

ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

ია ფიფია

გადალუნვები სატელიტურ დნმ-ში

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია

სპეციალობა 03.00.04 ბიოქიმია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი - ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი
თენგიზ ბერიძე

თბილისი

2006

სარჩევი

I. შესავალი.

II. ლიტერატურული მიმოხილვა.

1. დნმ-ის სხვადასხვა სიხშირით განმეორებადი თანმიმდევრობები და მათი კვლევის მეთოდები.
2. დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობების სტრუქტურა და ლოკალიზაცია უჯრედში.
3. დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობების ევოლუცია.
4. სატელიტური დნმ-ის ფუნქცია.
5. გადაღუნვები დნმ-ის მოლეკულაში.
6. გადაღუნვები სატელიტური დნმ-ის მოლეკულაში.

III. ექსპერიმენტული ნაწილი.

1. კვლევის მიზანი და ამოცანები.
2. კვლევის მეთოდები.
 - 2.1. დნმ-ის გამოყოფა.
 - 2.2. რესტრიქციული ანალიზი.
 - 2.3. სატელიტური დნმ-ის ელექტროფორეზი აგაროზისა და პოლი-აკრილამიდის გელში.
 - 2.4. სატელიტური დნმ-ის ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზი.
 - 2.5. სატელიტური დნმ-ის სივრცითი სტრუქტურების მიღება.
3. კვლევის ობიექტები.

IV. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განხილვა.

1. თაგვისა (*Mus musculus*) და ციტრუსოვან მცენარეთა (*P.trifoliata*, *C.limon*) სტ-დნმ-ის ოლიგომერების ელექტროფორეზი აგაროზის გელში.
2. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერისა და დიმერის ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გელში.
3. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობის დამოკიდებულება იონურ

ძალაზე.

4. ციტრუსოვან მცენარეთა სტ-დნმ-ის მონომერები.

5. ციტრუსოვან მცენარეთა სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობის დამოკიდებულება იონურ ძალაზე.

6. სატელიტური დნმ-ის გადაღწევის აღმოჩენა ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდით.

7. სატელიტური დნმ-ის ოლიგომერების სივრცითი სტრუქტურა.

V. დასკვნები.

VI. ლიტერატურა.

შემოკლებების ნუსხა

სტ-დნმ _ სატელიტური დნმ

დნმ _ დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა

რნმ _ რიბონუკლეინის მჟავა

რ-დნმ _ რიბოსომული დნმ

ტ-რნმ _ ტრანსპორტული რნმ

ფწ _ ფუძეთა წყვილი

kb – ათასი ფწ

პჯრ _ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR)

Tლდ _ დნმ-ის ლღობის ტემპერატურა

CENP _ ცენტრომერული ცილა

PAAG _ პოლიაკრილამიდის გელი

AGM _ აფრიკული მწვანე მაიმუნი

DAPI _ 4,6-დიამიდინო-2-ფენილინდოლი

Tris _ ტრის(ჰიდროქსიმეთილ)ამინომეთანი

1 x SSC _ 0.15 M NaCl, 0.015 M Na-ის ციტრატი

SDS _ ნატრიუმის დოდეცილსულფატი

EDTA _ ეთილენდიამინტეტრაამარმჟავა

I. შესავალი

სატელიტური დნმ (სტ-დნმ) არის ბირთვული გენომის მრავალჯერად განმეორებადი, ტანდემურად განლაგებული თანმიმდევრობა. CsCl-ის ნეიტრალური სიმკვრივის გრადიენტში ულტრაცენტრიფუგირებისას დნმ-ის აღნიშნული ფრაქცია ხშირად დამოუკიდებელ პიკს იძლევა. *In situ* ციტოლოგიური ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ნაჩვენებია, რომ სატელიტური თანმიმდევრობები უმეტესად განლაგებულნი არიან ქრომოსომების ცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის უბნებში.

სტ-დნმ-ები განსხვავდებიან განმეორებადი თანმიმდევრობების სიგრძითა და შემადგენლობით. არსებობენ GC და AT მდიდარი სატელიტები. ცალკეული სტ-დნმ შესაძლოა შეიცავდეს ორიდან (კიბოსნაირები) რამდენიმე ასეულ (*D. melanogaster*) ნუკლეოტიდურ ფუძეთა წყვილამდე (ფწ). სატელიტური თანმიმდევრობები არ ექსპრესირდებიან რნმ-ისა და ცილის წარმოქმნით. დადგენილია, რომ სტ-დნმ-ის ტანდემურად განლაგებული განმეორებადი ერთეულები (მონომერები) შეიცავენ გადაღუნვებს, რომელთა საფუძველს მოლეკულაში არსებული 4 - 6 ფწ სიგრძის ადენინის (A) უბნები წარმოადგენენ. *Citrus ichangensis*-ის, თაგვისა და აფრიკული მწვანე მაიმუნის სტ-დნმ-ის ელექტრონულმიკროსკოპული და ელექტროფორეზული მეთოდებით შესწავლისას ნაჩვენებია იქნა, რომ მონომერში გადაღუნვის არსებობა მთლიან მოლეკულაში სოლენოიდის მსგავსი მესამეული სტრუქტურის წარმოქმნას უწყობს ხელს. აღნიშნული სტრუქტურა დაგრეხილი ორმაგი სპირალის ანუ CDH-ფორმის (Coiled Double Helix) სახელითაა ცნობილი. სავარაუდოდ, სწორედ CDH _ მესამეული სტრუქტურა უდევს საფუძვლად სტ-დნმ-ის ძირითად ფუნქციას _ კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის კომპაქტური სტრუქტურის წარმოქმნას. ნაჩვენებია, რომ ცხოველურ უჯრედებში

კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის AT-სპეციფიკური ნივთიერებებით დამუშავება სტრუქტურის დეკონდენსაციას იწვევს, რადგან ეს აგენტები გადალუნვების გასწორებას უზრუნველყოფენ.

გადალუნვის მქონე დნმ-ის მოლეკულების იდენტიფიკაცია ძირითადად ხდება მათი ანომალური ძვრადობის დადგენით პოლიაკრილამიდის გელში (PAAG) და, ასევე ელექტრონული მიკროსკოპიის მეშვეობით. PAAG-ში სტ-დნმ-ის სპეციფიკური მოძრაობის პირველი ექსპერიმენტული დასაბუთება მიღებულ იქნა *Leishmania tarentolae*-ს 490 ფწ სიგრძის დნმ-ფრაგმენტისათვის. აღნიშნული დნმ-ფრაგმენტი PAAG-ში დაბალ ტემპერატურაზე ანომალურად შენელებულად მოძრაობს. იგივე პირობებში აგაროზის გელში კი მოლეკულის მოძრაობა თავისი რეალური სიგრძის შესაბამისია. PAAG-ის ტემპერატურის ზრდისას 60°C-მდე მოლეკულა მოძრაობს სიგრძის შესაბამისად. მსგავსი ანომალია იქნა ნანახი *Citrus ichangensis*-ის GC-მდიდარი სატელიტური ოლიგომერებისათვის 3.5% PAAG-ში და *C. limon*-ისა და *C. sinensis*-ს ოლიგომერებისათვის 5% PAAG-ში. ანომალური ძვრადობა აღწერილია ზოგიერთი ცხოველური სტ-დნმ-ისათვისაც. Bechert-ისა და სხვათა მიერ ნაჩვენებია, რომ საფუვრებში (*Saccharomyces cerevisiae*) შენელებული ელექტროფორეზული მოძრაობა ახასიათებს თექვსმეტივე ქრომოსომის AT-მდიდარ ცენტრომერულ დნმ-ს. ამრიგად, გადალუნვების შესწავლა სტ-დნმ-ში ძლიერ მნიშვნელოვანია ჰეტეროქრომატინის კომპაქტიზაციის მიზეზების გარკვევის თვალსაზრისით.

შესრულებული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თავისა (*Mus musculus*) და ციტრუსოვანი მცენარეების (*Poncirus trifoliata*, *Citrus limon* (ჯიში ახალქართული)) სტ-დნმ-ში არსებული გადალუნვების შესწავლა.

ჩატარებული გამოკვლევის შედეგად სამი განსხვავებული სტ-დნმ-ის (*M. musculus*, *C. limon*, *P. trifoliata*) ელექტროფორეზული შესწავლით სხვადასხვა ტემპერატურაზე და იონური ძალის პირობებში პირველად იქნა ნაჩვენები, რომ განსაზღვრულ პირობებში ხსნარში დნმ-ის მოლეკულები შეიძლება ერთდროულად არსებობდნენ ორი - გადალუნული და წრფივი ფორმით.

II. ლიტერატურული მიმოხილვა

1. დნმ-ის სხვადასხვა სიხშირით განმეორებადი თანმიმდევრობები და მათი კვლევის მეთოდები

ეუკარიოტულ ორგანიზმთა გენომში დნმ-ის მოლეკულა წარმოდგენილია სხვადასხვა სიხშირით განმეორებადი ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების სახით. განარჩევენ გენომის უნიკალურ, ზომიერად განმეორებად და მაღალი სიხშირით განმეორებად უბნებს. უნიკალური ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა ერთი ასლის სახით არის წარმოდგენილი და ძუძუმწოვრების, მათ შორის ადამიანის გენომის ძირითად ნაწილს წარმოადგენს. ზომიერად განმეორებადი თანმიმდევრობები შეიცავენ ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების ასეულობით ასლს. მათ მიეკუთვნებიან რიბოსომული 28s, 18s და 5s გენები. მაღალი სიხშირით განმეორებადი დნმ-მოლეკულები გენომის არამაკოდირებელ უბნებში არიან ლოკალიზებული. გამომდინარე აქედან, მათ უმთავრესად სტრუქტურულ ფუნქციებს მიაწერენ. განარჩევენ დნმ-ის მინისატელიტურ, მიკროსატელიტურ და სატელიტურ მრავალჯერად განმეორებად უბნებს [54].

მიკროსატელიტური თანმიმდევრობების განმეორებადი ერთეულების სიგრძე 1-დან 4-მდე ფუძეთა წყვილის (ფწ) ტოლია. განმეორებათა რიცხვი 10-100-ის ფარგლებში მერყეობს [101]. ადამიანის ბირთვული გენომის დაახლოებით 0,3%-ს ადენინისა (A) და თიმინის (T) მონონუკლოტიდების, 0,5%-ს ციტოზინისა (C) და ადენინის მქონე დინუკლოტიდების, 0,2%-ს კი CT/AG განმეორებადი ერთეულის მქონე მიკროსატელიტები შეადგენენ. გუანინისა (G) და ციტოზინის, ასევე CG/CG ფუძეთა წყვილებით შედგენილი მიკროსატელიტები თითქმის არ გვხვდება. მიკროსატელიტები უმეტესად ლოკალიზებულნი არიან გენომის ინტრონულ უბნებში. ერთეულ შემთხვევებში აღნიშნული დნმ-თანმიმდევრობები ნაპოვნია გენების მაკოდირებელ დნმ-თანმიმდევრობებში [95].

მინისატელიტური დნმ-ის განმეორებადი ერთეულის სიგრძე 9-დან 100-მდე ფწ-ის ტოლია და განმეორების 1000-ზე მეტი ასლითაა წარმოდგენილი. ადამიანის გენომში მინისატელიტური თანმიმდევრობების 90% ქრომოსომათა ტელომერულ უბნებში არიან

ლოკალიზებული. განსაზღვრულ იქნა, რომ ამ კონკრეტულ შემთხვევაში განმეორებადი ერთეული 10-15 kb-ის სიდიდის, TTAGGG შემადგენლობის ჰექსანუკლეოტიდია [იქვე].

ადამიანის გენომის გარდა მიკრო- და მინისატელიტური თანმიმდევრობები ნაპოვნია მრავალ ცხოველურ და მცენარეულ ორგანიზმებში.

Gondo-სა და თანავტორების მიერ ადამიანის გენომში აღმოჩენილ იქნა ასევე მეგა-, იგივე მაკროსატელიტური თანმიმდევრობები. პრეფიქსი მეგა- აღნიშნავს, რომ განმეორებადი ერთეული დიდი ზომისაა და შესაძლოა რამდენიმე ათასი ფწ-ის სიგრძის იყოს. მეგასატელიტებს მიეკუთვნება ადამიანის გენომის RS 447 თანმიმდევრობა, რომელიც 4,7 kb-ის ზომის ტანდემური განმეორების სამოცამდე ასლს შეიცავს [33]. მიკრო- და მინისატელიტები დღეისათვის წარმატებულად გამოიყენებიან დაქტილოსკოპიურ გამოკვლევებში, ადამიანისა და მცენარეების გენური რუკების კარტირებაში [32, 47, 54].

მაღალი სიხშირით განმეორებად თანმიმდევრობებს შორის მნიშვნელოვან ყურადღებას იქცევს დნმ-ის სატელიტური (სტ-დნმ) ფრაქცია. ოთხმოციან წლებში სტ-დნმ-ად განიხილავდნენ დნმ-ის ფრაგმენტებს, რომლებიც შემდეგი ნიშან-თვისებებით ხასიათდებოდნენ:

1. სწრაფი და შედარებით ზუსტი რეასოციაცია;
2. გენომში მრავლობითი ასლების სახით არსებობა;
3. მარტივი ნუკლეოტიდური წყობა;
4. ჰომოლოგიური შედგენილობა;
5. დნმ-ის ჯაჭვებს შორის პურინისა და პირიმიდინის აზოტოვანი ფუძეების ასიმეტრია;
6. ლოკალიზაცია ცენტრომერულ ჰეტეროქრომატინში;
7. ქრომოსომების პოლიტენიზაციის დროს რეპლიკაციის შეზღუდვა;
8. ტანდემურად განმეორებადი კლასტერების არსებობა [110].

დღეისათვის სატელიტურ დნმ-ს უწოდებენ დნმ-ის მოლეკულის თანმიმდევრობას, რომელიც შეიცავს ტანდემურად განლაგებულ განმეორებად ერთეულებს (მონომერები), არ აკოდირებს ცილებს და უმეტესად ლოკალიზებულია ქრომოსომების ცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის უბნებში.

დნმ-ის სატელიტური ფრაქციის შესწავლას მრავალი ექსპერიმენტული კვლევა მიემდგვნა. მიუხედავად იმისა, რომ დღეისათვის სხვადასხვა წარმოშობის სტ-თანმიმდევრობის პირველადი სტრუქტურაა გაშიფრული, დადგენილია მათი ლოკალიზაციის ადგილი უჯრედში და უშუალოდ ქრომოსომებში, მათი ზუსტი ფუნქცია ჯერ ისევ გაურკვეველია.

მრავალჯერად განმეორებადი, ტანდამურად განლაგებული სატელიტური დნმ გარკვეული ფიზიკური თავისებურებებით ხასიათდება. უმეტეს შემთხვევებში, განმეორებადი თანმიმდევრობა ნუკლეოტიდური შედგენილობის მიხედვით მკვეთრად განსხვავდება დნმ-ის მოლეკულის ძირითადი ნაწილისაგან. შესაბამისად, დნმ-ის აღნიშნული ფრაქციების სიმკვრივეებიც CsCl-ის გრადიენტში სხვადასხვაა. სწორედ ეს ფაქტი დაედო საფუძვლად სტ-დნმ-ის აღმოჩენას გრადიენტული ულტრაცენტრიფუგირების მეთოდით. მეთოდის ძირითადი არსი დნმ-ის ცალკეული მონაკვეთების სიმკვრივეთა მიხედვით ფრაქციონირებაში მდგომარეობს. სიმკვრივე თავის მხრივ ტოლია გრადიენტის იმ პოზიციისა, რომელშიც მაკრომოლეკულეზე მოქმედი ძალების რიცხვი ნულის ტოლია. ჩვეულებრივ, დნმ-ის ძირითადი და სატელიტური ფრაქციების სიმკვრივეები 0,005 გ/სმ³-ით და მეტად განსხვავდება ერთმანეთისაგან. Schildkraut-მა და თანაავტორებმა შეისწავლეს რა 51 ორგანიზმის დნმ-ის ნუკლეოტიდური შემადგენლობა, დაადგინეს, რომ სიმკვრივე, თანმიმდევრობაში GC ფუძეების რაოდენობასთან კორელირებს [54, 110, 115] :

$$\rho = 1,660 + 0,00098 (\% G - C) \text{ გ/სმ}^3 (1)$$

CsCl-ის ნეიტრალური სინკრივის გრადიენტში ცენტრიფუგირებისას სტ-დნმ ხშირად ანომალურად იქცევა. ამიტომ დნმ-ის სეკვირებისას იკითხება ისეთი თანმიმდევრობა, რომელიც არ შეესაბამება მის სიმკვრივეს. აღნიშნულის მიზეზი იმაში მდგომარეობს, რომ დნმ-ის სიმკვრივე დამოკიდებულია არა მხოლოდ ნუკლეოტიდურ შემადგენლობაზე, არამედ იმაზეც, თუ რა სახის ფუძეთა წყვილები განლაგდებიან ერთმანეთის მეზობლად. დნმ-ის სიმკვრივის შემცირებას იწვევს თანმიმდევრობაში ციტოზინის აზოტოვანი ფუძის მეთილირება [54].

დნმ-თანმიმდევრობების მეთილირების როლი ბოლომდე გარკვეული არ არის. ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებზე დაყრდნობით შესაძლებელია ითქვას, რომ სავარაუდოდ სატელიტური თანმიმდევრობების მეთილირება მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ტრანსპოზონების ინაქტივაციასა და ტანდემურად განლაგებული თანმიმდევრობების სტაბილურობაში. ამასთან უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგიერთ ორგანიზმში (მაგ., საფუერები, დროზოფილა) ციტოზინის მოდიფიკაცია არ ხდება. აქედან გამომდინარე ზემოდსხსენებული პროცესების წარმართვისათვის, როგორც ჩანს მეთილირება არ არის გადამწყვეტი ფაქტორი. ცხოველებში მეთილირებას ძირითადად სიმეტრიულად მდებარე CpG დინუკლეოტიდის ციტოზინი განიცდის, მცენარეებში კი მეთილირებული შესაძლოა იყოს თანმიმდევრობაში შემავალი თითქმის ყველა ციტოზინის ფუძე [115].

სტ-დნმ-ის აღმოჩენის ალბათობა მნიშვნელოვნად მატულობს მათი ულტრაცენტრიფუგირებისას ვერცხლისა და სხვა ქიმიური ნივთიერებების, მათ შორის სხვადასხვა საღებავების შემცველი Cs₂O₄-ის სიმკვრივის გრადიენტში [54].

გრადიენტული ცენტრიფუგირებით პირველად აღმოჩენილ იქნა ხბოს თიმუსის სტ-დნმ. 1,713 გ/სმ³ სიმკვრივის აღნიშნული ფრაქცია CsCl-ის გრადიენტში ძირითადი დნმ-ისაგან დამოუკიდებელ პიკს იძლეოდა, რის გამოც მას დისკრეტული (density ანუ patent satellite) სატელიტი ეწოდა. შემდგომში დისკრეტული სატელიტები ნანახი იქნა მრავალ ეუკარიოტულ ორგანიზმებში (გვარ *Drosophila*-ს სხვასდასხვა სახეობები, კიბოსნაირები, ზღვის გოჭი და ა.შ.). მათ შორის ერთ-ერთ პირველთაგანს სალამანდრას (*Plethodon cinereus*) სტ-დნმ წარმოადგენს, რომელიც CsCl-ის სიმკვრივის გრადიენტში ორ ფრაქციას იძლევა. ამ უკანასკნელთაგან შედარებით მცირე, მაღალი სიმკვრივის (1,728 გ/სმ³) მქონე სტ-დნმ-ს შეესაბამება და ბირთვული გენომის ~ 2%-ს შეადგენს. საფუერებში სტ-დნმ თოთხმეტივე ქრომოსომის ცენტრომერულ ჰეტეროქრომატინშია განლაგებული. სატელიტ-კომპლემენტარულ რნმ-თან *in situ* ჰიბრიდიზაციისა და ავტორადიოგრაფიული მეთოდით ნაჩვენები იქნა, რომ სატელიტური უბნების რიცხვი ქრომოსომის ზომას შეესაბამება [60].

უმაღლეს მცენარეებში დისკრეტული სტ-დნმ პირველად აღმოჩენილი იქნა ლობიოს (*Phaseolus vulgaris*) ბირთვულ დნმ-ში. აღნიშნული სტ-დნმ-ის ლობოს მრუდები

ორკომპონენტის სხეს ატარებდა, რაც ადასტურებდა მასში მინორული კომპონენტის არსებობას [4]. ფარულთესლოვანი მცენარეების 70 სახეობიდან მხოლოდ ორლებნიანებში იქნა ნანახი დისკრეტული სატელიტები. ერთლებნიანებში მათი დეტექტირება ვერ მოხერხდა. გამონაკლისს წარმოადგენდა ორქიდეა *Cymbidium*-ის AT-მდიდარი სტ-დნმ. ეს იყო პირველი დისკრეტული სატელიტი ერთლებნიანებში, რომლის დეტექტირებაც მოხერხდა [110].

ზოგიერთ შემთხვევაში CsCl-ის გრადიენტში ძირითადი და სტ-დნმ-ის სიმკვრივეები ერთმანეთს ემთხვევა. ამგვარ სატელიტებს ფარული სატელიტები (hidden ანუ cryptic satellites) უწოდეს. ფარული დნმ-ფრაგმენტების გამოსაყოფად გამოიყენებინა მძიმე მეტალების Ag^+ -ისა და Hg^{2+} -ის იონები, სპეციფიკური ანტიბიოტიკები, დნმ-დამაკავშირებელი დაბალმოლეკულური ნივთიერებები და რესტრიქციული ენდონუკლეაზები [110].

გარდა დისკრეტული და ფარული სატელიტებისა, არსებობენ ასევე კინეტიკური (kinetic satellites) და ტყუპი (twin satellites) სატელიტები. კინეტიკური სატელიტების აღმოჩენას საფუძვლად დაედო დენატურირებული სატელიტური თანმიმდევრობების სწრაფი რეასოციაციის უნარი. დადგენილ იქნა, რომ რაც უფრო მეტია განმეორებათა რიცხვი და რაც უფრო მარტივია მათი ნუკლეოტიდური შედგენილობა, მით უფრო სწრაფია რეასოციაციის პროცესი. ტყუპ სატელიტებში აერთიანებენ ერთნაირი სიმკვრივის მქონე ორ ან მეტ დნმ-თანმიმდევრობას [იქვე].

დღეისათვის სატელიტური დნმ-ის იდენტიფიკაციისათვის გრადიენტულ ცენტრიფუგირებასთან ერთად რამდენიმე თანამედროვე მეთოდი გამოიყენება. მათ რიცხვს მიეკუთვნებიან ენდონუკლეაზური რესტრიქციის, “ნარჩენი” დნმ-ის, სპეციფიკური პრაიმერების, გენომური თვითამპლიფიკაციისა და კლონირებული ფრაგმენტების ჰიბრიდიზაციის მეთოდები [115].

ენდონუკლეაზური რესტრიქციის მეთოდი გულისხმობს სუმარული დნმ-პრეპარატის დამუშავებას სპეციფიკური სატელიტ-ამომცნობი რესტრიქციული ფერმენტებით (მაგ., *Hae III*, *Tag I*, *Sau 3a*). დაჭრილი დნმ გადაიტანება ფილტრზე საუზერნის მიხედვით და ჰიბრიდიზირდება ჯამურ დნმ-თან. რესტრიქციის პროდუქტები გელში კიბისებურად განლაგდებიან, რაც მათში სატელიტური თანმიმდევრობების არსებობაზე მიუთითებს.

“ნარჩენი” დნმ-ის მეთოდი მოიცავს დნმ-პრეპარატების რესტრიქციას ისეთი ფერმენტებით, რომლებიც უშუალოდ არ მოქმედებენ სატელიტურ ფრაქციებზე. შედეგად მიიღება ე.წ. “ნარჩენი” დნმ, რომელიც უკვე გელიდან ამოჭრის შემდეგ მუშავდება სატელიტ-ამომცნობი ენდონუკლეაზებით. შემდეგ ტარდება მიღებული ფრაგმენტების კლონირება და სატელიტების შემცველი კლონების დეტექტირება მარკერული “ნარჩენი” დნმ-ით.

ზოგიერთ შემთხვევაში სტ-დნმ-ის დასახასიათებლად მიმართავენ უკვე შესწავლილი სტ-დნმ-ების განმეორებადი ერთეულების შესაბამისი პრაიმერების სინთეზირებას (სპეციფიკური პრაიმერების მეთოდი). ამ უკანასკნელთა მეშვეობით მონათესავე ჯიშების სატელიტური ფრაქციების ამპლიფიკაციაა შესაძლებელი.

სტ-დნმ-ების მნიშვნელოვანი გამდიდრება ხდება გენომური თვითამპლიფიკაციის მეთოდის საშუალებით. ამ შემთხვევაში სუმარული დნმ-ის დაშლას აწარმოებენ ულტრაბგერით ან 4 ფწ სიგრძის მონაკვეთებად ფრაგმენტირების გზით. პირველ ეტაპზე სუმარული დნმ მატრიცის როლს ასრულებს, ფრაგმენტირებული დნმ კი პრაიმერის მეორე ეტაპზე პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის პირველი პროდუქტი გამოიყენება ახალ მატრიცად.

და ბოლოს, კლონირებული ფრაგმენტების ჰიბრიდიზაციის მეთოდი გულისხმობს რესტრიქციული ენდონუკლეაზებით დახლეჩილი ჯამური დნმ-ის კლონირებას *E.coli*-ში. მიღებული კოლონები ჰიბრიდიზირდებიან მონიშნულ ჯამურ დნმ-თან, რაც პირველადი სტრუქტურის გაშიფვრის (სეკვენირების) საშუალებას იძლევა.

2. დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობის სტრუქტურა და ლოკალიზაცია

უჯრედში

სატელიტური თანმიმდევრობები განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან განმეორებადი ერთეულის სიგრძით, შემადგენლობით, განმეორებათა რიცხვითა და სხვადასხვა ტაქსონომიურ ჯგუფებს შორის განაწილების მიხედვით. ცალკეული სატელიტი შესაძლოა შეიცავდეს ორიდან (კიბოსნაირები) ასეულობით (*D. melanogaster*) ნუკლეოტიდურ

ფუბეთაA წყვილს. ამ უკანასკნელთა მიხედვით განარჩევენ AT - და GC - მდიდარ სატელიტურ დნმ-ს. ცხოველური სტ-დნმ, როგორც წესი AT - მდიდარი თანმიმდევრობაა, მცენარეული კი GC - მდიდარი. ცალკეული განმეორებადი ერთეული შესაძლოა მილიონობით ასლის სახით არსებობდეს გენომში. ზოგიერთ ორგანიზმში სტ-დნმ-ის ერთმანეთისაგან დამოუკიდებელი რამდენიმე ოჯახი გვხვდება. დღეისათვის შესწავლილი უმეტესობა ეუკარიოტული სტ-დნმ-ებისა ბირთვული წარმოშობისაა და ძირითადად ქრომოსომებშია ლოკალიზებული [110]. ზემოთ ჩამოთვლილ მახასიათებლებს შორის განსხვავებები შესაძლოა გამოვლინდნენ არა მხოლოდ სახეობათაშორის, არამედ შიდასახეობრივ დონეზეც. მაგ., გვარ *Drosophila*-ს ერთ-ერთი სახეობა *D. virilis* დნმ-ის სამ დისკრეტულ და ერთ ფარულ სატელიტს შეიცავს. ჯამურად ისინი გენომის დაახლოებით 40%-ს შეადგენენ. სამივე დისკრეტული სატელიტი მსგავსია:

დისკრეტული სატელიტები: ფარული სატელიტი: **AATATAG**
TTATATC

I ფრაქცია **ACAAACT**
TGTTTGA

II ფრაქცია **ATAAACT**
TATTTGA

III ფრაქცია **ACAAATT**
TGTTTAA

თანმიმდევრობებიდან ჩანს, რომ ოთხივე AT _ მდიდარი სატელიტია და განმეორებადი ერთეულები 7 ფწ-ითაა წარმოდგენილი. მსგავსი მოკლე განმეორებებია დამახასიათებელი *D. melanogaster*-ის ექვსივე დისკრეტული სტ-დნმ-ისათვის (5, 6, 7, 10, 12 ფწ). სტ-დნმ-ის პირველ ფრაქციაში ერთი ნუკლეოტიდის ცვლილება საკმარისია მეორე და მესამე ჯგუფის სატელიტების ფორმირებისათვის. მეორე ფრაქციაში ორი ნუკლეოტიდის შეცვლა ფარული სატელიტის წარმოქმნას განაპირობებს. სტ-დნმ-ის პირველი ფრაქცია სხვა სახეობებშიც მოიპოვება. როგორც ჩანს, ეს უკანასკნელი ევოლუციურად არქაული თანმიმდევრობაა და მისი ჩამოყალიბება სახეობთა დივერგენციას უსწრებდა წინ [54]. ზოგიერთი მონაცემის მიხედვით სტ-დნმ-ის შიდასახეობრივ განსხვავებებს დიდი მნიშვნელობა არ ენიჭებათ, ვინაიდან ხშირად მათი არსებობა მოლეკულაში ერთი

ნუკლეოტიდის ცვლილებითაა განპირობებული [114].

სულ ცოტა ხნის წინ აღმოჩენილ იქნა ადამიანის მალარიის გადამტანი, აფრიკული კოლოს (*Anophels gambiae*) გენომში შემავალი სტ-დნმ-ის 12 უცნობი ოჯახი. მხოლოდ ექვსი მათგანი წარმოადგენს ევოლუციურად დაკავშირებულ სატელიტურ თანმიმდევრობას. დანარჩენები დამოუკიდებელი ერთეულების სახით არსებობენ [51].

ბრტყელი თევზების (*Achirus lineatu*) გენომური დნმ-ის რესტრიქციული ენდონუკლეაზა *Hind I*-ით დამუშავებისას ნაპოვნი იქნა AT - მდიდარი სტ-დნმ. აღნიშნული თანმიმდევრობა ~ 200 ფწ სიგრძის მონომერებისაგან შედგება და ქრომოსომების ცენტრომერულ უბნებშია ლოკალიზებული [25].

კიბორჩხალას სახეობა *Gecarcinus lateralis*-ას 2,1 kb-ის ზომის განმეორებადი ერთეულის მქონე, GC-მდიდარი სტ-დნმ აქვს. ხმელეთის სახეობებში აღნიშნული სატელიტი გენომის დაახლოებით 3%-ს შეადგენს (16,000 განმეორება ბირთვულ გენომში) [85].

სკვინჩას სტ-დნმ-ის მონომერი 176-199 ფწ სიგრძის TTAGGG ჰექსანუკლეოტიდია. იგი განლაგებულია 1, 2, 3, 5 და 6 მაკროქრომოსომების გრძელი მხრის ქრომომიცინპოზიტიურ უბნებში [55].

ძუძუმწოვრებში მოკლე განმეორებადი ერთეულების გაერთიანებით გრძელი განმეორებები წარმოიქმნება. ამგვარი იერარქიული წყობის სტ-დნმ-ის კლასიკური მაგალითია თაგვის მრავალჯერად განმეორებადი თანმიმდევრობა (იხ.ქვ.)

ადამიანში სატელიტური თანმიმდევრობების ოთხი ძირითადი კლასია (ოჯახი) აღმოჩენილი. თითოეული მათგანი სიმკვრივის მიხედვით განსხვავდება ერთმანეთისაგან: სტ-დნმ I-ში $\rho = 1,687$ გ/სმ³ სტ-დნმ II-ში $\rho = 1,693$ გ/სმ³, სტ-დნმ II-ის სიმკვრივე 1,697 გ/სმ³-ს და სტ-დნმ IV კი 1,700 გ/სმ³ შეადგენს. მათგან, II და III სატელიტის ძირითადი განმეორებადი ერთეული ATTCC შემადგენლობისაა [95]. სტ-დნმ I, ენდონუკლეაზა *Tag I* - ის მიმართ რეზისტენტულია, ხოლო *Hinf I* - ით დამუშავებისას 770 ფწ, 850 ფწ და 950 ფწ სიგრძის ფრაგმენტებს იძლევა. ამასთან, 770 ფწ ფრაგმენტი სხვა მრავალი ფერმენტის ამომცნობ უბნებსაც შეიცავს. სტ-II-ის *Hinf I* -ით რესტრიქციისას დიდი რაოდენობით მცირე ზომის (10-80 ფწ) დნმ-მოლეკულები წარმოიქმნებიან. მათი უმრავლესობა *Tag I* - უბნებსაც შეიცავს. იგივე ფერმენტებით სტ-დნმ III და IV-ის დამუშავებისას 10-დან 250 ფწ-

მდე და მეტი სიგრძის დნმ-ფრაგმენტები გენერირდებიან [29].

ადამიანის გენომში დეტექტირებულია ასევე ე.წ. A, B და C სტ-დნმ. განსაკუთრებულ ყურადღებას იქცევს A სატელიტი, რომელიც ადამიანის ყველა ქრომოსომის ცენტრომერულ უბანში მოიპოვება. მისი განმეორებადი ერთეულები სპეციფიკური ცილის *CENP-B*-ს დამაკავშირებელ უბნებს შეიცავენ, რაც მათ მნიშვნელობაზე მიუთითებს. A სატელიტის კლონირებით ნაჩვენები იქნა, რომ ადამიანის უჯრედში დნმ-ის აღნიშნულ თანმიმდევრობებს ცენტრომერების *de novo* სინთეზირება შეუძლიათ უზრუნველყონ. A სატელიტი ასევე აღმოჩენილია ყველა პრიმატის ქრომოსომაში, მაგრამ სხვა ძუძუმწოვრები მას არ შეიცავენ. [95].

Guenatri-სა და თანაავტორების მიერ შესრულებული კვლევის თანახმად, ადამიანის გენომში მაჟორული სატელიტური თანმიმდევრობა ჰისტონურ ცილა 1 a -ს უკავშირდება. მინორული სტ-დნმ კი ცენტრომერულ ცილებთან ურთიერთქმედებს. მაჟორულ სტ-დნმ-თან დაკავშირებულია დინუკლეოტიდური განმეორებადი ერთეული. მთლიანობაში ეს სტრუქტურა ასინქრონულ რეპლიკაციას განიცდის, რის გამოც ქრომატიდების დაკავშირება იმაზე მეტ ხანს გრძელდება, ვიდრე მინორულ სატელიტში. აღნიშნული პროცესი მიმდინარეობს *Surv 39h* მეთილტრანსფერაზას არარსებობის შემთხვევაში [36].

გენომში განსაკუთრებულად დიდი რაოდენობით მრავალჯერად განმეორებად თანმიმდევრობებს შეიცავენ უმაღლესი მცენარეები. ლობიოს (*Phaseolus*) გენომში აღმოჩენილი სტ-დნმ-ის მაგალითზე დადგინდა მონათესავე სახეობებში დისკრეტულ სტ-დნმ-ის სხვადასხვა რაოდენობით შემცველობის ფაქტი. ამერიკული და სამხრეთ-აღმოსავლური ლობიოს გვარის (*Phaseolus*) 7 სახეობის CsCl-ის გრადიენტში განაწილებათ ნაჩვენები იქნა, რომ ამერიკულ სახეობებში სტ-დნმ სუმაარული დნმ-ის 30%-ს, ორ აზიურ სახეობაში კი 10-15%-ს შეადგენდა. *P. aureus*-ში დნმ-ის სატელიტური ფრაქცია საერთოდ არ იქნა დეტექტირებული. შემდგომი გამოკვლევებით დადასტურდა, რომ *Phaseolus*-ის სახეობში სტ-დნმ შემცველობა 30-40%-ით განსხვავებულია [110].

Arabidopsis-ის სტ-დნმ შეიცავს ხუთივე ქრომოსომის წყვილში ლოკალიზებულ 178 ფწ სიგრძის განმეორებად ერთეულებს. თანმიმდევრობებში 30 და 24 ფწ სიგრძის ორი დამოუკიდებელი ჯგუფი იქნა ნაპოვნი. მათ შორის 3' ბოლოსთან განლაგებული სტ-დნმ ძალიან ჰგავს საფუვრების *CDEI* და ადამიანის *CENP-B*-ს დნმ-ცილა დამაკავშირებელ

უბნებს [86].

გვარ *Cucurbita*-ში აღმოჩენილია ორი დამოუკიდებელი სტ-დნმ. ერთ-ერთი მათგანი 350 ფწ სიგრძისაა და სხვადასხვა სახეობებში განმეორებათა განსხვავებული რაოდენობით ხასიათდება. 170 ფწ სიგრძის მეორე სტ-დნმ სხვადასხვა სახეობებში განმეორებათა ტოლი რიცხვით არის წარმოდგენილი [48].

ჭვავის გენომში აღმოჩენილია სატელიტების ორი ოჯახი, რომელიც ასევე ნანახია *Triticeae*-ს ყველა შესწავლილ სხვა სახეობაში [104].

Ag^+ - Cs_2SO_4 -ის სიმკვრივის გრადიენტში ულტრაცენტრიფუგირების მეთოდით გამოყოფილ იქნა ერთლებნიანი მცენარე *Scilla siberica*-ს (ცისტვალა) ბირთვული წარმოშობის სტ-დნმ. აღნიშნული ფრაქცია გენომის ~ 19%-ს შეადგენს და GC-მდიდარი სატელიტია. *In situ* ციტოლოგიური ჰიბრიდიზაციის კვლევების თანახმად, სტ-დნმ გენომის ჰეტეროქრომატინულ უბანშია განლაგებული. რესტრიქციული ენდონუკლეაზა *Hae III*-ით დამუშავებისას აღნიშნული სატელიტური თანმიმდევრობა ოთხ ძირითად ფრაქციას იძლევა: I - 35 ფწ, II - 50 ფწ, III - 59 ფწ და IV - 69 ფწ. ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ~ 25%-ში ციტოზინი მეთილირებულია. ქრომატოგრაფიის, ასევე სექვენირებისა და სპექტროსკოპიული ანალიზებით დადგინდა, რომ ფრაგმენტები II და III მეთილირების მაღალი ხარისხით გამოირჩევიან. ანალოგიური მეთილირება იქნა ნანახი სახეობებში *S. amoeba* და *S. ingride*, რაც მიუთითებს, რომ მეთილირება ევოლუციურად სტაბილური ფენომენია. თითოეულის პირველადი სტრუქტურის განსაზღვრამ აჩვენა, რომ ფრაქცია I-ის ყოველი განმეორებადი ერთეული პალინდრომული წყობისაა [17]. პალინდრომი ეს არის დნმ-ის ფუძეთა ანტიპარალელური თანმიმდევრობა, სადაც სპირალის ერთი ჯაჭვის ფუძეთა წყობა ემთხვევა კომპლემენტარული ჯაჭვის ფუძეთა თანმიმდევრობას საპირისპირო მიმართულებით [54]. კლონირებულ და სექვენირებულ იქნა ჩვეულებრივი ცერცველას (*Vicia sativa*) 25S-18S რიბოსომული დნმ-ის ინტეგრირებული სპეისერი და სატელიტური განმეორება S12. სპეისერულ უბანში დეტექტირებული A, B და C სუბგანმეორებებიდან პირველი ნუკლეოტიდურ ჰომოლოგიას ამჟღავნებს სატელიტურ S12-თან, რომელიც თავის მხრივ ლოკალიზებულია 4, 5 და 6 ქრომოსომებში [58, 59].

GC-მდიდარი განმეორებები ნაპოვნი იქნა ასევე სიმინდის, ხორბლისა და გოგრის

გენომში [8, 43, 49]. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (PCR) მეთოდის საშუალებით გვარში *Vicia* (ცერცველა), იდენტიფიცირებულ იქნა ტანდემურად განმეორებადი AT - მდიდარი თანმიმდევრობების ორი ოჯახი: VicTR- A და VicTr-B. VicTR- A უბანის მონომერი 69 ფწ სიგრძისაა, VicTr-B კი 38 ფწ-ის. სახეობა *V. pannonica*-ს მეტაფაზურ ქრომოსომებში VicTR- A ყველა ქრომოსომის მცირე მხარის ტელომერულ უბანშია განთავსებული. სხვადასხვა სახეობებში VicTR-თანმიმდევრობების ამპლიფიკაციის ხარისხი 106 ± 107 -ზე მეტი ასლის ტოლია ჰაპლოიდურ გენომში [71, 72].

3. დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობების ევოლუცია

დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობები გენომის მეტად ცვალებად კომპონენტებს წარმოადგენენ, რის გამოც მათი ევოლუციის კონკრეტული სქემის ჩამოყალიბება რთულია. დღეისათვის განიხილავენ სტ-დნმ-ის წარმოქმნისა და ევოლუციის რამდენიმე შესაძლებლობას. კერძოდ, ნახტომისებური რეპლიკაციის თეორიის მიხედვით, სტ-დნმ-ის წარმოქმნაში განარჩევენ ოთხ ძირითად საფეხურს : 1. დნმ-თანმიმდევრობების მრავალჯერადი რეპლიკაცია, 2. პირველ ეტაპზე წარმოქმნილი პროდუქტების ქრომოსომებში ინტეგრირება, 3. სატელიტური თანმიმდევრობების დაკავშირება შესაბამის გენეტიკურ უბნებთან, და 4. ბუნებრივი გადარჩევის გზით განმეორებადი ერთეულების ჩამოყალიბება განსაზღვრული სახეობების გენომურ ელემენტებად. ნახტომისებური რეპლიკაცია ერთ შემთხვევაში წარიმართება დნმ-პოლიმერაზული რეაქციით, რაც დიდი რაოდენობით ასლების წარმოქმნის საშუალებას იძლევა, სხვა შემთხვევაში კი ე.წ. “მგორავი რგოლის” პრინციპით. ამ უკანასკნელისათვის აუცილებელია განმეორებადი თანმიმდევრობების ამპლიფიკაცია რგოლის შეკვრისათვის საჭირო ზომამდე [110].

სატელიტური თანმიმდევრობების წარმოქმნა შესაძლოა მოხდეს ასევე არათანაბარი კროსინგოვერით. ცნობილია, რომ კროსინგოვერის მიმდინარეობისას ადგილი აქვს ჰომოლოგიურ ქრომოსომათა შორის შესაბამისი თანაბარი უბნების გაცვლას მკაცრად იდენტურ ადგილებში. გამონაკლის შემთხვევებში ქრომოსომებს შორის არათანაბარი უბნები გადაიტანება. ამის შედეგად ერთ-ერთ ქრომოსომაში გენის ლოკუსი ორმაგდება,

მეორეში კი იკარგება. ასეთ მოვლენას არათანაბარი კროსინგოვერი ეწოდება [54]. გენთა ლოკუსებში ამგვარი დუპლიკაციებისა და დელეციების ხანგრძლივად მიმდინარეობისას დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობები წარმოიქმნებიან. არათანაბარი კროსინგოვერის დროს განხორციელებული ყველა სახის ცვლილება მემკვიდრულად გადაეცემა თაობიდან თაობაში [110].

ჯერ კიდევ სამოცდაათიან წლებში Walker-მა შექმნა სტ-დნმ-ის ფორმირების ორსაფეხურიანი თეორია. ამ თეორიის მიხედვით, სტ-დნმ-ის საწყის ერთეულს 18S და 28S რ-რნმ-ის გენებს შორის მდებარე სპეისერი ან ცენტრომერასა და ბირთვაკის დნმ-ის მიმდებარე მცირე სეგმენტები წარმოადგენენ. სავარაუდოდ, საწყის ეტაპზე (მიკროპროცესი) დნმ-ის გრძელი თანმიმდევრობა შედარებით მოკლე ფრაგმენტების საფუძველზე იქმნება. მოგვიანებით, მაკროპროცესის ეტაპზე, დაახლოებით 200 ფწ სიგრძის გრძელი თანმიმდევრობები ამპლიფიცირდებიან. საბოლოო ჯამში, აღწერილი მოვლენების შედეგად წარმოიქმნებიან მხოლოდ ე.წ. E”მარტივი” სტ-დნმ-ის ფრაგმენტები. “რთული” სატელიტები ფორმირდებიან ინდივიდუალური შიდამოლეკულური განმეორებების არმქონე, გრძელი თანმიმდევრობების ამპლიფიკაციით. მიკროპროცესს შესაძლოა უსწრებდეს ნახტომისებური რეპლიკაცია, მაკროპროცესს კი არათანაბარი კროსინგოვერი. ამასთან, შესაძლოა კროსინგოვერი მიმდინარეობს არა ქრომოსომათა განსაზღვრულ უბნებში, არამედ მთლიან ნუკლეოსომებს შორის [110].

ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების ამპლიფიკაციით წარმართული ევოლუციის საინტერესო მაგალითია მტრედის სტ-დნმ. ეს უკანასკნელი 190 ფწ სიგრძის მონომერს შეიცავს და გენომის ~ 5%-ს შეადგენს. მონომერში 16 T-მდიდარი უბანია (10-11 ფწ თითოეული). მათგან 13-ს 5’-ბოლოში A1-6 თანმიმდევრობა ესაზღვრება. სტ-დნმ-ის ევოლუციაში გამოყოფენ ორ ეტაპს. პირველ ეტაპზე 10-11 ფწ სიგრძის არაცენტრალური გასაშუალოებული თანმიმდევრობის ამპლიფიკაციით აიგება მონომერი. მეორე ეტაპზე კი თავად მონომერი ამპლიფიცირდება ტანდემური განმეორებების წარმოქმნით [28].

მცენარეებში ამპლიფიკაციური სტ-დნმ ნაპოვნია კარტოფილში. სეკვენირებამ აჩვენა, რომ სახეობა *Solanum bulbocastanum*-ს სტ-დნმ-ის მონომერი ნუკლეოტიდური შედგენილობით ძალიან ჰგავს გენომის რეტროტრანსპოზონური ელემენტების ტერმინალურ განმეორებებს. გამომდინარე აქედან, სავარაუდოდ, სტ-დნმ სწორედ

რეტროტრანსპოზონური და მათ გარშემო მდებარე დნმ-თანმიმდევრობების ამპლიფიკაციით წარმოიქმნა [98].

Mestrovic-მა და თანაავტორებმა სატელიტური თანმიმდევრობების წარმოქმნის ე.წ. “ბიბლიოთეკების” ჰიპოთეზა შექმნეს. პჯრ-მეთოდით ნაჩვენები იქნა, რომ მწერების ოთხ სახეობაში: *Palorus ratzeburgii*, *Palorus subdepressus*, *Palorus genalis*, და *Palorus ficicola* (Coleoptera) AT - მდიდარი სტ-დნმ გენომის 20 - 40%-ს შეადგენს. სახეობათა ნაწილში ეს თანმიმდევრობა დიდი რაოდენობით ასლებს (მაჟორული სატელიტი) წარმოქმნის, მეორე ნაწილში კი პირიქით (მინორული სატელიტი). სატელიტური თანმიმდევრობის ორივე ტიპი პერიცენტრულ ქრომოსომებშია ლოკალიზებული. აღმოჩნდა, რომ მონათესავე სახეობები მეტად კონსერვირებული სტ-დნმ-ის “ბიბლიოთეკებს” შეიცავენ. სავარაუდოდ, ამ უკანასკნელთაგან გარკვეულმა ნაწილმა ამპლიფიკაცია განიცადა, რითაც მაჟორული სტ-დნმ-ის წარმოქმნა გახდა შესაძლებელი. სატელიტური თანმიმდევრობების მეტად დინამიურმა ევოლუციამ და განმეორებების შემთხვევითმა ამპლიფიკაციამ შესაძლოა დასაბამი მისცა სახეობათა წარმოქმნისა და შესაბამისად სპეციფიკური სტ-დნმ-ების ფორმირებას [68].

ნაწილი მკვლევარებისა მიიჩნევს, რომ გარდა სახეობათა წარმოქმნისა, ცენტრომერული დნმ-ის სწრაფმა ცვლილებებმა ცენტრომერული ცილა-ჰისტონების ადაპტაციურ ევოლუციას ჩაუყარა საფუძველი [39].

ბოლოდროინდელი მონაცემების თანახმად, სტ-დნმ-ის ევოლუციაში გადამწყვეტი მნიშვნელობა განმეორებადი ერთეულების ასლების რიცხვისა და ნუკლეოტიდური წყობის ჰომოგენურობის ცვლილებას ენიჭება. ორივე ამ მახასიათებლის ერთდროულმა ან დამოუკიდებელმა შეცვლამ შესაძლოა ახალი სახეობა-სპეციფიკური სატელიტური თანმიმდევრობების შექმნა გამოიწვიოს. ნანახი იქნა, რომ გვარ *Ctenomus*-ის მღრღნელებში სტ-დნმ-ის ასლების რაოდენობის ცვლილება სახეობათა შორის კარიოგენულ განსხვავებებს წარმოშობს [102]. სატელიტების სახეობა-სპეციფიკურობა შესაძლებელია მათი სხვადასხვა თანმიმდევრობებიდან წარმოქმნას ნიშნავდეს [88]

Darevskia-ს გვარის ხვლიკების სხვადასხვა სახეობის სტ-თანმიმდევრობები ნუკლეოტიდური შემადგენლობით ძალიან გვანან ერთმანეთს. ყველა მათგანი ერთ სატელიტურ ოჯახს მიეკუთვნება, რაც მათი საერთო წინაპრის არსებობაზე მიანიშნებს [14].

ზღვის კომბოსტოს (სახეობა *Holothuria polii*) განმეორებადი თანმიმდევრობები გენომის 0,34%-ს შეადგენენ. თანმიმდევრობის 66,8% A/T - ფუძეებითაა წარმოდგენილი. განმეორებადი ერთეულების ასლების რიცხვი 0,5 X 10(5) - აღწევს. მონომერი 97%-ან ჰომოლოგიას ამჟღავნებენ სახეობა *Holothuria tubilosa* -ის განმეორებად ერთეულთან. მაღალი ხარისხის ჰომოლოგიების არსებობა მიუთითებს, რომ მონომერების ევოლუცია კონსერვირებული სახით მიმდინარეობდა [80].

4. დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობების ფუნქცია

ეუკარიოტებში ინტერფაზური ბირთვის ქრომოსომების *in situ* ჰიბრიდიზაციის მეთოდით შესწავლამ აჩვენა, რომ ქრომოსომათა ჰაპლოიდურ ნაკრებში გაცილებით დიდი რაოდენობის დნმ მოიპოვება, ვიდრე სტრუქტურულ და რეგულატორულ გენებში. ეს მოვლენა C-პარადოქსის სახელითაა ცნობილი [54, 61]. ამგვარ ჭარბ დნმ-ს მიეკუთვნებიან ჩვენს მიერ ზემოთ განხილული მინი- და მიკროსატელიტები და მრავალჯერად განმეორებადი სატელიტური დნმ. გამომდინარე იქიდან, რომ სატელიტური თანმიმდევრობები უმეტესად დნმ-ის გენეტიკურად ინერტულ ნაწილში არიან განთავსებული, მრავალი წლის განმავლობაში ითვლებოდა, რომ მათ არანაირი ფუნქცია არ გააჩნიათ. ზოგიერთი ავტორის აზრით, ისინი გენომის პარაზიტულ დანამატებს წარმოადგენენ [74]. მას შემდეგ, რაც დადგინდა გენომში სტ-დნმ-ის ლოკალიზაციის უშუალო ადგილი, მეცნიერებმა დნმ-ის ამ მინორული კომპონენტის ფუნქცია ქრომოსომას დაუკავშირეს.

საყოველთაოდაა ცნობილი, რომ ქრომოსომები უჯრედის ბირთვის შემადგენელი, მრავალი გენის მატარებელი დისკრეტული ერთეულებია. თითოეული მათგანი სპეციფიკურ ცილებთანA დაკავშირებულ, დნმ-ის უწყვეტ მოლეკულას შეიცავს. ნაჩვენებია, რომ ეუკარიოტული ქრომოსომების 50%-ზე მეტს ორი სახის - ჰისტონური და არჰისტონური ცილები შეადგენენ. მათგან შედარებით მცირე რაოდენობით და სუსტად დნმ-თან დაკავშირებული არიან არაჰისტონური ცილები. ჰისტონური ცილები შეიცავენ დადებითი მუხტის მქონე ქიმიურ ჯგუფებს, რომლებიც მჭიდრო კავშირს წარმოქმნიან დნმ-ის მოლეკულის უარყოფითად დამუხტულ ფოსფატურ ჯგუფთან. ამგვარი

ურთიერთქმედებების შედეგად წარმოიქმნება დნმ-ჰისტონური ცილის კომპლქსი, რომელსაც ხშირად “ქრომოსომის საშენ მასალას” ანუ ქრომატინს უწოდებენ. ბირთვის დაყოფის პერიოდში ქრომატინი ინტენსიურად იღებება, რაც მისი კონდენსაციით აიხსნება. სწორედ ამგვარი, კონდენსირებული ქრომატინი წარმოქმნის ქრომოსომას. ინტერფაზაში, როდესაც უჯრედის ზრდისა და განვითარებისათვის აუცილებელი ნივთიერებები სინთეზირდება, მიმდინარეობს დნმ-ისა და ჰისტონების რეპლიკაცია, ქრომატინის ერთი ნაწილი უცვლელი რჩება. აღნიშნულ უბანს ჰეტეროქრომატინს უწოდებენ. ქრომოსომათა განსაზღვრული ნაწილი ყველა უჯრედში კონდენსირებულია და კონსტიტუციურ ჰეტეროქრომატინს ქმნის. სხვა უბნები ჰეტეროქრომატინს წარმოქმნიან მხოლოდ განსაზღვრულ უჯრედებში. ასეთ შემთხვევაში საქმე გვაქვს ე.წ. ფაკულტატურ ჰეტეროქრომატინთან. ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით ნანახი იქნა, რომ ჰეტეროქრომატინი გენეტიკურად ინერტულია და დიამეტრით 700 ნმ-ს შეადგენს. ჰეტეროქრომატინისაგან განსხვავებით ქრომოსომის დანარჩენი უბნები ინტერფაზურ ბირთვში დეკონდენსირებული სახით არსებობენ. ამგვარ უბნებს ეუქრომატინის სახელით მოიხსენიებენ [1, 61, 70, 107, 109, 112]. სურათზე 1, წარმოდგენილია მცენარეული ქრომოსომის სტრუქტურა, სადაც დნმ-ის სხვადასხვა ფრაქციები მკვეთრადაა გამიჯნული ერთმანეთისაგან.



სურ. 1. მცენარეული ქრომოსომის აგებულება [Schmidt T., Heslop-Harrison J.1998].

სტ-დნმ-ის ლოკალიზაცია ჰეტეროქრომატინში თავისთავად გულისხმობს, რომ ის არ განიცდის ტრანსკრიფციას და არ ექსპრესირდება რაიმე ცილის წარმოქმნით. აღნიშნულის მიზეზი შესაძლოა იყოს ის გარემოება, რომ მარტივი ნუკლეოტიდური წყობის მრავალჯერად განმეორებად თანმიმდევრობებს არ აქვთ პრომოტორული უბნები, რომელზედაც რნმ-პოლიმერაზა მატრიცული სინთეზის დაწყებას შეძლებდა [114]. მიუხედავად ზემოთქმულისა ლიტერატურაში გამონაკლისის სახით ერთეული შემთხვევებია აღწერილი. კერძოდ, სტ-დნმ-ის ტრანსკრიფციის ფაქტი დაფიქსირებულია ტრიტონის ე.წ. “ლამპის ჯაგრისებრ” ქრომოსომებში, თუმცა წარმოქმნილი ტრანსკრიპტების ფუნქცია გაურკვეველია [110]. ტრანსკრიფცია შესაძლებლადაა მიჩნეული ხმელეთის კიბორჩხალას სტ-დნმ-სთვისაც, იმდენად რამდენადაც განმეორებადი თანამიმდევრობები ამ გენომში ფუნქციონალური გენების უშუალო მეზობლად განლაგდებიან. კვლევის ავტორები მიიჩნევენ, რომ ტრანსკრიფციის დამატებით ხელშემწყობ ფაქტორს აღნიშნულ შემთხვევაში ციტოზინის მაღალი ხარისხის მეთილირებაც წარმოადგენას [105].

დღეისათვის შესწავლილი მცენარეული და ცხოველური, მათ შორის ადამიანის, გენომების უმეტესობაში ცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის ძირითად საშენ მასალას სატელიტური თანმიმდევრობები წარმოადგენენ. შესაბამისად ითვლება, რომ ცენტრომერას წარმოსაქმნელად აღნიშნული დნმ-ფრაგმენტები აუცილებელ ფაქტორებს წარმოადგენენ [83, 84]. მცენარეებსა და ცხოველებში ცენტრომერები მცირე ზომისანი არიან და უმეტესად 100 ~ 200 ფწ სიგრძის სატელიტურ თანმიმდევრობებს შეიცავენ. უჯრედში ცენტრომერები და მათი შესაბამისი სტ-დნმ მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ შვილეული ქრომატიდების სეგრეგაციაში მიტოზური პროფაზისა და მეტაფაზის დროს, ხელს უწყობენ ჰომოლოგიური ქრომოსომების შეწყვილებასა და აკონტროლებენ გენთა ექსპრესიას ბირთვში [16, 24]. დაგენილია, რომ დროზოფილაში ცენტრომერას სრულფასოვანი ფუნქციონირების საფუძველს დნმ-ის სატელიტური თანმიმდევრობები წარმოადგენენ [96].

მიუხედავად ახლომონათესავე სახეობების დივერგენციისა, ქრომოსომებში მათი ფუნქცია მკაცრად განსაზღვრული და ევოლუციურად შენარჩუნებულია [52].

ზოგიერთი ავტორი მიიჩნევს, რომ ქრომოსომული ჰეტეროქრომატინისა და მისი შემადგენელი სტ-დნმ-ის რაოდენობაზე დამოკიდებული ამა თუ იმ ორგანიზმის სიცოცხლის ხანგრძლივობა [108]. მცენარეების მაგალითზე ნანახი იქნა, რომ ერთწლიანი ინდივიდები რომელთა სიცოცხლის ხანგრძლივობა 10-20 დღით შემოიფარგლება, გაცილებით მცირე რაოდენობის გენომურ დნმ-ს შეიცავენ, ვიდრე მრავალწლოვანი მცენარეები [114].

თავგებზე ჩატარებული უახლესი ექსპერიმენტული მონაცემები გარკვეულწილად ეხმიანება ზემოდსხსენებული კორელაციის მოვლენას. კერძოდ, ნანახი იქნა, რომ 10-178 დღის თავგების ელენთის, თირკმლისა და თავის ტვინის ქსოვილებში სტ-დნმ-ის შემცველობა $11 \pm 1\%$ -ის ტოლია. 10-300 დღის თავგების ღვიძლში სტ-დნმ 7-8%-ით, 300-600 დღისაში კი 12-13%-ით არის წარმოდგენილი [78].

Korneo-ს მოსაზრებით სტ-დნმ-ის გაჩენამ გენომში ხელი შეუწყო ეუკარიოტულ ორგანიზმებში სექსუალური რეპროდუქციის ფორმირებას. ჰეტეროქრომატინი და შესაბამისად სტ-დნმ ხელს უშლის ახლომონათესავე სახეობების შეწყვილებას, რაც ევოლუციური მრავალფეროვნებისა და სახეობათწარმოქმნის საფუძველია [110].

Y-ქრომოსომის სტ-დნმ უზრუნველყოფს *Drosophila*-ს სათესლეებში ცილების აკუმულირებასა და შენახვას. ნაპოვნია კალია *Dolichopoda*-ს pDo 500 სტ-დნმ-ის რიბოზიმული აქტივობა.ს Csink-ისა და Henikoff-ის მოდელის თანახმად განსაზღვრული ცილები ინტერფაზაში მხოლოდ ეუქრომატინს უკავშირდებიან, მეტაფაზაში კი სტ-დნმ-ს. ამ მოდელის თანახმად, სპეციფიკურ ცილებთან დაკავშირების გზით სტ-დნმ-ის ფრაქციები მიტოზური პროცესის სტაბილიზაციას უწყობენ ხელს [115].

შესაძლებელია სტ-დნმ-ს გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭებოდეს ტრანსკრიფციის, რეპლიკაციისა და რეპარაციის, ასევე ნუკლეოსომათა სტაბილიზაციის პროცესებში [15, 23, 62, 67, 73, 76, 86, 87]. მაგ., ნანახი იქნა, რომ სატელიტური და ნუკლეოსომური განმეორების სიგრძეები კორელაცირებს ერთმანეთთან. ეუკარიოტების 57 სატელიტური თანმიმდევრობიდან 28-ში სტ-განმეორება 156-196 ფწ სიგრძისაა, რაც მონონუკლეოსომების ზომებს შესაბამება. 10 მათგანი 324-422 ფწ სიგრძის ანუ დინუკლეოტიდური ზომის დნმ-ს

წარმოადგენს [28].

დღეისათვის სტ-დნმ-ისა და ჰეტეროქრომატინის შემსწავლელი მრავალ ექსპერიმენტულ კვლევაზე დაყრდნობით ითვლება, რომ დნმ-ის აღნიშნული თანმიმდევრობების ერთ-ერთი და შესაძლოა ერთადერთი ძირითადი ფუნქცია კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის კონდენსაციაში მდგომარეობს [3, 4, 26, 28, 115]. ლიტერატურაში არსებული ზოგიერთი მონაცემის თანახმად, სტ-დნმ-ის ამგვარ ფუნქციას საფუძვლად უდევს თანმიმდევრობის მაღალი მეთილირების ხარისხი. თუმცა, მეთილირება არ არის სტ-დნმ-ისათვის დამახასიათებელი უნივერსალური თავისებურება, და შესაბამისად, მისი მნიშვნელობაც ვერ ჩაითვლება სარწმუნოდ [28].

სავარაუდოდ, ჰეტეროქრომატინის კომპაქტურობას სტ-დნმ-ის სპეციფიკური მესამეული სტრუქტურა განაპირობებს. ეს უკანასკნელი, თავის მხრივ დნმ-ში არსებული მოლეკულური გადაღუნვებით იქმნება და მისი დეტექტირება ელექტროფორეზული და ელექტრონმიკროსკოპული მეთოდებითაა შესაძლებელი.

დნმ-ის მოლეკულის გადაღუნვაში ორმაგი სპირალის ღერძის სწორხაზოვანი წყობის ცვლილება იგულისხმება და მისი წარმოქმნა თანმიმდევრობა-დამოკიდებულ ხასიათს ატარებს.

5. გადაღუნვები დნმ-ის მოლეკულაში

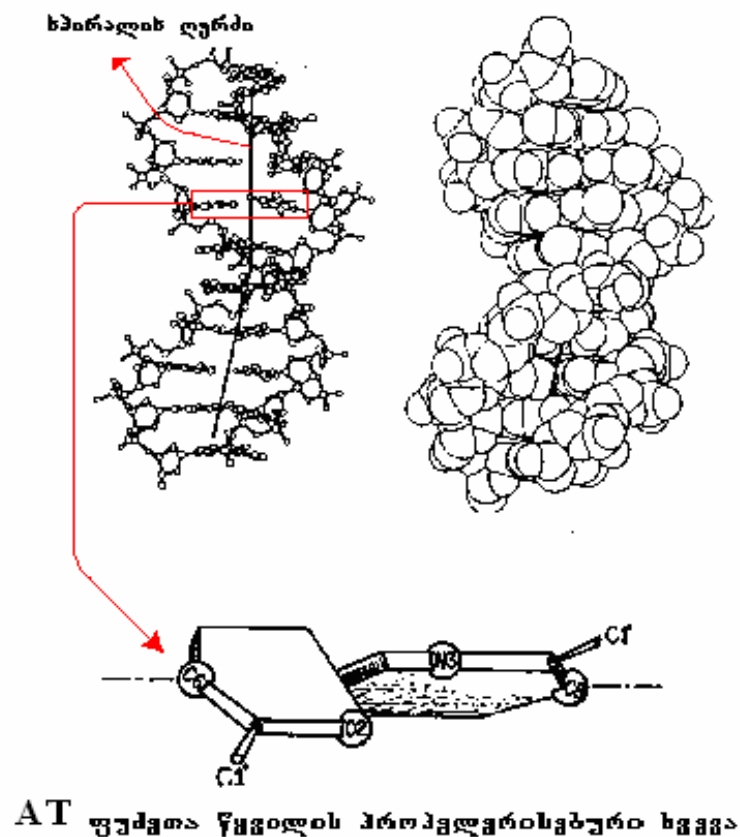
ცოცხალ სისტემებში დნმ-ის მოლეკულის ფუნქციური აქტივობის საფუძველს მისი სპეციფიკური სტრუქტურა წარმოადგენს. უოტსონ-კრიკის მოდელის თანახმად დნმ მარჯვნივ დახვეული B-ფორმის ორმაგი სპირალია, რომელიც ორი საპირისპირო (5'-3' და 3'-5') მიმართულების პოლინუკლეოტიდური ძაფისაგან შედგება. თითოეულ პოლინუკლეოტიდურ ძაფში ცალკეული ნუკლეოტიდი წარმოდგენილია კოვალენტური ბმებით დაკავშირებული, სამი ქიმიურად განსხვავებული ნაწილით: პირიმიდინისა (ციტოზინი, თიმინი) და პურინის (ადენინი, გუანინი) აზოტოვანი ფუძეები, შაქრის - პენტოზის (დეზოქსირიბოზა) და ფოსფორმჟავას ნაშთები. აზოტოვანი ფუძეების წყვილები ორმაგი სპირალის ცენტრში, შაქარ-ფოსფატური ჯგუფები კი გარეთაა განთავსებული. პოლინუკლეოტიდური ძაფი ქმნის დნმ-ის მოლეკულის პირველად

სტრუქტურას. რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის საშუალებით დადგენილ იქნა, რომ ფუძეთა წყვილებს შორის მანძილი 0,34 ნმ-ის ტოლია. B-ფორმის დნმ-ის ერთი სპირალური ბრუნვი 10 ფუძეთა წყვილითაა წარმოდგენილი (34 ნმ). ორმაგი სპირალის ფორმირება და შემდგომი სტაბილურობა დამოკიდებულია პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვებში ერთმანეთის პირისპირ განლაგებული აზოტოვანი ფუძეების სპეციფიკურ დაკავშირებასთან. ჩარგაფის კომპლემენტარობის წესის თანახმად, ადენინი სამი წყალბადური ბმით უკავშირდება თიმინს, გუანინი კი ორი წყალბადური ბმით უკავშირდება ციტოზინს [54, 106]. პურინ-პირიმიდინის ფუძეების ამგვარი შეწყვილება დნმ-ის მეორად სტრუქტურას წარმოქმნის. ფუძეთა კომპლემენტარობის საფუძველზე მთლიანად ივსება ორმაგი სპირალის ანტიპარალელურ ძაფებს შორის არსებული 2 ნმ-ის ზომის სივრცე [9].

უჯრედში დნმ-ის მოლეკულა სამგანზომილებიანი სპირალის სახით არსებობს, რაც დნმ-ის ქრომოსომებად აწყობასა და გენომში მიმდინარე უმნიშვნელოვანეს პროცესებს უდევს საფუძვლად [100]. დნმ-ის სუპერსპირალის შექმნა და საბოლოოდ მისი სამგანზომილებიანი სტრუქტურის ჩამოყალიბება მოლეკულაში სტრუქტურული ორგანიზაციის თითოეულ დონეზე არსებული ფიზიკურ-ქიმიური მოძრაობებით ხორციელდება. კერძოდ, პირველადი სტრუქტურის დონეზე ნებისმიერი ფუძეთა წყვილისათვის განარჩევენ სამი სახის მოძრაობას: T (Twist) - ხვევას, R (Roll) - ბრუნვასა და S (Slide) - სრიალს.

T - ხვევა აღნიშნავს ორი მეზობელი ფუძეთა წყვილის ერთმანეთის მიმართ მარჯვნივ მიმართული კუთხით ბრუნვას. ბუნებრივ დნმ-ში ფუძეების ხვევა 20° -დან 50° -მდე დიაპაზონში მერყეობს და საშუალოდ 34° -ის ტოლია. დადგენილია, რომ ეთიდიუმ ბრომიდი - რეაგენტი, რომელიც დნმ-ის შესაღებად გამოიყენება - ორ მეზობელ ფუძეთა წყვილს შორის ჩართვის გზით შლის T - სახის ხვევას დნმ-ში და ამგვარად, სპირალის ლოკალურ დონეზე გახსნას იწვევს. დნმ-ის მოლეკულაში მეორადი სტრუქტურის დონეზე გვხვდება ხვევის კიდევ ერთი სახე, რომელსაც პროპელერისებურ ხვევას უწოდებენ. ეს უკანასკნელი გამოხატავს წყალბადური ბმებით დაკავშირებული ორი პარალელურად განლაგებული ფუძის ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით ხვევას. ხვევის ეს სახე AT ფუძეთა წყვილებში 15° - 25° -ის, ხოლო GC ფუძეთა წყვილებში 5° - 15° -ის ტოლია. პროპელერისებური ხვევის მნიშვნელობა იმაში მდგომარეობს, რომ იგი ხელს უშლის

ჰიდროფობურ ფუძეთა წყვილების თავისუფალ მოძრაობასა და შესაბამისად, მინიმუმამდე ამცირებს მათ კონტაქტს წყალთან [9]. სურათზე 1, წარმოდგენილია Sarma-სა და თანაავტ. მიერ მოწოდებული GAAAATTTTC შენადგენლობის დნმ-დუპლექსის სტრუქტურული და სივრცითი მოდელი. აღნიშნულ მოდელში AT ფუძეთა წყვილი პროპელერისებური ხვევის პოზიციაშია. ავტორთა აზრით, AT უბანში არსებული ხვევის ეს სახე გარკვეულწიად ხელს უწყობს დნმ-ის სპირალური ღერძის გამრუდებას [82].



სურათი 1. GAAAATTTTC შენადგენლობის დნმ-დუპლექსის სტრუქტურული და სივრცითი მოდელი [Sarma და თანაავტ., 1988]

R - ბრუნვა აღნიშნავს ფუძეთა წყვილების ბრუნვას მათივე სიგრძის ღერძის გარშემო. ბუნებრივ დნმ-ში $R = +20^\circ \approx -10^\circ$ ფარგლებში მერყეობს.

S - სრიალით აღნიშნავენ ორი მეზობელი ფუძეთა წყვილის ერთმანეთის მიმართ ჰორიზონტალურ ურთიერთგადაადგილებას. ჩვეულებრივ $S = +3\text{\AA} \approx -2$.

T, R და S-ის მნიშვნელობები სხვადასხვა ტიპის ორმაგი სპირალის წარმოქმნას უდევს საფუძვლად. განსაზღვრულ იქნა, რომ B-ფორმის დნმ-ში $R = 0^\circ$, $S = 0\text{\AA}$, $T = 36^\circ$. როდესაც S უარყოფით მნიშვნელობას იძენს და -2\AA -ს უტოლდება, დნმ-ის B-ფორმა 11 ფუძეთა წყვილის მქონე A-ფორმად გარდაიქმნება. აღნიშნულ შემთხვევაში მიიღება სპირალი, რომელშიც ფუძეთა წყვილები აცდენილია მოლეკულის ცენტრალურ ღერძს. მრავალ ცილა-დნმ კომპლექსში დნმ სწორედ A-ფორმით გვხვდება. იმ შემთხვევაში როდესაც, ისევე როგორც A-ფორმაში, S უარყოფითი მნიშვნელობისაა, T კი 36° -ის ტოლია B-ფორმის დნმ-ის მსგავსად, წარმოიქმნება B და A დნმ-ის შუალედური ფორმა. [9]. ექსპერიმენტალურად ნაჩვენები იქნა, რომ ეთანოლით ინდუცირებული დნმ-ის B-A-ფორმების გადასვლების ხანგრძლივობა პოლი d(A-T) სისტემების ≈ 1600 ფწ სიგრძის ფრაგმენტში $10 \mu\text{s}$ -ის, ≈ 70 ფწ სიგრძის ფრაგმენტში კი $100\mu\text{s}$ -ს ტოლია [44].

მას შემდეგ, რაც ფუძეთა წყვილების ზემოთ განხილული მოძრაობების კომბინაციითა და კომპლემენტარობის პრინციპის დაცვით აიგება ორმაგი სპირალი, დნმ სამგანზომილებიან სტრუქტურას ქმნის. აღნიშნულ პროცესს საფუძვლად უდევს მოლეკულის უნარი გადაიხაროს ძირითადი სპირალური ღერძიდან და ამგვარად შეიცვალოს სწორხაზოვანი სტრუქტურა.

სივრცეში დნმ-ის მოლეკულის სტრუქტურული ცვლილებების განხილვისას მკვეთრად უნდა გაიმიჯნოს ერთმანეთისაგან დნმ-ის გადაღუნვა ("DNA-Curvature") და დნმ-ის სიმრუდე ("Bent-DNA"). პირველ მათგანში იგულისხმება ორმაგი სპირალის სტრუქტურის ის ლოკალური ცვლილებები, რომელთაც თავად მოლეკულის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები განაპირობებენ (მაგ., სოლის კუთხის ცვლილება). დნმ-ის დეფორმაცია გარეგანი ზემოქმედების შედეგად წარმოშობს მთლიანი მოლეკულის გამრუდებას. ამგვარ მოვლენას აქვს ადგილი მაგ., ცილა-დნმ-ის ურთიერთქმედების პროცესში, სადაც ცილა გარეგან ფაქტორს წარმოადგენს [18, 103]. ბოლო წლების განმავლობაში დაგროვილი მონაცემების საფუძველზე დღეისათვის ითვლება, რომ დნმ-ის მაკროსკოპული

სიმრუდეების საფუძველს ფოსფატურ ჯგუფებს შორის არსებული ელექტროსტატიკური შეუსაბამობა წარმოადგენს [66].

Trifonov-სა და Susman-ის მიერ წარმოდგენილი ე.წ. @“სოლისებრი მოდელის” (“wedge model”) თანახმად, დნმ-ის მოლეკულის სწორხაზოვანი წყობის შეცვლა და სპირალის ღერძის გადაღუნვა ხორციელდება მაშინ, როდესაც განსაზღვრული დინუკლეოტიდური თანმიმდევრობა (dAA), პერიოდულად მეორდება სპირალური ბრუნვის ფაზაში. იდენტური დინუკლეოტიდების ჩართვა $\approx 10,4$ ფწ სიგრძის დნმ-ფრაგმენტებს შორის მოლეკულის ერთი მიმართულებით გადაღუნვას იწვევს. ასეთ შემთხვევებში დინუკლეოტიდების ფუძეთა წყვილებს შორის ჩნდება განსაზღვრული კუთხის მქონე დაშორება. აღნიშნული კუთხის მნიშვნელობა თანმიმდევრობაზე დამოკიდებულ ხასიათის ატარებს [18, 19, 103]. ამკვლევართა გარკვეული ნაწილი თვლის, რომ “სოლისებრი მოდელის” პრინციპით აგებული დნმ-გადაღუნვები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ტრანსკრიფციის ინიციაციაში, როგორც *in vivo*, ისე *in vitro* პირობებში [37].

გადაღუნვების მქონე დნმ იმავე სიგრძის სწორხაზოვან დნმ-თან შედარებით მასშტაბური მოლეკულაა. ამგვარ მოლეკულებს უჭირთ გელის ძაფებს შორის თავისუფლად გადაადგილება, რის გამოც ჩვეულებრივთან შედარებით ნელა მოძრაობენ. სწორედ ეს ფაქტი დაედო საფუძველად გადაღუნვებით მდიდარი დნმ-მოლეკულების იდენტიფიკაციას გელ-ელექტროფორეზის მეთოდით. ამ მეთოდის საშუალებით ხშირად მნიშვნელოვანი ინფორმაცია მიიღება უშუალოდ დნმ-გადაღუნვებისა და დნმ-სიმრუდეების (მათ შორის ცილა-დნმ-ის კომპლექსების) მიმართულებებისა და ზომების შესახებ. მიუხედავად ამისა გასათვალისწინებელია, რომ ელექტროფორეზი ჩვეულებრივ ტარდება დაბალი იონური ძალის ბუფერულ ხსნარებში, რაც ყველა შემთხვევაში არ ასახავს *in vivo* სარეაქციო არის პირობებს [53, 91]. გადაღუნვების აღმოსაჩენად ასევე წარმატებულად გამოიყენება ტემპერატურულ-გრადიენტში გელ-ელექტროფორეზის, ელექტრონული მიკროსკოპიისა და დნმ-ცირკულარიზაციის მეთოდები [99].

საინტერესო კვლევა იქნა ჩატარებული Stollwagen-ისა და სხვების მიერ. მათ შეისწავლეს დნმ-ის მოლეკულების ძვრადობის დამოკიდებულება პოლიაკრილამიდის გელის ფოსოების ზომაზე, ნორმალურად (12B) და შენელებულად (12A) მოძრავი 147 ფწ სიგრძის დნმ-ფრაგმენტების (პლაზმიდა pBR322) მრავალი ასლის მქონე მოლეკულური

მარკერების გამოყენებით. განსაზღვრულ იქნა, რომ აკრილამიდის საერთო კონცენტრაციის კლებისას გელის ფოსოები ზომაში მატულობენ და შესაბამისად დნმ-ფრაგმენტების ანომალური ძვრადობა კლებულობს. მოლეკულები შედარებით ადვილად გაივლიან გელის ფოსოებს. როდესაც აკრილამიდის კონცენტრაცია არ იცვლება, ფორების ზომა კი მომატებულია, შენელებულად მოძრავი დნმ-ის მულტიმერების (ჰექსამერიდან ზევით) ანომალური ძვრადობა მცირდება. შენელებულად მოძრავი დნმ-ის 5-მერებისა და უფრო მცირე ზომის მულტიმერების ანომალური ძვრადობა აკრილამიდის უცვლელი კონცენტრაციების პირობებში არ არის გელის ფოსოების ზომაზე დამოკიდებული. მსგავსი შედეგები იქნა ნაპოვნი კინეტოპლასტის A-უბნების მქონე მოლეკულური მარკერების შემთხვევაშიც [93]. გელის ფორების ზომაზე არ მოქმედებს ის, თუ რა ბუფერულ სისტემაში მიმდინარეობს ელექტროფორეზი. გამოთვლილ იქნა გელის ფოსოების მიახლოებითი ზომები: 10.5%-ის აკრილამიდისის პირობებში ფორების დიამეტრი დაახლოებით 21 ნმ-ის ტოლია, 4.6%-ის პირობებში კი დაახლოებით 200 ნმ-ის. აღნიშნული გათვლები ნაწარმოებია TAE-ბუფერში ელექტროფორეზისათვის, თუნცა მსგავსი ციფრები იქნა მიღებულ TBE-ბუფერისთვისაც [92].

მრავალი ექსპერიმენტალური კვლევის შედეგები ცხადყოფენ, რომ დნმ-გადაღუნვების ქიმიურ საფუძველს, როგორც წესი, თანმიმდევრობაში არსებული მოკლე dA_n ($n = 4-6$) ჰომოპოლიმერული უბნები წარმოადგენენ. იმ შემთხვევაში, როცა $n = 1-3$, გელ-მიგრაციული ანომალია მცირე და სწორხაზოვნად მზარდი ხასიათისაა. ხოლო როცა $n = 3-4$, მიგრაციული ანომალია არაპროპორციულად მზარდი და მასშტაბურია [18, 19, 37, 40, 90, 103]. ერთეულ შემთხვევებში გელ-მიგრაციული ანომალია ნანახი იქნა dA_2T_2 უბნების მქონე ფრაგმენტებისათვის. dA_5 სინთეზურ მოლეკულებში ცენტრალური ადენინის ჩანაცვლება სხვა აზოტოვანი ფუძით (მაგ., dC, dG, dT) თითქმის სრულად სპობს შეფერხებულ მოძრაობას გელში [18]. გადაღუნვის ფორმირებისათვის მნიშვნელობა აქვს ასევე ადენინის ფუძეების პოზიციებს შესაბამის დნმ-თანმიმდევრობებში. MR-სპექტროსკოპული ანალიზით დადგინდა, რომ $d(CAAAATTTT)_5$ და $d(GTTTTAAAAC)_5$ სინთეზური ფრაგმენტებიდან მხოლოდ პირველი ქმნის ნუკლეოსომური დნმ-ის მსგავს სტრუქტურას. ეს უკანასკნელი მარცხნივდახვეული სუპერსპირალია, რომლის დიამეტრი 110 Å-ს შეადგენს, სპირალური ბრუნის სიმაღლე კი 80 Å-ია. მეორე ფრაგმენტით შექმნილი

სპირალის დიამეტრი $\approx 50 \text{ \AA}$ -ის ტოლია, ბრუნის სიმაღლე კი 250 \AA -ს აღემატება [7].

ადენინით მდიდარი თანმიმდევრობა სტრუქტურული თვალსაზრისით მცირედ განსხვავდება კლასიკური B-ფორმის დნმ-საგან. კერძოდ, განსაზღვრულ იქნა, რომ პოლი (dA) - პოლი (dT) ფრაგმენტის განმეორება 10,1 ფწ სიგრძისაა, B-ფორმის დნმ-სათვის კი 10,5 ფწ სიგრძის განმეორებებია დამახასიათებელი. რენტგენის სხივების დიფრაქციულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ პოლი (dA) - პოლი (dT) თანმიმდევრობა A და B-ფორმების ჰიბრიდული წარმონაქმნია. სავარაუდოდ, პოლი (dA) უბნები A ფორმის, პოლი (dT) კი B-ფორმის დნმ-ის მსგავს სტრუქტურას იღებენ [9, 18].

გარდა dAn უბნებისა, გადალუნვის პოტენციურ მაინდუცირებელ თანმიმდევრობებს წარმოადგენენ ასევე AG/CT, CG/CG, CA/TC და GC/GC ფუძეთა წყვილები. აღნიშნულ ფუძეთა წყვილებს, მსგავსად ადენინური უბნებისა, დიდი სოლის კუთხე აქვთ, რაც აუცილებელ პირობას წარმოადგენს გადალუნვის ფორმირებისათვის [22].

გადალუნვების ფორმირება შესაძლოა განხორციელდეს განსაზღვრული აზოტოვანი ფუძეების მეთილირებით. dATCGAT და dGGATCC თანმიმდევრობების შესწავლისას, დადგინდა, რომ dGGATCC ფრაგმენტის ცენტრალური dA ან dC ფუძეების მეთილირება მცირე გადალუნვის ფორმირებას იწვევს. dATCGAT ფრაგმენტის მეთილირება კი არ იწვევს მოლეკულის სწორხაზოვანი ფორმის რაიმე სახის ცვლილებას. შესაძლოა მეთილირებას გარკვეული მარკერული როლი ენიჭებოდეს დნმ-ის თანმიმდევრობა-დამოკიდებული ამოცნობის პროცესებში [20].

პოლიაკრილამიდის გელში დნმ-ის სპეციფიკური მოძრაობის პირველი ექსპერიმენტული დასაბუთება მიღებულ იქნა *Leishmania tarentolae*-ს კინეტოპლასტური დნმ-ის შესწავლისას. Marini-ისა და თანაავტორების მიერ აღმოჩენილ იქნა, რომ აღნიშნული დნმ-ფრაგმენტი დაბალ ტემპერატურაზე 12%-ან პოლიაკრილამიდის გელში ანომალურად ნელა მოძრაობს. იგივე პირობებში 1%-ან აგაროზის გელში მოლეკულის მოძრაობა თავისი რეალური სიგრძის (490 ფწ) შესაბამისია. ნანახი იქნა ასევე, რომ კინეტოპლასტურ დნმ-ში მკვეთრად არის გამოხატული AA (TT) დინუკლეოტიდის პერიოდულობა. სეფაკრილ (Sephadryl) S-500-ზე გელ-ფილტრაციის დროს დნმ-მოლეკულა ელუირდებოდა როგორც 375 ფწ სიგრძის ფრაგმენტი და მისი როტაციული ბრუნვის ხანგრძლივობა, pBR322 პლაზმიდის საკონტროლო 309 ფწ სიგრძის დნმ-ის როტაციაზე მცირე იყო. მიღებული

შედეგების საფუძველზე დადგინდა, რომ კინეტოპლასტური დნმ-სათვის დამახასიათებელია კომპაქტური სტრუქტურის არსებობა, რომლის საფუძველსაც მოლეკულური გადაღუნვები წარმოადგენენ [63]. Griffit-ისა და სხვათა მიერ ელექტრონული მიკროსკოპით გადაღუნვა აღმოჩენილ იქნა ტრიპანოსომა *Crithidia fasciculata*-ს კინეტოპლასტურ დნმ-ში (200 ფწ). ნანახი იქნა, რომ დისტამიცინი A ამ შემთხვევაშიც არღვევდა დნმ-ის გამრუდებულ სტრუქტურებს [34].

მოგვიანებით თანმიმდევრობა-დამოკიდებული გადაღუნვების არსებობა დადგინდა იქნა მრავალი სინთეზური და ბუნებრივი დნმ-სათვის. განსაზღვრულ იქნა, რომ *E.coli*-ს R1-პლაზმიდას ცენტრომერული თანმიმდევრობა paRC (159ფწ) გადაღუნული სტრუქტურის მქონეა. ამ ფრაგმენტის K-ფაქტორის (დნმ-ის ძვრადობით დადგენილი სიგრძის შეფარდება მოლეკულის რეალურ სიგრძესთან) მნიშვნელობა 2-ს უახლოვდება. paRC შეიცავს 2 დამოუკიდებელ უბანს, რომელთა შორისაც 39 ფწ სიგრძის თანმიმდევრობაა განთავსებული. პლაზმიდური თანმიმდევრობის გადაღუნვების შესასწავლად კვლევის ავტორებმა ორ უბანს შორის არსებული შუალედური თანმიმდევრობა შეცვალეს მოკლე, 4 ფწ სიგრძის ფრაგმენტით. ამან შესაძლებელი გახადა მოლეკულის სტრუქტურის მთლიანობაში შესწავლა. ნანახი იქნა, რომ ორ ერთმანეთისაგან დამოუკიდებელ უბანს ერთი საერთო გადაღუნვა აქვთ. მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით გამოითქვა მოსაზრება, რომ რადგან გადაღუნვების არსებობა დამახასიათებელია როგორც ეუკარიოტული ისე პროკარიოტული ცენტრომერებისათვის, შესაძლოა ისინი ცენტრომერების უნივერსალურ თავისებურებას წარმოადგენენ [41].

თამბაქოს (*Nicotiana tomentosiformis*) განმეორებადი დნმ-ის მოლეკულები გადაღუნვების მქონე მოლეკულების თვისებებით ხასიათდებიან. ცალკეული ინდივიდები სხვადასხვა ხარისხის გადაღუნვებს შეიცავენ [64].

განსაზღვრულია, რომ სხვადასხვა საიტ-სპეციფიკური ნუკლეოპროტეინული კომპლქსის დნმ-ისათვის დამახასიათებელმა სტატიკურმა გადაღუნვამ და მოლეკულის ანიზოტროპულმა ელასტიურობამ შესაძლოა ბიძგი მისცეს რეგულატორული ცილების მიერ თანმიმდევრობებში კოდირებული ინფორმაციის არაპირდაპირ წაკითხვას [38].

Bechert-ისა და სხვათა მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ საფუვრებში (*Saccharomyces cerevisiae*) შენელებული ელექტროფორეზული მოძრაობა ახასიათებს თექვსმეტივე

ქრომოსომის AT-მდიდარ ცენტრომერულ დნმ-ს. ეთიდიუმ ბრომიდის თანაობისას აღნიშნული ფრაგმენტები გაცილებით სწრაფად მოძრაობდნენ, რაც სავარაუდოდ მოლეკულის ლოკალურ დონეზე გაშლით არის განპირობებული [3].

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით შესწავლილ იქნა SV 40 მინიქრომოსომების VPI გენიდან გამოყოფილი გადალუნვების მქონე რესტრიქციული ფრაგმენტების ძვრადობა PAAG-სა და თავისუფალ ხსნარში. 199 ფწ რესტრიქციული ფრაგმენტი $46 \pm 2E$ -იან დახრის კუთხეს შეიცავს, რომელიც განლაგებულია SV 40 თანმიმდევრობის 1922 ± 2 ფწ პოზიციაში. 199 ფწ დნმ-ფრაგმენტი და მისი მუტანტური თანმიმდევრობა შეიცავს სულ ცოტა ერთ ადენინურ უბანს და ანომალური მოძრაობით ხასიათდება როგორც PAAG-ში, ისე კაპილარული ელექტროფორეზის თავისუფალ ხსნარში [57, 94].

Anderson-ის მიერ დადგენილ იქნა, რომ მასშტაბური გადალუნვების მქონე შენელებული დნმ-ფრაგმენტების იდენტიფიცირება ასევე შესაძლებელია ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდის საშუალებით. კერძოდ, ნანახი იქნა, რომ 107 kb-ის ზომის მოლეკულები გელში ანომალურად ნელა მოძრაობდნენ. ყველაზე მკვეთრი შენელება და შესაბამისად დიდი ზომის გადალუნვა, ნაპოვნი იქნა ARS 1-საფუარისა და ადენოვირუსის გენომის 245 - 240 ფწ სიგრძის უბნებში. თითოეული ეს თანმიმდევრობა რეპლიკაციის სასტარტო წერტილიდან -150 ფწ-ითაა დაშორებული. ამასთან, ადენოვირუსის დნმ-თანმიმდევრობა 50 ფწ სიგრძის ენჰანსერშია მოქცეული. ადენოვირუსის ყველა დნმ-ფრაგმენტები PAAG-ში სპეციფიკური სახით, რკალისებურად განლაგებული ლაქების სახით ნაწილდებოდნენ გელში [1].

Husain-ისა და სხვათა მიერ დნმ-ის სპეციფიკური სტრუქტურების შესასწავლად სინთეზირებულ იქნა 32 ფწ სიგრძის T - მდიდარი დნმ-ფოტოდიმერი. ამ ფრაგმენტების ლიგირების პროდუქტები დახასიათებულ იქნენ ერთ- და ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზითა და ელექტრონული მიკროსკოპით. აღმოჩნდა, რომ T - მდიდარი უბნები მცირე დიამეტრის მქონე ციკლურ მოლეკულებს წარმოქმნიან, რითაც PAAG-ში დნმ-ის მულტიმერების ნელ მოძრაობას განაპირობებენ. გელ-მიგრაციული ანომალია იკარგება დიმერებზე ფოტოლიაზების ზემოქმედებისას [42].

ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდის საშუალებით შენელებული გელ-

მიგრაცია ნაპოვნი იქნა ციტოზინური “კუნძულების” შემცველ 298 ფწ სიგრძის სინთეზირებულ დნმ-ფრაგმენტშიც [35].

Kozobay-Avraham-მა და თანაავტორებმა კომპიუტერული პროგრამა CURVATURE-ს გამოყენებით შეისწავლეს თუ რამდენად დამახასიათებელია დნმ-გადაღუნვების არსებობა სხვადასხვა პროკარიოტული გენომის პრომოტორული უბნებისათვის. კვლევის ძირითად მიზანს დნმ-გადაღუნვების ფუნქციური აქტივობისა და ტემპერატურის ცვლილებას შორის არსებული შესაძლო კორელაციის დადგენა შეადგენდა. ნაჩვენები იქნა, რომ მეზოფილურ პროკარიოტებში დნმ-გადაღუნვები მართლაც დეტექტირდებიან, მხოლოდ არა პრომოტორულ, არამედ მათი საწინააღმდეგო მიმართულების უბნებში. ჰიპერთერმოფილურ პროკარიოტებში გენომის მაკოდირებელი უბნები უფრო მეტად გადაღუნულები აღმოჩნდნენ, ვიდრე მოსალოდნელი იყო მათი ნუკლეოტიდური წყობიდან. შესაძლებელია მეზოფილურ ბაქტერიებსა და სხვა არქაულ გენომებში აღმოჩენილი დნმ-გადაღუნვების სპეციფიკური განაწილება მიუთითებს, იმაზე, რომ გადაღუნვა ევოლუციურად შენარჩუნებული, ტემპერატურული ცვალებადობით დეტერმინირებული მოვლენაა [50].

საინტერესო კვლევა იქნა ჩატარებული Gabrielian-ისა და სხვათა მიერ. მათ მიერ შედარებულ იქნა *E. coli*-ისა და ადამიანის გენომების პრომოტორულ უბნებში გადაღუნვების განაწილება ამავე ორგანიზმების მაკოდირებელი და არამაკოდირებელი უბნების გადაღუნვათა განაწილებასთან. ნანახი იქნა, რომ *E. coli*-ის პრომოტორული უბნები უფრო მეტ გადაღუნულ დნმ-ს შეიცავენ, ვიდრე მაკოდირებელი თანმიმდევრობები და ამავე გენომის მსგავსი ნუკლეოტიდური შედგენილობის სხვა უბნები. ადამიანის გენომში პრომოტორული უბნებს მაკოდირებელ უბნებთან შედარებით უფრო მასშტაბურები გადაღუნვები აღმოაჩნდათ. არამაკოდირებელი ინტრონული თანმიმდევრობები კი მკვეთრად გამოხატული გადაღუნვების არსებობით ხასიათდებოდნენ [30]. შედარებით ადრეულ კვლევებში დნმ-ის გადაღუნვები განიხილებიან როგორც გენომის განსაზღვრული პრომოტორული უბნების ექსპრესიისათვის აუცილებელი სტრუქტურები [6].

დნმ-გადაღუნვების ატომურ საფუძვლებს გარკვეულწილად ხსნიან “უახლოესი

მეზობლისა” (“nearest neighbor”) და “პერიფერიული ურთიერთქმედების” (“distal interaction model”) მოდელები. პირველი მათგანი გადალუნვას ტრიფონოვის “სოლისებრი მოდელის” ჭრილში განიხილავს. ამ მოდელის თანახმად გადალუნვის შესაქმნელად საკმარისია შესაბამის ფუძეთა წყვილს შორის დიდი სოლის კუთხის არსებობა. პრინციპული მნიშვნელობა არ ენიჭება მაგალითად, dAA დინუკლეოტიდი დამოუკიდებელი ერთეულია თუ გრძელი ადენინური უბნის განსაზღვრული ნაწილია. გადამწყვეტია უშუალოდ dAA დინუკლეოტიდში დეტექტირდებოდეს მასშტაბური სოლის კუთხე. ამ მოდელის საწინააღმდეგოდ მოქმედებს ზოგიერთი ექსპერიმენტალური მონაცემი. კერძოდ, ნანახი იქნა, რომ dA_4 - თან შედარებით dA_3 უბნები უფრო მცირე, მაგრამ ნათლად გამოხატული გელ-მიგრაციული ანომალიით ხასიათდებიან [20, 21].

“პერიფერიული ურთიერთქმედების” მოდელის თანახმად, დნმ-ის სპეციფიკურ ლოკალურ სტრუქტურაზე შესაძლოა გავლენას ახდენდეს არა უშუალოდ გვერდით მდებარე, არამედ შედარებით შორ დისტანციაზე არსებული თანმიმდევრობა. ასეთ შემთხვევაში გადალუნვის წარმოსაქმნელად აუცილებელია, რომ dA_n ნუკლეოტიდში $n \geq 4$. ამასთან უნდა აღინიშნოს, რომ ამგვარი თანმიმდევრობებისათვის ორივე განხილული მოდელი წარმატებულად გამოიყენება. “უახლოესი მეზობლისა” და “პერიფერიული ურთიერთქმედების” მოდელებს შორის არსებული განსხვავებები ნათლად ჩანს მხოლოდ ისეთ dA_n თანმიმდევრობებში, რომლებშიც $n \leq 4$ [20, 21]. მოგვიანებით ნაჩვენები იქნა, რომ $(A_5-6N_5)_n$ თანმიმდევრობის მქონე მოლეკულაში N_5 უბანი, რომელიც არაადენინური ფუძეებითაა წარმოდგენილი, გარკვეულწილად ($\pm 10\%$) ზემოქმედებს თანმიმდევრობა-დამოკიდებული გადალუნვის წარმოქმნაზე [37].

Calladin-ისა და თანაავტორების მიხედვით დნმ-ის მოლეკულის სამგანზომილებიანი გადალუნვა (k) განიხილება, როგორც მოცემული სიგრძის დნმ-ის ბრუნვის კუთხე. მაგალითად, ერთი ფუძე წყვილისათვის გადალუნვა 1° -ის, 10 ფუძეთა წყვილის მქონე დნმ-ში კი 10° -ის ტოლია. გადალუნვის ეს განმარტება ასევე მოიცავს დნმ-ის ნებისმიერი მცირე სეგმენტის გადალუნვასაც. მაგ., ერთი სპირალური ბრუნი 10 ფწ სიგრძის ფრაგმენტზე. ბუნებაში დნმ გადაილუნება ლოკალური, ორგანზომილებიანი გადალუნვიდან ორი ან სამი სპირალური ბრუნის მოშორებით. ასეთ შემთხვევაში, უკვე არსებული გადალუნვის სიბრტყე გარკვეული კუთხით გადაიგრძელება და მიიღება სამგანზომილებიანი სტრუქტურის მქონე

დნმ-ის სპირალი. სიბრტყეში დნმ-ის ორგანზომილებიანი გადალუნვა თანმიმდევრულ ფუძეთა წყვილებს შორის შესაბამისი სოლის კუთხის ჩართვით მიიღება [9].

ერთის მხრივ, გადალუნვის ხარისხისა და, მეორეს მხრივ, დნმ-ის მთლიანი მოლეკულის ხვევის (t -მარჯვნივ ან მარცხნივ მიმართული ხვევა), შაქარ-ფოსფატური ჯაჭვების ლოკალურ დონეზე დაგრეხვისა (T) და ფუძეთა წყვილების ბრუნვის (R) განსაზღვრით შესაძლებელია დნმ-ის ნებისმიერი მცირე სეგმენტის სტრუქტურისა და ფორმის დახასიათება.

დნმ-ის მთლიან ხვევაში (t) იგულისხმება ყოველი სიგრძის ერთეულზე 360° -საგან განსხვავებული ბრუნვის მქონე სპირალური დახვევა (მარჯვნივ ან მარცხნივ). t გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$t = nT - 360^\circ \quad (2)$$

სადაც, n ფუძეთა წყვილების რიცხვს გამოხატავს; 360° აღნიშნავს, რომ განსაზღვრული სიგრძის დნმ-ფრაგმენტი სპირალის ყოველ ვერტიკალურ დისტანციაზე (სუპერსპირალის სიმაღლე) 360° -ით იხვევა. t -ს მნიშვნელობაზეა დამოკიდებული ორმაგი სპირალი მარჯვნივ იქნება დახვეული თუ მარცხნივ. უოტსონ-კრიკის მოდელის B-მარჯვნივ დახვეული დნმ-ის მისაღებად, საჭიროა, რომ 10 ფწ სიგრძის მქონე დნმ-ის ცალკეული ფრაგმენტები გარკვეულ პირობებს აკმაყოფილებდნენ. კერძოდ, T ანუ ფუძეთა წყვილების ერთმანეთის მიმართ მარჯვნივ მიმართული ხვევა ტოლი უნდა იყოს 37° -ის. შესაბამისად, ფორმულა 1-დან გამომდინარე:

$$t = nT - 360^\circ = (10 \times 37^\circ) - 360^\circ = +10^\circ \quad (3)$$

მიიღება t - ს დადებითი მნიშვნელობა, რაც ნიშნავს, რომ 10 ფწ სიგრძის დნმ-ფრაგმენტების დაკავშირებით წარმოქმნილი სუპერსპირალი მარჯვნივაა დახვეული. იმ შემთხვევაში, როცა დნმ-ის სპირალის ვერტიკალურ სიბრტყეში გადალუნვის ხარისხი t -ს მნიშვნელობაზე მეტია, სუპერსპირალი ბრტყელია. საწინააღმდეგო შემთხვევაში კი, როცა $k < t$, სპირალი იმდენად გაჭიმულია, რომ მცირე სუპერსპირალური რხევის მქონე სწორ ხაზს ჰგავს [9].

დნმ-ის მოლეკულაში არსებული გადაღუნული სტრუქტურების ცვლილება შესაძლოა ინდუცირებულ იქნეს მათზე ტემპერატურისა და სხვადასხვა ქიმიური ელემენტების ზემოქმედებით. იგივე შედეგით მთავრდება შესაბამისი ფუძეთა წყვილების მუტაციური ცვლილებები A და ა. შ. სტრუქტურის ცვლილება თავისთავად მოიცავს ფუნქციური აქტივობის დაქვეითებას, რაც უარყოფითად აისახება უჯრედისა და მთლიანი ორგანიზმის ცხოველქმედებაზე.

დნმ-ის მოლეკულებში გადაღუნვათა უმრავლესობა გენომის მრავალჯერად განმეორებად სატელიტურ თანმიმდევრობებში გვხვდება. მათი სტრუქტურისა და ფუნქციის აღწერას შემდეგი თავები დაეთმობა.

6. გადაღუნვები სატელიტური დნმ-ის მოლეკულაში

დნმ-გადაღუნვის ფორმირებისათვის აუცილებელი ადენინით მდიდარი უბნები მრავალ სატელიტურ თანმიმდევრობაშია აღმოჩენილი. მათ რიცხვს მიეკუთვნებიან კრევეტების, ხოჭოების, ჭიაყელას, სალამანდრას, ქათმის, თაგვის, ხილის ბუზისა და მტრედის სტ-დნმ-ის მონომერები. მათ შორის, მაგ., ქათმის W ქრომოსომაში ნაპოვნი EcoR-1 სატელიტური თანმიმდევრობაში 70 - 90%-ს გადაღუნვების მქონე დნმ-მოლეკულები შეადგენენ. ადენინური უბნები ნაპოვნიასევე საფუერების განმეორებად დნმ-შიც. თითოეული ამ თანმიმდევრობისათვის გელ-მიგრაციული ანომალია იქნა ნანახი, რაც თავის მხრივ მოლეკულაში გადაღუნვის არსებობზე მიანიშნებს [2, 5, 28, 81].

მცენარეებში პირველად გადაღუნვების არსებობა ციტრუსების ველური სახეობა *Citrus ichangensis*-ის სტ-დნმ-ის მაგალითზე დადგინდა. *C. ichangensis*-ის, თაგვისა და აფრიკული მწვანე მაიმუნის (AGM) სტ-დნმ-ის ოლიგომერების ელექტროფორეზულმა და კომპიუტერულმა შესწავლამ ექსპერიმენტულად დაადასტურა მათში გადაღუნვების არსებობა. [იხ.,ქვ.]. BEN კომპიუტერული პროგრამის დახმარებით სამივე სტ-დნმ-ის მონომერებისა და ოქტამერების ორ-განზომილებიანი პროექციები აიგო. მიღებულმა შედეგებმა ცხადყვეს, რომ მონომერში არსებული სუსტი გადაღუნვა, უფრო მაღალ ოლიგომერულ ფორმაში გადასვლისას სტ-დნმ-ში დახვეული ფორმის წარმოქმნას განაპირობებს. კვლევის ავტორთა მიერ გამოითქვა მოსაზრება, რომლის თანახმად

მონომერში არსებული გადაღუნვა ტანდემური განმეორებების მქონე მოლეკულაში მესამეული სტრუქტურის შექმნას განაპირობებს. ეს უკანასკნელი სატელიტურ თანმიმდევრობას სოლენოიდის მსგავსად დაგრეხილ ორმაგი სპირალის კონფიგურაციას აძლევს. აღნიშნულ ფორმას დაგრეხილი ორმაგი სპირალი ანუ CDH-ფორმა (*Coiled double helix*) ეწოდა [4].

მოგვიანებით გელ-ელექტროფორეზული ანომალია და სპეციფიკური მესამეული სტრუქტურა *C. ichangensis*-ის სატელიტურ ჰექსამერებშიც იქნა ნანახი. აღმოჩნდა, რომ ჰექსამერის სოლენოიდური ფორმა ორი სპირალური ხვიას მატარებელია. კომპიუტერული მოდელირების გამოყენებით დადგინდა ასევე, რომ სოლენოიდის პარამეტრები ანუ ფუძეთა წყვილების დიამეტრი და რიცხვი, ნუკლეოტიდურ ჯაჭვში A - მდიდარი უბნების თანმიმდევრული განლაგებით განისაზღვრება. კომპიუტერული კვლევის მონაცემების მყარი მტკიცებულება იქნა მიღებული ელექტრონული მიკროსკოპით. მიკროსკოპულ კვლევაში საკონტროლო მოლეკულებად პრასის (*Allium porrum*) ქლოროპლასტური დნმ-ის მოლეკულები გამოიყენებოდა. დნმ-ის ეს თანმიმდევრობა ტ-რნმ-ის ორ და ატფ-აზური აქტივობის ერთ-ერთი სუბერთეულის გენებს შეიცავენ. *C. ichangensis*-ის ჰექსამერს, საკონტროლო მოლეკულებისაგან განსხვავებით, სხვადასხვა დიამეტრის, მცირე რგოლების ფორმა აღმოაჩნდა. კვლევის ავტორთა აზრით წრიული ფორმები ჰექსამერში არსებულ CDH-ფორმას ასახავენ [5]. მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით გამოითქვა მოსაზრება, რომლის თანახმადაც, სავარაუდოდ, სწორედ CDH - მესამეული სტრუქტურა უდევს საფუძვლად კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის კომპაქტური სტრუქტურის წარმოქმნას ბირთვში [4, 5, 26, 28, 115].

სტაბილური სოლენოიდური გეომეტრიის მქონე გადაღუნვაა ნაპოვნი ზღვის კრევეტის (*Artemia franciscana*) დნმ-ის მოლეკულის *Alu I* რესტრიქციულ ფრაგმენტში [10]. ნაჩვენებია, რომ სახეობა *Palorus*-ის სტ-დნმ-ს გადაღუნვის პოტენციური საშუალებები აქვს და შესაძლოა აღნიშნულს გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭებოდეს ჰეტეროქრომატინის კომპაქტიზაციაში [77].

განსაზღვრულ იქნა, რომ უჯრედებში კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის AT-სპეციფიკური ნივთიერებებით დამუშავება სტრუქტურის დეკონდენსაციას იწვევს. [79]. იგივე ეფექტი მიიღწევა 4,6-დიამიდინო-2-სფენილინდოლის (1-5 μ mkg/ml) (DAPI)

გამოყენებითაც. ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მიმდინარეობისას აგაროზის გელის ბუფერში DAPI-ის დამატება PAAG-ში ანომალური მიგრაციის მკვეთრ შემცირებას იწვევს. ამასთან გადაღუნვის არმქონე ფრაგმენტების ძვრადობა უცვლელი რჩება. იგივე ეფექტის მისაღებად გაცილებით მცირე რაოდენობით DAPI-ია საჭირო მისი უშუალოდ ელექტროფორეზულ ბუფერში დამატების შემთხვევაში [28].

უნდა აღინიშნოს, რომ მართალია ადენინით მდიდარი უბნების არსებობა სტ-დნმ-ის მოლეკულაში თითქმის ყოველთვის კორელირებს შესაბამის დნმ-გადაღუნვასთან, მაგრამ ყოველთვის არ მჟღავნდება შენელებული გელ-მიგრაციით.

ელექტროფორეზული და კომპიუტერული მოდელებით შესწავლილ იქნა 57 სხვადასხვა წარმოშობის სატელიტურ დნმ. ყველა მათგანი ხასიათდება სპეციფიკური გელ-მიგრაციითა და მოლეკულაში გადაღუნვის არსებობით. ამასთან, ზოგიერთი თანმიმდევრობა, მაგ., კუს (*Terrapene carolina*), ხვლიკის (*Varanus komodoensis*), სვავისა (*Cathartes aura*) და ძროხის (*Bos taurus*) GC-მდიდარი სტ-დნმ ჩვეულებრივზე სწრაფად მოძრაობს PAAG-ში [28]. სწრაფი მოძრაობა ნანახია საფუვრების ქრომოსომების AT-მდიდარი ფრაგმენტებისთვისაც [1]. ხარის სტ-დნმ-ის სწრაფი ელექტროფორეზული მოძრაობა არადენატურიზებულ PAAG-ში ტემპერატურაზე დამოკიდებული ხასიათისაა. გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭება გელის პროცენტულობასაც. ხარის სტ-დნმ-ის შემადგენელი F-ფრაგმენტი 7,5%-ან PAAG-ში სწრაფად მოძრაობს დაბალ ტემპერატურაზე. ტემპერატურის მომატებასთან ერთად აჩქარება ქრება. მოძრაობის ცვლილების პრინციპი თვისობრივად იგივეა, რაც შენელებული ძვრადობის მქონე ფრაგმენტების უმრავლესობაში: ძვრადობა სტაბილურია დაბალ ტემპერატურებზე, მაღალზე კი თანდათანობით იცვლება. გელის პოლიაკრილამიდის კონცენტრაციის მატებასთან ერთად სტ-დნმ-ის K-ფაქტორის მნიშვნელობა მატულობს – 0,99-დან 1,06-ის ფარგლებში. ჩვეულებრივ, შენელებული მოძრაობის შემთხვევაში K-ფაქტორის მატება კორელირებს შენელების ზრდასთან. კვლევის ავტორთა აზრით, გელში სტ-დნმ-ის აჩქარებული მოძრაობის მიზეზს სავარაუდოდ, თანმიმდევრობაში არსებული პურინ-პირიმიდინის ფუძეების ე.წ. სტეკინგ-ურთიერთობები წარმოადგენენ [97]

პურინული წყობის მქონე სატელიტური თანმიმდევრობების CD-სპექტროსკოპიული მეთოდით შესწავლამ, მათში სპეციფიკური A-ფორმის მსგავსი სტრუქტურები გამოავლინა.

შესაძლოა აღნიშნული სტრუქტურები იწვევდნენ სტ-დნმ-ის ნაპოვნ სწრაფ მიგრაციას PAAG-ში. სავარაუდოდ, გარკვეული მნიშვნელობა დნმ-ის რიგიდულობასაც ენიჭება [65].

ჩვეულებრივ, PAAG-ში ანომალური ელექტროფორეზული ძვრადობით ხასიათდება ასევე ორჯაჭვიანი რნმ-ის მოლეკულა. ნანახი იქნა, რომ 2,5%-ან აგაროზის გელში და 8%-ან PAAG-ში (19:1 აკრილამიდი : N,N - მეთილენბისაკრილამიდი), ორჯაჭვიანი რნმ ორჯაჭვიან დნმ-ზე სწრაფად მოძრაობს [31].

დასკვნის სახით, უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგადად, დნმ-ის მოლეკულაში არსებული გადაღუნვები არა მხოლოდ გენომის ფუნქციური აქტივობისათვისაა მნიშვნელოვანი, არამედ მათ სტრუქტურული დატვირთვაც ენიჭებათ. ზემოთ ნახსენები C-პარადოქსის მოვლენა, სტრუქტურული და რეგულატორული გენების დნმ-თანმიმდევრობები მასშტაბურ ზომებს აღწევენ. უჯრედის ცხოველქმედებისათვის აუცილებელია გენეტიკური მასალის მოთავსება (ჩატევა) მინიმალური ზომის ბირთვში. გადაღუნვა არის დნმ-ის მოლეკულის სწორედ ის სტრუქტურული თავისებურება, რომელიც გენომის კომპაქტიზაციას უზრუნველყოფს. ლიტერატურაში არსებული მონაცემების თანახმად, დაახლოებით 4სმ სიგრძის დნმ, კომპაქტიზაციის შედეგად 10 μ m სიგრძისა და 10 μ m დიამეტრის მქონე სტრუქტურად გარდაიქმნება [54, 69, 83].

ზემოთქმულიდან გამომდინარე ნათელი ხდება თუ რამდენად მნიშვნელოვანია დნმ-ის გადაღუნული სტრუქტურების კვლევა.

III. ექსპერიმენტული ნაწილი

1. კვლევის მიზანი და ამოცანები

კვლევის ძირითად მიზანს თავისა (*Mus musculus*) და ციტრუსოვანი მცენარეების (*Poncirus trifoliata*, *Citrus limon* (ჯიში ახალქართული) სატელიტურ დნმ-ში არსებული გადაღუნვების შესწავლა წარმოადგენდა. კერძოდ, მნიშვნელოვანი იყო დაგვედგინა დამახასიათებელია თუ არა აღნიშნული სატელიტური დნმ-ის მოლეკულებისათვის ძვრადობის ანომალია როგორც ტემპერატურის ფუნქცია, რაც იქნებოდა მიმანიშნებელი მათ

მოლეკულებში გადალუნვების არსებობისა. ამ მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. თავვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა ბირთვული დნმ-ის გამოყოფა და მისი რესტრიქციული ანალიზი სატელიტური ოლიგომერების მიღების მიზნით.
2. თავვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სატელიტური დნმ-ის მონომერების ელექტროფორეტული ძვრადობის შესწავლა სხვადასხვა პირობებში.
3. თავვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სატელიტური დნმ-ის მონომერებში არსებული გადალუნვების შესწავლა ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდით.
4. თავვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სატელიტური დნმ-ის მონომერების განსხვავებული სივრცითი ფორმების გამოვლენა.
5. თავვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სატელიტური დნმ-ის მონომერების სივრცითი ფორმების ცვლილებებისა და ურთიერთგადასვლების შესწავლა ტემპერატურის ცვალებადობისა და იონური ძალის ზეგავლენით.

2. კვლევის მეთოდები

2.1. დნმ-ის გამოყოფა

თავვის ღვიძლიდან და ციტრუსოვანი მცენარეების ახალგაზრდა მწვანე ფოთლებიდან ბირთვული დნმ-ის გამოყოფა სწარმოებდა ბერიძის მიერ აღწერილი მეთოდის მიხედვით [111].

საწყის ეტაპზე საკვლევი მასალის ჰომოგენიზაციას ვახდენდით შემდეგი შედგენილობის ბუფერში: საქაროზა - 0.5 M, EDTA - 0.005 M, Tris-HCl - 0.05 M, pH 8.0. მიღებულ ჰომოგენატს ვლექავდით ცენტრიფუგირებით K23-ზე 4500 ბრ/წთ 20 წთ-ის განმავლობაში. გამოყოფილ ბირთვულ ნალექს ვხსნიდით 0.15 M NaCl-ის, 0.1 M EDTA-სა და 2%-ანი SDS-ის (ნატრიუმის დოდეცილსულფატი) შემცველ ბუფერში, pH 8.0. ბირთვების გარსების სრული ლიზისისათვის სუსპენზიას ვაცხელებდით 60°C-ზე 10 წთ და ვანჯღრევდით 30 წთ-ის განმავლობაში. დეპროტეინიზაციის მიზნით სუსპენზიას ვამატებდით თანაბარი რაოდენობის ქლოროფორმ-იზოამილის სპირტს (24:1). დეპროტეინიზაციას ვახდენდით უწყვეტი ნჯღრევის პირობებში 1 სთ-ის განმავლობაში. შემდეგ სუსპენზიას

ვაცენტრიფუგირებდით 20 წთ 24-ზე 15000 ბრ/წთ-ის პირობებში და განვაგრძობდით დეპროტეინიზაციას ინტერფაზაში ცილოვანი ფენის სრულ გაქრობამდე. დნმ-ის გამოსალექად წყლის ფენას ვუმატებდით 2.5 მოცულობა ეთილის სპირტს. წვირზე დახვეულ დნმ-ის ძაფებს ვხსნიდით ბუფერში: NaCl - 0.015 M, ნატრიუმის ციტრატი - 0.0015 M, pH 7.0. თავის დნმ-ის შემთხვევაში ფენოლური დეპროტეინიზაციისათვის დნმ-ს ხსნარს ვუმატებდით თანაბარი მოცულობის ტრის-ფენოლის ხსნარს. 10 წთ-ის განმავლობაში ნარევს ვაცენტრიფუგირებდით K24-ზე 15000 ბრ/წთ. სუპერნატანტს ვუმატებდით 0.1 მოცულობა 3 M-ის ნატრიუმის აცეტატს და 2.5 მოცულობა ეთილის სპირტს. წვირზე დახვეულ დნმ-ის ძაფებს ვხსნიდით 0.1 x SSC-ში (1 x SSC - 0.15 M NaCl, 0.015 M Na-ის ციტრატი, pH 7.0). რნმ-ის მოსაცილებლად დნმ-ის ხსნარს ვუმატებდით ფერმენტ რნმ-აზას (50 მკგ/მლ) 37°C-ზე 30-60 წთ-ის განმავლობაში. დნმ-აზის მინარევების მოსაცილებლად რნმ-აზას წინასწარ ვაცხელებდით 100°C-ზე 10 წთ. საბოლოოდ დნმ-ს ვლექავდით ეთილის სპირტით, ვხსნიდით 0.1 x SSC-ში და რნმ-ის სელექტურად დალექვისათვის წვეთ-წვეთობით ვამატებდით 0.54 მოცულობა იზოპროპანოლს. დნმ-ის ძაფებს ვრეცხავდით 70 - 80 - 96%-იანი ეთილის სპირტით და ვხსნიდით 0.1 x SSC-ში. მიღებული დნმ-ის პრეპარატს ვინახავდით -20°C-ზე.

2.2 რესტრიქციული ანალიზი

სატელიტური დნმ-ის ოლიგომერების მისაღებად ვახდენდით ბირთვული დნმ-ის არასრულ ჰიდროლიზს სხვადასხვა რესტრიქციული ენდონუკლეაზებით.

თავის ღვიძლიდან მიღებული ბირთვული დნმ-ის არასრულ ჰიდროლიზს ვაწარმოებდით რესტრიქციული ენდონუკლეაზა *Sau96 I*-ის (BioLabs) საშუალებით. კერძოდ, 5μგ დნმ-ს ვუმატებდით 10 ერთეულის ოდენობის ფერმენტს და ვამუშავებდით 37°C-ზე 30 წთ-ის განმავლობაში.

ციტრუსოვანი მცენარეების ახალგაზრდა მწვანე ფოთლებიდან მიღებული ბირთვული დნმ-ის არასრულ ჰიდროლიზს ვაწარმოებდით რესტრიქციული ენდონუკლეაზა *Sty I*-ის (Promega) საშუალებით. 5μგ დნმ-ს ვუმატებდით 1.6 ერთეულის ოდენობის ფერმენტს და ვამუშავებდით 37°C-ზე ასევე 30 წთ-ის განმავლობაში.

2.3. სატელიტური დნმ-ის ელექტროფორეზი აგაროზისა და პოლიაკრილამიდის

გელში

რესტრიქციული ანალიზით მიღებული დნმ-ის ფრაგმენტების ანალიზს ვახდენდით თავდაპირველად აგაროზის და შემდეგ პოლიაკრილამიდის გელში (PAAG).

ელექტროფორეზს 2%-იან აგაროზის გელში ვაწარმოებდით ჰორიზონტალურ ბლოკებზე (10 x 20 x 0.3 სმ), ოთახის ტემპერატურაზე სტანდარტულ ტრის-აცეტატულ ბუფერში, pH 8.3 [114]. შეღებვისათვის საჭირო 1 მკგ/მლ კონცენტრაციის ეთიდიუმბრომიდი წინასწარ შეგვქონდა გელში. ფოტოგრაფირება სწარმოებდა ტრანსილუმინატორ Chroma 43 (Helling)-ის მეშვეობით.

ელექტროფორეზს 5% პოლიაკრილამიდის გელში ვაწარმოებდით LKB-ს აპარატის მეშვეობით (16 x 18 x 0.2 სმ), სხვადასხვა ტემპერატურაზე სტანდარტულ ტრის-ბორატულ ბუფერში, pH - 8.3, 133-136 V-ის პირობებში. ელექტროფორეზის ხანგრძლივობა იცვლებოდა ტემპერატურის ცვლილების შესაბამისად. გელს შესაღებად ვათავსებდით ეთიდიუმბრომიდის ხსნარში (1 მკგ/მლ) 10 წთ-ის განმავლობაში.

სტ-დნმ-ის მოლეკულების ძვრადობის შესასწავლად სხვადასხვა იონური ძალის პირობებში პოლიაკრილამიდის გელსა და ელექტროფორეზულ ბუფერს ემატებოდა 0.015 M და 0.15 M-ის NaCl.

დნმ-ის ფრაგმენტების მოლეკულური წონა განისაზღვრებოდა Southern-ის მიხედვით [89]. მოლეკულების სტანდარტული მოძრაობიდან გადახრა ანუ K-ფაქტორი, განიხილებოდა როგორც გელში დნმ-ის ძვრადობით დადგენილი სიგრძის შეფარდება მოლეკულის რეალურ სიგრძესთან. ნორმალურად მოძრავი დნმ-ფრაგმენტების K-ფაქტორი ერთის, ანომალურად შენელებლი ძვრადობის მქონე მოლეკულებისათვის კი ერთზე მეტის ტოლია. K-ფაქტორის გაზომვის ცდომილება $\pm 0,01$ -ს შეადგენდა.

2.4. სატელიტური დნმ-ის ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზი

სტ-დნმ-ის ოლიგომერების ორგანოზომილებიან ელექტროფორეზს ვაწარმოებდით ანდერსონის მეთოდით [1]. თავდაპირველად დნმ-ფრაგმენტებს ვანაწილებდით 2%-იან აგაროზის გელში ოთახის ტემპერატურაზე. ელექტროფორეზის დასრულების შემდეგ აგაროზის გელიდან ვჭრიდით ელექტროფორეტულ ბილიკს და ვათავსებთ ჰორიზონტალურად 7%-ან PAAG-ზე. ელექტროფორეზს ვაწარმოებდით 4°C-ზე მთელი ღამის განმავლობაში. გელის შეღებვასა და ფოტოგრაფირებას ვახორციელებდით ზემოდაღწერილი პროცედურების მიხედვით.

2.5. სატელიტური დნმ-ის სივრცითი სტრუქტურების მიღება

მონაცემთა ბაზაში არსებული დნმ-კლონების [26] გასაშუალოებით ვღებულობდით ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს, ასევე *C. ichangensis*-ისა და *C. sinensis*-ის (ფორთოხალი) ე.წ. კონსენსუსს ანუ გასაშუალოებულ თანმიმდევრობებს. თავისა და ციტრუსოვანი მცენარეების სტ-დნმ-ის ოლიგომერების სივრცით სტრუქტურებს ვაგებდით Wheeler-ის კომპიუტერული პროგრამით _“DNACurve”.

3. კვლევის ობიექტები

კვლევის ობიექტებს წარმოადგენდნენ თავისა (*Mus musculus*) და ციტრუსოვანი მცენარეების (ველური - *Poncirus trifoliata* და კულტურული სახეობა - *Citrus limon* (ჯიში ახალქართული)) სტ-დნმ-ის თანმიმდევრობები.

თავის სტ-დნმ. თავის სტ-დნმ ერთ-ერთი ყველაზე დეტალურად შესწავლილი მოლეკულაა. იგი ბირთვული წარმოშობის AT - მდიდარი სატელიტური თანმიმდევრობაა და გენომის ~ 9%-ს შეადგენს. გრადიენტული ულტრაცენტრიფუგირებით დადგინდა, რომ სტ-დნმ-ის სიმკვრივე 1,690 გ/სმ³-ს შეადგენს და ძირითადი კომპონენტის სიმკვრივეზე ნაკლებია (1,702 გ.სმ). 234 ფწ სიგრძის მონომერი ოთხ შიდა განმეორებას შეიცავს. სამი მათგანი 58 ფწ სიგრძის, მეოთხე კი 60 ფწ სიგრძის ფრაგმენტია. მოლეკულაში ნაპოვნია 19 AT - მდიდარი უბანი. თითოეული მათგანი სამ და მეტ ადენინს შეიცავს. განმეორებადი ერთეულის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის გაშიფვრამ ცხადყო, რომ შიდა

განმეორებების 78-ე და 102-ე პოზიციებში G-ისა და T-ის დამატებითი ფუძეები მოიპოვებიან. ამავე ადგილას დეტექტირდება მონომერის საერთო სიგრძის 1/8-ის შესაბამისი მიკროგანმეორებების არსებობაც. ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობის ~ 3%-ში ციტოზინი მეთილირებულია (იხ. სურ. 22).

In situ ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ნაჩვენებია, რომ სტ-დნმ ლოკალიზებულია გენომის ყველა ქრომოსომის ცენტრომერული ჰეტეროქრომეტინის უბნებში. გამონაკლისი მხოლოდ Y ქრომოსომაა. ცენტრომერებში სტ-დნმ ორი დამოუკიდებელი, მაჟორული და მინორული სატელიტების სახით მოიპოვება. მინორული სტ-დნმ, მაჟორულთან შედარებითს აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხრთან უფრო ახლოსაა განლაგებული [45, 110].

თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერის რესტრიქციული ენდონუკლეაზა EcoR II-ით დამუშავებამ, მასში ნუკლეოტიდური წყობის პერიოდულობა გამოავლინა. აღმოჩნდა, რომ 234 ფწ განმეორებაში 9-18, 36-72, 110-130 და 220-260 ფწ სიგრძის ცალკეული ელემენტები გამოიყოფა. სავარაუდოდ, თითოეული მათგანი სტ-დნმ-ის ევოლუციურ ეტაპებს ასახავს. Southern-ის აზრით, აღნიშნულ ფრაგმენტებს შორის მიმდინარე ე.წ. “ჭადრაკულმა” კროსინგოვერმა განაპირობა სტ-დნმ-ის ფორმირება თაგვის გენომში. “ჭადრაკული” კროსინგოვერის დროს პარალელურად განლაგებული მოლეკულებდან ერთ-ერთში რესტრიქციულ უბნებს შორის მანძილი ორჯერ კლებულობს, მეორეში კი 1,5-ჯერ მატულობს [110].

ელექტრონულმიკროსკოპული და ელექტროფორეზული კვლევებით ნაჩვენებია თაგვის სტ-დნმ-ში გადაღუნვების არსებობა. Radic-ისა და თანაავტორების მიერ ჩატარებული კვლევა ერთ-ერთი პირველი იყო მათ შორის, რომელიც თაგვის სატელიტური დნმ-ის შესწავლას მიეძღვნა. ნანახი იქნა, რომ PAAG-ში თაგვის სტ-დნმ-ის შემცველი ყველა კლონირებული ფრაგმენტი, მათზე 4 წფ-ით მოკლე საკონტროლო მოლეკულებზე შენელებულად მოძრაობს. აღნიშნული მოვლენა მოლეკულაში გადაღუნვის არსებობაზე მიანიშნებს. *In vitro* ექსპერიმენტალურ პირობებში, სარეაქციო არეში დისტამინ A-ს (0,39 mM) შეყვანა შესამჩნევად ამცირებს თაგვის სტ-დნმ-ის ანომალურ მოძრაობას გელში. დადგენილია, რომ აღნიშნული პრეპარატი გადაღუნვების გასწორებას უზრუნველყოფს. თაგვის უჯრედებზე AT-სპეციფიკური ნივთიერებებით ზემოქმედება *in vivo* პირობებში

ქრომოსომებში ცენტრომერული უბნების დაახლოებით ხუთჯერ დაგრძელებას იწვევდა. მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით დადგინდა, რომ თავგის სტ-დნმ შეიცავს გადალუნვებს და შესაბამისად სპეციფიკურ მეორეულ სტრუქტურას. ამასთან, სარწმუნოდ ჩაითვალა ჰეტეროქრომატინის კონდენსაციაში სტ-დნმ-ის მონაწილეობა [79].

Lica-მა და თანაავტორებმა ექსპერიმენტული კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით თავგის სტ-დნმ-ის ქრომატინის კონდენსაციაში მონაწილეობა დასაშვებად მიიჩნიეს. მათი ექსპერიმენტებით ნაჩვენები იქნა, რომ თავგის L929 მარკერული ქრომოსომის ზომის ცვლილება (დამოკლება-დაგრძელება) კორელირებს ქრომატიდების დაკავშირების წერტილში სატელიტური თანმიმდევრობების არსებობასთან. ნანახი იქნა ასევე, რომ AT-სპეციფიკური ნივთიერება Hoechst 33258-ით დამუშავებული უჯრედებიდან გამოყოფილი ქრომოსომები არ შეიცავდნენ კინეტოქორს. ეს უკანასკნელი მიტოზისა და მეიოზის დროს გაყოფის თითისტარას ძაფებს იკავშირებს [56].

თავგის სტ-დნმ-ში ადენინით მდიდარი 19 უბანიდან თითოეული, ადენინის სამი და მეტი ფუძითაა წარმოდგენილი. ნაჩვენები იქნა, რომ ამგვარი თანმიმდევრობის დახლეჩვა ჰიდროქსილის რადიკალებითაა (ტუტე არეში) შესაძლებელი. ამასთან, უშუალოდ ამოცნობის უბნების პერიოდულობა არ ემთხვევა A-უბნების პერიოდულობას თანმიმდევრობაში. განმეორებადი ერთეულის 5'TGGAATATGAA3' უბნისათვის ანომალური ელექტროფორეზული მოძრაობა და შესაბამისად გადალუნვაა დეტექტირებული [11].

ციტრუსოვანი მცენარეების სატელიტური დნმ. ბირთვულ გენომში ტანდემურად განმეორებადი თანმიმდევრობების დიდი რაოდენობით არსებობის გამო ციტრუსოვანი მცენარეები მოსახერხებელ ობიექტებს წარმოადგენენ სატელიტების კვლევისათვის. ამ მცენარეებში გენომის დაახლოებით 20%-ს განმეორებადი თანმიმდევრობები შეადგენენ. მონომერების უმეტესობა 181 ფწ სიგრძისაა და ადენინით (A) მდიდარ ხუთ უბანს შეიცავს. მათში GC - შემცველობა 60 - 68%-ის ტოლია, რაც ციტრუსოვანი გენომის საშუალო GC-შემცველობაზე მნიშვნელოვნად მეტია. CsCl- ის სიმკვრივის გრადიენტში მათი სიმკვრივე 1,711 - 1,717 გ/სმ³-ის ტოლია [110].

P. trifoliata გვარ *Citrus*-ის მონათესავე სახეობაა და ძირითადად ციტრუსოვან მცენარეთა სამყარო მასალად გამოიყენება. *Poncirus*-ისა და *Citrus*-ის შეჯვარებით მიღებული

ჰიბრიდები სტერილურები არიან. მათში, *P.trifoliata*-ას მსგავსად ორი სტ-დნმ-ია იდენტიფიცირებული (1,712 და 1,715 გ/სმ³) [110]. ამ ორი გვარის ფილოგენეტიკურ დენდროგრამში *Citrus*-ის შესაბამისი თანმიმდევრობები *Poncirus*-ის უმეტესობა თანმიმდევრობებისაგად დაცილებულია [26].

მეთილირების ხარისხი ზოგადად უმაღლეს მცენარეებში მაღალია. ლიმონის შემთხვევაში სატელიტური თანმიმდევრობის 24,1%-ია მეთილირებულია. ციტოზინის მოდიფიცირებული ფუძეების არსებობის მყარი მტკიცებულებები მიიღება რესტრიქციული ანალიზით. ენდონუკლეაზები *Bsp I* და *Hpa II*-ას ამოცნობის უბნები GGCG და CCGG თანმიმდევრობებს წრმოადგენენ. გამომდინარე იქიდან, რომ ციტოზინის მეთილირება CpG უბნებში ხდება, ლიმონის სტ-დნმ *Hpa II* - რესტრიქციული ფრაგმენტები *Bsp I*-თან შედარებით მეტად მეთილირებულები უნდა იყვნენ. მართლაც, ნანახი იქნა, რომ *Hpa II*-ით დამუშავებისას ლიმონის სტ-დნმ-ის რესტრიქციის ფრაგმენტები არ წარმოიქმნებიან [110].

ჩვეულებრივი ლიმონის (*Citrus limon (L.) Burm*) დნმ-ის *Mbo I* - რესტრიქციული ფრაგმენტები გელში კიბისებურად განლაგდებიან, რაც მათში სატელიტური თანმიმდებრობების არსებობაზე მიუთითებს. Southern-ის მეთოდით დადგინდა, რომ სტ-დნმ (CL 600) ~ 600 ფწ სიგრძის მოლეკულაა. *Sau3AI - MboI*-იზომიზომერის გამოყენებით დადგინდა, რომ CL 600-ის GATC ფრაგმენტში ციტოზინების უმეტესობა მეთილირებულია. ეს თანმიმდევრობა ასევე აღმოჩენილი იქნა სხვა ციტრუსოვან მცენარეებში. მათ რიცხვს მიეკუთვნებიან გრეიფრუტი, ფორთოხალი და დამორებული სახეობები – კინკანი და სამფურცლიანი ფორთოხალი [27].

ციტრუსოვანი მცენარეების სხვადასხვა სახეობებში სტ-დნმ-ის სპეციფიკური გელ-მიგრაციის მოვლენა პირველად აღმოჩენილი იქნა ბერიძისა და თანაავტორების მიერ. კერძოდ, ნანახი იქნა, რომ ციტრუსოვან მცენარეთა ველურ სახეობა *C.ichangensis*-ში სტ-დნმ-ის დიმერი (362 ფწ) და ტრიმერი (543 ფწ) 2%-ან აგაროზის გელში 360 ფწ და 540 ფწ სიგრძის ფრაგმენტების მსგავსად გადაადგილდებოდნენ. 3,5%-ან PAAG გელში ადგილი ჰქონდა მოძრაობის შენელებას. კერძოდ, ტრიმერი (543 ფწ) მოძრაობდა როგორც 587 ფწ სიგრძის მოლეკულა. მიღებული შედეგები *C. ichangensis*-ის სტ-დნმ-ში გადალუნვის არსებობის პირველ მაგალითს წარმოადგენდა [4]. მოგვიანებით გადალუნული სტრუქტურები ელექტრონული მიკროსკოპით ნანახი იქნა *C.ichangensis*-ის სატელიტურ ჰექსამერში (1,086

ფწ). ეს უკანასკნელი 5%-ან PAAG-ში, 4°C-ზე მოძრაობს, როგორც 1,3 kb მოლეკულა ანუ მოძრაობა მკვეთრად შენელებულია და შესაბამისად $K=1,18$. მაღალ ტემპერატურაზე (60°C) კი ჰექსამერი მოძრაობს, როგორც 1,1 kb-ის მოლეკულა, რაც მის რეალურ სიგრძეს შეესაბამება [5].

მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული *C. limon*-ისა და *C. sinensis*-ის შემთხვევაში. ამ მცენარეთა სატელიტური ჰექსამერები 5%-ან PAAG-ში საკონტროლო მოლეკულებთან შედარებით (*EcoR I/Hind III*-lambda DNA და 123 ფწ მარკერული დნმ) ნელა მოძრაობდნენ. მოსალოდნელისაგან განსხვავებული, აჩქარებული ძვრადობით ხასიათდებოდნენ *C. limon*-ისა და *C. sinensis*-ის მონომერები 4°C-ზე. გელ-მიგრაციული ანომალია ქრებოდა 60°C-ზე. მაღალ ტემპერატურაზე ანომალური ძვრადობის გაქრობა მოლეკულებში სპეციფიკური, გადაღუნვებით ინდუცირებული სტრუქტურის არსებობაზე მიაჩნებოდა [26].

IV. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განხილვა

1. თაგვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა (*P.trifoliata*, *C.limon*) სტ-დნმ-ის სოლიგომერების ელექტროფორეზი აგაროზის გელში

კვლევის საწყის ეტაპზე ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა სატელიტური ოლიგომერების მიღება თაგვისა და ციტრუსოვანი მცენარეების დნმ-ის ბირთვული ნიმუშებიდან. Hörz-მა და Altenburger-მა განსაზღვრეს, რომ თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერს გააჩნია რესტრუქციული ენდონუკლეაზა *Sau 96 I*-ის ერთი საიტი. მოგვიანებით, Fann-ისა და თანაავტორების მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ენდონუკლეაზა *Sty I*-ის აქვს ერთი უბანი ციტრუსოვანი მცენარეების სტ-დნმ-ის მონომერის შემადგენლობაში. ენდონუკლეაზა *Sau 96 I* ე.წ. ამოცნობის უბანის შედგენილობაშია შემდეგი ნუკლეოტიდური თანმიმდევობა:

5'... G?GNCC ... 3'

3'... CCNG>G ... 5'

ენდონუკლეაზა Sty I-ის ამოცნობის უბანი შეიცავს:

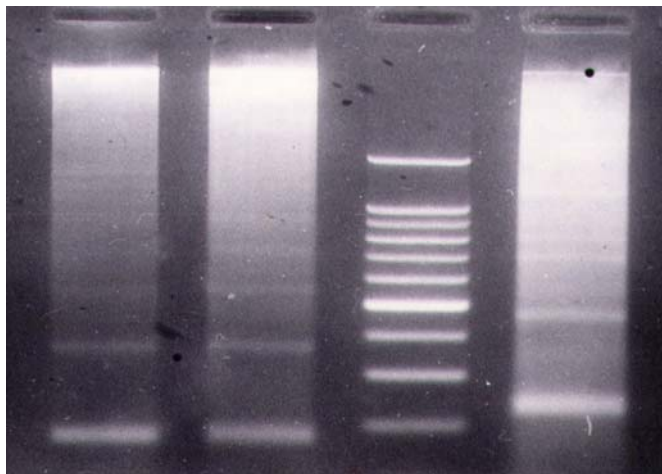
5'... C?C(A/T)(T/A)GG ... 3'

3'... GG(T/A)(A/T)C>C ... 5'

განისზღვრა, რომ როგორც თავის, ისე ციტრუსოვანი მცენარეების შემთხვევაში ოპტიმალური შედეგები შემდეგი თანაფარდობის დაცვით მიიღებოდა: 5µg დნმ, 10 ერთეულის ოდენობის ფერმენტი, 30 წთ 37° C-ზე.

ბირთვული დნმ-ის არასრული ჰიდროლიზის შედეგად მიღებული სტ-დნმ-ის ოლიგომერების იდენტიფიკაციისა და გელში მათი ძვრადობის შესწავლის მიზნით კვლევის საწყის ეტაპზე თავისა და ციტრუსოვანი მცენარეების სატელიტურ თანმიმდევრობებს ვანაწილებდით 2%-ან აგაროზის გელში. ელექტროფორეზი სწარმოებდა ოთახის ტემპერატურაზე, ტრის-აცეტატულ ბუფერში, pH 8.3. სურ. 3-ზე წარმოდგენილია სატელიტური ოლიგომერების (მონომერიდან - ჰექსამერამდე) განაწილება 2%-ან აგაროზის გელში.

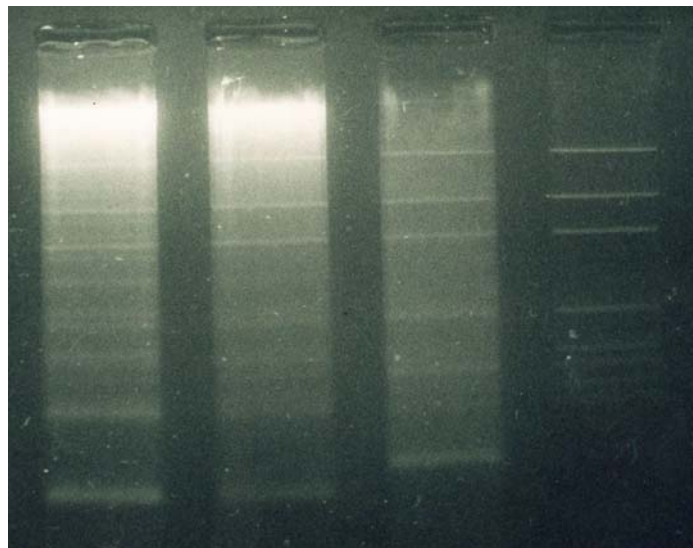
a b g d



სურ. 3. თაგვის, ლიმონისა და *P. trifoliata*-ას სატელიტური ოლიგომერების ელექტროფორეზი 2%-ან აგაროზის გელში. ა. - *P. trifoliata*, ბ. - ლიმონი, გ. - 100 ფწ მარკერული pEMG დნმ (Promega), დ. - თაგვი. დნმ-მარკერის 500 ფწ სიგრძის ფრაგმენტი ინტენსიური ზოლის სახითაა წარმოდგენილი.

სურათზე ნათლად ჩანს დნმ-ფრაგმენტების კიბისებური განლაგება გელში, რაც სტ-დნმ-სთვისაა დამახასიათებელი. დნმ-ის ფრაგმენტების ზომის დასადგენად გამოიყენებოდა pGEM მარკერული დნმ (Promega). ეს უკანასკნელი 15 განსაზღვრულ სიგრძის დნმ-მოლეკულას შეიცავს (36, 51, 65, 75, 126, 179, 222, 350, 396, 460, 517, 676, 1.198, 1.605, 2.645 ფწ). სურათზე 4, თაგვისა და ციტრუსოვანი მცენარეების სატელიტური ოლიგომერების თითოეულ ნიმუშს დამატებული აქვს $\approx 3\mu\text{l}$ -ის რაოდენობის pGEM მარკერული დნმ. ამგვარი კომბინირებულ ნიმუშებში სატელიტური და მარკერული დნმ-ფრაგმენტების ერთმანეთისაგან გასარჩევად მარკერული დნმ გელზე ცალკეც იქნა დატანილი.

ა ბ გ დ



სურ. 4. თაგვის, ლიმონისა და *P. trifoliata*-ას სატელიტური ოლიგომერების ელექტროფორეზი 2%-ან აგაროზის გელში. ა. - *P. trifoliata* + pEMG, ბ. -

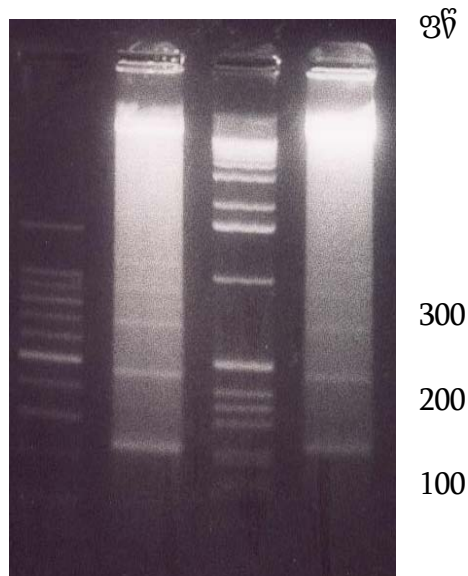
ლიმონი + pEMG, გ. - თავი + pEMG, დ. - 100 ფწ მარკერული pEMG
დნმ (Promega).

ფრაგმენტების ზომების დადგენამ გვიჩვენა, რომ ისინი სტ-დნმ-ის მონომერიდან-
ჰექსამერამდე მოლეკულებს შეესაბამებოდნენ. თავის შემთხვევაში მონომერი 234 ფწ
სიგრძის მოლეკულაა, ლიმონისა და *P.trifoliata*-სი კი 181 ფწ სიგრძის. სტ-დნმ-ის
დანარჩენი ოლიგომერული ფორმები ამ ციფრების ჯერადი სიგრძის მოლეკულებია:
თავის დიმერი 468 ფწ, ტრიმერი 702 ფწ, ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს დიმერი 362 ფწ,
ტრიმერი 543 ფწ და ა. შ.

თითოეული დნმ-ფრაგმენტისათვის განისაზღვრა K-ფაქტორის მნიშვნელობა.
აღნიშნულის შედეგად ნაჩვენებია, რომ დნმ-ის თითოეული ფრაგმენტი 2%-ან აგაროზის
გელში თავისი რეალური სიგრძის შესაბამისად მოძრაობს. კერძოდ, ლიმონისა და *P.*
trifoliata-ს მონომერებისათვის K=1 (182 ფწ). დიმერების K ასევე ერთი ტოლია (363 ფწ).
თავის მონომერისა და დიმერის K-ფაქტორიც ერთი და იგივე მნიშვნელობისაა და 1,01-ს
უტოლდება.

მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული თავის სატელიტური ოლიგომერების სხვა მარკერულ
დნმ-თან შედარებისას. ამ უკანასკნელების სახით გამოიყენებოდა 100 bp დნმ-ის (Promega)
და 1 Kb დნმ-ის ანაკრები (Invitrogen) (სურ. 5).

ა ბ გ დ

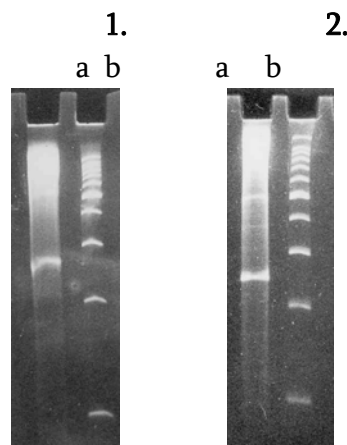


სურ. 5. თაგვის ოლიგომერების ელექტროფორეზი 2%-ან აგაროზის გელში სხვადასხვა მარკერული დნმ-ის თანხლებით. ა. _ 100 bp DNA Ladder (Promega), ბ. და დ. _ თაგვის დნმ, გ. _ დნმ-მარკერი: 1 Kb DNA Ladder (Invitrogen).

2. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერისა და დიმერის ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გელში

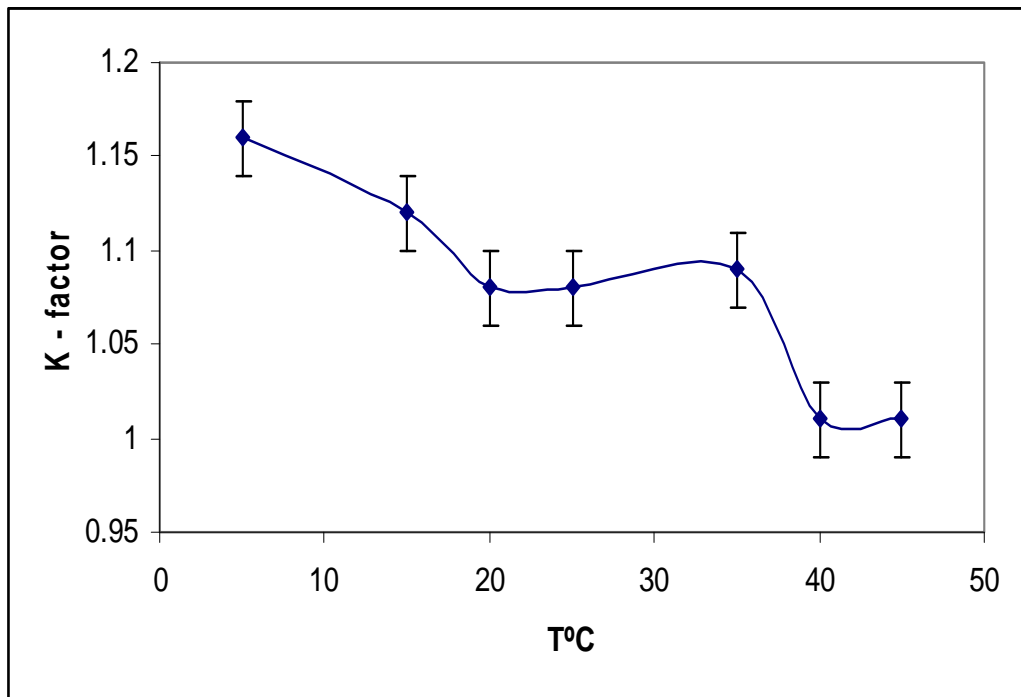
როგორც ზემოდ აღინიშნა, დნმ-ის მოლეკულებში არსებული გადაღუნვების დეტექტირება ძირითადად პოლიაკრილამიდის გელში ელექტროფორეზითაა შესაძლებელი. გამომდინარე აქედან, შესწავლილ იქნა თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერისა (234 ფწ) და დიმერის (468 ფწ) ძვრადობა 5% PAAG-ში დაბალი იონური ძალის პირობებში (სტანდარტულ ელექტროფორეზულ ბუფერში) სხვადასხვა ტემპერატურაზე. დაბალ ტემპერატურებზე გამოვლინდა ანომალურად შენელებული ძვრადობა, რაც ამ ფრაგმენტებში გადაღუნვის არსებობაზე მიუთითებს.

სურ. 6-ზე წარმოდგენილია თაგვის სტ-დნმ-ის დიმერის ძვრადობა 5%-ან PAAG-ში 5 °C და 45 °C-ზე. ნათლად ჩანს, რომ 45 °C-თან შედარებით, 5 °C-ზე დიმერი შენელებულად მოძრაობს.



სურ. 6. თავგის ბირთვული დნმ-ის ელექტროფორეზი 5%-ან PAAG-ში. 1. - 5 °C; 2. - 45 °C. ა. - თავგის ბირთვული დნმ; ბ. - 100 ფწ მარკერული pEMG დნმ (Promega). დნმ-მარკერის 500 ფწ სიგრძის ფრაგმენტი ინტენსიური ზოლის სახითაა წარმოდგენილი.

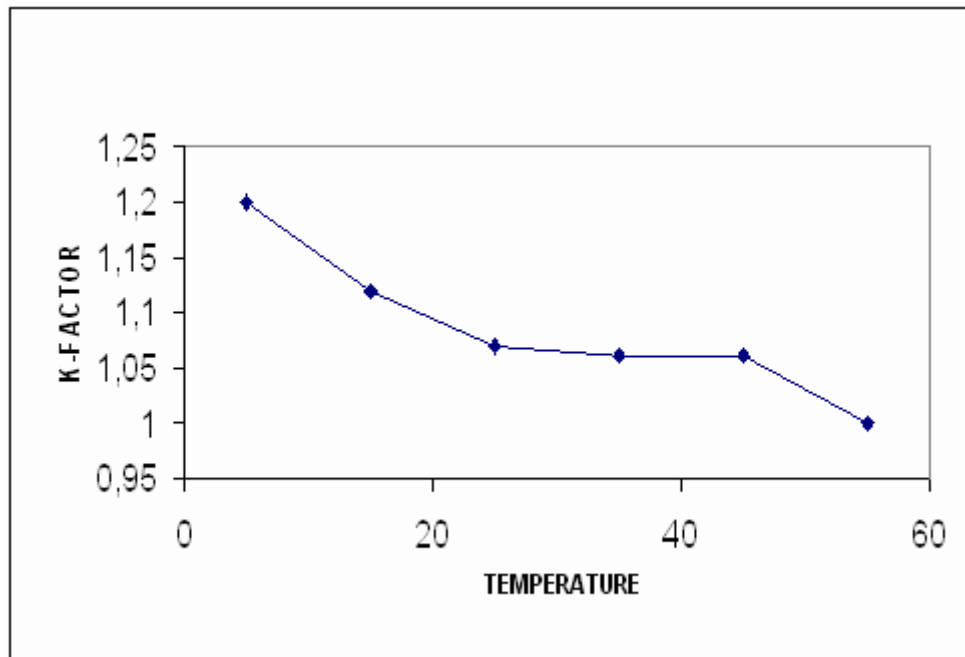
სურ. 7-ზე წარმოდგენილია თავგის სტ-დნმ-ის დიმერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდი. მრუდს სავარძლისებრი ფორმა აქვს და ტემპერატურის მატებასთან ერთად დაღმავალ მიმართულებას იძენს. K-ფაქტორის მნიშვნელობა 5° - 25°C ტემპერატურულ ინტერვალში თანდათანობით მცირდება (1.16-დან 1.09-მდე), 25° - 35°C ფარგლებში რჩება თითქმის უცვლელი (1.09-დან 1.10-მდე), ხოლო 45°C-დან საბოლოოდ კლებულობს K-ფაქტორის 1.02 - მნიშვნელობამდე.



სურ. 7. თავგის სტ-დნმ-ის დიმერის K-ფაქტორის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე.

თავგის სტ-დნმ-ის მონომერის თავდაპირველი შესწავლისას ნაჩვენები იყო, რომ K-

ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდი პრაქტიკულად არ განსხვავდებოდა დიმერის K-ფაქტორის მრუდისაგან. მონომერის შემთხვევაშიც მრუდს სავარძლისებრი ფორმა გააჩნდა, K-ფაქტორის სიდიდე კლებულობდა 5° -25° C (1.2-დან 1.05-მდე) ტემპერატურულ ინტერვალში, 25° - 35° C შეინიშნებოდა პლატო, ხოლო 55° C-ზე საბოლოოდ მცირდებოდა (სურ. 8).

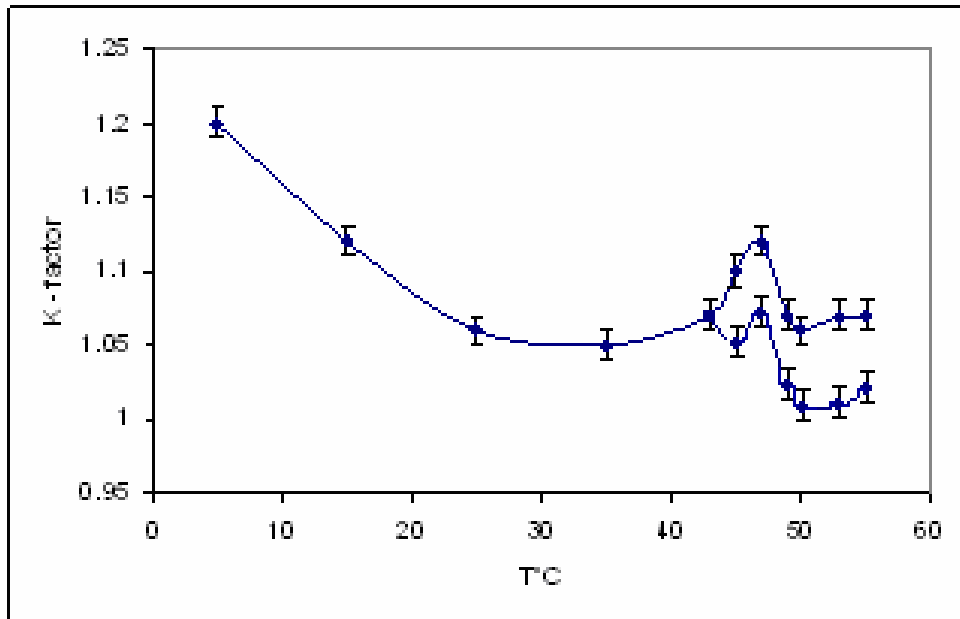


სურ. 8. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება დაბალი იონური ძალის პირობებში.

PAAG-ის გელში ელექტროფორეზისას დნმ-ის “კიბის” ძირითად ფრაგმენტებს შორის გარკვეულ შემთხვევებში შეინიშნება სუსტი შუალედური ზოლები, რომლებიც დნმ-ის არასრული ჰიდროლიზის პროდუქტებს წარმოადგენენ. მონომერის შემთხვევაში ასეთი ზოლი მხოლოდ მაღალ ტემპერატურაზე (40° C - ის ზევით) შეიმჩნეოდა. აღნიშნულმა ფაქტმა გვაფიქრებინა, რომ გელში დნმ-ის ფრაგმენტების ამგვარ გადანაწილებას შესაძლებელია მონომერის ორი სივრცითი ფორმა აესახა. ამ დაშვების სისწორის

შესამოწმებლად დაიგეგმა მონომერის ძვრადობის შესწავლა ორ-ორი გრადუსით განსხვავებულ მაღალტემპერატურულ ინტერვალში (45° - 47° - 49° - 51° - 53° - 55° C).

მიღებულია მეტად საინტერესო შედეგები. დადგენილია, რომ თავის სტ-დნმ-ის მონომერი მართლაც იყოფა 45° - 55° C-ის ტემპერატურულ დიაპაზონში ორ კომპონენტად (სურ. 9).



სურ. 9. თავის სტ-დნმ-ის მონომერების K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება დაბალი იონური ძალის პირობებში (სტანდარტულ ელექტროფორეზულ ბუფერში).

მონომერის ძირითად, სქელ ზოლსა და მის ზემოთ არსებულ სუსტად გამოხატულ თხელ ზოლს შორის მაქსიმალური დაშორება 55° C-ზე ვლინდებოდა. K-ფაქტორის მნიშვნელობების გამოანგარიშებამ დაგვანახა, რომ 45° C-ზე ორი კომპონენტიდან სწრაფად მოძრავი კომპონენტი (სურ. 10-ზე სქელი ზოლი) გელში გადაადგილდებოდა როგორც 245 ფწ სიგრძის მოლეკულა და შესაბამისად, მისი K=1.05. შეკავებული ძვრადობის კომპონენტი (სურ. 10-ზე თხელი ზოლი) მოძრაობდა როგორც 256 ფწ სიგრძის მოლეკულა და შესაბამისად მისი K=1.09. 55° C-ზე სწრაფად და შენელებულად მოძრავი ფრაგმენტების K-

ფაქტორი 1.08-ისა და 1.02-ის ტოლია (ცხრ. 1).



სურ. 10. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების განაწილება 5% -ან PAAG-ში დაბალი იონური ძალის პირობებში. ა. - 45 °C; ბ. - 47 °C; გ. - 51 °C; დ. - 55 °C.

ზემოაღნიშნული შედეგებიდან გამომდინარე შესაძლებელია დავასკვნათ, რომ მაღალ ტემპერატურებზე თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერები დაბალი იონური ძალის ხსნარში ერთდროულად ორი - წრფივი ($K=1.02$) და გადაღუნული ($K=1.08$) ფორმით არსებობენ.

ჩვენს მიერ თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერისა და დიმერის შესწავლისას მიღებული შედეგების ინტერპრეტირება ლიტერატურაში არსებული მონაცემების საფუძველზეა შესაძლებელი. კერძოდ, თაგვის სტ-დნმ-ის შესაბამისი K -ფაქტორის მრუდების სპეციფიკური ფორმები, სავარაუდოდ, ოლიგომერების სოლენოიდის მსგავსი მესამეული სტრუქტურით ანუ CDH-ფორმით (დაგრეხილი ორმაგი სპირალი) არის განპირობებული. საფიქრებელია, რომ PAAG ელექტროფორეზისას სტ-დნმ-ის როგორც დიმერის, ისე მონომერის შემთხვევაში ტემპერატურის 35 °C-მდე მომატება გადაღუნვების მქონე სატელიტური ფრაგმენტების ნაწილობრივ გასწორებას იწვევს და შესაბამისად ანომალური ძვრადობა PAAG-ში კლებულობს. ტემპერატურის შემდგომი მომატებისას ოლიგომერები დესპირალიზაციას განიცდიან. აქედან გამომდინარე, ძვრადობა 25 °-35 °C-ის ფარგლებში პრაქტიკულად არ იცვლება. უკვე 45 °C-დან მრუდების ფორმა რადიკალურად განსხვავებულია, თუმცა მოლეკულაში მიმდინარე ერთიდაიმავე პროცესებს ასახავენ. საფიქრებელია, რომ მაღალ ტემპერატურაზე სატელიტური ფრაგმენტების გადაღუნვების გასწორებას აქვს ადგილი, რის შედეგადაც მოლეკულები რეალური სიგრძის შესაბამისად იწყებენ მოძრაობას. მონომერის K -ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდში

45 °C-ის ზევით ნაპოვნი ორი კომპონენტი, როგორც ჩანს გადალუნვის გასწორების თანმიმდევრულ პროცესს ასახავს. აქედან გამომდინარე, შესაძლებელია დავასკვნათ, რომ მაღალ ტემპერატურებზე თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერები დაბალი იონური ძალის ხსნარში ერთდროულად ორი - წრფივი და გადალუნული ფორმით არსებობენ. ვინაიდან დიმერი უფრო გრძელი მოლეკულაა აღნიშნული პროცესების დეტექტირება შედარებით გართულებულია. საფიქრებელია, რომ დიმერის ორ კომპონენტად დაყოფა უფრო მაღალ ტემპერატურებზე (55 °C -ის ზევით) იქნება შესაძლებელი.

თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერში დნმ-ის ორი ფორმით არსებობა პირველადაა გამოვლენილი.

3. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობის დამოკიდებულება

იონურ ძალაზე

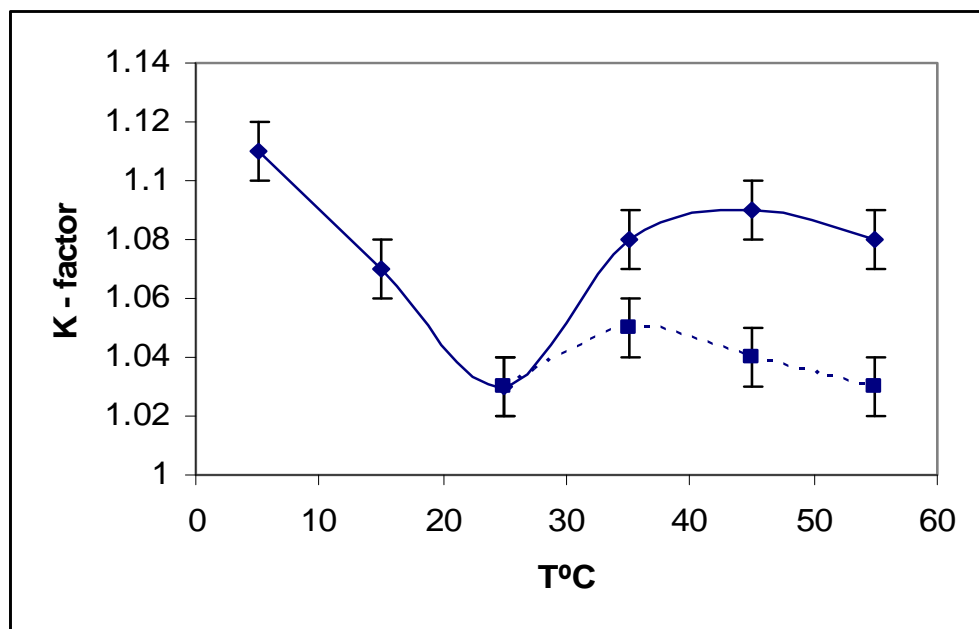
თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობის იონურ ძალაზე დამოკიდებულების შესასწავლად 5% პოლიაკრილამიდის გელსა და ელექტროფორეზულ ბუფერს ემატებოდა NaCl, საბოლოო კონცენტრაციამდე 0.015 M და 0.15 M. ნაჩვენებია, რომ NaCl -ის დამატება არ იწვევს რაიმე მნიშვნელოვან ცვლილებას თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობაში ისევე, როგორც დაბალი იონური ძალის პირობებში (სტანდარტულ ელექტროფორეზულ ბუფერში). NaCl-ის დამატებისას მონომერების დაყოფა შეინიშნება მხოლოდ მაღალ (45 ° - 55 °C) ტემპერატურებზე (ცხრ. 1, სურ. 10, 13, 14).

ცხრ. 1. თაგვისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სტ-დნმ-ის მონომერების განაწილება

5%-ან PAAG-ში სხვადასხვა იონური ძალისა და ტემპერატურის პირობებში ელექტროფორეზისას. 1 - ნიშნავს, რომ მონომერი წარმოდგენილია ერთი კომპონენტის სახით, 2 - მონომერი წარმოდგენილია ორი კომპონენტის სახით.

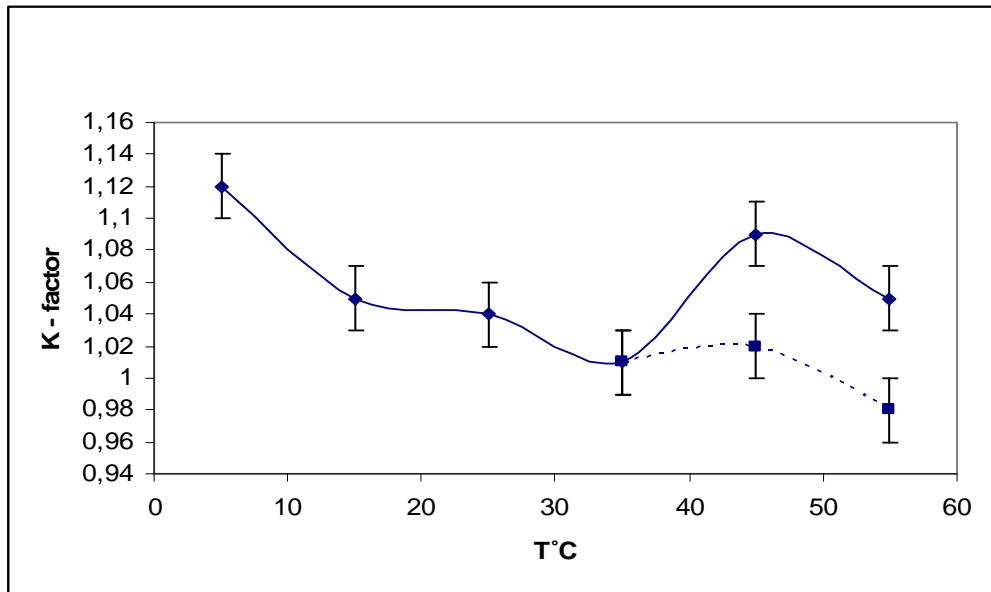
ტემპერატურა	<i>Mus musculus</i>			<i>Poncirus trifoliata</i>			<i>Citrus limon</i>	
	0	0.015M NaCl	0.15M NaCl	0	0.015M NaCl	0.15M NaCl	0	0.015M NaCl
5°C	1	1	1	2	2	1	2	1
15°C	1	1	1	2	2	1	2	1
25°C	1	1	1	2	2	1	1	1
35°C	1	1	1	2	2	1	1	1
45°C	2	2	2	1	2	1	1	1
55°C	2	2	2	1	1	1	1	1

შესაბამისად, K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდებსაც მსგავსი სავარძლისებრი ფორმა აქვთ, როგორც 0.015 M, ისე 0.15 M-ის NaCl - ის პირობებში (სურ. 11 და 12).



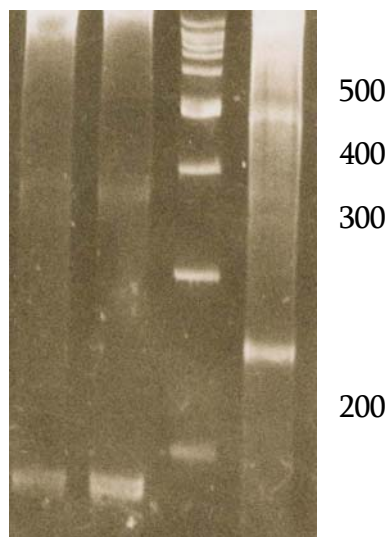
სურ. 11. თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერების K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება 0.015 M NaCl-ის პირობებში. უწყვეტი ხაზი აღნიშნავს დნმ-ის შეკავებული ძვრადობის მქონე ფრაგმენტს, წყვეტილი კი დნმ-ის

სწრაფად მოძრავ ძირითად კომპონენტს.



სურ. 12. თავგის სტ-დნმ-ის მონომერების K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება 0.15 M NaCl - ის პირობებში.

1 2 3 4 ფწ

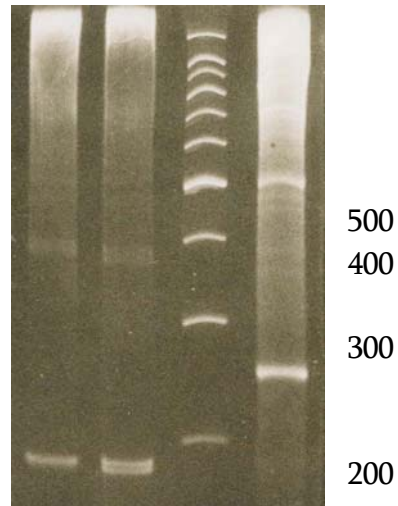


სურ. 13. ლიმონის (1), *P. trifoliata*-სა (2)

და თავგის (4) სტ-დნმ-ის მონომერის

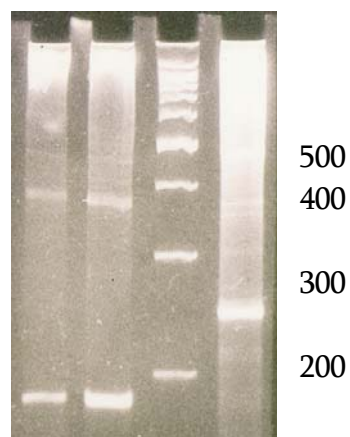
ელექტროფორეზი 5% -ან PAAG-ში 15°C-ზე 0.015 M-ის NaCl-ის პი-
რობებში. 100 ფწ-ჯერადი დნმ-მარკერი (3).

1 2 3 4 fw

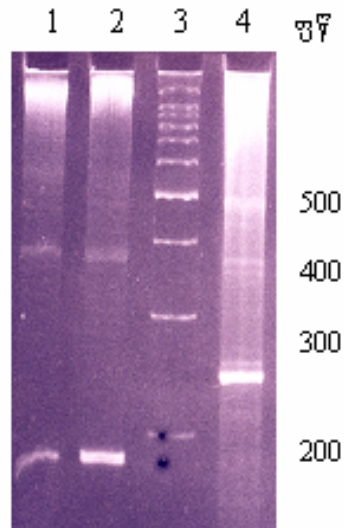


სურ. 14. ლიმონის (1), *P. trifoliata*-სა (2) და თაგვის (4) სტ-დნმ-ის მონომერის
ელექტროფორეზი 5% -ან PAAG-ში 25°C-ზე 0.015 M-ის NaCl-ის პი-
რობებში. 100 ფწ-ჯერადი დნმ-მარკერი (3).

1 2 3 4 fw



სურ. 15. ლიმონის (1), *P. trifoliata*-სა (2) და თაგვის (4) სტ-დნმ-ის მონომერის ელექტროფორეზი 5% -ან PAAG-ში 35°C-ზე 0.015 M-ის NaCl-ის პირობებში. 100 ფწ-ჯერადი დნმ-მარკერი (3).



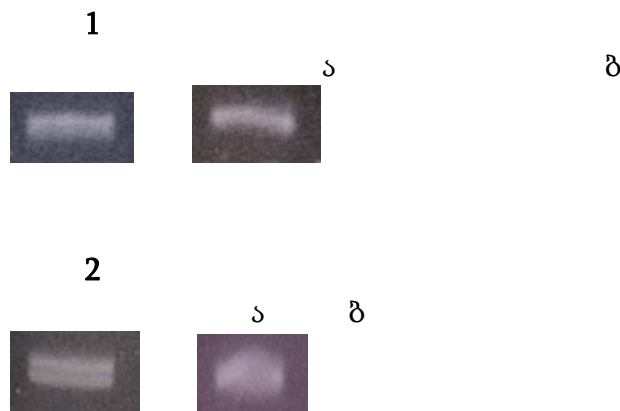
სურ. 16. ლიმონის (1), *P. trifoliata*-სა (2) და თაგვის (4) სტ-დნმ-ის მონომერი ელექტროფორეზი 5% -ან PAAG-ში 45°C-ზე 0.015 M-ის NaCl-ის პირობებში. 100 ფწ-ჯერადი დნმ-მარკერი (3).

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ თაგვის სტ-დნმ-ის მონომერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები, როგორც NaCl-ის თანაობისას, ასევე მის გარეშე არ განსხვავდებიან ერთმანეთისგან და მათ სავარძლისებრი ფორმა აქვთ.

4. ციტრუსოვან მცენარეთა სტ-დნმ-ის მონომერები

თავის სტ-დნმ-ის მსგავსად, პოლიაკრილამიდის გელში ანომალური ელექტროფორეზული მოძრაობა გამოვლენილ იქნა ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს სატელიტური თანმიმდევრობებისათვის.

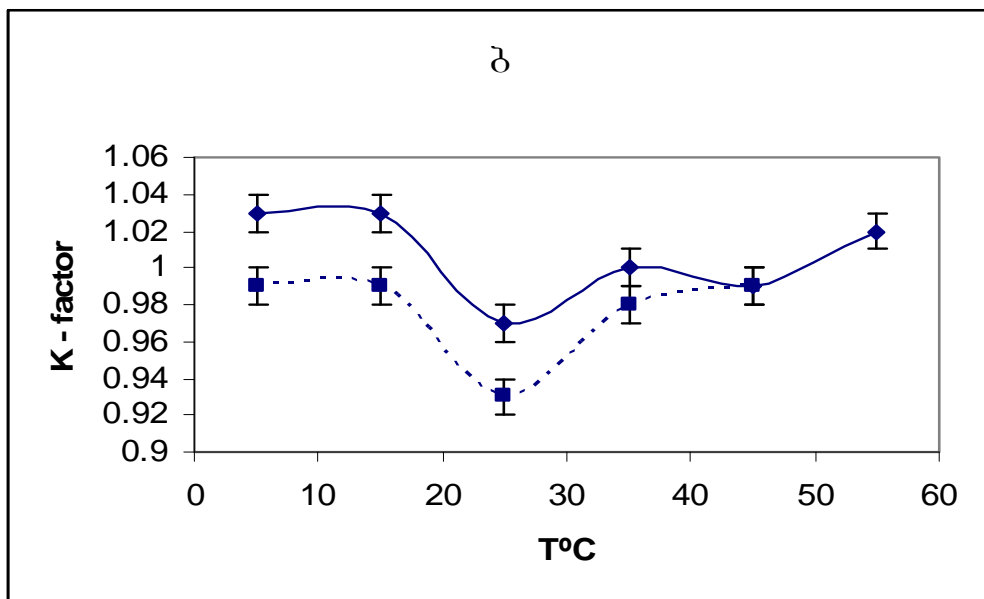
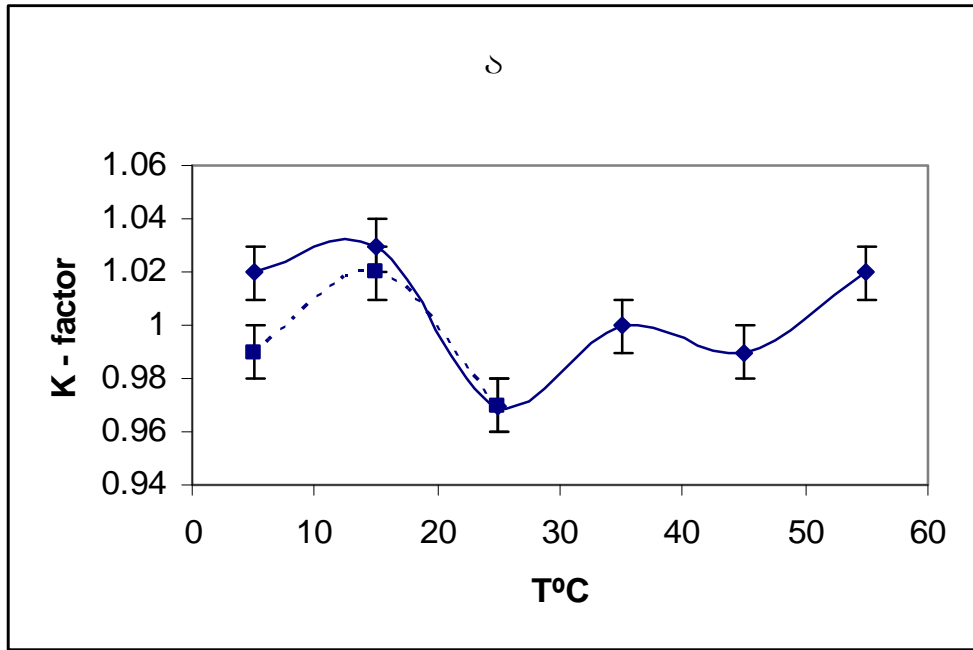
ნაჩვენებია, რომ ორივე მცენარის შემთხვევაში მონომერი უკვე დაბალ ტემპერატურაზე (5 °C-ზე) იყოფა ორ კომპონენტად დაბალი იონური ძალის მქონე ხსნარში (ცხრ. 1). როგორც ლიმონის, ისე *P. trifoliata*-ს შეკავებული ძვრადობის მქონე კომპონენტის სიგრძე 184 და 185 ფწ-ს შეადგენს. სწრაფად მოძრავი კომპონენტის სიგრძე ორივე მცენარისათვის 181 ფწ-ის ტოლია, რაც შეესაბამება მონომერების ძვრადობას აგაროზის გელში (სურ. 3). ტემპერატურის ზრდასთან ერთად მონომერების დაყოფა აღარ შეიმჩნევა. მაგალითად, სტ-დნმ-ის მონომერის შეკავებული ძვრადობის მქონე კომპონენტები აღარ შეიმჩნევიან ლიმონის შემთხვევაში 25 °C-ზე, *P. trifoliata*-ს შემთხვევაში კი 45 °C-ზე (სურ. 16).



სურ. 16. ლიმონის (1) სტ-დნმ-ის მონომერების განაწილება 5%-ან PAAG-ში დაბალი იონური ძალის პირობებში. ა. - 5 °C ; ბ. - 25 °C და *P. trifoliata*-ს (2) სტ-დნმ-ის მონომერების განაწილება 5%-ან PAAG-ში დაბალი იონური ძალის პირობებში. ა. - 5 °C ; ბ. - 45 °C.

ამ ტემპერატურებზე მონომერები მოძრაობენ როგორც ნორმალური ძვრადობის, 181

ფწ სიგრძის მქონე კომპონენტები. ეს გარდაქმნები ნათლადაა გამოხატული K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდებში (სურ. 17).



სურ. 17. სატელიტური დნმ-ის მონომერების K-ფაქტორების ტემპერატურაზე და-
მოკიდებულება; ა. _ ლიმონი; ბ. _ *P. trifoliata*.

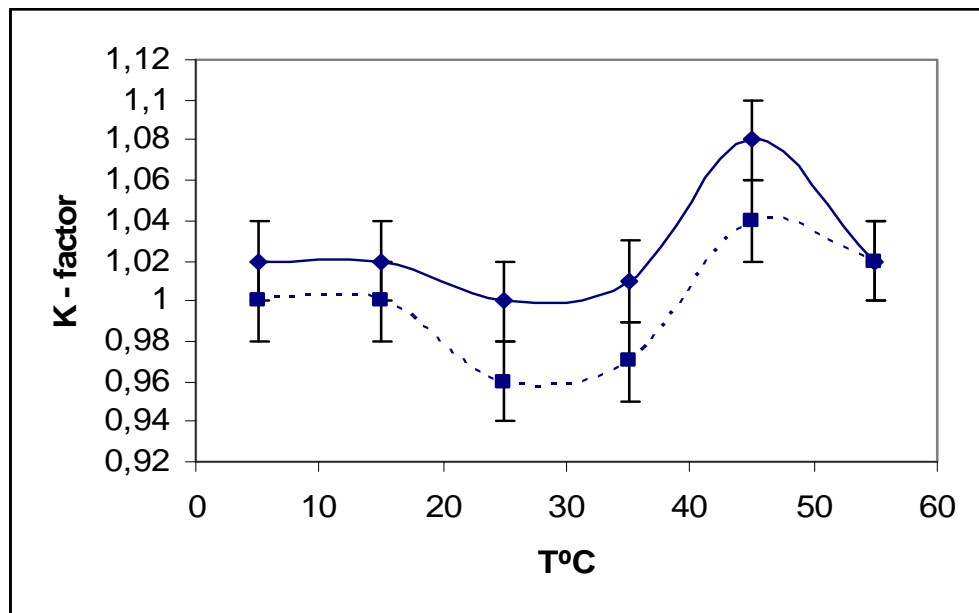
ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევის შედეგები ცხადყოფენ, რომ თავისა და ციტრუსოვან მცენარეთა სატელიტური თანმიმდევრობები მსგავსი თვისებებით ხასიათდებიან და განსაზღვრულ პირობებში ხსნარში ერთდროულად გადაღუნული და წრფივი სახით არსებობენ. პრინციპული განსხვავება მდგომარეობს იმაში, რომ მცენარეების GC-წყვილებით მდიდარი მონომერის გაყოფა დაბალ ტემპერატურაზე იწყება (5° - 25°C-ზე ლიმონში, 5° - 45°C-ზე *P. trifoliata*-ში), თავის AT - მდიდარი მონომერის კი მაღალზე (45°- 55°C), რაც სავარაუდოდ ამ თანმიმდევრობების ნუკლეოტიდური შედგენილობითა და მოლეკულური ზომებით არის განპირობებული.

Chan-მა და თანაავტორებმა შეისწავლეს $dA \bullet dT$ უბნების მქონე სინთეზური დნმ-ის პოლიმერი და კინეტოპლასტური დნმ. დადგენილ იქნა, რომ ხსენებულ ფრაგმენტებში ადგილი აქვს ე.წ. “ლღობისწინარე” პროცესებს. კინეტოპლასტურ დნმ-ში ამგვარ მოვლენას ადგილი აქვს 37°C-ზე, ანუ ტემპერატურაზე, რომელზეც შენელებული ელექტროფორეზული მოძრაობა დეტექტირდება. ხბოს თიმუსის $poli [d(AT)], poli (dG) \bullet poli (dC), poli (dGC)$ დნმ-თანმიმდევრობებში ლღობის წინა პროცესები არ არის ნაპოვნი. ავტორთა აზრით მოლეკულაში ამგვარი მოვლენების არსებობა დნმ-ის გადაღუნვის თერმულად ინდუცირებულ დაშლასთანაა დაკავშირებული [12, 13].

ლღობის წინა პროცესები ნაპოვნი და ენერგეტიკულად დახასიათებული იქნა კალორიმეტრით გადაღუნვების მქონე დნმ-ის სინთეზურ ფრაგმენტებში. კვლევის შედეგების თანხმად, ჩვეულებრივი დუპლექსისაგან განსხვავებით, გადაღუნულ დნმ-დუპლექსში ადგილი აქვს ლღობის წინა პროცესებს. ეს პროცესი დაახლოებით 35°C-ის ფარგლებში მიმდინარეობს [75]. განხილული მონაცემები შეესაბამება და ხსნის წინამდებარე კვლევის შედეგებს.

5. ციტრუსოვან მცენარეთა სტ-დნმ-ის მონომერების ძვრადობის დამოკიდებულება
იონურ ძალაზე

ცხრ. 1-ზე მოყვანილი მონაცემები ცხადყოფენ, რომ NaCl-ის დამატება პოლიაკრილამიდის გელსა და ელექტროფორეზულ ბუფერში გარკვეულწილად ცვლის ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს სატელიტური თანმიმდევრობების ძვრადობის სურათს. 0.015 M NaCl-ის თანდასწრებით ელექტროფორეზისას *P. trifoliata*-ს შემთხვევაში ისევე, როგორც დაბალი იონური ძალის ხსნარში, მონომერის გაყოფა შეინიშნება 5° - 45°C ტემპერატურულ ინტერვალში.

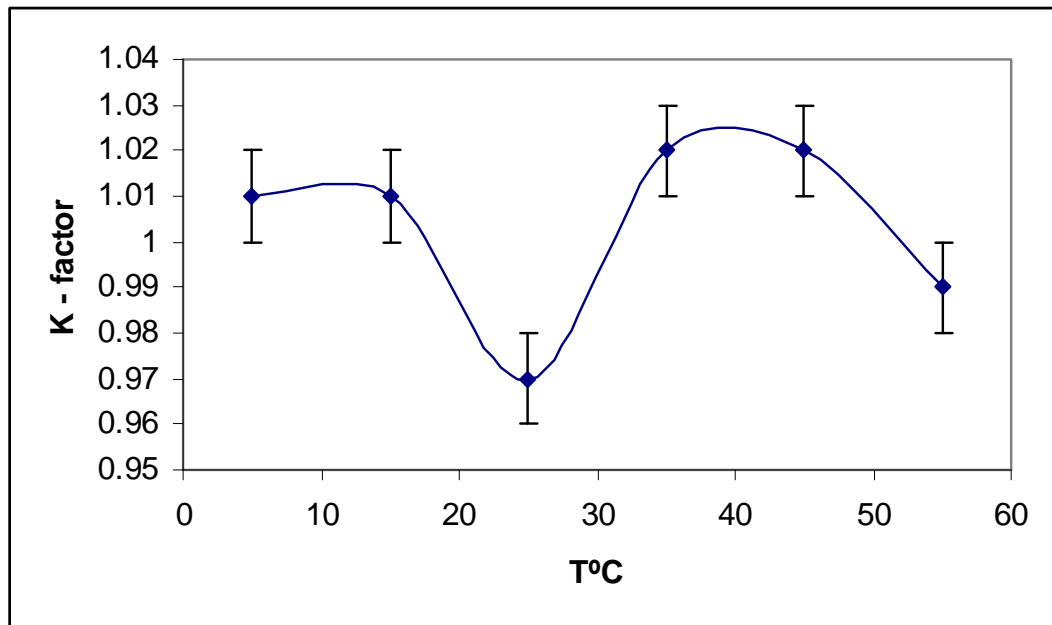


სურათი 18. *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება 0.015 M NaCl-ის პირობებში ელექტროფორეზისას.

P. trifoliata-ს შეკავებული კომპონენტის $K=1.02$ 5°C-ზე, სწრაფად მოძრავი კომპონენტისა კი თავისი რეალური სიგრძის შესაბამის ძვრადობას აძლავნებს და მისი $K=1.04$. 45°C-ზე შეკავებული კომპონენტის $K=1.09$, სწრაფად მოძრავი კომპონენტის $K=1.04$. 55°C-ზე მხოლოდ ერთი კომპონენტი შეიმჩნევა ($K=1.02$). ლიმონის სტ-დნმ-ის შემთხვევაში 0.015 M

NaCl-ის თანაობისას საერთოდ არ შეიმჩნევა მონომერის გაყოფა (ცხრ. 1, სურ. 8, 9, 10).

ორივე მცენარის შემთხვევაში NaCl-ის კონცენტრაციის 0.15 M-მდე გაზრდისას მონომერების დაყოფა 5° - 55°C ტემპერატურულ ინტერვალში არ ხდება (ცხრ. 1, სურ. 19).



სურ. 19. *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება 0.015 M NaCl-ის პირობებში ელექტროფორეზისას.

ამრიგად, ჩატარებული კვლევის შედეგად პირველად ნაჩვენები ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერების ხსნარში ერთდროულად ორი ფორმით არსებობის ფაქტი. ამასთან, დადგენილია, რომ სხვადასხვა იონური ძალის პირობებში (0.015 M და 0.15 M NaCl) K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები, სამივე შესწავლილი სატელიტური დნმ-თანმიმდევრობისათვის (*M. musculus*, *C. limon*, *P. trifoliata*), ფორმით არ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან და ასევე იმ მრუდებისაგან, რომლებშიც NaCl-ის კონცენტრაცია ნულის ტოლია.

ლიტერატურაში აღწერილია NaCl და MgCl₂ დამოკიდებულება გელური მიგრაციის ანომალიაზე. ყველა გაანალიზებული თანმიმდევრობისათვის NaCl-ის დამატება გელში და ელექტროფორეზულ ბუფერში ამცირებს მიგრაციის ანომალიას. NaCl-ის გაზრდილი

რაოდენობა, შესაძლებელია მოქმედებდეს გადაღუნული დნმ-ის სტრუქტურაზე. ის შესაძლოა გავლენას ახდენდეს დნმ-ის დრეკადობაზეც. გელ-მიგრაციული ანომალია მნიშვნელოვნად იზრდება როდესაც გადაღუნული ფრაგმენტის ორივე ბოლოში არის პერსისტენტული სიგრძის ნორმალური დნმ. იმის გამო, რომ NaCl ამცირებს დნმ-ის მოლეკულების პერსისტენტულ სიგრძეს, მისი თანაობისას მოლეკულის კიდურა უბნების როლი მცირდება. შესაბამისად, NaCl-ის დამატებისას მიგრაციის ანომალია მცირდება. განსხვავებული სურათია MgCl₂-ის შემთხვევაში იმის გამო, რომ ამ უკანასკნელის ზეგავლენა მიგრაციაზე დამოკიდებულია ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობაზე [18]. ადენინის ბლოკების შემცველი *Leishmania tarantolae*-ს კინეტოპლასტური დნმ-ის ფრაგმენტების მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ MgCl₂-ის დამატება იწვევს დნმ-ის მოლეკულების ანომალურ ძვრადობას. სავარაუდოდ, MgCl₂ არ თამაშობს დომინანტურ როლს დნმ-ის პერსისტენტული სიგრძის განსაზღვრაში და შესაბამისად მიგრაციის ანომალიაში. Mg-ისა და Na-ის იონების სარეაქციო არეში ფიზიოლოგიურ ხსნარში მათ შემცველობაზე მეტი რაოდენობით არსებობისას, K-ფაქტორის მნიშვნელობა მცირდება, მაგრამ პრინციპულად იგივე თავისებურებებით ხასიათდება, როგორც ტრის-EDTA ბუფერში. ანომალურ მოძრაობას ასევე ამცირებს ეთიდიუმბრომიდი [3].

ნანახი იქნა, რომ ფსევდო-ჯვარედინი სტრუქტურის მქონე დნმ-ფრაგმენტების ელექტროფორეზისას PAAG-ში მარილების დამატება ამცირებს მოლეკულების ანომალურ გადაადგილებას გელში. 60 mM რაოდენობის NaCl-ის დამატებისას შენელება თანდათანობით იკლებს, მაშინ როცა MgCl₂-ის დამატებისას დეტექტირდება შენელების მკვეთრი კლება. ამგვარი დამოკიდებულების საფუძველს შესაძლებელია ფსევდო-ჯვარედინი სტრუქტურაზე Na-ისა და Mg-ის იონები ზემოქმედება წარმოადგენდეს [21].

ანომალური გელ-მიგრაციის მცირედი შემცირება იქნა ნანახი სინთეზირებული დნმ-ოლიგონუკლეოტიდური ფრაგმენტებისათვის 0 – 10 mM -ის NaCl-ის დამატებისას. მოლეკულების ერთ ნაწილში ელექტროფორეზი 10 mM -ის MgCl₂-ის პირობებში, ანომალური ძვრადობის ზრდას იწვევს. შესაბამისად მატულობს K-ფაქტორის მნიშვნელობები. სავარაუდოდ, Mg-ის იონები დნმ-ის პლასტიკურობაზე ზემოქმედებენ [18].

6. სატელიტური დნმ-ის გადაღწევების აღმოჩენა ორგანოზომილებიანი

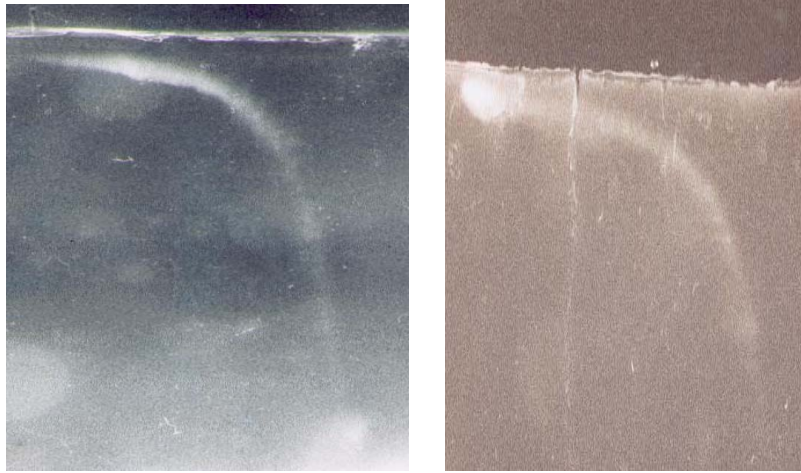
ელექტროფორეზის მეთოდით

ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდის არსი შემდეგში მდგომარეობს: აგაროზის გელიდან ამოჭრილი ელექტროფორეტული ბილიკი თავსდება PAAG-ის გელზე ჰორიზონტალურად, რის შემდეგაც ელექტროფორეზი პერპენდიკულარული მიმართულებით სწარმოებს. პროცესის დასრულების შემდეგ დნმ-ის ფრაგმენტები სპეციფიკურად განლაგდებიან PAAG-ში. განსზღვრულ იქნა გელში დნმ-ის მოლეკულების განაწილების სამი ტიპი. კერძოდ, პირველი ტიპის განაწილებაში გელში ერთიდან სამამდე დამოუკიდებელი (დისკრეტული) დნმ-ლაქა დეტექტირდება. მეორე ტიპში (ნემატოდა *Panagrelus redivirus*) დნმ-ლაქები არაორგანიზებულად, ქოტურად განლაგდებიან გელში. გელში დნმ-ფრაგმენტების განაწილების მესამე ტიპის მაგალითებს წარმოადგენენ მტრედისა და ხვლიკის გელური პროფილები. აღნიშნულ შემთხვევაში დნმ-ის მოლეკულები რკალისებურად ნაწილდებიან, სადაც წრფივი და გადაღუნული დნმ-ფრაგმენტები მკაფიოდ არიან ერთმანეთისაგან დაცილებული [28].

სურ. 20-ზე წარმოდგენილია თავგისა და ლიმონის სატელიტური ოლიგომერების ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზი 7%-ან PAAG-ში 4°C-ზე. PAAG-გელში სატელიტური ოლიგომერების განსაზღვრა მიმდინარეობდა ერთის მხრივ აგაროზის გელში მათი განლაგების და მეორეს მხრივ, ცალკე დატანილი საღებავის მიგრაციის მიხედვით. ამ უკანასკნელის ზომების დადგენა მანიატისისა და თანავტორების მიხედვით ხორციელდებოდა [113].

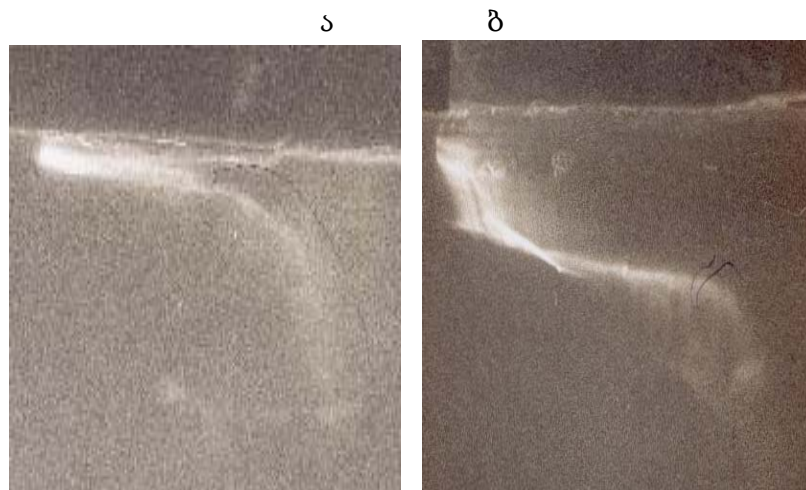
a

b



სურ. 20. თავგისა (ა) და Lლიმონის (ბ) სტ-დნმ-ის ოლიგომერების ორგან-
ზომილებიანი ელექტროფორეზი 7% -ან PAAG-ში 4°C-ზე.

როგორც თავგის, ისე ლიმონის შემთხვევაში დნმ-ფრაგმენტები რკალისებურად განლაგდებიან PAAG-გელში. მნიშვნელოვანი განსხვავება მდგომარეობს იმაში, რომ თავგის დნმ-ფრაგმენტების რკალის ბოლოში შეინიშნება მონომერის შესატყვისი მკაფიო ლაქა, რომელიც არ ემთხვევა დნმ-ის ძირითად რკალს. ლიმონის სატელიტური ოლიგომერების ელექტროფორეზის 25° და 60°C-ზე ჩატარებისას მონომერის შესაბამისი ლაქა ძნელად შესამჩნევია (სურ. 21).



სურ. 21. ლიმონის (ბ) სტ-დნმ-ის ოლიგომერების ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზი 7%-ან PAAG-ში 25°C (ა) და 60 °C-ზე (ბ).

თავისა და ლიმონის დნმ-ფრაგმენტების გელში ამგვარი სპეციფიკური განაწილების მიზეზების ახსნის საშუალებას იძლევა Fitzgerald-ისა და თანაავტორების მიერ ჩატარებული მეტად საინტერესო კვლევა. აღნიშნულ კვლევაში ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდით შესწავლილ იქნა 19 სხვადასხვა ეუკარიოტული, მათ შორის ადამიანის გენომური დნმ. თითოეული დნმ-ფრაგმენტი თავდაპირველად ნაწილდებოდა ზომის მიხედვით აგაროზის გელში, შემდეგ კი ზომისა და ფორმის მიხედვით PAAG-ში. განსაზღვრულ იქნა, რომ რაც უფრო მეტია თითოეული დნმ-ფრაგმენტისათვის ე.წ. “ბოლოთა შეფარდების” (“ENDS-ratio” - ნუკლეოტიდური სეგმენტის სიგრძის შეფარდება სეგმენტის ბოლოებს შორის არსებულ უმოკლეს მანძილთან) სიდიდე, მით უფრო მასშტაბურ გადაღუნვას შეიცავს მოლეკულა და ამგვარად შესაძლებელი ხდება მისი დეტექტირება ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდით. მაგალითად, ნანახი იქნა, რომ გამოკვლეული თანმიმდევრობებიდან სამში (მათ შორის მტრედის სტ-დნმ-ში) დეტექტირდებოდა “ბოლოთა შეფარდების” მაქსიმალური მნიშვნელობები (3 – 30 -ის ფარგლებში).

თავის სტ-დნმ-ის მონომერის ე.წ. “ბოლოთა შეფარდების” (ნუკლეოტიდური სეგმენტის სიგრძის შეფარდება სეგმენტის ბოლოებს შორის არსებულ უმოკლეს მანძილთან) სიდიდე 1.19-ის ტოლია. ეს ნიშნავს, რომ მონომერი მნიშვნელოვან გადაღუნვას შეიცავს, რის გამოც შესაძლებელი ხდება მისი დეტექტირება ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზის მეთოდით. ციტრუსოვანი მცენარეების შემთხვევაში ბოლოთა შეფარდება უფრო მცირეა (1.11). სავარაუდოდ, სწორედ ამ მიზეზით არ ხდება ლიმონის სტ-დნმ-ის მონომერის დეტექტირება ხსენებული მეთოდის საშუალებით (სურ. 20).

ყოველივე ზემოთქმულიდან შესაძლებელია დავასკვნათ, რომ ორგანოზომილებიანი ელექტროფორეზი წარმატებულად გამოიყენება სატელიტური თანმიმდევრობების

აღმოსაჩენად მხოლოდ იმ შემთხვევებში, როდესაც დნმ-ის მოლეკულაში მნიშვნელოვან გადალუნვას აქვს ადგილი.

7. სატელიტური დნმ-ის ოლიგომერების სივრცითი სტრუქტურა

ჩვენს მიერ შესწავლილი სტ-დნმ-ების ელექტროფორეტული ძვრადობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე შეიძლება აიხსნას ამ მოლეკულების სივრცითი სტრუქტურის გაანალიზებით. დღეისათვის ცნობილია რამდენიმე კომპიუტერული პროგრამა, რომელიც იძლევა დნმ-ის მოლეკულის სივრცითი სტრუქტურის ორგანოზომილებიან პროექციებს.

თავის სტ-დნმ-ის მონომერისა და დიმერის და ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს მონომერების სივრცითი სტრუქტურა გაანგარიშებულ იქნა Wheeler-ის კომპიუტერული პროგრამა - "DNACurve"-ით (სურ. 23, 24). პროგრამა იძლევა მოლეკულების ორგანოზომილებიან პროექციებს და დაფუძნებულია Ulanovsky-Trifonov-ის დნმ-ის დინუკლეოტიდების აღნაგობის "სოლისმაგვარ" მოდელზე. მოლეკულების სივრცითი პროექციების მისაღებად აღნიშნულ პროგრამაში შეგვქონდა შესაბამისი სტ-დნმ-ის გასაშუალოებული თანმიმდევრობები. ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერების პირველადი სტრუქტურა მიღებულ იქნა Fann-ისა და სხვათა ნაშრომში მოცემული მონომერების 14 კლონის პირველადი სტრუქტურის გასაშუალოების საფუძველზე [26].

სურათზე 22 მოცემულია ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს გასაშუალოებული თანმიმდევრობები. მონომერების სიგრძე შეადგენს 181 ფწ-ს. ლიმონის სტ-დნმ-ის მონომერში ადენინისაგან შემდგარი ოთხი უბანი შეინიშნება. მათგან 77, 107 და 151-ე პოზიციებში ადენინის ხუთი ნაშთი, 161-ე პოზიციაში კი ადენინის ექვსი ნაშთი დეტექტირდება. ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს გასაშუალოებული თანმიმდევრობებს ვებულობდით www.ebi.ac.uk მონაცემთა ბაზაში არსებული შესაბამისი დნმ-თანმიმდევრობების გასაშუალოებით (ცხ. 2). ამავე მონაცემთა ბაზაში არსებული შესაბამისი

დნმ-თანმიმდევრობების საფუძველზე მიღებულ იქნა ციტრუსების ველური სახეობა *C. ichangensis*-ისა და კულტურული სახეობა *C. sinensis*-ის (ფორთოხალი) სტ-დნმ-ის გასაშუალოებული თანმიმდევრობები (სურ. 25).

P. trifoliata-ს სტ-დნმ-ის მონომერში ადენინით მდიდარი ოთხი უბანია. 136, 151 და 160-ე პოზიციაში ოთხ-ოთხი ადენინის ნაშთია, 107-ე პოზიციაში კი ხუთი.

სურ. 22-ზე ასევე მოცემულია Hörz-სა და Altenburger-ის მიერ მოწოდებული თავის სტ-დნმ-ის მონომერის 234 ფწ სიგრძის თანმიმდევრობა [111]. ამ თანმიმდევრობებში აღინიშნება სამი ადენინის შემცველი ექვსი უბანი (45, 66, 108, 166, 197, 224), ოთხი ადენინის შემცველი რვა უბანი (20, 27, 37, 72, 99, 142, 148, 158), ხუთი ადენინის შემცველი ოთხი უბანი (79, 89, 187, 215) და ექვსი ადენინის შემცველი ერთი უბანი (პოზიცია 205).

a.

```
CTTGGTGGGTGGCGTGGGCGAAGTTCGTCCGCGGGACTCGGAATGGCCCCAGACTTG
GCGAGCGGCCTCCGTGTG
      77                               107
CCAAAAATAGGCCACGGGCACAGCCGCGCCCAAAAATCAGCCCCGAAGGTCGGGGT
CCCAAGACCCCCCAGCG
      151                               161
GAAAAATGGCCAAAAACGGGTGGGCTATAGC
```

ბ.

```
CTTGGTGGGGGGGTGGGGCGAAGTTGGTCCGCCGGACTCGGAATGGGGCGCAACTTT
GCGAGCGGCCTCCGTGTG
                               107
136
CCCGAGGGATGCCCCGGGCACAGCCGCGCCCAAAAACGAGCGCCCGAAGGCCCCCGT
CCCAAAACCCCCCAGCG
      151                               160
GAAAAGGGCCAAAACAGGGGGTGGGCTATAGC
```

გ.

	M	20	27	M37	45
66 M					
GGACCTGGAATATGGCGAGAAACTGAAAATCACGGAAAATGAGAAATACACACTTTAG					
GACGTGAAATATGGC					
72	79	89	99	108	T

141
 GAGAAAACTGAAAAAGGTGGAAAAAGGTGGAAAAATTAGAAATGTCCACTGTAGGACGTG
 GAATATGGCAAGAAA
 148 158 166 187 197
 205 215
ACTGAAAATCATGGAAAATGAGAAACATCCACTTGACGACTTGAAAAATGACGAAATCAC
TAAAAAACGTGAAA
 224
AATGAGAAATGCACACTGAA

სურ. 22. ლიმონის (ა), *P. trifoliata*-სა (ბ) და თაგვის (გ) სტ-დნმ-ის მონომერების გასაშუალოებული თანმიმდევრობები. M-ით აღნიშნულია მეთილირებული ნუკლეოტიდები.

Fann-ისა და თანავტორების მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ გასაშუალოებული სატელიტების შიდა სახეობრივი მოდიფიკაციები გულისხმობენ ადენინით მდიდარი უბნების რიცხვსა და მდებარეობაში არსებულ განსხვავებებს. განმეორებათა მსგავსება, როგორც ჩანს, მიუთითებს იმაზე, რომ ისინი ერთ სატელიტურ ოჯახს მიეკუთვნებიან. ავტორთა მიერ მოწოდებულია ციტრუსოვანი მცენარეების სხვადასხვა სახეობებს შორის არსებული ფილოგენეტიკური ურთიერთობების ამსახველი დენდროგრამა. დენდროგრამაში *Citrus*-ისა და *Poncirus*-ის თანმიმდევრობები ერთმანეთისაგან დამოუკიდებელი სახითაა მოცემული. *Citrus*-ის ტოტში შედის ლიმონის ცხრა და ფორთოხლის რამდენიმე განმეორება. ლიმონის სამი და ფორთოხლის ორი განმეორება *C.ichangensis*-ის განმეორებათა შორისაა მიმოფანტული. *P. trifoliata*-ს განმეორებათა უმეტესობა დენდროგრამაში დამოუკიდებელ ტოტს ქმნის. კულტურული სახეობების - ლიმონისა და ფორთოხლის სატელიტური განმეორებები უფრო ახლოს არიან ერთმანეთთან, ვიდრე *C.ichangensis*-თან. როგორც ჩანს, ამ ორი მცენარის ველური წინაპარი ენათესავებოდა *C.ichangensis*-ს, თუმცა გაშინაურების დროს მოხდა მისი გადაშენება [26].

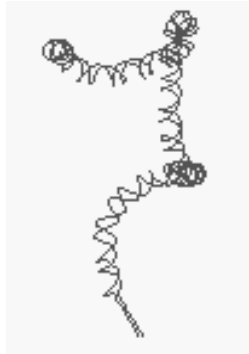
სურათებზე 23 და 24 წარმოდგენილია Wheeler-ის კომპიუტერული პრო-გრამა - "DNACurve"-ით აგებული თაგვის მონომერისა და დიმერის, ასევე ლიმონისა და *P. trifoliat*-ს მონომერების სივრცითი სტრუქტურები.

1

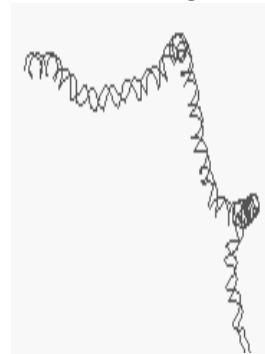
s



b



g



o



2

a



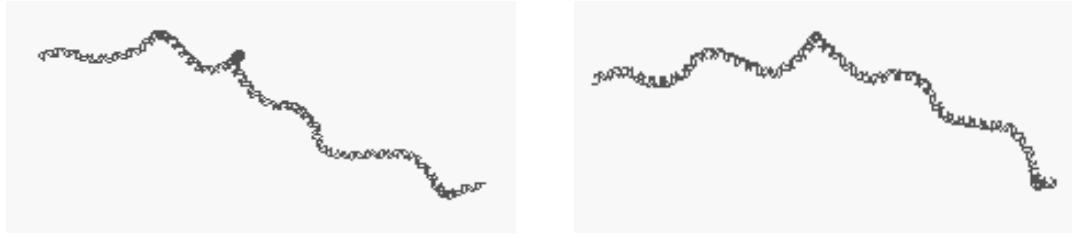
b



o

o D

DDDDDD



სურ. 23. თავვის სტ-დნმ-ის 1 - მონომერისა (234 ფწ) და 2 - დიმერის (468 ფწ) სივრცითი სტრუქტურის ორგანზომილებიანი პროექციები. მოლეკულის შემობრუნების კუთხე: ა. - 0°, ბ. - 60°, გ. - 120°, დ. - 180°.

1



2



სურ. 24. ციტრუსოვანი მცენარეების სტ-დნმ-ის სივრცითი სტრუქტურის ორგანო-ზომილებიანი პროექციები.

1 - ლიმონის სტ-დნმ-ის მონომერი. მოლეკულის შემობრუნების

კუთხე: ა. - 0°, ბ. - 60°, გ. - 120°, დ. - 180°.

2. - *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერი. მოლეკულის შემობრუნების

კუთხე: ა. - 0°, ბ. - 60°, გ. - 120°, დ. - 180°.

თითოეული სტ-დნმ-ის სივრცით პროექციებში ნათლადაა გამოხატული თანმიმდევრობების განმეორებად ერთეულებში არსებული გადალუნვების სტრუქტურული თავისებურებები. ჩვენს მიერ შესწავლილი სტ-დნმ-ის მონომერებისა და დიმერების ელექტროფორეტიული ძვრადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდების სავარძლისებრი ფორმა აღნიშნული სივრცითი სტრუქტურებიდან გამომდინარე შეიძლება აიხსნას. კერძოდ, სავარაუდოა, რომ ტემპერატურის 35°C-მდე მომატება გადალუნვების მქონე მოლეკულების ნაწილობრივ გასწორებას იწვევს და შესაბამისად ანომალური ძვრადობა PAAG-ში კლებულობს. ტემპერატურის შემდგომი მომატებისას მოლეკულის სტრუქტურული ცვლილება არ ხდება. აქედან გამომდინარე, ძვრადობა 25° - 35°C-ის ფარგლებში პრაქტიკულად არ იცვლება. 45°C-ზე მოლეკულა მოძრაობს თავისი რეალური სიგრძის შესაბამისად, ვინაიდან მაღალ ტემპერატურაზე მოლეკულა სრულიად სწორდება.

ამავე კომპიუტერული პროგრამის საშუალებით აგებულ იქნა ციტრუსების ველური სახეობა *C. ichangensis*-ისა და კულტურული სახეობა *C. sinensis*-ის (ფორთოხალი) მონომერებისა და დიმერების სივრცითი პროექციები (სურ. 25). ლიმონის, *P. trifoliata*-ს, *C. ichangensis*-ისა და *C. sinensis*-ის სატელიტური თანმიმდევრობები მნიშვნელოვან მსგავსებას ამჟღავნებენ ერთმანეთთან. გამომდინარე აქედან, საფიქრებელია, რომ მსგავსებები გამოვლინდება ხსენებული ოთხი მცენარის სტ-დნმ-ის ელექტროფორეტიული ძვრადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულებაშიც.

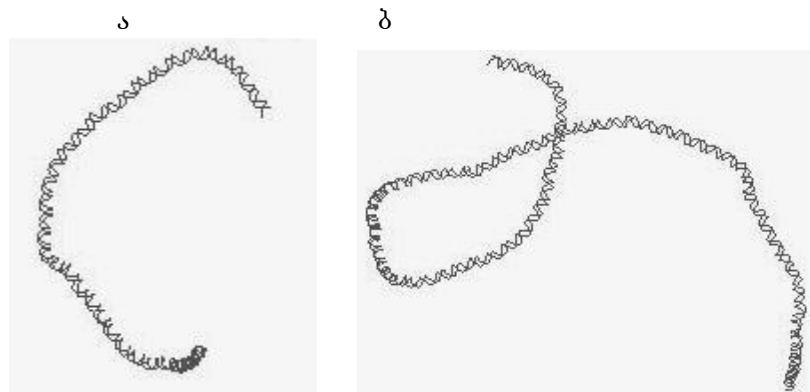
1. *C. ichangensis*

```
CTTGGGGGGTGGGGCTGGCCAACCTTCGTCCGCCGACTCGGAATGGCGCGAGACTTTGCG  
AGGGGCCTCCGTGTGCCAAAAATAGGCCGCGGGCAACGCCGCGCCCAAAAATACCCCC  
GAAGGCCGGGGCCAAATTTCCCCAGCGGAAAAAGGCCAAAAAAGGGGTGGGCTA-  
TAGC
```



2. *C. sinensis*

```
CTTGGTGGGGGGCGCGGGCGAAGTTCGTCCGCCGACTCGGAATGGGGCGAGACTTTGCG  
AGGGGCCTCGGGGTGCCAAAAATAAGCCGCGGGCAAAGCCGCGCCCAAAAATAAGCGCC  
CGAAGGTCGGGGTGGCAAAACCCCCAGCGGAAAAATGGCCAAAAAACGGGTGGGCTA-  
TAGC
```



სურ. 25. *C. ichangensis*-ისა (1) და *C. sinensis*-ის (2) სტ-დნმ-ების გასაშუალოებული თანმიმდევრობები და მონომერებისა (ა) და დიმერების (ბ) სივრცითი სტრუქტურები.

სატელიტური

თანმიმდევრობების

სტრუქტურების

ჩვენს მიერ შესრულებული კომპიუტერული გამოთვლები გარკვეულ მსგავსებებს ამჟღავნებს პროგრამა “CURVATURE”-ით ადრე ნაწარმოებ გაანგარიშებებთან [26]. სწორედ ამ უკანასკნელთა საშუალებით იქნა ნაჩვენები ციტრუსების სატელიტურ თანმიმდევრობებში არსებული ლოკალური გადაღუნვები. ამასთან დადგინდა, რომ ერთმანეთისაგან ერთი სპირალური ბრუნით (10-11 ფწ) დაშორებული ადენინით (An) მდიდარი ორი ბლოკი განლაგებულია მონომერის 3' ბოლოსთან. CL1, CL14-ისა და PT11-ას ადენინის ბლოკებში 5-6 ადენინური ნუკლეოტიდია ლოკალიზებული და შესაბამისად სწორედ აქ აღინიშნება ყველაზე მასშტაბური გადაღუნვის არსებობა. იმდენად, რამდენადაც PT3-ას ადენინის ბლოკებში 4 ადენინია, იგი შედარებით მცირე გადაღუნვას შეიცავს. ამავე კომპიუტერული პროგრამით იქნა ასევე შესწავლილი განეორებადი ერთეულების “head-to-tail” პრინციპით ლიგირებული 12-მერული სატელიტური ოლიგომერები. ნანახი იქნა, რომ ყველა ტანდემური განმეორება მიდრეკილია შექმნას სოლენოიდურად დაგრეხილი CDH-ფორმა [26]. შესაძლებელია სატელიტური თანმიმდევრობების მესამეული სტრუქტურა და მისი ცალკეული უბნების ფიქსაციის უნარის მქონე ცილების არსებობა უჯრედულ გენომში კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის კომპაქტურ მდგომარეობას განაპირობებს [115].

ცხრ. 2. *P. trifoliata*-სა (PT), *C. limon*-ის (CL), *C. ichangensis*-ისა (CI) და

C. sinensis-ის (CS) www.ebi.ac.uk მონაცემთა ბაზაში არსებული დნმ-
თანმიმდევრობები (თითოეულისათვის 12 თანმიმდევრობა).

PT-I

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 38 A; 57 C; 63 G; 23 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg ggggtggggcg aagttggtcc accggactcg gaatggggcc aaactttgcg	60
agcggcctcc gtgtgcccgg gggatgctcc gggcaccacc gcgcccaaaa actagcgcgc	120
caactacccc gtcccaaaac cgcccagcgg aaaaggacca aaacgggggg tgtgctatag	180
c	181

PT-II

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 38 A; 58 C; 65 G; 20 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg ggggtggggcg aagttggtcc gccggactcg gaatggggcc aaacttggcg	60
agcggcctcc gtgtgcccgc gggatgcccc gggcacagcc gcgcccaaaa acgagcgcgc	120
caactacccc gtccctaaaac cgccaagcgg aaaaggcca aaacgggggg tgtgcaacag	180
c	181

PT-III

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 37 A; 55 C; 63 G; 26 T; 0 სხვა;

cttggtaggg ggggtggggcg aagttggtcc gccggactcg gaatgggacc aaactttgcg	60
agcagcctcc gtgtgccctg gggatgcccc gtgcacagcc gcgccctaaa acgagtgcgc	120
gaaggcccc gtcccaaaac cgcccagtgg aaaagcgcca aaacgggggg tgtgctatag	180
c	181

PT-IV

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 38 A; 60 C; 62 G; 21 T; 0;

cttgggtgggg ggggtggggcg aagttggtcc gccggactcg gaatgggacc aaactttgcg	60
agcggcctcc gtgtgcctgc ggcatgcccc ggccacagcc gcgcccaaaa acgaccgcgc	120
gaaggcccc gtcccaaaac cccccagcgg aaaagagcca aaacgggggg tgggctatag	180
c	181

PT-V

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 38 A; 55 C; 66 G; 22 T; 0;

cttgggtgggg ggggtggggcg aagttggtcc gccggactcg gaatggggcc aaatTTTgcg	60
agcggactcc gtgtgcccgc cggatgcccc gggcacagcc atacccaaaa acgagcgcgc	120
gaaggcccc gtcccaaaac cgcccagcgg aaaaggcca aaacgggggg tgggctatag	180
c	181

PT-VI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 37 A; 54 C; 64 G; 26 T; 0;

cttgggtgggg ggggtcggcg aagttggtcc tccgattcg gaatggggcg aaactttgcg	60
agcggcatcc gtgtgaccgc gggatgcccc gggcacagcc gcgcccaaaa atgagcacc	120

gaaagcccc gtcccaaac cgcccagcgg atttcggcca aaacaggggg tgggctatag 180
c 181

PT-VII

თანმიმდევრობა 186 ფწ; 38 A; 55 C; 69 G; 24 T; 0;

cttgggtgggg ggggggtgagc cgaagttggt ccgccggaca cggaatgggg ccaaactttg 60
ctatgcggcc tccgtgtgcc cgcgggatgc ccctgggcac ggccgtgcca aaaaatgagc 120
gcccgaagac ccccgtcca aaaccgcca gcggaaaagg gccaaaacgg ggggggtgggc 180
tatagc 186

PT-VIII

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 35 A; 58 C; 58 G; 29 T; 0;

cttgggtgggg ggttggggcc aacttcgtcc gccggactct gagtgggccc agactttgagc 60
agcggccttc gtgtgcccgc gggatttccc agacacagcc gcgccaaaa atgaatgccc 120
gaaggcccc gtcccacaac ccctgcgga aatgcccaa aacgaggggt gggctatagc 180

PT-IX

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 41 A; 56 C; 56 G; 27 T; 0;

cttgggtgggg gctgtggcca acttcgtcc cggtattcgg aatggggcga gacttagcat 60
acggcctcca tgtccaaaa ataggccgc ggcacggccc cgccaaaaa cgagcgtcca 120
aaggccccg tcccacaacc ccctgtgga aatgcccaa aacgaggggt gggttatagc 180

PT-X

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 44 A; 47 C; 67 G; 23 T;;

cttgggtgggg ggcgtgggagc aagttcgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgagc 60
aggggcctcg gggtgccaaa aataagccgc gggcagagcc gcgccaaaa ataagcggcc 120
gaaggtcgtg gtgccccaac ccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag 180
c 181

PT-XI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 41 A; 50 C; 63 G; 27 T; 0 ;

cttgggtgggg ggatggggcg aacttcgtcc gctgggctcc gaatggggcg agactctgagc 60
agcggcctcc gtgtgccaaa aataggccgc gggcacgttc gcgccaaaa atgagcggcc 120
gaaggccgtg gttccaaaaa ccccgtcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggatatag 180
c 181

PT-XII

თანმიმდევრობა 182 ფწ; 44 A; 50 C; 65 G; 23 T; 0 ;

cttgggtgggg ggatggggcg aacttcgtcc gccgggctcc gaatggggcg agaatttgagc 60
agcggcctcg gggcgccaaa aataggccgc gggcacgac gcgccaaaa acgagcggcc 120
gaaggtcgtg gtgccccaaa ccccagcgc gaaaaatggc caaaaaacgg tgggatata 180
gc 182

CL-I

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 42 A; 54 C; 63 G; 22 T; 0;

cttgggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcccc agacttggcg	60
ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa atcagcccc	120
gaaggtcggg gtcacaagac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag	180
c	181

CL-II

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 54 C; 63 G; 21 T; 0 ;

cttgggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaaaggcccc agacttggcg	60
ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa atcagcccc	120
gaaggtcggg gtcacaagac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag	180
c	181

CL-III

თანმიმდევრობა 182 ფწ; 42 A; 52 C; 63 G; 25 T; 0;

cttgggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcccc cagacttggc	60
ggcggcctc cgtgtgcaaa aataggcca cgggcacagc cgcgccccaaa aatcagcccc	120
tgaaggtcgg ggtcacaaga cccccagcgg gaaaaatggc caaaaaatgg gtgggctata	180
gc	182

CL-IV

თანმიმდევრობა 182 ფწ; 41 A; 53 C; 63 G; 25 T; 0;

cttgggtgggg ggcgtggttg aagttcgtcc gctgggctcg gaatggcccc agacttggcg	60
ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa atcagcccc	120
gaaggtcggg gtcacaagac cccccagcgg aaaaatgggc caaaaaacgg gtgggctata	180
gc	182

CL-V

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 52 C; 63 G; 23 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcccc agacttggcg	60
ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggacac gggcacagcc gcgccccaaa atcagcccc	120
gaaggtcggg gtcacaagaa cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctattg	180
c	181

CL-VI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 41 A; 54 C; 63 G; 23 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg ggcgtgggcg aagttagtcc gcgggactcg gaatggcccc agacttggcg	60
--	----

ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa atcagcccc 120
 gaaggtcgtg gtccaagac cccccagcgg aaaaatggcc aagaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CL-VII

თანმიმდევრობა 179 ფწ; 40 A; 54 C; 60 G; 25 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg tgcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcacc agacttggcg 60
 ggctgcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa aactgcccc 120
 gaagttcggg gtccaagac cccccagcgg aaaaatggcca aaaacgggtg ggctatagc 179

CL-VIII

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 53 C; 60 G; 25 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg tgcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcacc agacttggcg 60
 ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccccaaa aacagctccc 120
 gaagttcggg gtccaagac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggt tgggctatag 180
 c 181

CL-IX

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 44 A; 54 C; 60 G; 23 T; 0 სხვა;

cttgggtgggg ggcgtgggca aagttcgtcc gccgaactcg gaatggcccc agactttgcg 60
 ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcagagcc gcgccccaaa atcagcccc 120
 gaaggtcggg gtccaagac cccccagcgg aaaaatgacc aaaaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CL-X

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 41 A; 45 C; 62 G; 33 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcg aagttcgtcc gccggactcg gaatgggtcg agactttgcg 60
 aggggcctcc gtgttcaaaa aataggcgc tggcacagcc gtgccccaaa ataagagccc 120
 gaaggttcgg ggcgccaag cccctgtgg aaaaatgccc aaaaaatggg tgggctattg 180
 c 181

CL-XI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 47 A; 45 C; 61 G; 28 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcg aagttcgtcc accggactta gaatggggca agactttgcg 60
 aaggacctcc gtgtgcaaaa aataggccgc gggcacagcc gtgacaaaa ataagtgcc 120
 gaaggtcggg gcgtcaagt cccctgcgg aaaaatgccc aaaaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CL-XII

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 42 A; 53 C; 61 G; 25 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcg aagttcgtcc gccagactcg gaatggggcg agactttgcg 60
 aaggacctcc atgtcaaaa aataggccgc gggcacagcc gcgccccaac ataagctccc 120

gaccgtcggg gcgccaagc acccctgctg agaaatgcc aaaaaacggg tgggctatag 180
c 181

CI-I

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 50 C; 64 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aactttgtcc gccggatgcg gaatggcgcg agactttgcg 60
aggggcctcc ggggtgcaaaa aataggccgc gggcacagca gtcctcaaaa ataaccgccc 120
gaaagccggg gcgccaagt cgtccagcgg aaaaaggcca caaaaacggg tgggctatag 180
c 181

CI- II

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 42 A; 51 C; 62 G; 26 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccggactcg gaatggcgcg agactttgcg 60
aggggcctcc gtgtgcaaaa aataggccgc gggcatagcc gcgccaataaaa ataaccgccc 120
gaagccgggg cgccaagttc atcctgcgga aaaaggctac aaaaacgggt gggctataga 180
c 181

CI-III

თანმიმდევრობა 170 ფწ; 39 A; 52 C; 58 G; 21 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccggactcg gaatggcgcg agactttgcg 60
aggggcctcc gtgtgcaaaa aataggccgc gggcacagcc gcgcccagaa ataaccacc 120
gaagcctggg cgccaagttc gtccagcggg aaaaggccac aaaaacgggc 170

CI-IV

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 42 A; 52 C; 62 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccggactcg gaatggcagc agactttgtg 60
aggggcctcc tgtgcaaaaa ataggccgc ggcacagccg cgccaataaaa taaccgccc 120
aacgccgggg cgccaagttc gtccagcggg aaaaggccac aaaaacgggt gggctatagc 180

CI-V

თანმიმდევრობა 179 ფწ; 41 A; 51 C; 60 G; 27 T; 0 სხვა;

cttgggggtg gggctggcca acttcgtcc cgggactcag aatggcgcg gactttgtga 60
gggtcctcc tgtgcaaaaa ataggccgc ggcacagccg ctcccaaaaa tacccgaccg 120
aagccggggc gccaagttc tccggcgga aaaggtcaca aaaaacgggtg ggctatagc 179

CI-VI

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 43 A; 52 C; 61 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggtg gggctggcca acttcgtcc cgggactcgg aatggcgcg gactttgcga 60

ggggcctcgg tgtgccaata ataggccgcg ggcacagcgt cgcccaaaaa taactgccca 120
aaggccggag cgccaagttc gccacgcgga aaaaggccac aaaaacgggt gggctatagc 180

CI-VII

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 42 A; 51 C; 63 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccggactcg gaatggcgcg agactttgcg 60
aggggcctcc gtgtaccaaa aataggccgc ggcacagcgg tgcccaaaaa taaccgccc 120
aaggccgggg gcggaagttc gtccagcgga aaaaggccac aaaaacgggt gggctatagc 180

CI-VIII

თანმიმდევრობა 179 ფწ; 43 A; 53 C; 59 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aactttgtcc gccggactcg gaatggcgcg agactttgcg 60
aggagcctcc gtgtgcaaaa aataggccgc ggcacagcgg cgcccaaaaa taaccgcaa 120
agccggggcc gccgaagttc tccagcgga aaaggccaca aaaaacgggtg ggctatagc 179

CI-IX

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 40 A; 53 C; 59 G; 29 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccggactcg gaatggcgcg agactttacg 60
aggcacctct gtgtgcaaaa aataggccct gggcacagtc tcgcaaaaa ataccgccc 120
gtaggccggg gcgccaagtt cgtccagcgg taaaaggcca caaaaacggg tgggctatag 180
c 181

CI-X

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 55 C; 60 G; 23 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccgtacag gaatggcgcg agactttacg 60
aggcacctcc gtgtgcaaaa aataggcagc gggccagcc gcgcaaaaa ataccgccc 120
gaaggccggg gcgccaagtt cgtccagcgg aaaaaggcca caaaaacggg tgggctatag 180
c 181

CI-XI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 40 A; 53 C; 64 G; 24 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtcc gccgtacag gaatggcgcg agactttacg 60
aggcgcctcc gtgtgcaaaa aataggccgc ggggagagcc gcgcaaaaa ataccgccc 120
gaaggccggg gcgccaagtt cgtccagcgg aaaaaggcca caaaaacggg tgggctatag 180
c 181

CI-XII

თანმიმდევრობა 182 ფწ; 42 A; 54 C; 63 G; 23 T; 0 სხვა;

cttggggggct ggggctggcc aacttcgtcc gccggactag ggaatggcg gagactttgc 60
gaggcgctc cgtgcgcaaa aaatagaccg cgggcacagc cgcgtcaaaa aataccgccc 120
cgaaggccgg ggcgccaagt tcgtccagcg gaaaagggc aaaaaacgg gtgggctata 180
gc 182

CI-XIII

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 44 A; 52 C; 60 G; 25 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aaattcgtcc gccggactcg gaatgggtcg agactttgcg	60
aggcgctcc gtgtgcaaaa aataggccgc ggacacagcc gcgcccaaaa ataccctc	120
gaaggccggg acgccaagt cgtccagcgg aaaaaggaca caaaaacggg tgggctatag	180
c	181

CI-XIV

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 41 A; 57 C; 61 G; 22 T; 0 სხვა;

cttggggggg ggcgggggcg aagtctgtcc gccgactcc gaatggggcg agactttgcg	60
agcgctcc gtgtgcaaaa aataggccgc gggcaaggcc gcgcccaaaa ataagcccc	120
gaaggcctgc gtccgcaac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tggcctatag	180
c	181

CS-I

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 47 A; 48 C; 64 G; 22 T; 0 სხვა;

cttggggggg ggcgcgggcg aagtctgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgcg	60
agggcctcg ggggtgcaaaa aataagccgc agacaaagcc gcgcccaaaa ataagcgccc	120
gaaggctgtg gtgcaaaac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag	180
c	181

CS-II

თანმიმდევრობა 169 ფწ; 43 A; 42 C; 61 G; 23 T; 0 სხვა;

cttggggggg ggcgcgggcg aagtctgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgcg	60
agggcctcg ggggtgcaaaa aataagccgc gccaaaaaat aagcggcga aggtcgtggt	120
gccaaaacc cccagcggaa aatggccaa aaaaatgggt ggctatagc	169

CS-III

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 43 A; 48 C; 66 G; 23 T; 0 სხვა;

cttggggggg ggcgcgggcg aagtctgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgcg	60
agggcctcg ggggtgcaaaa aataagccgc gggcaagcc gcgcccaaaa ataagcgccc	120
gaaggctgtg gcgcaaaac ccctgcgga aaaaatggta caaaacgggt gggctatagc	180

CS-IV

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 44 A; 49 C; 66 G; 22 T; 0 სხვა;

cttggggggg ggcgcgggcg aagtctgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgcg	60
agggcctcg ggggtgcaaaa aataagccgc gggcaagcc gcgcccaaaa ataagcgccc	120
gaaggctgtg gtgcaaaac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag	180
c	181

CS-V

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 44 A; 47 C; 67 G; 23 T; 0 სხვა;
 cttggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gccggactcg gaatggggcg agactttgcg 60
 aggggcctcg ggggtgcaaaa aataagccgc gggcagagcc gcgcccaaaa ataagcgccc 120
 gaaggtcgtg gtgcaaaaac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CS-VI

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 42 A; 53 C; 62 G; 24 T; 0 სხვა;
 cttggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gccggactcg gaatggcccc aaactttgcg 60
 ggcagcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgccctaaa atgagcgccc 120
 gaaggtcggg gcgccaacac tcgccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CS-VII / CS-VIII

თანმიმდევრობა 175 ფწ; 44 A; 53 C; 55 G; 23 T; 0 სხვა;
 cttggtgggg gcgtggcgaa gttcgtccgt ggactcggaa tggcaccaga cttggcgggc 60
 ggctccgtg tgcaaaaat aggccacggc acagccgcgc ccaaaaaaca acccccgaag 120
 ttcgggtccc aagaccccc agcggaaaaa tggcaaaaa acggtgggct atagc 175

CS-IX

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 53 C; 63 G; 22 T; 0 სხვა;
 cttggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcacc agacctggcg 60
 ggcggcttcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgcccaaaa aacagcccc 120
 gaagttcggg gtccaagac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggg tgggctatag 180
 c 181

CS-X

თანმიმდევრობა 180 ფწ; 43 A; 54 C; 61 G; 22 T; 0 სხვა;
 cttggtgggg ggcgtgggcg aagttcgtcc gcgggactcg gaatggcacc agacttggcg 60
 ggcggcctcc gtgtgcaaaa aataggccac gggcacagcc gcgcccaaaa aacagcccc 120
 gaagttcggg gtccaagac cccccagcgg aaaaatggcc aaaaaacggt gggctatagc 180

CS-XI

თანმიმდევრობა 184 ფწ; 40 A; 55 C; 64 G; 25 T; 0 სხვა;
 cttggggggg ggggcttggc aacttcgtcc ggccggacct cggaatggcg cgagactttg 60
 cgaggcgct ccgtgtgcca aaaataggct gcgggcacag ccgcgccaa aaataccgc 120
 ccgaagccgg ggcgccaagt tcgtccagcg gaaagaggcc acaaaaaacg ggtgggggcta 180
 tagc 184

CS-XII

თანმიმდევრობა 181 ფწ; 43 A; 51 C; 60 G; 27 T; 0 სხვა;

cttgggggggt ggggctggcc aacttcgtct gccggactca gaatgccgcg agactttgcg	60
aggggtctcc gtgtacccaa aataggctcgc gggcaaagcc gcgtcaaaa ataaccgcc	120
gaaggccggg gcgccaagtt cgtccagcgg aaaaagccca caaaaacggg tgggctatag	180
c	181

V. დასკვნები

1. შესწავლილია სამი განსხვავებული სატელიტური დნმ-ის (*Citrus limon*, *Poncirus trifoliata* და *Mus musculus*) ოლიგომერების ძვრადობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე პოლიაკრილამიდის გელში.

2. ნაჩვენებია, რომ თავვის სატელიტური დნმ-ის 468 ფწ სიგრძის დიმერის K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდს აქვს სავარძლისებური ფორმა. ის მცირდება 5° - 25°C -ის ინტერვალში, შემდეგ აღინიშნება პლატო 25° - 35°C -ის ინტერვალში და შემდგომი შემცირება 45°C-ზე.

3. დადგენილია, რომ ლიმონისა და *P. trifoliata*-ს სტ-დნმ-ის მონომერი 5°C-ზე იყოფა ორ კომპონენტად (181 და 186 ფწ) ხოლო თავვის (234 და 240 ფწ) - 45° - 55°C-ზე. შეკავებული ძვრადობის მქონე კომპონენტის რაოდენობა უდრის 10%-ს.

4. შესწავლილია სატელიტური დნმ-ის მონომერების ძვრადობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე სხვადასხვა იონური ძალის პირობებში 0.015 M და 0.15 M NaCl თანაობისას. ნაჩვენებია, რომ K-ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდების ფორმა არ განსხვავდება ერთმანეთისგან და იმ მრუდებისგან, სადაც NaCl-ის კონცენტრაცია ნულის ტოლია.

5. დადგენილია, რომ 0.15 M NaCl-ის პირობებში *P. trifoliata*-ს სატელიტური დნმ-ის მონომერის გაყოფა ორ კომპონენტად 5° - 55°C ტემპერატურულ ინტერვალში არ აღინიშნება. ლიმონის სატელიტური დნმ-ის კომპონენტებად დაყოფა NaCl-ის თანაობისას არ ხდება. თავვის სატელიტური დნმ-ის თვისებები NaCl-ის თანდასწრებით არ იცვლება.

6. პირველად იქნა ნაჩვენები, რომ სტ-დნმ-ის მოლეკულები გარკვეულ პირობებში ხსნარში ერთდროულად შეიძლება არსებობდნენ ორი – გადაღუნული და წრფივი

ფორმით.

VI. ლიტერატურა

1. Anderson J. N. Detection, sequence patterns and function of unusual DNA structures. Nucl. Acids Research, 1986, 14, 1101-1108.
2. Barcelo F., Pons J., Petitpierre E., Barjau I., Portugal J. Polymorphic curvature of satellite DNA in three subspecies of the beetle *Pimelia sparsa*. Eur. J. Biochem., 1997, 244, 318-324.
3. Bechert T., Heck S., Fleig U., Diekmann S., Hagemann J. All 16 centromere DNAs from *Sacharomyces cerevisiae* show DNA curvature. Nucl. Acids Research, 1993, 27, 1444-1449.
4. Beridze T., Tsirekidze N., Roytberg M.. On the tertiary structure of satellite DNA. Biochemie, 1992, 74, 187-194.
5. Beridze T., Tsirekidze N., Turishcheva M. On the tertiary structure of the *Citrus ichangensis* satellite DNA. FEBS LETTERS, 1994, 338, 179-182.
6. Bracco L., Kotarz D., Kolb A., Diekmann S., Buc H. Synthetic curved DNA sequences can act as transcriptional activators in *Escherichia coli*. EMBO J., 1989, 8, 4289-4296.
7. Bolshoy A., McNamara P., Harrington R., Trifonov E. Curved DNA without A-A: Exsperimental estimation of all 16 DNA wedge angles. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88, 2312-2316.
8. Buckler E., Holtsford T. Zea ribosomal repeat evolution and substitution patterns. Mol. Biol. Evol. 1996, 13, 623-632.
9. Calladine C., Drew H., Luise B., Travers A. Understanding DNA, The Molecule and How It Works. Elsevier Academic Press, 2005.
10. Carettoni D., Landsberger N., Zagni E., Benfante R., Badaracco G. Topoisomerase I action on the heterochromatic DNA from the brine shrimp *Artemia franciscana*: studies in vitro and in vivo, Biochem. J. 1994, 299, 623-629.
11. Carrera P., Martinez-Balbas M., Portugall J., Azorinn F. Identification of the sequence elements contributing to the intrinsic curvature of the mouse satellite DNA repeat. Nucleic Acids Research, 1991, 19, 5639-5644.

12. Chann S., Breslauer K., Austin R., Hogan M. Thermodynamics and premelting conformation changes of phased (dA)₅ tracts. *Biochemistry*, 1993, 32, 11776-11784.
13. Chann S., Breslauer K., Hogan M., Kessler D., Austin R., Ojemann J., Passner J., Wiles N. Physical studies of DNA pmelting equilibria in duplexes with and without homo dA.dT tracts: correlation with DNA bending. *Biochemistry*, 1990, 29, 6161-71.
14. Ciobanu D., Grechko W., Darevsky S. Molecular Evolution of Satellite DNA CLsat in Lizards from the Genus *Darevskia* (Sauria: *Lacertidae*): Correlation with Species Diversity. *Russian Journal of Genetics*, 2003, 39, 1292-1305.
15. Davis N., Majee S., Kahn J. TATA box DNA deformation with and without the TATA box-binding protein. *J. Mol. Biol.* 1999, 291, 249-265.
16. Dawe R. Centromere renewal and replacement in the plant kingdom. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2005, 102, 11573-11574.
17. Deumling B. Sequence arrangement of a highly methylated satellite DNA of a plant, *Scilla*: A tandemly repeated inverted repeat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1981, 78, 338-342.
18. Diekmann S. DNA curvature. *Nucleic Acids and Molecular Biology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1987, 1, 138-156.
19. Diekmann S. Temperature and salt dependence of the gel migration anomaly of curved DNA fragments. *Nucl. Acids Research*, 1987, 15, 247-265.
20. Diekmann S., Kitzing E. On the structural origin of DNA curvature. *Structure & Expression*, 1988, 3, 057-067.
21. Diekmann S., Lilley D. The anomalous gel migration of a stable cruciform: temperature and salt dependence, and some comparisons with curved DNA. *Nucl. Acids Research*, 1987, 15, 5765-5774.
22. Dlakic M., Harrington R. Unconventional helical phasing of repetitive DNA motifs reveals their relative bending contributions. *Nucl. Acids Research*, 1998, 26, 4274-4279.
23. Drew H., Travers A.. DNA bending and its relation to nucleosome positioning. *J. Mol. Biol.*, 1985, 186, 773-790.

24. Eckdahl T., Anderson J. Conserved DNA structures in origins of replication. Nucl. Acids Research, 1990, 18, 1609-1612.
25. Fagundes M. Isolation and Characterization of a Satellite DNA Family in *Achirus lineatus* (Teleostei: Pleuronectiformes: Achiridae). Genetica, 2005, 125, 205 - 210.
26. Fann J.V., Kovaric V., Hemleben N., Tsirekidze T., Beridze T. Sequence and structure of satellite DNAs of citric plants. Theor. Appl. Genet., 2001, 103, 1068-1073.
27. Felice B., Wilson R., Ciarmiello L., Conicella C. A novel repetitive DNA sequence in lemon [*Citrus limon* (L.) Burm.] and related species. Journal of Applied Genetics, 2004, 45, 315-320.
28. Fitzgerald D., Dryden G., Bronson E., Williams J., Anderson J. Conserved patterns of bending in satellite DNA and nucleosome positioning DNA. The journal of Biological Chemistry, 1994, 269, 21303-21314.
29. Frommer M., Prosser J., Tkachuk D., Reines A., Vincent P. Simple repeated sequences in human satellite DNA. Nucl. Acids Research, 1982, 10, 547-563.
30. Gabrielian A., Landsman D., Bolshoy A. Curved DNA in promoter sequences. In silico Biol., 1999-2000, 1, 183-196.
31. Gast F., Sanger H. Gel dependence of electrophoretic mobilities of double-stranded and viroid RNA and estimation of the contour length of a viroid by gel electrophoresis. Electrophoresis, 2005, 15, 1493 -1498.
32. Goldstein D., Linares A., Cavalli-Sforza L., Feldman M. An evolution of genetic distance for use with microsatellite loci. Genetics, 1995, 139, 463- 471.
33. Gondo, Y., Okada T., Matsuyama N., Saitoh Y., Yanagisawa Y., Ikeda J. Polymorphisms and interspecies conservation. Genomics, 1998, 54, 39-49.
34. Griffith J., Bleyman M., Rauch C., Kitchin P., Englund P. Visualization of the bent helix in kinetoplast DNA by electron microscopy. Cell, 1986, 46, 717-24.
35. Gudmundur H., Gunnarsson G., Thormar H., Bjarki Gudmundsson B.,

- Akesson L., Jonsson J. Two-dimensional conformation-dependent electrophoresis (2D-CDE) to separate DNA fragments containing unmatched bulge from complex DNA samples. *Nucl. Acids Research*, 2004, 32, 23.
36. Guenatri M., Bailly D., Maison C., Almouzni G. Mouse centric and pericentric satellite repeat form distinct functional heterochromatin. *The Rockefeller University Press, JCB*, 2004, 116, 493-505.
37. Haran T., Kahn J., Crothers D. Sequence elements responsible for DNA curvature. *J. Mol. Biol.*, 1994, 244, 135-143.
38. Harrington R. Studies of DNA bending and flexibility using gel electrophoresis. *Electrophoresis*, 2005, 14, 732 - 746.
39. Henikoff S., Ahmad K., Malik H. The centromere paradox: stable inheritance with rapidly evolving DNA. *Science*, 2001, 293, 1098–1102.
40. Hizver J., Rozenberg H., Frolow F., Rabinovich D., Shakked Z. DNA bending by an adenine-thymine tract and its role in gene regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 8490-8495.
41. Hoischen C., Bolshoy A., Gerdes K., Diekmann S. Centromere parC of plasmid R1 is curved. Published online 4, 2004.
42. Husain I., Griffith J., Sancar A. Thymine dimers bend DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1988, 85 2558–2562.
43. Jiming J., Nasuda S., Dong F., Scherrer Ch., Woo S, Wing R., Gill B., Ward D. A conserved repetitive DNA element located in the centromeres of cereal chromosomes. *Natl. Acad. Sci. U S A*, 1996, 93, 14210-14213.
44. Jose D., Porschke D. Dynamics of the B-A transition of DNA double helices. *Nucl. Acids Research*, 2004, 32, 2251-2258.
45. Joseph A., Mitchell A., Miller O. The organization of the mouse satellite DNA at centromeres. *Experimental Cell Research*, 1989, 183, 494-500.
46. Kanhere A., Bansal M. An assessment of three dinucleotide parameters to predict DNA curvature by quantitative comparison with experimental data. *Nucl. Acids Research*, 2003, 31, 2647-2658.
47. Kijas J., Fowler J., Thomas M. An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within Citrus and related species. *Genome*, 1995, 38, 349-355.

48. King K., Jobst J. Differential homogenization and amplification of two satellite DNAs in the genus *Cucurbita* (*Cucurbitaceae*). *Journal of Molecular Evolution* 1995, 41, 996-1005.
49. King K., Torres R., Zentgraf U., Hemleben V. Molecular evolution of the intergenic spacer in the nuclear ribosomal RNA genes of *Cucurbitaceae*. *J. Mol. Evol.*, 1993, 36, 144-152.
50. Kozobay-Avaraham L., Hosid S., Bolshoy A. Curvature distribution in prokaryotic genomes. *In Silico Biology*, 4, 2004, 00-29.
51. Krzywinski J., Sangare D., Besansky N. Satellite DNA From the Y Chromosome of the Malaria Vector *Anopheles gambiae*. *Genetics*, 2005, 169, 185-196.
52. Lamb J., Birchler J. The role of DNA sequence in centromere formation. *Genome Biol.* 2003, 4, 214.
53. Lane D., Prentki P., Chandler M. Use of gel retardation to analyze protein-nucleic acid interactions. *Microbiol Rev.*, 1992, 56, 509-528.
54. Lewine B. *Genes V*, Oxford University Press, 1994.
55. Liangouzov I., Derjusheva S., Saifitdinova A., Malykh A., Gaginskaya E. *Russian Journal of Genetics*, 2002, 38, 1359-1364.
56. Lica L., Narayanswami S., Hamkalo B. Mouse satellite DNA, centromere structure, and sister chromatid pairing. *The Journal of Cell Biology*, 1986, 103, 1145-1151.
57. Lu Y., Weers B., Stellwagen N. Intrinsic Curvature in the VP1 Gene of SV40: Comparison of Solution and Gel Results. *Biophysical Journal*, 2005, 88, 1191-1206.
58. Macas J., Navratilova A., Meszaros T. Sequence subfamilies of satellite repeats related to rDNA intergenic spacer are differentially amplified on *Vicia sativa* chromosomes. *Chromosoma*, 2003, 112, 152-158.
59. Macas J., Meszaros T., Pozarkova D., Navratilova A., Nouzova M., Neumann P. Two new families of tandem repeats isolated from genus *Vicia* using genomic self-priming PCR. *Mol. Genet.*, 2000, 263, 741-751.
60. Macgregor H., Horner H., Owen C., Parker I. Observations on centromeric heterochromatin and satellite DNA in salamanders of the genus *Plethodon*. *Chromosoma*, 1973, 43, 329 - 348.

61. Mader S. Biology. WCB-Wm.C.brown Publishers, USA, 1990.
62. Marilley M., Pasero P. Common DNA structural features exhibited by eukaryotic ribosomal gene promoters. *Nucl. Acids Research*, 1996, 24, 2204-2211.
63. Marini J. Bent helical structure in kinetoplast DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1983, 80, 7678.
64. Matimslek R., Gazdov B., Fajkus J., Bezdeik M. NTRS, a new family of highly repetitive DNAs specific for the T1 chromosome of tobacco. *Chromosoma*, 1997, 106, 369-379.
65. Matsugami A., Tani K., Ouhashi K., Uesugi S., Morita M., Ohyama T., Katahira M. Structural Property of DNA That Migrates Faster in Gel Electrophoresis, as Deduced by CD Spectroscopy. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2006, 25, 417 - 425.
66. Mazur A. Comparative bending dynamics in DNA with and without regularly repeated adenine tracts. *Phys. Rev. E.*, 2002. 66, (13 pages).
67. McGill G., Fisher D. DNA bending and the curious case of Fos/Jun. *Chem. Biol.* 1998, 5, R29-R38.
68. Mestrovic N., Plohl M., Mravinac B., Ugarkovic D. Evolution of Satellite DNAs from the genus *Palorus* Experimental Evidence for the “Library” Hypothesis. *Molecular Biology and Evolution*, 1998, 15, 1062-1068.
69. Murphy T., Karpen G. Localization of centromere function in *Drosophila* minichromosome. *Cell.* 1995, 82, 599–609.
70. Murray, A. Chromosome structure: how to compact DNA . *Science*, 1998, 282, 425–427.
71. Navratilova A., Neumann P., Macas J. Karyotype analysis of four *Vicia* species using in situ hybridization with repetitive sequences. *Ann Botany*, 2003, 91, 921-926.
72. Nouzova M., Neumann P. Two new families of tandem repeats isolated from genus *Vicia* (*cercvela*) using genomic self-priming PCR *Mol. Genet.*, 2000, 263, 741- 751.
73. Ohki R., Hirota M., Oishi M., Kiyama R. Conservation and continuity of periodic bent DNA in genomic rearrangements between the c-myc and immunoglobulin heavy chain μ loci. *Nucl. Acids Research*, 1998, 26, 3026-3033.

74. Orgel L., Crick F. Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature*, 1980, 284, 604–607.
75. Park Y., Breslauer K. A spectroscopic and calorimetric study of the melting behaviors of a “bent” and “normal” DNA duplex: [d(GA4T4C)]₂ versus [d(GT4A4C)]₂. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 1551-1555.
76. Perez-Martin J., Lorenzo V. Clues and consequences of DNA bending in transcription. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1997, 51, 593-628.
77. Plohl M., Mestrovica N., Bruvo B., Ugarkovich D. Similarity of structural features and evolution of satellite DNAs from *Palorus subdepressus* (*Coleoptera*) and related species. 1998, *J. Mol. Evol.*, 46, 234–239.
78. Prashad N., Cutler R. Percent satellite DNA as a function of tissue and age of mice. *Biochim Biophys Acta.*, 1976, 418, 1-23.
79. Radic M., Lundgren K. Curvature of mouse satellite DNA and condensation of heterochromatin. *Cell*, 1987, 50, 1110-1108.
80. Sainz J., Cornudella L. Preservation of a complex satellite DNA in two species of echinoderms. *Nucl. Acids Research*, 1990, 18, 885–890.
81. Saitoh Y., Saitoh H., Ohtomo K., Mizuno S. Occupancy of the majority of DNA in the chicken W chromosome by bent repetitive sequences. *Chromosoma*, 1991, 101, 32-40.
82. Sarma M., Gupta G., Sarma R. Structure of a Bent DNA: Two-Dimensional NMR Studies on d(GAAAATTTTC)₂. *Biochemistry*, 1988, 27, 3423-3432.
83. Schmidt T., Heslop-Harrison J. Genomes, genes and junk—the large-scale organization of plant chromosomes. *Trends Plant Sci.*, 1998, 3, 195–199.
84. Schueler M., Higgins A., Rudd M., Gustashaw K., Willard H. Genomic and genetic definition of a functional human centromere. *Science*, 2001, 294, 109–115.
85. Shiao Y., Wang L., Patricia M., Skinner B., Skinner D. Toward an Understanding of Satellite DNA Function in Crustacea. *American Zoologist*, 1999, 39, 471- 486.
86. Shrader T., Crothers D. Effects of DNA sequence and histone-

- histone interactions on nucleosome placement. *J. Mol. Biol.*, 1990, 216, 69-84.
87. Sivolob A., Khrapunov S. Translational positioning of nucleosomes on DNA: the role of sequence-dependent isotropic DNA bending stiffness. *J. Mol. Biol.*, 1995, 247, 918-931.
 88. Slamovits C., Rossi M. Satellite DNA: agent of chromosomal evolution in mammals. A review, *Mastozoologia Neotropical*, 2002, 9, 297-308.
 89. Southern E. Measurement of DNA Length by Gel Electrophoresis. *Anal. Biochemie*, 1979, 100, 319-323.
 90. Stefl R., Wu H., Ravindranathan S., Sklenar V., Feigon J. DNA A-tract bending in three dimensions: Solving the dA4T4 vs. dT4A4 conundrum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2004, 101, 1177-1182.
 91. Stellwagen, N. Anomalous electrophoresis of DNA restriction fragments on polyacrylamide gels. *Biochemistry*, 1983, 22, 6186-6193.
 92. Stellwagen N. Apparent pore size of polyacrylamide gels: comparison of gels cast and run in Tris-acetate-EDTA and Tris-borate-EDTA buffers. *Electrophoresis*, 1998, 19, 1542-1547.
 93. Stellwagen N. DNA mobility anomalies are determined primarily by polyacrylamide gel concentration, not gel pore size. *Electrophoresis*, 1997, 18, 34-44.
 94. Stellwagen E., Lu Y., Stellwagen N. Curved DNA molecules migrate anomalously slowly in free solution. *Nucl. Acids Research*, 2005, 33, 4425-4432.
 95. Strachan T., Read A. *Human molekular Genetics*, Second Edition. University of Manchester, UK., 1999.
 96. Sun X., Wahlstrom J., Karpen G. Molecular structure of a functional *Drosophila* centromere. *Cell*, 1997, 91, 1007-1019.
 97. Tagashira H., Inano K., Ueda T., Hirota Y., Hashimoto K. Suppression of the electrophoretic anomaly of bent DNA segment by the structural property that causes rapid migration., *Nucleic Acids Research*, 1998, 26, 4811-4817.
 98. Tek A., Song J., Macas J., Jiang J. Sobo, a Recently Amplified Satellite Repeat of Potato, and Its Implications for the Origin of Tandemly Repeated Sequences. *Genetics*, 2005, 170, 1231-1238.

99. Theilben G., Schonborn J., Wagne R. Temperature-gradient gel electrophoresis for the detection and characterization of curved DNA-fragments. *Nucl. Acids Research*, 1993, 21, 4643-4644.
100. Travers, A . DNA-Protein Interactions. Chapman & Hall, London , 2003.
101. Turnpenny P., Ellard S. Emery's Elements of Medical Genetics, 12th ed. Elsevier, London., 2005.
102. Ugarkovic L., Plohl M . Variation in satellite DNA profiles -causes and effects. *The EMBO Journal.*, 2002, 21, 5955-5959.
103. Ulanovsky L., Bonder M., Trifonov E., Choder M. Curved DNA: Design, synthesis, and circularization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 862-866.
104. Vershinin A., Schwarzacher T., Heslop-Harrison J. The large-scale genomic organization of repetitive DNA families at the telomeres of rye chromosomes. *Cell*, 1995, 7, 1823–1833.
105. Wang S., Patricia M., Skinner B., Skinner D. Toward an Understanding of Satellite DNA Function in *Crustaceal*. *American Zoologist*, 1999, 39, 471- 486.
106. Watson J., Crick F. Molecular structure of nucleic acids, A Structure for Deoxyribose Nucleic Acids. *Nature*, 1953, 171, 737.
107. ლეჟავა თ. ადამიანის გენეტიკა. “თბილისის უნივერსიტეტის გამომცემლობა”, თბ., 1998.
108. ჯობაძე დ. მოლეკულური გენეტიკის შესავალი. “მეცნიერება”, თბ., 1992.
109. Албертс А., Брей Д., Льюис Дж., Рефф М., Робертс Н., Уотсон Дж, Молекулярная биология клетки (II, III, IV т.), «Мир», М., 1986.
110. Беридзе Т. Сателлитные ДНК. «Наука», М., 1982.
111. Беридзе Т. Сателлитные ДНК высших растений. Докторская диссертация, М., 1980.
112. Грин Н., Стаут У., Теилор Д. Биология, (I-III т.), «Мир», М., 1993.
113. Маниатис Т., Фрич Э., Сомбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. «Мир», М., 1984.
114. Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. «Мир», М., 1978.
115. Хемлебен В., Беридзе Т., Бахман Л., Коварик Я., Торресс Р. Сателлитные

ნაშრომი შესრულებულია ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის
ინსტიტუტის ნუკლეინის მჟავათა ლაბორატორიაში

სასიამოვნო მოვალეობად ვთვლი განსაკუთრებული მადლობა გადავუხადო აკადემიკოს თენგიზ ბერიძეს, რომლის უშუალო ხელმძღვანელობითა და დახმარებით შესაძლებელი გახდა წინამდებარე კვლევის შესრულება.

მადლობას ვუხდის ნიუ-იორკის უნივერსიტეტის სამედიცინო ცენტრის ფსიქიატრიის განყოფილების მეცნიერ თანამშრომელს ირმა ონოფრიშვილსა და სტრასბურგის მცენარეთა მოლეკულური ბიოლოგიის ინსტიტუტის თანამშრომელს ლალი საყვარელიძეს სხვადასხვა ფერმენტებისა და მარკერული დნმ-ების მოწოდებისათვის.

მადლობა მინდა გადავუხადო ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორს ვაჟა ტაბიძეს სადისერტაციო ნაშრომის შესრულების დროს მოცემული რჩევებისათვის. აგრეთვე მადლობას ვუხდის ნუკლეინის მჟავათა ლაბორატორიის თითოეულ წევრს კვლევის მიმართ გამოჩენილი მუდმივი ყურადღებისა და მხარდაჭერისათვის.

ია ფიფია