոշում են այդ յուրահատկությունները, այսինքն բջջային գենոտիպիկ էքսպրեսիայի մասին: Գենոտիպը դա ժառանգական նյութի և մակրոմոլեկուլների կառուցվածքի փոխհարաբերությունն է; այդ կապի ուսումնասիրմամբ զբաղվում է մոլեկուլյար գենետիկան: Այն փաստը, որ երեղան նման է ծնողներից մեկին կամ երկուսին խոսում է ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրման միջոցի առկայության մասին: Այդ երևույթը հայտնի է հնուց, սակայն միայն վերջին հիսուն տարվա ընթացքում հաձողվեց հասնել զգալի հագողության այդ երևույթի բացահայտման հարցում: Առաջին և ինքնին ծագող հարցը կայանում էր նրանում թե "ո՞րն է ժառանգական նյութի բնույթը": Այդ հարցի պատասխանը տվեցին հետևյալ փորձնական տվյալները:

Փորձարարական կենսաբանություն: 19-րդ դարի վերջում փորձարարական կենսաբանները ստույգ մեթոդների միջոցով ցույց տվեցին, որ բջջի ժառանգական գործոնները տեղակալված են կորիզում (այստեղից նրանց անվանումը՝ նուկլեինաթթուներ):

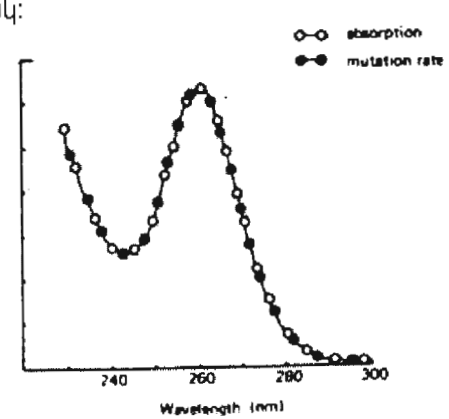


Այսպիսով ցույց էր տրվել, որ եթե կորիզը հեռացվում է բջջից վերջինս մահանում է, սակայն եթե համաչափ ցիտոպլազմայի ծավալ է հեռացվում բջիջը գոյատևում է:
Մի այլ փորձերում ցույց էր տրվել, որ եթե կորիզը հեռացվում է և պատվաստվում մի այլ տարբերվող բջջի մեջ (տարբեր ֆենոտիպով) վերջինիս մորֆոլոգիան նմանվում է դոնոր բջջին:



[Տվյալ աշխատանքը և այս մասի մնացած աշխատանքները կոչված են ծանոթացնել ունկնդիրներին նկարագրված փորձարարական մանրամասնությունների հետ և պահանջել նրանցից համապատասխան եզրակացություններ անել և քննարկել նրանց նշանակությունը: Ակտիվ ուսուցման այսպիսի ձևը լայնակի տարածված է որպես կարևոր գործոն:]
Տվյալ դեպքում կարելի է եզրակացնել, որ կորիզը (կամ ինչվոր նրանում գտնվող նյութ) անհրաժեշտ է բջջի գոյությունը պահպանելու համար և, որ այն ընդգրկվում է բջջի ֆենոտիպում:

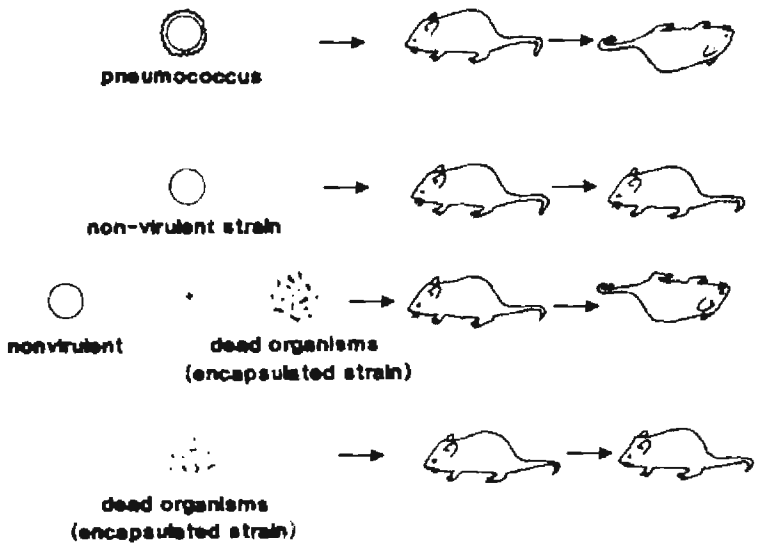
Ազդեցության սպեկտրը: Հայտնի է, որ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթումը առաջացնում է գենետիկական մուտացիաներ: Հետագայում ցույց տրվեց, որ մուտացիայի աստիճանը կախված է մանուշակագույն ճառագայթման ալիքի երկարությունից: Կարելի է կառուցել մուտացիայի արագության և ուլտրամանուշակագույն ճառագայթման ալիքի երկարության միջև բնորոշ կախվածության կոր և անվանել այն ակտիվության սպեկտր: Երբ այդպիսի ակտիվության սպեկտրը համեմատվում է նուկլեինաթթուների կլանման սպեկտրի հետ այդ սպեկտրները ստույգ համընկնում են, դրսևորելով կլանման մաքսիմում 260նմ ալիքի տակ:



Նման փորձերում տարբեր ֆիզիկական և քիմիական մուտագեն գործոններ որոշ ձևով փոփոխություններ էին առաջացնում նուկլեինաթթուների մեջ: Հետևությունը այս աշխատանքից այն է, որ նուկլեինաթթուները կապված են գենետիկական մուտացիայի հետ, որը իր հերթին կապված է ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրման հետ: Այդ առումով զարմանալի չէ, որ մարդիկ անհագստացած են օզոնային շերտի նվազմամբ:

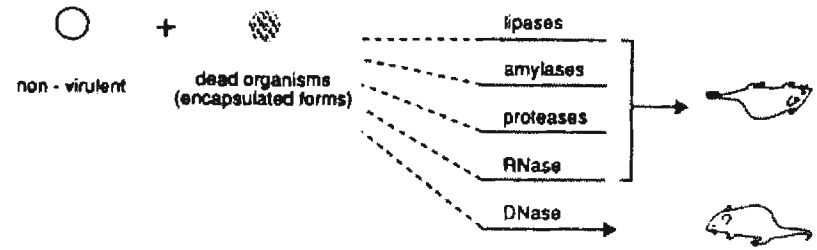
ԴՆԹ-ի տարածվածությունը: ԴՆԹ-ն հայտնաբերված է բոլոր տիպի բջիջներում, ներառյալ բուսական, կենդանական, սնկային, ջրմուռային, մանրէային և վիրուսային բջիջները (ստույգ ասած ոչ բոլոր բջիջներում, նաիր էջ. 20): ԴՆԹ-ի լայնակի տարածումը բերում է այն եզրակացությանը, որ նա էական դեր է խաղում բջջի ֆունկցիայում:

Գրիֆիտսի փորձերը(1928): Գոյություն ունեն ստաֆիլոկոկի երկու առանձին գիծ, որոնցից մեկի ներարկումը մկներին բերում է նրանց մահի (վիրուլենտ գիծ), իսկ մյուսի ներարկումը նկատելի փոփոխություն չի առաջացնում (ոչ վիրուլենտ գիծ): Երկու գծերի կառուցվածքային տարբերությունները կայանում են նրանում, որ ոչ վիրուլենտ գիծը զրկված է բջիջը պատող լորձային պոլիսախարիդային կապսուլայից (նաիր նկարը):
Գրիֆիտսը ցույց տվեց, որ պնեվմոկոկը կարող է ձեռք բերել ժառանգական յուրահատկություններ սպանված վիրուլենտ և ոչ վիրուլենտ բակտերիաների խառնելու միջոցով: Նա ներարկեց մկներին կենդանի մաքրված գծի կապսուլայից զրկված պնեվմոկոկներ: Քանի որ կապսուլան վիրուլենտության էական նախադրյալ է ներարկումը չավարտվեց մկների մահով: Սակայն եթե նորմալ կապսուլացված գծի սպանված պնեվմոկոկները ընդգրկվում էին ներարկվող նյութի մեջ մկները սատկում էին: Ներարկված մկներից անջատված կենդանի բակտերիաները նորմալ կապսուլացված էին: Որպես ստուգիչ սպանված կապսուլացված բակտերիաների խարնուրդը ներարկվում էր մկներին և դա չէր բերում նրանց մահվան: Հետևաբար սպանված վիրուլենտ բակտերիաներից ոչ վիրուլենտներին անցնում է ինչ որ նյութ, որը ձևափոխում է նրանց վիրուլենտայինի:



Էվերին և Մակլեոդը հետագայում ցույց տվեցին թե ինչ նյութ է տեղափոխվում:

Եվերի և Մակլեոդ (1944):
Եվերիի և Մակլեոդի կատարած փորձի էությունը, ինչպես վերը նկարագրված է, կայանում էր բակտերիում պնեվմոկոկի երկու թելիկի կլանման պրոցեսում: Նրանք ցույց տվեցին, որ վիրուլենտ բակտերիաներից անջատված և մաքրված ձևի ավելացումը ոչ վիրուլենտ ձևի կուլտուրաներին բերում է նրանց մի մասի վերածմանը վիրուլենտի:
Կարևոր էր պարզաբանել թե արդյոք այն քիմիական նյութը, որը պատասխանատու է տրանսֆորմացիայի (վերափոխման) համար ավելի շուտ հանդիսանում է ԴՆԹ-ն, քան որևե այլ խառնուրդային գործոն սպիտակուցային, լիպիդային կամ ածխաջրատնային բնույթի: Կատարված փորձերը ցույց տվեցին, որ ԴՆԹ-ն չէր պարունակում սպիտակուցի նշելի քանակներ և նրա բջիջը վերափոխող հատկության վրա չէն ազդում ոչ լիպազները, ոչ ամիլազները, ոչ պրոտեազները և ոչ էլ ռիբոնուկլեազները, սակայն ազդում է ԴՆԹ-ազը (նաիր նկարը):

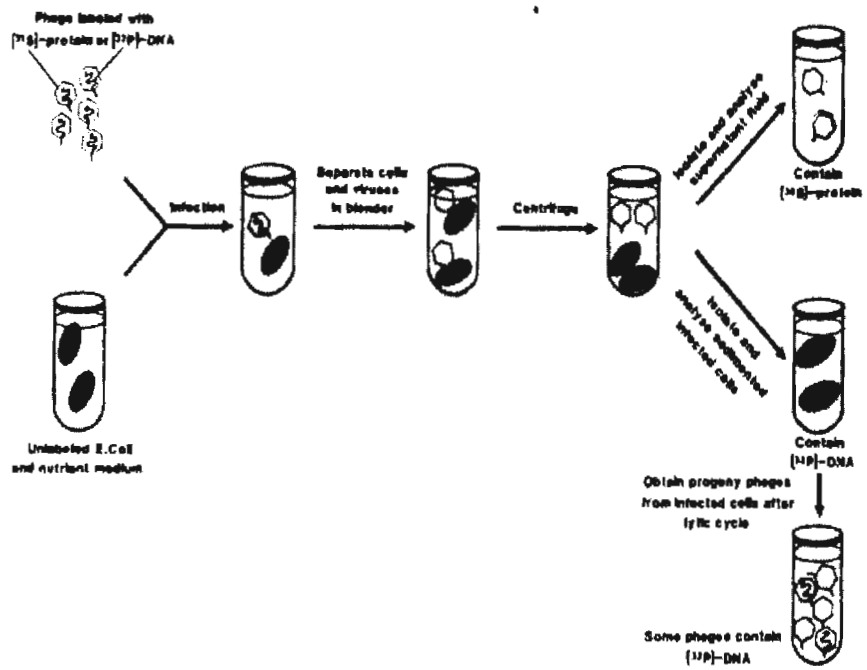


Հետևաբար եզրակացվեց, որ բջջի տրանսֆորմացիան պայմանավորված է ԴՆԹ-ի մոլեկուլով: Մինչ այն կային կասկածներ, որ սպիտակուցային խարնուրդի փոքր քանակները կարող են ակտիվ գործոնի դեր խաղան:

Հիմքերի կազմի վերաբերյալ Չարգաֆի փորձերը: Այս փորձերը և նրանց արդյունքները քննարկվել են վերը էջ 5 ում: Այդ փորձերի արդյունքների բուն իմաստը այն ժամանակ անհասկանալի էր, նրանք լրացուցիչ ապացույց էին հանդիսանում ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ինֆորմացիոն բնույթի վերաբերյալ և պնդում էին, որ նման օրգանիզմները ունեն նման ԴՆԹ, իսկ ոչ նման օրգանիզմների ԴՆԹ-ները հաճախ տարբերվում են:

Հերշի և Չեյզի փորձերը (1953): Բջիջի վարակումը վիրուլենտ վիրուսով բերում է վիրուսային մասնիկների մշակմանը մասնակցող նրա սարքավորման վերացմանը և ի վերջո տիրոջ բջիջի մահվանը: 1953-ին Հերշին և Չեյզը ուսումնասիրեցին E.coli-ի վարակումը վիրուլենտ բակտերիոֆագով (ֆագը դա բակտերիա վարակող վիրուսն է), որը քաջ հայտնի է որպես T2 ֆագ: Օգտագործված համակարգի առավելությունը կայանում էր նրանում, որ վիրուսը քիմիական տեսակետից ամենա պարզ կենսաբանական ձևն է, որը բաղկացած է միայն սպիտակուցից (առաջացնում է վիրուսային թաղանթը, պոչը և պոչի թելիկները) և ԴՆԹ-ից: Քանի որ սպիտակուցները պարունակում են ծծումբ (ծծումբ պարունակող ամինաթթուների՝ ցիստեինի և մեթիոնինի կազմում), իսկ ԴՆԹ-ն ոչ, հնարավոր է նշել սպիտակուցը, բայց ոչ ԴՆԹ-ն, բազմացնելով վիրուսային մասնիկները ^{35}S-մեթիոնինի ներկայությամբ: Հակառակը, քանի որ ԴՆԹ-ն պարունակում է ֆոսֆոր իր ֆոսֆատային խմբում, իսկ սպիտակուցը ոչ, հնարավոր է նշել միայն ԴՆԹ-ն աձեց-

նելով վիրուսը ^{32}P-ֆոսֆորի առկայությամբ: Այդ տարբեր նիշերը օգտագործվում են ապա բակտերիալ բջիջները վարակելուց հետո սպիտակուցի և ԴՆԹ-ի ճակատագրի հետևելու համար: Տիպիկ փորձի ընթացքը (արձանագրությունը) բերված է ստորև:



Նման հետազոտությունից երևում է, որ միայն ֆագի ԴՆԹ-ն է, այլ ոչ թե սպիտակուցը, անցնում բակտերիայի բջջի ներսը: Դա ապացույց է հանդիսանում ամենա համոզիչ դրույթի, որ համենայն դեպս վիրուսների և մանրէների դեպքում ժառանգական ինֆորմացիայի տեղափոխման համար պատասխանատու է ԴՆԹ-ն: Դա անկասկած, սակայն ոչ այդքան համոզիչ, արդարացի է նաև բարձրակարգ օրգանիզմների (բույսերի և կենդանիների) համար: Հետագայում պարզվեց, որ որոշ վիրուսներ ԴՆԹ-ի փոխարեն պարունակում են ՌՆԹ (նաիր էջ. 12), հետևաբար ավելի ճիշտ կլինի ասել, որ *"ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրիչներ հանդիսանում են նուկլեինաթթուները"*:
Հաջորդ մասում քննարկվում է ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի ստույգ դերը այդ բարդ պրոցեսում:

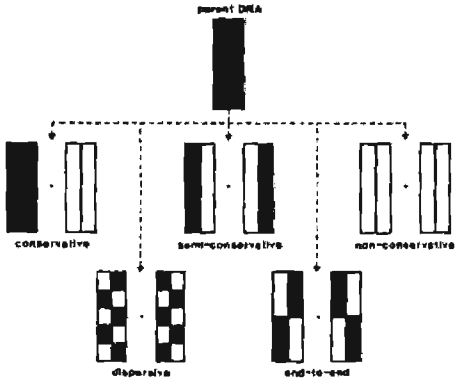
6. ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան

Ուսուցման խնդիրները
Յուրաքանչյուր ուսանող պետք է առանց օգտվելու իր գրանցումներից ունակ լինի՝
- բացատրել ԴՆԹ-ի ռեպլիկացման կենսաբանական նշանակությունը
- ԴՆԹ-ի կառուցվածքի մատչելիությունը ռեպլիկացման համար
- նկարագրել ԴՆԹ-ի կիսակոնսերվատիվ (կիսապահպանողական ռեպլիկացման գլխավոր հատկությունները
- նկարագրել Մեզելսոնի և Սթալի փորձը
- թվարկել ռեպլիկացման պրոցեսում մասնակցող ֆերմենտները

Ներածություն
Նախորդ մասում ցույց է տրվել թե ինչպես մենք իմացանք, որ բջիջի ժառանգական ինֆորմացիան կրող նյութը դա ԴՆԹ-ն է: Բջիջի տրոհումը և դուստր բջիջների առաջացումը միտոզի և մեյոզի ընթացքում զուգորդվում է ԴՆԹ-ի պատճենահանմամբ (ռեպլիկացիա): ԴՆԹ-ն ռեպլիկացվում է ինչպես միտոզի, այնպես էլ մեյոզի ինտերֆազում:
Հիմնական արդյունքները, որոնց վրա հիմնվում են մեր այսօրվա պատկերացումները ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիայի մեխանիզմի վերաբերյալ հետևյալն են՝
1. ժառանգական ինֆորմացիան գրանցված է նուկլեինաթթվի մոլեկուլներում,
2. ԴՆԹ-ն մեծամասամբ բաղկացած է երկու պոլինուկլեոտիդային շղթաների թելիկներից, որոնցից յուրաքանչյուրը կազմված է 3' – 5' ֆոսֆոդիէստերային կապով կապված դեզօքսիռիբոնուկլեոտիդային մնացորդներից,
3. երկու թելիկները միացված են ազոտային հիմքերի (A –T և G-C) միջև առաջացող ջրածնային կապերի միջոցով: Դրանցից յուրաքանչյուրը մենք արդեն դիտարկել ենք և գիտենք, որ եթե տրված է մեկ թելիկի հիմքերի հաջորդականությունը մենք անմիջապես կարող ենք գրել մյուս կոմպլեմենտար թելիկի հիմքերի հաջորդականությունը: Հիմնականում գոյություն ունեն 5 ռեպլիկացիայի տեսականորեն հնարավոր ձևեր:

Կոնսերվատիվ (պահպանողական)՝ այս մեխանիզմով դուստր բջիջներից մեկը ստանում է բնագիր ԴՆԹ-ի մոլեկուլը իսկ մյուսը նրա պատճեն:
Կիսա-կոնսերվատիվ՝ այս դեպքում ԴՆԹ-ի բնագիր մոլեկուլը տրոհվում է երկու թելիկի, որոնցից յուրաքանչյուրը գործում է որպես մատ-

ռիցա նոր կոմպլեմենտար թելիկ սինթեզելու համար:
Ոչ կոնսերվատիվ՝ տվյալ ուղիղ ՌՆԹ-ի բնագիր մոլեկուլը լրիվ տրոհվում է և տեղի է ունենում երկու նոր մոլեկուլների սինթեզ
Դիսպերսիվ՝ (տարալուծային)՝ այս դեպքում ՌՆԹ-ի բնագիր մոլեկուլը տարալուծվում է կամ բաշխվում է նորաստեղծ շղթաներով:
Ծայր-առ-ծայր՝ ՌՆԹ-ի բնագիր մոլեկուլը հանդես է գալիս որպես մեկ շղթայի կեսը, իսկ կոմպլեմենտար շղթայի մյուս կեսը օգտագործվում է երկու նորածին թելիկների սինթեզի համար:

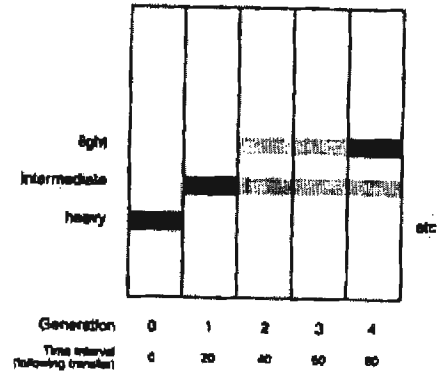


Ծանոթություն՝ ուսանողները կարող են դիտարկել ռեպլիկացման միայն երկու հնարավոր ձևերը (այն փաստերը, որոնք խոսում են նրանց օգտին կամ դեմ):

Ռեպլիկացիայի 5 հնարավոր ձևերը սխեմատիկորեն ներկայացված են վերը բերված նկարում:
Փաստորեն ՌՆԹ-ն ռեպլիկացվում է կիսակոնսերվատիվ ձևով E.coli-ի և բոլոր բարձրակարգ օրգանիզմների բջիջներում: Դա ցույց է տրվել և էուկարիոտիկ բջիջներում, այդ թվում մարդկանց բջիջներում հյուսվածքային կուլտուրաներում: Առաջին փորձը, որը բացահայտել է այս մեխանիզմը անց են կացրել Մեզելսոնը և Սթահլը 1958թ.:
Մեզելսոնի և Սթահլի փորձը:

1. Նրանք աճեցնում էին E.coli $^{15}NH_4Cl$ (այսինքն ազոտի ծանր իզոտոպ) պարունակող միջավայրում: Արդյունքը եղավ ազոտի մուտքը նոր սինթեզված ՌՆԹ-ի մոլեկուլի մեջ (ինչպես նաև այլ ազոտ պարունակող միացությունների մեջ):

2. Նրանք աճեցրեցին բջիջների մի քանի սերունդ այնքան, որ ամբողջ ՌՆԹ-ն "ծանրանա" (այսինքն ամբողջ ազոտը վերածվի ^{15}N-ի) և ունենա նորմայից ավելի խտություն: Այդ "ծանր" ՌՆԹ-ն տարբերվում էր նորմալից ցենտրիֆուգացմամբ ցեզիում քլորիդի գրադիենտում: Այն ռադիոակտիվ չէր:
3. Ապա բջիջները տեղափոխվեցին $^{14}NH_4Cl$ պարունակող միջավայր և տարբեր սակայն որոշակի ժամանակային ինտերվալներով վերցվեցին նմուշները, որոնցից էքստրակտվեց ՌՆԹ-ն:
4. Տարբեր նմուշները իրարից անկաղ ցենտրիֆուգվեցին CsCl-ի գրադիենտում: Փորձի արդյունքները հետևյալն էին:



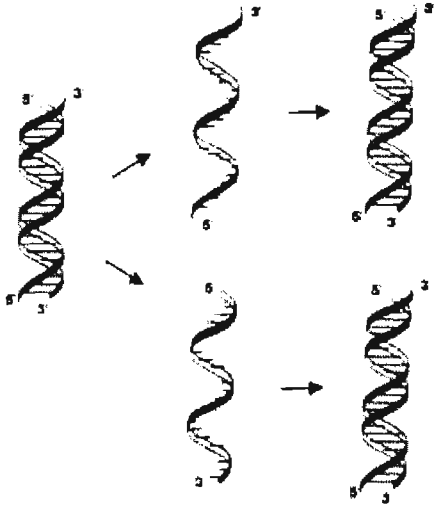
Այսպես, ՌՆԹ-ն, որը էքստրակցիայի էր ենթարկվել կուլտուրայի առաջին սերնդից, ^{15}N միջավայրից ^{14}N միջավայր փոխադրելուց հետո (այսինքն 20 րոպեից հետո) տարբերվում էր "հիբրիդային" խտությամբ, ավելի ստույգ այն կազմում է միայն ^{15}N և ^{14}N պարունակող ՌՆԹ-ների կեսը: Հետևաբար ամեն մոլեկուլը պետք է կազմված լինի մեկ հին և մեկ նոր թելիկից: ՌՆԹ-ն, որը էքստրակտվել էր կուլտուրայից հաջորդ սերնդի աճից հետո (այսինքն 40 րոպեից հետո) բաղկացած էր հիբրիդային ՌՆԹ-ի և "թեթև" ՌՆԹ-ի հավասար քանակներից: Ինչքան ավելի երկարում էր ժամանակային ինտերվալը այնքան ավելի շատ "թեթև" ՌՆԹ էր կուտակվում:
Մեզելսոնի և Սթահլի փորձի արդյունքները չէին համընկնում ոչ կոնսերվատիվ (միայն ^{14}N-ՌՆԹ կարող է հայտնվել 20 րոպե անց) կամ կոնսերվատիվ (և ^{14}N- և ^{15}N-ՌՆԹ կարող է հայտնվել 20 րոպե անց) մեխանիզմի հետ: Սակայն տվյալները համընկնում էին մնացած ռեպլիկացման երեք մեխանիզմների հետ:

Որպիսզի ճշտեն ռեպլիկացման ձևը Մեզելսոնը և Սթահլը կատարեցին

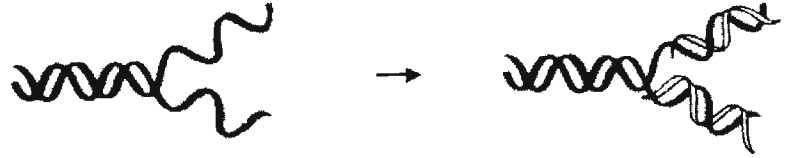
լրացուցիչ փորձ, որում նրանք վերցրեցին 20 որպե հետո ^{14}N միջավայր տեղափոխված ԴՆԹ-ն, անջատեցին նրա թելիկը և վերջնական նմուշը ենթարկեցին CsCl-ի գրադիենտում ցենտրիֆուգացմանը: Դիսպերսիվ և "ծայր-առ-ծայր" մեխանիզմները նախատեսնում են միակ հիբրիդային երկպարույր, իսկ կիսակոնսերվատիվ մեխանիզմը նախատեսնում է երկու երկպարույր, մեկը թեթև, մյուսը ծանր: Տվյալ փորձում հայտնաբերվել է վերջին տարբերակը, հետևաբար ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան տեղի է ունենում կիսակոնսերվատիվ մեխանիզմով:

Ռեպլիկացման մեխանիզմը:

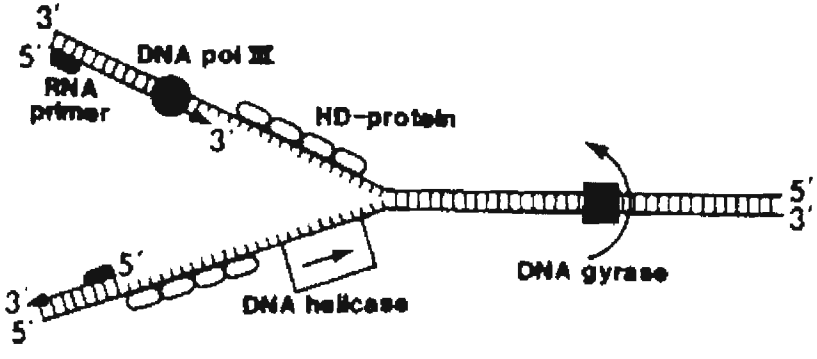
Ուոտսոնը և Կրիկը իրենց 1953 թ. աշխատությունում առաջարկեցին ԴՆԹ-ի կառուցվածքի համար կրկնակի պարույրի մոդելը, եզրակացնելով հետևյալը՝ "Մեր տեսողությունից չի վրիպել այն փաստը, որ յուրահատուկ զուգավորումը պայմանավորում է ժառանգական նյութի պատճենահանման մեխանիզմը: " Դրա հետևանքն է ԴՆԹ-ի թելիկների (շղթաների) ուղղակի կոմպլեմենտարությունը (համապատասխանատվությունը), մեկ շղթայի հիմքերի հաջորդականության պայմանավորվածությունը մյուսի հաջորդականությամբ: Դա կարելի է պատկերել հետևյալ սխեմայով: Սակայն, այս սխեմայի թերությունը կայանում է նրանում, որ առաջին փուլի, այսինքն երկպարույրի բացվելու համար պահանջվող էներգիան այնքան բարձր է, որ թվում է անհավանական: Դա ենթադրում է, որ միանգամից բացվում է մի փոքր հատված և առաջանում է ռեպլիկացիոն պատարաքաղ, ինչպես պատկերված է ստորև:



Այստեղ, ինչպես և բոլոր կենսաքիմիական ռեակցիաներում, օգտագործվում է ֆերմենտ: E.coli-ի դեպքում դա ԴՆԹ կախյալ ԴՆԹ պոլիմերազ III –ն է կամ խմորասնկային ԴՆԹ պոլիմեռազ III-ը:



Պոլիմերազի մոլեկուլների ԴՆԹ-ի վրա ազդելու պարզագույն սխեմը դա թելիկների ծայրային մասին միանալը և յուրաքանչյուրի կոմպլեմենտար թելիկի սինթեզն է: Հիմնական բարդությունը կապված էր նրա հետ, որ պոլիմերազը գործում է միայն միակողմանի, այսինքն սինթեզում է ԴՆԹ-ի նոր թելիկը 5'→ 3' ուղղությամբ: Դա պայմանավորված է նրանով, որ մայր թելիկները (կոչվում են նաև առաջնորդող թելիկներ) կարող են պատճենահանվել միայն ընդհատվող ձևով, որպես ԴՆԹ-ի կարճ բեկորներ (~1000 հիմք երկայնքով), որոնք անվանվում են Օկազակիի բեկորներ (նաիր ստորև): Ավելի վաղ ցույց էր տրված, որ պոլիմերազը իրականում չի դրթում կամ de novo սինտեզ իրականացնում, այլ պահանջում է կարճ կրկնակի պարույրային կառուցվածք, որի վրա հավաքում է համապատասխան թելիկները: Իրականում ստորև պատկերած ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան ընդգրկում է առնվազն 10 տարբեր ֆերմենտներ և սպիտակուցներ:



Ռեպլիկացիոն պրոցեսի լրիվ մանրամասնությունները դուրս են մնում տվյալ ծրագրի սահմաններից, սակայն հետաքրքրվողների համար

ստորև բերվում են այդ պրոցեսում ընդգրկվող գլխավոր ֆերմենտների անվանումները:

ԴՆԹ պոլիմերազ III	ռեպլիկացնող ֆերմենտ
ԴՆԹ պոլիմերազ I	Նորոգող ֆերմենտ, որը ուղղում է սխալները և լրացնում է հաջորդականության անցքերը
ԴՆԹ լիգազ	լրացնում է շաքար-ֆոսֆատային կմաղքի անցքերը
ՌՆԹ պոլիմերազ	նշում է ԴՆԹ պոլիմերազի գործողության սկիզբը
ՌՆԹ ազ H	հեռացնում է ՌՆԹ-ի սկզբնանշանները (այբբենը), երբ նրանք ավարտում են իրենց ֆունկցիան
ԴՆԹ հելիկազ	բացում է ԴՆԹ-ի երկակի պարույրը
ԴՆԹ ջիրազ	բացում է ԴՆԹ-ի երկակի պարույրը
HDսպիտակուց	պահպանում է բացված ԴՆԹ-ն անմիջապես վերափաթաթումից
dda սպիտակուցը	դադարում է այլ սպիտակուցների ընդգրկումը գենի եքսպրեսսիայի կարգավորման մեջ

Մանրամասնությունների և գրականության համար նայիր էջ 55:

7. Տրանսկրիպցիա:

Յուրաքանչյուր ուսանող պետք է առանց օգտվելու իր գրանցումներից ունակ լինի՝

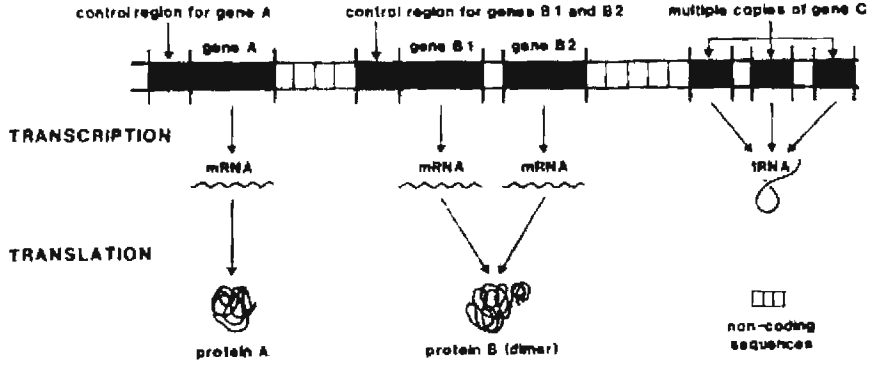
- բացատրել տրանսկրիպցիա հասկացողության իմաստը
- մ-ՌՆԹ-ի դերը
- մ-ՌՆԹ-ի կապը ԴՆԹ-ի մատրիցայի հետ
- նկարագրել սպիտակուցի սինթեզի համար կորիզից ցիտոպլազմա ինֆորմացիայի տեղափոխման անհրաժեշտությունը
- բացատրել թե ինչպես է ինֆորմացիան մՌՆԹ-ի միջոցով կորիզից տեղափոխվում ցիտոպլազմա
- նկարագրել թե ինչպես են ԴՆԹ-ի հարաբերական կարճ մասերը արտագրվում որպես միավորներ
- շարադրել թե ինչպես է ռիբոնուկլեոտիդեռֆոսֆատներից ՌՆԹ պոլիմերազի միջոցով ԴՆԹ-ի մատրիցայի վրա սինթեզվում մՌՆԹ
- պարզ նշման սխեմայի միջոցով նկարագրել տրանսկրիպցիայի պրոցեսը

Ներածություն: 1950 թվականների կեսերը չափազանց արդյունավետ էին գենային էքսպրեսիայի պրոցեսի հասկանալու տեսանկյունից: Մոտավորապես այդ ժամանակներին Կրիկը ձևակերպեց ***Կենտրոնական Դոգման,*** որը սկզբնականում արտահայտվում էր հետևյալ կերպ:

ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիա ——————→ ՌՆԹ ——————→ սպիտակուց
տրանսկրիպցիա տրանսլյացիա

Վերը նշվածից մենք տեսանք, որ ժառանգական ինֆորմացիան, որով պայմանավորված է բջջային ֆենոտիպը պահվում է ԴՆԹ-ում և կարող է հաղորդվել ժառանգող բջիջներին ռեպլիկացման պրոցեսի միջոցով: Մեր խնդիրն է դիտարկել թե ինչպես է գրանցված ինֆորմացիան արտահայտվում յուրահատուկ ֆենոտիպում:
Այդ տեսակետից կարևոր է գենի բնորոշումը որպես "գենոմի տեղամաս, որը հանդես է գալիս մեյոզի ընթացքում առանձին միավորի ձևով և պայմանավորում է այնպիսի ֆենոտիպիկորեն բնորոշվող հատկություններ ինչպիսին են Drosophila- ի կարմիր կամ սպիտակ աչքը կամ սիսեռի կլոր կամ կնճռոտ սերմը": Ավելի ուշ ցույց տրվեց, որ գենը կամ գենի տեղամասը համընկնում է գենոմի վրա տեղադրված ԴՆԹ-ի երկայնքի հետ, որը պարունակում է միակ սպիտակուցի սինթեզի ինֆորմացիա:
Դա բերեց հարմար պատկերացմանը, որ մեկ գենին համապատասխանում է մեկ սպիտակուց: Սակայն, քանի որ շատ կենսաբանորեն ակտիվ սպիտակուցներ կազմված են մեկից ավելին պոլիպեպտիդային շղթաներից, ավելի ճիշտ է ասել, որ "մեկ գեն – մեկ պոլիպեպտիդային շղթա": Չնայած դրա հարմարությանը, այդ դրույթն էլ այնքան կոռեկտ չէ, քանի որ որոշ գեներ կոդավորում են միևնույն կառուցվածքի մՌՆԹ-ի կամ տՌՆԹ-ի մոլեկուլներ այլ ոչ պոլիպեպտիդային շղթաներ: Բացի այդ ավելի ուշ տվյալները պարզաբանեցին լրացուցիչ բարդություններ ժառանգական ինֆորմացիայի կառուցվածքային կազմակերպվածության շարքում: Սակայն տվյալ մասի նպատակների համար ավելի մատչելի է օգտագործել "մեկ գեն – մեկ պոլիպեպտիդային շղթա" հասկացությունը: Ժառանգական ինֆորմացիան ԴՆԹ-ից ամինաթթվային հաջորդականության փոխադրելու համար պետք է իրականացվի

երկու առանձին բայց մեկը մյուսին հաջորդող պրոցեսներ: Դրանք են՝ 1.տրանսցրիպցիան, որի ընթացքում ԴՆԹ-ի համապատասխան գենի մեկ թելիկի վրա սինթեզվում է ՌՆԹ տրանսկրիպտը (պատճեն) և 2. տրանսլյացիան՝ մՌՆԹ-ում արտագրված ինֆորմացիան թարգմանվում է ամինաթթվային հաջորդականության, առաջացնելով առանձին պոլիպեպտիդային շղթա: Ռեպլիկացման նման այս պրոցեսները սկզբից պատկերացվում էին որպես շատ պարզ և ուղղակի, սակայն ինչպես պարզվեց շատ բարդ պրոցեսներ են:
Մինչ տրանսկրիպցիայի մանրամասն նկարագրումը կարևոր է նշել, որ սպեցիֆիկ սպիտակուցի սընթեզի համար պատասխանատու գենի հատվածը ներկայացնում է բջիջի գենոմի փոքր մասը: Մնացած մասերը համարվում են չկոդավորված հաջորդականություններ, բազմակրկնվող հաջորդականություններ և այնպիսի ֆունկցիոնալ ՌՆԹ-ի մոլեկուլներ ինչպիսին են տՌՆԹ-ն և ռՌՆԹ-ն սինթեզող յուրահատուկ տեղամասեր: Այդ հատկությունները պատկերացված են ստորև բերված նկարում:



մՌՆԹ-ի սինթեզի անհրաժեշտ պայմանները
Տրանսկրիպցիան ինչպես մենք տեսանք ներկայացնում է ԴՆԹ-ի գենի տեղամասի մատրիցայի վրա կոմպլեմենտար ՌՆԹ-ի մոլեկուլի սինթեզը: Այդ պրոցեսի համար պահանջվում են ՌՆԹ-ի հիմնային կառուցվածքային բլոկերը՝ ԱՏՖ, ԳՏՖ, ՑՏՖ և ՈՒՏՖ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի այն մասի հետ, որը պատճենահանվում է; վերջինս անվանվում է ԴՆԹ մատրիցա: Այս պրոցեսի համար բջիջը օգտագործում է ԴՆԹ կախյալ ՌՆԹպոլիմերազ կամ ուղղակի ՌՆԹպոլիմերազ: Հիշենք, որ ֆերմենտները ունեն 3 կարևոր առավելություն՝ 1. գործում են, որպես *կենսաբանական կատալիզատորներ* արագացնելով կենսաբանական ռեակ-

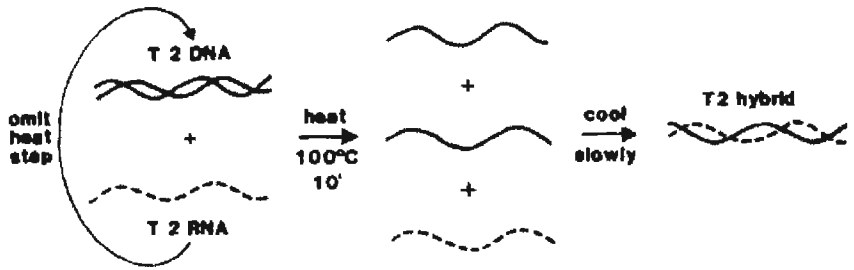
ցիաները առանց pH-ի և ջերմաստիճանի կտրուկ փոփոխությունների, 2. նրանք սովորաբար *ստույգ սպեցիֆիկ* են և կատալիզում են միակ խիստ յուրահատուկ ռեակցիա և 3. նրանք *ենթակա են հսկման:*

Մաքրված ՌՆԹպոլիմերազի հետ սկզբնական աշխատանքներում ցույց է տրվել, որ եթե փոխվում էր ԴՆԹ մատրիցան ապա համապատասխանորեն փոխվում էր նաև առաջացող ՌՆԹ-ի հիմքային կազմը: Այդ դրույթից հետևում էր, որ ԴՆԹ մատրիցան պայմանավորում է ՌՆԹ արգասիքի հիմքային հաջորդականությունը: Դա ապացուցվել է Հոլի և Շպիգելմանի կողմից մշակված այդպես կոչված *մոլեկուլային հիբրիդիզացման* եղանակի միջոցով: Այդ եղանակի էությունը կայանում է նրանում, որ հնարավորություն է տալիս հետևել թե առաջացած ՌՆԹ արգասիքը ունակ է թե ոչ ջրածնային կապեր առաջացնել ԴՆԹ մատրիցայի հետ, այսինքն թույլ է տալիս պարզել նրանում կոմպլեմենտար շրջանի առկայությունը: Այդ ցույց տվեցին Վեյսը և աշխատակիցները, որոնք անջատեցին սինթետիկ ՌՆԹ, օգտագործելով ^{32}P-նշված ռիբոնուկլեոտիդային նախորդներ և բակտերիոֆագT2-ը, որպես ԴՆԹմատրիցա: CsCl-ի գրադիենտում ցենտրիֆուգացման միջոցով անջատվել էր ՌՆԹ: ՌՆԹ-ին ավելացվել էր որոշ քանակությամբ T2ԴՆԹ և խառնուրդը ԴՆԹ-ի երկպարույրը բացելու համար տաքացվել էր 10 րոպե 100^{0}C-ի պայմաններում, ապա դանդաղ սառեցվել էր մինչև 40^{0}C և հավասարակշռվել 12 ժամվա ընթացքում: Ստուգիչը ենթարկվել էր նույն պրոցեդուրայի բացառությամբ տաքացման փուլը: Նշված պրոցեսից հետո խառնուրդը ենթարկվել էր ցենտրիֆուգացման CsCl-ի խտության գրադիենտում, նմանեցվում էին նուկլեինաթթուներին համապատասխանող ժապավենները և չափվում էր ռադիոակտիվությունը: Արդյունքները հետևյալն էին՝

Ստուգիչ: Մեկ ժապավենը համապատասխանում էր երկպարույր ԴՆԹ-ին առանց նիշի
Մյուսը համապատասխանում էր նշված ՌՆԹ-ին

Փորձ : Երկպարույր ԴՆԹ-ին համապատասխանող ժապավեն չկա կամ շատ քիչ է
Նույնը ՌՆԹ-ի նկատմամբ
Մեկ ԴՆԹ/ՌՆԹ հիբրիդային մոլեկուլին համապատասխանող նշված ժապավեն

Այդ սխեմատիկորեն ցույց է տրված ստորև՝



Լրացուցիչ փորձերը ցույց տվեցին, որ հիբրիդը կայուն է ՌՆԹ-ի նկատմամբ և, որ հիբրիդը չի առաջանում, եթե T2ԴՆԹ-ի փոխարեն օգտագործվում է տարբեր բջիջներից անջատված 'պրայմեր' (այբբեն): Պրայմերի ունակությունը կոմպլեքսավորվել T2ԴՆԹ-ի հետ հաստատում է, որ հաջորդականությունը ամբողջովին կարող է կապնվել: Տվյալները նաև ցույց են տալիս, որ T2ԴՆԹ-ի երկու թելիկներն էլ գործում են որպես մատրիցա, քանի որ միաթել ԴՆԹ չի հայտնաբերվում կամ հայտնաբերվում է չնչին քանակությամբ:

Այս յուրահատուկ փորձը անց է կացվել in vitro. Եթե այդպիսի փորձ կատարվի in vivo և նման եզրակացություններ արվեն կստացվի, որ տրանսկրիպցիան ասիմետրիկ պրոցես է, այսինքն որ ԴՆԹ-ի միայն մեկ թելն է պատճենահանվում: Այդ թելը ակնարկվում է որպես *զգայուն թել* և այժմ սահմանվում է, որ գենի յուրաքանչյուր տեղամասի համար ԴՆԹ-ի միայն մեկ թելն է ծառայում որպես մատրիցա մՌՆԹ-ի սինթեզի պրոցեսում: Սակայն ամենեվին ամպայման չէ, որ գենոմի երկայնքով տարբեր գեների համար դա լինի նույն թելը;

Տրանսկրիպցիայի մեխանիզմը

Վերը քննարկված աշխատություններից մենք տեսանք, որ տրանսկրիպցիան դա մի պրոցես է, որի ընթացքում գենի զգայուն թելի վրա ՌՆԹպոլիմերազի մասնակցությամբ սինթեզվում է մՌՆԹ: Տվյալ ֆերմենտը ինչպես և ՌՆԹպոլիմերազը գործում է 5'→3' ուղղությամբ, որը համապատասխանում է մՌՆԹ-ի սինթեզման ուղղությանը: Այդ պրոցեսի մեխանիզմը հասկանալու համար հարկավոր է իմանալ այն ուղին, որով ճանաչվում է յուրաքանչյուր գենի սկիզբը: ԴՆԹ-ի սպեցիֆիկ գենի սկզբնական տեղամասերի հաջորդականության

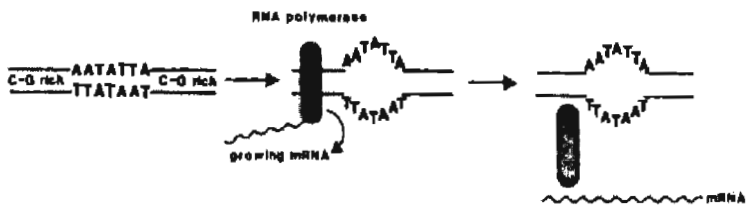
ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ նրանք հարուստ են ադենինով և թիմինով (AT-rich bases), որոնք տեղակալված են մի քանի հիմք վեր մՌՆԹ-ի տրանսկրիպտից ինչպես ցույց է տրված ստորև:

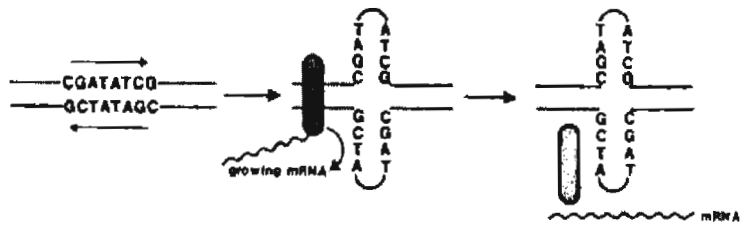
```
-fd          C T G A C T A T A A T A G A C A G G G T A A A G A C C T G
-T7 A2       T G C A G T A A G A T A C A A A T C C G T A G G T A A C A
-Lac-UV-5    G C T C G T A T A A T G G T T A C A A A T A A A G C A A T
-SV40        C A G C T T A T A A T G G T T A C A A A T A A A G C A A T
-E Coli Tyr  T T T G A T A T G A T G C G C C C C G C T T C C C G A T A
  tRNA
```

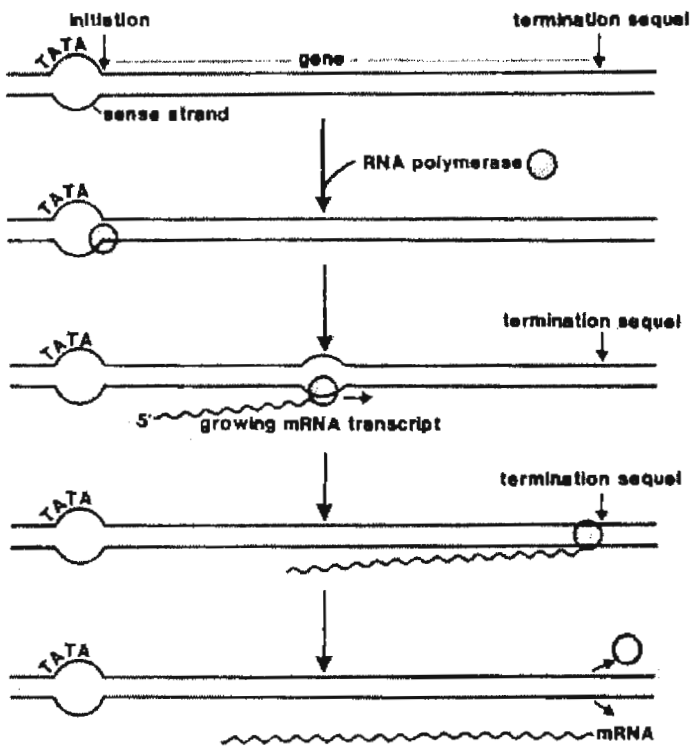
ԴՆԹ-ի մուք դաշտերի հիմքային հաջորդականությունները ներկայացված են որպես TATA- արկղ կամ Պրիբնոուի արկղ պրոկարիոտների և Հոնիսի արկղ էուկարիոտների մոտ: Մուտքային կետը նմանեցված է թավատառով, սովորաբար 6-7 հիմք դեպի վայր սկսած TATA- արկղից;

Ուսուցանողների համար արդյունավետ է քննարկել այս շրջանի կարևորությունը տրանսկրիպցիայի դրթմանը: Առաջինը AT- հիմքերի զույկը կապված է երկու ջրածնային կապով համեմատած GC զույկի երեք կապի հետ և հետևաբար AT-հարուստ մասը ավելի հեշտ է ենթարկվում բացմանը, առաջացնելով բշտիկ: Այդ բշտիկի առաջացման առավելությունը կայանում է նրանում, որ այն օգնում է ՌՆԹպոլիմերազին ճանաչել գենի սկիզբը, հեշտությամբ ընտրել զգայուն թելը և իրականացնել ասիմետրիկ սինթեզը:

ՌՆԹպոլիմերազը շարժվելով զգայուն թելի երկայնքով միաժամանակ ներմուծում է նրան համապատասխան հիմքը նոր սինթեզվող թելի կազմը: Տրանսկրիպցիայի դադարման մեխանիզմները տարբերվում են գենից գեն: Որոշ գեների համար հայտնաբերվել է լրացուցիչ rho անվանմամբ սպիտակուց, որը ճանաչում է հատման կետը և կանգնեցնում է ՌՆԹպոլիմերազի գործունեությունը: Այլ մեխանիզմները կայանում են AT-հարուստ տեղամասերի մի կողմից GC-հարուստ տեղամասի կամ պալինդրոմային շրջանի սահմանակցմամբ: Այս երկու դեպքում էլ առաջանում է բշտիկանման կառուցվածք. այն դիտվում է որպես ֆիզիկական արգելք, որը ստիպում է ՌՆԹպոլիմերազին ընդհատել սինթեզը (նաիր ստորև):







Տրանսկրիպցիայի մեխանիզմը սխեմատիկորեն ամփոփված է նախորդ էջի ստորև:

8. Ժառանգական կոդը

Յուրաքանչյուր ուսանող պետք է առանց օգտվելու իր գրանցումներից ունակ լինի՝

- բացատրել որ ինֆորմացիայի միավորը կոդոնն է՝ մՌՆԹ-ում յուրաքանչյուր ամինաթթվին համապատասխանող երեք հիմքերի հաջորդականությունը
- հավաստել, որ չորս հիմքերի դիմաց կա 64 հնարավոր կոդոն
- ձևակերպել, որ բոլոր կոդոններին համապատասխանում են ամինաթթուներ կամ կետադրական նշաններ
- տալ ժառանգական կոդի հատկությունների մանրամասնությունները
- կանխագուշակել սպիտակուցի ամինաթթվային հաջորդականությունը ելնելով մՌՆԹ-ի կամ ԴՆԹ-ի հիմքային հաջորդականությունից (ժառանգական կոդի հաջորդականության պատճեի օգնությամբ):

Ներածություն: Հաջորդ մասում մենք կքննարկենք այն մեխանիզմը, որի օգնությամբ մՌՆԹ-ում գրանցված ինֆորմացիան օգտագործվում է սպիտակուցի սպեցիֆիկ ամինաթթվային հաջորդականության սինթեզի համար: Այս հարցը հիմնավորող կարևոր կոնցեպցիան կայանում կոդի բնույթում, որը թարգմանում է մՌՆԹ-ի հիմքային հաջորդականությունը պոլիպեպտիդային շղթայի ամինաթթվային հաջորդականության: Այս կոդը կոչվում է ժառանգական կոդ և տվյալ մասում մենք կքննարկենք նրա ընդհանուր հատկությունները:

Նախ և առաջ պետք է հասկանալ թե ինչպես 4 տարբեր տեսակի հիմքերից բաղկացած մոլեկուլը պայմանավորում 20 ամինաթթուներից բաղկացած կառուցվածքի առաջացումը: Պարզ է, որ ՌՆԹ-ի հիմքերի և ամինաթթուների միջև չի կարող լինել 1:1 հարաբերություն, ինչպես նաև 2:1 հարաբերություն, քանի որ դա կարող է բերել միայն 16 տարբեր դասավորությունների (4x4): Եթե, սակայն, ամեն մի ամինաթթուն կոդավորվի երեք հիմքով հնարավոր տրիպլետների քանակը կկազմի 64 (4x4x4), ինչը թույլ կտա ստեղծել բավականին կոմբինացիաներ ամեն մի ամինաթթվի համար: Տրիպլետային տեսության օգտին բավականին փաստեր կան և մենք կքննարկենք դրանք: Երեք հիմքերի հաջորդականության անվանումն է *կոդոն:*

Տրիպլետային կոդի ապացույցները:
Տրիպլետային կոդի մասին վկայում են Կրիկի և աշխատակիցների աշխատանքները, որտեղ մուտացիաներ առաջացնելու նպատակով օգտագործվել են ակրիդին նարինջազույնը և պրոֆլավինը: Այդ նյութերի ազդեցության մեխանիզմը լրիվ պարզ չէ, բայց վերջնական ազդեցությունը կայանում է լրացուցիչ հիմքի տեղադրման կամ ԴՆԹ-ից որևէ հիմքի հանման մեջ:

Այդ ուսումնասիրությունների արդյունքները ավելի հեշտ հասկանալու համար դիմենք պարզ մոդելի և ուսումնասիրենք նրա վարքը: Այսպես ընդունենք, որ ՌՆԹ-ի հաջորդականությունը հետևյալն է՝

- CAT - CAT - CAT - CAT - CAT - CAT-
  տեղադրում (insertion)
  ↓
- CAT - XCA -TCA - TCA - TCA - TCA-

- CAT - ATC - ATC - ATC - ATC - ATC -
  ↑
  C-ի հեռացում (deletion)

Միակ մուտացիայի արդյունքը (հիմքի տեղադրումը կամ հանումը) առաջացնում է հաղորդում դեպի աջ ուղությամբ, որը սխալ է կարդացվում և բերում է համարյա միշտ դեֆեկտային սպիտակուցի սինթեզի: Նույնը տեղի է ունենում 2 հիմքի տեղադրման կամ հանման դեպքում (ցուցադրեք ինքներդ): Դրամատիկ է լինում 3 տեղադրման կամ հանման հետևանքը՝ անկանոն տեսակի ֆենոտիպի առաջացում: Նայիր ստորև՝

տեղադրումներ
↓↓ ↓↓↓↓
-CAT - CAT - CAT - CAT - CAT - CAT-
↑ ↑ ↑
հանումներ հեռացումներ

- CAX - TCY - AZT - CAT - CAT - CAT- CAT-

ACA - CAT - CAT - CAT - CAT -

Ինչպես տեսնում ենք մենք վերադարձանք նորմալ տրիպլետներին: Տվյալ դեպքում կարելի է ընդունել, որ ձևափոխված տրիպլետը(ները) չի(չեն) կանխում սպիտակուցի սինթեզը և եթե լրացուցիչ ամինաթթու է ներմուծվում դա չի անդրադառնում սպիտակուցի ֆունկցիայի վրա (նման է տրիպլետի հանմանը):

Այդ հետազոտություններում ցույց է տրվել նաև, որ եթե մենք տեղադրում ենք լրացուցիչ հիմք, ապա հեռացնում մեկ այլ հիմք հաջորդականությունում մի փոքր հեռավորության վրա, արդյունքում ստանում ենք համարյա նույն ելանյութը (ցույց տվեք ինքնուրույն): Տվյալ դեպքում կարևոր է, որպեսզի տեղադրումը և հանումը չեզոքացնեն մեկը մյուսին (ի՞նչու): Գոյություն ունեն կոմբինացված մուտացիաների բազմաթիվ ուղիներ, սակայն ընդհանուր արդյունքները խոսում են ի օգուտ տրիպլետային կոդի: Այս արդյունքներն էլ նույնպես լրացուցիչ ապացույց են հանդիսանում կոդի թարգմանման եղանակի:

Հաջորդական թե զո՞ւգահեռ
Գոյություն ունեն հաղորդման ընթերցման երկու հնարավոր եղանակ՝

CAT - CAT - CAT - CAT - CAT - CAT -
— — — — — — հաջորդական

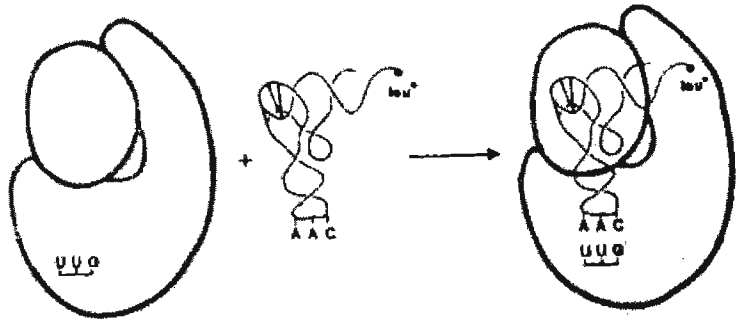
CAT - CAT - CAT - CAT - CAT - CAT -
—
———
———
——
———
———
—
և այլն զուգահեռ

Զուգահեռ կոդոնների առավելությունը կայանում է նրանում որ այն բավարարվում է կոդավորող նյութի միայն մեկ երրորդով: Որոշ կետային մուտացիաներից (ինչպես պատկերված էր վերևում) կամ հիմքերի տեղակալման մեթոդներից (այսինքն in situ ազոտական թթվով առաջացված հիմքի քիմիական փոփոխություն, որը կայանում է C→U) երևում է, որ միայն մեկ, այլ ոչ թե երեք, ամինաթթու է տեղաշարժվում ինչպես

կարելի էր սպասել թարգմանման զուգահեռ ձևվից:
Հետևաբար հաղորդումը ընթերցվում է հաջորդաբար մեկ ծայրից մյուսը երեքական խմբերով(տրիպլետներով):

Ծածկագրի (կոդի) վերծանումը (դեկոդավորումը):
Ծածկագրի վերծանման պրոբլեմը կայանում է կոդոններին համապատասխանող ամինաթթվային հաջորդականության պարզաբանման մեջ: Ամենա արդյունավետ եղանակն է համարվում Լեդերի և Նիրենբերգի կողմից մշակված *ռիբոսոմային կապման եղանակը:* Այդ եղանակը մի շարք այլ մեթոդների նման հիմնված է սինթետիկ մՌՆԹ-ի օգտագործման վրա, որը տվյալ դեպքում բաղկացած է միայն երեք հիմքից, միակ կոդոնից: Պարզ է, որ հայտնի հաջորդականությամբ մՌՆԹ-ի օգտագործման առավելությունը կայանում է նրանում, որ հեշտացնում է ստացված տվյալների մեկնաբանումը:

Ռիբոսոմային կապման եղանակը ընդգրկում է ռիբոսոմների հետ մաքուր սինթետիկ կոդոնի նմուշի ինկուբացումը և ամեն մի սպիտակուցային ամինաթթվի,որը նախորոկ նշվում է ռադիոակտիվ ատոմներով, կապումը իր համապատասխան տՌՆԹ-ի հետ(նաիր էջ 39): Յուրաքանչյուր խառնուրդը ֆիլտրվում է միլիպորային ֆիլտրի միջոցով, որի վրա մնում են ռիբոսոմները և որոշ նրանց հետ կապված միացություններ: Ապա գրանցվում է ֆիլտրի ռադիոակտիվությունը: Եթե մենք որպես օրինակ դիտարկում ենք UUG տրիպլետը ապա տեսնում ենք, որ ռադիոակտիվ սերին պարունակող նմուշը չի կապվել ֆիլտրի հետ: Նույնը տրիպտոֆանի, գլիցինի, մեթիոնինի, թիրոգինի և այլ ամինաթթուների համար: Փաստորեն ռադիոակտիվություն ֆիլտրի վրա հայտնաբերվում է միայն այն դեպքում երբ օգտագործվում է լեյցինը: Հետևաբար կարելի է եզրակացնել, որ կոդոն UUG կոդավորում է լեյցինը:



Այս վերը բերված պրոցեսը կրկնվում է բոլոր տրիպլետային կոդերի համար: Այս պարզ, սակայն բարձրաարդյունավետ մեթոդի (որոշ մինոր ձևափոխություններով) օգտագործումը թույլ տվեց միանշանակ վերագրել 64 հնարավոր տրիպլետներից 61-ը համապատասխան ամինաթթուներին և ընդունել ստորև բերված կոդը՝

SECOND LETTER

FIRST LETTER	U	C	A	G	THIRD LETTER
U	UUU Phe, UUC, UUA Leu, UUG	UCU, UCC, UCA, UCG Ser	UAU Tyr, UAC, UAA, UAG	UGU Cys, UGC, UGA, UGG Trp	U, C, A, G
C	CUU, CUC, CUA, CUG Leu	CCU, CCC, CCA, CCG Pro	CAU His, CAC, CAA, CAG Gln	CGU, CGC, CGA, CGG Arg	U, C, A, G
A	AUU, AUC, AUA Ile, AUG Met	ACU, ACC, ACA, ACG Thr	AAU Asn, AAC, AAA, AAG Lys	AGU Ser, AGC, AGA, AGG Arg	U, C, A, G
G	GUU, GUC, GUA, GUG Val	GCU, GCC, GCA, GCG Ala	GAU Asp, GAC, GAA, GAG Glu	GGU, GGC, GGA, GGG Gly	U, C, A, G

Խեղաթյուրված կոդոններ
Ինչպես մենք նոր տեսանք 64 տրիպլետից 61 վերագրում են առանձին ամինաթթուներին: Ի՞նչում է կայանում մնացած երեքի՝ UAA-ի, UAG-ի և UGA-ի ֆունկցիան: Սկզբից նրանց անվանեցին "խեղաթյուրված կոդոններ", սակայն հետագայում ցույց տրվեց որ նրանք կարևոր դեր են խաղում սպիտակուցային սինթեզում որպես շղթան ընդհատող ազդակներ: Դրանք այն կոդոններն են, որոնք տեղեկացնում են սպիտակուցային սինթեզի համակարգին, որ առաջացող պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզը ավարտվել է և, հետևաբար, այն կարող է անջատվել ռիբոսոմից (նաիր էջ 43):

Կոդի ընդհանուր(գլխավոր) հատկությունները

Վերը նկարագրված փորձերից և այլ նման հետազոտություններից կոդի ընդհանուր հատկություններից կարևորացվում են հետևյալները՝

- Կոդը հաջորդական է (դրա ապացույցները դիտարկված են էջ 34, 35):
- Կոդը այլասերված է: Կոդի կարևորագույն հատկությունն է այն, որ մի շարք ամինաթթուներ կոդավորվում են մեկից ավելի տրիպլետների կողմից (բացառությամբ մեթիոնինի և տրիպտոֆանի): Փաստորեն ամինաթթուների մեծամասնության համար յուրահատուկ են կոդոնի միայն առաջին երկու հիմքերը: Այդպիսի տիպի կոդը կոչվել է այլասեռված:Դրանից հետևում է, որ միևնույն ամինաթթուն կարող է կոդավորվել մեկից ավելին տՌՆԹ-ի կողմից: Դա հայտնի փաստ է:
- Կոդը համատարած է: Ներկայումս փորձնական տվյալների հիման վրա կոդը համարվում է ունիվերսալ (համապարփակ): Օրինակ, Լիպմանը և ուրիշները օգտագործելով խմորասնկեր, միկրոկոկային և E.Coli-ի տՌՆԹ, ճագարի ռետիկուլոցիտների ռիբոսոմներ, հեմոգլոբինի մՌՆԹ ցույց են տվել, որ լրիվ նորմալ, բնական տեսակից չնչին տարբերություններով սպիտակուց է առաջանում: Հետագայում, սակայն, այս ընդհանուր կանոնից որոշ բացառություններ սահմանվեցին միտոքոնդրիումներում, լեյկեմիկ բջիջներում և որոշ թարթիչային բջիջներում: Այդ հետազոտությունները դժվար կացուցյան մեջ դրեցին էվոլյուցիոն տեսաբաններին:

էջ. 55-ում բերված է համապատասխան գրականության ցանկ հարցի ավելի խորը ուսումնասիրելու համար:

9. Տրանսլյացիա (թարգմանում)

Ուսումնասիրման նպատակները՝

Յուրաքանչյուր ուսանող պետք է առանց օգտվելու իր գրանցումներից ունակ լինի՝

- Հաստատել, որ ռիբոսոմները պատասխանատու են մՌՆԹ-ում գրանցված ինֆորմացիայի թարգմանման համար
- Նկարագրել ռիբոսոմների, մ- և տՌՆԹ-ի, ամինաթթուների ֆունկցիաները թարգմանման պրոցեսում
- Նկարագրել թարգմանման պրոցեսը օգտագործելով կոդոն, հակակոդոն, պեպտիդային կապի առաջացում և ընդհատում (տերմինացիա) տերմինները

Ներածություն

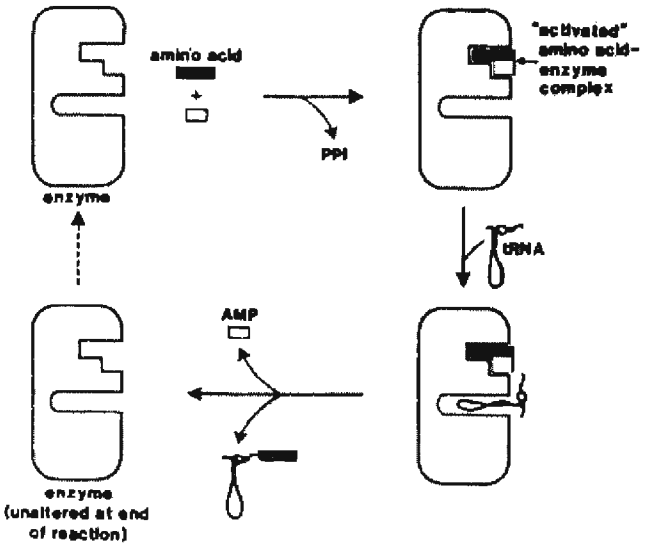
Սպիտակուցի սինթեզում ՌՆԹ-ի մասնակցության կողմնակի ապացույցներ հայտնի էին դեռ 40-ական թվականներին այն փորձերից, որոնցում ցույց էր տրվել, որ ՌՆԹ-ն ավելի տարածված է այն բջիջներում, որոնք ինտենսիվորեն սպիտակուց են սինթեզում: Ավելի ուշ բջջում տարբերեցին երեք տիպի ՌՆԹ (մ, տ և ռ) և համապատասխան փորձերի միջոցով, որոնք նկարագրված են ստորև, հաջողվեց պարզաբանել նրանց յուրահատուկ ֆունկցիաները սպիտակուցի սինթեզում:

տՌՆԹ-ի դերը սպիտակուցի կենսասինթեզում

Ցույց է տրված, որ սպիտակուցային ամինաթթուների և մՌՆԹ-ի միջև յուրահատուկ խնամակցություն գոյություն չունի, ինչպես նաև շաքարֆոսֆատային կմաղքի և հիմքերի միջև (նաիր նկար): Դա այն դեպքն է, որ մենք չենք կարող բացատրենք տրանսլյացիայում, ինչպես դա արեցինք ռեպլիկացիայում և տրանսկրիպցիայում:

Այս խնդրի լուծումը կայանում է յուրահատուկ ամինաթթվի և մՌՆԹ-ի միջև "ադապտոր մոլեկուլի" միջոցով, որի դերը կատարում է տՌՆԹ-ն, ոչ ուղղակի կապի ստեղծման մեջ(նաիր նկար):

Ամինաթթուն տՌՆԹ-ի հետ կապվելուց առաջ պետք է ակտիվացվի: Դրա համար պահանջվում է ԱԵՖ և ամինոացիլ-տՌՆԹ-սինթետազ ֆերմենտը: Ռեակցիան ընթանում է երկու փուլով՝ առաջին փուլում ամինաթթուն ակտիվանում է, իսկ երկրորդ փուլում ակտիվացված ամինաթթուն տեղափոխվում է իր յուրահատուկ տՌՆԹ-ի վրա ինչպես սխեմատիկորեն ցույց է տրված ստորև բերված նկարում:



Ամինոացիլ-տՌՆԹ-սինթետազ ֆերմենտը, բացի ռեակցիայի կատալիզից, դրսևորում է նաև բարձր յուրահատկություն նրանում, որ կապում է առանձին ամինաթթուն ստույգ իրեն համապատասխան տՌՆԹ-ին, ապահովելով բարձր ճշտգրտություն թարգմանման պրոցեսում: Ամինաթթուները կապվում են տՌՆԹ-ի 3' ծայրին (բոլոր ծայրերը ունեն CCA_{OH} հաջորդականություն) իրենց կարբոքսիլ (-COOH) խմբի միջոցով:

Սպիտակուցային սինթեզի ուղղությունը

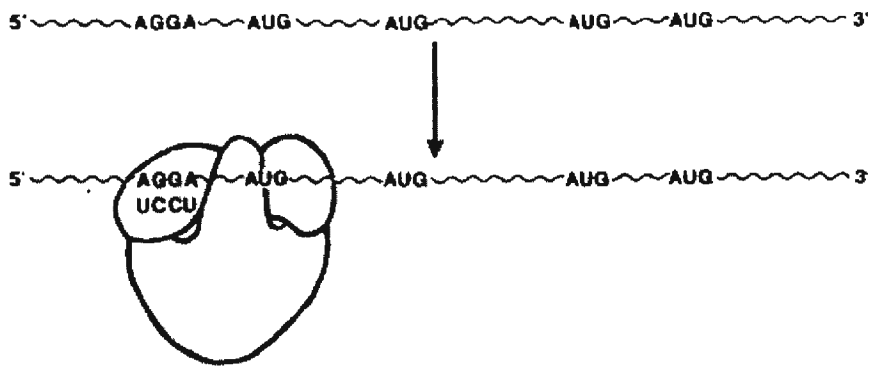
Թարգմանման պրոցեսի իրադարձությունները մանրամասն քննարկելուց առաջ արժե դիտարկել պրոցեսի ուղղությունը: մՌՆԹ-ի դեպքում հաղորդման վերծանումը ընդհանում է 5' ծայրից դեպի 3' ծայրը, կամ հակառակը, փոփոխվելով ըստ սպիտակուցի: Առաջացող պոլիպեպտիդային շղթայի դեպքում, որը ունի իր ուղղությունը, այդ տեղի է ունենում N-ծայրից դեպի C-ծայրը թե հակառակը, թե այդ նույնպես փոփոխվում է սպիտակուցից սպիտակուց:

Առանց այս հարցերի լուսաբանման շուրջը կատարված փորձերի մանրամասն արձանագրությունների դիտարկման, բերենք բոլորի կողմից ընդունված եզրակացությունները՝

- մՌՆԹ-ն թարգմանվում է 5'→ 3' ուղղությամբ
- պոլիպեպտիդային շղթան սինթեզվում է N-ծայրից դեպի C-ծայրը

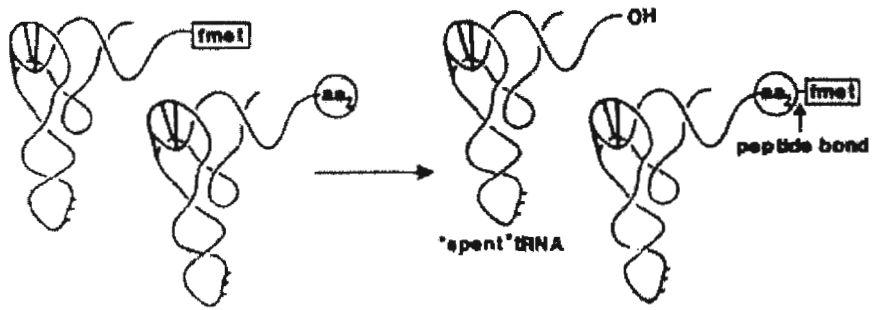
Թարգմանության ընթացքում տեղի ունեցող իրադարձությունները ներկայացնում են իրենցից չափազանց մանրակրկիտ և խիստ միմյանց հետ կապված ռեակցիաների հաջորդականություն: Սակայն տվյալ ձեռնարկի նպատակն է քննարկել միայն առավել կարևոր կամ ակնհայտ հատկությունները, որոնց միջոցով կարելի է ընդհանուր պատկերացում ստանալ ինիցիացիա, էլոնգացիա և տերմինացիա պրոցեսների մասին:

մՌՆԹ-ում պարունակվող ինֆորմացիայի վերծանման համար օգտագործվում են երկու հնարավորություն՝ կամ մենք սկսում ենք մՌՆԹ-ի հեռավոր 5' ծայրից և ընթերցում էնք 5'→ 3' ուղղությամբ (նաիր վերևում) մինչև ընդհատման ազդակը (նաիր ստորև) կամ սկսում ենք որևե եզական յուրահատուկ (ինիցիացիոն) սկզբնակետից և ընթերցում ենք հողորդումը այդ կետից: Այս հարցի ուսումնասիրման սկզբնական աշխատանքում պարզաբանվեց, որ հաղորդումը իրոք ընթերցվում է եզական սկզբնակետից, որը ներկայացնում է AUG, մեթիոնինի կոդավորման տրիպլետը: Հետագա աշխատանքները ցույց տվեցին, որ այս սկզբնակետը կարող է տարբերվել մնացած բոլոր AUG հաջորդականություններից (որոնք կոդավորում են սպիտակուցների ներքին մեթիոնինները) նախորդող հարևան AGGA հաջորդականությամբ (այսպես կոչված *Շայն-Դալգառնո-ի համաձայնեցված հոջորդականություն)*: Այդպիսի լուծումը ունի լրացուցիչ առավելություն այն առումով, որ AGGA հաջորդականությունը ճանաչվում է ռիբոսոմի փոքր ենթամիավորի ռՌՆԹ-ում առկա UCCU հաջորդականությամբ և, այդպիսով, պատճառ է դառնում ռիբոսոմի միացմանը ուղիղ մՌՆԹ-ի սկզբնակետին:



Ցույց էր տրվել նաև, որ այդ եզակի AUG-ն կապում է հատուկ ամինաթթու (կապվելով իրեն համապատասխանող տՌՆԹ-ին ինչպես նկարագրված է վերևում, էջ 40): Այդ հատուկ ամինաթթուն է մեթիոնինի մնացորդը, որում ամինախումբը ունի իր հետ կապված ֆորմիլ խումբ(-CHO) և անվանվում է N-ֆորմիլմեթիոնին (fմեթ): Այդ լրացուցիչ բարդացումը ունի այն առավելությունը, որ թույլ է տալիս էֆեկտիվորեն պաշարել ամինախումբը և արգելակում է նրա փոխազդեցությունը, ուղելով, այդպիսով, պոլիպեպտիդային շղթայի սինթեզը N-ծայրից դեպի C-ծայրը: Էուկարիոտները չէն օգտագործում ֆորմիլ խումբը:
Այդ ձևով մենք կարող ենք առաջացնել սկզբնական կոմպլեկս, որում ռիբոսոմը կապված է մՌՆԹ-ի ստույգ տեղամասի հետ և մենք ունենք առաջին ամինաթթուն իր դիրքում, կապված համապատասխան տՌՆԹ-ի հետ:

Էլոնգացիա (շարունակում)
Ապա հաջորդ ամինաթթուն, որը համապատասխանում է AUG հաջորդականությունից հետո գտնվող կոդոնին (կրկին որպես ացիլ-տՌՆԹ) հասցվում է fմեթ մնացորդի կոդքի դիրքը այնպես, որ նրանք կարողանան առաջացնեն պեպտիդային կապ:



Երկու ամինաթթուների կոնդենսացումը կատալիզվում է պեպտիդիլ-տրանսֆերազ ֆերմենտի կողմից, որը մեծ ռիբոսոմային ենթամիավորի մեջ ընդգրկված ՌՆԹ-սպիտակուցային կոմպլեքսի բաղադրյալ սպիտակուցներից մեկն է հանդի-սանում: Այսպես fմեթ-ը տեղափոխվում է մեկ այլ ամինացիլ-տՌՆԹ-ի վրա (կոչվում է "օգտագործված" տՌՆԹ), իսկ իրեն տՌՆԹ-ն անջատվում է կոմպլեք-սից: Ռիբոսոմը շարժվում է երեք հիմքի երկայնքով տրանսլոկացիա (տեղափոխում) կոչվող պրոցեսի միջոցով և դա թույլ է տալիս հաջորդ ամինացիլ-

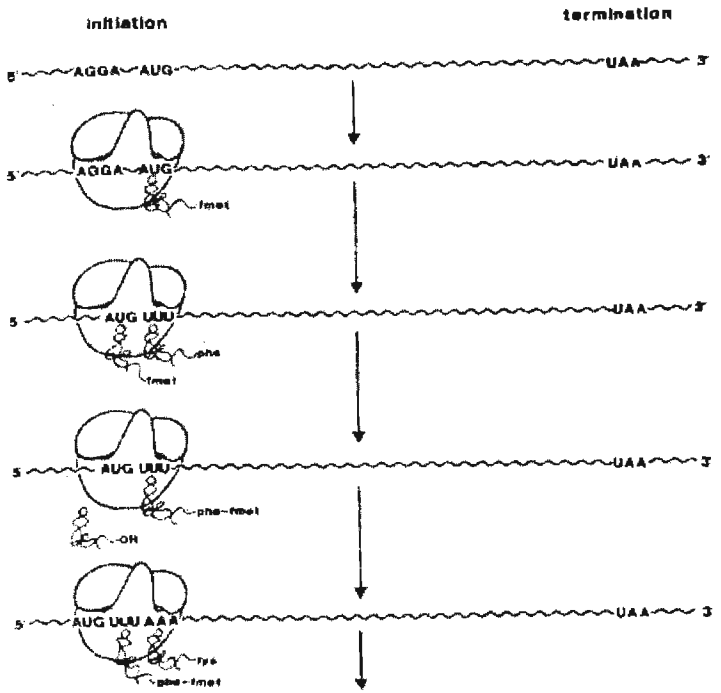
տՌՆԹ-ին կապվել մՌՆԹ-ի վրա գտնվող իր կոդոնի հետ: Առանձին ամինացիլ-տՌՆԹ մոլեկուլները կապվում են ստույգ կոդոնների հաջորդականությանը ջրածնային կապերով շնորհիվ տՌՆԹ-ի հակակոդոն անվան տակ հայտնի հաջորդականությանը, որը համապատասխանում է (կոմպլեմենտար է) կոդոնի հաջորդականությանը: Աճող շղթան տեղափոխվում է մոտեցող ամինացիլ-տՌՆԹ-ի վրա երկրորդ պեպտիդային կապի ստեղծման միջոցով և նորից "օգտագործված" տՌՆԹ-ն հեռանում է կոմպլեքսից:

Տերմինացիա (ավարտ)
Նկարագրված պրոցեսների ստույգ իրականացումը շարունակվում է մինչև արջև-ում որպես անմիտ կոդոներ նշված կոդոններից մեկի հանդիպումը (նաիր էջ 37): Այդ կոդոնները չէն կոդավորում առանձին ամինաթթուները, այլ ծառայում են որպես ազդակ շղթան ընդհատման համար և արդյունքում ռիբոսոմը անջատվում է մՌՆԹ-ից իսկ պոլիպեպտիդային շղթան հիդրոլիզվում տՌՆԹ-ից:

Սպիտակուցի սինթեզի ընթացքում ֆորմիլ խումբը ճեղքվում է մեթիոնինից դեֆորմիլազ ֆերմենտի ազդեցության ներքո: Ընդհանրապես մի շարք ամինաթթուներ նույնպես հեռացվում են N-ծայրից պեպտիդազների ազդեցության ներքո: Այս տիպի մշակումը (պրոցեսինգ) կոչվում է հետտրանսլյացիոն ձևափոխում:

Տռանսլյացիոն պրոցեսի ամփոփումը տրված է հաջորդ էջում:

Պոլիսոմներ:
Կենդանի բջիջում մՌՆԹ-ի թելը սովորաբար միաժամանակ իր վրա է կրում առանձին ռիբոսոմներ, յուրաքանչյուրը սպիտակուցի սինթեզի տարբեր փուլերում: Ռիբոսոմների այդպիսի խմբերի կույտերը մՌՆԹ-ի շուրջը կոչվում է պոլիռիբոսոմներ կամ պոլիսոմներ: Պոլիսոմային մեխանիզմը ապահովում է մՌՆԹ-ի մոլեկուլի ընդգրկումը առանձին սպիտակուցի մոլեկուլների սինթեզին մինչ նրա քայքայումը, որը կանխվում է այդ նույն սպիտակուցի մոլեկուլների կողմից:
Ավելի մանրամասն գրականության և ընթերցման ձեռնարկների հետ ծանոթանալու համար նաիր էջ 55:



10. Գիտելիքների գնահատումը: Անցած հարցերը և աշխատանքային օրինակները

Ձեռնարկի առանձին մասերում ուսումնասիրվող խնդիրների ավելի մանրակրկիտ քննարկումը ուսանողներին կոգնի ոչ միայն հանգուցային հարցերի յուրացմանը այլ նաև թույլ կտա գնահատել սպասվող արդյունքների մակարդակը:

Քննական հանձնաժողովներից շատերը հրատարակում են անցկացված քննությունների հարցերի մանրամասն վերլուծումը, որոնց ուշադիր ընթերցումը կարող է բավականին արդյունավետ լինել:

Ձեռնարկի առանձին մասերում քննարկված հարցերի ներկայացնելու հետ միասին նշվում են էջերը, որտեղ կարելի է գտնել նրանց պատասխանները և խնդիրների լուծումները:

Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը

1. (ա) ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կազմն են մտնում չորս հիմնական հիմքեր, երկու պուրինային և երկու պիրիմիդինային:
   Դրանք են՝
   պուրինային 1._____ 2._____

   պիրիմիդինային 1._____ 2._____ (4 նիշ)

   (բ) շաքարը 1. ԴՆԹ-ում
   2. ՌՆԹ-ում (2նիշ)

   (գ) Ի՞նչ է նուկլեոտիդը _____

   _____ (2նիշ)

   (դ) Ո՞րոնք են հնարավոր զուգակցված զույկերը չորս հիմքից (2նիշ)

   _____

   (ե) ԴՆԹ-ի հիմքերից մեկը ներկայացված չի ՌՆԹ-ում: Ո՞րն է այն և ի՞նչ հիմքով է փոխարինված:
   Չներկայացված հիմքը _____

   Նրան տեղակալող հիմքը _____ (2նիշ)

   (զ) Սպիտակուցի սինթեզին մասնակցող ՌՆԹ-ի երեք տեսակը՝

   1._____

   2._____

   3._____ (3նիշ)

   (ա)-ի լուծումը տրված է էջ 4, (բ)-ինը էջ 5, (գ)-ինը էջ 6, (դ)-ինը էջ 10, (ե)-ինը էջ 12 և (զ)-ինը էջ 12 և 39:

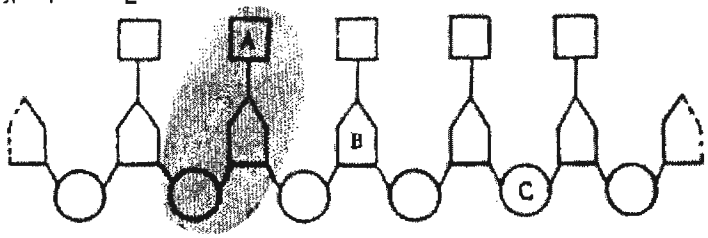
2. Տալ ԴՆԹ-ի կառուցվածքը (5նիշ):
   (Լուծումը տրված է էջ 6-11): (5նիշ)

3. ԴՆԹ-ն բաղկացած է նուկլեոտիդային միավորներից: Պարզ դիա-

գրամայի միջոցով ցուցադրեք կապը երկու մեկը մյուսին հաջորդող նուկլեոտիդների միջև (4նիշ):

(Լուծումը տրված է էջ 6-7)

1. Ստորև բերված դիագրամը ցուցադրում է պոլինուկլեոտիդային շղթայի մի մասը



(ա) Նշեք մեկ նուկլեոտիդը
(բ) Ի՞նչ տիպի միացություններ են նշված A, B և C լատինական տառերով

(ա)-ի լուծումը՝ ստվերածածկ տարածքն է դիագրամի վրա
(բ) -ի լուծումը տրված է 3-6 էջերում

5. (ա) ՌՆԹ-ի ո՞ր ձևն է գերակշռում բջիջի նրա ընդհանուր փուլում

_____

(բ) ԴՆԹ-ի մոլեկուլում ո՞ր հիմքն է զուգավորվում թիմինի հետ

_____

(գ) Ի՞նչպես են ԴՆԹ-ի մոլեկուլում կապնվում հիմքերը

_____

(ա)-ի լուծումը տրված է էջ 13-14, (բ)-ինը՝ էջ 10 և (գ)-ինը՝ էջ 10

Նուկլեինաթթուները և ժառանգական ինֆորմացիայի տեղափոխումը

1. (ա) Կենսաբանները կապեցին ժառանգական նյութը՝
1.բջիջի կորիզի, 2. քրոմոսոմների և 3. ԴՆԹ-ի հետ
Ի՞նչ փաստերի հիման վրա նրանք եկան այդ համոզմունքի (12 նիշ)
(բ) Ինչ հիմնական պահանջներ են ներկայացվում ժառանգական նյութին

Բացատրել թե ի՞նչպես է ԴՆԹ-ի կառուցվածքը բավարարում այդ պահանջներին(8 նիշ)
(ա) 1-ի լուծումը տրված է էջ 15-16, 2-ինը՝ կապված է Մենդելյան գենետիկայի հետ, որը տրված չէ տվյալ գրքույկում, 3-ինը՝ էջ 19:
(բ)-ի լուծումը նաիր էջ 21-24:

2. Բացատրեք ի՞նչ է նշանակում "հիմքային համապատասխանություն" տերմինը _____

_____

լուծումը տրված է էջ 9-10:

3. Նկարագրեք Հերշի-Չեյզի փորձը: Լուծումը տրված է էջ 19-20:

ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան

1. Ինչ հիմնական պահանջներ են ներկայացվում ժառանգական նյութին
Բացատրել թե ի՞նչպես է ԴՆԹ-ի կառուցվածքը բավարարում այդ պպահանջներին(8 նիշ)
լուծումը տրված է էջ 21-24

2. Նկարագրել Մեզելսոն-Ստահլի փորձը և մեկնաբանել ստացված արդյունքների նշանակությունը
լուծումը տրված է էջ 23-24

3. Տվեք ԴՆԹ-ի պարույրի հաջորդականությունը, որը համապատասխանում է ԴՆԹ-ի ստորև բերված հաջորդականությանը՝

5' GAACGTACTG 3'

լուծումը տրված է էջ 9-10:

Տրանսկրիպցիա

1. (ա) Ստորև բերված դիագրամում ցույց է տրված ազոտական հիմքերի հաջորդականությունը ԴՆԹ-ի պարույրի մի մասի վրա և նրանց համապատասխանող մՌՆԹ-ի պարույրի տեղամասը: Օգտվելով տառային բանալիով նշեք դիագրամում կոմպլեմենտար հիմքերը, որոնք կհատնվեն մՌՆԹ-ի պարույրի վրա:
Բանալին՝ A = ադենին, G = գուանին, T = թիմին, C = ցիտոզին, U = ուրացիլ

ԴՆԹ _____

A	A	A	G	C	G	T	A	G

մՌՆԹ _____

(Լուծումը ըստ 29-30 էջերում տրված ինֆորմացիայի՝
U U U C G C A U C)

2. Բացատրել "ասիմետրիկ տրանսկրիպցիա" տերմինը
(Լուծումը տրված է էջ 30-31)

3. Գենը ընդհանուր գենոմի միայն փոքր մասն է: Մեկնաբանել:
(Լուծումը տրված է էջ 27-28)

4. Ո՞րն է ՌՆԹ-պոլիմերազի դերը
(Լուծումը տրված է էջ 28)

Ժառանգական կոդը

1.(ա) Ի՞նչ տարբեր ուղիներով կարող է փոփոխվել ԴՆԹ-ն գենի մուտացիայի դեպքում: Թվարկեք երկու նյութ, որոնք նպաստում են այդպիսի մուտացիային(4 նիշ)

(բ) Բացատրել ինչպես է այդպիսի մուտանտ ԴՆԹ-ի փոփոխված ինֆորմացիան անրադառնում նոր սպիտակուցի սինթեզի վրա (8 նիշ)

(գ) Եթե սինթեզվող սպիտակուցը ֆերմենտ է և մուտացիան բերել է նրա ամինաթթվային հաջորդականության փոփոխությանը, ապա ինչպես և ինչու այն կանրադառնա ֆերմենտի ակտիվության վրա (4 նիշ)

(Լուծումը տրված է էջ 34-35)

2. (ա) Համառոտ բացատրել թե ի՞նչու է համարվում, որ հիմքերի դասավորվածությունը նուկլեինաթթուների կազմում տրվում է "տրիպլետային կոդի" տեսքով _____

_____(3 նիշ)

(բ) 1. Ինչին կարող է բերել հիմքերի հաջորդականության մեկ փոփոխությունը _____(1 նիշ)

2. Բերել այդպիսի փոփոխության առաջացման որևե օրինակ _____(1 նիշ)

(Լուծումը տրված է էջ 33-34)

3. Լիզոցիմը 129 ամինաթթվից բաղկացած սպիտակուց է
1. Քանի ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդ է պահանջվում այս ամինաթթվային հաջորդականությունը կոդավորելու համար 2. ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրի լրիվ պտույտը պարունակում է 10 զույկ հիմք և ունի 3.4 նմ երկարություն: ԴՆԹ-ի մոլեկուլում ի՞նչ երկարություն ունի լիզոցիմը կոդավորող գենը: 3. Քանի՞ պտույտով է ներկայացված ԴՆԹ-ի կրկանկի պարույրի այդ մասը (3 նիշ)
(1 կետի լուծումը տրված է էջ 33, պատասխանն է՝ 387; կետ 2-ի պատասխանն է՝ 131.58նմ, հետևում է կետ 1-ից; 3-րդ կետի պատասխանն է 38.7, որը հետևում է կետ 1-ի լուծումից և 2 կետի տվյալներից)

4. Հետևյալ աղյուսակում ներկայացված են ՌՆԹ-ի որոշ կոդոններ (հիմքերի տրիպլետներ) և նրանց համապատասխան կոդավորվող ամինաթթուները: U, C, A և G-ն ՌՆԹ-ում ներկայացված հիմքերի անվան առաջին տառերն են:

UUA	Ֆենիլալանին	UUA	Լեյցին	UCA	Սերին
UAU	Թիրոզին	UGU	Ցիստեին	CCU	Պրոլին
CAU	Հիստիդին	CAA	Գլուտամին	CGU	Արգինին
AUU	Իզոլեյցին	AUG	Մեթիոնին	ACU	Տրեոնին
AAU	Ասպարազին	AAA	Լիզին	GAU	Ասպարագինաթթու
GUU	Վալին	GCU	Ալանին		
GAA	Գլուտամինաթթու	GGU	Գլիցին		

AUG-ն կոդավորում է պեպտիդային մոլեկուլի սկիզբը
T-ն ԴՆԹ-ում հանդիպող թիմին հիմքի սկզբնատառն է

(ա) Ինչ ամինաթթվային հաջորդականություն է կոդավորում ԴՆԹ-ի հետևալ մասը՝ - GCA GGA CCA –

_____(3 նիշ)

(բ) Մարդու պեպտիդը սկսվում է հետևյալ ամինաթթուներով՝
լիզին - գլուտամին – տրեոնին - ալանին –
Տալ քրոմոսոմում այս սպիտակուցային ֆրագմենտի հնարավոր ԴՆԹ-ի կոդը

_____(5 նիշ)

(ա)-ի պատասխանն է՝ արգինին-պրոլին-լիզին: ԴՆԹ-ի տրանսկրիբցիան կտա մՌՆԹ-ի CGU CCU GGU հաջորդականություն, որը

թարգմանվում է ըստ էջ 37 աղյուսակում բերված կոդի:
(բ)հակառակ պրոցեսն է: Հնարավոր մՌՆԹ-ն պետք է լինի AAACAAACUGCU, որին ԴՆԹ-ի կոմպլեմենտար պարույրում համապատասխանում է TTTGTTTGACGA հաջորդականությունը:

Տրանսլյացիա (թարգմանում)

1. Տալ բջիջում սպիտակուցի սինթեզի համառոտ պատկերը (10 նիշ)
(Այս հարցի լուծումը ընդգրկում է ամենը ինչ վերաբերվում է տրանսկրիպ ցիային և տրանսլյացիային, նաիր էջ 26-32 և 38-44)

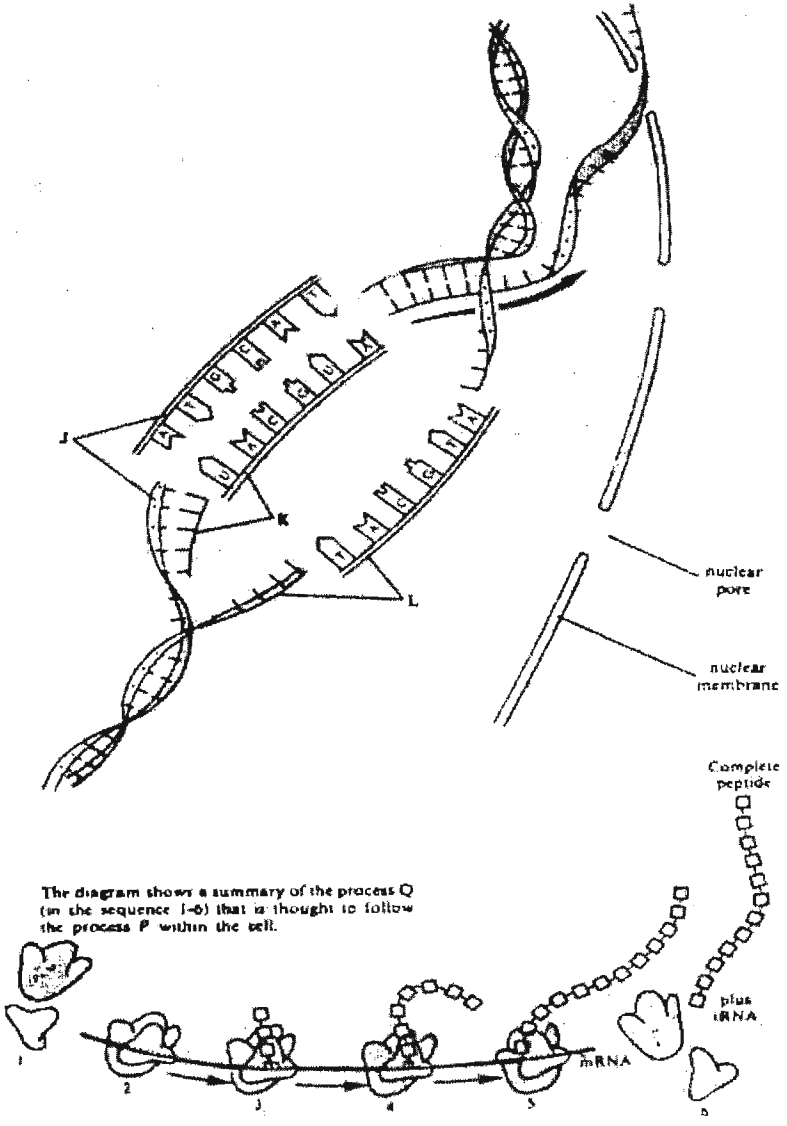
2. Նկարագրել թե ինչպես որևէ ֆերմենտ՝ օրինակ պրոտեազը կարող է սինթեզվել բջիջում (12 նիշ)
(Լուծումը տրված է էջ 33-44 և հավանաբար պահանջում է ծանոթացում սպիտակուցների հետտրանսլյացիոն ձևափոխման պրոցեսների հետ, նաիր էջ 32)

3. Համառոտ բացատրել թե ի՞նչպես են նուկլեինաթթուները մասնակցում սպիտակուցի սինթեզում (7 նիշ)
Լուծումը նաիր կետ 1-ում

4. (ա) Ո՞րոնք են J, K և L պարույրներին (թելերին) տրված անունները
J _____
K _____
L _____(3նիշ)

(բ) Ի՞նչ են նշանակում GCTAU տառերը
_____
_____(2 նիշ)

(գ)Ի՞նչ են նշանակում P և Q պրոցեսներին տրված անվանումները
P _____
Q _____(2նիշ)



(դ) Ելնելով P-ում տրված ինֆորմացիայից կարելի է արդյ՞ոք սպասել տՌՆԹ-ի մոլեկուլում երկու հակակոդոնի առաջացմանը
_____
_____(2նիշ)

(ե) Նկարագրել Q-ում պատկերած պրոցեսը
[(ա)-ի լուծումը՝ J-ն ԴՆԹ-ի զգայուն պարույրն է (նաիր էջ 30-31), K-ն մՌՆԹ-ի տրանսկրիպտն է (նաիր էջ 28), իսկ L-ը ԴՆԹ-ի պարույրն է, որը կոմպլեմենտար է զգայուն պարույրին, փաստորեն TATA պարույրին (նաիր էջ 31-32): (գ)-ի համար P-ն ներկայացնում է տրանսկրիպցիան, իսկ Q-ն՝ տրանսլյացիան կամ թարգմանումը, որոնք քննարկված են համապատասխանորեն էջ 26-27 և 38-39: (դ)-ում երկու սպասվող կոդոններն են՝ AUG և CAU, ինչպես կարելի է եզրակացնել էջ 43-ում տրված ինֆորմացիայից: (ե)-ի լուծումը նաիր էջ 38-44:

Նշում՝ Լուծումները կարող են ունենալ մեկից ավելին տարբերակ

11. Լաբորատոր պարապմունքներ

Micrococcus Lyzodeikticus-ից ԴՆԹ-ի էկստրակցիան և բնութագրումը
Քանի որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը բավականին փխրուն է նրա անջատման եղանակները պետք է փափուկ լինեն, որպիսզի տեղի չունենա շղթաների ճեղքում: Պետք է խուսափել ծայրահեղ պայմաններից (pH-ի կամ ջերմաստիճանի) և օգտագործել մանրեներից ԴՆԹ-ի անջատման ստորև նկարագրված եղանակը: Ունկնդիրները պետք է ուշադիր գրանցեն բոլոր փոփոխությունները, որոնք կհանդիպեն մեթոդի ամեն փուլում և փորձեն գնահատեն այն:

Մեթոդ (1օր, երկու ժամ)
20մլ 0.15Մ EDTA-ում (pH 8.0) սուսպենզել 0.5գ Micrococcus Lysodeikticus-ի սառեցմամբ չորացրած բջիջներ: Ավելացնել 20մգ լիզոցիմ և ինկուբացնել 37^0 C-ի պայմաններում 15 րոպե: Ավելացնել 1.6մլ 25%-ոց (w/v) նատրիում դոդեցիլ սուլֆատի (SDS) լուծույթ, խառնել և ինկուբացնել 10 րոպե 65^0 C-ի պայմաններում: Սառեցնել, ավելացնել 5.5մլ 5Մ նատրիում պերքլորատ և ապա 25մլ քլորոֆորմ- իզոամիլ սպիրտ (25:1 v/v): Խառնել 15 րոպե և 10 րոպե ցենտրիֆուգել բարձր արագության տակ: Զգուշորեն քաշել պաստերյան պիպետով վերին ջրային շերտը և տեղափոխել նեղ լաբորատոր բաժակ կամ մենզուր: Զգուշորեն ավելացնել(շերտավորել) հավասար ծավալ սառեցված աբսոլյուտ սպիրտ: Մաքուր ապակյա ձողիկով հավաքել ԴՆԹ-ի նստվածքը բաժանման մակերեսից և տեղափոխել սպիրտի մաքուր պորցիայի մեջ: Լվանալ ԴՆԹ-ն ձողիկի վրա փաթաթման և վերափաթաթման միջոցով: Տեղափոխել 3մլ 0.15 Մ NaCl և 0.015 Մ Na-ցիտրատ, pH 7.0, պարունակող փորձանոթի մեջ: Թողել լուծվի մինչև հաջորդ գործնական պարապմունքը:

ԴՆԹ-ի հատկությունները

Հիպերքրոմատիկությունը ԴՆԹ-ի այս հատկությունը կայանում է նրանում, որ երբ երկպարույր ԴՆԹ-ն դենատուրացվում է (այսինքն պարույրները անջատվում են) կլանումը 260նմ-ի տակ էապես բարձրանում է (40%-ից ավելին):

Հիմքային կազմը՝ ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի հիմքային կազմը տարբերվում է, ինչը կարելի է ցուցադրել յուրաքանչյուրի նմուշի հիդրոլիզատների քրոմատոգրաֆիայի միջոցով: Անջատված հիմքերի էլյուցիայի և սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով յուրաքանչյուրի քանակը պարզելուց հետո կարելի է հաշվարկել և համեմատել հիմքերի հարաբերությունը:

Մեթոդ (Օր երկու, 2.5 ժամ)
Նոսրացնել 10 անգամ ԴՆԹ-ի նմուշը: Եթե սպեկտրոֆոտոմետրը ունակ է գրանցել UV կլանման սպեկտրը օգտագործելով SSC-ն որպես ստուգիչ (կարող է պահանջվել հետագա նոսրացումը): Տաքացնել նոսրացրած ԴՆԹ-ի նմուշը մինչև C100^0 15 րոպե և արագ սառեցնել: Նորից գրանցել սպեկտրը:

Տեղադրել ~ 20մգ ԴՆԹ և ՌՆԹ և ձեր ԴՆԹ-ի լուծույթը (1 օպտիկական խտության միավորը 260նմ-ի տակ համապատասխանում է 50մկգ/մլ նյութի) առանձին մաքուր փորձնական փորձանոթներում և ավելացնել 0.5մլ 70% $HClO_4$: Տաքացնել ջրային բաղնիքի վրա ներծծող պահարանում 1 ժամվա ընթացքում: Սառեցնել, ավելացնել հավասար ծավալ ջուր և կաթեցնել 10մկլ նմուշ քրոմատոգրամի վրա 10մկլ թիմին, ադենին, գուանին, ցիտոզին և ուրացիլ պարունակող նմուշներ: Անցկացնել քրոմատոգրաֆիան, օգտագործելով որպես լուծիչ 65% իզոպրոպանոլ:16% կոնցենտրիկ HCl:19% ջուր:

Մեթոդ (3-րդ օր, 1.5 ժամ)
Դիտել քրոմատոգրամը UV-ի տակ և մատիտով գծել հետքերը (երեսը ծածկել դիմակով): Չափել Rf մեծությունները և կտրել առանձին հիմքերի հետքերը մկրատով: Որպես ստուգիչ օգտագործել քրոմատոգրամի հավասար կտորը: Տեղափոխել մաքուր փորձնական փորձանոթների մեջ և հիմքերը էքստրակտել 10մլ 0.1N HCl-ով: Տաքացնել

մինչև C 45^0 10-15 րոպե և սառեցնել: Գրանցել յուրաքանչյուր էլյուատի UV կլանման սպեկտրը և հաշվարկել կոնցենտրացիաները, օգտագործելով մոլյարային էքստինքցիայի գործակիցները:

Լաբորատոր աշխատանքները կատարելու համար անհրաժեշտ է սկզբից մաքրել կոմերցիոն ՌՆԹ-ն և մշակել հետևյալ հաջորդականությամբ:

1. 10գ խմորասնկային ՌՆԹ (BDH-yeast) լուծել թորած ջրի որոշակի ծավալում հասցնելով pH-ը NaOH-ով 6.8-7.0
2. Հասցնել ծավալը 200մլ-ի թորած ջրով
3. Անլուծելի մնացորդը հեռացնել ցենտրիֆուգացմամբ (5K for 15min)
4. Ենթարկել դիալիզի 2լ սառցային ջրի դեմ երեք անգամ փոփոխելով այն 48ժամվա ընթացքում
5. Նստացնել 2 ծավալ 95%-ոց էթիլ սպիրտով և ավելացնել այնքան չոր Na-ացետատ, որպիսզի ստացվի 2%-ոց լուծույթ
6. Նստացնել ՌՆԹ-ն ցենտրիֆուգացմամբ և լուծել 200մլ թորած ջրում
7. Ենթարկել դիալիզի թորած ջրի դեմ 24 ժամվա ընթացքում
8. Նստացնել 95%-ոց էթանոլում (2 ծավալ), ավելացնել Na-ացետատ, որպիսզի ստացվի 2%-ոց լուծույթ
9. Ցենտրիֆուգել և նստվածքը երկու անգամ լվանալ 1:1-ի էթանոլ-եթեր խառնուրդով
10. ՌՆԹ-ի նստվածքը լվանալ եթերով և չորացնել ակտիվ թափահարմամբ

Պահել սառնարանում, օգտագործել 8 շաբաթվա ընթացքում

Հետագա ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի ֆիզիկական և քիմիական հատկությունների հետ կապված փորձերը կարող են անցկացվել նման ձևով անջատված կամ կոմերցիոն ԴՆԹ-ի օգտագործմամբ: Կոնկրետ պայմաններում փորձի ընթացքը պետք է պլանավորի դասախոսը ելնելով եղած սարքավորումների առկայությունից, պահանջվող ծախսերից, անվտանգությունից և հատկացված ժամանակից: Ստորև բերված են որոշ գործնական պարապմունքների անվանումները համապատասխան գրականության աղբյուրներով: Պրակտիկորեն ինչ վերաբերվում է նուկլեինաթթուների ֆունկցիոնալ ասպեկտների ուսումնասիրմանը այն կապված է յուրահատուկ սարքերի կամ հնարավոր վտանգավոր ռադիոքիմիկատների օգտագործման հետ կամ թանկ է: Այդ դեպքերում կարելի է դիմել համակարգչի և վիդեոկասետների օգնությանը և համապատասխան գրականությանը, որը բերվում է ստորև (էջ 55):

Գրականություն

1. Քամալյան Գ.Վ., Գասպարյան Մ.Գ., Մնացականյան Ա.Ա., Բարսեղյան Գ.Վ. Բիոքիմիա. Երևան. 1964.
2. Խաչատրյան Գ.Ս., Աղաջանով Մ.Ի. Կենսաքիմիա. Երևան. 2001.
3. Ленинджер А. Основы биохимии. Том 3. Москва. "Мир". 1985.
4. Алберте Б., Брей Д., Рэфф М., Роберте К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. Том 2. Москва. "Мир". 1987.
5. West E.S., Todd W.R. Textbook of Biochemistry. New-York. 1961.
6. Campbell P.N., Smith A.D. Biochemistry illustrated. Churchill Livingstone, London.(ISBN 0-443-02176-7). 1982.
7. Boyer R.F. Modem Experimental Biochemistry. Addison-Wesley Publishing Co.Inc., Wokingham. (ISBN 0-201-1013-9). 1986.
8. Weinberg R.A. The molecules of life. Scientific American 253,34-43, 1985
9. Felsenfeld G. DNA. Scientific American 253,54-72, 1985
10. The molecular basis of evolution. Scientific American 253,148-157, 1985

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

1. Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը և ֆունկցիաները..... 3
2. Նուկլեինաթթուների կառուցվածքը 3
3. ԴՆԹ ֆիզիկական և քիմիական հատկությունները: 8
4. ՌՆԹ. Ֆիզիկական և քիմիական հատկությունները..... 12
5. Նուկլեինաթթուները և ժառանգական ինֆորմացիայի փոխադրումը 14
6. ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան 21
7. Տրանսկրիպցիա: 26
8. ժառանգական կոդը 33
9. Տրանսլյացիյա (թարգմանում)..... 38
10. Գիտելիքների գնահատումը: Անցած հարցերը և աշխատանքային օրինակները 44
11. Լաբորատոր պարապմունքներ 52

Գրականություն 55

ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆԵՐԸ

Կազմողներ՝ կ.գ. դ., պրոֆեսոր Ռ.Գ. Քամալյան
կ.գ.թ. Գ.Յու. Մարմարյան

Ուսումնական ձեռնարկ

ԵՐԵՎԱՆ - 2005

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Составители: д.б.н., профессор Ромик Гургенович Камалян
к.б.н., доцент Гаяне Юрьевна Мармарян

Учебное пособие

ЕРЕВАН - 2005

Ստորագրված է տպագրության 10.10. 05թ..
Թղթի չափը 60x84 1/16, 3,5 տպ. մամուլ,
Պատվեր 13: Տպաքանակ 300:

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարանի տպարան
Երևան 74